

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

A/ 埼玉 /103/2014 (CEXP002) 株と A/ 香港 /4801/2014 (X-263) 株を用いた
インフルエンザワクチンの免疫原性に関する比較検討

研究分担者	福島 若葉	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学
研究分担者	入江 伸	医療法人相生会
研究分担者	都留 智己	医療法人相生会ピーエスクリニック
研究協力者	井上 恵	医療法人相生会ピーエスクリニック
研究協力者	石橋 元規	医療法人相生会ピーエスクリニック
研究協力者	神代 弘子	医療法人相生会博多クリニック
研究分担者	森川佐依子	大阪健康安全基盤研究所微生物部ウイルス課
研究協力者	廣井 聡	大阪健康安全基盤研究所微生物部ウイルス課
研究協力者	中田 恵子	大阪健康安全基盤研究所微生物部ウイルス課
研究協力者	加瀬 哲男	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学
研究分担者	大藤さとし	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学
研究協力者	伊藤 一弥	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学；医療法人相生会臨床疫学研究センター；保健医療経営大学
研究協力者	前田 章子	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学
研究代表者	廣田 良夫	医療法人相生会臨床疫学研究センター；保健医療経営大学

研究要旨

インフルエンザ A/ 埼玉 /103/2014(CEXP002) (H3N2) 株（以下、埼玉株）、およびインフルエンザ A/ 香港 /4801/2014(X-263) (H3N2) 株（以下、香港株）の免疫原性・安全性を確認するため、無作為化比較試験を実施した。それぞれの株を含む研究用の単価インフルエンザワクチン（以下、埼玉株ワクチンおよび香港株ワクチン）を作成し、20歳以上の健康成人男女100人を無作為に2群に分け、埼玉株ワクチン、香港株ワクチンを各50人に1回接種した。

ワクチン接種は、2017年10月～11月に実施し、接種前および接種3週間後に血清を採取した。免疫原性は、中和抗体価を測定し、接種後の幾何平均抗体価（GMT）、GMT上昇倍数、抗体応答割合、抗体保有割合（任意に $\geq 1:40$ と設定）を算出して評価を行った。安全性は、副反応の発現について評価を行った。

香港株ワクチン接種群における抗体価測定の結果、香港株に対する GMT 上昇倍数は 5.5 倍、抗体応答割合は 50%、接種後の抗体保有割合は 96%であった。また、埼玉株に対する GMT 上昇倍数は 5.3 倍、抗体応答割合は 50%、接種後の抗体保有割合は 86%であった。

一方、埼玉株ワクチン接種群における抗体価測定の結果、香港株に対する GMT 上昇倍数は 4.5 倍、抗体応答割合は 40%、接種後の抗体保有割合は 92%であった。また、埼玉株に対する GMT 上昇倍数は 4.2 倍、抗体応答割合は 46%、接種後の抗体保有割合は 68%であった。

香港株ワクチンの接種は、GMT 上昇倍数、抗体応答割合、抗体保有割合において、ホモである香港株だけでなく、埼玉株に対しても良好な抗体応答を誘導した。さらに、香港株ワクチン接種による埼玉株に対する抗体応答は、埼玉株ワクチン接種による埼玉株に対する抗体応答と同等かそれ以上であった。

安全性については、軽微な副反応を認めたが、重篤な有害事象の報告はなかった。また、2群における副反応発現頻度に有意差は認めなかった。

香港株ワクチンは、ホモである香港株に対してのみならず、ヘテロである埼玉株に対しても良好な免疫原性を示した。これは、埼玉株含有インフルエンザワクチンで誘導される抗体が、現行の季節性インフルエンザワクチンに含まれる香港株でも誘導される可能性を示唆している。

A. 研究目的

2017/18 シーズン用インフルエンザワクチンの A (H3N2) 株については、当初、A/ 埼玉 /103/2014 (CEXP002) (H3N2) 株 (以下、埼玉株) が推奨された。埼玉株は鶏卵馴化による抗原変異の影響が小さいため、有効性が高いと予想されたことが理由である。しかし、増殖効率が悪く実需要を満たせないことが判明したため、A/ 香港 /4801/2014 (X-263) (H3N2) 株 (以下、香港株) への切り替えが決定された。しかし、香港株は鶏卵馴化による抗原変異の影響を強く受けるため、ワクチン株と流行予測株の抗原性の乖離から考えて有効性が低い可能性が懸念されている。

但し、これらワクチン株と流行株の抗原性の乖離に関する議論は実験動物から得たデータに基づくものであり、感染歴や予防接種歴を有するヒトに直接当てはまるものではない。それにも拘らず、「2017/18 シーズンのインフルエンザワクチンは効果が低い」といった推論が独り歩きしている状況がある。そこで、健康成人を対象に、研究用ワクチンとして香港株のみを含む単価インフルエンザワクチン (以下、香港株ワクチン) または埼玉株のみを含む単価インフルエンザワクチン (以下、埼玉株ワクチン) を接種し、両ワクチン株に対する抗体応答および流行株に対する抗体応答を比較検討するための臨床研究を企画した。

本臨床研究の主たる目的は、埼玉株から香港株への切り替えがワクチン有効性を損なうかどうかを、免疫原性の観点から検討することにある。埼玉株を含有する季節性インフルエンザワクチンは、2018/19 シーズン以降実際に使用される可能性があるため、本研究で得られる埼玉株ワクチンの免疫原性・安全性データは、次シーズン以降のインフルエンザワクチンの製造や使用・普及に有用な情報となるであろう。

B. 研究方法

【対象】

以下の選択基準を全て満たし、除外基準に抵触しない健康成人を対象とした。

(1) 選択基準

- ① 本臨床研究の参加について文書により同意を取得した者
- ② 20 歳以上の男女
- ③ 2017/18 シーズン用季節性ワクチンを接種していない者
- ④ 研究ワクチン接種後抗体価測定用採血時まで、2017/18 シーズン用季節性ワクチンの接種を予定していない者

(2) 除外基準

- ① 明らかな発熱を呈している者
- ② 重篤な急性疾患にかかっていることが明らかなる者
- ③ 研究ワクチンの成分又は鶏卵、鶏肉、その他鶏由来のものに対して、アレルギーを呈するおそれのある者
- ④ 27 日以内に生ワクチンの接種を受けた者、または 6 日以内に他の不活化ワクチンの接種を受けた者
- ⑤ その他、実施責任者等が研究対象者として不適当と判断した者

【研究デザイン】

前向き介入研究、単一施設、オープン、無作為化
研究対象者数 100 人 (埼玉株ワクチン接種群 50 人、香港株ワクチン接種群 50 人、計 2 群)

【研究ワクチン】

<標準ワクチン>

名 称：香港株単価ワクチン
製 造 元：一般財団法人阪大微生物病研究会
本 質：本剤は、インフルエンザウイルスの香港株を鶏卵培養し、増殖したウイルスを含む尿膜腔液をゾーナル遠心機による蔗糖密度勾配遠心法により濃縮精製後、ウイルス粒子をエーテル等により処理して分解・不活化した HA 画分に、リン酸塩緩衝塩化ナトリウム液を用いて規定濃度に混合調製した液剤である。

有効成分量：製剤 1mL 中に、HA 含量 (相当値) は、30 μ g 以上含有する。

貯 法：遮光して、10℃以下に凍結を避けて保存

<被験ワクチン>

名 称：埼玉株単価ワクチン

製 造 元：一般財団法人阪大微生物病研究会

本 質：本剤は、インフルエンザウイルスの埼玉株を鶏卵培養し、増殖したウイルスを含む尿膜腔液をゾーナル遠心機による蔗糖密度勾配遠心法により濃縮精製後、ウイルス粒子をエーテル等により処理して分解・不活化した HA 画分に、リン酸塩緩衝塩化ナトリウム液を用いて規定濃度に混合調製した液剤である。

有効成分量：製剤 1mL 中に、HA 含量（相当値）は、30 μ g 以上含有する。

貯 法：遮光して、10℃以下に凍結を避けて保存

【臨床研究のスケジュール】

①ベースライン調査

研究対象者について、予診票及び自記式質問票により以下の項目を調査した。

【調査項目】年齢、性別、基礎疾患、インフルエンザワクチン接種歴など

②研究ワクチン接種前（S0）抗体価測定用採血

研究ワクチン接種前に血清を採取した（採血量約 8mL）。採血後、検体は室温静置し、凝固を確認後、遠心分離（10 分間、3,000 rpm）した。得られた血清は、ポリプロピレンチューブの 1 本目に 2mL、残りを 2 本目に分注し、速やかに冷凍保存（-20℃以下）した。

③研究ワクチン接種

研究対象者 100 人を、香港株ワクチン接種群 50 人と埼玉株ワクチン接種群 50 人の 2 群に、無作為に割り付け、被験者番号を付与した。割り付けられた研究ワクチンを、上腕伸側部に 0.5mL ずつ、27G の注射針を用いて皮下に注射した。研究ワクチン接種後 30 分間、研究対象者を研究実施医療機関内に待機させ、経過を観察した。

④副反応調査

研究ワクチン接種から 1 週間、自記式質問票により以下の項目を調査した。

【調査項目】体温、局所反応（発赤、腫脹、硬結、痒み、疼痛）、全身反応など

⑤研究ワクチン接種後（S1）抗体価測定用採血

研究ワクチン接種 3 週間後に血清を採取した（採血量約 8mL）。

⑥抗体価測定

各ワクチン株に対する中和抗体価を測定した。残余血清は別途保存しておき、その後、流行ウイルスが判明し、ウイルス株が分離できるようになった時点で、保存血清を用いて流行野生株に対する抗体価を測定する。

（倫理的配慮）

本研究は、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（平成 29 年 2 月 28 日一部改正、文部科学省、厚生労働省）、ヘルシンキ宣言（1964 年採択、2013 年 10 月フォルタレザ総会で最新修正、世界医師会）に従い実施した。

本研究の実施に際して、医療法人相生会博多クリニック臨床試験審査委員会、地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所倫理審査委員会及び大阪市立大学大学院医学研究科倫理委員会において、研究実施の適否に関し、倫理的・科学的及び医学的妥当性の観点から審査を受け承認された。

本研究開始に先立ち、説明文書及び同意文書を用いて、研究対象者へ説明を行い、研究対象者が内容を十分理解したことを確認した後に、本研究への参加について研究対象者の自由意思による同意を文書により得た。

研究対象者より得られた情報及び血清検体は被験者番号を医療機関で付与し、匿名化を行った。研究結果の公表にあたっては個人情報が含まれることがないよう、個人情報の保護に十分配慮した。

なお、本研究が適正に行われていることを確保するため、モニタリング担当者を選定し、当該モニタリング担当者によって、研究実施中から研究終了時までの間、臨床研究計画書に従って本研究が行われたことについて、モニタリングを実施した。

【免疫原性の評価】

評価項目：研究ワクチン接種前後（S0 および S1）の中和抗体価

免疫原性の評価尺度として、幾何平均抗体価 [GMT]、GMT 上昇倍数（S1/S0：接種後 GMT を接種前 GMT で割った値）、抗体応答割合 [%]（S1/S0 \geq 4：接種後抗体価が 4 倍以上上昇したものの割合）、抗体保有割合 [%]（S1 \geq 40：ワクチン接種後に中和抗体価 1：40 以上を示したものの割合）。

≥ 1:40 は任意に設定) を算出した。統計学的検定の有意水準は5%とした。なお、評価尺度を算出する際、抗体価1:10未満は1:5、1:1280以上は1:1280と扱った。

【抗体価測定】

一般にインフルエンザワクチンの免疫原性を評価するための抗体価測定は、赤血球凝集抑制反応 (HI) によって行われる。しかし今回の試験では、流行野生株による測定を予定しているため、HI法ではなく、マイクロタイター中和法を採用した。これは、最近のAH3N2亜型ウイルス分離株が、赤血球凝集 (HA) 活性を欠いているものが多いため、ワクチン株による測定と流行野生株による測定を同等に評価するためである。

マイクロタイター中和法について、以下に簡単に述べる。被検血清を通常通り RDE 処理したのち、1:10倍希釈から1:1280倍まで2倍段階希釈する。100TCID₅₀/50μLのウイルス液と等量混合して、37℃1時間反応させ、96穴マイクロプレートに培養した MDCK-SIAT1 細胞に接種して、96時間培養する。細胞をアルコール固定したのち、アミドブラックで染色して、CPE を観察する。全く CPE が観察されない完全中和を示す血清希釈倍数を中和抗体価とした。CPE の観察は duplicate で行い、抗体価は平均値として算出した。なお、中和試験の攻撃ウイルスである A/ 埼玉 /103/2014 (H3N2) 株と A/ 香港 /4801/2014 (H3N2) 株は、国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センターより分与を受けた。

【安全性の評価】

評価項目：研究ワクチン接種から1週間以内に発現した有害事象及び副反応の種類、重症度、発現までの日数、持続日数及び発現割合

有害事象及び副反応の発現割合を、群間で比較した。

【研究期間】

2017年9月～2018年3月

①ベースライン調査～研究ワクチン接種後抗体価測定用採血

2017年10月～2017年11月

②抗体価測定

ワクチン株に対する抗体価測定

2017年12月～2018年1月

流行株に対する抗体価測定 (予定)

2018年3月～2018年4月

C. 研究結果

1) 被験者特性

無作為割り付けの結果、香港株ワクチン接種群 (50人) と埼玉株ワクチン接種群 (50人) の間で、特性 (性、年齢、接種前抗体価、過去3シーズンのインフルエンザワクチン接種歴、過去3シーズンのインフルエンザ罹患歴) の分布はほぼ同様であった。(表1)。

2) 免疫原性

香港株ワクチン接種群における抗体価測定の結果、香港株に対する接種前抗体価 (GMT) は1:99、接種後抗体価 (GMT) は1:546、GMT 上昇倍数 (S1/S0) は5.5倍であった。また抗体応答割合 (S1/S0 ≥ 4) は50%で、接種後の抗体保有割合 (S1 ≥ 40) は96%であった (表2-1)。埼玉株に対する接種前抗体価 (GMT) は1:22、接種後抗体価 (GMT) は1:116、GMT 上昇倍数 (S1/S0) は5.3倍であった。また抗体応答割合 (S1/S0 ≥ 4) は50%で、接種後の抗体保有割合 (S1 ≥ 40) は86%であった (表2-2)。

一方、埼玉株ワクチン接種群における抗体価測定の結果、香港株に対する接種前抗体価 (GMT) は1:57、接種後抗体価 (GMT) は1:260、GMT 上昇倍数 (S1/S0) は4.5倍であった。また抗体応答割合 (S1/S0 ≥ 4) は40%で、接種後の抗体保有割合 (S1 ≥ 40) は92%であった (表2-1)。埼玉株に対する接種前抗体価 (GMT) は1:15、接種後抗体価 (GMT) は1:61、GMT 上昇倍数 (S1/S0) は4.2倍であった。また抗体応答割合 (S1/S0 ≥ 4) は46%で、接種後の抗体保有割合 (S1 ≥ 40) は68%であった (表2-2)。

3) 安全性

ワクチン接種者100人における副反応の発現状況を表3に示した。接種後48時間以内、および接種後48時間以上1週間以内ともに、軽微な副反応が見られたが、重篤な有害事象は報告されなかった。なお、2群における副反応の発現頻度に有意差は認めなかった。

D. 考察

1) 被験者特性と安全性

健康成人 100 人を埼玉株ワクチン接種群および香港株ワクチン接種群のいずれかに無作為割り付けし、ワクチン接種を行った。2 群間で、性、年齢、接種前抗体価、ワクチン接種歴、インフルエンザ罹患歴の分布はほぼ同様であった。また、両ワクチンとも重篤な副反応は認めず、安全性は確保されていた。今後、単価ワクチンで同様の臨床研究を行う場合も、安全性に特に問題は生じないと思われる。

2) 免疫原性

2017/18 シーズンの季節性インフルエンザワクチンの株選定に当たり、当初、埼玉株が推奨されたが、ワクチン生産量に問題が生じたため、香港株への切り替えが行われた。このワクチン株変更の影響を検討するため、本研究では、香港株と埼玉株の免疫原性がどの程度異なるかを評価した。香港株ワクチン（すなわち、2017/18 シーズンの季節性インフルエンザワクチンに含まれる香港株を使用した研究用単価ワクチン）接種による免疫原性は、表 2 に示すように、GMT 上昇倍数（S1/S0）、抗体応答割合（S1/S0 \geq 4）、接種後の抗体保有割合（S1 \geq 40）において、ホモである香港株に対してだけでなく、埼玉株に対しても良好な抗体応答を誘導した。さらに、香港株ワクチン接種による埼玉株に対する抗体応答は、埼玉株ワクチン接種による埼玉株に対する抗体応答と同等かそれ以上であった。このため、香港株は埼玉株に期待された抗体誘導能を十分担っていると推察される。ただし、インフルエンザワクチンにとって重要であるのは、流行野生株に対する抗体誘導能である。系統樹解析で比較的近い位置にある 2 つのワクチン株による測定だけでは、実際に流行している野生株に対する反応性をどの程度反映するかは不明である。正確な評価には、流行野生株に対する反応性を加味しなければならない。

3) HI 試験と中和試験の差異

通常、ワクチンの免疫原性は HI 試験の結果で評価される。しかし、最近では HA 活性が十分でない A (H3N2) ウイルスがよく分離されるようになったことから、流行野生株では HI 試験ができない状況が続いており、その場合は中和試験を行うことになる。一般的に中和抗体価は、攻撃ウイルス量が HI 試験と比較すると明らかに少ないため、HI 抗体価

よりも高く測定される傾向にある。そのため今回は、完全中和する、すなわち必要抗体量が最も多くなる抗体価を測定できる方法を選択した。しかしながら、インフルエンザウイルスを中和する抗体は、HI 抗体以外にも多く報告されているため、中和を成立させる抗体量と HI を成立させる抗体量は異なることが予測される。そのため、接種前後の比較における、相対的な数値で算出される GMT 上昇倍数（S1/S0）や抗体応答割合（S1/S0 \geq 4）については方法論の違いによる誤謬はないと考えられるが、GMT 値や 1 : 40 を示す中和抗体価は HI 抗体価と比較できる絶対値を示しているものではないと考える。

E. 結論

香港株ワクチンの接種は、ホモである香港株のみならずヘテロである埼玉株に対しても良好な免疫原性を示した。これは、埼玉株含有インフルエンザワクチンで誘導される抗体が、現行の季節性インフルエンザワクチンに含まれる香港株でも誘導される可能性を示唆している。ただし、現時点で野生株に対する免疫原性を論じることはできない。

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

なし

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

表1 ワクチン接種者2群における特性比較

特性		埼玉株ワクチン n (%)	香港株ワクチン n (%)		
性	男性	25 (50)	25 (50)		
年齢(歳)	20-29	12 (24)	13 (26)		
	30-39	11 (22)	14 (28)		
	40-49	11 (22)	9 (18)		
	50-59	12 (24)	8 (16)		
	60-64	4 (8)	6 (12)		
接種前抗体価	香港	<10	8 (16)	5 (10)	
		10	5 (10)	3 (6)	
		20	7 (14)	2 (4)	
		≥40	30 (60)	40 (80)	
	埼玉	<10	22 (44)	15 (30)	
		10	4 (8)	5 (10)	
		20	11 (22)	11 (22)	
		≥40	13 (26)	19 (38)	
ワクチン接種歴 (シーズン)	2014/2015	あり	9 (18)	9 (18)	
		不明	8 (16)	4 (8)	
	2015/2016	あり	10 (20)	8 (16)	
		不明	5 (10)	2 (4)	
	2016/2017	あり	8 (16)	7 (14)	
		不明	2 (4)	2 (4)	
	インフルエンザ 罹患歴 (シーズン)	2014/2015	A	0 (0)	1 (2)
			型不明	5 (10)	7 (14)
			罹患有無不明	1 (2)	4 (8)
2015/2016		A	2 (4)	2 (4)	
		型不明	1 (2)	2 (4)	
		罹患有無不明	1 (2)	2 (4)	
2016/2017		A	2 (4)	2 (4)	
		B	1 (2)	0 (0)	
		型不明 罹患有無不明	3 (6) 0 (0)	2 (4) 1 (2)	

表 2-1 香港株に対する中和抗体

	幾何平均抗体価 [GMT]		抗体応答割合 [%] (S1/S0 \geq 4)	抗体保有割合 [%] (S1 \geq 1:40)
	接種前 (S0)	接種後 (S1)		
香港株ワクチン接種群	99	546	5.5	50
埼玉株ワクチン接種群	57	260	4.5	40
P 値	(0.08)	<0.01	0.34	0.42

表 2-2 埼玉株に対する中和抗体

	幾何平均抗体価 [GMT]		抗体応答割合 [%] (S1/S0 \geq 4)	抗体保有割合 [%] (S1 \geq 1:40)
	接種前 (S0)	接種後 (S1)		
香港株ワクチン接種群	22	116	5.3	50
埼玉株ワクチン接種群	15	61	4.2	46
P 値	(0.06)	0.01	0.60	0.69

P 値：幾何平均抗体価 [GMT] はウィルコクソン順位和検定、抗体応答割合 [%] および抗体保有割合 [%] は χ^2 検定
 GMT: 希釈倍数の逆数で表記

表3 ワクチン接種後に見られた副反応

接種者数			埼玉株ワクチン n (%)	香港株ワクチン n (%)	p-value
副反応	程度				
48時間以内					
発熱	37.0~37.4℃		0 (0)	3 (6)	0.242
接種部位反応	発赤	数センチ以内	6 (12)	3 (6)	0.487
	腫脹	数センチ以内	8 (16)	5 (10)	0.372 *
	硬結	数センチ以内	1 (2)	3 (6)	0.617
	疼痛	数センチ以内	7 (14)	6 (12)	1.000
	搔痒感	数センチ以内	2 (4)	3 (6)	1.000
	熱感	数センチ以内	1 (2)	5 (10)	0.204
全身反応	倦怠感	日常生活に支障はなかった	2 (4)	2 (4)	1.000
	頭痛	日常生活に支障はなかった	1 (2)	0 (0)	1.000
	下痢	日常生活に支障はなかった	0 (0)	1 (2)	1.000
48時間以降1週間以内					
接種部位反応	発赤	数センチ以内	2 (4)	0 (0)	0.495
	疼痛	数センチ以内	2 (4)	0 (0)	0.495
	搔痒感	数センチ以内	1 (2)	0 (0)	1.000
全身反応	倦怠感	日常生活に支障があった	1 (2)	0 (0)	1.000
	下痢	日常生活に支障はなかった	1 (2)	0 (0)	1.000

p-value: Fisher's exact test (*のみ χ^2 -test)