

厚生労働行政推進調査事業費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
分担研究報告書

症例対照研究によるロタウイルスワクチンの有効性評価

研究協力者：荒木 薫 佐賀大学医学部社会医学講座予防医学分野
研究分担者：原 めぐみ 佐賀大学医学部社会医学講座予防医学分野
研究協力者：高崎 好生 高崎小児科医院
研究協力者：進藤 静生 しんどう小児科
研究協力者：山下 祐二 やました小児科医院
研究協力者：横山 隆人 横山小児科医院
研究協力者：清松 由美 きよまつ小児科医院

研究要旨

ロタウイルスワクチンの有効性を対象者の特性などの交絡因子を補正したうえで評価する目的で、2014年、2015年ロタウイルス胃腸炎シーズン中に佐賀県及び福岡県内の小児医療機関14施設において、2か月以上3歳未満の乳幼児を対象にtest-negative designによる多施設共同症例対照研究を実施した。急性胃腸炎症状で受診した乳幼児には全例「迅速検査」を実施し、陽性の場合を症例、陰性の場合を対照とした。症例487人、対照925人より、自記式調査票および診療情報から性、年齢、出生体重、母乳育児の有無、基礎疾患、集団保育の有無、居住地、両親の年齢、同胞の有無、症状、ロタウイルスワクチン接種歴、ワクチンの種類、接種回数、最終接種日、胃腸炎症状（発症日、受診日、症状）、迅速検査結果、治療（外来内服治療、点滴、入院など）の情報を得た。症例群は対照群に比べて月齢が高く、集団保育されている児と同胞がいる児の割合が有意に高く、また臨床症状においても症例群の方が、重症例が有意に多かった。ロタウイルス胃腸炎罹患に対する「ワクチン接種1回以上」の粗ORは0.1(95% CI: 0.14-0.25)、交絡因子を調整因子、重症度・病院の所在地・発症年度を層化因子として調整したORは0.20(95% CI: 0.14-0.28)であった。最終モデルによるワクチン有効率は、80.2% (95% CI: 72.5-85.7)あり、有意な発病防止効果を認めた。また、点滴加療または入院を要したロタウイルス胃腸炎に対する有効性は97.3% (95% CI: 80.4-92.3)と、重症例に対して高い効果を認めることが示唆された。

A. 研究目的

ロタウイルスは乳幼児の急性重症胃腸炎の主な原因ウイルスである。世界中では5歳以下の乳幼児のうち、年間約23万人が外来を受診し、約230万人が入院を必要としている¹⁾。また、発展途上国を中心に推定43万人が死亡している²⁾。衛生環境のよい先進国では重症脱水による死亡例はまれであるが、入院治療費などの経済的負担³⁾や、脳炎脳症⁴⁾、筋炎⁵⁾、突然死⁶⁾などの合併症が問題となっている。我が国でも6歳未満の小児のうち年間約80万人がロタウイルス胃腸炎で外来を受診⁷⁾、5歳未満の7800人が入院しており⁸⁾、家族や医療機関にとっても、その疾病負担は大きいと考えられる。

日本では、ロタウイルス胃腸炎の重症化を予防

する目的で、2011年11月より弱毒化ヒトロタウイルスワクチン(Rotarix[®]: GlaxoSmithKline Biologicals, Rixensart, Belgium, 以下RV1)が、2012年7月より5価再集合体ロタウイルスワクチン(RotaTeq[®]: Merck & Co.Inc., Whitehouse Station, New Jerzy, USA, 以下RV5)が、それぞれ開始された。販売前の臨床試験では、入院を含む重症ロタウイルス胃腸炎に対して、高い有効性(efficacy)が報告されている(79-96%)^{9,10)}。しかし、臨床試験は、管理された厳密な体制での評価であり、実際の一般集団下で得られる有効性(effectiveness)を評価することが必要である。

我々はスクリーニング法を用いて、発売直後の2011年から13年のロタウイルスワクチンの有効

性を算出し、2016年4月に日本で初めてのロタウイルスワクチンの有効性として報告した¹¹⁾。しかし、対象者の保健行動や受診行動、基礎疾患などの交絡要因の考慮はしておらず、引き続き症例対照研究を用いた前向き調査を実施することが課題であった。

今回、**test-negative design** を用いて有効性の評価を行った。この手法は比較的新しい研究デザインで、諸外国のロタウイルスワクチンの有効性の評価方法としても多く見受けられる¹²⁻¹⁴⁾。流行期に嘔吐下痢症状を来し受診した患者を対象とし、全患者に迅速診断を施行し、ロタウイルス陽性者を「症例」陰性者を「対照」と分類する。これら症例と対照のワクチン接種状況を比較して、有効性を算出する。発病後の受診行動が症例・対照で似通うこと、また症状の程度に関わらず全患者に検査を行うことから、受診行動に起因するバイアスや、病原検査の適応によるバイアスを制御することができるという利点がある¹⁵⁾。

本研究の目的は、**test-negative design** を用いて対象者の特性などの交絡要因を補正したうえでワクチンの有効性を評価すること、および基礎疾患や感染経路、社会経済的因子などロタウイルス感染症に関連する因子を検討することである。

B. 研究方法

研究デザインは多施設共同症例・対照研究 (**test-negative design**) である。研究期間は、平成26年(2014シーズン)、平成27年(2015シーズン)のロタウイルス胃腸炎流行期である1月から5月とした。参加施設は、佐賀県内あるいは福岡県内の小児医療機関で、本研究に同意が得られた14施設である。(えがしら小児科、橋野こどもクリニック、ささきこどもクリニック、こが内科こどもクリニック、高島病院、志田病院、佐賀中部病院、佐賀県医療センター好生館、高崎小児科医院、しんどう小児科、横山小児科医院、やました小児科医院、きよまつ小児科医院)。対象者の基準は生後2か月以上3歳未満の乳幼児で、急性胃腸炎症状(嘔吐・下痢・嘔吐や下痢に伴う発熱またはけいれん)で、病院時間内に受診した者とした。対象者の保護者に対し、文書による研究の説明を行い、書面での研究参加の同意、および調査票への記入を依頼した。保護者への調査項目は、性、年齢、出生体重、母乳育児の有無、基礎疾患、集団保育の有無、居住地、両親の最終学歴、同胞の有無、症状、ロタウイルスワクチン

接種歴である。また、診療情報から、性、年齢、診断名、基礎疾患、症例の発症日、受診日、臨床症状を転記した。ロタウイルス胃腸炎に罹患歴のある例、最終接種日から2週間以内に発症した例は、本研究の対象から除外した。

報告急性胃腸炎症状で受診した乳幼児には、重症度や医師の判断に関わらず全例に、免疫クロマト法で糞便中のロタウイルス抗原の有無を同定した(迅速診断)。陽性の場合を「症例」、陰性の場合を「対照」とした。迅速検査キットは全施設ともイムノカード®SD ロタ・アデノを使用した。糞便検体は、原則として診療中に採取したものを使用し、残検体は-18℃(冷凍庫)で保存した。迅速検査で陽性と判定した便検体は、札幌医科大学に送付し、**real-time RT-PCR 法**(以下PCR法)で遺伝子型を確認した。

臨床症状の重症度は **Vesikari** スコアを参考に下記の①～③の合計により独自にスコア化した(**Severity score**)。①嘔吐回数(なし:0点、1-3回:1点、4-5回:2点、6回以上:3点)②嘔吐回数(なし:0点、1回:1点、2-4回:2点、5回以上:3点)③最高体温値(37.0度以下:0点、37.1-38.4度:1点、38.5-38.9度:2点、39.0度以上:3点)。全患者の合計得点の分布により、各重症度を決定した。

また、受診1-2か月後に、改善に至るまでの治療経過を調査した。再診がないものは電話連絡で確認した。外来(内服加療)、外来(点滴加療)、入院加療の3つに分類した。

必要サンプルサイズは、両側検定で有意水準 <0.05 ($\alpha = 0.05$)、検出力90%($\beta = 0.10$)、佐賀市内のロタウイルスワクチンの接種率を20%~30%、ワクチンの有効性が70~80%とすると、症例:対照=1:1とすると、症例、対照が64~143ずつ必要と推計された。

統計解析は、多重ロジスティック回帰モデル(**conditional model**)により、月齢、同胞・集団保育の有無、調査シーズン、調査施設の所在地、重症度を説明変数として調整したうえで、ロタウイルス胃腸炎に対するワクチン接種のオッズ比(**OR**)と95%信頼区間(**CI**)を計算し、 $(1-OR) \times 100(\%)$ の式を用いて有効性を算出した。ワクチン有効性の推計は接種回数、ワクチン種類別に行い、年齢、重症度、治療経過、遺伝子型別の層別化解析も行った。全ての解析は、**SAS version 9.3**を用いて行った。

(倫理面への配慮)

本研究は対象児の保護者に対して協力依頼をする際に、文書による説明を行い、調査票に記入することにより同意を得たものとみなした。また、不利益を被ることなく参加を拒否できる機会を保証した。本研究計画は佐賀大学医学部倫理委員会での審査・承認を得ている。また、必要に応じて各調査施設における倫理委員会の審査・承認を得ている。

C. 研究結果

対象患者は1519名であった。そのうち同意を得られ調査票に回答したのが1491名であった。症状発症前にロタウイルス胃腸炎に既に罹患したもの(70名)、ロタウイルスワクチンの接種歴が不明なもの(1名)、ワクチン接種後14日以内に受診したもの(4名)、迅速検査で陽性であったがPCR法では陰性であったもの(1名)を除外し、1412名を解析対象とした。(図1)ロタウイルス迅速診断検査の結果により487名(34.5%)が症例(ロタウイルス陽性)、925名(65.5%)が対照(ロタウイルス陰性)となった。表1に、症例と対照の特性と臨床症状の比較を示す。症例群は対照群に比べて月齢、集団保育されている児の割合、同胞がいる児の割合が有意に高かった。また、2015シーズンは2014シーズンに比べ、症例の割合が有意に高く、ロタウイルスが流行したシーズンと考えられた。母乳栄養の有無については影響が大きいと思われる12か月未満で比較したが、症例と対照に有意差は見られなかった。

臨床症状の比較では、下痢、嘔吐、熱を呈する割合はいずれも症例が有意に高かった。嘔吐の回数は症例の方が多く、最高体温値も高かった。Severity scoreでは、全患者の平均が3.42(SD ± 1.9)、5点以上に全患者の25%、7点以上に10%が属していた。これらを症例と対照間で比較すると、Severity score 5点以上が、症例231名(47.4%)、対照124名(13.4%) ($p < 0.01$)、Severity score 7点以上が、症例69名(14.1%)、対照21名(2.3%) ($p < 0.01$)と症例の方が有意に高スコアに属していた。また、経過中に痙攣を来した例も症例の方が有意に多かった。($p = 0.07$)

受診後の経過について検討できたのは、1010人(症例395名、対照615名)であった。点滴を要したのが、症例64名(16.2%)、対照16名(2.6%) ($p < 0.01$)、入院を要したのが、症例11名(2.8%)、

対照5名(0.8%) ($p < 0.01$)と、症例の方がより高度の治療介入を必要とした。

図2にロタウイルス胃腸炎患者の遺伝子型を示す。G1P[8](48%)、G9P[8](35%)が大部分を占めた。また、免疫クロマト法で陽性と判定されたが、PCR法でG,P遺伝子型のいずれも同定ができなかったのは1名のみであった。

Test-negative designに基づくロタウイルス胃腸炎に対するワクチン接種の有効性を表2に示した。症例中ワクチンを接種していたものは67名(13.8%)、対照では427名(46.2%)であった。ワクチン接種のCrude ORは0.19(95% CI : 0.14-0.25)、月齢、集団保育の有無、同胞の有無で調整したORは0.19(95% CI : 0.14-0.25)、更に重症度、発症年度と受診病院の所在地で調整したORは0.20(95% CI : 0.14-0.28)であった。これらより算出された、ロタウイルス胃腸炎罹患に対するロタウイルスワクチン(1回以上)の有効性は、80.2%(95% CI : 72.5-85.7)であった。また、部分接種(RV1を1回接種、またはRV5を1回または2回接種)の有効性は70.8%(95% CI : 4.1-91.1)と十分な効果を認めた。ワクチン種類別では、RV5の有効性が80.7%(95% CI : 69.2-87.9)、RV1が80.4%(95% CI : 70.1-87.2)と2つのワクチンの有効性に差はみられなかった。

表3に年齢毎のワクチン有効性を示した。0歳児(6-11か月)では、症例中に完全接種をしているものが少なく、2つのワクチンを併せて検討した。年齢を経る毎にオッズ比は上昇していた。ワクチン有効性は0歳児が86.7%(95% CI : 66.5-94.8)、1歳児ではRV5、RV1の完全接種の有効性が82.9%(95% CI : 68.5-90.7)、83.1%(95% CI : 68.0-91.0)、2歳児では、68.4%(95% CI : 21.8-87.2)、73.1%(95% CI : 44.0-87.1)であった。

重症度別では、Severity score 5点以上、7点以上に対するワクチン有効性がそれぞれ87.7%(95% CI : 80.4-92.3)、91.4%(95% CI : 78.1-96.6)と初期症状が重篤な例ほど、高い有効性を示した。治療別にみると、点滴を要した症例で、ロタウイルスワクチンを接種していたものが2名(0.5%)、入院を要した症例でワクチンを接種していたのは0名であった。(表4)点滴加療または入院を要したロタウイルス胃腸炎に対するワクチンオッズ比は、0.027(95% CI : 0.006-0.11)、有効性は97.3%(95% CI : 80.4-92.3)であった。

遺伝子型別のワクチン有効性では、G1P[8]株に対するRV5、RV1の有効性がそれぞれ85.1% (95% CI: 71.3-92.3)、88.9% (95% CI: 75.8-94.9)、G2P[4]株では87.7% (95% CI: 4.1-98.4)、80.1% (95% CI: 29.9-94.4)であり、2つのワクチンを比較すると、G1P[8]に対してはRV1が、G2P[4]についてはRV5がより高い有効性を示していた。G9P[8]についてはどちらのワクチンも有効性は低かった。(表5)

D. 考察

本研究は日本におけるロタウイルスワクチン市販後のワクチンの有効性を明らかにすることを目的として、test-negative designを用いた疫学研究を実施した。交絡因子と発症地、発症年度、重症度を説明変数として調整したワクチン有効率は、発病防止に80.2% (95% CI: 72.5-85.7)、点滴・入院を予防するのに97.3% (95% CI: 80.4-92.3)といずれも有意な効果を認めた。また、2つのワクチンの有効性に差異はなかった。本結果は日本におけるロタウイルスワクチンの有用性を支持していると考えられる。

現在の日本では、米国の疾病対策予防センター (Centers for Disease Control and Prevention: CDC) などが実施するような公的なワクチン接種登録や、ロタウイルス胃腸炎による入院についてのサーベイランスや入院時のデータベースが存在しない。更に、ロタウイルスワクチンは希望者のみが接種する「任意接種」という位置づけであり、各自治体で児の接種歴を包括的に把握することも不可能である。以上より、日本でロタウイルスワクチンの有効性を評価するための疫学研究を行うことは困難を伴うものであり、本結果は日本における市販後のワクチンの有効性として貴重な報告である。

今日まで、ロタウイルスワクチンの市販後の有効性に関する研究がいくつか行われ、高い有効性を示している。ほとんどが症例対照研究で行われており、日本のように先進国かつロタウイルスワクチンが任意接種の国 (スペイン^{16,17)}、ドイツ¹⁸⁾、台湾¹⁹⁾、ポルトガル²⁰⁾ は、定期接種化している国 (アメリカ²¹⁾、ベルギー²²⁾) と比較し、接種率は低いものの有効性には大きな違いはない。また、既知の国内試験による有効率^{9,10)}とも同程度であった。

本研究では、年齢別に有効性を算出しワクチン有

効性の経時的変化を確認できた。オッズ比は年齢が上がる毎に上昇し、特に2歳代ではワクチン有効性は低く見積られた。年齢が上がるに従い、非接種者の中に感染者、すなわち抗体保有者が増えるため、過小評価になっている可能性が考えられる。

遺伝子型別ワクチン種類別に有効性を検討できたことも大変興味深い。G1P[8]の単価ワクチンであるRV1は、G1P[8]に対しては高い有効性を認めた。血清型の異なるG2P[4]に対しての交差防御能が懸念されていたが、RV5と比較し低くはあるが、十分な予防効果を認めた。G9P[8]に対してはどちらのワクチンも低い有効性を示した。ボリビアにおけるロタウイルス胃腸炎入院に対するRV1の有効性はG9P[8]株、G2P[4]株がそれぞれ80% (95% CI: 60-90)、59% (95% CI: 7-78)でありG2P[4]に対する有効性が低く、本研究の結果とは異なる結果であった¹⁴⁾。ワクチンの有効性を遺伝子型別に検討した報告は世界でもまだ少なく、更なる見当が期待される。またワクチン接種率の向上に伴い、今後はワクチン防御から逃れた株の出現や、優勢遺伝子型の変化、リアソータントによる変異株の出現も予想され、ロタウイルス遺伝子型分布の長期的な観察も必要であろう。

Test-negative designは、比較的新しい概念の研究デザインであり、最大の利点は、症例と対照の受診行動によるバイアスを回避できることである。現在は主にインフルエンザワクチンの有効性で多く用いられている^{23,24)}。ロタウイルスワクチンについては、Schwartzら²⁵⁾がアジア、アフリカ地域の3か国で行われたランダム化プラセボ対象試験と7か国で行われたTest-negative designによる有効性を比較し、ほぼ同等の値であったこと、Tateら²⁶⁾がTest-negative designによる対照群と、住民対照群または病院対照群 (traditional controls) から算出された有効性を比較し、両者が近似することを報告した。本結果も国内臨床試験の結果と遜色なくTest-negative designは、ロタウイルスワクチンの有効性の検討に有用な手法であると言える。

Test-negative designでは、全ての対象が検査されねばならないが、日本の臨床の現場において、ロタウイルス胃腸炎は軽症例であれば特別な治療は不要であり、診断は必須ではない。我々は急性胃腸炎で受診した全患者を対象と登録し、全例に迅速便検査を行うことができた。これにより、医療者による病原検査の適応バイアスを制御できたことは、本研

究の大きな強みである。また、ワクチン接種者と非接種者では、感染後発症の重症度が異なり、受診行動に影響を及ぼす可能性がある。例えば、非接種者は重症なため受診しやすく診断が付きやすいことに対し、接種者は症状が軽いため受診をしないかもしれない。その結果、症例でワクチン接種率が低く、対照で接種率が高く推計されると、ワクチン有効性は過大評価される恐れがある。よって、重症度を層化したオッズ比で有効性を算出した。

本調査にはいくつか限界点がある。1つ目は、重症度の比較に、独自にスコア化したものを用いた点である。ロタウイルス胃腸炎に代表される小児の急性胃腸炎の重症度を把握するものとして、Vesikari Score があり²⁷⁾、国内試験でも使用されている⁹⁾。これらは下痢と嘔吐の持続時間が指標となっており²⁸⁾、本研究の対象の多くが、早期に病院を受診し初期の時点で治療介入される例であることを考慮すると、Vesikari Score を用いて重症度を比較するのは難しい。今回我々は Vesikari Score の一部を利用し、病院受診時点の各症状をスコア化した。全体の上位 25% (Severity score 5 点以上)、10%以上 (Severity score 7 点以上) を重症例とみなしており、本研究での胃腸炎の重症度を表す指標としては、十分な根拠をもつと思われる。

2つ目は、症例は遺伝子型の判定で決定しているが、対照は迅速検査の結果に起因しており、偽陰性の存在が否定できない点である。しかし、本研究に用いた迅速キット (イムノカード®SD ロタ・アデノ) の相関性試験成績は感度 100%、特異度 99.7%と診断精度は高く、その影響は限りなく低い。

3つ目は、本研究の対象者の大部分が 1 次施設を受診したものに限定している点である。感染後の発症が重篤であれば、救急受診や入院施設を持つ病院を受診しやすくなり、治療もより高度になる可能性が高い。本研究結果では、点滴または入院を要した胃腸炎患者は症例・対照ともに少なく、入院を要した患者の中にワクチン接種者はいなかったため、入院に対する有効性は算出できなかった。我々は 2012/13 シーズンに 2 次・3 次施設を対象とし、後方視的にロタウイルスワクチンの有効性を評価した¹¹⁾。入院に対する有効性は 88.8% (95% CI : 34.3-100.0) であり、重症例に対し予防効果が高いという点では結果が一致している。

最後に、本研究は、2015、2016 シーズンに佐賀・福岡県の病院を対象にしており、別シーズン、別地

域で実施した場合に、同じ結果が得られるかは疑問な点である。しかし本結果における有効性は先進国からの報告と類似しており、日本の報告としての妥当性は高いと言える。更に堅固なものとするためにも、今後も別シーズン、別地域の更なる研究結果の蓄積が必要であり、ロタウイルスのサーベイランス体制やワクチン接種登録の構築が望まれる。

E. 結論

ロタウイルスワクチンの有効性を症例対照研究 (test-negative design) で評価した。2015 年、2016 年の 1 月から 6 月にかけて 2 か月以上 3 歳未満の乳幼児を対象に調査を実施したところ、ロタウイルス胃腸炎に対するワクチンの有効性は 80.2% (95% CI : 72.5-85.7) と推計された。点滴・入院に対する有効性は 97.3% (95% CI : 80.4-92.3) と高値であった。この結果は、日本におけるロタウイルスワクチンの有用性を支持するものである。

参考文献

- 1) Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 565-72.
- 2) Tate JE, Burton AH, Boschi-Pinto C, Steele AD, Duque J, Parashar UD, Network W-cGRS. 2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2012; 12: 136-41.
- 3) Nakagomi T, Kato K, Tsutsumi H, Nakagomi O. The burden of rotavirus gastroenteritis among Japanese children during its peak months: an internet survey. *Jpn J Infect Dis* 2013; 66: 269-75.
- 4) Kawamura Y, Ohashi M, Ihira M, Hashimoto S, Taniguchi K, Yoshikawa T. Nationwide survey of rotavirus-associated encephalopathy and sudden unexpected death in Japan. *Brain Dev* 2014; 36: 601-7.
- 5) Grech V, Calvagna V, Falzon A, Mifsud A. Fatal, rotavirus-associated myocarditis and pneumonitis in a 2-year-old boy. *Ann Trop*

- Paediatr 2001; 21: 147-8.
- 6) Nakano I, Taniguchi K, Ishibashi-Ueda H, Maeno Y, Yamamoto N, Yui A, Komoto S, Wakata Y, Matsubara T, Ozaki N. Sudden death from systemic rotavirus infection and detection of nonstructural rotavirus proteins. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 4382-5.
 - 7) Yokoo M, Arisawa K, Nakagomi O. Estimation of annual incidence, age-specific incidence rate, and cumulative risk of rotavirus gastroenteritis among children in Japan. *Jpn J Infect Dis* 2004; 57: 166-71.
 - 8) Ito H, Otabe O, Katsumi Y, Matsui F, Kidowaki S, Mibayashi A, Nakagomi T, Nakagomi O. The incidence and direct medical cost of hospitalization due to rotavirus gastroenteritis in Kyoto, Japan, as estimated from a retrospective hospital study. *Vaccine* 2011; 29: 7807-10.
 - 9) Kawamura N, Tokoeda Y, Oshima M, Okahata H, Tsutsumi H, Van Doorn LJ, Muto H, Smolenov I, Suryakiran PV, Han HH. Efficacy, safety and immunogenicity of RIX4414 in Japanese infants during the first two years of life. *Vaccine* 2011; 29: 6335-41.
 - 10) Iwata S, Nakata S, Ukae S, Koizumi Y, Morita Y, Kuroki H, Tanaka Y, Shizuya T, Schödel F, Brown ML, et al. Efficacy and safety of pentavalent rotavirus vaccine in Japan: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. *Hum Vaccin Immunother* 2013; 9: 1626-33.
 - 11) Araki K, Hara M, Sakanishi Y, Shimanoe C, Nishida Y, Matsuo M, Tanaka K. Estimating rotavirus vaccine effectiveness in Japan using a screening method. *Hum Vaccin Immunother* 2015; 0.
 - 12) Doll MK, Buckeridge DL, Morrison KT, Gagneur A, Tapiero B, Charest H, Quach C. Effectiveness of monovalent rotavirus vaccine in a high-income, predominant-use setting. *Vaccine* 2015; 33: 7307-14.
 - 13) Bar-Zeev N, Kapanda L, Tate JE, Jere KC, Iturriza-Gomara M, Nakagomi O, Mwansambo C, Costello A, Parashar UD, Heyderman RS, et al. Effectiveness of a monovalent rotavirus vaccine in infants in Malawi after programmatic roll-out: an observational and case-control study. *Lancet Infect Dis* 2015; 15: 422-8.
 - 14) Patel MM, Patzi M, Pastor D, Nina A, Roca Y, Alvarez L, Iniguez V, Rivera R, Tam KI, Quaye O, et al. Effectiveness of monovalent rotavirus vaccine in Bolivia: case-control study. *BMJ* 2013; 346: f3726.
 - 15) Foppa IM, Haber M, Ferdinands JM, Shay DK. The case test-negative design for studies of the effectiveness of influenza vaccine. *Vaccine* 2013; 31: 3104-9.
 - 16) Castilla J, Beristain X, Martínez-Artola V, Navascués A, García Cenoz M, Alvarez N, Polo I, Mazón A, Gil-Setas A, Barricarte A. Effectiveness of rotavirus vaccines in preventing cases and hospitalizations due to rotavirus gastroenteritis in Navarre, Spain. *Vaccine* 2012; 30: 539-43.
 - 17) Bellido-Blasco JB, Sabater-Vidal S, Salvador-Ribera MeM, Arnedo-Pena A, Tirado-Balaguer MD, Meseguer-Ferrer N, Silvestre-Silvestre E, Romeu-García M, Herrero-Carot C, Moreno-Muñoz MR. Rotavirus vaccination effectiveness: a case-case study in the EDICS project, Castellón (Spain). *Vaccine* 2012; 30: 7536-40.
 - 18) Adlhoch C, Hoehne M, Littmann M, Marques AM, Lerche A, Dehnert M, Eckmanns T, Wichmann O, Koch J. Rotavirus vaccine effectiveness and case-control study on risk factors for breakthrough infections in Germany, 2010-2011. *Pediatr Infect Dis J* 2013; 32: e82-9.
 - 19) Chang WC, Yen C, Wu FT, Huang YC, Lin JS, Huang FC, Yu HT, Chi CL, Lin HY, Tate JE, et al. Effectiveness of 2 rotavirus vaccines against rotavirus disease in Taiwanese infants. *Pediatr Infect Dis J* 2014; 33: e81-6.
 - 20) Marlow R, Ferreira M, Cordeiro E, Trotter C, Januário L, Finn A, Rodrigues F. Case Control Study of Rotavirus Vaccine Effectiveness in Portugal during Six Years

- of Private Market Use. *Pediatr Infect Dis J* 2014.
- 21) Cortese MM, Immergluck LC, Held M, Jain S, Chan T, Grizas AP, Khizer S, Barrett C, Quaye O, Mijatovic-Rustempasic S, et al. Effectiveness of monovalent and pentavalent rotavirus vaccine. *Pediatrics* 2013; 132: e25-33.
- 22) Braeckman T, Van Herck K, Meyer N, Pirçon JY, Soriano-Gabarró M, Heylen E, Zeller M, Azou M, Capiou H, De Koster J, et al. Effectiveness of rotavirus vaccination in prevention of hospital admissions for rotavirus gastroenteritis among young children in Belgium: case-control study. *BMJ* 2012; 345: e4752.
- 23) Shinjoh M, Sugaya N, Yamaguchi Y, Tomidokoro Y, Sekiguchi S, Mitamura K, Fujino M, Shiro H, Komiyama O, Taguchi N, et al. Effectiveness of Trivalent Inactivated Influenza Vaccine in Children Estimated by a Test-Negative Case-Control Design Study Based on Influenza Rapid Diagnostic Test Results. *PLoS One* 2015; 10: e0136539.
- 24) Jackson ML, Nelson JC. The test-negative design for estimating influenza vaccine effectiveness. *Vaccine* 2013; 31: 2165-8.
- 25) Schwartz LM, Halloran ME, Rowhani-Rahbar A, Neuzil KM, Victor JC. Rotavirus vaccine effectiveness in low-income settings: An evaluation of the test-negative design. *Vaccine* 2017; 35: 184-90.
- 26) Tate JE, Patel MM, Cortese MM, Payne DC, Lopman BA, Yen C, Parashar UD. Use of Patients With Diarrhea Who Test Negative for Rotavirus as Controls to Estimate Rotavirus Vaccine Effectiveness Through Case-Control Studies. *Clin Infect Dis* 2016; 62 Suppl 2: S106-14.
- 27) Ruuska T, Vesikari T. Rotavirus disease in Finnish children: use of numerical scores for clinical severity of diarrhoeal episodes. *Scand J Infect Dis* 1990; 22: 259-67.
- 28) Freedman SB, Eltoroky M, Gorelick M, Group PERCGS. Evaluation of a gastroenteritis severity score for use in outpatient settings. *Pediatrics* 2010; 125: e1278-85.
- F. 健康危険情報**
なし
- G. 研究発表**
1. 論文発表
なし
2. 学会発表
- 1) 荒木 薫, 原めぐみ, 松尾宗明: 症例対照研究によるロタウイルスワクチンの有効性評価. 第20回日本ワクチン学会学術集会(2016年10月22日~23日, 東京)
- 2) 荒木 薫, 原めぐみ, 松尾宗明: 症例対照研究によるロタウイルスワクチンの有効性評価. 第69回九州小児科学会(2016年11月19日~20日, 熊本)
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)**
1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

Figure 1. Flow diagram for enrollment of case-patients and controls, January to May, 2014 and 2015.

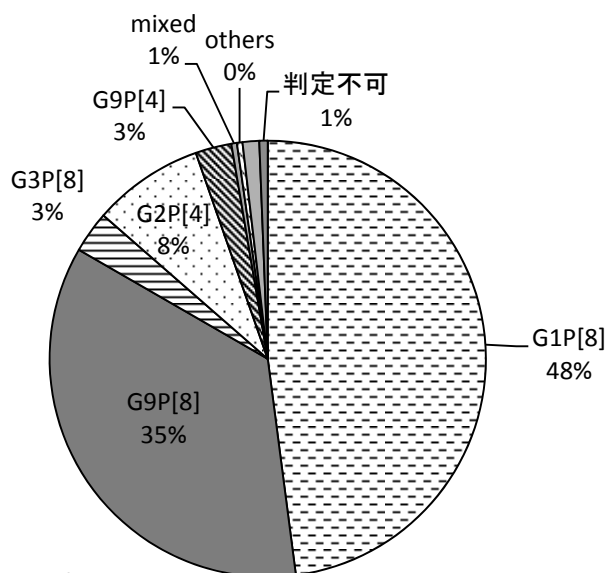
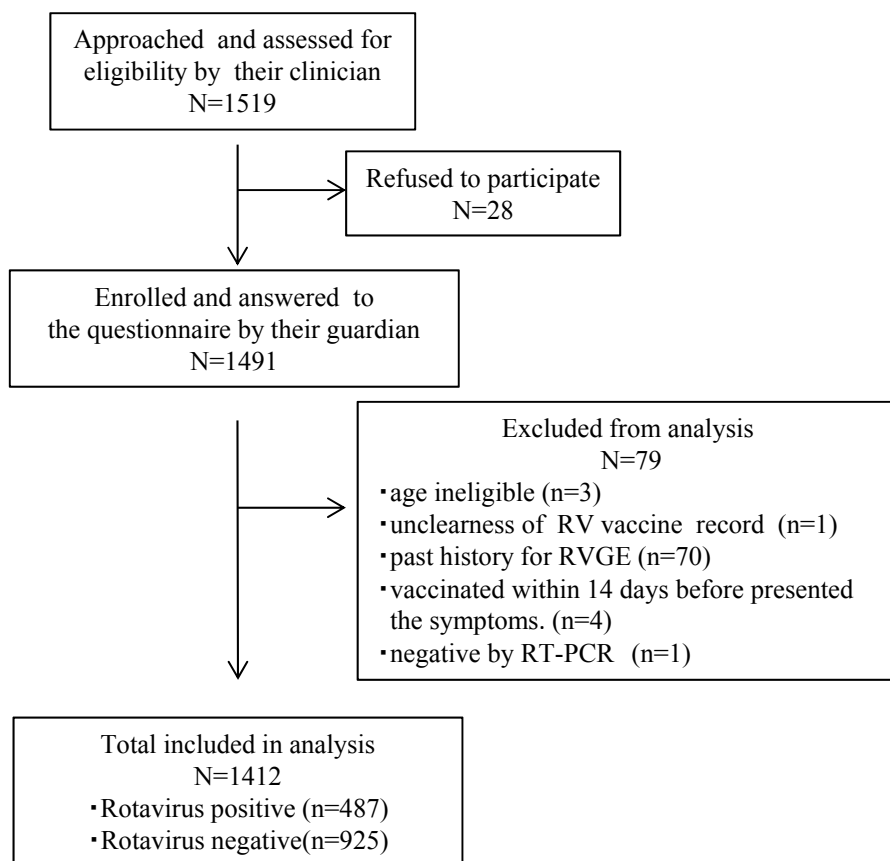


Figure 2. genotypes from rotavirus-positive children (n=487)

Table 1. Baseline characteristics, clinical symptoms and treatment of case patients and control patients

Variables	case patients		control patients		P value ^a
	Rotavirus-positive n = 487 (% / range)		Rotavirus-negative n = 925 (% / range)		
Demographics					
Age at onset, median months (range)	19	(2 - 35)	15	(2 - 35)	<0.01
Sex : males	269	(55.2)	503	(54.4)	0.76
Location of hospital					0.14
Saga	347	(71.2)	693	(74.9)	
Fukuoka	140	(28.8)	232	(25.1)	
Onset year					<0.01
2014 season	64	(13.1)	262	(28.3)	
2015 season	423	(86.9)	663	(71.7)	
Additional history					
Underlying condition: Yes	83	(17.0)	146	(15.8)	0.54
Premature (BW > 2500g) ^b	438	(90.7)	811	(88.3)	0.18
Receiving the day-care service ^c : Yes	320	(66.4)	482	(52.5)	<0.01
Having brothers or sisters: Yes	319	(65.5)	554	(59.7)	0.03
No.of brothers or sisters, median (range)	1	(1 - 7)	1	(1 - 6)	0.18
Age of parents (range)					
Mother ^d	32	(19 - 46)	32	(18 - 48)	0.35
Father ^e	34	(20 - 57)	34	(20 - 62)	0.67
Breastfed ^f	143	(29.6)	405	(44.1)	<0.01
Systemic symptoms before receiving the medical examination					
Diarrhea	460	(94.5)	805	(87.0)	<0.01
No.of diarrheal stools, median (IQR)	4	(2 - 6)	3	(2 - 6)	0.15
Vomiting	368	(75.6)	412	(44.5)	<0.01
No.of vomiting episodes, median (IQR)	3	(2 - 5)	2	(1 - 4)	<0.01
Fever	340	(69.8)	364	(39.4)	<0.01
Max recorded fever, median (IQR)	38.5	(37.9 - 39.0)	38.0	(37.6 - 38.9)	0.02
Seizure ^g (in the course of disease)	8	(2.0)	4	(0.7)	0.07
Severity score ≥ 5	231	(47.4)	124	(13.4)	<0.01
Severity score ≥ 7	69	(14.1)	21	(2.3)	<0.01
Treatment^g					
Outpatient (oral treatment)	320	(81.0)	594	(96.6)	
Outpatient (intravenous rehydration)	64	(16.2)	16	(2.6)	
Admission	11	(2.8)	5	(0.8)	

Abbreviations: SD, standard deviation IQR, Interquartile Range

^a Chi-square tests or Wilcoxon rank-sum tests was used as appropriate

^b Analyses were based on data from 483 cases and 919 controls,

^c Analyses were based on data from 482 cases and 919 controls.

^d Analyses were based on data from 485 cases and 919 controls.

^e Analyses were based on data from 459 cases and 909 controls.

^f Analyses were based on data under 12 months child (n=383).

^g Analyses were based on data that confirmation of the outcome was possible (cases/controls= 395/615).

Table 2. Vaccine effectiveness against rotavirus disease

	cases		controls		Crude OR	OR ^b	OR ^c	VE		
	n	(%)	n	(%)				VE	95%CI	
Unvaccinated	420	(86.2)	498	(53.8)	1.0	1.0	1.0	Reference		
Vaccinated (1 \geq)	67	(13.8)	427	(46.2)	0.19	0.19	0.20	80.2	72.5	- 85.7
Partial vaccination ^a	4	(0.8)	22	(2.4)	0.22	0.29	0.29	70.8	4.1	- 91.1
Full dose vaccination										
RV5 3 doses	27	(5.5)	179	(19.4)	0.18	0.19	0.19	80.7	69.2	- 87.9
RV1 2 doses	36	(7.4)	226	(24.4)	0.19	0.18	0.20	80.4	70.1	- 87.2

Abbreviations: OR, odds ratio; VE, vaccine effectiveness ; CI, confidence interval; RV5, RotaTeq (Merck Research Laboratories); RV1, Rotarix (GlaxoSmithKline Biologicals)

^a Vaccinated one or two doses of RV5 or one dose of RV1.

^b Adjusted for the age of the month, receiving the day-care system having brothers or sisters

^c Adjusted for the age of the month, receiving the day-care system having brothers or sisters, and matching variables (Severity score, Location of hospital and Onset year).

Table 3. Vaccine effectiveness against rotavirus disease in Japan according to age

		cases		controls		Crude OR	OR ^a	OR ^b	VE		
		n	(%)	n	(%)				VE	95%CI	
ages 6-11 mo	Unvaccinated	53	(88.3)	141	(52.6)	1.0	1.0	1.0	Reference		
	Full dose vaccination	7	(11.7)	123	(45.9)	0.15	0.19	0.13	86.7	66.5	- 94.8
ages 12-23 mo	Unvaccinated	233	(87.9)	240	(54.7)	1.0	1.0	1.0	Reference		
	RV5 3 doses	17	(6.4)	90	(20.5)	0.20	0.20	0.17	82.9	68.5	- 90.7
	RV1 2 doses	14	(5.3)	103	(23.5)	0.14	0.14	0.17	83.1	68.0	- 91.0
ages 12-23 mo	Unvaccinated	129	(82.2)	88	(54.0)	1.0	1.0	1.0	Reference		
	RV5 3 doses	10	(6.4)	25	(15.3)	0.27	0.29	0.32	68.4	21.8	- 87.2
	RV1 2 doses	15	(9.6)	50	(30.7)	0.21	0.22	0.27	73.1	44.0	- 87.1

Abbreviations: OR, odds ratio; VE, vaccine effectiveness ; CI, confidence interval; RV5, RotaTeq (Merck Research Laboratories); RV1, Rotarix (GlaxoSmithKline Biologicals)

^a Adjusted for receiving the day-care system having brothers or sisters.

^b Adjusted for receiving the day-care system having brothers or sisters, and matching variables (Severity score, Location of hospital and Onset year).

Table 4. Vaccine effectiveness against rotavirus disease in Japan by severity of symptoms or clinical treatment

		cases		controls		Crude OR	OR ^a	OR ^b	VE		
		n	(%)	n	(%)				VE	95%CI	
Full dose vaccination	Unvaccinated	207	(58.3)	498	(53.8)	1.0	1.0	1.0	Reference		
	severity score ≥ 5	23	(6.5)	405	(43.8)	0.14	0.14	0.12	87.7	80.4	- 92.3
Full dose vaccination	Unvaccinated	64	(71.1)	498	(53.8)	1.0	1.0	1.0	Reference		
	severity score ≥ 7	5	(5.6)	405	(43.8)	0.10	0.09	0.09	91.4	78.1	96.6
Full dose vaccination	Unvaccinated	61	(15.4)	295	(48.0)	1.0	1.0	1.0	Reference		
	rehydration	2	(0.5)	302	(49.1)	0.03	0.03	0.03	96.9	87.2	- 99.3
Full dose vaccination	Unvaccinated	11	(1.8)	295	(48.0)				Reference		
	admission	0	(0.0)	302	(49.1)				no value		

Abbreviations: OR, odds ratio; VE, vaccine effectiveness ; CI, confidence interval; RV5, RotaTeq (Merck Research Laboratories); RV1, Rotarix (GlaxoSmithKline Biologicals)

^a Adjusted for the age of the month, receiving the day-care system having brothers or sisters .

^b Adjusted for the age of the month, receiving the day-care system having brothers or sisters, and matching variables (Location of hospital and Onset year).

Table 5. Vaccine effectiveness against rotavirus disease in Japan by genotype for vaccine types

		cases		controls		Crude OR	OR ^a	OR ^b	VE		95%CI
		n	(%)	n	(%)				VE	95%CI	
G1P[8] strains	Unvaccinated	212	(18.3)	498	(53.8)	1.0	1.0	1.0	Reference		
	RV5 3 doses	12	(1.0)	179	(19.4)	0.16	0.18	0.15	85.1	71.3 - 92.3	
	RV1 2 doses	8	(0.7)	226	(24.4)	0.08	0.08	0.11	88.9	75.8 - 94.9	
G9P[8] strains	Unvaccinated	138	(12.5)	498	(53.8)	1.0	1.0	1.0	Reference		
	RV5 3 doses	13	(1.2)	179	(19.4)	0.26	0.30	0.32	67.8	38.1 - 83.3	
	RV1 2 doses	22	(2.0)	226	(24.4)	0.35	0.36	0.31	69.0	46.1 - 82.1	
G2P[4] strains	Unvaccinated	31	(3.2)	498	(53.8)	1.0	1.0	1.0	Reference		
	RV5 3 doses	1	(0.1)	179	(19.4)	0.09	0.08	0.12	87.7	4.1 - 98.4	
	RV1 2 doses	3	(0.3)	226	(24.4)	0.21	0.18	0.20	80.1	29.9 - 94.4	

Abbreviations: OR, odds ratio; VE, vaccine effectiveness ; CI, confidence interval; RV5, RotaTeq (Merck Research Laboratories); RV1, Rotarix (GlaxoSmithKline Biologicals)

^a Adjusted for the age of the month, receiving the day-care system having brothers or sisters .

^b Adjusted for the age of the month, receiving the day-care system having brothers or sisters, and matching variables (Severity score, Location of hospital and Onset year).