

日本脳炎ワクチン接種後の死亡例（平成 26 年 5 月 19 日 副
反応検討部会・安全対策調査会報告）に関する追加調査結果

- 資料 19－ 1. 報告内容及び医薬品医療機器総合機構に
おける調査結果（平成 26 年 5 月 19 日 副反
応検討部会・安全対策調査会資料 11 抜粋）
- 資料 19－ 2. 追加調査結果 1（部会の議論を踏まえた追
加調査事項及び報告者から回答）
- 資料 19－ 3. 追加調査結果 2（部会の議論を踏まえた追
加調査事項及び報告者から回答）
- 資料 19－ 4. 追加調査結果 3（部会の議論を踏まえた追
加調査事項及び報告者から回答）
- 資料 19－ 5. 専門家の意見

報告内容及び医薬品医療機器総合機構における調査結果(平成26年5月19日副反応検討部会・安全対策調査会 資料11抜粋)

平成25年7月1日以降に報告された
日本脳炎ワクチンによる死亡症例一覧

<ワクチンが単独接種された症例>

No.	ワクチン (ロット)	年齢・性別・基礎 疾患(持病)	接種日・経過	報告医評価	調査の結果	報告日 調査会評価
1	ジェービックV (JR176)	10歳未満・女	接種6日後、うつ伏せで呼吸していないところを発見され、搬送先にて死亡確認。剖検結果から、死因は急性散在性脳脊髄炎とされた。	関連あり	急性散在性脳脊髄炎の可能性は否定できない。ワクチン接種と死亡との因果関係は否定できない。	平成25年8月16日 平成25年10月28日 調査会(報告) 平成26年5月19日調査会

(単独接種・症例 No.1)

1. 報告内容

(1) 事例

10歳未満の女性。

A医院において乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン第1期1回目を単独接種。接種前の体温36.9℃。接種後、感染症状、髄膜刺激症状、中枢神経系の症状は認められなかった。

接種5日後、昼頃、最高39.5℃の発熱、軽度の鼻汁がみられた。38.9℃の発熱に対し坐薬を投与された。一旦解熱したが、再度発熱。夜、B病院を受診。体温39.2℃、心拍数120/min、SpO₂ 98%。各種検査は実施されなかった。全身状態良好と判断され、アセトアミノフェン坐薬を処方されて帰宅。その後、夜間発熱あり、家族がアセトアミノフェン坐薬を使用した。

接種6日後、指をくわえて落ち着いて眠っている様子を最終確認された2時間後、児が腹臥位で枕に顔を埋めた状態で、呼吸をせず、動かなくなっていることに家族が気づき、救急要請。C病院到着時、心肺停止の状態であった。血液、生化学検査の結果、AST672U/L、ALT794 U/L、CPK833U/L、ALP921U/L、LDH1702U/L、ChE360U/L、K11.2mEq/L、アンモニア1504μg/dL、血液ガス分析の結果、pH6.418、PaO₂ 19mmHg、PaCO₂ 200mmHg。心肺蘇生法としてアドレナリン液の静脈内注射、胸骨圧迫による心臓マッサージが施行されたが反応せず、早朝、死亡が確認された。

臨床検体を用いた感染症に関する検査は実施されていない。

死亡時画像診断を実施した結果、両側大脳半球は脳溝が不明瞭であったが、出血性変化や頭蓋骨骨折は認められなかった。

D大学で実施された剖検の結果、顕著な脳浮腫により生じた大孔ヘルニア、テント切痕内ヘルニアが認められた。また、脳浮腫及び死後の自己融解変化に起因する脳軟化もみられた。固定前の脳重量は1315gであった。皮質下白質、脳幹及び腰髄内の小静脈には、リンパ球やマクロファージが血管周囲に浸潤していた。また、病変の周囲には、脱髄が多数散在していた。大脳皮質には、所々に血管周囲の神経膠症を伴う、びまん性の皮質腫脹が認められた。日本脳炎に特有の視神経炎及び視床、黒質への炎症細胞浸潤は認められず、また、ライ症候群に特有の炎症細胞浸潤を伴わない神経細胞壊死も認められなかった。脳脊髄液は調べられていないが、脳組織中には原因と考えられるウイルスは検出されなかった。抗日本脳炎ウイルスエンベロープE糖蛋白IgG抗体マウスモノクローナル抗体陽性を示す脳血管内皮細胞が免疫組織学的に証明された。

以上の病理解剖の結果より、死因は急性散在性脳脊髄炎 (ADEM) とされた。

(2) 接種されたワクチンについて

乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン（阪大微研 JR176）

(3) 接種時までの治療等の状況

出生体重 3030g。既往歴、合併症、薬剤による副作用歴、アレルギー歴はなし。接種前後の時期、手足口病が流行していた。いとこ（母親の姉の子）が手足口病に罹患したとの問診記録があるが、接触の有無は不明。

2. ワクチン接種との因果関係についての報告医等の意見

B 病院担当医：剖検結果から、死因は ADEM と特定された。ワクチン接種と死因との因果関係は、接種から発症までの期間や免疫病理組織学的証明等により、関連ありと判断する。

3. 専門家の意見

○A 医師：

発症が接種後 5 日目とするならば、平成 22 年度の厚生労働省の予防接種後副反応報告書（因果関係を含まない集計ではあるが）にも、日本脳炎ワクチンの項において、脳炎・脳症 3 件の発症が接種後 5～45 日であったとあり、本例も発症までの期間としてはこれまでの事例と矛盾しないため妥当な期間と考える。また、乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンによる ADEM の発症も既知の事象であることから、ワクチン接種と副反応との因果関係は、少なくとも否定できないと考える。

剖検による病理所見の詳細な記載があり、明確に ADEM の病理学的診断が記述されていることから、the Brighton Collaboration Encephalomyelitis/ADEM Working の診断確実性レベル 1 に該当するもので、ADEM の診断は妥当と考える。

手足口病（による急性髄膜炎、急性脳炎）の合併の可能性について、代表的な原因ウイルスの感染の有無についての検索が臨床的に、また、病的に（「脳組織内に原因ウイルスは検出されなかった」とあるが、どのような検索がなされたのか、手足口病の鑑別も念頭に検索されたのか）、どのような検討がなされたのか、詳細な記載があるとワクチン接種と副反応の因果関係を検討する上で、有用な情報となると考える。もし、手足口病の合併の疑いが否定的であるならば（接種前の体温 36.9℃が平熱であったかの確認ができればそれも参考になる）、ワクチン接種と副反応の因果関係は、より高いものであるとの判断になると思う。

ワクチン接種と死亡との因果関係を検討する上では、急速に脳浮腫をきた

し、脳ヘルニアをきたしたことにより死亡したことが推定され、それが ADEM によることが明確とされているのであれば、ADEM 発症と死亡との関連はあると考える。その上で、ADEM 発症とワクチン接種の因果関係が明確となれば、死亡との関連も明確になると考えられる。手足口病の合併の可能性の整理、また、手足口病による中枢神経系の合併症と考えた時、病理所見的に可能性が否定できないのかどうかの整理が有用と思われる。

OB 医師：

ワクチン接種と死亡との因果関係は否定できない。

臨床症状、死後の神経病理学的検査から ADEM として妥当である。

急激に進行し死亡した点は特徴的であるが、非典型的とは言えない。死後の神経病理学的検査で、ウイルス脳炎ではないにも関わらず、日本脳炎ウイルスエンベロープ E 糖蛋白抗原が脳血管内皮細胞にあることが免疫組織学的に証明されたことは、この特徴がある症例群における原因解明と対策のために重要なエビデンスである。

ADEM とした事象が原因となって死亡したことは経過から明らかであると判断する。

OC 医師：

ワクチン接種と死亡との因果関係は否定できない。

神経病理学的所見は ADEM と診断されている。脳浮腫が進行して脳ヘルニアを起こすことも ADEM では報告されているので、症状や脳組織（脳血管内皮細胞以外？）中には原因と考えられるウイルスは検出されなかったことから妥当と思われる。しかし脳血管内皮細胞における日本脳炎ウイルスエンベロープ E 糖蛋白の存在は通常 ADEM ではみられないと思うので、現在の情報から ADEM と診断するのは慎重にすべきだと思う。

ワクチン接種と死因の脳ヘルニアの因果関係は否定できないと思う。

神経病理医の診断が「ADEM でよく、ワクチン接種後の日本脳炎ではない」ということが、不活化ワクチンなので理論上脳炎は起きないと考えられること（脳血管内皮細胞に日本脳炎ウイルスエンベロープ E 糖蛋白が認められたことをどう解釈するのか？）、脳組織中には原因と考えられるウイルスは検出されなかった？こと、日本脳炎に特有の視神経炎及び視床、黒質への炎症細胞浸潤は認められなかったこと、病変の周囲には、脱髄が多数散在したことから判断されたのか、そのあたりの診断の根拠をしっかりと確認することが望まれる。いずれにしても詳細な神経病理学的検索をすることが、今回の原因を探る上で最も重要であると思う。考えにくいと思うが、手足口病患者と

の接触歴や死亡時の症状の有無の確認も、念のため必要かもしれない。

神経病理学的所見（脳血管内皮細胞に日本脳炎ウイルスエンベロープ E 糖蛋白が認められたこと等）や時間的關係からワクチン接種と死亡の因果關係は否定できないと思う。

追加調査結果 1 (部会の議論を踏まえた追加調査事項及び報告者から回答)

1. 使用した抗体の種類 (単クローン抗体だとすればクローンの名称) 及び、その他使用した

試薬

抗体の種類	メーカー	製品名	製品 No.	ロット
<u>Anti-Japanese encephalitis Virus E glycoprotein antibody</u>	<u>abcam</u>	<u>JE-1</u>	<u>ab1671</u>	<u>GR126464-1</u>

試薬の種類	メーカー	製品名	製品 No.	ロット
<u>ワクチン液</u>	<u>阪大微生物病研究会</u>	<u>ジェービック V</u> <u>希釈倍率: 原液、5 倍</u>		
<u>酵素標識第二抗体</u>	<u>ニチレイバイオサイエンス</u>	<u>ヒストファイン</u> <u>シンプルステイン</u> <u>MAX- PO(MULTI)</u>	<u>424151</u>	<u>H1211</u>
<u>DAB</u>	<u>ニチレイバイオサイエンス</u>	<u>ヒストファイン</u> <u>ペルオキシダーゼ</u> <u>其質キット</u>	<u>425011</u>	<u>H1308</u>

ワクチン液を重層しない場合、同切片にて、DAB の発色が消失する。

2. 他の同種抗体 (日本脳炎ウイルス E タンパクに対する抗体) による染色陽性、陰性の有無

(もしあれば)

同種抗体では染色を実施していない。

3. 染色パターン、細胞内の染色部位。

染色パターン: 脳内小静脈内に、dot 状の陽性所見が出現する。

染色部位: 小静脈血管腔内

4. 陽性細胞の率 (何パーセントくらいが陽性細胞か)。

脳内小静脈のおよそ 20~30%。(ただし、標本化した切片内での評価です。)

5. 陽性血管内皮細胞が存在する脳内の部位。

半卵円中心の皮質下白質に頻発。

6. 本染色法を用いたネガティブコントロール、ポジティブコントロールの有無。

ネガティブコントロール：有（日本脳炎ワクチン未接種、未罹患者の脳切片）

ポジティブコントロール：無

追加調査結果2 (部会の議論を踏まえた追加調査事項及び報告者から回答)

※下線部：調査結果

1. [redacted] 照会 [redacted] に対する回答における、「ワクチン液を重層しない場合、同切片にて DAB の発色が消失する」という記述の解釈についてご教示下さい。また、ワクチンを重層する必要性及び染色方法の具体的手順についてもご教示下さい。
組織表面に露出した日本脳炎ワクチンに対する抗体に日本脳炎ワクチン溶液を反応させ、日本脳炎ウイルス特異的抗体で標識する 2 ステップサンドイッチ法の手法を応用しました。その原理より、抗原となる日本脳炎ワクチン溶液を添加しない場合、その先の抗原抗体反応が生じず、DAB 発色が見られなくなることが、その実験の特異性を証明する手段となります。今回、ワクチン溶液を添加しない標本で DAB の発色が消失しこの実験系の特異性が示されました。添付のポスター発表の”Detection method of the antibody against CC-JEV”をご参照下さい。
2. 可能であれば、陽性の染色像とされているものの写真をご提供下さい。
添付いたします。
3. 上記の免疫学的手法は authorize されたものなのか、また authorize されたものであれば、reference についてもご教示下さい。
一般的な酵素免疫測定法の手法を免疫染色に応用しています。参考文献とは言えないかもしれませんが、下記の実験教科書を参考にしています。免疫実験法ハンドブック 中島泉、金井雄一、2006 年、初版第 1 刷発行 p262 など。



追加調査結果 3 (部会の議論を踏まえた追加調査事項及び報告者から回答)

1. 剖検検体からのウイルス学的検査の有無

患児の脳実質を[]に持参し、ウイルス分離を依頼。

遺伝子検査: インフルエンザ、エンテロウイルス属、ヘルペスウイルス科、日本脳炎ウイルスの遺伝子は検出されなかった。

分離培養検査: エンテロウイルス属、アデノウイルス、ヘルペスウイルスは培養細胞による培養で2代継代したが、分離されなかった。

専門家の意見

専門家 A (感染病理)

解析に用いられている方法は Sandwich ELISA と同じ原理を考えているようだが、確立された方法ではない。多くの場合、抗体の結合性はホルマリン固定により失われるか減弱される。組織上に抗体が存在していたとしても組織のホルマリン固定によって抗体が変性する可能性が高い。シグナルが陽性だとした場合不活化ワクチンが組織に結合している事になるが、細胞表面のレクチンや糖鎖構造に結合している可能性があり結合相手が抗体であるという証拠はない。同様の方法はインフルエンザウイルスの受容体結合性を病理組織上で調べた報告で用いられているが結合相手はシアル酸上の糖鎖であり抗体ではない。

DAB 染色では静脈血管内に点状のシグナルがあるが、血液中の血清成分のなにかと非特異的に反応していることが考えられる。陰性コントロール (C2) に関して、組織標本は固定条件によって染色性に違いが起りやすいので複数例での検討、また当該患者での複数個所での検討が必要である。

蛍光染色の写真では静脈内に diffuse に強いシグナルが認められており、非特異的に結合している可能性を否定できない。血管内皮細胞に存在する事を言うには内皮細胞のマーカーとの二重染色が必要である。

GFP A 染色で終足の肥大化がみられるのみでは「動静脈に終足を伸ばすアストロサイトの異常活性化」とは言えない。また、アストロサイトと脱髄病変との関連に言及されているが脱髄はオリゴデンドロサイトによる病変なので別の話である。よって本実験から「日脳ウイルスに対する抗体が近傍のアストロサイトを刺激して周囲の髄鞘が障害される」と断定することは科学的に無理があると言わざるをえない。

本症例は細胞培養日本脳炎ワクチン接種後に発生した急性散在性脳脊髄炎 (ADEM) である事には異論はないが、抗日本脳炎ウイルス抗体による発症機序の説明には無理がある。

専門家 B (小児科)

- 1) 1 期初回接種後 5 日での重篤な脳病変を惹起する特異抗体上昇は考えにくい
- 2) 病的には血管周囲の細胞浸潤と脱髄性変化ありとの所見らしいが、その病変に相応する免疫細胞の刺激と集積と脱髄がワクチン接種後 5 日で完成するとは考えにくい。
- 3) 急な発熱があり、発病時には神経症状がなく、その後急な死亡が確認されている。死因は急激に生じた脳浮腫であろう。通常の ADEM の経過とはかなり異なる。
- 4) 児の日本脳炎特異血清抗体価や、その他のウイルスに対する IgM 抗体の検査はなされていたか？
- 5) ADEM を含む脳炎または他の脳症において、病原体が直接脳損傷を引き起こさない(病変局所に病原体が存在しない) 場合も多いので、エンテロウイルス等の関与も考え、便検体や咽頭拭い液からのウイルス分離や遺伝子検索も参考になる。
- 6) 今回行われた免疫組織学的検討によって因果関係を決定するには根拠が薄い。

専門家 C (感染病理)

報告、調査から得られた情報からは、以下のような点を十分検討したものとは考えられず、日本脳炎ワクチンによる ADEM と判断することは妥当ではない。

1. **Perivascular cuffs** はウイルス性疾患ではよく認められる所見である。病初期に認められた感冒症状は何らかのウイルス感染の可能性が十分考えられるが、そのウイルス性疾患が **Perivascular cuffs** の原因になった可能性もある。今回の症例では他のウイルスの感染について検討されていないが、その検討は必須である。
2. 今回用いられた免疫染色の特異性は疑問が付される。蛍光色素がついている日本脳炎ワクチン抗原を使い赤く染めているが、赤い色は血管内に瀰漫性に染まっている。また脳実質内にも赤い色が見える。**GFAP** の陽性部位とは一致せず、**DAB** の陽性反応（ドット上の陽性所見）とは同じではない。
3. 組織内に日脳ウイルスに対する抗体が存在すると仮定すると、それが **IgG** であれ **IgM** であれ、免疫グロブリンに対する抗体で染色してみる必要がある。特異性を論じて行くうえで対照として必須である。なお、反応が陽性とでもそのグロブリンが特異的抗日脳抗体とはいえない。通常ホルマリン固定パラフィン切片では 特異抗体の検出はきわめて難しいとされる。
4. ワクチン接種後 5 日ですでに抗日脳抗体ができているとは考えにくい。加えて、抗日脳抗体が血管内皮細胞に特異的に残るとはきわめて考えにくい。また、仮に日本脳炎ワクチン抗原がモノクローナル抗体で検出されたとしても特異的日脳タンパク抗体と結合しているとは言い難い。ウイルスの糖タンパクに対するモノクローナル抗体はしばしば 非特異反応を生じるため、検証が必要である。
5. 事前に、固定に用いるホルマリン液の組成、その後の反応に用いる際のパラフィン切片の前処理、ホルマリン固定の期間について検討が必要である。同様の検討を凍結生切片でも実施すべきである。以上の種々の検討をしたうえでなければ、陽性であったとしても非特異的反応（なんらかの交差反応）としかいえない。
6. 他のウイルスの糖タンパクを認識するモノクローナル抗体で実施した陰性対照についても必要である。
7. 抗日脳ウイルス抗体が、ワクチン接種された小児の脳内に検出され、それが ADEM の原因となっているとするには、さらに徹底した対照実験が必要である。
8. 種々の市販品を用いているが、確実にそれらが使用にたえるかの基礎的検討を事前にされる必要がある。