原　著

風疹 HI 抗体価別によるワクチン接種ブースターの長期効果

川崎医科大学小児科
寺田　喜平　　赤池　洋人　　荻田　聡子　　尾内　一信

（平成 25 年 4 月 26 日受付）
（平成 25 年 8 月 2 日受理）

Key words：rubella, vaccine, booster effect

要　旨

院内感染対策としてワクチン予防可能疾患は抗体価によってワクチン接種を決定することが多く，どの低抗体価者までを接種対象とすべきか混乱が生じている．風疹 HI 抗体の陰性および HI 抗体価 32 倍以下の大学生 200 名に風疹単独ワクチンを接種し，接種 1 カ月後と 2 年後に抗体を測定して抗体価の変動を検討した．ワクチン接種後有意に抗体価が増加したものは，接種前 HI 抗体価 8 倍未満では 98%，8 倍では 87%，16 倍では 67%，32 倍では 32% と，抗体価が高いとブースターがかかりにくいことを示した．HI 抗体陰性者において，ワクチン接種後 EIA-IgM 抗体および EIA-IgG 抗体の avidity によって B 細胞メモリーの有無を調べた．それでは抗体陰性者の 6～16% に B 細胞メモリーを認め，多くは 1 回のワクチン接種歴があった．各 HI 抗体価によるワクチン接種基準を設定し，接種 2 年後においてその基準を満足しない割合を検討した．それでは，HI 抗体 8 倍未満は 4% であったが，8 倍以下で 22%，16 倍以下で 43%，32 倍以下では 74% と，抗体価の基準を上げると不満足例が増加した．接種対象数は，HI 抗体陰性（8 倍未満）を基準にすると，HI 抗体価 8 倍以下では 1.5 倍，16 倍以下で 2.5 倍，32 倍以下で 4.7 倍に増加した．わが国の風疹ワクチン接種基準 HI 抗体価 16 倍以下では，接種 1 カ月後に対象者の 67% は有意な抗体上昇を認めたが，2 年後には 43% が再び 16 倍以下に低下していた．また接種対象数は陰性者のみと比較して，2.5 倍と多くなっていた．抗体価では正確に CRS 罹患防止を予測できないことから接種基準の抗体価が高く設定されていると思われるので，より正確に予測するため特異細胞性免疫などの測定を開発する必要があると思われる．

〔感染症誌　88：110～116，2014〕

序　文

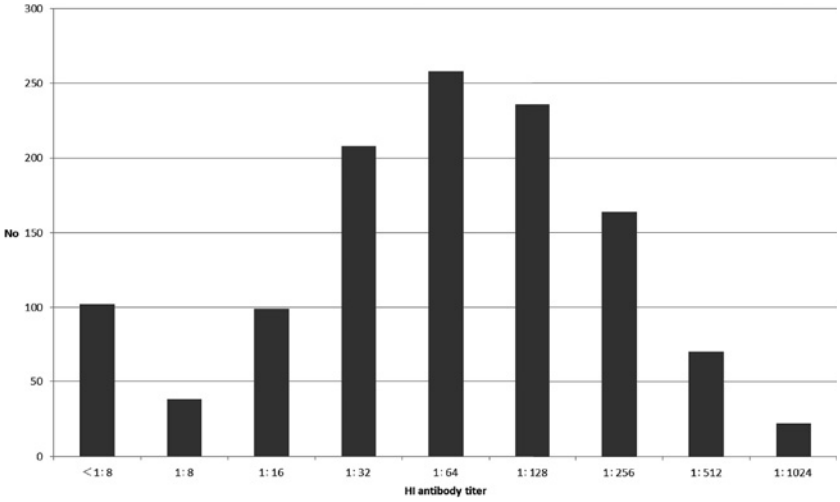
風疹の合併症は，血小板減少性紫斑病や脳炎などもあるが，麻疹と異なり風疹は比較的軽症なウイルス感染症である．しかしながら，妊娠 1 カ月以内なら約 50% 以上に，妊娠 2 カ月なら 20～30%，妊娠 3 カ月なら約 5%[1]と，高率に先天性風疹症候群（CRS）の児を出産することになり，そのインパクトは強い．風疹が流行すると，妊婦にとって風疹に罹患しないか心配する感染症である．過去には流行に伴い，人工流産が増加したとの報告[2]もある．これまでわが国では 1965 年沖縄で 408 名の CRS が，1965～85 年の 20 年間に少なくとも 1,600 名の CRS が生まれたと報告されている[3]．風疹予防接種の変遷により，男性成人を中心にワクチン未接種が約 500 万人残っている[4]．最近では，2004 年わが国で風疹流行に伴い 10 例の CRS 児が出生した．また 2012 年より風疹が流行し 2012 年 5 名の CRS 児が，2013 年さらに CRS 児の増加が推測されている．

厚労省研究班「風疹流行にともなう母児感染の予防対策構築に関する研究」（平原班）で接種基準が検討され，風疹再感染による先天性風疹症候群の発生を防止するために，女性の HI 抗体価 16 倍以下の低抗体価者にも風疹ワクチン接種を勧告した[5]．さらに 2009 年日本環境感染学会から「院内感染対策としてのワクチンガイドライン」が提出された[6]．それでは，原則として風疹ワクチン 2 回接種が求められ，2 回接種ができない場合 HI 抗体価 16 倍以下あるいは EIA-IgG 抗体（デンカ生研キット）で 8.0 未満を接種対象と勧告された．

しかし，母子手帳や予防接種手帳による 2 回接種の確認は困難で，我々の調査では大学生の約 6 割しかそれらの存在を確かめられなかった．また既往歴があて

別刷請求先：（〒701-0192）岡山県倉敷市松島 577
川崎医科大学小児科　　寺田　喜平

Fig. 1　Distribution of the HI antibody titers against rubella virus in college students (n = 1,197)



にならないことから，ほとんどの実習病院では学生の抗体価の提出を求めている．そのため，大学や病院で学生や新入職員全員に抗体検査が実施されており，抗体価によってワクチン接種を決定している．抗体陰性者に対して接種を勧奨することは問題ないが，どの低抗体価者までを接種対象とすべきか混乱が生じている．今回，我々は風疹 HI 抗体の陰性および低抗体価の大学生に風疹ワクチンを接種し，接種前後に加えて 2 年後にも抗体価を測定し，接種すべき抗体価の基準を検討したので報告する．

対象と方法

この研究について川崎医科大学倫理委員会の了解を得た．入学時に医療系大学として麻疹，風疹，水痘，ムンプス，B 型肝炎について抗体検査とワクチン接種を実施している関連大学の学生を対象とし，以下について検討した．①風疹単独ワクチン接種後，接種前と 4～6 週後および 23～25 カ月後における抗体価の変動，②抗体陰性者のワクチン接種後 EIA-IgM 抗体や EIA-IgG 抗体の avidity，③風疹 HI 抗体価によりワクチン接種基準を設定し，ワクチン接種 1 カ月後および 2 年後においてそれら基準を満たさなかった割合の変化，④ 1 回および 2 回接種から 2 年後の風疹 HI 抗体価分布の違い．

対象学生は 1,197 名，その風疹 HI 抗体価の分布を Fig. 1に示した．8 倍未満，8 倍以下，16 倍以下，32 倍以下の学生は，全体の中でそれぞれ 8%，11.7%，20%，37.4% を占めた．その中から風疹 HI 抗体価 32 倍以下の学生に対しボランティアを募集した．

方法は，まず登録学生の接種歴および既往歴をアンケートで調査した．接種歴は母子手帳あるいは予防接種手帳で確認し，また既往歴については保護者から聞き取った．風疹ワクチンは風疹単独ワクチンを使用した．風疹 HI 抗体と EIA-IgG および IgM 抗体は風疹単独ワクチン接種前および接種 1 カ月後，接種 2 年後に採血した．それら抗体測定はエス・アール・エルに依頼し，EIA 法の使用キットはルベラ IgG（II)-EIA「生研」（デンカ生研）で測定された．Avidity 検査はワクチン接種 4～6 週後の血清でエンザイグノスト風疹/IgG（デイドベーリング社）のキットを用いて，我々が実施した．その方法は 8M 尿素と血清を 5 分間インキュベーションした OD 値と，尿素なしで測定した OD 値との割合（%）を avidity とし，50% 以上を高値と定義した[7]．群間における抗体価の検討は Wilcoxon 検定で行った．

成　　績

2008 年の研究開始時に岡山県および他都道府県で風疹流行はなかったが，残血清を利用して風疹 EIA-IgM 抗体陰性が確認できた 200 名を対象とした．登録された学生の人数は，接種前 HI 抗体価 8 倍未満が 50 名，8 倍が 23 名，16 倍が 49 名，32 倍が 78 名であった．

1．ワクチン接種後の抗体価の変化

Fig. 2に示すように接種前，接種 1 カ月後，接種 2 年後と風疹 HI 抗体価の分布は変化した．HI 抗体価 8 倍未満を 2^2 として計算すると HI 抗体価の平均と標準偏差は，接種前，接種後，接種 2 年後は，それぞれ $2^{3.8\pm1.2}$，$2^{6.1\pm1.1}$，$2^{5.0\pm1.1}$ となった．どの群間とも統計学的な有意差（$p<0.0001$）を認めた．また Fig. 3に EIA-IgG 抗体の接種前後における分布を示した．その抗体指数 2.0 未満を 1 と，また 128 以上を 150 として計算すると，それぞれ，7.1±5.5，26.9±21.8，15.8±16.6 となり，どの群間とも統計学的な有意差（$p<0.0001$）を認めた．

Fig. 2 Distribution of the HI antibody titers against rubella virus at pre-vaccination and post-vaccination at approximately one month and two years
The subjects were healthy volunteer students with HI antibody titers of ≤1:32 (n = 200).

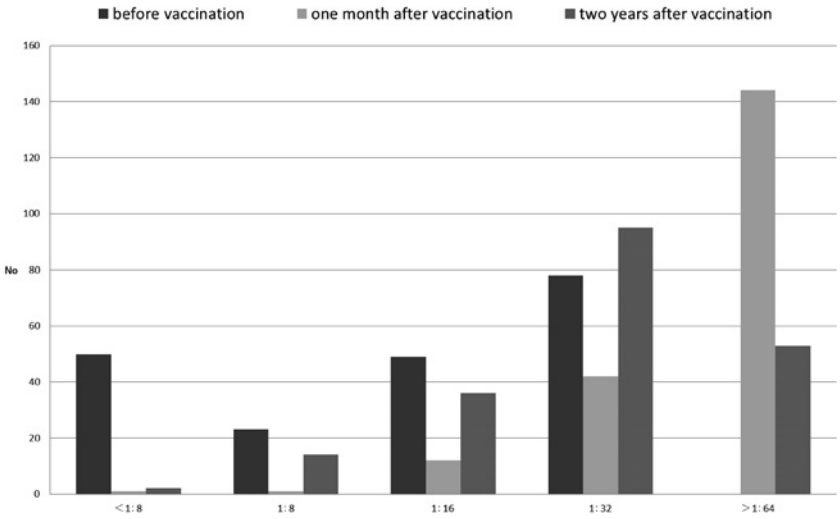
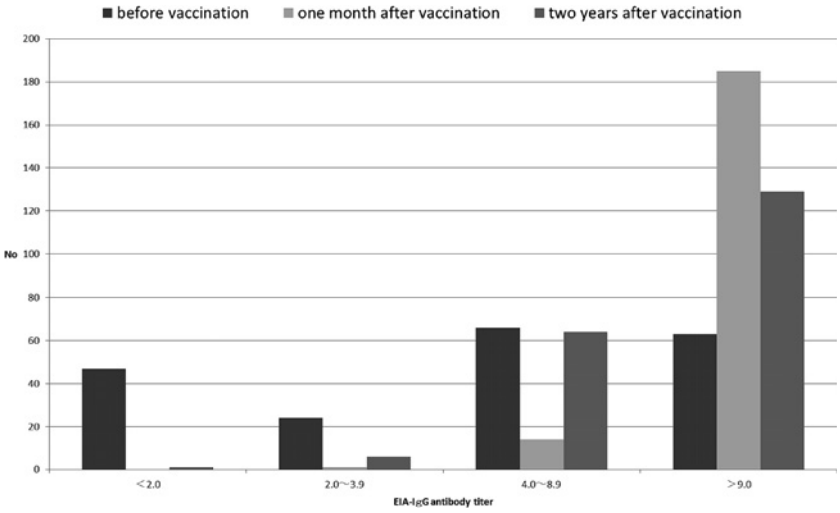


Fig. 3 Distribution of the EIA-IgG antibody titers against rubella virus at pre-vaccination and post-vaccination at approximately one month and two years
The subjects were healthy volunteer students with HI antibody titers of ≤1:32 (n = 200). This kit defines <2.0 titer as negative and >4.0 as positive.



また各抗体価別に陽転化あるいはHI抗体価が4倍以上に有意に増加した率は，Table 1に示すように，HI抗体価8倍において87%は有意な抗体価の増加を認めたが，HI抗体価32倍では32%しか有意な増加を認めなかった．

2. HI抗体価8倍未満でワクチン接種後のIgM抗体陽性率とavidity高値の率

HI抗体価8倍未満の陰性者50名のうち，風疹ワクチン接種後IgM抗体が陽性となったのは34名（68%），（±）となったのは8名（16%）であった．陰性のままだったのは8名（16%）で，そのうち5名は1回のワクチン接種歴があった．接種前にHI抗体8倍以上の陽性でIgM抗体陽性となったのは1名だけであった．

HI抗体価8倍未満の陰性者でワクチン接種後IgG抗体のavidityが高値であったのは陰性者50名中6名(12%)で，うち4名は1回のワクチン接種歴があった．また，6名中3名はIgM抗体陽性であったが，残

りの3名についてはIgM抗体が陰性のままであった．その3名中2名に接種歴があった．

3. ワクチン接種後1カ月および2年後に設定した各基準を満たさなかった割合の変化

風疹HI抗体価によって各ワクチン接種基準を設定したとき，接種1カ月後および2年後にその基準を満たさない人数（%）をTable 2に示した．接種1カ月後では接種基準8倍未満と8倍以下において基準を満たさない割合は3%未満であったが，HI抗体価16倍以下を接種基準とすると11.5%，32倍以下で28%と増加した．さらに，接種2年後において，再接種対象者は8倍未満では4%であったが，8倍以下が21.9%，16倍以下では42.6%，32倍以下では73.5%と増加した．

4. 1回および2回接種の2年後における抗体価の分布

既往歴がなく，接種1回および2回の2年後における抗体価の分布をFig. 4に示した．それでは，1回接種後も2回接種後も抗体価の分布に有意な差はなかった．また2回接種後でも陰性である者は，接種歴が判明した111名中1名のみが接種1カ月後も2年後もHI抗体陰性のままであった．しかし，EIA-IgG抗体は接種1カ月後も2年後もどちらも（±）であった．また別に接種後2年後で1名がHI抗体陰性となったが，IgG抗体は陽性のままであった．

考　察

今回，我々は風疹HI抗体価32倍以下の医療系学生に対し風疹単独ワクチンを接種し，接種前の抗体価と接種1カ月後および2年間後の風疹抗体価の変化を検討した．今回の対象はMRワクチン2回接種の実施前の学生であり，接種歴の多くは風疹ワクチンの1回接種であった．今回の風疹ワクチン接種によって，接種1カ月後でHI抗体価およびEIA-IgG抗体価は有意に増加しており，また接種2年後には有意に低下していた．接種1カ月で有意な抗体価の増加を示した割合は接種前の抗体価が高いほど低く，HI抗体価8倍未満では98%，8倍では87%に有意な増加を認めたが，16倍では67%，32倍では32%と減少し，抗体価が高いとブースターがかかりにくいことを示していた．

風疹HI抗体陰性者の中に，どのくらいの割合がB細胞メモリーを持っているかを検討したところ，ワク

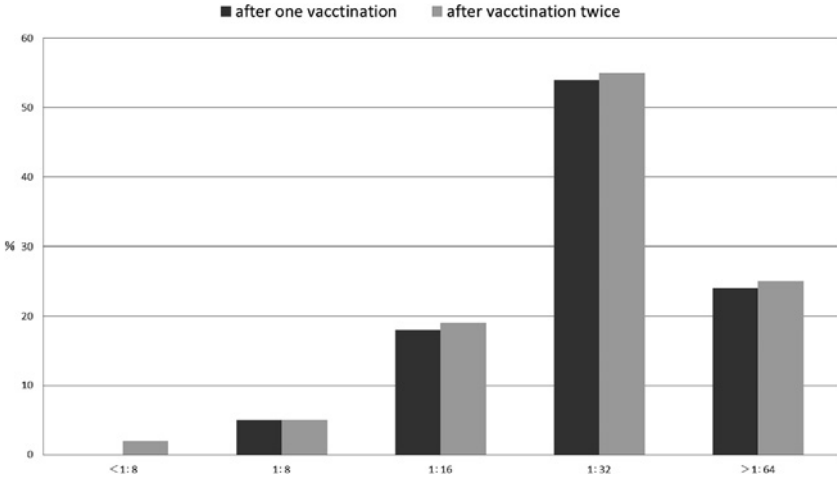
Table 1　Ratio of those in whom the H1 antibody levels against the rubella virus increased significantly after vaccination according to each antibody level at pre-vaccination

HI antibody titers	Numbers	No of significant change (%)
＜1 : 8	50	49 (98)
1 : 8	23	20 (87)
1 : 16	19	33 (67)
1 : 32	78	25 (32)

Table 2　Numbers of those who failed to meet with each criterion for vaccination at approximately one month or two years following vaccination

Criteria for vaccination	Subjects	After one month	After two years
＜1 : 8	50	1 (2.0%)	2 (4.0%)
≦1 : 8	73	2 (2.7%)	16 (21.9%)
≦1 : 16	122	14 (11.5%)	52 (42.6%)
≦1 : 32	200	56 (28.0%)	147 (73.5%)

Fig. 4　Comparison in the distribution of the HI antibody titers against rubella virus between those who had one-dose (n = 39) and two-dose vaccinations (n = 111)



チン接種後にEIA-IgM抗体が陽転しないものは16%に認められた．またワクチン接種後EIA-IgG抗体のavidityが高値であるものが12%あった．avidityはIgG抗体の抗原との吸着力の強さを表しており，感染初期の抗体の吸着度の強さは弱く，その後しだいに吸着度を強めて行く．そのため，IgG抗体が同じ陽性でもavidityの強さによって感染初期，既感染かを判定できる[7]．すなわち，avidityが高いことは既感染を示唆しており，12%はB細胞メモリーが残っていると考えられた．また接種後EIA-IgM抗体が陽転せず且つEIA-IgG抗体のavidity高値のどちらも認めたものは6%にあった．このことから，HI抗体陰性者でも6〜16%にB細胞メモリーが残存していることを示唆した．そして，そのほとんどは風疹ワクチンを1回接種していた．

次にHI抗体価によるワクチン接種基準を設定し，接種後1カ月と接種後2年においてその基準を満たさない割合に注目した．接種1カ月後に設定した基準を満たさない割合は8倍未満の接種基準で2.0%，8倍以下では2.7%とわずかであったが，16倍以下になると11.5%，32倍以下では28%と急に増加することから，短期的には8倍以下が接種基準として妥当であると考えられた．接種2年後のHI抗体価をみると，当初の接種基準を満たさない割合は，8倍未満は4%であったが，8倍以下では22%，16倍以下では43%が，32倍以下では74%と多くなっていた．8倍未満と8倍以下の間に大差があるので，長期的には8倍未満の接種基準が適当であると考えられた．また接種基準のHI抗体価を上げると当然ワクチン接種対象者が増加する．対象全体におけるHI抗体価の分布から計算した場合，8倍未満の接種対象者を基準に，接種基準8倍以下では接種対象数が1.5倍，16倍以下で2.5倍，32倍以下で4.7倍に増加した．またFig. 3に示すように，風疹ワクチン1回および2回接種し2年後の抗体価の分布は，どちらもほとんど差がなかった．すなわち接種2年後ではHI抗体価によって1回および2回接種も区別できないことを示している．

医療機関は感染リスクの高い職場であり，また女性の多い施設であるため妊婦の女性職員のCRS児出産を防ぐためにも，風疹の罹患防止は重要である．ほとんどの医療機関や医療系大学では学生や新入職員に対し抗体検査が実施されており，抗体価によってワクチン接種を決定している．抗体陰性者に対して接種勧奨することに異論はないが，抗体陽性者のうち低抗体価者のどれまでを接種対象とすべきかで混乱が生じている．罹患防御は，接触ウイルス量，粘膜上の特異分泌型IgA抗体，ウイルスに対する血清抗体や細胞性免疫などが総合的に働く．特異分泌型IgA抗体や特異細胞性免疫の測定は困難なため，現在簡単な罹患防御を推定する方法として抗体が判断基準として用いられている．しかし，抗体価による罹患防止を予測するには限界のあることを理解すべきである．すなわち，たとえ抗体価が高くても必ずしも再感染を防止できるとは限らず[8]，稀に再感染によってCRS児を出産することもある[9)〜12]．風疹の抗体測定法は，HI法あるいはEIA法が一般的である．HI法は検査費用が安く，感度もEIA法と同じであること[13]から選択されることが多い．中和（NT）抗体は実際の感染阻止を測定しているので，防御抗体にもっとも近いと考えられるが，風疹のNT抗体は測定困難なため，検査会社でも取り扱っていない．わが国の厚労省研究班では女性に対しHI抗体価16倍以下を，環境感染学会ガイドラインではワクチン2回接種を求め，1回接種者に対してHI抗体価16倍以下，EIA-IgG抗体指数で8.0未満を接種対象とした．

一方，外国における風疹抗体価の接種基準について調べてみると，1985年に米国NCCLSのRubella Subcommitteeは15IU/mL以上を陽性カットオフ値としたが，1992年に10IU/mLに暫定的に下げた．そして，3年間の暫定期間にprotective antibody（防御抗体），すなわち罹患を防御できる抗体として問題のないことを確認した後，1995年にこれを正式に決定した[14]．またWHOの報告書や主要論文でも，風疹EIA-IgG値の10IU/mLがprotective antibody（防御抗体）として報告されている[15)16]．米国NCCLSは疫学的検討や報告をもとにカットオフ値を15から10IU/mLに下げても大多数（vast majority）において罹患を防御できるとした[14]．わが国は，残念ながら多く利用されている検査会社のEIAはIU/mLで抗体価が示されていない．我々が検討すると10IU/mLはHI抗体価で8倍未満に相当していた[17]．

わが国では，幼少時に風疹と診断された多くが臨床診断のみであることから参考とならないことも多く，予防接種手帳の保存は不十分である．我々の調査では，大学生の6割程度しか提出できず，数年以内の接種も記憶していないのが現状である．そのため，実習病院は抗体測定とワクチン接種を求めており，医療系大学ではそれらを実施している．また医療機関では新入職員に対し抗体測定と接種勧奨を実施している．院内感染防止のためのワクチン接種基準は，①簡単で分かりやすい，②接種対象者が過剰とならない，③費用対便益を考慮する，が望ましい．しかし現在，基準が2種類あり，風疹は抗体陰性者だけでなく陽性でもHI 16倍以下の者あるいは抗体価に関係なくワクチンを1回しか接種していない者を接種対象としている．しかし，接種回数のチェックは大学生や成人では不明が多く煩

雑である．また抗体測定した場合，2回接種後HI抗体価16倍以下の者に対する接種は問題が残る．わが国のHI抗体価16倍以下を対象とする理由は，抗体があっても風疹の再感染によってCRSの発生が稀ながらもあることから，高く設定されているのである．しかし，接種2年後には43%が再び16倍以下になっており，接種対象者は国際的な基準（HI抗体価8倍未満）に比較すると2.5倍に増加していた．これらの対象は過剰であると思われ，費用対便益面で見ても負であると推定される．将来的には，特異細胞性免疫を簡単に測定できる方法などを開発して，より確かな罹患防御が予測できるようにすべきではないかと思われる．

謝辞：研究に協力して頂いた学生の皆さん，川崎医科大学小児科研究補助員の白神智子さん，伊藤由理さんに深謝します．

なお研究費の一部は川崎医科大学プロジェクト研究費によって実施された．

利益相反自己申告：申告すべきものなし

文　献

1) Gotoff SP：Rubella. In：Krugman, *et al.*, ed. Infectious Diseases of Children（9th ed）. Mosby Year Book, St. Louis, 1992；p. 381―401.
2) 加藤茂孝：風疹胎児感染の遺伝子診断．臨床とウイルス　1994；22：31―5.
3) Ueda K, Tokugawa K：Rubella vaccination and congenital rubella syndrome in Japan. Acta Paediatr Jpn 1988；30：163―6.
4) Terada K：Rubella and congenital rubella syndrome in Japan：epidmiological problems. Jpn J Infect Dis 2003；56：81―7.
5) 国立感染症研究所感染症情報センター：http://idsc.nih.go.jp/yosoku99/index.html
6) 日本環境感染学会：院内感染対策としてのワクチンガイドライン．日本環境感染学会誌　2009；24：S4―8.
7) Hamkar R, Jalivand S, Mokhtari-Azad T, Nouri JK, Dahi-Far H, Soleimanjahi H, *et al.*：Assessment of IgM enzyme immunoassay and IgG avidity assay for distinguishing between primary and secondary immune response to rubella vaccine. J Virol Methods 2005；130：59―65.
8) Partridge JW, Flewett TH, Whitehead JEM：Congenital rubella affecting an infant whose mother had rubella antibodies before conception. BMJ 1981；282：187―8.
9) 牛田美幸，岡田隆滋，加藤茂孝：母体の再感染による先天性風疹症候群―自験例と日本における23例の検討―．病原微生物検出情報　2000；21：7.
10) Braun C, Kampa D, Fressle R, Willke E, Stahl M, Haller O, *et al.*：Congenital rubella syndrome despite repeated vaccination of the mother：A coincidence of vaccine failure with failure to vaccinate. Acta Paediatr 1994；83：674―7.
11) Hornstein L, Levy U, ogle A：Clinical rubella with virus transmission to the fetus in a pregnant woman considered to be immune. N Engl J Med 1988；319：1415―6.
12) Best JM, Banatvala JE, Morgan-Capner P, Miller E：Fetal infection after maternal reinfection with rubella：Criteria for defining reinfection. BMJ 1989；299：773―5.
13) Terada K, Niizuma T, Kataoka N, Niitani Y：Testing for rubella specific IgG antibody in urine. Pediatr Infect Dis J 2000；19：104―8.
14) Skendzel LP：Rubella immunity―Defining the level of protective antibody―. Am J Clin Pathol 1996；106：170―4.
15) Nardone A, Tischer A, Andrews N, Backhouse J, Theeten H, Gatcheva N, *et al.*：Comparison of rubella seroepidemiology in 17 countries：Progress towards international disease control targets. Bulletin of the World Health Organization 2008；86：118―25.
16) Amanna IJ, Carlson NE, Slifka MK：Duration of humoral immunity to common viral and vaccine antigens. N Engl J Med 2007；357：1903―15.
17) 寺田喜平，井上美佳，若林時生，荻田聡子，尾内一信：風疹HI法の抗体価はEIA法でどのくらいか．感染症誌　2009；83：26―30.

平成26年1月20日

Long Effect of a Booster on Rubella Antibodies from Each Original HI Titer Following Vaccination

Kihei TERADA, Hiroto AKAIKE, Satoko OGITA & Kazunobu OUCHI
Department of Pediatrics, Kawasaki Medical School

This study was performed to clarify which titers of a pre-existing antibody could be efficiently boosted by vaccination and to assess the persistence of the antibodies. Two hundred healthy volunteer students with HI antibody titers of ≤1 : 32 were enrolled. There were 6～16% of subjects with the negative HI antibody who had B-cell memory against rubella, because the EIA-IgM antibody remained negative and/or the avidity of the EIA-IgG antibody was high after vaccination. Furthermore most of them had already been vaccinated just once before. The ratio of those in whom the antibody levels increased significantly at one month after vaccination were 98%, 87%, 67% and 32% in subjects with an HI antibody titer of <1 : 8, ≤1 : 8, ≤1 : 16 and ≤1 : 32 at pre-vaccination, respectively. The titers decreased significantly at two years after vaccination, however the ratio of decrease under each original level being 4%, 21.9%, 42.6% and 73.5% in each group of <1 : 8, ≤1 : 8, ≤1 : 16 and ≤1 : 32, respectively. In comparison with the numbers of the subjects with <1 : 8, the ones with ≤1 : 8, ≤1 : 16 and ≤1 : 32 increased 1.5-, 2.5- and 4.7-fold, respectively. Therefore, the recommendation of an HI antibody titer ≤1 : 16 for vaccination in Japan is thought to be loose, although this is to decrease the risk of congenital rubella syndrome. We think that a new assay for cellular immunity for rubella should be developed in the future in order to ascertain whether congenital rubella syndrome will be prevented or not.