

卵白 CAP-RAST 陽性患児におけるインフルエンザ ワクチン接種後即時型副反応に関する検討

¹⁾国立成育医療センター総合診療部, ²⁾高知医科大学小児科, ³⁾東京慈恵会医科大学小児科
⁴⁾国立成育医療センターアレルギー科, ⁵⁾国立成育医療センター研究所免疫・アレルギー研究部

河原秀俊¹⁾ 森澤 豊²⁾ 勝沼俊雄³⁾
大矢幸弘⁴⁾ 斎藤博久⁵⁾ 赤澤 晃¹⁾

卵白 CAP-RAST 陽性患児に対するインフルエンザワクチン接種の安全性について検討を行った。Sandwich ELISA 法にて今回使用したワクチン中卵白蛋白 (OVA) 濃度測定を行い, 2~8ng/ml と微量であった。ハイリスク患児(卵白 CAP-RAST クラス 4 以上または卵摂取により何らかの即時型反応の既往のある) 36 名 (44.1±5.0 カ月) に対しインフルエンザワクチン接種を行い, 副反応として 1 患児で局所発赤を認めたが, 即時型全身副反応をきたした患児は認められなかった。また卵白 CAP-RAST 陽性群 (104 患児) と陰性群 (98 患児) における即時型副反応の頻度は, 局所反応が卵白 CAP-RAST 陽性群で 0.5%, 陰性群で 2.2% であり, 有意差は認められなかった。以上より, 卵白 CAP-RAST 陽性患児に対するインフルエンザワクチン接種は, 多くの有症状患児に対しても可能と思われる。

Key words : egg allergy — influenza vaccine — ovalbumin — prick test

はじめに

インフルエンザワクチンは, その製造過程において発育鶏卵を培養細胞として使用するため, 鶏卵蛋白の混入が指摘されている。我が国では, 平成 7 年改正前の予防接種法において, 接種液成分によるアレルギーのおそれが明らかな者は接種禁忌であることが記載されており, 卵アレルギー患児に対するインフルエンザワクチンは接種者, 被接種者ともに接種を望まないケースがほとんどであった。さらに予防接種法改正に伴いインフルエンザワクチンは任意接種となり, 接種希望者は激減した。しかしここ数年のインフルエンザ感染症の流行, また小児科領域では乳幼児のインフルエンザ脳炎, 脳症の問題が取り沙汰されるようになり, 卵アレルギー患児のなかでも接種希望者が増加するよ

うになってきた。このような現状を考慮すると, 現行の国内使用ワクチンにどの程度鶏卵蛋白が混入されているか, どのような患児に接種可能か, いかに安全に接種を行うか, など検討していく必要があると思われる。

そこで今回, 1. 現行のインフルエンザワクチンに含まれる主要卵白抗原: オボアルブミン (OVA) 濃度測定, 2. 接種前スクリーニング検査の有用性ならびに実際の接種による副反応の有無, につき検討を行った。

対 象

国立小児病院アレルギー科外来フォロー中のアレルギー患児で, 平成 12 年 11 月から平成 13 年 1 月に当科でインフルエンザワクチン接種を行った学童以下 (12 歳未満) の 202 患児を対象とした。このうち卵白 CAP-RAST 陰性患児は 98 人, CAP-RAST 陽性患児は 104 人であった (Table 1)。卵白 CAP-RAST 陽性の判定は, ワクチン接種 1 年以内の結果をもとに行った。またアレルギー検査で卵白 CAP-RAST スコア 4 以上または卵摂取にてなんらかの即時型アレルギー反応をきたしたことのある 36 患児 (男児: 24 患児, 女児: 12

Received : November 21, 2001

Accepted : May 24, 2002

Abbreviations : ELISA enzyme-linked immunosorbent assay ; OD optica density ; OVA ovalbumin ; PBS phosphate-buffered saline ; TMB tetrametylbenzidine

河原秀俊: 国立成育医療センター総合診療部 [東京都世田谷区大蔵 2-10-1]

E-mail : kawahara-h@ncchd.go.jp

Table 1 Characteristics of patients

	Negative CAP- RAST to egg white	Positive CAP- RAST to egg white	p
No.	98	104	
Sex, male/female	53/45	70/34	
Age, yr	6.6±0.3	4.2±0.2	<0.01
T. IgE(IU/ml)	424(309-535)	1682(656-2707)	<0.01
CAP-RAST score to egg white	n =	n =	
0	82		
1	16		
2		48	
3		34	
4		11	
5		4	
6		7	

患児，平均年齢：44.1±5.0 カ月）をハイリスク患児とした。なお卵白 CAP-RAST 陽性患児に対して，ワクチン接種時点での卵負荷テストによる症状誘発の有無についての確認は行っていない。

方 法

1) ワクチン液中 OVA 濃度測定

測定はマイクロプレートを用いた Sandwich ELISA 法で行った。以下その測定法につき簡単に述べる。Nunc 社製 96 穴マイクロプレートの各ウェルに 20000 倍希釈一次抗体：Rabbit anti-OVA poly antibody (Chemicon International, Inc., Temecula, CA) 100 μ l を注入し，一晩 4°C にて放置し coating を行った。PBS (phosphate-buffered saline) +0.1% Brij で洗浄後，各ウェルに 200 μ l の 0.1% 豚ゼラチン (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) を注入し blocking を行った。標準曲線用に OVA 抗原 (Worthington Biochemical Co., Lakewood, NJ) の希釈系列 (0.098, 0.195, 0.39, 0.78, 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25.0ng/ml) を作成，洗浄後各ウェルに 50 μ l の標準曲線用 OVA 抗原またはインフルエンザワクチン液 (原液) を注入，1 時間室温放置し洗浄後各ウェルに 10000 倍希釈二次抗体：peroxidase conjugate IgG anti-OVA (Rockland, Gilbertsville, PA) 100 μ l ずつ注入，1 時間室温放置し洗浄後 TMB (tetramethylbenzidine) で発色させ，OD (optical density) 450nm 波長でダイナミック社製 MR5000

マイクロプレートリーダーにて測定を行った。なお各々のワクチン中 OVA 濃度は duplicate で測定した。

2) ワクチン接種

ワクチンは化血研で製造されたものを使用した。このワクチンは，添加物として 1ml 中①チメロサル 0.01mg，②ホルマリン 0.01w/v 以下，を含有しているがゼラチンは含まれていない。ワクチン接種は，卵白 CAP-RAST 陰性患児では通常の接種法 (1 歳未満：0.1 ml，1 歳から 6 歳未満：0.2ml，6 歳から 13 歳未満：0.3ml，13 歳以上：0.5ml 皮下注) で，卵白 CAP-RAST 陽性患児では必要に応じて接種前スクリーニングテストを行った。ワクチン接種後，全患児で即時型副反応の有無につき 1 時間経過観察を行った。

3) ワクチン接種前副反応スクリーニングテスト

ハイリスク患児におけるワクチン接種前副反応スクリーニングを目的として，インフルエンザワクチン液 (原液)，OVA 溶液 (10, 100ng/ml) についてプリックテストを施行した。プリック針は Bifurcated needle (ALO 社製) を使用し，判定基準は陽性コントロール (ヒスタミン 1mg/ml) の膨疹径の 1/2 以上等倍未満を (±)，等倍以上 2 倍未満を (1+)，2 倍以上を (2+) とした。ワクチン液 (原液) に対し陰性または (±) の場合に接種を行った。

なおハイリスク患児で，以前にインフルエンザワクチン接種を施行しその安全性が確認されている患児に対しては今回スクリーニング検査は施行しなかった。

4) 統計処理

年齢は mean±SE で，総 IgE 値は mean (95% 信頼区間) で示した。また卵白 CAP-RAST 陽性，陰性両群間の比較にあたり，年齢，総 IgE 値については Mann-Whitney 検定を行った。両群間におけるワクチン接種後副反応発生率に関しては，Fisher's exact probability test を行い，有意水準は危険率 5% とした。

結 果

1) ワクチン液中 OVA 濃度 (Fig. 1)

Sandwich ELISA 法を用いた OVA 濃度測定系における感度は 100pg/ml であった。今回当科で使用した化血研インフルエンザワクチン液中 OVA 濃度は 2.1~7.1ng/ml (平均 3.8ng/ml) で，同一 Lot 間では濃度が一定であったが，各 Lot 間ではばらつきがみられた。他社ワクチンとしてデンカ：8.7~10.3ng/ml (平均

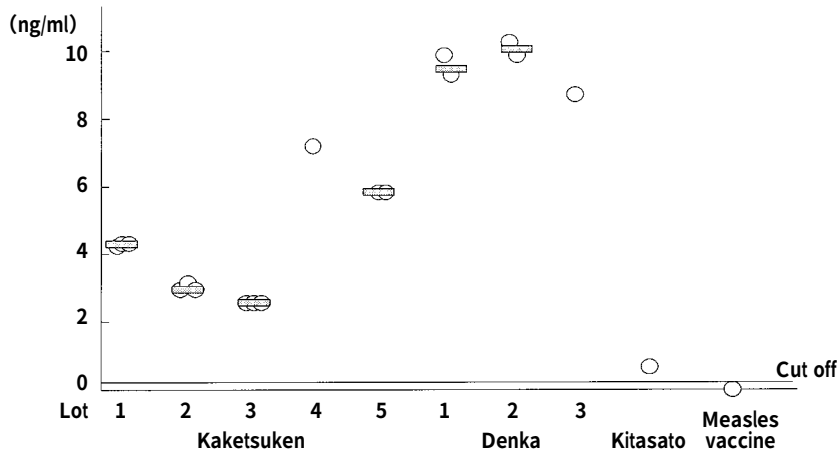


Fig. 1. The concentration of detectable egg protein (OVA) in vaccine preparations.

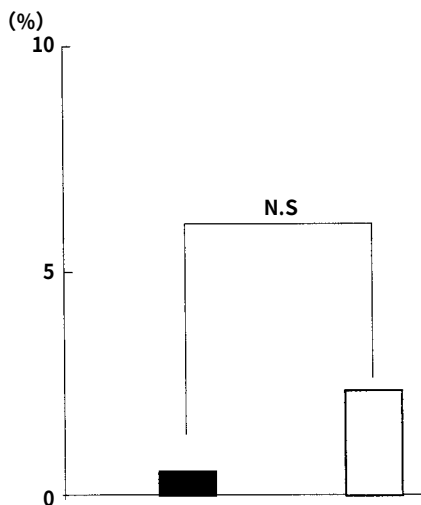


Fig. 2. Incidence of immediate adverse reaction after vaccination.

■ : group of positive CAP-RAST to egg white
□ : group of negative CAP-RAST to egg white

9.6ng/ml), 1 アンプルのみの測定だが北里は 0.83ng/ml であった. 麻疹ワクチン中 OVA 濃度は感度以下であり, ng/ml レベルでの含有は認められなかった.

2) ワクチン接種による即時型副反応の頻度 (Fig. 2)

卵白 CAP-RAST 陰性患児群では 98 患児に計 179 回のワクチン接種を行い, 4 患児で 1 回ずつ局所発赤, 腫脹を認めた (即時型副反応発生率: 2.2%). 一方卵白 CAP-RAST 陽性患児群では 104 患児に計 194 回のワ

クチン接種を行い, 1 患児で 1 回局所発赤, 腫脹を認めた (即時型副反応発生率: 0.5%). いずれの群でも 2 回とも即時型副反応をきたした患児は認められなかった. また即時型全身副反応をきたした患児はいなかった. 卵白 CAP-RAST 陰性, 陽性患児 2 群間で即時型副反応発生率に有意差は認められなかった.

3) 卵アレルギーハイリスク患児に対する接種

ハイリスク 36 患児の概要を Table 2 に示す. 上述した卵白 CAP-RAST 陽性患児群で局所発赤, 腫脹を認めた 1 患児はハイリスク患児であったが, 即時型全身副反応をきたした患児はいなかった.

4) ワクチン接種前副反応スクリーニング検査

19 患児に対してスクリーニング検査を行った (Table 2). OVA 溶液の濃度設定はワクチン中 OVA 濃度 (10ng/ml) さらにその 10 倍濃度 (100ng/ml) とした. 1 患児で OVA 溶液 (100ng/ml) に (±) の反応を示したが, 実際の接種では副反応は認められなかった. 即時型副反応スクリーニングとしてのプリックテストの有用性について, ワクチン液 (原液) で specificity 100 %, sensitivity 0%, OVA 溶液 (100ng/ml) は, specificity 94.4%, sensitivity 0% であった. このプリック検査で (+) 以上の反応を示した患児は 1 例もいなかった (Table 3).

考 察

卵白 CAP-RAST 陽性患児に対するインフルエンザ

Table 2 Clinical feature of 36 high risk patients for egg allergy

Case No.	Age (y.m)	Sex	T. IgE (IU/ml)	CAP-RAST score for egg white (Months between examination and vaccination)	Adverse reaction after eating egg (Months between episode and vaccination)	Skin prick test			Adverse reaction after vaccination
						Vaccine solution	OVA (100 ng/ml)	OVA (10 ng/ml)	
1	2.9	F	35	1.7(2) (1m)	Angioedema (20m)				Local swelling
2	9.0	F	1973	2.1(2) (2m)	Anaphylaxis (96m)	—	—	—	
3	3.1	M	63	3.1(2) (12m)	Skin rash (29m)				
4	2.1	F	70	3.6(3) (12m)	Skin rash (14m)				
5	1.1	M	60	3.6(3) (12m)	Urticaria (3m)	—	—	—	
6	10.10	M	846	3.7(3) (6m)	Anaphylaxis (50m)	—	—	—	
7	2.5	M	80	4.1(3) (10m)	Angioedema (20m)				
8	3.9	M	1087	4.7(3) (6m)	Urticaria (27m)				
9	1.1	M	63	5.0(3) (3m)	Skin rash (4m)	—	—	—	
10	4.0	M	970	7.3(3) (3m)	Urticaria (5m)	—	—	—	
11	4.4	F	73	8.9(3) (4m)	Urticaria (9m)				
12	3.2	M	1162	9.1(3) (11m)	Skin rash (30m)	—	—	—	
13	1.2	M	113	10.5(3) (7m)	Skin rash (7m)	—	—	—	
14	4.7	F	440	13.7(3) (9m)	Skin rash (12m)	—	—	—	
15	2.5	M	594	18.3(4) (6m)	Not eaten				
16	1.5	M	143	18.9(4) (3m)	Not eaten	—	—	—	
17	1.8	M	111	19.1(4) (9m)	Anaphylaxis (8m)	—	—	—	
18	2.8	M	774	20.8(4) (2m)	Not eaten				
19	3.0	F	554	21.8(4) (7m)	Not eaten				
20	1.0	M	87.1	25.1(4) (2m)	Not eaten	—	—	—	
21	8.1	M	4852	25.9(4) (6m)	Anaphylaxis (5m)				
22	4.3	F	8976	26.4(4) (1m)	Not eaten				
23	5.9	M	2418	27.3(4) (12m)	Urticaria (63m)				
24	4.8	M	3256	35.7(4) (4m)	Not eaten				
25	4.9	F	3251	35.9(4) (12m)	Urticaria (38m)	—	—	—	
26	1.2	M	295	50.4(5) (7m)	Not eaten				
27	1.2	M	690	62.3(5) (1m)	Not eaten	—	—	—	
28	8.7	F	3883	85.1(5) (7m)	Not eaten	—	—	—	
29	1.7	M	1366	98.3(5) (4m)	Not eaten	—	—	—	
30	6.9	M	2614	>100(6) (6m)	Anaphylaxis (51m)				
31	4.1	M	12817	>100(6) (6m)	Not eaten	—	±	—	
32	5.5	F	547	>100(6) (12m)	Urticaria (29m)				
33	5.9	M	3534	>100(6) (3m)	Not eaten	—	—	—	
34	1.6	F	10492	>100(6) (4m)	Not eaten				
35	1.6	M	580	>100(6) (10m)	Not eaten	—	—	—	
36	4.2	F	50608	>100(6) (0m)	Not eaten	—	—	—	

ワクチン接種の安全性に関して、我が国における詳細な検討はほとんどみあたらない。今後多くの患児に接種を行っていくためには、まず現行の国内インフルエンザワクチンにどの程度の卵白蛋白成分が混入しているか、さらに実際に副反応の頻度はどの程度か、より安全な接種法はどうしたらよいか、検討を行っていく必要がある。インフルエンザワクチン中卵白蛋白濃度に関しては、WHO により『10 μ g/ml 以下』と基準値が設定されている。ヨーロッパで使用されている 6 社の

ワクチンに関する報告¹⁾では、1 回投与量 0.5ml 中の OVA 濃度は、それぞれ 325, 35, 10, 11, 11, 10ng であった。また James ら²⁾は、卵アレルギー患児へのインフルエンザワクチン接種に関する検討の中で、3 社のワクチンに関してオボアルブミン/オボムコイド濃度測定を行っており、使用したワクチンは 0.02~1.2 μ g/ml、他の 2 社のものは 1~42 μ g/ml であったと報告している。一方、国内ワクチンに関しては、ビケンが社内データとして公表しており、それによると 98

Table 3 Specificity and sensitivity of skin prick testing to identify patients at risk for adverse reactions

Skin prick testing with influenza vaccine	Symptoms	
	(+)	(-)
Positive	0	0
Negative	1	18
Specificity : 100%		
Sensitivity : 0%		

Skin prick testing with 100 ng/ml OVA solution	Symptoms	
	(+)	(-)
Positive	0	1
Negative	1	17
Specificity : 94%		
Sensitivity : 0%		

年製造ワクチンが 7.03ng/ml, 99 年度が 3.22ng/ml であった。国内における他のワクチンに関して、小倉³⁾は麻疹、風疹、ムンプス、MMR ワクチン中 OVA 濃度に関する検討を行っており、麻疹：0.1~0.52ng/ml, 風疹：0.15~0.32ng/ml, ムンプス：0.18~0.29ng/ml, MMR：<0.1~0.24ng/ml といずれも微量であったと報告している。

今回我々は、国内メーカー 3 社（化血研、デンカ、北里）のワクチンに関して OVA 濃度を測定したが、デンカの 1 本を除き全て 10ng/ml 以下であった。この結果から換算すると、我々が使用した化血研ワクチンで 1 回のワクチン接種に含まれる OVA 量は、1 歳未満で 0.38 ± 0.16 ng, 1 歳から 6 歳で 0.76 ± 0.32 ng となる。これに対し 1 回の麻疹ワクチン接種に含まれる OVA 量は、小倉らのデータから換算すると 0.05~0.26ng/ml となる。以上より、国内で使用されている現行インフルエンザワクチン中 OVA 濃度は、国外で使用されているものより低濃度であり、1 回投与量としては麻疹ワクチンと大差ないことが確認できた。

次に実際の接種における安全性に関しては、局所反応・蕁麻疹・喘息発作の誘発などの副反応はあるものの卵アレルギーが原因と思われるアナフィラキシーのような重篤な副反応の報告は見あたらない⁴⁾⁵⁾。James ら²⁾は、卵アレルギーのない患者を対象とし、卵アレルギー患者は 2 回分割接種（1/10, 9/10）を行い安全性を検討しているが、重篤な全身反応をきたした症例はなく安全に接種が行える 95% 信頼区間は、卵アレルギー患者で 95.7~100%、卵アレルギーのない患者で

97.1~100% だったと報告している。我々の検討でもハイリスク患児で即時型全身副反応をきたした症例はなく、卵白 CAP-RAST 陽性、陰性群における局所副反応の頻度にも有意差は認められなかった。

安全な接種法に関する検討として、Miller ら⁵⁾はワクチン 100 倍希釈溶液によるワクチン接種前皮内テストが接種の可否決定に有用であると報告した。その後 Murphy ら⁶⁾は、ワクチン 100 倍希釈溶液で皮内テスト陽性の場合、分割接種法（15 分間隔で 0.05, 0.1, 0.15, 0.2ml 計 0.5ml 接種を行う）が安全な接種法であることを報告した。しかし Anolik ら⁷⁾は、ワクチン 100 倍希釈溶液による皮内テストは疑陽性反応が多くスクリーニング検査として有用でないとして述べており、また接種法も煩雑なため、現在インフルエンザワクチンにおける推奨される安全な接種方法はない。

我々は、皮内テストは行わずワクチン原液、ワクチン濃度と等倍さらに 10 倍濃度の OVA 溶液を用いてプリックテストを施行し、スクリーニング検査としての有用性について検討を行った。結果としてワクチン液、OVA 溶液ともに感度が低かったが、症例数が少ないためその有用性を判断するためには症例数を増やしさらなる検討が必要と思われる。

今回の検討で、現行インフルエンザワクチン中 OVA 濃度はきわめて微量であり、10ng/ml 程度の含有量であれば多くのハイリスク患児に対しても接種が可能であることが確認できた。もちろん卵白 CAP-RAST 陽性患児のすべてに接種しても問題がないということではなく、卵成分が混入されている限り即時型アレルギー反応を起こす可能性があり、慎重な対応をすべきと思われる。今後卵白 CAP-RAST 陽性患児に対するインフルエンザワクチン接種をすすめていくためには、①ワクチンメーカーにおけるワクチン中卵白蛋白濃度の表示、②有用な副反応スクリーニング検査の確立、が必要と思われる。

なお、本論文の要旨は、第 13 回日本アレルギー学会春季臨床大会（横浜, 2001）ならびに第 38 回日本小児アレルギー学会ワークショップ（予防接種）（小倉, 2001）において発表した。

文 献

- 1) Chaloupka, I., Schuler, A., Marschall, M. and

- Meier-Ewert, H. : Comparative analysis of six European influenza vaccine. *Eur. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **15**, 121-127, 1996.
- 2) James J.M., Zeiger, R.S., Lester, M.R., Fasano, M.B., Gern, J.E., et al. : Safe administration of influenza vaccine to patients with egg allergy. *J. Pediatr.* **133**, 624-628, 1998.
- 3) 小倉英郎 : 予防接種のすべて. アレルギー疾患—卵アレルギーと予防接種. *小児科診療* **56**, 2209-2216, 1993.
- 4) Bierman, C.W., Shapiro, G.G., Pierson, W.E., Taylor, J.W., Foy, H.M., et al. : Safety of influenza vaccination in allergic children. *J. Infect. Dis.* **136**, Suppl, S652-655, 1977.
- 5) Miller, J.R., Orgel, H.A. and Meltzer, E.O. : The safety of egg-containing vaccines for egg-allergic patients. *J. Allergy Clin. Immunol.* **71**, 568-573, 1983.
- 6) Murphy, K.R. and Strunk, R.C. : Safe administration of influenza vaccine in asthmatic children hypersensitive to egg proteins. *J. Pediatr.* **106**, 931-933, 1985.
- 7) Anolik, R., Spiegel, W., Posner, M. and Jakabovics, E. : Influenza vaccine testing in egg sensitive patients. *Ann. Allergy* **68**, 1992.

IMMEDIATE ADVERSE REACTIONS AFTER ADMINISTRATION OF THE INFLUENZA VACCINE TO PATIENTS WITH POSITIVE CAP-RAST TO EGG WHITE

Hidetoshi Kawahara¹⁾, Yutaka Morisawa²⁾, Toshio Katunuma³⁾,
Yukihiro Ohya⁴⁾, Hirohisa Saito⁵⁾ and Akira Akasawa¹⁾

¹⁾Division of Interdisciplinary Medicine, National Center for Child Health and Development

²⁾Department of Pediatrics, Kochi Medical School

³⁾Department of Pediatrics, Jikei University School of Medicine

⁴⁾Department of Allergy, National Center for Child Health and Development

⁵⁾Department of Allergy and Immunology, National Research Institute for Child Health and Development

We investigated the safety of administration of influenza vaccine to patients with positive CAP-RAST to egg white. The content of OVA in the influenza vaccine preparations was measured by Sandwich ELISA. The concentration of OVA in the vaccine preparations ranged from 2 to 8 ng/ml. We administered influenza vaccine to 36 high risk patients who had positive CAP-RAST (>4 score) to egg white and/or had experienced immediate type hypersensitivity after ingestion of egg. One out of them showed local swelling. All the rest of the patients received influenza vaccine without any serious systemic adverse reactions. We also investigated the incidence of immediate adverse reactions after vaccination in the group of 104 patients with positive CAP-RAST to egg white compared to the group of 98 patients with negative CAP-RAST. No significant difference was found in the incidence of adverse reaction between the two groups (group of positive CAP-RAST to egg white : 0. 5%, negative group : 2. 2%). These results demonstrate that most of the patients with positive CAP-RAST to egg white, even those with allergic reactions after egg ingestion, can safely receive an influenza vaccine.