

201447024A

厚生労働科学研究委託費

新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業

H5N1 沈降インフルエンザワクチンにおける交叉免疫性に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務責任者 庵原 俊昭

平成27（2015）年 3月



本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究委託事業（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）による委託業務として、独立行政法人国立病院機構三重病院 院長 庵原俊昭（受託者の名称）が実施した平成26年度「H5N1沈降インフルエンザワクチンにおける交叉免疫性に関する研究（契約書第1条で定めた委託業務題目）」の成果を取りまとめたものです。

## 目 次

I. 委託業務成果報告（総括）	
H5N1 沈降インフルエンザワクチンにおける交叉免疫性に関する研究 -----	1
庵原 俊昭	
II. 委託業務成果報告（業務項目）	
1. H5N1 沈降インフルエンザワクチンにおける交叉免疫性に関する研究-----	7
伊藤 澄信	
III. 学会等発表実績 -----	47
IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	49



## I. 委託業務成果報告（総括）

## H5N1 沈降インフルエンザワクチンにおける交叉免疫性に関する研究

業務責任者 庵原俊昭 独立行政法人国立病院機構三重病院 院長

### 研究要旨

2007 年秋に承認された沈降インフルエンザワクチン H5N1 (以下、H5N1 ワクチン) はベトナム株 (Clade1) を用いて開発された。その後、世界各地の H5N1 インフルエンザウイルスの流行状況に応じて、インドネシア株 (Clade2.1)、アンフィ株 (Clade2.3)、チンハイ株 (Clade2.2)、エジプト株 (Clade2.2) を用いて製造され、プレパンデミックワクチンとして備蓄されてきた。2008 年以降に実施した臨床研究から①いずれの株も基礎免疫を誘導する。②初期 2 回接種後、半年以上あけて追加接種すると幅広い交叉免疫性が発現する。③同種株の初期 2 回の接種間隔については、3 週間よりも 6 か月にした方が、抗体価が高く上昇し、かつ交叉免疫性が出現する。④初期接種が 1 回では不十分である株が認められ、異種株の接種の順番によって免疫原性が異なる。⑤エジプト株の 2 回の接種間隔が 90 日以降では十分ではないが交叉免疫反応が認められる、等が示されてきた。薬事法の承認用法・用量で接種した被験者に対して 2 年後に異種株を接種すると初期接種した株に対する抗体価が上昇するとともに接種した株以外の株への交叉免疫が発現していることが確認されているが、交叉免疫を誘導する免疫記憶の発現に必要な期間については明らかでなかった。

仮想パンデミック株に対する免疫記憶効果を発現する備蓄株を選定するための資料として、免疫記憶を醸成する最低期間と接種株についての関係を明らかにするために、初期接種株としてインドネシア株 2 回接種し、60、90 日後に初期接種株以外のベトナム株、チンハイ株を仮想パンデミック株として接種し、7 日後、21 日後に採血し、仮想パンデミック株に対する交叉免疫を惹起する最低期間を推定するとともに、プレパンデミック備蓄株の集約化の可能性を検討することを目的として実施した。

2014 年 11 月より国立病院機構病院 7 施設で 202 名の健康成人を対象にワクチン接種を開始し、196 名が 60 日後あるいは 90 日後にベトナム株あるいはチンハイ株を接種した。ワクチン接種に伴って、2 例の重篤な有害事象が発現し、顔面神経麻痺症例は因果関係が否定できなかったため、厚生労働省に報告した。

仮想パンデミック株を想定したチンハイ株、ベトナム株接種 1 週後の接種株に対する GMT 変化倍率は、チンハイ株接種 1 週後チンハイ株 2.87 倍 (60 日後)、3.04 倍 (90 日後)、ベトナム株接種 1 週後ベトナム株 2.50 倍 (60 日後) 3.32 倍 (90 日後) であり、さらに通常ワクチンの効果を判定する 3 週後の GMT 変化倍率は、チンハイ株接種群ではチンハイ株 3.51 倍 (60 日後)、3.46 倍 (90 日後)、ベトナム株接種群ではベトナム株 4.35 倍 (60 日後) 4.49 倍 (90 日後) であった。このことはインドネシア株 2 回接種後 60 日すれば免疫記憶細胞が誘導され、H5N1 野生株が感染しても早期に免疫応答が始まり、軽症化する可能性を示唆していた。なお、ワクチン接種に伴う接種部位反応及び全身反応については因果関係が否定されない顔面神経麻痺症例を認めたが既存の試験結果と大きな違いは認められなかった。

## A. 研究目的

2007 年秋に承認された沈降インフルエンザワクチン H5N1 (以下、H5N1 ワクチン) はベトナム株 (Clade1) を用いて開発された。その後、世界各地の H5N1 インフルエンザウイルスの流行状況に応じて、インドネシア株 (Clade2.1)、アンフィ株 (Clade2.3)、チンハイ株 (Clade2.2)、エジプト株 (Clade2.2) を用いて製造され、プレパンデミックワクチンとして備蓄されてきた。2008 年以降に実施した臨床研究から①いずれの株も基礎免疫を誘導する。②初期 2 回接種後、半年以上あけて追加接種すると幅広い交叉免疫が発現する。③同種株の初期 2 回の接種間隔については、3 週間よりも 6 か月にした方が、抗体価が高く上昇し、かつ交叉免疫性が出現する。④初期接種を異種株で行った場合、異種株の接種の順番によって免疫原性が異なる。⑤エジプト株の 2 回の接種間隔が 90 日以降では十分ではないが交叉免疫反応が認められる、等が示されてきた。

薬事法の承認用法・用量で接種した被験者に対して 2 年後に異種株を接種すると、初期接種した株に対する抗体価が上昇するとともに幅広い交叉免疫が発現していることが確認されているが、交叉免疫を誘導する免疫記憶細胞の発現に必要な期間については明らかにされていない。仮想パンデミック株に対する免疫記憶効果を発現する備蓄株を選定するための資料として、免疫記憶を醸成する最低期間と接種株についての関係を明らかにするために、初期接種株としてインドネシア株 2 回接種し、60、90 日後に初期接種株以外のベトナム株、チンハイ株を仮想パンデミック株として接種し、7 日後、21 日後に採血し、仮想パンデミック株に対する交叉免疫を惹起する最低期間を推定するとともに、プレパンデミック備蓄株の集約化の可能性を検討することを目的として実施した。

## B. 研究方法

対象は H5N1 ワクチンの接種歴がない健康成人 202 人である。2014 年 11 月より国立病院機構病院 7 施設 (栃木医療センター、三重病院、南京都病院、南和歌山医療センター、高知病院、南岡山医療センター、長崎医療センター) で、インドネシア株を 3 週間隔で 2 回接種した。追加接種として、60 日後にチンハイ株を 48 人、ベトナム株を 50 人、90 日後にチンハイ株を 48 人、ベトナム株を 48 人に接種した (合計 194 人)。

ワクチン後の副反応については、接種日から最長 28 日目まで、発熱等の全身反応と局所反応を観察した。

(倫理への配慮)

国立病院機構本部の倫理審査委員会に申請し、承認を受けてから研究を開始した。

## C. 研究結果

インドネシア株 2 回接種後、仮想パンデミック株を想定したチンハイ株、ベトナム株接種後の接種株に対する GMT (中和抗体) 変化倍率は、チンハイ株接種 1 週間後ではチンハイ株に対して 2.87 倍 (60 日後)、3.04 倍 (90 日後) 上昇し、ベトナム株接種 1 週間後ではベトナム株に対して 2.50 倍 (60 日後) 3.32 倍 (90 日後) 上昇しており、早期の免疫応答を認めた。

さらに通常ワクチンの効果を判定する 3 週間後の GMT 変化倍率はチンハイ株接種 3 週間後ではチンハイ株に対して 3.51 倍 (60 日後)、3.46 倍 (90 日後) 上昇し、ベトナム株接種 3 週間後ではベトナム株に対して 4.35 倍 (60 日後) 4.49 倍 (90 日後) 上昇していた。

インドネシア株接種 90 日後に追加接種する方が、60 日後に追加接種するよりも GMT 変化倍率はやや高い傾向があるが、有意な差は認めなかった。なお、仮想パンデミック株接種 1 週間後、3 週間後には初期接種株と

して接種したインドネシア株に対する中和抗体価は、GMT 変化倍率で1 週後 5.06-7.23 倍、3 週後 8.00-11.48 倍まで増加していた。また初期接種株でも仮想パンデミック株でもないアンフィ株に対しても交叉免疫性が認められた。

ワクチン接種に伴う接種部位反応及び全身反応については因果関係が否定されない顔面神経麻痺症例を認めたが既存の試験結果と大きな違いは認められなかった。

#### D. 考察

一般に免疫記憶細胞の成熟には 4~6 ヶ月間必要とされている。今回の検討は、初期接種株としてインドネシア株 2 回接種の 60、90 日後に初期接種株以外のベトナム株、チンハイ株を仮想パンデミック株として接種し、7 日後、21 日後に採血し、仮想パンデミック株に対する交叉免疫を惹起する最低期間を推定するとともに、プレパンデミック備蓄株の集約化の可能性を検討することを目的として実施した。2014 年 11 月より国立病院機構病院 7 施設で 202 名の健康成人を対象にワクチン接種を開始し、196 名が 60 日後あるいは 90 日後にベトナム株あるいはチンハイ株を接種した。

有効性の指標としてチンハイ株 (Clade2.2)、ベトナム株 (Clade1)、インドネシア株 (Clade2.1)、アンフィ株 (Clade2.3) に対する中和抗体価を測定した。仮想パンデミック株を想定してチンハイ株、ベトナム株を接種したが、接種 1 週後の GMT 変化倍率はチンハイ株 2.87 倍 (60 日後)、3.04 倍 (90 日後)、ベトナム株 2.50 倍 (60 日後) 3.32 倍 (90 日後) であり、さらに通常のワクチンなどの効果を判定する 3 週後の GMT 変化倍率は、チンハイ株接種 3 週後のチンハイ株に対して 3.51 倍 (60 日後)、3.46 倍 (90 日後)、ベトナム株接種 3 週後ベトナム株に対して 4.35 倍 (60 日後) 4.49 倍 (90 日後) であった。

この結果は、インドネシア株で基礎免疫を行った場合は、接種後 60 日を過ぎれば、二次免疫応答を惹起しうることを示唆する結果であった。

基礎免疫として接種したインドネシア株に対しては 2 回接種 3 週後では GMT 変化倍率は 2.41 倍 (95%CI:2.12-2.73) であったものが 60 日後には 3.06 倍 (95%CI:2.62-3.57)、90 日後には 3.94 倍 (95%CI:3.30-4.71) となり、2 回接種終了後の時間経過に応じて中和抗体価が上昇した。また、チンハイ株接種あるいはベトナム株接種後にインドネシア株に対する中和抗体価は 1 週後に GMT 変化倍率として 5.06-7.23 倍、3 週後には 8.00-11.48 倍まで増加した。初回接種株でも仮想パンデミック株を想定したベトナム株あるいはチンハイ株でもないアンフィ株に対する中和抗体価も仮想パンデミック株接種 1 週後には 4.12-4.99 倍、3 週後には 5.66-9.99 倍と増加し、幅広い交叉免疫性が認められた。

今回の検討では、追加接種までの期間が 90 日後の方が GMT 変化倍率はやや高い傾向であったが、60 日後に接種した群との間では有意な差は認められなかった。このことはインドネシア株 2 回接種後 60 日すれば少なくともチンハイ株、ベトナム株に対する交叉免疫が誘導できる可能性を示していた。

本臨床試験中に 2 例の重篤な有害事象が発現した。1 例 (大腸がん) は因果関係が否定されたが、もう 1 例 (顔面神経麻痺) は 3 回目接種 2 日後であり、因果関係は否定できず、厚生労働省に報告した。幸い後遺障害は残っていない。季節性インフルエンザワクチンでは顔面神経麻痺の報告は既にあるが、H5N1 型インフルエンザワクチンでは初の報告である。

接種部位反応及び全身反応については既存の試験結果と大きな違いはないと思われるが、1 回目接種に比して 2 回目接種で接種部位反応および全身反応の頻度及び程度

が少ない傾向が認められた。60日あるいは90日後の3回目接種後の副反応は2回目接種時とほぼ同じかやや少ない傾向にあった。

#### E. 結論

以前の検討では、薬事法の承認用法・用量で接種した被験者に対して2年後に異種株を接種すると、初期接種した株に対する抗体価が上昇するとともに幅広い交叉免疫が発現していることが確認されているが、交叉免疫を誘導する免疫記憶の発現に必要な期間については明らかではなかった。仮想パンデミック株に対する免疫記憶効果を発現する備蓄株を選定するための資料として、免疫記憶を醸成する最低期間と接種株についての関係を明らかにするために、今回検討を行った。

今回の検討結果では、インドネシア株2回接種後60日すれば少なくともチンハイ株、ベトナム株に対する二次免疫応答がおこることを示唆しており、この結果から、パンデミック時には本邦にパンデミック株が入る少なくとも60日以前にプレパンデミックワクチンの接種を受けておれば、パンデミック株が感染しても軽症に経過することが示唆された。

#### F. 健康危険情報

H5N1 ワクチン接種後の顔面神経麻痺症例は、厚生労働省健康危機管理調整官、研究開発振興課（臨床研究に関する倫理指針への対応）およびワクチン製造会社（北里第一三共ワクチン株式会社）に書面をもって報告した。

#### G. 研究発表

（論文）

1) 高橋裕明、矢野拓弥、福田美和、山内昭則、大熊和行、庵原俊昭、中野貴司、松田 正、鳥越貞義、二井立恵、伊佐地真知子、渡辺正博、落合 仁、酒徳浩之、

加藤 孝、前田一洋、奥野良信、神谷齊：小児におけるインフルエンザ HA ワクチン接種量変更による効果と安全性の検討. 感染症誌 87:195-206, 2013

2) 庵原俊昭：インフルエンザワクチン. 小児看護 36:452-458, 2013

3) 庵原俊昭：乳幼児へのインフルエンザワクチン接種量の増量について. 小児内科 45:2037-2039, 2013

4) 矢野桂子、長尾みづほ、一見良司、庵原俊昭、中野貴司：インフルエンザ A(H1N1)pdm09 入院症例の臨床経過に関する検討. 日本プライマリ・ケア連合学会誌 36:160-165, 2013

（学会発表）

1) 長尾みづほ、藤澤隆夫、菅 秀、庵原俊昭：インフルエンザワクチン接種後アナフィラキシーの原因調査. 第116回日本小児科学会学術集会 2013.4.19-21 広島

2) 菅 秀、長尾みづほ、藤澤隆夫、庵原俊昭：リアルタイムデータベースを用いたインフルエンザ症に入院症例の解析. 第116回日本小児科学会学術集会 2013.4.19-21 広島

3) 中山哲夫、鈴木英太郎、熊谷卓司、尾崎隆男、西村直子、庵原俊昭：インフルエンザワクチン接種後のアナフィラキシー反応：感作の原因は何か？第54回日本臨床ウイルス学会 2013.6.8-9

4) 中村晴奈、長尾みづほ、浅田和豊、菅秀、谷口清州、藤澤隆夫、庵原俊昭：多施設でのインフルエンザ入院症例の経年的検討. 第45回日本小児感染症学会総会・学術集会 2013.10.27-28 札幌

5) 長尾みづほ、二井立恵、伊佐地真知子、菅 秀、藤澤隆夫、庵原俊昭：インフルエンザワクチン接種後の局所の腫脹について. 第45回日本小児感染症学会総会・学術集会 2013.10.27-28 札幌

6) 二井立恵、伊佐地真知子、庵原俊昭、



高橋裕明、前田一洋、奥野良信：小児のインフルエンザワクチン接種量変更後のHI抗体価の検討（接種回数と接種時期）。第17回日本ワクチン学会学術集会2013.11.30-12.1 津

7) 二井理文、菅谷亜弓、二井 栄、二井立恵、庵原俊昭、池田智明、高橋裕明、前田一洋、奥野良信：妊婦におけるインフルエンザワクチンの安全性・免疫原性に関する研究(2011/2012 シーズン)。第17回日本ワクチン学会学術集会2013.11.30-12.1 津

8) 大井由美子、尾本朋美、長尾みづほ、菅 秀、谷口清州、藤澤隆夫、庵原俊昭：麻酔が術前ワクチン接種の抗体反応に及ぼす影響。第17回日本ワクチン学会学術

集会 2013.11.30-12.1 津

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1) H5N1型インフルエンザワクチン及び感染防御キット

国際公開番号 W02012/164928A1  
(2012/12/6 公開)

基礎出願番号 特願 2011-120221

発明者 伊藤澄信、庵原俊昭

出願人 財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

ワクチン接種株以外の H5N1 型インフルエンザウイルス感染を充分予防することができる H5N1 型インフルエンザワクチンを提供する。

## Ⅱ. 委託業務成果報告（業務項目）

## H5N1 沈降インフルエンザワクチンにおける交叉免疫性に関する研究

研究分担者 伊藤澄信 独立行政法人国立病院機構本部総合研究センター 臨床研究統括部長

### 研究要旨

2007 年秋に承認された沈降インフルエンザワクチン H5N1(以下、H5N1 ワクチン)はベトナム株 (Clade1) を用いて開発された。その後、世界各地の H5N1 インフルエンザウイルスの流行状況に応じて、国家備蓄ワクチンとしてベトナム株に加えて、インドネシア株 (Clade2.1)、アンフィ株 (Clade2.3)、チンハイ株 (Clade2.2)、エジプト株 (Clade2.2) を用いて製造され、プレパンデミックワクチンとして備蓄されてきた。2008 年以降に実施した臨床研究から①ベトナム株、インドネシア株、アンフィ株、チンハイ株による基礎免疫誘導効果を確認。(有効性発現は株毎に差異がある)、②初期 2 回接種後、半年以上して追加接種すると他の株に対する交叉免疫性が発現する。③同種株の初期 2 回の接種間隔について、3 週間よりも 6 か月にした方が抗体価が高く上昇し、かつ交叉免疫性が出現する。④初期接種が 1 回では不十分である株が認められる、異種株の接種の順番によって免疫原性が異なる。⑤エジプト株の 2 回の接種間隔が 90 日以降では十分ではないが交叉免疫反応が認められることが示されてきた。薬事法の承認用法・用量で接種した被験者に対して 2 年後に異種株を接種すると初期接種した株に対する抗体価が上昇するとともに接種した株だけでなくそれ以外への交叉免疫が発現していることが確認されているが、交叉免疫を誘導する免疫記憶の発現に必要な期間については明らかでない。仮想パンデミック株に対する免疫記憶効果を発現する備蓄株を選定するための資料として、免疫記憶を醸成する最低期間と接種株についての関係を明らかにするために、初期接種株としてインドネシア株 2 回接種の 60、90 日後に初期接種株以外のベトナム株、チンハイ株を仮想パンデミック株として接種し、7 日後、21 日後に採血し、仮想パンデミック株に対する交叉免疫を惹起する最低期間を推定するとともに、プレパンデミック備蓄株の集約化の可能性を検討することを目的として実施した。2014 年 11 月より国立病院機構病院 7 施設で 202 名の健康成人を対象にワクチン接種を開始し、196 名が 60 日後あるいは 90 日後にベトナム株あるいはチンハイ株を接種した。ワクチン接種に伴って、2 例の重篤な有害事象が発現し、顔面神経麻痺症例は因果関係が否定できなかったため、厚生労働省に報告した。

仮想パンデミック株を想定したチンハイ株、ベトナム株接種 1 週後の接種株に対する GMT 変化倍率はチンハイ株接種 1 週後チンハイ株 2.87 倍 (60 日後)、3.04 倍 (90 日後)、ベトナム株接種 3 週後ベトナム株 2.50 倍 (60 日後) 3.32 倍 (90 日後) であり、さらに通常ワクチンの効果を判定する 3 週後の GMT 変化倍率はチンハイ株接種 3 週後チンハイ株 3.51 倍 (60 日後)、3.46 倍 (90 日後)、ベトナム株接種 3 週後ベトナム株 4.35 倍 (60 日後) 4.49 倍 (90 日後) であった。90 日後の方が GMT 変化倍率はやや高い傾向があるが、有意な差には至っていない。このことはインドネシア株 2 回接種後 60 日すれば少なくともチンハイ株、ベトナム株に対する基礎免疫が誘導される可能性を示唆している。なお、仮想パンデミック株接種 1 週後、3 週後には初期接種株として接種したインドネシア株に対する中和抗体価は GMT 変化倍率で 1 週後 5.06-7.23 倍、3 週後 8.00-11.48 倍まで増加した。また初期接種株でも仮想パンデミック株でもないアンフィ株に対しても交叉免疫性が認められた。ワクチン接種に伴う接種部位反応及び全身反応については因果関係が否定されない顔面神経麻痺症例を認めたが既存の試験結果と大きな違いは認められなかった。



研究協力者

羽金 和彦 独立行政法人国立病院機構栃木医療センター 統括診療部長  
菅 秀 独立行政法人国立病院機構三重病院 臨床研究部長  
坪井 知正 独立行政法人国立病院機構南京都病院 副院長  
橋爪 俊和 独立行政法人国立病院機構南和歌山医療センター 循環器科医長  
篠原 勉 独立行政法人国立病院機構高知病院 臨床研究部長  
谷本 安 独立行政法人国立病院機構南岡山医療センター 臨床研究部長  
八橋 弘 独立行政法人国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター長  
黒部 麻代 独立行政法人国立病院機構本部総合研究センター治験研究部治験推進室専門職  
難波菜穂子 独立行政法人国立病院機構本部総合研究センター治験研究部治験推進室主査

## A. 研究目的

2007年10月に承認された阪大微生物病研究会と北里研究所(現:北里第一三共ワクチン株式会社)の沈降インフルエンザワクチン(H5N1株)(以下「H5N1ワクチン」という。)はベトナム株(clade1)を用いて開発された。その後世界各地のH5インフルエンザの流行状況に応じて、新型インフルエンザのパンデミックが発生する前の段階で、パンデミックを引き起こす可能性のあるウイルスを基に製造されるプレパンデミックワクチンとして、インドネシア株(clade2.1)、アンフィ株(clade2.3)、チンハイ株(clade2.2)、エジプト株(clade 2.2)が製造・備蓄されている。2008年のH5N1ワクチン研究ではベトナム株既接種者にインドネシア株を接種した場合の中和抗体の幾何平均抗体価上昇倍率はベトナム株、インドネシア株、アンフィ株がそれぞれ23.1、36.7、35.8倍、アンフィ株を接種した場合は7.6、6.6、12.0倍であった。また、0.1%の確率で発生する重篤な副作用を95%捕捉するための安全性の研究としてアンフィ株を2,835名、インドネシア株を2,726名に接種したが、ワクチン接種後30日までの入院症例は8例で、うち因果関係が否定できないものの2例(発熱後の事象)のみであった。2010年のH5N1ワクチン研究ではインドネシア株既接種者にチンハイ株を接種した場合の倍率はベトナム株、インドネシア株、アンフィ株、チンハイ株それぞれ6.9、26.7、29.4、18.1倍、アンフィ株既接種者に対してはそれぞれ3.8、13.6、20.3、9.2倍であり、程度に差を認めたが既接種株、追加接種株以外にも幅広く交叉免疫性を認めた。さらに2010年H5N1ワクチン研究ではチンハイ株を初期2回接種半年後にチンハイ株を追加接種した場合には初期2回接種後にはチンハイ株にしか抗体価の上昇がみられなかった(6.8倍)が前述の4株に対してそれぞれ3.3、9.3、6.3、9.1倍と交叉免疫性が認められた。これらのことから初期接種時に異なる株を接種した場合に広い交叉免疫性が得られる可能性も考慮され、2011-12年のH5N1ワクチン研究でベトナム株に引き続いて3週後にインドネシア株を接種したが、幅広い交叉免疫性を誘導することはできなかった。ベトナム株とインドネシア株を初期接種1回、半年後に1回という4種類の組み合わせで基礎免疫誘導効果、交叉免疫性の検討も行ったが、株(clade)による組み合わせによって交叉免疫性に違いがあることが示唆されている。なお、チンハイ株を接種した被験者の保存血清を用い同じClade2.2のエジプト株に対するHI試験を国立感染症研究所で実施しているが、一定の交叉免疫性を認めている。し

かしながら、2011年ならびに2012年の発生患者数はエジプトが最多であることもあり、2012年にはエジプト株も備蓄されている。2010年に前述2社と同様の製造方法の化学及血清療法研究所の沈降インフルエンザワクチン(H5N1株)、2013年3月にデンカ生研の沈降インフルエンザワクチン(H5N1株)、さらに2013年6月バクスター・武田薬品工業の細胞培養インフルエンザワクチン(H5N1株)、2014年3月化血研の乳濁細胞培養インフルエンザHAワクチン(H5N1株)が製造販売承認された。

本研究ではプレパンデミック備蓄株の選定にあたり、仮想パンデミック株に対しても免疫記憶効果を発現する備蓄株を選定することが望まれるが、その免疫記憶を醸成する最低期間と接種株についての関係を明らかにすることを目的とする。

2007年秋に承認された沈降インフルエンザワクチンH5N1(以下、H5N1ワクチン)はベトナム株(Clade1)を用いて開発された。その後、世界各地のH5N1インフルエンザウイルスの流行状況に応じて、国家備蓄ワクチンとしてベトナム株に加えて、インドネシア株(Clade2.1)、アンフィ株(Clade2.3)、チンハイ株(Clade2.2)、エジプト株(Clade2.2)を用いて製造され、プレパンデミックワクチンとして備蓄されてきた。2008年以降に実施した臨床研究から①ベトナム株、インドネシア株、アンフィ株、チンハイ株による基礎免疫誘導効果を確認。(有効性発現は株毎に差異がある)、②初期2回接種後、半年以上して追加接種すると他の株に対する交叉免疫性が発現する。③同種株の初期2回の接種間隔について、3週間よりも6か月にした方が抗体価が高く上昇し、かつ交叉免疫性が出現する。④初期接種が1回では不十分である株が認められる、異種株の接種の順番によって免疫原性が異なる。⑤エジプト株の2回の接種間隔が90日以降では十分ではないが交叉免疫反応が認められることが示されてきた。薬事法の承認用法・用量で接種した被験者に対して2年後に異種株を接種すると初期接種した株に対する抗体価が上昇するとともに接種した株だけでなくそれ以外への交叉免疫が発現していることが確認されているが、交叉免疫を誘導する免疫記憶の発現に必要な期間については明らかでない。仮想パンデミック株に対する免疫記憶効果を発現する備蓄株を選定するための資料として、免疫記憶を醸成する最低期間と接種株についての関係を明らかにするために、初期接種株としてインドネシア株2回接種の60、90日後に初期接種株以外のベトナム株、チンハイ株を仮想パンデミック株として接種し、7日後、21日後に採血し、

仮想パンデミック株に対する交叉免疫を惹起する最低期間を推定するとともに、プレパンデミック備蓄株の集約化の可能性を検討することを目的とする。

## B. 研究方法

免疫記憶を醸成する最低期間と接種株についての関係を明らかにするために、初期接種株としてインドネシア株 2 回接種の 60、90 日後に初期接種株以外のベトナム株、チンハイ株を仮想パンデミック株として接種し、7 日後、21 日後に採血し、仮想パンデミック株に対する交叉免疫を惹起する最低期間を推定する。健常者 200 名を対象にインドネシア株を医薬品医療機器等法の承認用法用量で 2 回接種する。接種間隔は 2-4 週間とし、筋肉内接種とする。本ワクチンは筋肉内接種あるいは皮下接種として承認されており、免疫原性に差はないが、局所反応は筋肉内接種の方が少ないため、2008 年ならびに 2010 年、2011-12 年の H5 初期接種 2 回目から 60 日後あるいは 90 日後に、仮想パンデミック株が曝露することを想定したベトナム株 (Clade1) あるいはチンハイ株 (Clade2.2) を 1 回筋肉内接種する。パンデミック想定株に対する免疫反応が早期にえられるかどうかを確認するために、接種 1 週間後ならびに 3 週間後に中和抗体価を測定し、インドネシア株が交叉免疫を誘導できる期間を推定する。

チンハイ株 60 日後追加接種群、チンハイ株 90 日後追加接種群、ベトナム株 60 日後追加接種群、ベトナム株 90 日後追加接種群の 4 群、各群 50 名の多施設共同無作為化比較試験として実施する。「パンデミックインフルエンザに備えたプロトタイプワクチンの開発等に関するガイドライン」(薬食審査 1031 第 2 号 平成 23 年 10 月 31 日) の「7.3. 免疫原性の評価方法」の項目に少なくとも 1 群 50 例以上とされているので 1 群 50 例、4 群 200 例を目標症例数として設定する。

実施医療機関は

国立病院機構三重病院

国立病院機構栃木医療センター

国立病院機構南京都病院

国立病院機構南和歌山医療センター

国立病院機構高知病院

国立病院機構南岡山医療センター

国立病院機構長崎医療センター

とし、被験者は施設毎に置換ブロック法による無作為化割付を行った。

本試験の実施に当たっては薬事法承認外の投与方法となる試験も含まれるが、臨床研究に関する倫理指針に従い、補償保険を購入して実施する。十全な安全性を確保するためもあり、ワクチン接

種は原則として救急対応の可能とするため、臨床研究に関する倫理指針の定める倫理審査が実施できる病院内での接種を原則とする。

## 対象被験者

以下の選択基準をすべて満たし、かつ除外基準のいずれにも該当しない健康成人志願者を対象とする。

### 【選択基準】

- 1) H5N1 を対象とする 20 歳以上のワクチン未接種者
- 2) 接種後 5 年間の追跡調査を許諾する者
- 3) 該当する倫理審査委員会において承認を受けた文書による同意が得られ、臨床研究参加中の遵守事項を守り、本臨床研究計画書に定められた診察を受け、症状などの申告ができる者

### 【除外基準】

- 1) 明らかに H5 型インフルエンザの既往のある者 (被験者からの聴取による)
- 2) 食物や医薬品等によって、過去にアナフィラキシーを呈したことがあることが明らかな者
- 3) 重篤な心臓・血管系、血液系、呼吸器系、肝臓、腎臓、消化器系、神経精神疾患の現病歴のある者
- 4) 過去にギラン・バレー症候群や急性散在性脳脊髄炎の既往のある者
- 5) 本臨床研究開始前 4 か月以内 (接種日より計算) に、治験や他の臨床研究などに参加し投与を受けた者
- 6) 本臨床研究開始前 27 日以内に生ワクチン、または 6 日以内 (以上、接種日より計算) に不活化ワクチン・トキシソイドの投与を受けた者
- 7) 本臨床研究開始前 3 か月以内に輸血又はガンマグロブリン製剤の投与を受けた者、または 6 か月以内 (以上、接種日より計算) にガンマグロブリン製剤の大量療法 (200 mg/kg 以上) を受けた者
- 8) その他、臨床研究責任/分担医師が本臨床研究の被験者として不適当と判断した者

### 【接種要注意者 (接種の判断を行うに際し、注意を要する者)】

- 1) 本ワクチンの成分によってアナフィラキシーを呈したことがあることが明らかな者及び本ワクチンの成分又は鶏卵、鶏肉、その他鶏由来のもの、ホスホマイシンナトリウム、ゲンタマイシン硫酸塩、ミノサイクリン塩酸塩、ジベカシン硫酸塩に対してアレルギーを呈するおそれのある者
- 2) 心臓血管系疾患、腎臓疾患、肝臓疾患、血液疾患、発育障害等の基礎疾患を有する者
- 3) これまでの予防接種で接種後 2 日以内に発熱



- のみられた者及び全身性発疹等のアレルギーを疑う症状を呈したことがある者
- 4) 過去にけいれんの既往のある者
  - 5) 過去に免疫不全の診断がなされている者及び近親者に先天性免疫不全症の者がいる者
  - 6) 間質性肺炎、気管支喘息等の呼吸器系疾患を有する者
  - 7) 妊娠中の接種に関する安全性は確立していないので、妊娠又は妊娠している可能性のある婦人には接種しないことを原則とし、予防接種上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ接種すること。
  - 8) 上記に掲げる者のほか、本臨床研究のワクチン接種を行うに際し、注意を要する状態にある者

### ワクチン

- 1、2 回目接種：沈降インフルエンザワクチン H5N1「化血研」不活化インフルエンザウイルス (A/Indonesia/5/2005 (H5N1) (CDC-RG2) を HA 含量 (相当値) として 30 $\mu$ g 含有し、振り混ぜるとき、均等に白濁する液剤
  - 3 回目接種：沈降インフルエンザワクチン H5N1「ビケン」不活化インフルエンザウイルス (A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (NIBRG -14) を HA 含量 (相当値) として 30 $\mu$ g 含有し、振り混ぜるとき、均等に白濁する液剤
- または、  
沈降インフルエンザワクチン H5N1「北里第一三共」不活化インフルエンザウイルス (A/bar headed goose/Qinghai/1A/2005 (H5N1) (SJRJG-163222) を HA 含量 (相当値) として 30 $\mu$ g 含有し、振り混ぜるとき、均等に白濁する液剤

### 併用禁止薬剤及び療法

ワクチン接種後から最終抗体価測定までは、以下の薬剤及び療法の併用を禁止する。  
なお、有害事象の治療等の理由によりやむを得ず使用した場合、臨床研究責任／分担医師は、その薬剤名、用法・用量、使用期間、使用目的等について症例報告書に記載する。

- 1) 輸血、ガンマグロブリン製剤、免疫抑制剤、免疫抑制療法、抗リウマチ剤、鉄剤を除く造血剤、副腎皮質ホルモン剤（外用剤を除く）
  - 2) 他のワクチン  
他のワクチンの接種は禁止する。
- 但し被験者は以下の期間は併用可とする。

- ・生ワクチン：2 回目接種後 7 日後から 3 回目接種予定日（2 回目接種日から 60 あるいは 90 日 ±14 日（割り付けられた群による））の 28 日前まで

- ・不活化ワクチン：2 回目接種後 7 日後から 3 回目接種予定日（2 回目接種日から 60 あるいは 90 日 ±14 日（割り付けられた群による））の 14 日前まで但
- 3) 治験薬

### 中止基準

以下のいずれかに該当する被験者は、本臨床研究を中止する。

- 1) 同意取得後に、被験者自身が臨床研究参加の撤回を申し出た場合
- 2) 臨床研究責任／分担医師が、被験者が臨床研究計画を遵守できないと判断した場合
- 3) 除外基準に抵触することが判明した場合
- 4) その他、臨床研究責任／分担医師が臨床研究を中止するべきと判断した場合  
（例：「接種延期基準」に抵触するため、ワクチン接種が不可能など）

### 評価項目：

- 1) 免疫原性評価項目  
H5N1 亜型インフルエンザウイルスに対する中和抗体価
- 2) 安全性評価項目  
ワクチン接種後から最終抗体価測定までに発現した有害事象及び副反応の種類、程度、持続期間及び発現率を検討する。
- 3) H5N1 亜型インフルエンザ流行時の発症率等調査  
将来 5 年以内に H5N1 亜型インフルエンザが流行した場合、発症率等に基づき有効性を検討する。

### 健康観察日誌

- 1) 観察期間：各ワクチン接種日からワクチン接種後最長 28 日目まで
- 2) 観察項目：
  - a) 腋窩体温；被験者は、ワクチン接種後 7 日目まで、毎日腋窩体温を測定し、測定時間と腋窩体温を健康観察日誌に記録する。1 日のうち複数回測定した場合は、その日の最高体温と最低体温とを記録する。  
ワクチン接種後 7 日目を過ぎても、発熱（37.5℃以上）が認められた場合には腋窩体温測定を継続し、37.5℃未満に低下した日付と腋窩体温を記録する。
  - b) 接種部位反応；被験者は、ワクチン接種後 7 日目まで、接種部位の疼痛、発赤、腫脹、硬結、熱感、かゆみについて反応の有無を健康観察日誌に記録する。特にワクチン接種部位の発赤、腫脹、硬結が認められた場合には、長径を測定し健康観察日誌に記録する。

- c) 自覚症状、他覚所見；被験者は、自覚症状、他覚所見が認められた場合には症状が消失するまで観察を行い、健康観察日誌に記録する。  
全身症状：頭痛、倦怠感、鼻水  
その他：悪心、嘔吐、下痢、腹痛、関節痛、筋肉痛、悪寒戦慄、発汗増加等

安全性評価についてはワクチン接種（Day 0）後から事後観察日あるいはワクチン最終接種日から 28 日目までに発現した有害事象及び副反応の種類、程度、持続期間及び発現率を検討する。なお、事後観察日が 3 回目接種 28 日以前であった場合でも 3 回目接種後 28 日目までに有害事象が発現した場合にはできる限り捕捉する。「予防接種後副反応報告書」の別表を参考として用いる。入院等の 1) 重篤な有害事象、2) 副反応基準による報告、3) その他に分けて収集する。

なお、1) と 2) の安全性情報については研究者間で共有する。

**研究実施期間：**

2014 年 10 月～2015 年 4 月

【臨床研究スケジュール】

		来院①				来院②				来院③ <sup>*4</sup>		来院④ <sup>*5</sup>				来院⑤ <sup>*6</sup>				来院⑥ <sup>*7</sup>		
		ワクチン接種1回目		事後観察		ワクチン接種2回目		事後観察		採血		ワクチン接種3回目		事後観察		採血		事後観察		採血		
経過日(日) <sup>*1</sup>		0		1~7 8~		21		22~28 29~		42		81 or 111		82~87 or 112~117		88 or 118		89~101 or 119~131		102 or 132		
許容範囲(日)		-				±7				±7		±14				+3				+7		
		前 接種 後				前 接種 後						前 接種 後										
医療 機関	文書同意取得	○ <sup>*2</sup>																				
	診察	○	○ <sup>*3</sup>			○	○ <sup>*3</sup>			○	○	○ <sup>*3</sup>				○						○
	無作為化	○																				
	体温測定	○				○					○											
	採血(抗体価測定)	○									○	○					○					○
	ワクチン接種		○				○					○										
自宅	健康観察日誌 <sup>*8</sup> (体温測定、体調等観察)		○	○	△		○	○	△	△			○	○	○		○	○	△		△	△

○：必須、△：有害事象が生じた場合、網掛け：被験者来院日

\*1：ワクチン初回接種日(Visit①)をDay0とし、標準の経過日数。

\*2：文書同意はワクチン接種-7日~1回目接種前までに取得する。

\*3：ワクチン接種約30分後に実施する。

\*4：2回目のワクチン接種日から起算して21日±7日の幅をもたせる。

\*5：3回目ワクチン接種は、2回目のワクチン接種日から起算して60日または90日±14日の幅をもたせる。

\*6：3回目のワクチン接種日から起算して7+3日の幅をもたせる。

\*7：3回目のワクチン接種日から起算して21+7日の幅をもたせる

\*8：1回目接種時の健康観察日誌はVisit②で回収する。

2回目接種時の健康観察日誌はVisit③で回収する。ただし、2回目接種後28日目までに有害事象が発現した場合にはできる限り捕捉する。

3回目接種時の健康観察日誌はVisit⑥に回収する。ただし、3回目接種後28日目までに有害事象が発現した場合はできる限り捕捉する。



【結果】

被験者背景  
施設別人数

	男 (人)	女 (人)	合計 (人)
国立病院機構三重病院	7	13	20
国立病院機構栃木医療センター	20	12	32
国立病院機構京都病院	6	24	30
国立病院機構南和歌山医療センター	18	12	30
国立病院機構高知病院	29	1	30
国立病院機構南岡山医療センター	18	12	30
国立病院機構長崎医療センター	16	14	30
合計	114 (56.4%)	88 (43.6%)	202

年齢

		平均値 (歳)	例数 (人)	標準偏差 (歳)
チンハイ株	男	38.9	27	10.8
60日後追加 接種群	女	35.9	23	10.2
	合計	37.5	50	10.5
ベトナム株	男	41.4	25	13.2
60日後追加 接種群	女	35.7	25	10.6
	合計	38.6	50	12.2
チンハイ株	男	36.9	32	10.8
90日後追加 接種群	女	31.5	19	9.8
	合計	34.9	49	10.7
ベトナム株	男	39.8	30	11.3
90日後追加 接種群	女	28.0	21	7.6
	合計	34.9	51	11.4
合計	男	39.1	114	11.4
	女	33.0	88	10.1
	合計	36.5	202	11.2

治療中の疾患

あり	26	12.9%
なし	176	87.1%
高血圧	10	5.0%
うち薬服用	10	5.0%

脂質異常症 9 4.5%  
うち薬服用 8 4.0%

糖尿病 1 0.5%  
うち薬服用 0 0.0%

他疾患あり 14 6.9%

他疾患の内訳(複数回答)

喘息	2
アトピー性皮膚炎	1
花粉症	1
咳喘息疑い	1
逆流性食道炎	1
高尿酸血症	2
子宮腺筋症	1
正常眼圧緑内障	1
鉄欠乏性貧血	1
慢性胃炎	1
緑内障	1
肛門周囲膿瘍	1
うつ病	1
花粉症(スギ)	1
胸背部痛	1

既往疾患

甲状腺癌	1
心房中隔欠損	1
不安定狭心症	1
肺静脈環流異常	1
顎下腺腫	1

気管支喘息既往 7

薬疹など既往

はい	12
はい(えび)	2
はい(そば)	1
はい(ペニシリン)	1
はい(卵)	1

## 有効性評価

インドネシア株 1 回目接種者 202 名、2 回目接種者 199 名（2 回目接種しなかった 3 名の理由は安全性評価の項に記載）であった。同意撤回 2 名、体調不良 1 名を除く 196 名が 2 回目接種後 60 日あるいは 90 日後に感染被曝を模倣した 3 回目を接種し、3 回目接種前および、接種 1 週、3 週後に抗体価採血を行った。

チンハイ株 90 日後追加接種群の 1 例がベトナム株の接種をされていることが判っている。その 1 例については以下の有効性評価から除外している。また、チンハイ株 60 日後追加接種群の 1 例が 3 回目チンハイ株接種 3 日後に顔面神経麻痺が発現し、同日よりプレドニゾロン 60 mg の投与を受けているため、有効性評価から除外した。

従って、有効性評価は PPS として 194 名の結果をまとめた。

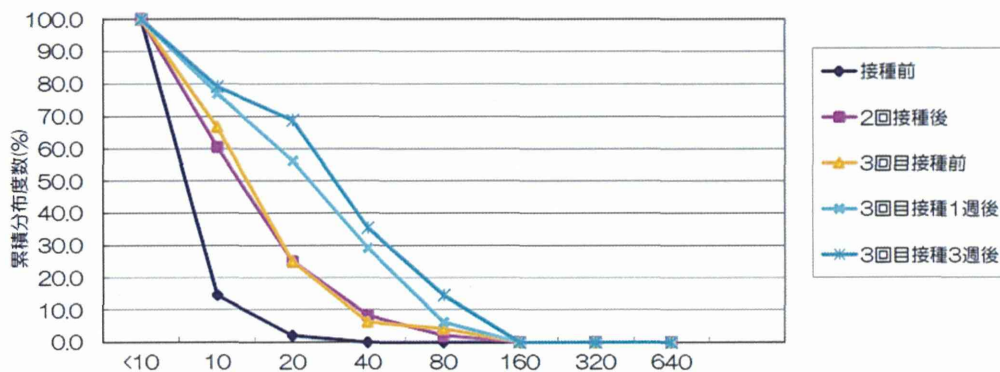
チンハイ株 60 日後追加接種群	48 名
ベトナム株 60 日後追加接種群	50 名
チンハイ株 90 日後追加接種群	48 名
ベトナム株 90 日後追加接種群	48 名

各群それぞれのチンハイ株、ベトナム株、インドネシア株、およびアンフィ株に対する中和抗体価を用いた逆累積度数分布図および最後に接種前と比較した幾何平均抗体価（GMT）増加倍率を示した。

H5N1型インフルエンザウイルスに対する中和抗体価の頻度分布と逆累積度数分布図  
チンハイ株 60日チンハイ群

項目	回数	例数	抗体価 <sup>1)</sup>							
			<10	10	20	40	80	160	320	640
NT抗体価	接種前	48	41	6	1					
	2回接種後	48	19	17	8	3	1			
	3回目接種前	48	16	20	9	1	2			
	3回目接種1週後	48	11	10	13	11	3			
	3回目接種3週後	48	10	5	16	10	7			

項目	回数	例数	抗体価 <sup>1)</sup>								
			<10	10	20	40	80	160	320	640	
NT抗体価	接種前	100	(0,70)	(1,00)	(1,30)	(1,60)	(1,90)	(2,20)	(2,51)	(2,81)	(3,11)
	2回接種後	100	15	2	0	0	0	0	0	0	0
	3回目接種前	100	60	25	8	2	0	0	0	0	0
	3回目接種1週後	100	67	25	6	4	0	0	0	0	0
	3回目接種3週後	100	77	56	29	6	0	0	0	0	0



H5N1型インフルエンザウイルスに対する中和抗体価の頻度分布と逆累積度数分布図  
チンハイ株 60日ベトナム群

項目	回数	例数	抗体価 <sup>1)</sup>							
			<10	10	20	40	80	160	320	640
NT抗体価	接種前	50	41	8	1					
	2回接種後	50	23	15	9	3				
	3回目接種前	50	27	15	6	2				
	3回目接種1週後	50	13	10	15	10	2			
	3回目接種3週後	50	3	9	11	14	8	5		

項目	回数	例数	抗体価 <sup>1)</sup>								
			<10	10	20	40	80	160	320	640	
NT抗体価	接種前	100	(0,70)	(1,00)	(1,30)	(1,60)	(1,90)	(2,20)	(2,51)	(2,81)	(3,11)
	2回接種後	100	18	2	0	0	0	0	0	0	0
	3回目接種前	100	54	24	6	0	0	0	0	0	0
	3回目接種1週後	100	46	16	4	0	0	0	0	0	0
	3回目接種3週後	100	74	54	24	4	0	0	0	0	0

