

テュートリアル 事例の解説

事例 1 (第4週 月曜日に提示)

M君は平成3(1991)年生まれの大学1年生です。東京で生まれ育ち、大阪の大学に入学しました。

M君が高校生だった2007年のゴールデンウィーク明けに、はしかの流行で学校が休校になったことがありました。その年は、首都圏の複数の大学で5月上旬から中旬にかけて十数人から数十人のはしか感染者が確認され、いくつもの大学が1週間から2週間休校となりました。

同じ5月末には、修学旅行でカナダを訪れていた東京の高校生のうち一人がはしかの症状で入院し、同行した100人以上の生徒が足止めされて抗体検査を受けた上、ワクチンを接種されて旅行を続けたというニュースがありました。また、リトルリーグの国際大会でアメリカを訪問していた12歳の選手からはしかの感染が広がり、接触が疑われた数百人が診察を受けた結果、同じ飛行機に乗っていたアメリカ人や、少年の到着時に近くにいた空港の従業員など、同行の日本人少年一人を含めて合計7人の感染が確認されたという話も聞きました。

日本は「はしか輸出国」として非難されたと聞きましたが、お父さんは「たかがはしかで何でそんなに大騒ぎするのだろう」と言っていました。

キーワード例

- ☐ はしか(麻疹)
- ☐ 流行
- ☐ 感染の確認
- ☐ 接触
- ☐ 飛行機と同乗者
- ☐ 近くにいた従業員
- ☐ 感染
- ☐ 抗体
- ☐ ワクチン
- ☐ はしか輸出国
- ☐ 「たかがはしか」(?)

学生さんたちに考えて貰いたかったこと

- ・ はしかの原因は？
- ・ 病原微生物学で麻疹についてどんなことを習ったの？
- ・ はしかの感染経路は？
- ・ 大学生を中心に、全国の若者に「はしか」が大流行したのは、丁度みんなが高校生くらいの時だよな？何か憶えている？
- ・ はしかの感染はどうやって確認するのだろう？
- ・ はしかの予防接種は受けた？いつ受けたの？
- ・ カナダやアメリカではどうしてこんな大騒ぎになったのだろうか？
- ・ はしかって命に関わるの？
- ・ アメリカやカナダには、はしかは無いのだろうか？
- ・ 日本や北米以外の国々では、はしかはどれくらい流行しているのかな？

解説

今年のテュートリアルでは、ワクチンを題材に抗体とTリンパ球による感染防御の機構、特に「免疫学的記憶(メモリー)の実体」を自己学習してもらいたいと思います。テュートリアルの後半では最近のワクチン開発の動向にも触れてもらいます。

さて、今回の出発点は2007年に我が国で起こった大規模な麻疹の流行です。

学生さんたちは既に病原微生物学の講義を通じて麻疹の病因や病態を理解しているはずです。麻疹の病因がパラミクソウイルス科(パラミクソウイルス亜科、モービリウイルス属)の麻疹ウイルス(Measles virus)であること、その感染系路は感染者の鼻咽頭分泌物などによる飛沫感染・飛沫核感染(「空気感染」とも言われる)であり、感染力が非常に強いこと、このウイルスに対する免疫(immunity)を持たない初感染者はほぼ全て発症し、不顕性感染はないことなどは、既に学習済みのはずです。麻疹ウイルスが空気核感染を起こし、その感染力が極めて強いことは、「感染者の近くを通っただけでうつる」「体育館の端から端でもうつる」などと表現され、実際事例に示されている通り、感染者がその近くを通り過ぎた空港の従業員が感染したという事例が報告されています。過去に流行のなかった孤島の住民が、「ウイルスの輸入」によりほぼ全員感染するなどの事例も知られています。

麻疹ウイルスは感染後上気道の粘膜や頸部の所属リンパ節で複製し、一次ウイルス血症を経て全身のリンパ節・脾臓・扁桃等に感染が拡大、感染後10日程の潜伏期の後に鼻汁・咳・くしゃみ・眼脂などのカタル症状をもって臨床的な麻疹が発症します。この時期の鼻咽頭分泌物や涙液・唾液などが感染源となります。麻疹に特徴的とされるKoplik斑は頬粘膜の臼歯に対向する部分に生じる白色の隆起斑で、紅暈に囲まれ、下唇部にも出現することがあります。発症から3日ほどで一旦下がりかけた熱が再び上昇すると発疹期に入り、小さな赤い丘疹が顔面・頸部から下向性に全身に拡がります。この時期カタル症状も激しくなり、特有の麻疹顔貌(情けない、悲惨な特徴的表情)を示します。多くの例では全経過7日程度で下熱とともに発疹が出現順序に消退し、後には色素沈着が残り回復します。このような経過であれば、M君のお父さんが言うように「たかがはしか」と言うことになります。しかし実際には麻疹は感染者が死亡する可能性のある重大な疾患であり、WHOの推計では2000年1年間に全世界で75万人が麻疹により死亡していました。この数値はワクチン接種の拡大により2007年には19.7万人に減少しましたが、死亡例の大半は東南アジア諸国に集中しており、我が国でもなお年間数十例の死亡があると推計されています(厚生労働省)。麻疹による死亡の二大原因は肺炎と脳炎であり、病初期に見られるウイルス性肺炎の他、次に述べる**免疫抑制状態に伴う細菌性肺炎や巨細胞性肺炎**が問題です。麻疹患者の5～15%には二次性免疫不全症に伴う細菌性中耳炎が見られ、1,000例に0.5～1例の割合で脳炎の合併が起こります。麻疹脳炎は発熱・発疹を伴う麻疹の経過中に突然痙攣・嗜眠などの症状を以て発症するもので、20～40%に後遺症を残し、致死的な経過をたどるものが10～20%とされています。

世界的に見ると、麻疹は感染性下痢症とともに5歳未満の小児の**主要な死因**であることを忘れてはいけません。

麻疹ウイルスに感染すると、一過性に末梢血のリンパ球減少症(lymphopenia)とその活性化障害が起こり、一時的な免疫不全状態となります(ウイルス誘発二次性免疫不全症候群)。このため、細菌性肺炎や咽頭炎など二次的な感染症が重篤化することがあり、死亡に至る可能性があります。アフリカや東南アジア諸国などでは、ワクチン接種率が十分に高くないこと、生後1年未満など、母体からの移行抗体が減少して感染防御には十分でないが、接種されたワクチン株の複製は抑制してしまうような状況でワクチンが用いられた場合があること、栄養状態により二次性免疫不全状態が重篤化し易いことなどを背景に、麻疹感染の合併症による死亡が多く見られると考えられています。

麻疹ウイルス感染時には末梢血のリンパ球数が一時的に減少し、通常は数日で回復します。この際Tリンパ球、Bリンパ球両方の減少が起こり、これらリンパ球を抗原やマイトゲン（PHAなどのレクチンやLPS）で刺激した時の増殖反応が抑制されるとともに、サイトカイン産生がTh2タイプに偏ります（Tリンパ球によるサイトカイン産生の偏りと、Th1/Th2細胞の分化については、来週詳しく学びます）。粘膜で麻疹ウイルスを結合した樹状細胞が二次リンパ組織でTリンパ球に接触し、ここで一部のリンパ球にウイルスを感染させると考えられますが、感染リンパ球の割合は低く、それだけでリンパ球減少を説明することは出来ないと考えられています。一つの説明として、ウイルスタンパク質（Nタンパク）が抑制性のFcγRIIb受容体に結合し、Bリンパ球や活性化したTリンパ球における抗原受容体からのシグナルを抑制するという説があります。このFc受容体についても、後の講義で学びます。

麻疹の流行はその地域の人口密度と、麻疹ウイルスに対する免疫記憶を持った人の割合で決まります。かつてのアメリカ合衆国や最近までの日本では、毎年流行のピークが繰り返されていましたが、北欧の孤島であるアイスランドでは、ワクチンがない時代でも数年に一度しか流行はありませんでした。我が国では2001年に一度大流行が起こり、この時は推計28万人が感染したと考えられていますが、報告された感染者の大半は小児で、成人の感染者は多くありませんでした。ところが、上の事例で採り上げた2007年の流行では、若年成人の感染者が多かったのが特徴です。2008年にも年間11,000人の感染者が報告される流行が繰り返されましたが、この流行時の患者報告数の年齢分布を見ると、15歳にピークがあり、若年成人感染者の大半は、ワクチン接種を受けたことがないか、1回の接種しか受けていない人たちでした。このことから逆に、麻疹はワクチンによって防ぐことができる感染症であり、ワクチン接種率を高めることが麻疹撲滅に繋がることがわかります。実際、1960年代からワクチン接種が徹底したアメリカ合衆国では1990年以降ほぼ麻疹の撲滅に成功しており、これが事例のような「日本によるはしか輸出」騒ぎにも繋がった訳です。

2007年・2008年の流行時に感染した当時15歳前後の若年成人は、事例のM君のように1993年前後の生まれとすることになります。我が国では1978年に、それまで任意接種だった麻疹ワクチンが小児の定期予防接種に組み入れられ、以後接種率が上昇しました。当時用いられていた麻疹ワクチンは、高度弱毒生ワクチンでしたが、1989年に麻疹・風疹・ムンプス（おたふくかぜ）3種混合生ワクチン（**MMRワクチン**）が認可され、接種時に麻疹単独ワクチンかMMRワクチンかを選択出来るようになりました。ところが、初期に導入されたMMRワクチンに含まれていたムンプスワクチン株（占部株）の製造（培養）方法に問題があり、当初予想された10万～20万人に一人を遙かに超える頻度で、副反応としての無菌性髄膜炎が認められました。問題に気付いた小児科医らの働きにより、無菌性髄膜炎の原因が占部株のムンプスワクチンであること、4年間で最終的に183万人以上にこのMMRワクチンが接種され、1,754例の無菌性髄膜炎発症があったこと（およそ1,000人に一人）、この間製薬3社が供給した統一株のMMRワクチンに用いられた占部株と、その後各社独自に製造・販売したMMRワクチン（自社株）とで、ムンプス占部株の培養方法が（厚生労働省の許可を得ることなく）変えられていたことなどが明らかとなり、1993年にはMMRワクチンの接種が中止されました。

翌年予防接種法が改正され、麻疹の予防接種は「努力義務」に変わりましたが、当時の推奨接種年齢が生後12～90ヶ月未満ですので、MMRワクチンによる無菌性髄膜炎の発生に驚いた保護者が麻疹の予防接種まで避けた結果、1990年代に生まれ、2007年頃高校・大学生となった世代で、接種率が著しく低い結果を招いたと考えられます。

なお、同じような事象は日本以外に英国でも生じており、MMRワクチンと自閉症との関連に関する誤った情報の広まりから、1998年には90%を超えていたMMRワクチンの接種率が、以降急激に減少して80%未満となり、2005年を境に英国内で麻疹が流行、死亡例まで出る

事態となりました。欧米で用いられているMMRワクチンの安全性は高く、米国では水痘・带状疱疹ワクチンを加えたMMRVワクチンも認可されており、MMRワクチンと自閉症の関係についても、明確な科学的根拠は無いとされています。

参考文献

1. 多屋 馨子. わが国の麻疹排除計画とその実践 ～2012年の排除を目指して～. **ウイルス** **60**: 59-68, 2010.
2. 加藤 茂孝. 人類と感染症との闘い 第7回「麻疹(はしか)」－天然痘と並ぶ2大感染症だった. **モダンメディア** **56**: 159-171, 2010.
3. Avota, E., E. Gassert, and S. Schneider-Schaulies. Measles virus-induced immunosuppression: from effectors to mechanisms. **Med. Microbiol. Immunol.** **199**: 227-237, 2010.
4. Woolcock, N., and N. Hawkes. Decline in MMR uptake blamed for measles death. **The Times**, April 3, 2006 (www.timesonline.co.uk/tol/news/health/article701459.ece).
5. DeStefano, F., and R. T. Chen. Negative association between MMR and autism. **Lancet** **353**: 1987-1988, 1999.
6. Kimura, M. *et al.* Adverse events associated with MMR vaccines in Japan. **Acta Paediatr. Jpn.** **38**: 205-211, 1996.

事例 2 (第4週 水曜日に提示)

M君の二つ年上のお兄さんは医学生ですが、大学に入学する時「母子手帳を調べて、はしかの予防接種を2回受けたことがあれば医療機関で予防接種証明書を発行して貰ってください。予防接種を全く、あるいは1回しか受けたことがない、または接種回数が不明である場合は、医療機関で抗体検査を受け、その結果が陰性であればワクチン接種を受けて、証明書を発行してもらってください」という通知を受け取ったということでした。

M君は、はしかに対する抗体って何だろう、それはどうやって測るのだろうかと思いました。

キーワード例

- ☐ 母子手帳
- ☐ 予防接種証明書
- ☐ 予防接種の回数
- ☐ 抗体検査
- ☐ 抗体の測定法

学生さんたちに考えて貰いたかったこと

- ・ 自分の母子手帳って見たことあるかい？
- ・ 予防接種って、いつ、何に対するワクチンを打つのだろう
- ・ 予防接種って、必ず受けないといけないの？
- ・ 麻疹の予防接種って、1回ではダメなのだろうか？
- ・ 抗体って何だい？
- ・ 麻疹に対する抗体って、どうやって調べるの？
- ・ 「測る」というのは、定量することかな？

解説

学生さんたちは、既に講義を通じて抗体分子の構造と機能を学び始めました。事例に関連して抗体分子の構造、アイソタイプ毎の濃度や機能の違い、一次免疫反応と二次免疫反応におけるアイソタイプの出現順序などを想起して下さい。また、抗体によるウイルス中和の仕組みについても議論して下さい。

わが国の予防接種法では、その発生及び蔓延を予防することを目的として、法律の定めにより予防接種を行う疾病を「一類疾病」とし、これにはジフテリア、百日咳、急性灰白髄炎（ポリオ）、麻疹、風疹、日本脳炎、破傷風が含まれます。また、個人の発病又はその重症化を防止し、併せてその蔓延の予防に資することを目的として予防接種を行う疾病を「二類疾病」としており、現在ではインフルエンザのみがこれにあたります。法律には、一類疾病及び二類疾病のうち政令で定めるものについては、市町村長は当該市町村の区域内に居住する者であって政令で定める者に対し、期日又は期間を指定して予防接種を行わなければならないとの規定があり、予防接種を行うことは市町村長の責務とされています。

WHOが日本を含む西太平洋地域での麻疹排除の目標時期を2012年に設定したことを受け、平成18(2006)年に予防接種法施行令が改正され、麻疹の予防接種は麻疹・風疹混合ワクチン(MRワクチン)による2回接種となりましたが、同じ年に同法施行令が再び改正され、単独ワクチンによる定期接種も可能とされました。そこに2007年からの大流行が起きましたので、平成20年 4月から25年 3月までの時限措置として、「麻疹排除計画」に基づいて、中

学校1年生と高校3年生を対象としてⅢ期及びⅣ期接種が行われています。従って、現在の麻疹予防接種は以下のように行われることになっています：

Ⅰ 期接種

生後12～24ヶ月未満の間にMRワクチンを1回接種(単独ワクチンを希望する場合は間隔を27日以上開けて各1回接種)

Ⅱ 期接種

5～7歳未満で小学校入学前にMRワクチンを1回接種(単独ワクチン希望の場合は1期接種に準じる)

Ⅲ期及びⅣ期接種(平成20年度～24年度、5年間に限り実施)

中学校1年生及び高校3年生に相当する1年の間にMRワクチンを1回接種(単独接種希望の場合は、上記に同じ)

一方、上記2007年の高校生・大学生を中心とした麻疹流行を受けて、国立感染症研究所・文部科学省・厚生労働省は「学校における麻しん対策ガイドライン」を発表、高校3年生に対する積極的な予防接種の勧奨とともに、各学校段階での予防接種実施状況の確認が推奨されることとなりました。これを受け、各大学でもリスク管理として麻疹対策を行うようになり、特に医学・看護系等の学部では、新入生に対するワクチン接種証明の提出依頼や抗体検査の要請が広く行われるようになりました。自校からの麻疹発生を防止するというリスク管理の側面だけでなく、WHOの麻疹根絶計画実現のため協力するという観点からも、重要な動きだと言えます。

さて、麻疹ウイルスに対する抗体の検査ですが、急性期あるいは感染の既往診断のための抗体検査と、ワクチン接種後の免疫能確認の検査ではやや性格を異にします。

麻疹感染の血清学的診断には急性期(発症後2～3日以内)と回復期(発症後4～6週以降)のペア血清を用いて、抗体価の上昇で判定します。急性期にはIgMが主体ですが、回復期の抗体はIgGが主体です。従って、ペア血清でIgMだけを調べるのは意味がありません。

麻疹ウイルスに対する抗体の検査法として古典的に用いられてきたのは中和試験(neutralization test: NT)と赤血球凝集抑制試験(hemagglutination inhibition test: HAI法またはHI法)です。中和試験の場合は、Vero細胞などの培養細胞に試験用麻疹ウイルスを感染させる際、予め段階希釈した被検血清と反応させ、感染ブランクの減少あるいはCPEの減少を以て抗体価を半定量します(同じような検査法について、講義でも説明します)。特異性が高く、感度も高いのですが、操作が煩雑で熟練を要し、結果が出るまでに時間もかかることが問題です。多数の検体の検査には適しません。

HI(HAI)法は麻疹だけでなく、インフルエンザウイルス、ムンプスウイルスなど赤血球凝集素(hemagglutinin: HA)を持つウイルスに共通に使われる方法で、赤血球とウイルス粒子を混ぜた時に起こる凝集反応が、抗体によって抑制させることを利用します。マイクロプレートで実施出来、多数検体を迅速に扱えますが、感度は低く、他のウイルスとの交差反応、血清中のウイルスとは無関係な凝集素の存在による干渉、非特異的インヒビターの除去が必要な点、及び麻疹の場合ミドリザル血球を用意しなければならない点などが問題です。

最近ではELISA法や粒子凝集(PA)法がより多く使われます。**ELISA法は学生実習でも行います**ので、原理の説明は要らないと思います。PA法は麻疹ウイルス抗原を結合させた(感作した)ゼラチン粒子を、希釈した被検血清と混ぜ、粒子の凝集を検出するもので、未感

作ゼラチン粒子を陰性対照として置くことが出来、微量の検体で迅速に抗体が検出出来ます。ELISA法やPA法はHI法に比べて高い感度を示すことがわかっており、最近頻用されています。

事例 3 (第4週 金曜日に提示)

M君は、自分もはしかにかかるのではないかと心配になり、お母さんに連絡して母子手帳を調べてもらいました。その結果、M君自身は1歳過ぎに当時の麻疹・流行性耳下腺炎・風疹混合ワクチン(MMRワクチン)の接種を受けていたこと、高校3年生の時にもう一回、麻疹・風疹混合ワクチン(MRワクチン)を受けていたことがわかりました。そう言えば、高校生の時の予防接種のことは憶えています。

確か、子供の頃はしかに一回罹ると一生抵抗性になって「二度罹りはない」と聞いたような記憶がありますが、どうして自分ははしかの予防接種を二回も受けたのだらうと不思議になりました。

キーワード例

- ☐ MMRワクチン
- ☐ MRワクチン
- ☐ 二度罹り無し
- ☐ 自然感染
- ☐ 終生免疫

学生さんたちに考えて貰いたかったこと

- ・ 自分自身や家族が、はしかに罹ったことはありますか？
- ・ 乳児期に一回予防接種を受けているのに、どうして高校生の時またワクチンを接種されたのでしょうか？
- ・ 予防接種をすれば、一生抵抗性になるのですか？
- ・ 複数のワクチンを混合して接種しても大丈夫なのかな？
- ・ MMRワクチンやMRワクチンの他にも混合ワクチンというものはあるの？

解説

金曜日ですので、先ず事例2までの自己学習の成果をしっかりと纏めて下さい。

MMRワクチンとMRワクチンについては、既に解説を加えました。学生さんたちはMMRワクチンの接種後に生じた、予想を上回る副反応の出現について、過去の経緯を調べて来たのでしょうか？

ウイルス・細菌の細胞側受容体や生ワクチン株複製の標的となる細胞が互いに重複せず、それぞれの抗原に対する免疫応答を相互に抑制する虞のないワクチンを複数同時に接種することはしばしば行われます。最も早くから用いられているのはジフテリア・破傷風毒素・百日咳の三種混合(DTP)ワクチン(沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン)であり、これは百日咳菌の死菌または菌体成分、精製不活化した破傷風毒素、及び精製不活化したジフテリア毒素を水酸化アルミニウムなどのアジュバントに混合したものです。百日咳菌死菌または菌体成分のアジュバント(抗原提示細胞などの活性化)作用により、それぞれを単独で接種するよりも強い免疫応答が得られます。百日咳に対する抗原成分は、不活化ワクチン(全細胞性百日咳菌: whole cell pertussis, wP)である場合と、成分ワクチン(非細胞性百日咳: acellular pertussis, aP)である場合とがあり、近年はaPを利用するものが増加しています。我が国では、DwPTワクチンの副作用による事故の懸念から、1981年からDaPTワクチンによる予防接種が行われています。麻疹の場合も、弱毒生ワクチンとしての共通性、対象疾患が主に小児の疾患であり、接種年齢がほぼ同一で、接種回数も同じで良いことなどが

ら、麻疹・ムンプス・風疹の混合ワクチンが開発され、合計の接種回数を減らせること、それに伴い接種ミスや物理的・生物学的傷害の可能性を減らせることから、接種者にも被接種者にも歓迎されました。

麻疹ウイルスは感染力が強いので、日本のように人口密度が高く人の往来が激しい国では、元々乳児期から小児期に自然感染するケースが多く(宮澤も幼稚園の頃に自然感染しました)、その場合には終生免疫が得られると考えられて来ました。このことは、例えばアイスランドやグリーンランドのように地理的に孤立して、地域外からの感染者の移動(感染症の輸入)が少ない場所、特に小さな孤島などで、前回の流行時に自然感染を経験した人が、それから十数年から数十年後に次の流行があっても抵抗性を維持している例があるという観察から推測されていました(勿論、一般の人々の間でも経験則として知られていました)。一方、既に述べたように我が国での2007～2008年の流行時には、乳児期に麻疹ワクチンを1回だけ接種された若年成人の中に多数の感染者が出現し、弱毒生ワクチンの乳児期一回接種によって誘導される免疫応答は感染防御には不十分であることがわかりました。麻疹流行のないグリーンランドの孤島で実施されたワクチン接種後の追跡調査では、接種5年後には95%が抗体陽性だったが、16年後にはそれが43%にまで減少したとの報告があります(この報告は、16年後でも抗体陽性が続いていたと読むことも出来ます)。実はこの研究ではワクチン接種の2～4年後に抗体価の上昇が見られる例があり、グリーンランドのような孤島でも、発症に至らない麻疹の自然感染が繰り返されている(そして、それが自然のブースターになっている)のではないとも言われています。このような観察を根拠に、自然感染に較べてワクチン接種による免疫学的記憶の誘導は不十分であり、二回接種によるブースターが必要であると考えられている訳です。

唯、注意しなければいけないのは、乳児期のワクチン接種では母体からの移行抗体残存によりワクチン株の複製が十分に起こらない場合もあり得ること、ワクチン接種後の抗体検出をHI法で行っている場合には、検出感度が不十分である可能性もあることです。アメリカ合衆国でボランティアにより行われた長期間の抗体価追跡研究では、麻疹に対する抗体産生は半減期数百年で続く(即ち、本当に終生免疫が得られる)というデータがあり、この場合、自然感染後に較べてワクチン接種後では全体として抗体価が低い、半減期は変わらないとされています。

何れにせよ、はしかが乳児期から幼稚園など小児期に感染する可能性のある疾患である以上、第1回のワクチン接種を乳児期に行うことは合理的であり、その場合に乳児の免疫系が未熟であることや、移行抗体の残存によりワクチン株の複製が不十分となる可能性を考えると、小学校入学前のⅡ期接種でブースターを行うという我が国の方針は、免疫学的にも合理性があると言えるでしょう。

参考文献

1. Pedersen, I. R., C. H. Mordhorst, T. Edald, and H. von Magnus. Long-term antibody response after measles vaccination in an isolated arctic society in Greenland. **Vaccine** 4: 173-178, 1986.
2. Amanna, I. J., N. E. Carlson, and M. K. Slifka. Duration of humoral immunity to common viral and vaccine antigens. **N. Engl. J. Med.** 357: 1903-1915, 2007.

事例 4 (第5週 月曜日に提示)

はしかの予防接種について調べてみたM君は、私たちの身体を感染症から護っている免疫の仕組みを面白く感じるようになりました。ある本にははしかに感染すると「終生免疫」が出来ると書いてありましたが、抵抗性が一生続くと、一体どうして証明出来るのでしょうか？一度体内に侵入した病原体の構造を憶えている細胞があるらしいのですが、そういう細胞は本当に一生身体の中で生き続けているのでしょうか？「記憶細胞」がずっと生存していることは、一体どうやって証明されたのでしょうか？

キーワード例

- ☐ 免疫の仕組み
- ☐ 終生免疫
- ☐ 終生免疫の証明
- ☐ 免疫学的記憶
- ☐ 記憶細胞
- ☐ 記憶細胞の寿命

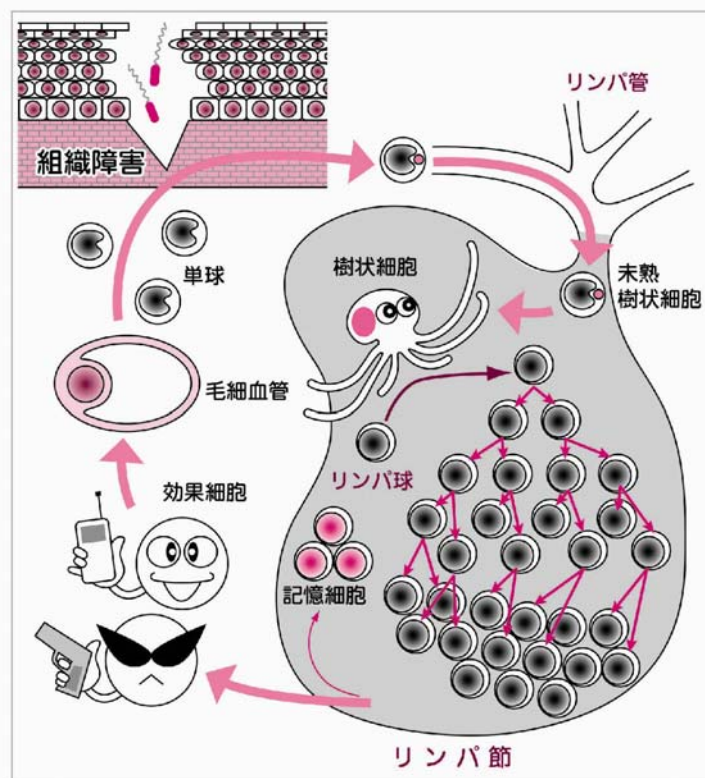
学生さんたちのに考えて貰いたかったこと

- ・ 去年流行が問題になったブタ由来H1N1インフルエンザに対して、大昔に感染して抗体を持っているお年寄りがいたという話は聞いたことある？
- ・ 一度罹ったら一生「二度罹り無し」と言われる病気には、どんなものがあるだろうか？
- ・ 逆に、一生の間に何度も罹る病気は？
- ・ 体内で一生に亘って生き続ける細胞はある？
- ・ 免疫系の記憶細胞はどうやって出来るの？
- ・ 本当は、症状は出ないけれども何度も感染を繰り返しているのだという説もあるよね。

解説

自然感染やワクチン接種後に個体レベルの免疫応答がいつまで持続するか、またメモリー状態となったTリンパ球やBリンパ球の寿命は、本当に個体の生涯に及ぶのかは、長い間免疫学者の間で議論が続いている問題です。

ナイーブなTリンパ球がリンパ節で樹状細胞による抗原提示を受けて活性化すると、分裂増殖してクローンを拡大します。1個のナイーブTリンパ球に由来するクローンから、多数のエフェクターT細胞と少数のメモリー

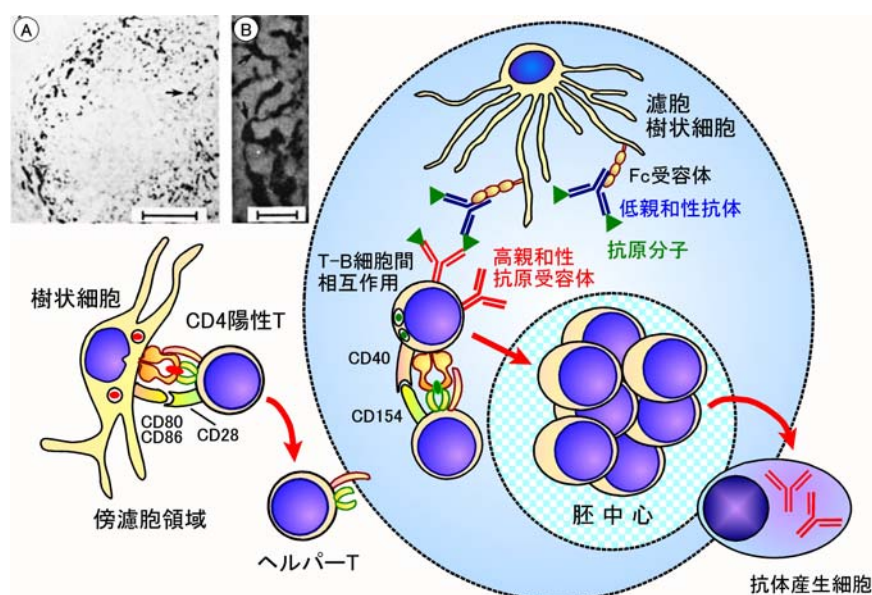


T細胞の両方が生まれることが実験的に証明されています。リンパ節で分化したエフェクターT細胞は、ケモカイン受容体の発現パターンが変わり、リンパ節を離れて胸管から血流に入り、血管を介して抗原(=病原体)侵入部位の組織に到達します。病原体の侵入によって炎症反応が生じている組織の血管内皮細胞を通り抜けたエフェクターT細胞は、大部分が機能を果たすと死滅しますが、一部はエフェクター(末梢)メモリー細胞(effector memory T-lymphocytes: Tem)となってその場に残ります。一方、クローンの拡大の結果生じてリンパ節に残った中枢メモリー細胞(central memory T-lymphocytes: Tcm)は、リンパ節内に長く留まります。同じ病原体が再度侵入した場合、侵入局所で待ち構えていたTem細胞はただちに活性化して標的細胞傷害効果やサイトカイン産生などのエフェクター機能を発現しますが、Tem細胞の分裂増殖能は限られており、数はそれ程増やせません。その間に、抗原侵入部位から樹状細胞がリンパ節に到達し、Tcm細胞の再活性化が起こります。再活性化したTcm細胞は分裂増殖を繰り返し、新たなエフェクター細胞を供給するとともに、一部は再びTcm細胞になります。こうして、再活性化されたTcm細胞から新たなエフェクター細胞が生まれて、限られた数しかないTem細胞に加勢し、抗原の排除後には再び局所にTem細胞が残るとともに、リンパ節のTcm細胞はさらに数を増やして次の侵入を待ち構えます。

抗体産生細胞の場合はどうでしょうか？リンパ節で抗原刺激を受けたBリンパ球は抗体産生細胞へと分化を始めますが、最初に生まれた抗体産生細胞は短寿命です。活性化したBリンパ球が濾胞樹状細胞と接触し、ヘルパーTリンパ球と相互作用して親和性成熟とクラス(アイソタイプ)スイッチを起こすと、その後生じた抗体産生細胞は長寿命となり、多くは骨髄に移動して数ヶ月から数年にわたり抗体産生を続けます。また、活性化したBリンパ球の一部は、リンパ節に留まってメモリーB細胞となります。

動物実験では、これらメモリー細胞は個体の寿命に相当する期間生存出来ること、メモリー細胞の生存に抗原刺激は必要なく、例えばTリンパ球の場合、抗原提示に必要なMHC分子の遺伝子型が異なる動物に移入しても、長期にわたり生存し、同系のMHC分子によって提示される抗原ペプチドで再刺激を受ければ、それまで全く刺激無しで生存していたメモリー細胞が再活性化することが証明されています。従って、実験動物のレベルではメモリー細胞は持続的な抗原刺激を受けなくても、必要なサイトカインさえあれば長期間生存出来るという考え方がコンセンサスになっています。

しかし、上記のようなメモリー細胞維持に関する実験が行われているのは、遺伝子操作を行ったマウスの系で、そこでは「個体の一生涯」と言っても、その期間はせいぜい2年間です。



ヒトの一生は数十年から百年にわたりますから、その期間抗原刺激無しにメモリー細胞が生き続けているかどうかは別問題です。実際には、症状として表れない程度の不顕性感染が繰り返され、これがブースター刺激となって、メモリー細胞は何度も分裂を繰り返し生き残っているという意見が繰り返し主張されています。また、リンパ節の濾胞樹状細胞は

その表面に免疫複合体を長期にわたって結合しており、侵入した病原体の排除後も、濾胞樹状細胞表面には数年間にわたって抗原が残っている可能性もあると言われます。クラミジア・トラコマチスによる性感染症では、抗生物質による治療後再感染がなければ、長くても数年で抗体は陰性化します。このことは、ヒトにおける(粘膜感染後の)抗体産生は、抗原刺激が繰り返されなければ数年しか持続しないことを示します(しかし逆に、抗原による再刺激無しに、抗体産生細胞は数年間以上生き続けるとも解釈出来ます)。

ヒトにおける免疫学的記憶の半減期を調べようとする研究は、既に述べた孤島の住人や、南米の高地民族など、周囲環境から隔離された(従って「病原体の輸入」が殆ど無いと考えられる)人々を対象に試みられています、この場合も実際には不顕性感染が繰り返されている可能性があります(その地に赴いた研究者自身が病原体を持ち込んでいるかも知れません)。この点で、既に地球上から撲滅されてしまった天然痘と、接種が中止されて長いワクシニアウイルスは格好の研究材料です。日本国内で種痘接種が中止されたのが1976年、WHOによる天然痘撲滅宣言は1979年ですから、日本人は少なくとも30年以上、天然痘ウイルスやワクシニアウイルスに曝露された可能性がありません。しかし、宮澤の血清中には、実は今でもワクシニアウイルスと反応する抗体が検出可能で、このことは組換えワクシニアウイルスをワクチンとして使用する場合の懸念材料とされています。アメリカ合衆国で行われた研究では、種痘接種後、関連抗原による再刺激があり得ない条件で20年以上が経過した段階で、被験者の14%でそのTリンパ球がワクシニアウイルス抗原による刺激に対してインターフェロン- γ 産生を示し、半数の被験者のTリンパ球は抗原刺激による増殖反応を示したこと、そして97%の血清中に中和抗体が検出出来たことが報告されています。

以上を総合すると、ヒトの場合でも抗体産生細胞は(再刺激無しに)ほぼ一生涯にわたって抗体を作り続けることが出来(長寿命)、メモリーT細胞も、少なくとも数十年にわたって生存している場合があることは確かなようです。

参考文献

1. Sallusto, F., A. Lanzavecchia, K. Araki, and R. Ahmed. From vaccines to memory and back. **Immunity** 33: 451-463, 2010.
2. Leignadie, J., M.-P. Hardy, M. Cloutier, J. Rooney, and N. Labrecque. Memory T-lymphocyte survival does not require T-cell receptor expression. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. 105: 20440-20445, 2008.
3. Muraki-Krishna, K. *et al.* Persistence of memory CD8 T cells in MHC class I-deficient mice. **Science** 286: 1377-1381, 1999.
4. Swain, S. L., and Huston, H. H. Class II-independent generation of CD4 memory T cells from effectors. **Science** 286: 1381-138, 1999.
5. Boyman, O., S. Létourneau, C. Krieg, and J. Sprent. Homeostatic proliferation and survival of naïve and memory T cells. **Eur. J. Immunol.** 9: 2088-2094, 2009.
6. Gray, D. A role for antigen in the maintenance of immunological memory. **Nat. Rev. Immunol.** 2: 60-65, 2002.
7. Sivapalasingam, S. *et al.* Immunological memory after exposure to variola virus, monkeypox virus, and vaccinia virus. **J. Infect. Dis.** 195: 1151-1159, 2007.

事例 5（第5週 水曜日に提示）

M君がワクチンや免疫のことを勉強しているうちに、冬が近付きインフルエンザの予防接種が行われる時期になりました。M君は毎年予防接種を受けていますが、中学生の頃一度だけ、インフルエンザのワクチンを注射された直後に全身にオレンジ色や紫色の斑点が出て、保健室で寝ていたことがありました。そう言えば、インフルエンザの予防接種を受ける前に問診票を記入しますが、そこにはニワトリの肉や卵にアレルギーがあるかどうかを書く欄がありました。インフルエンザとニワトリの卵にどんな関係があるのでしょうか？

キーワード例

- ☐ インフルエンザワクチン
- ☐ 予防接種
- ☐ 注射の直後
- ☐ 全身に斑点
- ☐ 問診票
- ☐ ニワトリの卵
- ☐ アレルギー

学生さんたちに考えて貰いたかったこと

- ・ インフルエンザウイルスってどんな構造を持っているの？
- ・ インフルエンザワクチンって、どうやって作るのかな？
- ・ インフルエンザウイルスは鶏卵で増やすって聞いたことない？
- ・ 予防接種の後に蕁麻疹が出るとか、喘息のような発作が起こるという話は聞いたことがないかな？
- ・ アレルギーって何だろう

解説

現行のインフルエンザワクチンは、発育鶏卵にワクチン株のウイルスを接種し、増殖したウイルスを漿尿膜液から密度勾配遠心法で精製した後、エーテルで脂質を取り除き、主にHAタンパク質から成るタンパク質分画を集めた「スプリットワクチン」です。米国などでは一部精製ウイルス粒子をホルマリン処理した不活化全粒子ワクチンも使われています。

漿尿膜液から精製されたウイルス粒子の精製度は高く、鶏卵由来の成分は殆ど混入しません。エーテル処理によってウイルス被膜の脂質成分はかなりの程度取り除かれますが、精製された「HA分画」はHAとNAとがロゼット状に集合した重合体が主体であり、決して純粋なHAタンパク質のみからなっている訳ではありません。

現行のインフルエンザワクチン製造上の最大の問題点は、膨大な数の有精卵を必要とすることです。ワクチン製造用の鶏卵は、食用のそれと違い専用に飼育されたニワトリのものをを使うため、コストが嵩みます。また、有精卵を必要とするため、卵を産まない雄鶏も多数維持しなければならず、養鶏業者には負担となります。さらにワクチン製造用の鶏卵は生後半年以上1年以内の若鶏が産んだ高品質のものでなければならぬとされており、ワクチンの需要に合わせて1年以上前から鶏の準備をするのは大変です。従って、2009年に生じたような急激な需要の変化には対応出来ず、安定供給が問題となります。

インフルエンザワクチン接種後に起こる副反応のうち主なものは、接種部位の疼痛・腫脹や発赤などで、多くは一過性ですが、まれに事例のような全身の蕁麻疹、アナフィラキシー、

ギラン・バレー症候群が生じると報告されています。事例は実は宮澤自身の体験ですが、接種直後に全身に皮疹が生じたことから、**即時型のアレルギー反応**であったと思います。

まれに生じる即時型アレルギー反応の原因として、微量に混在する鶏卵由来成分の存在が疑われるため、卵アレルギーを持つ者はインフルエンザワクチンの「接種要注意者」として、慎重な判断を行うよう求められています（「インフルエンザ予防接種ガイドライン」）。実際、一部のインフルエンザワクチン製剤中にはELISA法で卵白アルブミンが検出出来るという報告がありますが、逆に大多数のワクチン製剤では卵白アルブミンは検出限界以下です。実際には、製剤の安定化のために添加されているゼラチンに対するアレルギー反応の方が問題ではないかという説もあります。

参考文献

1. 奥野 良信. インフルエンザワクチンの製造と課題. *生産と技術* **61**: 56-59, 2009.
2. Li, J. T., M. A. Rank, D. L. Squillance, and H. Kita. *J. Allergy Clin. Immunol.* **125**: 1412-141, 2010.

事例 6（第5週 金曜日に提示）

M君は、現在日本で使われているインフルエンザワクチンは、その冬に流行すると予想されたインフルエンザウイルスの株を発育鶏卵に接種し、そこで増やしたウイルス粒子を集めて処理したものであることを知りました。しかし、ウイルス粒子は「精製される」と書かれています。それなのに卵の成分が混じっているのでしょうか？また、最近アメリカでは、遺伝子工学の手法を使って一つのウイルスタンパク質だけを集めたワクチンも出来つつあると聞きました。遺伝子工学を作ってワクチンを作るというのは、どのような方法なのでしょうか？また、どんな利点があるのでしょうか？

キーワード例

- ☐ 発育鶏卵
- ☐ ウイルス粒子の精製
- ☐ 遺伝子工学
- ☐ 組換えワクチン

学生さんたちに考えて貰いたかったこと

- ・ 鶏卵からインフルエンザウイルスを集める方法は？
- ・ ウイルス粒子の精製ってどうやって行うの？
- ・ 遺伝子工学については今まで何を習ったの？
- ・ 去年の事例で組換えワクチンの話があったようだよ。

解説

鶏卵の供給に由来する現行インフルエンザワクチンの問題点を克服する手段として、細胞培養で製造したワクチン、あるいは遺伝子操作の手法で製造したワクチンを導入しようという動きがあります。上述の通り、鶏卵由来ワクチンの製造には鶏の飼育から考えると年単位の時間がかかり、新型インフルエンザの大流行が予想される場合など、製造が間に合わない可能性があります。また、実際に2009年に起こったように、毎年供給される季節型インフルエンザに対するワクチンの製造と、大流行が懸念される新型インフルエンザに対するワクチンの製造のどちらを優先するべきかという国家戦略上の問題に直面してしまう可能性もあります。

細胞培養法では、これまでの鶏卵に代わり、インフルエンザワクチン製造用に選択された培養細胞株でウイルスを増殖させます。鶏卵を必要としないことに加え、一旦ワクチン用のウイルス株が同定されると、最短数週間でワクチン製剤を供給することも可能になります。ヨーロッパでは、季節性インフルエンザワクチンについて、既にMDCK細胞を用いた細胞培養型ワクチンが承認され、利用されています。

さらに進んだ考え方として、ウイルス粒子全体を複製させるのではなく、感染防御免疫応答の誘導に最も重要と考えられるHAタンパク質だけを、遺伝子操作の方法で大量に産生しようという試みも実用化の域に達しつつあります。具体化が最も進んでいるのは昆虫細胞を用いて、組換え型核多核体ウイルス(バキュロウイルス)によりインフルエンザウイルスのHAタンパク質を大量に生産する方法です。核多核体ウイルスに感染した昆虫細胞では、その細胞内にウイルスタンパク質が大量に蓄積し、極端な場合、細胞タンパク質の80%もを、発現させた組換えタンパク質とすることが可能です。組換えウイルス感染細胞からのタンパク質抽出・精製を簡略化する方法も開発されており、米国に続き既に我が国でも治験が開始されています。

昨年度の事例で触れた組換えワクシニアウイルスや組換えトリボックスウイルスを含め、学生さんたちは最新のワクチン事情を調べて下さい。

事例 7 (第6週 月曜日に提示)

ワクチンに興味を持ったM君は、最近子宮頸癌ワクチンという言葉聞きびっくりしました。がんを防ぐワクチンがあるのでしょうか？だとしたら画期的なことだと思いました。どんながんにもワクチンが出来るのでしょうか？

キーワード例

- ☐ 子宮頸癌
- ☐ 頸癌ワクチン
- ☐ ワクチンでがんを防ぐ？
- ☐ がんワクチン
- ☐ どんながんにも効くか？

学生さんたちに考えて貰いたかったこと

- ・ 子宮頸癌ってどんな病気？
- ・ 子宮頸癌とウイルスの関係は？
- ・ ヒトパピローマウイルスって知っているよね？
- ・ ノーベル賞の受賞業績になっていたのでは？
- ・ ワクチンでがんが治るの？
- ・ 「がん免疫」って、本当にあるの？

解説

我が国でも2009年から、ヒトパピローマウイルス抗原を用いた子宮頸癌ワクチンの使用が承認されました。

ヒトパピローマウイルス(HPV)には多くの型がありますが、悪性腫瘍との関連が指摘されているのは約20種類であり、特に発がんとの関連が高いとされている高病原性のHPVが約15種類あります。このうち、子宮頸癌の発生に関連し、頻度の高い型としてHPV16, HPV18が重要とされます。我が国においても海外と同様、子宮頸癌から検出されるHPVは16型および18型が多く、全体の約60%を占めます。また、若年者程HPV16, 18の感染割合が高いという報告もあります。

子宮頸部粘膜表面のHPV感染は比較的頻繁に起こっていると考えられますが、重層扁平上皮は表層に向かって分化・剥離していきますので、高病原性のHPVが感染しても多くの場合は自然に排除されてしまい、発がんには至りません。高病原性HPVの感染が子宮頸癌発症に至る率は0.1%～0.15%と推計されています。また、同じ理由から、HPVに対する免疫応答の成立には時間がかかり、高病原性HPVに対する抗体の陽性率は40歳以降にかけて次第に上昇して行くとされます。

HPV感染にも関わらず強い獲得免疫反応が成立しなかった場合には再感染を繰り返す可能性があり、上皮細胞に持続感染が起これば、上皮内の異型細胞出現から上皮内癌、そして浸潤がんへと進展する可能性が出て来ます。従って、高病原性HPVの初感染を防ぐために性活動期に入る前の若年女子にワクチンを接種する一方で、再感染を防ぐという観点から、成人女性に対してもHPVワクチンを接種する意義があると考えられます。

我が国で2009年10月に承認され、2009年12月より一般の医療機関で接種することができるようになった子宮頸癌ワクチンはCervarixと呼ばれるもので、感染を防ぐためには3回のワクチン接種が必要とされます。このワクチンは、すでに感染しているHPVを排除したり、子宮

頸部の前がん病変やがん細胞を排除したりする効果はなく、あくまで接種後のHPV感染を防ぐものであるとされています。

Cervarixの成分は、実は組換えバキュロウイルスによって産生されたHPVタンパク質です。HPV16とHPV18のL1タンパク質を発現する組換えバキュロウイルスを昆虫細胞(カイコのような幼虫に由来する)に感染させ、産生されたウイルス様粒子(VLP)を集めたものです。製剤中にはアジュバントとして水酸化アルミニウムが添加されています。

このコースのチュートリアルは今回が最後です。事例を提示した後、金曜日の事例発表準備及び土曜日の発表会まで時間がありますので、学生さんたちは頸癌ワクチンの意義やその製造方法、有効性の検定がどのように行われたのかなどをじっくりと自己学習して下さい。また、余裕があれば最近話題になった「がんペプチドワクチン」についても調べて下さい。がんに対する免疫応答については講義でも触れます。また、実は私たちは、ただ一つのヘルパーT細胞認識エピトープを含むペプチドワクチンを用いた、たった一回の免疫で、レトロウイルス誘発白血病の発症を防止出来ることを世界で初めて示しています(Miyazawa, M., *et al.* Immunization with a single T helper cell epitope abrogates Friend virus-induced early erythroid proliferation and prevents late leukemia development. **J. Immunol.** 155: 748-758, 1995; Sugahara, D., S. Tsuji-Kawahara, and M. Miyazawa. Identification of a protective CD4⁺ T-cell epitope in p15^{gag} of Friend murine leukemia virus and role of the MA protein targeting to the plasma membrane in immunogenicity. **J. Virol.** 78: 6322-6334, 2004.)。