

表 9 TD97 株経鼻又は皮下接種サルの血中麻疹抗体価

接種経路	接種用量	サル 個体番号	H I 抗体価 (2 ⁿ)						中和抗体価 (2 ⁿ)					
			0週	1週	2週	3週	4週	5週	0週	1週	2週	3週	4週	5週
経 鼻	高力価	1117	<3	<3	7	9	8	8	<2.0	2.5	10.9	11.7	11.1	11.3
		1124	<3	<3	4	6	6	6	<2.0	<2.0	7.1	7.9	7.8	8.7
	中力価	1140	<3	<3	4	6	6	6	<2.0	<2.0	8.2	8.9	9.6	9.0
		1148	<3	<3	6	7	7	7	<2.0	<2.0	9.3	10.6	11.1	10.8
皮 下	高力価	1128	<3	<3	5	5	5	NT	<2.0	<2.0	7.9	7.1	6.9	NT
		1137	<3	<3	7	7	7	NT	<2.0	<2.0	8.5	9.3	10.6	NT
	中力価	1141	<3	<3	6	6	6	NT	<2.0	<2.0	8.9	8.8	8.6	NT
		1142	<3	<3	6	6	6	NT	<2.0	<2.0	9.3	8.6	8.9	NT

NT ; 試験実施せず

高力価 ; 6. 7 log₁₀PFU/頭

中力価 ; 5. 2 log₁₀PFU/頭

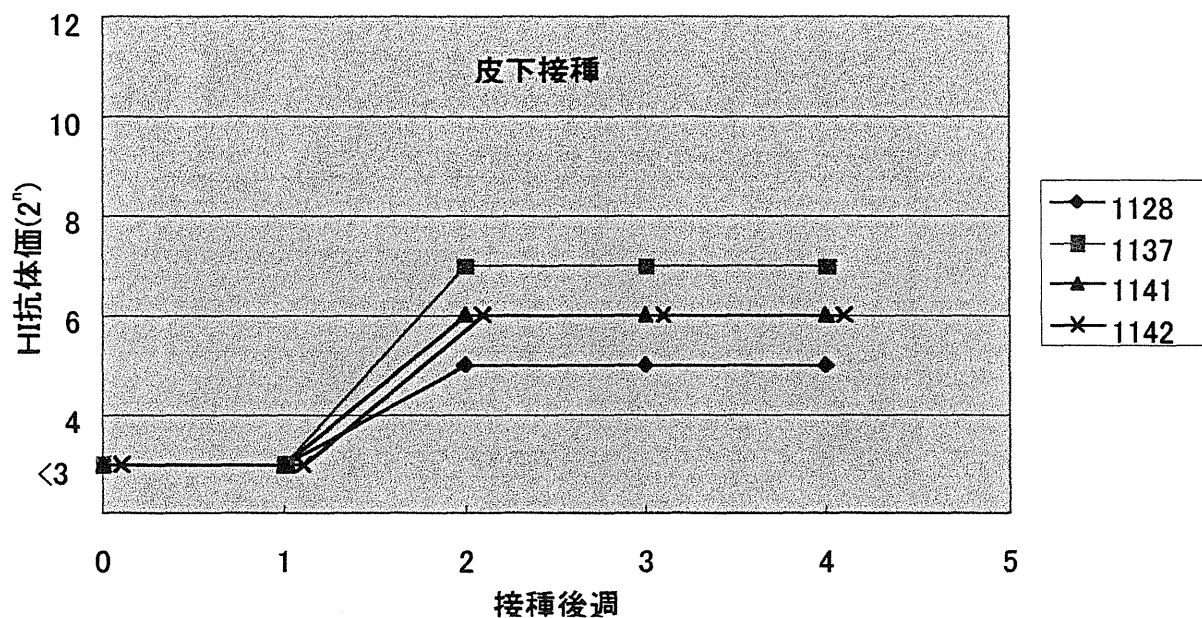
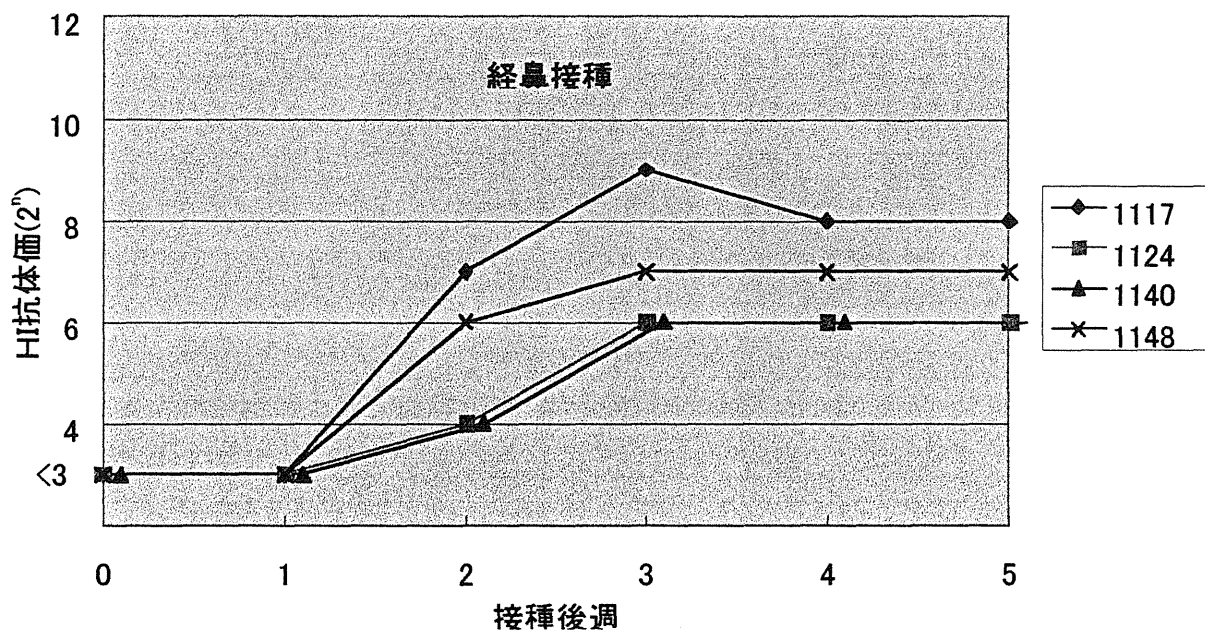


図4 TD97 株経鼻又は皮下接種サルの血中麻疹 HI 抗体価

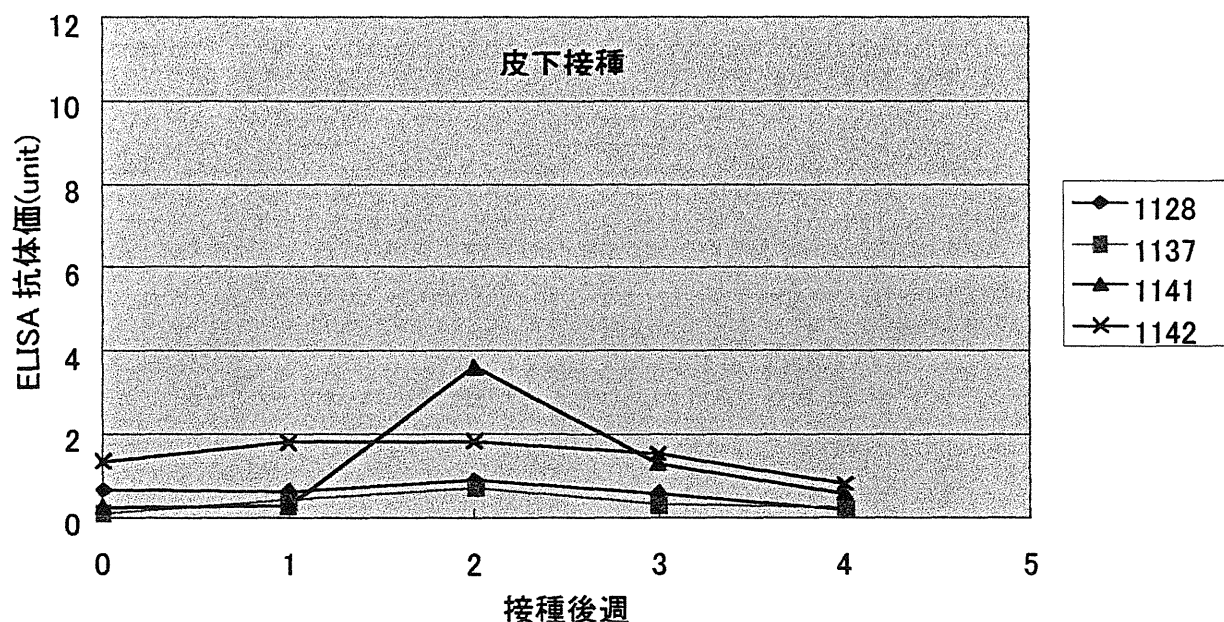
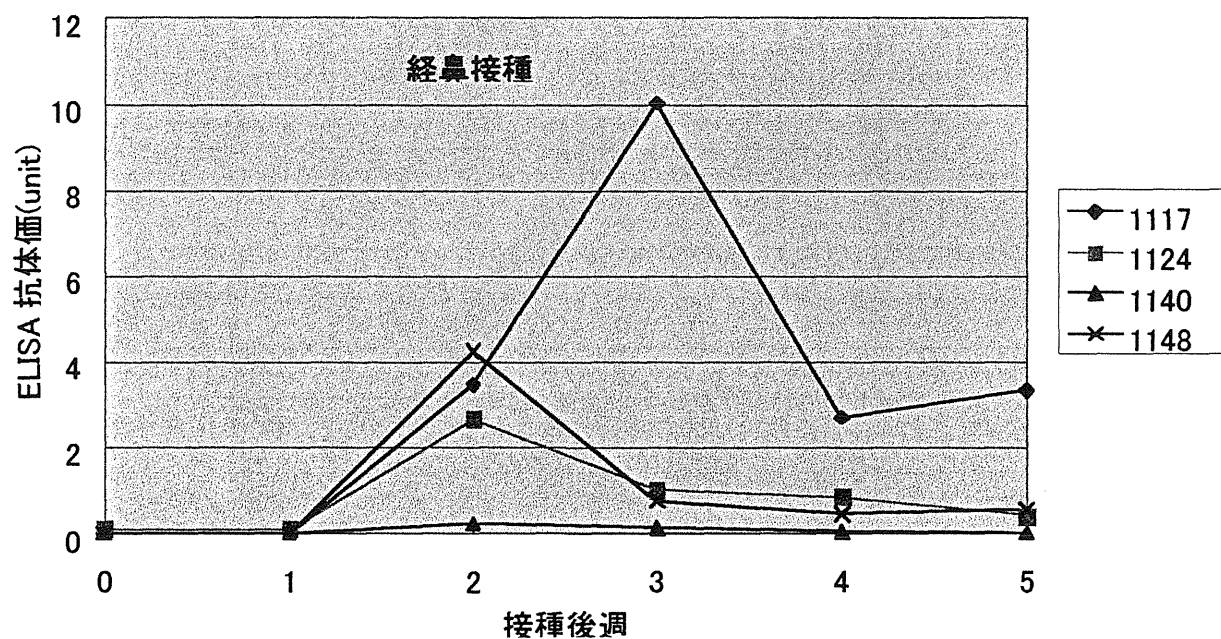


図5 TD97 株経鼻又は皮下接種サルの唾液中麻疹分泌性 IgA 抗体価

表 10 TD97 株経鼻又は皮下接種
サル体液からのウイルス RNA の検出

接種 経路	接種 用量	サル 個体番号	検体	接種前	1 週	2 週	3 週	4 週	5 週
経 鼻	高 力 価	1 1 1 7	咽頭拭い液	—	+	—	—	—	—
			P B L	—	—	—	—	—	—
		1 1 2 4	咽頭拭い液	—	—	—	—	—	—
			P B L	—	—	—	—	—	—
	中 力 価	1 1 4 0	咽頭拭い液	—	—	—	—	—	—
			P B L	—	—	—	ND	—	—
		1 1 4 8	咽頭拭い液	—	—	—	—	—	—
			P B L	ND	ND	—	—	—	—
皮 下	高 力 価	1 1 2 8	咽頭拭い液	—	—	—	—	—	NT
			P B L	—	—	—	—	—	NT
		1 1 3 7	咽頭拭い液	—	—	—	—	—	NT
			P B L	—	+	—	—	—	NT
	中 力 価	1 1 4 1	咽頭拭い液	—	—	—	—	—	NT
			P B L	—	+	—	—	—	NT
		1 1 4 2	咽頭拭い液	—	—	—	—	—	NT
			P B L	—	—	—	—	—	NT

注) 高力価 ; $6.7 \log_{10}$ PFU/頭

中力価 ; $5.2 \log_{10}$ PFU/頭

P B L ; 末梢血リンパ球

— ; 麻疹ウイルス RNA 陰性

+ ; 麻疹ウイルス RNA 陽性

ND ; 検体無し

NT ; 試験実施せず

表 1 1 TD97 株経鼻免疫サルへの HL 株攻撃試験における血中麻疹抗体価

	サル 個体番号	免疫日	免疫後 5 週	攻撃日 ¹⁾	攻撃後 1 週
H I 抗体価 (2 nd)	1 1 1 7	<3	8	7	7
	1 1 2 4	<3	6	4	6
	1 1 4 0	<3	6	5	8
	1 1 4 8	<3	7	6	4
中和 抗体価 (2 nd)	1 1 1 7	<2	11.3	11.9	11.9
	1 1 2 4	<2	8.7	7.2	9.2
	1 1 4 0	<2	9.0	7.3	10.7
	1 1 4 8	<2	10.8	10.0	9.1

1) ; 免疫後約 10 ヶ月

表 1 2 TD97 株経鼻免疫サルへの HL 株攻撃試験における唾液中麻疹分泌性 IgA 抗体価の推移

サル番号	分泌性IgA抗体価 (units/ml)							
	TD 9 7 株免疫後						HL株攻撃後	
	免疫時	1 週後	2 週後	3 週後	4 週後	5 週後	攻撃時 ¹⁾	1 週後
1117	0.00	0.00	3.46	10.02	2.69	3.33	1.15	1.03
1124	0.11	0.11	2.66	1.01	0.85	0.40	0.00	0.00
1140	0.00	0.02	0.23	0.12	0.03	0.00	0.00	0.00
1148	0.00	0.00	4.25	0.75	0.45	0.53	0.00	0.02

1) 免疫後 10 ヶ月目

表 1 3 TD97 株経鼻免疫サルへの HL 株攻撃試験における
組織学的検査成績

	臓器又は部位	病理組織学的検査成績				蛍光抗体法検査成績			
		1117	1124	1140	1148	1117	1124	1140	1148
中枢神経系	前頭葉	-	-	-	-	-	-	-	-
	後頭葉	-	-	-	-	-	-	-	-
	側頭葉	-	-	-	-	-	-	-	-
	視床	-	-	-	-	-	-	-	-
	中脳	-	-	-	ND	-	-	-	-
	小脳	-	-	-	-	-	-	-	-
	脳橋	-	-	-	-	-	-	-	-
	延髄	-	-	-	-	-	-	-	-
	脊髄	-	-	-	-	-	-	-	-
	嗅球根部	-	-	-	-	-	-	-	-
	嗅球	-	-	-	-	-	-	-	-
	嗅神経	-	-	-	-	-	-	-	-
呼吸器系	鼻腔粘膜	-	-	ND	-	-	-	-	-
	気管	-	-	ND	-	-	-	-	-
	肺	-	-	-	-	-	-	-	-
リンパ系組織	扁桃腺	-	-	-	+ ^{GC}	-	-	-	-
	胸腺	-	-	-	-	-	-	-	-
	脾臓	-	-	-	-	-	-	-	-
	顎下リンパ節	-	-	+ ^{GC}	-	-	-	-	-
	腋窩リンパ節	-	-	ND	-	-	-	-	-
	鼠径リンパ節	-	-	ND	-	-	-	-	-
	腸間膜リンパ節	ND	-	-	-	-	-	-	-
内臓	肝臓	-	-	-	-	ND	ND	ND	ND
	腎臓	-	-	-	-	ND	ND	ND	ND
	心臓	-	-	-	-	ND	ND	ND	ND

- ; 病変無し ± ; ごく軽度 + ; 軽度 ++ ; 中程度 +++ ; 重度 ND ; 検体無し

G C ; 胚中心に巨細胞 (giant cell) 出現。

表 1 4 TD 9 7 株経鼻免疫サルへのHL 株攻撃試験における体液からの
感染性ウイルス回収成績

サル個体番号	ウイルス力価 (TCID ₅₀ /ml) ¹⁾	
	末梢血リンパ球 ²⁾	髄液
1 1 1 7	< 1 0 ^{0. 5}	< 1 0 ^{0. 5}
1 1 2 4	< 1 0 ^{0. 5}	< 1 0 ^{0. 5}
1 1 4 0	< 1 0 ^{0. 5}	< 1 0 ^{0. 5}
1 1 4 8	< 1 0 ^{0. 5}	< 1 0 ^{0. 5}

1) B 9 5 a 細胞を使用して測定した

2) ヘパリン血をリンホプレップで約 1 1 倍濃縮したリンパ球分画

表 1 5 TD97 株経鼻免疫サルへの HL 株攻撃試験における体液からの
ウイルス RNA の検出成績

サル個体番号	検 体	攻撃前	攻撃 1 週間後
1 1 1 7	咽頭拭い液	—	—
	末梢血リンパ球	—	—
	髄 液	ND	—
1 1 2 4	咽頭拭い液	—	—
	末梢血リンパ球	—	—
	髄 液	ND	—
1 1 4 0	咽頭拭い液	—	—
	末梢血リンパ球	—	—
	髄 液	ND	—
1 1 4 8	咽頭拭い液	—	—
	末梢血リンパ球	—	—
	髄 液	ND	—

表16 TD97株経鼻免疫サルへのHL株攻撃後1週目における末梢血中白血球数の推移

サル番号	白血球数(/mm ³)		
	攻撃2ヶ月前 ¹⁾	攻撃時	攻撃1週後
1117	920	1700	1030
1124	1060	800 ²⁾	1320
1140	1140	1210	950
1148	1230	1530	1120 ²⁾

1) TD97 株免疫後8ヶ月

2) 部分的に凝血あり

Table 8-1 Histopathological findings in cynomolgus monkeys (End of observation) - [H.E. staining]

Study No. : SBL81-20

Male								
Findings	Group	Control		Measles virus vaccine		Control	Measles virus vaccine	
	Dose (mL/body)	(i.n.)		(i.n.)		(i.t.)	(i.t.)	
	Animal No.	0.5		0.3				
		1	2	4	5	8	11	12
Axillar lymph node (left)								
Swelling, lymph follicle		-	-	-	-	2+	-	-
Brain stem(Included in Fourth ventricle)								
Mononuclear cell infiltration, choroid plexus		±	-	-	±	-	-	-
Mononuclear cell infiltration, leptomeninges		-	-	-	-	±	-	-
Brain stem(Included in Third ventricle)								
		-	-	-	-	-	-	-
Bronchus (left)								
Mononuclear cell infiltration, bronchial gland		±	±	±	±	±	±	±
Cerebellum								
		-	-	-	-	-	-	-
Cerebrum								
Mononuclear cell infiltration, leptomeninges		-	-	-	-	±	-	-
Esophageal mucosa								
		-	-	-	-	-	-	-

Notes) - :No abnormal changes, ± :Very slight, + :Slight, 2+ :Moderate, 3+ :Marked, P :Non-graded change, NE :Unexamined
i.n. :intranasal administration, i.t. :intratracheal administration

Table 8-2 Histopathological findings in cynomolgus monkeys (End of observation) - [H.E. staining]

Study No. : SBL81-20

Male									
Group		Control		Measles virus vaccine		Control		Measles virus vaccine	
		(i.n.)		(i.n.)		(i.t.)		(i.t.)	
Dose (mL/body)				0.5				0.3	
Findings	Animal No.	1	2	4	5	8	11	12	
Hilar lymph node (left)									
Inflammatory cell infiltration,									
sinus		—	±	—	±	—	—	—	
Swelling, lymph follicle		—	—	—	—	2+	—	—	
Inguinal lymph node (left)									
Swelling, lymph follicle		—	—	—	—	2+	—	—	
Lung (left)									
Inflammatory cell infiltration,									
alveolus		—	±	—	—	—	—	—	
Macrophage, alveolus		—	—	—	—	±	—	—	
Mesenteric lymph node									
Swelling, lymph follicle		—	—	—	—	2+	—	—	
Nasal mucosa (left)									
		—	—	—	—	—	—	—	
Olfactory bulb (left)									
		—	—	—	—	—	—	—	
Olfactory nerve									
		—	—	—	—	—	—	—	
Spinal code (Cervical)									
		—	—	—	—	—	—	—	

Notes) - :No abnormal changes, ± :Very slight, + :Slight, 2+ :Moderate, 3+ :Marked, P :Non-graded change, NE :Unexamined

i.n. :intranasal administration, i.t. :intratracheal administration

Study No. : SBL81-20

i.n. :intranasal administration, i.t. :intratracheal administration

Study No. : SBL81-20

i.n. :intranasal administration, i.t. :intratracheal administration

Table 8-5 Histopathological findings in cynomolgus monkeys (End of observation) - [H.E. staining]

Study No. : SBL81-20

Female								
Group		Control	Measles virus vaccine		Control	Measles virus vaccine		
		(i.n.)	(i.n.)		(i.t.)	(i.t.)		
Dose (mL/body)			0.5			0.3		
Findings	Animal No.	3	6	7	9	10	13	14
Axillar lymph node (left)								
Plasma cell infiltration		±	-	-	-	-	±	-
Brain stem(Included in Fourth ventricle)								
Mononuclear cell infiltration, choroid plexus		-	-	±	-	-	-	-
Brain stem(Included in Third ventricle)								
		-	-	-	-	-	-	-
Bronchus (left)								
Mononuclear cell infiltration, bronchial gland		±	-	-	±	±	±	±
Cerebellum								
		-	-	-	-	-	-	-
Cerebrum								
		-	-	-	-	-	-	-
Esophageal mucosa								
		-	-	-	-	-	-	-
Hilar lymph node (left)								
		-	-	-	-	-	-	-
Inguinal lymph node (left)								
Plasma cell infiltration		±	-	-	-	-	-	±

Notes) - :No abnormal changes, ± :Very slight, + :Slight, 2+ :Moderate, 3+ :Marked, P :Non-graded change, NE :Unexamined
i.n. :intranasal administration, i.t. :intratracheal administration

Table 8-6 Histopathological findings in cynomolgus monkeys (End of observation) - [H.E. staining]

Study No. : SBL81-20

Female								
Group		Control	Measles virus vaccine		Control	Measles virus vaccine		
		(i.n.)	(i.n.)		(i.t.)	(i.t.)		
Dose (mL/body)			0.5			0.3		
Findings	Animal No.	3	6	7	9	10	13	14
Lung (left)								
Macrophage, alveolus		-	-	±	-	-	-	-
Mesenteric lymph node								
		-	-	-	-	-	-	-
Nasal mucosa (left)								
		-	-	-	-	-	-	-
Olfactory bulb (left)								
		-	-	-	-	-	-	-
Olfactory nerve								
		-	-	-	-	-	-	-
Spinal code(Cervical)								
		-	-	-	-	-	-	-
Spinal code(Lumbar)								
		-	-	-	-	-	-	-
Spleen								
Hyaline substance, germinal center		-	±	-	±	-	-	-
Stomach(abnormal site)								
Hemorrhage, lamina propria					±			
Inflammatory cell infiltration, lamina propria					±			

Notes) - :No abnormal changes, ± :Very slight, + :Slight, 2+ :Moderate, 3+ :Marked, P :Non-graded change, NE :Unexamined
i.n. :intranasal administration, i.t. :intratracheal administration

Table 8-7 Histopathological findings in cynomolgus monkeys (End of observation) - [H.E. staining]

Study No. : SBL81-20

Female								
Group		Control	Measles virus vaccine		Control	Measles virus vaccine		
		(i.n.)	(i.n.)		(i.t.)	(i.t.)		
Dose (mL/body)			0.5			0.3		
Findings	Animal No.	3	6	7	9	10	13	14
Submandibular lymph node (left)								
Brown pigment deposition		±	-	-	-	-	-	-
Erythropoiesis		±	-	-	-	±	-	-
Inflammatory cell infiltration		±	-	-	-	±	-	-
Plasma cell infiltration		-	-	-	±	-	-	-
Thymus								
Cyst		-	-	-	±	-	-	-
Involution		-	-	-	+	-	+	+
Tonsil (left)								
Inflammatory cell infiltration, cavity		±	±	±	±	±	±	±
Trachea								
Dilatation, duct of tracheal gland		+	-	-	±	-	-	-
Inflammatory cell infiltration, lamina propria		-	-	-	±	-	-	-
Mononuclear cell infiltration, lamina propria		-	-	±	±	±	-	±
Mononuclear cell infiltration, tracheal gland		-	-	-	±	-	-	±

Notes) - :No abnormal changes, ± :Very slight, + :Slight, 2+ :Moderate, 3+ :Marked, P :Non-graded change, NE :Unexamined

i.n. :intranasal administration, i.t. :intratracheal administration

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

分担研究報告書 I

経鼻麻疹ワクチン開発に関する研究

分担研究者 鈴木一義¹⁾、齋加志津子¹⁾、木所 稔¹⁾、大川時忠¹⁾、小船富美夫²⁾、佐多徹太郎²⁾

1) 千葉県血清研究所、2) 国立感染症研究所

研究要旨

麻疹ウイルスの中樞神経系（CNS）への侵入性と残留性を検討するために、強毒ウイルス HL 株 $10^{5.45}$ TCID₅₀/頭とワクチンウイルス TD97 株 $10^{6.7}$ PFU/頭をそれぞれ2頭ずつのカニクイサルに経鼻接種し、経時的に体液を採取して前者は6週目に後者は4週目に解剖した。HL 株接種サルでは、RT-PCR 法によるウイルス RNA(MV-RNA)の検出において、血液からは1頭は1週から5週まで、他の1頭は6週まで検出され、髄液からは1頭の4週目から検出された。脳組織では2頭の嗅球と1頭の脊髄から検出された。髄液の細胞増多症は、髄液から MV-RNA が検出されたサルでは4週から起こり、5週と6週に強く惹起され、他の1頭では5週から起こり6週に強く惹起された。また病理学的検索では6週目の脳組織全般及び脊髄に軽度のウイルス性病変が見られ、これらの成績から接種後3～4週頃の比較的遅い時期におけるウイルスの CNS 侵入が示唆された。この試験で、6週目の嗅球から MV-RNA が検出されたが、多くの傍証から嗅神経経由のウイルス感染はなかったと推定されるが、強毒ウイルスの CNS 侵入時期と侵入機構の解明は必要と考えられた。一方この試験で、TD97 株接種サルでは2頭中1頭の1週目咽頭拭い液から MV-RNA が検出された他は、血液、髄液及び組織から全く検出されず、CNS に病変は見られず、CNS へのウイルス侵入は無かったものと判断され、TD97 株経鼻接種法の CNS への安全性が再確認された。

TD97 株の $10^{6.7}$ PFU/頭と $10^{5.2}$ PFU/頭のウイルスを、経鼻接種法で2頭ずつの計4頭に、皮下接種法でも同様に4頭に接種し、経時的に抗体産生能の比較を行った。血中抗体は両者とも良好な産生を示して差は見られなかった。唾液中の分泌性(SC)-IgA 抗体は経鼻接種法の方が高く産生される傾向が認められた。この経鼻接種サル4頭に接種後10ヶ月目に HL 株を経鼻的に攻撃接種し、1週目に解剖して感染防御能を調べた。攻撃後1週において、血液及び髄液からの感染性ウイルス、及び血液、髄液、咽頭拭い液からの MV-RNA は全く検出されなかった。病理学的には4頭中2頭のリンパ組織の一部に弱い麻疹特異病変が認められたが、その他に病変はなく、HL 株の増殖性及び病原性はほぼ完全に抑制さ

れた。

これらの試験において、TD97 株皮下接種サルでは感染初期に MV-RNA が血中から検出されるのに対して、経鼻接種サルでは咽頭拭い液から検出されており、経鼻接種法は皮下接種法に比べて初期増殖が血中抗体の影響を受けにくいことが考えられ、移行抗体を有する乳児に対して有効性が高い可能性が示唆された。

研究協力者 青木敦子¹⁾、岡田晴恵²⁾、
網 康至²⁾、須崎百合子²⁾、片山未来²⁾

1) 千葉県血清研究所、2) 国立感染症研究所

A. 研究目的

はしかはその感染力と重症度において乳幼児では最も重要な感染症であり、途上国においては WHO 等の努力によるワクチンの普及によって状況は改善されつつあるが、依然として乳幼児の感染症による死亡原因の第一位となっている。本ワクチンは従来皮下に接種されていた麻疹生ワクチンをそのまま経鼻接種しようとするもので、医師及び器材の不足している途上国における接種法の簡便化と、より広範な免疫賦与という有用性が期待される。

本ワクチンは現行の麻疹ワクチン TD97 株を専用の経鼻噴霧器を用いて定量的に鼻腔内へ投与するものであり、その有効性と安全性を麻疹ウイルスに対して唯一の感受性動物と考えられるサルを用いて検証してきた。昨年までの報告で、有効性に関しては、ワクチンの経鼻接種による抗体の持続性と強毒株の攻撃に対する防御能が証明され、また唾液中の局所 IgA 抗体の産生も証明された。安全性に関しては、経鼻接種法に伴う危険性として考慮されるべき鼻腔粘膜から嗅神経を経る中枢神経 (CNS) 侵襲

性と呼吸器系への病原性及び接触感染性に関して高度の安全性を示す成績が得られ、またワクチン株ウイルスの CNS への残留性を否定する成績も得られた。

今年度は安全性に関して、CNS 残留の前段階として起こる可能性がある CNS への侵入性を経時的に検討し、有効性に関しては、ワクチン株の経鼻接種法と皮下接種法の抗体産生能を比較し、更に経鼻接種サルに対して再度感染防御能の検討を行った。

B. 研究方法

ウイルス：前年度報告書と同様に現行麻疹ワクチンウイルス TD97 株と野外強毒ウイルス HL 株を用いた。

カニクイサル：前年度報告書と同様に、日本において9週間の検疫を終了した健康な東南アジア産サル及び国立感染症研究所筑波霊長類センター (TPC) 繁殖サルを用いた。すべてのサルは試験前に麻疹抗体が陰性であることを確認した。

経鼻接種法：前年度報告書と同様に専用の定量経鼻噴霧器を用いて鼻腔内接種した。

ウイルス力価測定法：前年度と同様の方法を用いた。

血中麻疹抗体価測定法：HI 抗体価と中和 (NT₅₀) 抗体価を前年と同様の方法で測

定した。

唾液中麻疹分泌性 IgA 抗体価測定法：前年度と同様に OraSure により採取した唾液中の麻疹特異的分泌性(SC-)IgA 抗体価を測定した。

麻疹ウイルス RNA の検出：前年度と同様の方法で RT-PCR 法によって組織、末梢血、髄液及び咽頭拭い液中の麻疹ウイルス RNA (MV-RNA) の検出を行った。

体液からのウイルス回収：末梢血はリンフオプレップ (NYCOMED Pharma A/S,Oslo) を用いてリンパ球画分を分離し、髄液は無処理でそれぞれウイルス力価を測定した。

末梢血及び髄液中の白血球数の測定：末梢血はチルク液 19 に対して 1 の割合で混合し、髄液はサムソン液 1 に対して 9 の割合で混合し、Thoma 計算盤により白血球数を計測した。

組織の病理及び免疫化学的検査：病理検査は前年度と同様の方法で行った。免疫化学検査は免疫サルへの強毒株攻撃試験で、前年度の ABC 法に代わって凍結した生の組織を用いる蛍光抗体法を用いた。これは常法通り採取した組織を n-Hexan 中で急速凍結し、クリオスタットで作成した薄切標本をアセトンで固定し、抗麻疹ウサギ血清 2000 倍希釈液と反応させ、洗浄後 FITC ラベル抗ウサギ IgG 山羊血清 20 倍希釈液と反応させ特異蛍光を観察した。

C. 研究結果

1. 経鼻接種麻疹ウイルスの中枢神経侵入

性試験

T P C 繁殖の体重 2.2~3.9kg の健康な雄のカニクイサル 4 頭を用い、うち 2 頭に $10^{5.75}$ TCID₅₀/ml の HL 株を両鼻腔に 0.25ml ずつ ($10^{5.45}$ TCID₅₀/頭) 接種し、他の 2 頭に $10^{7.0}$ PFU /ml の TD97 株を同様に ($10^{6.7}$ PFU/頭) 接種した。接種日及び接種後 1 週間毎に検体を採取し、HL 株接種サルは 6 週目に、TD97 株接種サルは 4 週目に解剖し検体を採取した。

1.1 抗体反応

1.1.1 血中抗体の推移

血中麻疹 H I 抗体価及び中和抗体価の推移は表 1 のとおりであった。HL 株を接種した 2 頭のサルは HI 抗体は接種後 2 週目より、中和抗体は 1 週または 2 週目より陽転しその抗体価は高値であった。TD97 株接種の 2 頭も両抗体とも 2 週目より陽転した。

1.1.2 唾液中及び鼻汁中の SC-IgA 抗体

唾液中の麻疹 SC-IgA 抗体価の推移は図 1 及び表 2 の通りであった。HL 株接種の 2 頭のサルでは 2 週或いは 3 週目より抗体上昇が見られた。TD97 株接種サルでは 2 頭とも 2 週目より有意の抗体上昇が見られ、うち 1 頭では 3 週目にピークが見られたが全体に低値であった。

鼻汁中の SC-IgA 抗体価は図 2 及び表 3 の通りであった。HL 株接種の 2 頭及び TD97 株接種の 1 頭に有意の抗体産生が見られた。抗体価は唾液中の値より低目であるが、これは鼻腔拭い液を 1ml PBS に懸濁させたものであり、鼻汁の採取料は唾液より微量であるから、両者の抗体価はその

まま比較できない。

1.2 病理組織学的検査成績

HL 株と TD97 株をそれぞれ接種した各 2 頭のサル の病理組織学的検査成績は表 4 の通りであった。HL 株接種サルは接種後 6 週において脳全般に軽度の髄膜炎病変と脊髄に血管周囲性細胞浸潤が見られたが、リンパ系組織の病変は消退したためか微少であった。TD97 株接種サルでは CNS に病変は認められなかった。

1.3 末梢血からの感染性ウイルスの回収及び体液及び組織からの MV-RNA の検出

1.3.1 末梢血からの感染性ウイルスの回収

末梢血からの感染性ウイルスの回収成績は表 5 の通りであった。HL 株接種サル 2 頭は 1 週目検体から低力価のウイルスが回収されたが、2 週目以後は回収されなかった。TD97 株接種サルからは全く回収されなかった。

1.3.2 末梢血リンパ球、咽頭拭い液、髄液及び組織からのウイルス RNA の検出

サルの体液からの RT-PCR 法による MV-RNA の検出成績は表 6 の通りであった。HL 株接種した 2 頭のサルでは、末梢血からは 1 頭は 1 週目から 5 週目まで、他の 1 頭は最終の 6 週目まで検出された。咽頭スワブからは 2 頭とも 1 週目と 2 週目で検出され、うち 1 頭は 5 週目からも検出された。髄液からは 2 頭中 1 頭で 4 週目のみで検出された。一方、TD97 株を接種した 2 頭においては、うち 1 頭の 1 週目咽頭スワブのみから検出されたが、末梢血及び髄液からは検出されなかった。

サルの組織からの MV-RNA の検出成績は表 7 の通りであった。HL 株接種サルにおいて CNS からは嗅球と脊髄の一部で MV-RNA が検出され、リンパ組織からも検出された。TD97 株接種サルの組織からは検出されなかった。

1.4 髄液中の白血球数の変動

ウイルス接種後の髄液中の白血球数の推移は図 3 及び表 8 の通りであった。HL 株を接種した 2 頭のうち、髄液から MV-RNA が 4 週に検出された #4197 サルでは 4 週に細胞増多が始まり 5 週、6 週と強い増多症が起こった。他の 1 頭も 5 週に細胞増多が始まり 6 週に強い増多症が見られた。TD97 株を接種した 2 頭では 4 週まで細胞増多は認められなかった。

2. TD97 株の経鼻接種法と皮下接種法の有効性比較試験

1.7~3.0kg で 9 週検定を終了した健康なカニクイサル 8 頭を 2 群に分け、1 群の 4 頭に 10^7 PFU/ml または $10^{5.5}$ PFU/ml の TD97 株ウイルスを、それぞれ 2 頭づつに両鼻腔に 0.25ml づつ経鼻接種した。他群の 4 頭には同じ 2 種の力価のウイルスを、それぞれ 2 頭づつに 0.5ml づつ皮下接種した。両群の 2 頭づつの接種量はそれぞれ $10^{6.7}$ PFU/0.5ml/頭と $10^{5.2}$ PFU/0.5ml/頭となった。経鼻接種サルは接種後 5 週まで、皮下接種サルは 4 週まで、1 週ごとに血液、唾液及び咽頭拭い液を採取した。

2.1 抗体反応の比較

2.1.1 血中抗体価の推移

TD97 株ウイルスを経鼻または皮下接種したサルの血中麻疹抗体価の推移は表 9 及

び図4の通りであった。HI 抗体価は経鼻接種サルでは接種後3週まで上昇が見られ、皮下接種サルでは2週で上昇が止まるという違いは見られたが、共に良好な抗体産生を示し両者に明瞭な差は見られなかった。

2.1.2 唾液中の分泌性 IgA 抗体価の推移

OraSure で採取した唾液中の麻疹特異的分泌性(SC)-IgA 抗体価の産生状況は図5の通りであった。経鼻接種サルは4頭中3頭に明瞭な抗体産生が見られ、一方、皮下接種サルでは4頭中2頭に抗体上昇が認められたが、前者の方がより高く産生される傾向が認められた。

2.2 末梢血リンパ球及び咽頭拭い液からのウイルス RNA 検出に関する比較

末梢血リンパ球及び咽頭拭い液からのRT-PCR 法による経時的 MV-RNA の検出成績は表10の通りであった。経鼻接種サルでは4頭中1頭の1週目の咽頭拭い液のみから MV-RNA が検出され、一方皮下接種サルでは4頭中2頭の末梢血リンパ球1週目検体のみから検出され、顕著な対比を示した。

3. 麻疹ワクチン経鼻接種サルへの強毒株攻撃試験

ワクチンウイルス TD97 株の経鼻接種法と皮下接種法の比較試験で用いた前者のサル4頭に対して、接種後約10ヶ月目に強毒ウイルス HL 株を経鼻法で攻撃接種した。接種量は $10^{5.2}$ TCID₅₀/ml のウイルス液を両鼻腔に0.25ml ずつ各2回、計 $10^{5.2}$ TCID₅₀/ml/頭であり、1週目に解剖してその防御効果を調べた。なお、非免疫の対照サルは、これまでの成績を利用できる

と考え、今回は置かなかった。

3.1 抗体価の推移

3.1.1 血中抗体価

経鼻免疫サルへの HL 株攻撃による血中 HI 及び中和(NT_{50})抗体価の推移は表11の通りであった。HL 株攻撃後1週目で、攻撃前 HI 抗体価が 2^4 或いは 2^5 のサルでは

追加免疫効果による抗体上昇が見られたが、攻撃前 HI 価が 2^6 以上の2頭では追加免疫効果は見られず、うち1頭では逆に抗体低下が見られた。

3.1.2 唾液中の分泌性 IgA 抗体価

OraSure で採取した唾液中の麻疹特異的分泌性(SC)-IgA 抗体価の推移は表12の通りであった。TD97 株免疫時の抗体価推移も併記した。免疫後10ヶ月において、SC-IgA 抗体価は4頭中3頭は検出限界以下に低下しており、これら4頭への HL 株攻撃によって、唾液中 SC-IgA 抗体価については追加免疫効果が4頭とも認められなかった。

3.2 組織学的検査成績

HL 株攻撃後1週目のサルの組織学的検査成績は表13の通りであった。病理学的検査成績は表の左欄の通りで、4頭中2頭の一部リンパ系組織に麻疹特異的巨細胞が認められたが、いずれも胚中心中の微少な巨細胞で、各リンパ球の細胞膜が認められる程度の弱い融合像であった。その他に病変は認められなかった。蛍光抗体法による検査成績は表の右欄の通りで、いずれの組織からもウイルス抗原は検出されなかった。免疫化学検査(ABC)法の組織切片は病理検