

表 1. 各痘瘡ワクチンの CAM を用いた感染価と Vero 細胞と RK-13 細胞を用いた組織培養法による感染価

痘瘡ワクチン	Vero 細胞の単層細胞 における力価 (PFU/ml)	RK-13 細胞の単層 細胞における力価 (PFU/ml)	CAM における力価 (PFU/ml)
Ref-4 (Lister 株)	$1.6 \times 10^7$	$1.5 \times 10^7$	$1.7 \times 10^7$
Lc16m8 株	0	0	$5.8 \times 10^7$
T-1 (Lister 株)	$8.5 \times 10^7$	$2.3 \times 10^7$	$1.7 \times 10^8$
T-2 (Lister 株)	$8.9 \times 10^7$	$4.1 \times 10^7$	$3.8 \times 10^8$
D-1 (Lister 株)	$2.5 \times 10^7$	$3.0 \times 10^6$	$9.0 \times 10^7$
D-2 (Lister 株)	$3.9 \times 10^7$	$6.3 \times 10^6$	$8.2 \times 10^7$
H (池田株)	n.t.	$2.6 \times 10^7$	$2.2 \times 10^7$
K (池田株)	n.t.	$4.0 \times 10^4$	$7.8 \times 10^6$

n.t. : not tested

図1. 痘瘡ワクチンのCAMにおける感染価とVero細胞を用いた組織培養法をもちいた感染価の相関.

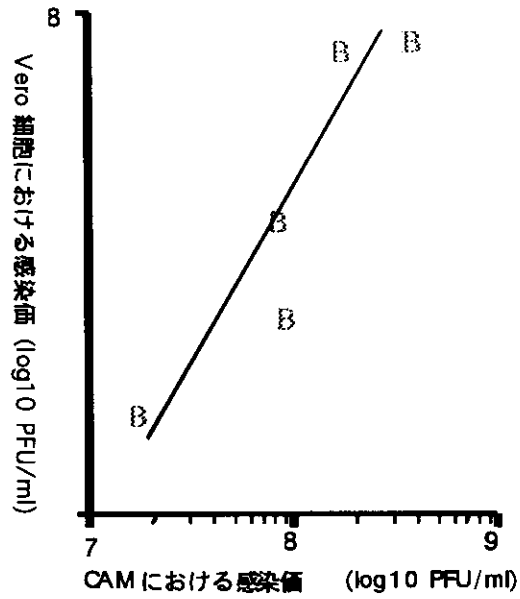
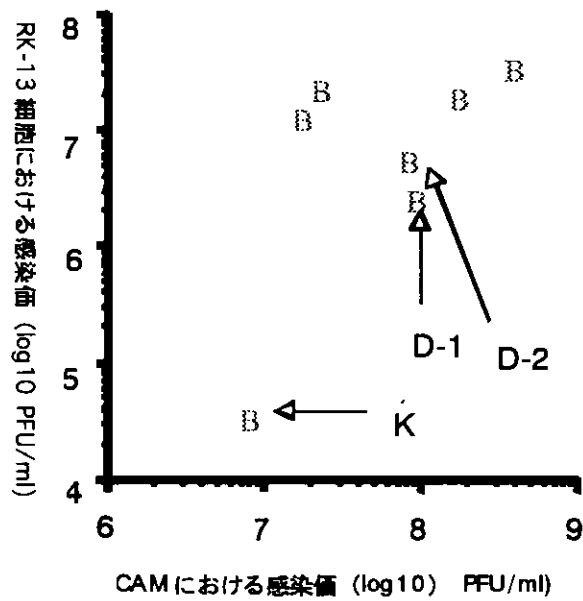


図2. 各痘瘡ワクチンのCAMにおける感染価とRK-13細胞を用いた細胞培養法による感染価の相関.



## 6. モンキーポックスウイルス (MPV) の研究

分担研究者 宮村達男 (国立感染症研究所ウイルス第二部 部長)  
協力研究者 加藤賢三 (国立感染症研究所ウイルス第二部  
腫瘍ウイルス室 室長)  
田中幸江 (国立感染症研究所ウイルス第二部 研究員)  
市橋康夫 (新潟大学医学部ウイルス学教室 助教授)  
大家正泰 (新潟大学医学部ウイルス学教室 助手)

**研究要旨** アフリカコンゴで 1996~1998 年夏にかけて流行した、熱性発疹性疾患の症例から分離されたモンキーポックスウイルスの性状解析を行った。

### A 研究目的

1958 年に発疹性疾患を呈したカニクイザルから分離されたモンキーポックスウイルス (MPV) は、天然痘ウイルスと血清学的に同じグループに属するオルソポックスウイルスである。1996 年からアフリカコンゴで MPV の流行がみられ、1997 年 10 月まで、患者は 511 例にのぼった。それらの 85 % は 16 才以下であり、致死率は 15 % と報告された。流行にはふたつのピークがあり、1998 年になって解析 419 例のうち、78 % は二次感染例であった。本研究は、コンゴにおけるヒトでの流行株と、従来サルからの分離株の生物学的性状の比較解析をすることにより、ヒトでの流行の原因を究明することを目的とする。

### B 研究方法

1) 遺伝子レベルでの解析ヒトへの感染の原因のひとつとして、ウイルスの変異が挙げられる。米国 CDC の Esposito らによって最近、ヒトの死亡例から分離された株と、我々の研究室で保有している従来サルからの分離株のゲノムの制限酵素切断パターン、及び塩基配列の違いを調べる。

- 2) 生物学的性状の比較今までに天然痘ウイルスと対比して明らかになっている MPV の生物学的な性質 孵化鶏卵漿尿膜上でのポックの形態と色、ウサギ皮膚での出血性反応及びウイルス増殖、組織培養細胞 (ウサギ腎臓、ブタ腎臓及び HeLa 細胞) での増殖、増殖可能温度等を両 MPV 株で比較検討する。
- 3) 抗原性の比較昔、分離された MPV に対して作成されたモノクローナル抗体、及びワクチニアウイルス (vv) に対して作成されたモノクローナル抗体への反応性をしらへる。MPV に対して作成され、本研究に用いたモノクローナル抗体の既知のオルソポックスウイルスに対する反応性を表 1 にまとめた。

### C 研究結果

モノクローナル抗体は vv 特異的、MPV 特異的なもの以外に共通に反応するものが存在した。これらの抗体を用いた抗原解析では、ほとんどの今回の分離株は従来株と区別することかできなかった。ただ 1 株のみいつれの抗体とも反応しない株があり、この株のゲノムの制限酵素切断像は明らかに他の株と異なっていた。

## D 考察

1996～1998年にコンゴで頻発したMPVのヒトからヒトへの感染の原因は、1) MPVの遺伝子に変化がおこり、ヒトからヒトへの伝播が容易になったこと、2) 天然痘撲滅により種痘が廃止されたため子供を中心にオルソボックスへの感受性が増大したこと、などが考えられる。今回分離された株の一部の塩基配列、制限酵素切断像、モノクローナル抗体との反応性をみると、従来株と大きく変わっている証拠はない。変わっている1株が採れているが、この株の分離状況、伝播性など、これからしらへる必要がある。

## E 結論

今回コンゴで流行したモンキーホックスウイルスを増やし、従来ウイルス株と比較した。

## F 論文発表

Ichihashi, Y, Oie M, Kato K, Esposito, J and Miyamura T Characterization of Monkeypoxviruses Isolated from the 1996-1997 Epidemic in Zaire WHO Technical Advisory Group Meeting on Human Monkey pox Geneva, 1998



## 7. 弱毒ワクチニアウイルス株 Lc16m8 接種後の 中和抗体の測定

分担研究者 宮村達男 (国立感染症研究所ウイルス第二部 部長)  
協力研究者 加藤賢三 (国立感染症研究所ウイルス第二部  
腫瘍ウイルス室 室長)  
田中幸江 (国立感染症研究所ウイルス第二部 研究員)  
市橋康夫 (新潟大学医学部ウイルス学教室 助教授)  
大家正泰 (新潟大学医学部ウイルス学教室 助手)

**研究要旨** 痘瘡ワクチン株 Lc16m8 を前回種痘より30年以上経過している研究者5名に再種痘を行った。一例を除き、高力価の中和抗体が認められた。

### A 研究目的

千葉血清研究所で作成された痘瘡ワクチン株 Lc16m8 を接種し、その後の中和抗体価を測定すること。

### B 研究方法

当該 L16M8 株原液 100  $\mu$ l をチューブに分注し、そこに、二股針を入れ一定量の液量 (10  $\mu$ l) を取り、接種を行った。接種後2週間で採血し、血清は56℃、30分処理した後、GMK細胞を用いて、ワクチニアウイルス大連株1株の50%ブランクリダクション法にて中和抗体を測定した。

### C 研究結果

得られた中和抗体価は、標準ウサギ高免疫血清で、1 1600。再種痘者#1では、1 200、#2では1 150、#3では、1 80、#4では、1 80、#5は、1 16以下であった。再種痘の場合の臨床

像には個人差が認められ、前回種痘より50年以上経過の例では、水泡、膿泡、発赤、腫脹が強く認められた。

### D 考察

天然痘の撲滅宣言以来、種痘ワクチンを接種する機会はなくなっている。Lc16m8株を使用した痘瘡ワクチンの使用法、接種法、その後の中和抗体価の測定法の習得が必要とされる時期に来ているものと思われる。今後症例数を増やし検討する必要があるものと思われる。

### E 結論

痘瘡ワクチン株 Lc16m8 を前回種痘より30年以上経過している研究者5名に再種痘を行った。再種痘の場合の臨床像には個人差が認められ、前回種痘より50年以上経過の例では、水泡、膿泡、発赤、腫脹が強く認められた。

## 8. ワクチニアウイルス株に関する研究 (2)

分担研究者 橋爪 壮 (財団法人 日本ポリオ研究所長)

**研究要旨** 弱毒ワクチニアウイルス株として多ヶ谷らが開発した DI<sub>s</sub> 株、Kemp らが弱毒株として米国で用い、わが国でも検討された CV1-78 株および我々が開発した LC16m8 株の中枢神経に対する病原性 (増殖性) と皮膚増殖性につき比較検討した結果皮膚増殖生は中枢神経病原性とは異なる独立した遺伝子群が関与していると考えられ、今後の研究に重要な示唆を与えるであろう。

### A 研究目的

3 種類の弱毒株を比較し、ワクチニアウイルスの病原性について検討する。

### B 研究方法

弱毒株として多ヶ谷らが分離した大連 I 株の変異株 DI<sub>s</sub> 株、Kemp らが米国で弱毒株として使用し、わが国でも検討された CV1-78 株および橋爪らが開発した LC16m8 株を用いた。サルの脳内に接種し、その病原性を比較し、またウサギの皮内接種によりその発赤径により、皮膚増殖生の比較を行い、合わせて人体接種時の反応を比較した。

### C 研究結果

**中枢神経への病原性** サルの脳内接種 (視床内) で最も強い変化は髄膜、次いで脈絡膜叢で、この 2 箇所組織の病変について比較すると、CV1 は弱毒株にもかかわらず最も強く、 $10^6$  でも+++の病変を示し、CV1 の親株である NYBH 株あるいは他の種痘株 (池田、Lister、EM63) よりも強い。

DI<sub>s</sub> と LC16 はほぼ同程度で、 $10^5$  でも++~+程度の反応であった。

		DI <sub>s</sub>	LC16m8	CV1
$10^6$	M	+, +, +	++, ++, +	+++, +++, +
	CP	+, +, +	+, -, +	+++, ++, ++
$10^7$	M	+, +, +	++, +, +	+++, +++, +
	CP	+, +, +	-, -, +	+++, +++, ++
$10^8$	M	++, ++, +	++, ++, +	+++, +++, +
	CP	++, +++, +	+ +, +	+++, +++, +

M Meninges CP, Choroid Plexus  
+~+++ 病変の程度、各期借 3 頭の成績を示す。

**皮膚増殖** ウサギの背部皮膚に各種の濃度のウイルス液を 0.1ml 皮内接種し、その最大発赤径が 10mm 以上を陽性とし、各株の 50% 発赤量 ( $ErD_{50}$ ) を算定し比較した。

CV1 株の  $ErD_{50}$  は  $10^{2.5}$  で LC16m8 株の親株の LC16mO 株とほぼ同等で、LC16m8 のそれは  $10^{3.9}$  であった。ウサギの皮内反応で見ると、CV1 株は LC16m8 よりもやや皮膚増殖が強い。DI<sub>s</sub> 株は全く反応を示さなかった。

これらの皮膚反応の成績は種痘研究班で行われたヒトの局所反応の成績とよく一致していた。

### D 考察

DI<sub>s</sub> 株は皮膚増殖は極めて悪いが、神経病原性では LC16m8 と同程度であり、かたや CV1 は皮膚増殖は LC16m8 の親株である

LC16m0 とほぼ同等であったか、LC16m8 よりはやや強く、神経病原性は著しく強い性質を示した。なお LC16m0 の神経病原性は LC16m8 と同等で極めて弱い。

これらの性質を勘案すると脳内での増殖性と皮膚（末梢）における増殖性とは異なった遺伝子の支配を受けているのではなかろうかと考えられる。

種痘の場合の病原性を考える場合、末梢での増殖性、中枢神経での増殖性、および末梢から中枢神経への侵襲性の3者を区別して考える必要がある。CV1 は末梢での増殖性が比較的弱かったために弱毒株として用いられたのではなかろうか。末梢から中枢神経への侵襲性については LC16m8 についてのみしか実験しておらず、CV1 については行っていないので、言及できないか、LC16 の親株である LO と LC16m8 との比較では、LO 株のほうが侵襲性も強い成績を得ており 親株より強い神経病原性を示す CV1 を弱毒株として使用すべきではないと考えられる。

## E 結語

3 種類の弱毒株を比較し検討した結果現在のところ弱毒株としては LC16m8 が末梢での増殖性、中枢神経への病原性、データは示さないが、侵襲性の弱い点から考え、最も適した株である。また中枢神経での増殖性と末梢での増殖性は異なった遺伝子の支配にあると考えられた。



## 9. バイオセーフティ上の問題に関する研究： ワクチニアウイルス等の安全な取り扱いに関する研究

分担研究者 杉山 和良（国立感染症研究所バイオセーフティ管理室）

**研究要旨** ワクチニアウイルス等の病原体を取り扱う実験室の物理的封じ込め（Physical containment P）1から3までの実験室についての設計について、特に空調システムについての検討を行った。

P1実験室の空調システムはP2と同等にする。P2実験室の空調システムは廊下側から実験室奥側への内向き気流を確保する。P2-5実験室の空調システムは安全キャビネットを含め、給気、室内気流方向、換気回数密閉ダクト、ポリウムダンパー等を効率的に配備し、それらをまとめて基本ユニットとする。P3実験室の空調システムはP2-5に加え、そのユニットは個別管理のできるものとし、換気はオールフレッシュとする。

安全キャビネットの性能試験項目および点検項目について調査を行った。

### A 研究目的

ワクチニアウイルス等を安全に取り扱うための方策の基準を作成する。

### B 研究方法

文献等による情報収集により実験室の封じ込めデザイン、特に空調システムについての最新の知見を得、新しい実験室設置時の設備基準を作成する基礎とした。また安全キャビネットの点検法についての情報も収集した。

### C 研究結果

ワクチニアウイルスの取扱いはハイオセーフティレベル（Bio Safety Level BSL）2であることを前年度の調査で確認し、基準微生物学的実験操作法及び固有の運営操作法について報告した。今年度はワクチニアウイルス等の病原体を取り扱う実験室の物理的封じ込め（Physical containment P）1から3までの

実験室についての設計について、特に空調システムについての検討を行った。米国のBSL2についての基準微生物学的実験操作法、固有の運営操作法、安全防具（第一次バリアー）および施設（第二次バリアー）についてはすでに調査したが、ワクチニアウイルス等の安全な取り扱いにあたって、さらに実験室の空調システムについての調査を行った。また、安全キャビネットの点検法についての調査も実施した。

#### 1) P1実験室

空調システムはP2と同等とし、BSL1として運営する。P2については次項に説明する。

#### 2) P2実験室

空調は廊下等のコモンエリアより実験室奥側への内向き気流を確保する。

安全キャビネットはクラスIIタイプAを使用し、室内排気とする。ただし、室内排気口の近傍に安全キャビネットを設置し、キャビネットの排気が速やかに室内排気として屋外へ出るようにする。

換気回数及び給気排気量は安全キャビネットの排気量を十分に賄える量とする。

安全キャビネットのホルマリンガス燻蒸用

のガス導入装置及びガス排気パイプを設置する。  
ガス排気パイプはガス処理装置に連結する。各室には大型機器搬入用の搬入口が必要である。

### 3) P2 5 実験室

空調システムは安全キャビネットを含め、給気室内気流方向、換気回数、排気、ガスタイトパイプ、密閉ダクト、密閉バルブ、ボリュームダンパー、ファン、制御システム等を効率的に配備し、それら一連の機器構成を一つの基本ユニットとして考える。そのユニットはその単位において個別管理（他のユニットの運転、停止に影響されない、各室個別差圧管理、各室個別温湿度管理）のできるものとする。

換気はオールフレッシュとする。

これらのユニットを基本単位と考え、そのフロアのゾーニングを行う。

また、安全キャビネットは空調システム構成パーツの一つと考え、さらにどのような条件下（室内差圧調整時、他の安全キャビネットの発停、ドアの開閉、他実験室の空調状況等）においても、安定して運転できるように空調システムを構築する。そのため、安全キャビネットには、その運転に関して安全キャビネット自身の自己診断機能ならびに安全キャビネットに連結された排気システムへの制御信号出力等が必要である。

実験室の構造としては前室及び実験室をガスタイト構造（加圧ホルマリンガス燻蒸にたえること）とし、また各パイプ、ダクト等の貫通部分は気密（ガスタイト）構造とする。特に、空調制御に付随する室圧の変化及びそれに伴う壁及び貫通部分が振動や伸縮に十分耐えられ、気密（ガスタイト）構造が破綻しない構造とする。当然、地震等の災害に対する抵抗性（耐震構造 空調機器の耐震、貫通部のフレキシビリティ等）も必要である。

実験室に付随する機械室及び空調機器配置についても、その区域はハイオセーフティ管理区域であり、その操作性、メンテナンス効率、機器及び各パーツの気密性等に十分考慮する必要がある。

空調システムは廊下のコモンエリアより実験室奥側への内向き気流を確保する。内向き気流は各室（前室、更衣室、実験室）の差圧管理あるいは逆流防止タンパー（ヘパ付き）により管理する。

前室、更衣室（手洗い台付き）を設け、気流の逆流を防ぐ。

安全キャビネットはクラス II タイプ A を使用するが、Thumble を設け、安全キャビネットからの排気は全て直接外部へ排気する。安全キャビネット排気が室内に拡散しないように排気量をコントロールする。

換気回数及び給気排気量は安全キャビネットの排気量を十分に賄える量とする。

給排気システムにはガス密閉バルブを設置し、空調システムにおける全ての構成パーツ（ヘパボックス ファン、バルブ等）が密閉状態で切り離せるようにシステムアップする。

実験室には室外からのホルマリンガス燻蒸用のガス導入装置及び室外から操作できる室内ガス排気パイプを設置する。

ガス排気パイプはガス処理装置に連結する。室内仕上りはクリーンルーム（クラス 1,000 から 10,000 程度）とする。

ソフト管理（更衣、履き替え、オートクレープ等）で BSL2 5（BSL3 と同等であるが、両面オートクレープは不要）として使用する。

各室には大型機器搬入用の搬入口が必要である。

### 4) P3 実験室

空調システムは安全キャビネットを含め、給気室内気流方向、換気回数、排気、ガスタイトパイプ、密閉ダクト、密閉バルブ、ボリュームダンパー、ファン、制御システム等を効率的に配備し、それら一連の機器構成を一つの基本ユニットとして考える。そのユニットはその単位において個別管理（他のユニットの運転、停止に影響されない、各室個別差圧管理、各室個別温湿度管理）のできるものとする。

換気はオールフレッシュとする。

これらのユニットを基本単位と考え、そのフロアのゾーニングを行う。

また、安全キャビネットは空調システム構成パーツの一つと考え、さらにどのような

条件下（室内差圧調整時、他の安全キャビネットの発停、トアの開閉、他実験室の空調状況等）においても、安定して運転できるように空調システムを構築する。そのためには、安全キャビネットには、その運転に関して安全キャビネット自身の自己診断機能ならびに安全キャビネットに連結された排気システムへの制御信号出力等が必要である。

実験室の構造としては前室及び実験室をガスタイト構造（加圧ホルマリンガス燻蒸にたえること）とし、また各パイプ、ダクト等の貫通部分は気密（ガスタイト）構造とする。特に、空調制御に付随する室圧の変化及びそれに伴う壁及び貫通部分が振動や伸縮に十分耐えられ、気密（ガスタイト）構造が破綻しない構造とする。当然、地震等の災害に対する抵抗性（耐震構造 空調機器の耐震、貫通部のフレキシビリティ等）も必要である。

実験室に付随する機械室及び空調機器配置についても、その区域はハイオセーフティ管理区域であり、その操作性、メンテナンス効率、機器及び各パーツの気密性等に十分考慮する必要がある。

空調システムは廊下のコモンエリアより実験室奥側への内向き気流を確保する。内向き気流は各室（前室、更衣室、実験室）の差圧管理あるいは逆流防止ダンパー（ヘパ付き）により管理する。

前室、更衣室（手洗い台付き）を設け、気流の逆流を防ぐ。

安全キャビネットはクラス II タイプ B を使用し、安全キャビネットからの排気はガスタイトパイプにて全て直接外部へ排気する。クラス II タイプ B のため、排気用ブースターファンを各キャビネットに設置する。

安全キャビネット排気量を自動的にコントロールし、室内換気や他のキャビネットの発停に個々のキャビネットの排気量が影響されないシステムとする。

換気回数及び給気排気量は安全キャビネットの排気量を十分に賄える量とする。

給排気システムにはガス密閉バルブを設置し、空調システムにおける全ての構成パーツ（ヘパボックス ファン、バルブ等）が密閉状態で切り離せるようにシステムアップする。

実験室には室外からのホルマリンガス燻蒸用のガス導入装置及び室外から操作できる室内ガス排気パイプを設置する。

ガス排気パイプはガス処理装置に連結する。室内仕上りはクリーンルーム（クラス 1,000 から 10,000 程度）とする。

ソフト管理（更衣、履き替え、オートクレープ等）で BSL 3 として使用する。

各室には大型機器搬入用の搬入口が必要である。

#### 5) BSL 2 実験室施設（第二次バリアー）

前年度の報告書に示したように、BSL 2 の各実験室毎に手洗い用流しを設ける。また、実験室は清掃が容易なように設計する。室内の敷物はよくない。液体をこぼした場合、汚染除去するのは極めて難しいので用いてはならない。

実験機表面は、水を通さず、酸、アルカリ、有機溶媒、中等度の熱に耐性とする。実験室の設備品は丈夫なものとし、ベンチ、キャビネット、機器の間は清掃しやすくする。実験室に開放性の窓がある場合には、防虫網をつける。感染性ないし規制実験室の廃棄物の汚染除去の方法を用いる。（例えば、オートクレープ、化学消毒、焼却炉や他の認められた汚染除去方法）

眼洗浄装置を備える。また緊急用のシャワーを各フロア毎に設置する。

#### 6) 安全防具（第一次バリアー）

適切に維持されている生物学的安全キャビネット（BSC）[特にクラス II の]、あるいは他の適切な実験者個人を守る防具、または物理的封じ込め設備は常に用いられる。特に安全キャビネットは第一次バリアーとして極めて効果的である。しかしながら、適切に維持され性能が正しく保持されていることが必須となる。そこで、安全キャビネットの点検法について調査を行った。

#### 安全キャビネットの試験項目

クラス IIA 及び IIB ハイオハザード対策安全キャビネットについて米国 NSF 規格に準拠した性能試験を行う。さらに国内の実情に合うようにクラス II 安全キャビネット規格（日本空気清浄協会）を考慮して行う。

## A 性能試験

- 1 気密度
  - ・石鹼法
  - ・ハロゲンガス法
  - ・圧力降下法
- 2 ヘパフィルター透過率
- 3 気流バランス・細菌試験
  - ・作業者の安全性
  - ・作業保護
  - ・試料間の相互汚染
- 4 風速
  - ・吹出風速
  - ・流入風速
- 5 気流方向
- 6 温度上昇
- 7 騒音レベル
- 8 照度
- 9 振動
- 10 安定度
  - ・転倒
  - ・ねじれ
  - ・作業台のひずみ
  - ・傾き
- 11 シンクの漏水度
- 12 その他一般性能

## B 実際の搬入・据付後の検査法

- ① 気密度試験
- ② 風速風量試験
- ③ 気流方向試験
- ④ ヘパフィルター性能試験
- ⑤ 照度試験
- ⑥ 絶縁抵抗試験

次の検査時に要求される検査項目を示す。

- 1 搬入設置後（使用開始前） ②③④
- 2 定期点検（簡易法） ②③④  
（フル点検） ①②③④⑤⑥
- 3 フィルター交換時 ①②③④

安全キャビネットの性能が確保されるためには上記の点検検査項目について検査を定期的実施して、測定値をモニターし、仕様値を下回る場合は速やかにヘパフィルター交換等の必要な措置をとらなければならない。ワクチニア等を取り扱う実験室ではこのような保守点検プログラムを作成すへ

きてある。

## D 考察

P1及びP2実験室の空調システムでは、空調は廊下等のコモンエリアより実験室奥側への内向き気流を確保することが重要である。P1及びP2実験室では基本的には特別な空調システムが要求されるわけではないが、室内排気口の近傍に安全キャビネットを設置し、キャビネットの排気が速やかに室内排気として屋外へ出るようにするという考えはエアロゾルを一定方向気流に乗せることが可能であり、有益である。

換気回数及び給気排気量は安全キャビネットの排気量を十分に賄える量とすることは重要で、安全キャビネットの流入開口部ならびに作業台内風速を仕様通り確保するために必要である。

安全キャビネットのホルマリンガス燻蒸用のガス導入装置及びガス排気パイプを設置することは、適切なホルマリン燻蒸を実施する上で必須である。ガス排気パイプはガス処置装置に連結する必要がある。

P2-5及び3実験室では空調システムは安全キャビネットを含め、給気・室内気流方向、換気回数、排気、ガスタイトパイプ、密閉タクト、密閉ハルブ、ホリユームダンパー、ファン、制御システム等を効率的に配備し、それら一連の機器構成を一つの基本ユニットとして考えることが重要である。実験室の空気の換気能力と安全キャビネットの性能を適切に維持するために、そのユニットはその単位において個別管理（他のユニットの運転、停止に影響されない、各室個別差圧管理、各室個別温湿度管理）のできるものとする必要がある。

また、安全キャビネットは空調システム構成パーツの一つと考え、さらにとのような条件下（室内差圧調整時、他の安全キャビネットの発停、ドアの開閉、他実験室の空調状況等）においても、安定して運転できるように空調システムを構築する。そのためには、安全キャビネットには、その運転に関して安全キャビネット自身の自己診断機能ならびに安全キャビネットに連結された排気系統への制御信号出力等が必要である。新しい機能を有する安全キャビネットの導入が必要となる。

空調システムは廊下のコモンエリアより実験室奥側への内向き気流を確保する。内向き気流は各室（前室、更衣室、実験室）の差圧管理あるいは逆流防止ダンパー（へパ付き）により管理することが必要である。

安全キャビネットはクラス2タイプAを使用するが、Thimbleを設け、安全キャビネットからの排気は全て直接外部へ排気する考えが提示されてきている点について、また新たな空調システムについて、今後さらに検討する必要がある。

病原体のBSL分類が行われそれに対応した実験室設備、BSC等の安全装置および実験室運営方法の組み合わせで安全を確保するという考えが一般化した。実験施設の設計のみでなく、これら3つの要素を結合して考えることが重要である。

一般に、感染のリスクが高い人や感染にとくにかかりやすい人は、実験室への入室を許してはならない。実験室の責任者は、ハザードの可能性について注意を受け、特別の入室の要求を満たしている者（例えば、ワクチン免疫）のみが実験室や動物室へ入室できる方策と方法を確立する。

感染性病原体が実験室内で用いられている時は、入室のための特別の条件（例えば、ワクチン免疫）と、一般的なバイオハザードマークを、実験作業区の入室ドアに貼りつけておく。入室のための特別必要事項も指示しておく。

実験者は、適切なワクチン接種や実験室内で扱ったり感染する可能性のある病原体のテストを受け、適切な折りに、扱う病原体を考慮し、実験室や他のリスクのある人々の事前血清サンプルを採取し、保存するバイオセーフティマニュアルを作成するか、採用する。

実験室で作業するひとは、作業に伴うハザードの可能性と、暴露を防ぐために必要な予防手段、暴露の評価法に関する適切な研修を受ける。実験者は毎年新しいことを学び、操作方法や施設が変わったときには必要に応じ研修を受ける。このように、BSL2の運用による病原体の取り扱いでワクチニア等を安全に取り扱うことが可能である。

## E 結論

日本の実験室は一般的には少なくともWHOの基準は十分満たしていると考えられる。上記の空調設備の基準は高めに設定したものであり、理想的な実験室の空調システムを示した。実際には設計・建設費および実験室維持費等の都合で、この基準を満たせないことがあるが極力満たすように設計設置すべきである。WHOのバイオセーフティマニュアルではP3実験室の実験室排気はへパフィルターを通すことが望ましいとしているが、米国CDCではランニングコスト等を考慮して必ずしもP3実験室の排気にへパフィルターを使用しなくてもよいということを経験所として決定をしたと言っている。しかしながら、我が国ではP3実験室の排気にへパフィルターは必要であると考えられる。

安全キャビネットの定期点検は極めて重要であり、ワクチニア等を取り扱う実験室では保守点検プログラムを作成すべきである。ワクチニア等の病原体等の取り扱いについてワクチニア等の研究を行う機関がそれぞれ病原体安全管理規程を作成し安全管理体制を構築する必要がある。実験室の責任者および研究班リーダーは、ワクチニア等を取り扱うBSL2実験室とそこで使用する安全装置および機器について、日常的に十分管理を行うことが必要である。また、ワクチン接種を含む健康管理を実行することで、実験室バイオハザードは防げると考えられる。繰り返し強調しなければならないことは、ハザードは人的要素によることが極めて高いことを常に認識しつつ実験を行う必要があるということである。したがって、ワクチニア等の病原体の取り扱いについての安全教育を繰り返し行う必要がある。

## F 研究発表

### 1) 口頭発表

- Aerodynamic behavior of bioaerosols  
Different collection pattern from natural or chemical aerosols by the middle efficiency airfilter  
41th meeting of American Biological Safety Association 1999 Shinohara K,

Hamasaki H, Kanoh F, Uezono M,  
Imami Y, Tokura N, Mivoshi T, Suzuki  
M, Kitabayashi A, Fumi H, Sugiyama K

- 中性能フィルターの浮遊微生物捕捉効率  
に関する基礎検討。第26回日本防菌防  
黴学会 1999 篠原克明、浜崎浩、狩野  
文雄、上園正行、印南幸夫、北林厚生、  
藤井弘毅、杉山和良

# 10. ワクチニアウイルス取扱者に対する予防接種に関する研究

分担研究者 神谷 齊（国立療養所三重病院）

## A 研究目的

かつて種痘を受けたことのない世代(22～23 歳以下)がワクチニアウイルスを用いたの組み換え DNA 実験を行うようになってきた今日において、彼らに対して予防接種を実施する際の適切な方法を検討すること

## B 研究方法

弱毒痘苗 Lc16m8 は、製造許可は得たワクチンであるが、わか国において国家検定はされておらず、定期接種にも任意接種にも属さないワクチンである。ワクチニアウイルス関連研究者が自分自身の研究の安全のため接種を希望した場合、いかなる手順で実施するのが適切であるのかについて、特に今年度は Lc16m8 接種用の予診票を作成した。

## C 研究結果

- 1 予診票の第一の目的は、被接種者の健康状態を出来るだけ正確に把握し、副反応の発生を極力少なくすることである。この基本的な考え方に基つき、図 1 のような予診票を作成した。(図 1)
- 2 以下のような「予防接種を受けることが不適當である者」を発見できる予診票とした。
  - ・ 明かな発熱を呈している者
  - ・ 重篤な急性疾患にかかっていることか明かな者

当該接種液の成分によってアナフィラキシーを呈したことが明かである者

- ・ その他、予防接種を行うことが不適當な状態にある者

## D 研究結果の意味付けと貢献度

たとえ定期接種にも任意接種にも属さなくとも、日本国内で接種されるワクチンである以上、現行の予防接種法（平成 6 年 10 月改正）の内容に則った実施法を目指した。

## E 今後の研究の方向、展望等

本予診票を用いて、ワクチニアウイルス関連研究者の接種希望者に対する実際の接種が始まった際には、予診票が実際の使用に際して適当なものであるのか、さらに改善点は無いのかを検討していく。

## F 結論

弱毒痘苗 Lc16m8 を安全かつ有効に対象者に対して接種するためには、科学的根拠に基づいた正しい条件設定が必要である。なお、本予診票は主任研究者によって整理され、日本ウイルス学会誌「ウイルス、第 49 巻 2 号、1999 年 12 月 1 日発行」に実際の接種に使用する様式として掲載された。

## ワクチニアウイルス取扱者の予防接種予診票

接種を受ける人の氏名： \_\_\_\_\_

生年月日： \_\_\_\_\_年\_\_\_\_月\_\_\_\_日生 （満\_\_\_\_歳）

性別：（男・女）

住所： \_\_\_\_\_

診察前の体温： \_\_\_\_度\_\_\_\_分

質問事項	回答欄	医師記入欄
1 今日受ける予防接種について説明を受け、理解しましたか	はい・いいえ	
2 今日、身体に具合の悪いところがありますか あれば、具体的に症状を書いてください （ _____ ）	はい・いいえ	
3 最近1ヶ月以内に病気にかかりましたか 病名（ _____ ）	はい・いいえ	
4 心臓疾患、呼吸器疾患、糖尿病、高血圧など慢性の持病がありますか 病名（ _____ ） その病気を診てもらってる医師に今日の予防接種を受けてよいと言われましたか	はい・いいえ	
5 薬や薬品で皮膚に発疹が出たり、身体具合が悪くなったことがありますか 薬、薬品の名称（ _____ ）	はい・いいえ	
6 これまでに予防接種を受けて身体具合が悪くなったことがありますか 予防接種の種類（ _____ ）	はい・いいえ	
7 今日の予防接種について質問がありますか	はい・いいえ	

医師の記入欄      以上の問診および診察の結果、今日の予防接種は \_\_\_\_\_ （可能・見合わせる）  
医師のサインまたは印 \_\_\_\_\_

あなたは予診の結果を聞いて、今日の予防接種を受けますか \_\_\_\_\_ （はい・いいえ）  
本人のサインまたは印 \_\_\_\_\_

接種部位（ \_\_\_\_\_ ）      接種量（ \_\_\_\_\_ ）      ワクチン Lot No（ \_\_\_\_\_ ）

接種年月日 \_\_\_\_\_年\_\_\_\_月\_\_\_\_日

接種実施場所 \_\_\_\_\_

医師名 \_\_\_\_\_



## 11 ヒトホランティアにおける弱毒ワクチニアウイルスワクチン (弱毒痘苗) 株 (LC16m8) 接種後の反応

分担研究者 倉田 毅 (国立感染症研究所感染病理部長)  
研究協力者 岩崎 琢也 (国立感染症研究所感染病理部室長)  
小島 朝人 (国立感染症研究所感染病理部室長)

**研究要旨** かつて種痘を受けたことのない世代がワクチニアウイルスを用いた組換え DNA 実験を行う機会が増加し、実験前のワクチン接種を希望する研究者が増加が予想される。日本で第2世代ワクチンとして認可された LC16m8 株ワクチンをヒトボランティアに接種し、臨床症状について経過観察した。接種時に際して問診ならびに視診で活動性のアトピー性皮膚炎がなく、家族・職業歴にて 15 才以下の小児に頻回に接触する可能性がないことを確認し、24 人に接種を行った。このうち、ワクチニアウイルス実験の既往歴を有していたのは 6 人であり、また種痘歴は 25 才以上の 20 人にあり、24 才未満の 4 人が無かった。24 人全員で発熱等の全身症状の副反応は見られなかった。初回免疫の 4 人全員では接種部位に水疱性変化を主体とする変化が生じ、全例で所属リンパ節腫大が一過性に認められた。既免疫者では皮疹は丘疹を伴う紅斑を主体とし、リンパ節腫大は認められなかった。LC16m8 株ワクチンは健康宿主では非常に安全であり、また所属リンパ節腫大はワクチン既往を判断する上で重要な所見である。なお、血清応答については森川らが解析した。

### A 研究目的

天然痘はヒトのみを自然宿主として、国際的協力により 1970 年代後半に地球上から撲滅された疾患である。天然痘の原因ウイルスである天然痘ウイルスは現在、正規上はロシアとアメリカ合衆国の P4 施設にのみ保管管理されているが、一部漏出の可能性も指摘されており、ハイオテロの病原体として使用される可能性が危惧されている。一方、ワクチニアウイルスは天然痘ウイルスに抗原性が非常に類似する弱毒ウイルスであり、1801 年の Jenner E の論文(The origin of the vaccine inoculation) が英国王立医学会より認められて以来、種痘として、天然痘に対する予防接種に用いられてきた。本邦では 70 年代中頃まで、生後 36 ヶ月から 72 ヶ月の小児に細胞培養ワクチンを多圧法により接種することが行われてきた。副反応として、接種後 4-5 日頃より水疱が生じ、3 週ほどで痂皮が形成され、やがて治癒する(善感)。アトピー性皮膚炎を伴っている小児に接種すると全身皮膚に散布することが知られている。

分子生物学の進展とともに種々の遺伝子を組換えられたワクチニアウイルスを使用した実験が多く行われている。今後、種痘歴がない若い研究者がこのワクチニアウイルスを使用した実験を行う

機会が増多することが予想され、このワクチン接種の効果ならびにその副反応の確認が必要とされている。本報告では健康ボランティアに対して弱毒痘苗である LC16m8 を接種し、その後の臨床経過を観察した結果を記述する。

### B 健康ボランティアにおける接種

- 1 方法 1968 年に Wyeth Laboratory の Rubin BA により開発された二又針 bifurcated needle を用いた接種方法を採用した。この二又針の特許は WHO が有し、WHO の天然痘根絶計画に用いられた。凍結乾燥状態のワクチンを添付の溶解液でよく懸濁後、接種時室温に静置した。接種方法はワクチン懸濁液に二又針を浸漬し、前腕内側部あるいは上腕外側部の皮膚に 15 回軽く押しつける皮内接種とした。この押しつけの程度は二又針の重さによる重力による落下程度である。
- 2 健康ボランティア 接種に際して日本ウイルス学会学会誌ウイルス第 49 巻 2 号(1999)に添付されたワクチニアウイルス取り扱いのための LC16m8 接種の同意書に準じた口頭におけ

る説明ならびに文書による同意書を得た。既往歴にアトピー性皮膚炎がある場合は対象としたが、接種時にアトピー性皮膚炎がみられる場合は接種をしないことにした。また、家族に15才以下の小児があり、小児と接触する可能性が高い場合も対象としないことにした。総計24人に接種を行った。ボランティアの年齢は2000年2月時に23才から59才までで、1人の女性を含む。本人より種痘歴ならびにワクチン取り扱い実験歴を確認したところ、25才未満の4人が種痘の接種歴を有しておらず、一方、6人が取り扱い実験歴を有していた。このうち1人は種痘歴を有していないが、過去に実験室感染の既往はない。既往歴にアトピー性皮膚炎があり、頸部の皮膚に軽い色素沈着を示したボランティアが1例みられたが、接種時には活動性の皮膚病変は認められず、対象に含めた。

## C 結果

### 1 接種

接種は2000年2月に2回に分けて行った。4人は上腕外側部(肩)に、残りは前腕部内側部皮膚に接種した。接種時に強い痛みならびにその他の症状を訴えたボランティアはいなかった。

### 2 接種

種痘歴を有していないボランティア(4人)接種後1週間目の観察では、径10mm未満の水疱が破れて痂皮で覆われた皮膚病変を示し、周囲の紅暈は殆ど認められなかった(図1, 2)。これらの皮膚病変は3週目では治癒し、1年後に接種部位の癢痕はかすかに残る程度であり、接種部位の局在の同定が困難であった。種痘歴を有していたボランティア(20人)接種後1週間目の観察では、接種部位の皮膚病変は径2mm大から9mm大で、主として丘疹で中央部の接種部位に臍状の陰窩を認めた(図3, 4, 5)。この接種部位周囲に径10-30mmの紅斑が生じており、強い搔痒感を伴っていた。3週目には皮膚病変は消失し、少なくとも5人において径5-8mm大の軽い色素沈着が認められた。しかし、この色素沈着も1年後には殆どみられず、接種部位の癢痕もはっきりとは同定

出来なかった。

### 3 腋下リンパ節所見

種痘歴を有していない4人のボランティアでは、所属リンパ節である接種側の腋下リンパ節の10mm大までの腫大が生じた。腫大したリンパ節は柔らかく、軽度の圧痛がみられた。3週目ではリンパ節の腫大は減弱した。種痘歴を有した残りの20人のボランティアでは所属リンパ節の腫大は観察されていない。また、圧痛も認められていない。

### 4 全身所見

発熱、倦怠感、全身の皮膚病変等の副反応を訴えたボランティアは認められていない。アトピー性皮膚炎の既往歴を有した1例でも特に明らかな皮膚症状の出現はみられなかった。

### 5 血清学的所見との相関

ワクチン接種部位の所属リンパ節の腫大を認めた初回免疫の4人では、中和抗体価は接種前は陰性であったが、接種後は陽転している。一方、種痘歴を有した20人では抗体価の変動は一樣ではなかったが、中和抗体価の変動では、接種部位の紅斑性変化を強く認めた症例では中和抗体価の上昇が顕著である傾向がみられた。

## D 考察

今回対象とした東京地区の健康ボランティアでは25才未満は種痘の既往がなく、少なくともこの地域で1975年以降に出生したヒトは種痘歴が無いことが予想される。逆に種痘を接種した診療歴を有している医師も、海外での診療歴を有していない場合、24+25=49才以上である。今日出版されているワクチンならびに感染症の教科書においても、種痘の方法ならびにその副反応について記述している場合は少なく、また、この安全性が高いLc16m8株ワクチンの皮内接種の副反応については臨床検討は殆どされていない。今回、その安全性を確認できたが、今後、アトピー性皮膚炎の対象等の接種等について検討される点が多い。

## E 総括

健康ボランティアにおいては LC16m8 株ワクチンの皮内接種では強い副反応も生じることが無く、その安全性を確認した。初回免疫においては水疱性病変と所属リンパ節の腫大が生じ、既免疫においては掻痒をともなう紅斑が主症状となる。

## F 研究発表

なし

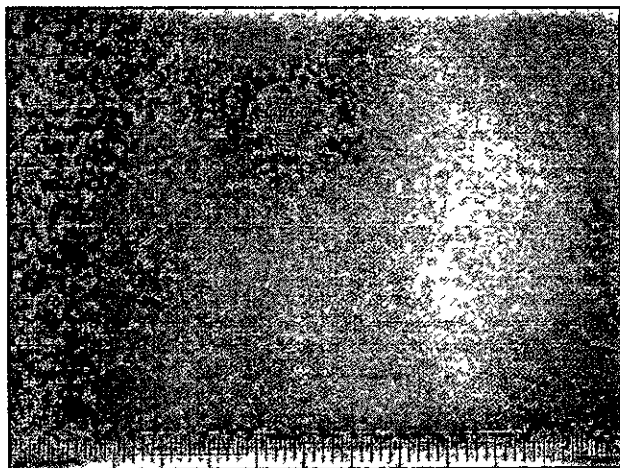


図1 種痘歴がない23才男性、左前腕内側部の接種部位。接種後1週。

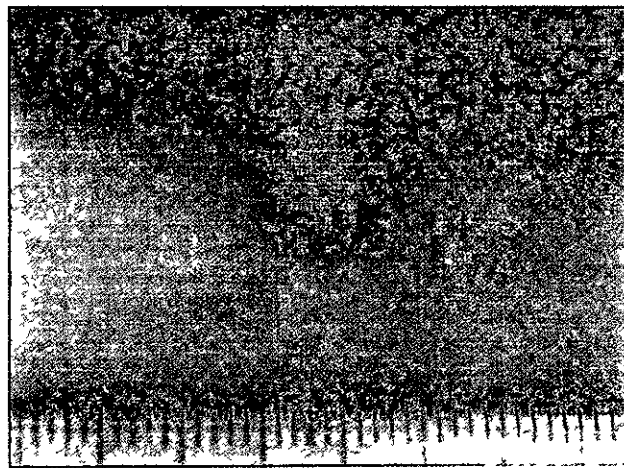


図4 種痘歴を有した30才男性、左前腕内側部の接種部位。接種後1週。

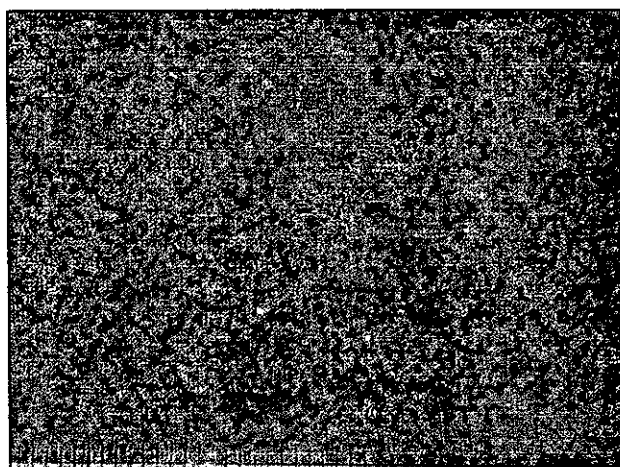


図2 種痘歴がない24才男性、左前腕内側部の接種部位。接種後1週。

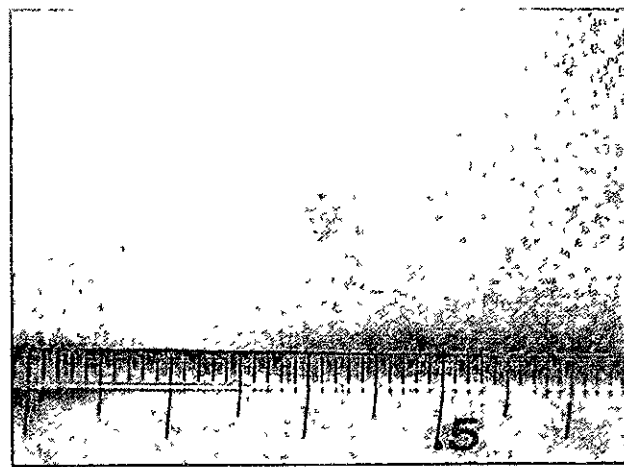


図5 種痘歴を有した32才男性、左前腕内側部の接種部位。接種後1週。

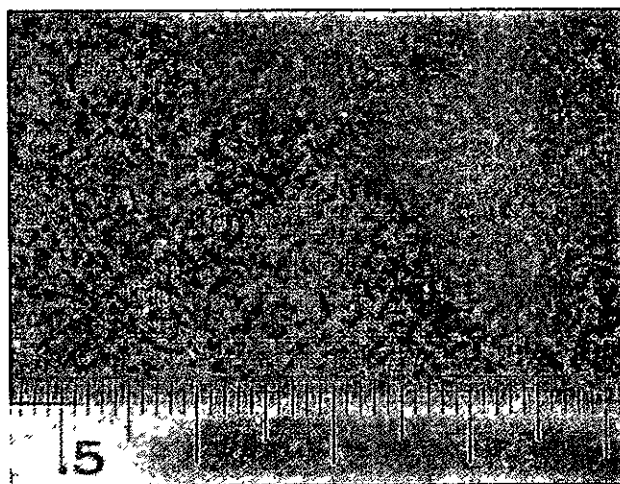


図3 種痘歴を有した29才女性、左前腕内側部の接種部位。接種後1週。

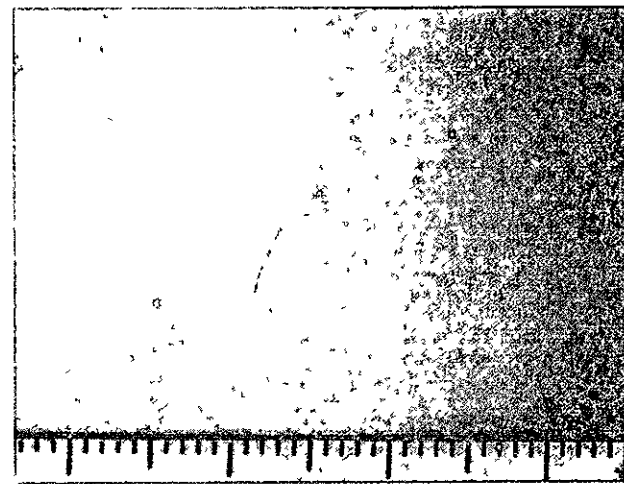


図6 種痘歴を有した45才男性、左前腕内側部の接種部位。接種後1日