

令和4年度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)

バイオテロ対策のための備蓄されている細胞培養痘そうワクチンの備蓄等、バイオテロ病原体への検査対応、
公衆衛生との関連のあり方に関する研究
分担報告書

分担研究課題名 国産細胞培養痘そうワクチン LC16m8 がサル痘に対する交差中和抗体を誘導するかの検証

所属 国立感染症研究所
感染病理部
研究分担者 鈴木 忠樹

研究要旨: 痘そう(天然痘)ワクチンは、痘そうウイルスやサル痘ウイルスと同じオルソポックスウイルス属の一つであるワクシニアウイルスをワクチン株として使用したワクチンである。一般的に、痘そうワクチンはオルソポックスウイルスに広く交叉する免疫を誘導し、エムポックス(サル痘)への予防効果を有することが知られている。日本で開発された痘そうワクチン(一般名:乾燥細胞培養痘そうワクチン)は、天然痘の根絶期に使われたワクチン株であるリスター株を親株として作成された LC16m8 株の弱毒化生ワクチン(以下、LC16 ワクチン)であり、痘そう及びエムポックスに対する予防ワクチンとして承認されている。LC16 ワクチンは、サルにおいて、サル痘に対して天然痘根絶期に使われていた前世代ワクチンに比べて中和抗体誘導量は低下するが、前世代ワクチンと同様に高い発症予防効果が示されている。また、ヒトにおいては、サル痘ウイルスに対する交叉中和抗体を誘導することが示されている。一方で、日本人の LC16 ワクチン接種者においてサル痘ウイルスに対する交叉中和抗体がどの程度誘導されるのかについては知見が乏しい。そこで、本研究では、日本人健康成人を対象に、LC16 ワクチンを接種した場合の、サル痘ウイルスに対する交叉中和抗体誘導能を検討した。その結果、LC16 ワクチンを1回、日本人の健康成人に接種した場合、サル痘ウイルスに対する実効的な交差中和抗体が誘導されることを明らかにした。今後、中和抗体の効果持続性について評価するために、本研究参加者に対する長期間のフォローアップ観察研究を考慮すべきであると考えられた。また、本研究で用いたサル痘ウイルスに対する中和抗体測定試験は実験室内作業の負荷が大きいことから、サル痘ウイルスに対する抗ウイルス活性を有する抗体を定量的かつ迅速に測定可能な検査系の開発研究が必要と考えられた。

研究協力者

相内章・国立感染症研究所・主任研究官
岩田奈織子・国立感染症研究所・主任研究官
坂井祐介・国立感染症研究所・主任研究官
志和希・国立感染症研究所・研究員
峰宗太郎・国立感染症研究所・主任研究官
宮本翔・国立感染症研究所・研究員
菅野隆行・国立感染症研究所・主任研究官
俣野哲朗・国立感染症研究所・副所長
原田恵嘉・国立感染症研究所・室長
関紗由里・国立感染症研究所・主任研究官
宮内浩典・国立感染症研究所・主任研究官
前田健・国立感染症研究所・部長
朴ウンシル・国立感染症研究所・主任研究官
原田倫子・国立感染症研究所・研究員
ビルヘスメンドーサ ミラグロス・国立感染症研究所・研究員
高橋宜聖・国立感染症研究所・センター長
五十川正記・国立感染症研究所・室長
森山彩野・国立感染症研究所・主任研究官
上滝隆太郎・国立感染症研究所・主任研究官
渡士幸一・国立感染症研究所・統括研究官

氣賀恒太朗・国立感染症研究所・室長
赤澤大輔・国立感染症研究所・主任研究官
日紫喜隆行・国立感染症研究所・主任研究官
大橋啓史・国立感染症研究所・研究員
森田武志・国立感染症研究所・研究員

A. 研究目的

エムポックス(サル痘、monkeypox)はポックスウイルス科オルソポックスウイルス属に属するサル痘ウイルス(monkeypox virus, MPXV)による人獣共通感染症で、日本では感染症法において四類感染症に指定されている。1958年にカニクイザルから初分離されたためサル痘と名付けられているが、自然宿主は齧歯類とされており、中央アフリカから西アフリカにかけての熱帯雨林において齧歯類やサルなどの間で感染環を形成している。1970年にコンゴ民主共和国(DRC)でヒトへの感染が確認されて以来、ウイルスに感染したサルや齧歯類による咬傷、また、それらの加熱不十分な肉の摂取による人への感染が報告されている。また、ヒトからヒトへの飛沫感染や接触感染も感染経路の一つとなる。主にアフリカ中央部から西部にかけて発

生が持続している (endemic) が、アフリカ以外でも流行地域からの渡航者・帰国者で散発的に発生報告が見られている。2003 年には輸入されたげっ歯類が原因と思われる集団発生事例が米国テキサス州で報告された。エムポックスは、ウイルスに曝露してから通常 6-13 日 (最大 5-21 日) の潜伏期間の後に発症するとされる。潜伏期間の後、発熱、頭痛、リンパ節腫脹、筋肉中などの症状が 1~5 日程度持続し、その後発疹が出現する。皮疹は顔面や四肢に多く出現し、徐々に隆起して水疱、膿疱化し、痂皮化した後、発症から 2~4 週間で治癒する。従来、致死率は 0~11% と報告され、特に小児において高い傾向にある。2022 年 5 月、海外渡航歴のないサル痘患者が英国より報告され、また、欧州、米国でも患者の報告が相次いだ。日本国内でも 2022 年 7 月に初の症例が報告されて以降、2023 年 1 月から症例が急増し、2023 年 3 月時点で 80 例以上が報告されている。天然痘のワクチンである痘そうワクチンは得エムポックスの予防にも有効であると考えられている。痘そうワクチンは、痘そうウイルスやサル痘ウイルスと同じオルソポックスウイルス属の一つであるワクシニアウイルスをワクチン株として使用したワクチンである。痘そうワクチンのサル痘に対する予防効果については、天然痘根絶後の 1980 年代のコンゴ民主共和国でのデータでは 85% と推定している報告がある。また、2003 年に米国で発生したアウトブレイクの事後の調査では、痘そうワクチン接種者にはサル痘ウイルスに対する防御免疫が誘導されていたことが示されている。オルソポックスウイルス属のウイルス間の抗原交叉はよく知られており、天然痘の根絶以後は、痘そうワクチンの効果については、動物実験で、当該動物種に感染し病原性のあるオルソポックスウイルス属のウイルスをチャレンジウイルスとして検討されてきた。その中で、サルにおけるサル痘に対する予防効果についても示されてきた。日本で開発された痘そうワクチン (一般名: 乾燥細胞培養痘そうワクチン) は、天然痘の根絶期に使われたワクチン株であるリスター株を親株として作成された LC16m8 株の弱毒化生ワクチン (以下、LC16 ワクチン) であり、痘そうに対する予防ワクチンとして承認されている。LC16 ワクチンは、サルにおいて、サル痘に対して天然痘根絶期に使われていた前世代ワクチンに比べて中和抗体誘導量は低下するが、前世代ワクチンと同様に高い発症予防効果が示されている。また、ヒトにおいては、サル痘ウイルスに対する交叉中和抗体を誘導することが示されている。一方で、日本人の LC16 ワクチン接種者においてサル痘ウイルスに対する交叉中和抗体がどの程度誘導されるのかについては知見が乏しい。痘そうワクチンのサル痘ウイルスに対する予防効果を推定するためには、痘そうワクチンのサル痘ウイルスに対する交叉中和抗体誘導

能を評価することが重要と考えられている。そこで、国立国際医療研究センターを研究代表機関として、日本人健康成人を対象に、現在、日本国内で製造されている痘そうワクチン LC16 ワクチンを接種した場合のサル痘ウイルスに対する免疫原性を確認することを目的とした特定臨床研究「日本人健康成人におけるサル痘ウイルスに対する痘そうワクチンの安全性及び免疫原性を評価するための単群試験」を実施した。本分担研究では、当該特定臨床研究において免疫原性評価にかかる検体の管理と中和試験を実施した。

B. 研究方法

1) 研究のデザイン: 単群非盲検試験

2) 接種期間・観察期間等の内容:

ワクチン試薬の接種は 1 回で、接種直前および接種後経時的に 3 回採血を行った。

3) 臨床研究に用いる医薬品等に関する情報:

乾燥細胞培養痘そうワクチン (LC16 ワクチン、製品名: LC16「KMB」) を添付の溶剤 (20vol% グリセリン加注射用水) 0.5mL で溶解し 約 0.01mL を多刺法により皮膚に接種する。なお、接種時の圧迫回数は、初種痘で 5 回、その他の種痘で 10 回とした。

4) 対象集団: 健康な成人 (性別を問わない)

5) 研究のスケジュール:

文書同意を取得した上で、LC16 ワクチンを接種した。Visit① (試験薬接種前)、Visit② (接種後 14 日目)、Visit③ (接種後 28 日目)、Visit④ (接種後 168 日目) に採血を行った。ただし、Visit②と Visit③は +4 日、Visit④は ±7 日の許容期間を設けた。

6) 免疫原性評価項目のための調査項目:

2 株のサル痘ウイルスに対する中和抗体価 (Day 0, 14, 28, 168) およびワクシニアウイルス (接種ウイルス) に対する中和抗体価 (Day 0, 14, 28, 168)

7) 中和抗体価測定:

RK13 細胞の懸濁液を作製し、24 ウェル細胞培養用プレートに 1×10^5 個/ウェルとなるように細胞を巻き込み、適度に揺らして細胞の偏りが生じないようにし、CO₂ インキュベーター内に翌日まで静置した。次に、ワクシニアウイルス LC16m8、サル痘ウイルス Zr-599 株、サル痘ウイルス Liberia 株を細胞維持用培地により 50PFU/50 μ l となるように希釈した。希釈したウイルス液は、同量の 56°C 30 分非働化処理済み血清の 2 倍階段希釈系列と混合し CO₂ インキュベーター内に 18 時間静置した。その後、各血清-ウイルス混合物 100 μ l を細胞に加え、CO₂ インキュベーター内で 72 時間培養した。培養後、細胞を 10% 中性緩衝ホルマリンで固定し、クリスタルバイオレット溶液で染色後、各ウェルのプラーク数を ELISPOT リーダーを用いてカウントした。各プレート内の血清を含まないウェルのプラーク数の算術平

均の半数を閾値とし、血清の希釈倍率が低いウェルから順に評価しプラーク数が閾値を下回る最大の血清希釈倍率(プラーク数が初めて閾値と同じあるいは閾値を上回った血清希釈倍率の半数)を希釈列ごとに決め、その幾何平均を血清の中和抗体価とした。最大希釈倍率である 4096 倍となった血清の中和抗体価は 4096 とし、中和抗体が検出できなかった血清の抗体価は 2 とし、計算した。

【倫理面への配慮】

本研究は研究開始当時、エムボックスへの適応がなかった LC16 ワクチンの、サル痘ウイルスへの免疫原性を評価する侵襲を伴う前向き試験であり、認定臨床研究審査委員会の承認後および国立感染症研究所人を対象とする生命科学・医学系研究倫理審査委員会の承認後に試験を開始した。

C. 研究結果

本研究には 50 名の健康成人が登録され、50 名からワクチン接種前と接種後 28 日目の血液が採取された。また、46 名から接種後 14 日目、47 名から接種後 168 日目の血液が採取された。得られた血液から血清を分離し、ワクシニアウイルス LC16m8 株、サル痘ウイルスコンゴ盆地系統 (Clade I) Zr-599、サル痘ウイルス西アフリカ系統 (Clade II) Liberia 株に対する中和抗体価を測定した。その結果、中和抗体価は、いずれのウイルス株に対しても接種後 14 日目(幾何平均 LC16m8: 109.2, Zr-599: 92.6, Liberia: 95.3)から接種後 28 日目(幾何平均 LC16m8: 1038, Zr-599: 283.4, Liberia: 189.1)にかけて血清中和抗体価は上昇し、接種後 168 日目(幾何平均 LC16m8: 332.2, Zr-599: 67.2, Liberia: 53.2)に低下した(図)。また、いずれのウイルス株に対しても接種後 168 日目の血清中和抗体価は接種前(幾何平均 LC16m8: 8.5, Zr-599: 14.6, Liberia: 12.3)に比べて高かった(図)。

D. 考察

ワクチン接種後の中和抗体価の経時的な変動パターン(kinetics)は、ワクシニアウイルスとサル痘ウイルスで同様であり、LC16 ワクチンの免疫により、サル痘ウイルスに対する交叉中和抗体が誘導されていると考えられた。また、いずれのウイルス株に対しても、ワクチン接種後、半年程度は十分な血清中和抗体が存在することが明らかになり、サル痘ウイルスに対する交叉中和抗体はワクチン接種後、一定期間は維持されることが示唆された。

一方で、接種半年後のワクシニアウイルスに対する中和抗体価の低下に比べて、サル痘ウイルスに対する中和抗体価は著しい低下傾向が見られ、LC16 ワクチン接種により誘導されたサル痘ウイルスに対する交叉中和抗体の持続期間については、ワクシニアウイルスに対する中和抗体の持続期間よりも短い可能性も示唆された。ワクシニアウイルス免疫により誘導されたオルソポックスウイルスに対する中和抗体の標的抗原は複数存在することが知られているが、どの抗原に対する抗体がサル痘ウイルスに対する交叉中和活性を担っているのかは全く分かっていない。本研究の結果により、ワクシニアウイルスに対する中和活性とサル痘ウイルスに対する中和活性の減衰動態に違いがあることが示唆されたことから、今後、中和抗体の持続性について評価するために、本研究参加者に対する長期間のフォローアップ観察研究を考慮すべきであると考えられた。また、本研究で用いたサル痘ウイルスに対する中和抗体測定試験は実験室内作業の負荷が非常に大きいことから、サル痘ウイルスに対する抗ウイルス活性を有する抗体を定量的かつ迅速に測定可能な検査系の開発研究が必要と考えられた。

E. 結論

LC16 ワクチンは日本人の健康成人において、サル痘ウイルスに対する交叉中和抗体を誘導することを明らかにした。

F. 健康危険情報

該当なし

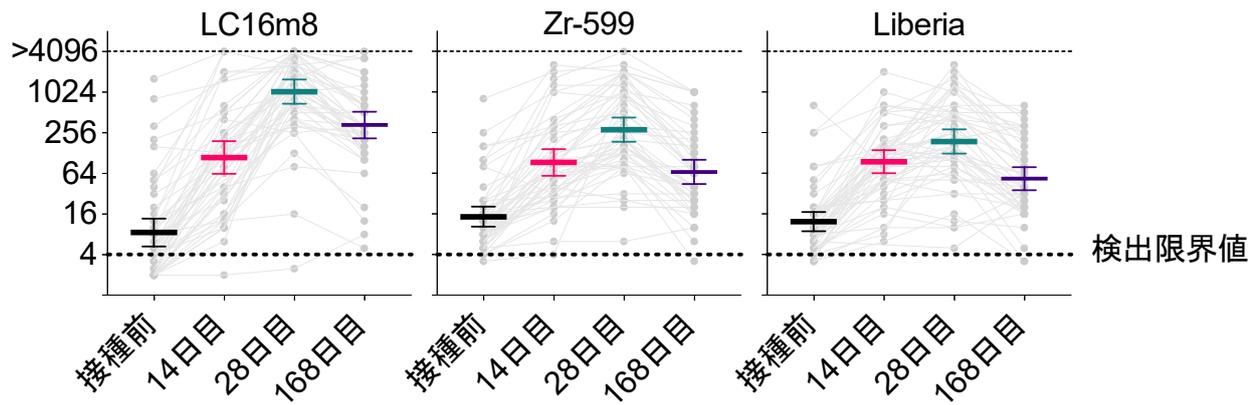
G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
1) 鈴木忠樹、峰宗太郎. サル痘の病態と感染経路、予防法. 日本性感染症学会第 35 回学術大会. 2022/12/3-4. 北九州市

H. 知的財産権の出願・登録状況

7. 特許取得
なし
8. 実用新案登録
なし
9. その他
なし

図



ワクシニアウイルスおよびサル痘ウイルスに対する血清中和抗体価 各採血ポイントにおけるワクシニアウイルス(LC16m8)、サル痘ウイルス(Zr-599、Liberia)に対する各血清の中和抗体価を灰色ドットで示しており、同じ被験者から採取された血清の中和抗体価は灰色線で結ばれている。ドット上の横線は幾何平均値と95%信頼区間を示す。