

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Ⅱ

カニクイザルを用いた経鼻投与乾燥弱毒生麻疹ワクチンの単回投与毒性試験

分担研究者 齋加志津子 千葉県血清研究所

研究要旨

本試験は、乾燥弱毒生麻疹ワクチンを従来の皮下接種から経鼻接種に変更するにあたり、その安全性をみるため、乾燥弱毒生麻疹ワクチン 0.5 mL/body を雌雄各 2 匹のカニクイザルに単回経鼻投与し、毒性の発現の有無を調べた。また、経鼻投与の苛酷条件として、乾燥弱毒生麻疹ワクチン 0.3 mL/body を雌雄各 2 例に気管内投与した。いずれの投与経路についても対照として雌雄各 2 ないし 1 例にエアーのみを投与した。

いずれの群及びいずれの投与経路においても一般状態観察、摂餌量、体重推移、血液学的検査、血液生化学的検査、X 線検査、剖検、病理組織学的検査及び免疫組織学的検査で被験物質投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下では、乾燥弱毒生麻疹ワクチン 0.5 mL/body 経鼻投与及び 0.3 mL/body 気管内投与は、毒性を惹起しなかったと判断した。

まお、本試験は、「単回及び反復投与毒性試験ガイドラインの改正について」（平成 5 年 8 月 10 日薬新薬第 88 号厚生省薬務局新医薬品課長及び審査課長通知）を遵守して、株式会社新日本科学安全性研究所において実施された。

研究目的

本試験は、乾燥弱毒生麻疹ワクチンを従来の皮下接種から経鼻接種に変更するにあたり、その安全性をみるため、乾燥弱毒生麻疹ワクチンの 0.5 mL/body（経鼻投与）及び 0.3 mL/body（気管内投与）ならびにそれぞれの投与経路の対照（エアーのみ）を各群雌雄各 2 ないし 1 匹のカニクイザルに単回投与し、毒性の発現の有無をみるために実施した。

材料及び方法

1. 被験物質及びその調製法

被験物質は、千葉県血清研究所乾燥弱毒生麻疹ワクチン（ロット番号 C4-6）を使用した。乾燥弱毒生麻疹ワクチンは、凍結乾燥品とその溶剤としての注射用水で本ロットにおける力価は $10^{5.0}$ PFU/mL である。本被験物質は既に市販されており、今回のロットの使用期限は 2000 年 7 月 18 日であった。

被験物質は株式会社新日本科学内の温度 4℃（実測値：3.4～5.9℃）に設定した試験物質保管所内冷蔵庫に保存した。

被験物質 1 バイアルを注射用水（日本薬

局方、ロット番号 163) 0.7 mL で溶解後、使用した。残余被験物質は、高圧滅菌処理後廃棄した。

2. 試験動物及び飼育条件

試験動物は、4 及び 5 才のカニクイザル (Purpose-bred, 麻疹フリー, 株式会社新日本科学生産) 雌雄各 10 匹を検疫済みのカニクイザルの中から選抜し体重を測定した (馴化開始日の体重: 雄 2.59 ~ 4.10 kg, 雌 2.45 ~ 3.80 kg)。これらの動物について投与前に約 3 週間の馴化期間を設け、この間に一般状態観察及び摂餌量測定を毎日 1 回, 体重測定を馴化期間中に 1 回及び馴化終了日に 1 回, 血液学的検査, 血液生化学的検査及び X 線検査を各 1 回実施した。また, 馴化期間中に 1 回, 試験動物の麻疹ステータスを調べるために大腿静脈から採血し, 室温で 40 ~ 60 分間静置後, 遠心分離 (3000 r.p.m., 15 分間) して得られた血清について麻疹 HI 抗体検査を行った。その結果, 異常がみられなかった雌雄各 7 匹 (群分け時の体重: 雄 2.56 ~ 3.65 kg, 雌 2.37 ~ 2.75 kg) を使用した。

試験動物は霊長類検疫棟のステンレス製個別ケージ (ケージサイズは NIH 基準に適合) に収容した。飼育条件は, 温度 26 ± 2 °C (実測値: 19.5 ~ 28.9 °C), 湿度 50 ± 10 % (実測値: 29 ~ 75%), 換気回数 15 回/時間, 人工照明 1 日 12 時間 (点灯時間: 午前 6 時 ~ 午後 6 時) に設定した。温度及び湿度は, SOP の許容範囲内であった。試験室内及びケージの汚物受けは, 毎日水洗した。飼料は, 固型飼料 [Teklad Certified 25 % Monkey Diet (W), ロット番号 8726C-090399BA 及び 8726C-

101599BA, Harlan Sprague Dawley Inc.] 約 108 g (約 12 g × 9 個) を午後 3 時前後に与え, 午後 5 時前後に残った餌を回収した。飲水は水道法水質基準に適合した水をポリ給水ボトル (500 mL) を用いて自由に摂取させた。なお, 飼料についてはその主成分及び微量コンタミナントが Harlan Sprague Dawley Inc. の規格値の範囲内であることを確認した。飲水についても試験の信頼性に影響を及ぼすコンタミナントのないことを確認した。

3. 投与量の設定及び投与方法

経鼻投与においては現行の皮下接種麻疹ウイルスと同量とするため 0.5 mL/body を設定した。気管内投与においては設定している経鼻投与の投与量 (0.5 mL) の半量以上である 0.3 mL が気管内に流入するという苛酷条件とするために 0.3 mL/body を設定した。

投与経路は, 臨床適用経路及びその苛酷条件となる経路として経鼻及び気管内投与とした。投与回数は臨床適用回数に準じて, 単回投与とした。経鼻投与は午前 10 時 30 分から 10 時 46 分の間に専用の鼻腔内噴霧器 (キートロン社製) を鼻腔内に挿入し, 片側 0.25 mL で両鼻腔に噴霧接種した。気管内投与は午前 10 時 59 分から 11 時 48 分の間に塩酸ケタミン (約 15 mg/kg, Sigma Chemical Co., i.m.) 及び硫酸アトロピン (0.05 mg/kg, Sigma Chemical Co., i.m.) 麻酔下で, キシロカインスプレー (リドカイン 80 mg/kg, 藤沢薬品工業株式会社) を喉頭部に 1 ~ 2 回吹き付けた後, 喉頭鏡を用いて口腔からカテーテルチューブを挿入し, 注射筒で被験物質の一定量 (0.3

mL) を気管内に注入接種した。

4. 群構成及び個体識別

群構成は、経鼻投与群 2 群 (対照群 1 群, 被験物質群 1 群), 気管内投与群 2 群 (対照群 1 群, 被験物質群 1 群) の計 4 群とした。1999 年 12 月 20 日 (馴化期間中) に各群の平均体重がほぼ均一になるように各群に雌雄各 2 ないし 1 匹を配した。

各動物は胸に個体番号を入れ墨器 (Spaulding Special Electric Tattoo Marker, Spaulding & Rogers Mfg., Inc.) を用いて入れ墨し、ケージはカラーケージカード (試験番号, 群, 投与容量, 性別, 動物番号記載) を表示して識別した。群構成は以下の通りである。

群	試験物質	投与容量**	投与経路	動物数 (動物番号)
			雄	雌
1	対照*	0	経鼻	2(1,2) 1(3)
2	麻疹ワクチン	0.5	経鼻	2(4,5) 2(6,7)
3	対照*	0	気管内	1(8) 2(9,10)
4	麻疹ワクチン	0.3	気管内	2(11,12) 2(13,14)

* エアーのみを投与した。

** mL/body

5. 観察及び検査項目

投与日を 0 日と起算した。

1) 一般状態

馴化期間中は毎日 1 回, 投与日は投与前 1 回, 投与直後より 6 時間は毎時, 以後 1 日目より 13 日目までは毎日 2 回 (午前及び午後), 及び剖検日に 1 回, 全例について動物の生死と併せて観察した。また, 1 日 1 回, 鼻腔鏡を用いて鼻腔内の肉眼観察を

同時に行った。

2) 摂餌量

馴化開始日より毎日, 全例について給餌個数と残余個数を記録し, その差を 1 日あたりの摂餌量 (g) として算出した。

3) 体重

馴化期間中に 2 回及び投与日 (投与前), 投与後 6, 13 日目及び剖検日に全例について電子天秤 (EP-41KA, 株式会社エー・アンド・デイ) を用いて測定した。

4) 血液学的検査

全例について馴化期間中 1 回, 投与 6 及び 13 日目に大腿静脈から採血し, 血液凝固関連の測定項目には 3.8 %クエン酸ナトリウム溶液で抗凝固処理後, 遠心分離 (3000 r.p.m., 15 分間) して得た血漿を用いて, その他の項目には EDTA-2K で抗凝固処理した全血を用いて血液学的検査を行った。

多項目自動血球計数装置 (E-4000 型, シスメックス株式会社) を用いて以下の項目を測定あるいは算出した。

- ・赤血球数 (RBC), 白血球数 (WBC), 血小板数 (いずれも電気抵抗検出方式)
- ・ヘマトクリット値 (Ht, パルス検出方式)
- ・ヘモグロビン濃度 (Hb, ラウリル硫酸ナトリウムヘモグロビン法)
- ・MCV, MCH, MCHC (いずれも計算式により算出)

以下の項目を血液細胞自動分析装置 (MICROX HEG-120A, 株式会社オムロン) で測定あるいは算出した。

- ・網状赤血球数 (Brecher 法)
- ・白血球分類 (Wright 染色法)

好酸球, 好塩基球, 桿状核好中球,
分葉核好中球, 単球, リンパ球

さらに, プロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間 (いずれも光散乱法) は全自動血液凝固測定装置 (CA-5000 型, シスメックス株式会社) を用いて測定した。

5) 血液生化学的検査

全例について馴化期間中 1 回, 投与 6 及び 13 日目に血液学的検査と同様の条件下で大腿静脈から採血し, 室温で 40 ~ 60 分間静置後, 遠心分離 (3000 r.p.m., 15 分間) して得た血清について, 以下の検査を行った。

自動分析装置 (Clinalyzer RX-10 型, 日本電子株式会社) を用いて次の項目を測定した。

- ・ASAT, ALAT (いずれも JSCC 準拠処方)
- ・ALP (p - ニトロフェニルリン酸基質法)
- ・LDH, CPK (UV Rate 法)
- ・ γ - GTP (包接 L - γ - グルタミル - P - ニトロアニリド基質法)
- ・CPK (UV Rate 法)
- ・総ビリルビン (アルカリアゾビリルビン法)
- ・総蛋白 (ビウレット法)
- ・アルブミン (BCG 法)
- ・総コレステロール (COD-DAOS 法)
- ・トリグリセリド (GPO-DAOS 法)
- ・ブドウ糖 (G1cK・G-6-PDH 法)
- ・尿素窒素 (ウレアーゼ - GIDH 法)

- ・クレアチニン (Jaffé 法)
- ・無機リン (モリブデン酸直接法)
- ・Ca (OCPC 法)
- ・Na, K (いずれも電極法)
- ・Cl (電量滴定法)

6) X 線検査

全例について馴化期間中 1 回ケタミン麻酔下 (約 10 mg/kg, i.m., Sigma Chemical Co.) で, 3 及び 4 群全例について剖検日 (剖検前) にペントバルビタールナトリウム水溶液麻酔下で, ポータブル X 線装置 (DOP-82S-120-D 型, 株式会社日立メディコ) を用いて, 胸部の X 線撮影を行い, 臨床的に病変の判断を行った。

7) 剖検

投与後 14 日目に, 全例についてペントバルビタールナトリウム (東京化成工業株式会社) 水溶液 (64.8 mg/mL, 0.4 mL/kg) の前腕橈側皮静脈内投与による麻酔下で体重を測定後放血致死させ, 器官及び組織を観察した。

8) 病理組織学的検査

全例の心臓, 大動脈 (胸部), 脾臓, 胸腺, 大腿骨 (左右) 及び胸骨 (骨髓及び骨), 顎下リンパ節 (左右), 腋窩リンパ節 (左右), 鼠径リンパ節 (左右), 腸間膜リンパ節, 扁桃 (左右), 肺 (左右), 肺門リンパ節 (左右), 気管支 (左右), 気管, 舌, 食道粘膜, 胃 (胃体部, 幽門部), 小腸 (十二指腸, 空腸, 回腸), 大腸 (盲腸, 結腸, 直腸), 膵臓, 肝臓, 胆嚢, 腎臓 (左右), 膀胱, 精巣上体 (左右), 精嚢, 前立腺, 卵巣 (左右), 子宮, 膣, 下垂体, 甲状腺

(左右), 上皮小体 (左右), 副腎 (左右), 大脳, 小脳, 脳幹, 脊髄 (胸部), 坐骨神経 (左右), 乳腺 (雌のみ; 相当部位, 左右), 皮膚 (臀部, 左右), 骨格筋 (大腿四頭筋, 左右), 顎下腺 (左右), 嗅神経及び鼻腔粘膜は 10 % 中性緩衝ホルマリンに, 全例の眼球 (視神経を含む, 左右) 及び涙腺 (左右) はホルムアルデヒド・グルタルアルデヒド混合液に, 雄全例の精巣 (左右) はブアン液にそれぞれ固定した. 脾臓, 胸腺, 顎下リンパ節 (左), 腋窩リンパ節 (左), 鼠径リンパ節 (左), 腸間膜リンパ節, 扁桃 (左), 肺 (左), 肺門リンパ節 (左), 気管支, 気管, 食道粘膜, 大脳, 小脳, 脳幹 (第 3 及び第 4 脳室を含む), 嗅球 (左), 脊髄 (頸部膨大部及び腰部膨大部), 嗅神経, 鼻腔粘膜及び異常部位 [No. 8 の甲状腺 (右) 及び No. 9 の胃] については常法に従い薄切標本を作製し, ヘマトキシリン・エオジン (H.E.) 染色して鏡検及び写真撮影した. 上記の器官・組織の全部, あるいは大きな器官の一部について真空パック後保管した.

9) 免疫組織学的検査 (蛍光抗体法)

全例の脾臓, 胸腺, 顎下リンパ節 (右), 腋窩リンパ節 (右), 鼠径リンパ節 (右), 腸間膜リンパ節, 扁桃 (右), 肺 (右), 肺門リンパ節 (右), 気管支 (右), 気管, 食道粘膜, 大脳, 小脳, 脳幹 (第 3 及び第 4 脳室を含む), 嗅球 (右), 脊髄 (頸部膨大部及び腰部膨大部), 鼻腔粘膜及び異常部位 [No. 8 の甲状腺 (右)] は凍結切片を作製し, アセトンで 10 分間処理した後, 蛍光抗体間接法で抗原を染色し, 鏡検及び写真撮影した.

6. 統計学的手法

各群の例数が少ないため統計処理は実施しなかった.

7. 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと

予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったことはなかった.

結 果

1. 一般状態 (Tables 1-1 ~ 1-4)

いずれの群においても異常はみられなかった.

2. 摂餌量 (Tables 2-1 ~ 2-6)

いずれの群においても被験物質投与に起因すると考えられる変化はみられなかった.

麻疹ワクチンの気管内投与群において, 投与日に摂餌量の軽度減少がみられた個体があったが, 対照群にも同程度みられる変化であった. また, 被験物質各群において観察期間中に軽度の減少が散見されたが, 馴化期間中にも同程度みられる変化であった.

3. 体重 (Fig. 1, Tables 3-1, 3-2)

いずれの群においても体重推移に異常はみられなかった.

被験物質各群において, 剖検日に体重減少がみられたが, 対照群にも同程度みられる変化であり, 毒性学的に意義のない変化と判断した.

4. 血液学的検査(Tables 4-1 ~ 4-12)

いずれの群においても被験物質投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

基準値¹⁾と比較して、被験物質群各群において観察期間中に白血球数の高値がみられたが、対照群にも同程度みられる変化であった。

5. 血液生化学的検査(Tables 5-1 ~ 5-10)

いずれの群においても被験物質投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

6. X線検査(Tables 6-1, 6-2)

麻疹ワクチンの気管内投与群において、異常所見はみられなかった。

7. 剖検(Tables 7-1, 7-2)

被験物質群において異常所見はみられなかった。

経鼻投与対照群の雄 1 例 (No. 8) で、腋窩リンパ節、鼠径リンパ節、肺門リンパ節及び腸間膜リンパ節の腫大、甲状腺の嚢胞ならびに脾臓濾胞の明瞭化がみられた。経鼻投与対照群の雌 1 例 (No. 9) では胃に赤色巣がみられた。

8. 病理組織学的検査(Tables 8-1 ~ 8-7, Micrograph Photos 1~18)

いずれの群においても被験物質投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

なお、剖検で経鼻投与対照群の雄 1 例 (No. 8) にみられた腋窩リンパ節、鼠径リンパ節、肺門リンパ節及び腸間膜リンパ節の腫

大はリンパ濾胞の腫大であり、脾臓濾胞の明瞭化もリンパ濾胞の腫大であった。また、同例の甲状腺の嚢胞は組織学的にも濾胞であった。経鼻投与対照群の雌 1 例 (No. 9) にみられた胃の赤色巣は粘膜固有層の出血及び炎症細胞浸潤であった。

9. 免疫組織学的検査[Tables 9-1 ~ 9-4, Micrograph Photos (Fluorescent antibody technique) 1~16]

いずれの群においても被験物質投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

気管及び気管支の上皮の杯細胞に陽性反応がみられたが、対照群にもみられる程度の変化で、意義のある変化とは判断しなかった。

考察

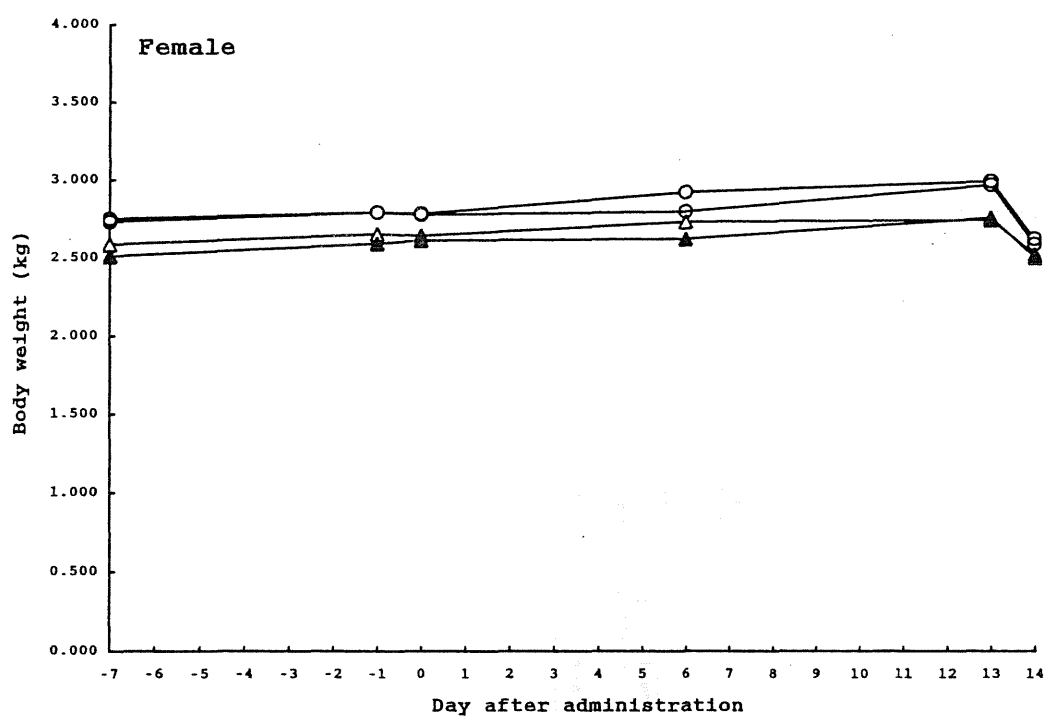
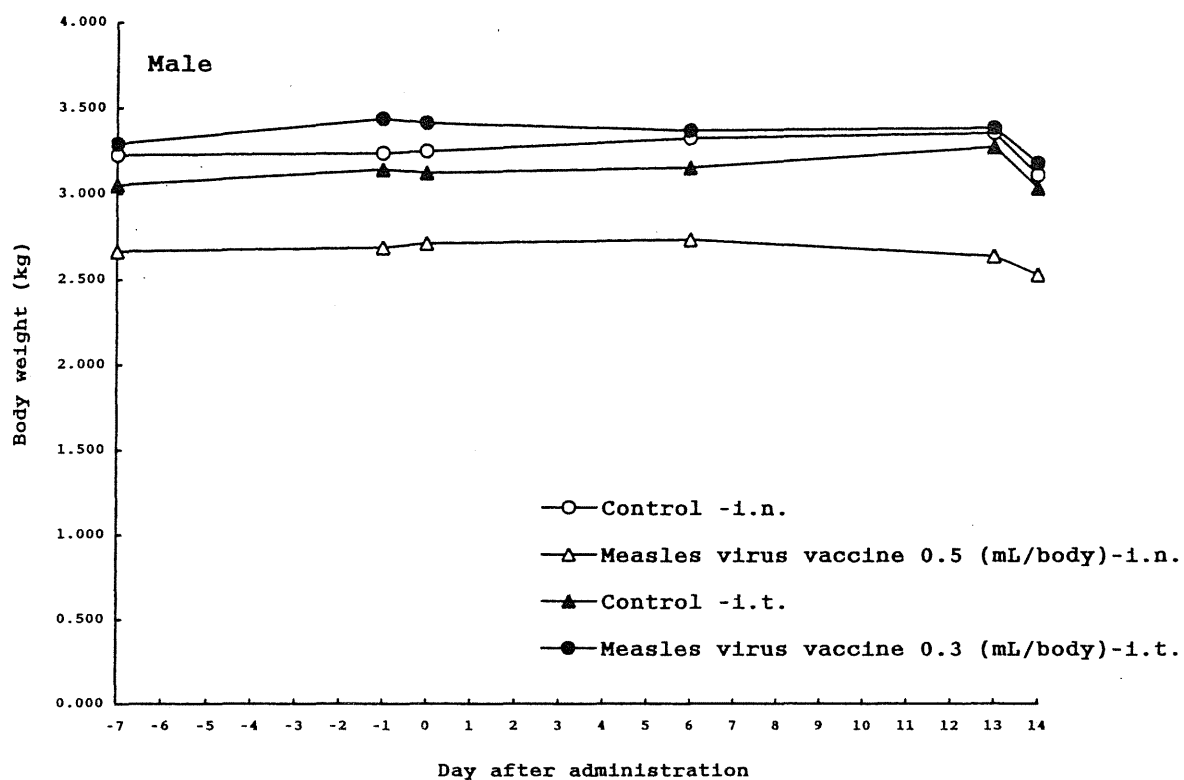
本試験は、乾燥弱毒生麻疹ワクチンを従来の皮下接種から経鼻接種に変更するにあたり、その安全性をみるため、乾燥弱毒生麻疹ワクチン 0.5 mL/body を雌雄各 2 匹のカニクイザルに単回経鼻投与し、毒性の発現の有無を調べた。また、経鼻投与の苛酷条件として、乾燥弱毒生麻疹ワクチン 0.3 mL/body を雌雄各 2 例に気管内投与した。いずれの投与経路についても対照として雌雄各 2 ないし 1 例にエアーのみを投与した。

いずれの群及びいずれの投与経路においても一般状態観察、摂餌量、体重推移、血液学的検査、血液生化学的検査、X線検査、剖検、病理組織学的検査及び免疫組織学的検査で被験物質投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下では、乾燥弱毒生麻疹ワクチン 0.5 mL/body 経鼻投与及び 0.3 mL/body 気管内投与は、毒性を惹起しなかったと判断した。

文 献

1 Control Background Data (Cynomolgus monkeys), Vol. 46, 株式会社新日本科学社内資料, 1999 年



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

Fig. 1 Changes of body weight in cynomolgus monkeys

Table 1-1 Clinical signs in male cynomolgus monkeys

Group	Route	Animal No.	Time after administration (hr)							
			Pre	0*	1	2	3	4	5	6
Control	i.n.	1	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-
Measles virus vaccine 0.5 (mL/body)	i.n.	4	-	-	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-	-	-
Control	i.t.	8	-	-	-	-	-	-	-	-
Measles virus vaccine 0.3 (mL/body)	i.t.	11	-	-	-	-	-	-	-	-
		12	-	-	-	-	-	-	-	-

Notes) - : No abnormal signs
 * : Immediately after the administration

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

Table 1-2 Clinical signs in male cynomolgus monkeys

Group	Route	Animal No.		Day after administration													
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Control	i.n.	1	A.M.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			P.M.*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	A.M.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			P.M.*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Measles virus vaccine 0.5 (mL/body)	i.n.	4	A.M.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			P.M.*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		5	A.M.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			P.M.*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Control	i.t.	8	A.M.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			P.M.*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Measles virus vaccine 0.3 (mL/body)	i.t.	11	A.M.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			P.M.*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		12	A.M.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			P.M.*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Notes) - : No abnormal signs
 * : Observation of the nasal cavity

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

Table 1-3 Clinical signs in female cynomolgus monkeys

Group	Route	Animal No.	Time after administration (hr)							
			Pre	0*	1	2	3	4	5	6
Control	i.n.	3	-	-	-	-	-	-	-	-
Measles virus vaccine 0.5 (mL/body)	i.n.	6	-	-	-	-	-	-	-	-
		7	-	-	-	-	-	-	-	-
Control	i.t.	9	-	-	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	-	-	-
Measles virus vaccine 0.3 (mL/body)	i.t.	13	-	-	-	-	-	-	-	-
		14	-	-	-	-	-	-	-	-

Notes) - : No abnormal signs
 * : Immediately after the administration

i.n.: intranasal administration

i.t.: intratracheal administration

Table 1-4 Clinical signs in female cynomolgus monkeys

Group	Route	Animal No.		Day after administration													
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Control	i.n.	3	A.M.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			P.M.*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Measles virus vaccine 0.5 (mL/body)	i.n.	6	A.M.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			P.M.*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		7	A.M.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			P.M.*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Control	i.t.	9	A.M.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			P.M.*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10	A.M.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			P.M.*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Measles virus vaccine 0.3 (mL/body)	i.t.	13	A.M.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			P.M.*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		14	A.M.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			P.M.*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Notes) - : No abnormal signs
 * : Observation of the nasal cavity

i.n.: intranasal administration

i.t.: intratracheal administration

Table 2-1 Food consumption (g) in male cynomolgus monkeys

Group	Route	Animal No. /Day	-20	-19	-18	-17	-16	-15	-14	-13	-12	-11	-10	-9	-8
Control	i.n.	1	108	96	108	108	108	108	108	108	84	108	108	108	108
		2	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108
		Mean	108.0	102.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	96.0	108.0	108.0	108.0	108.0
Measles virus vaccine 0.5 (mL/body)	i.n.	4	96	108	108	84	108	108	96	90	108	108	108	108	108
		5	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108
		Mean	102.0	108.0	108.0	96.0	108.0	108.0	102.0	99.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0
Control	i.t.	8	84	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108
Measles virus vaccine 0.3 (mL/body)	i.t.	11	108	96	96	108	96	96	108	108	108	108	108	108	108
		12	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108
		Mean	108.0	102.0	102.0	108.0	102.0	102.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0

Notes) i.n.: intranasal administration
i.t.: intratracheal administration

Table 2-2 Food consumption (g) in male cynomolgus monkeys

Group	Route	Animal No. /Day	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5
Control	i.n.	1	108	108	108	108	108	96	96	108	108	108	96	108	108
		2	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108
		Mean	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	102.0	102.0	108.0	108.0	108.0	102.0	108.0	108.0
Measles virus vaccine 0.5 (mL/body)	i.n.	4	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	84	96
		5	108	108	108	108	108	108	108	108	72	96	108	96	108
		Mean	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	90.0	102.0	108.0	90.0	102.0
Control	i.t.	8	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	96	96	108
Measles virus vaccine 0.3 (mL/body)	i.t.	11	108	108	108	108	108	108	84	54	96	84	90	108	96
		12	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	96
		Mean	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	96.0	81.0	102.0	96.0	99.0	108.0	96.0

Notes) i.n.: intranasal administration
i.t.: intratracheal administration

Table 2-3 Food consumption (g) in male cynomolgus monkeys

Group	Route	Animal No. /Day	6	7	8	9	10	11	12	13
Control	i.n.	1	108	108	108	108	108	108	108	108
		2	96	108	108	108	108	108	108	108
		Mean	102.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0
Measles virus vaccine 0.5 (mL/body)	i.n.	4	84	96	96	108	96	108	108	84
		5	108	108	108	108	108	108	108	108
		Mean	96.0	102.0	102.0	108.0	102.0	108.0	108.0	96.0
Control	i.t.	8	108	108	96	108	108	108	108	96
Measles virus vaccine 0.3 (mL/body)	i.t.	11	108	108	108	108	108	108	108	96
		12	96	96	84	96	108	108	108	108
		Mean	102.0	102.0	96.0	102.0	108.0	108.0	108.0	102.0

Notes) i.n.: intranasal administration
i.t.: intratracheal administration

Table 2-4 Food consumption (g) in female cynomolgus monkeys

Group	Route	Animal No. /Day	-20	-19	-18	-17	-16	-15	-14	-13	-12	-11	-10	-9	-8
Control	i.n.	3	108	96	108	108	108	108	108	108	108	108	96	108	84
Measles virus vaccine 0.5 (mL/body)	i.n.	6	108	108	108	96	108	108	108	108	108	108	108	108	108
		7	96	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108
		Mean	102.0	108.0	108.0	102.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0
Control	i.t.	9	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108
		10	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108
		Mean	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0
Measles virus vaccine 0.3 (mL/body)	i.t.	13	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108
		14	108	108	108	96	108	108	108	108	96	108	108	108	108
		Mean	108.0	108.0	108.0	102.0	108.0	108.0	108.0	108.0	102.0	108.0	108.0	108.0	108.0

Notes) i.n.: intranasal administration
i.t.: intratracheal administration

Table 2-5 Food consumption (g) in female cynomolgus monkeys

Group	Route	Animal No. /Day	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5
Control	i.n.	3	108	108	96	108	108	96	96	72	96	84	90	108	108
Measles virus vaccine 0.5 (mL/body)	i.n.	6	108	108	96	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108
		7	108	96	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108
		Mean	108.0	102.0	102.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0
Control	i.t.	9	96	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108
		10	108	108	108	96	96	60	48	24	60	60	72	108	84
		Mean	102.0	108.0	108.0	102.0	102.0	84.0	78.0	66.0	84.0	84.0	90.0	108.0	96.0
Measles virus vaccine 0.3 (mL/body)	i.t.	13	108	108	108	108	108	108	108	84	66	84	72	108	108
		14	108	108	108	108	108	108	108	108	108	108	96	108	108
		Mean	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0	96.0	87.0	96.0	84.0	108.0	108.0

Notes) i.n.: intranasal administration
i.t.: intratracheal administration

Table 2-6 Food consumption (g) in female cynomolgus monkeys

Group	Route	Animal No. /Day	6	7	8	9	10	11	12	13
Control	i.n.	3	108	84	96	108	108	108	108	96
Measles virus vaccine 0.5 (mL/body)	i.n.	6	108	108	96	108	108	108	108	108
		7	96	96	84	84	108	108	108	108
		Mean	102.0	102.0	90.0	96.0	108.0	108.0	108.0	108.0
Control	i.t.	9	108	108	108	108	108	108	108	108
		10	96	84	96	108	108	108	108	108
		Mean	102.0	96.0	102.0	108.0	108.0	108.0	108.0	108.0
Measles virus vaccine 0.3 (mL/body)	i.t.	13	108	108	108	108	96	108	96	96
		14	108	84	96	96	108	108	108	108
		Mean	108.0	96.0	102.0	102.0	102.0	108.0	102.0	102.0

Notes) i.n.: intranasal administration
i.t.: intratracheal administration

Table 3-1 Body weights (kg) in male cynomolgus monkeys

Group	Route	Animal No. /Day	-7	-1	0	6	13	14
Control	i.n.	1	3.13	3.19	3.19	3.26	3.34	3.13
		2	3.32	3.28	3.30	3.38	3.36	3.08
		Mean	3.225	3.235	3.245	3.320	3.350	3.105
Measles virus vaccine 0.5 (mL/body)	i.n.	4	2.77	2.74	2.79	2.79	2.77	2.56
		5	2.56	2.63	2.63	2.67	2.50	2.49
		Mean	2.665	2.685	2.710	2.730	2.635	2.525
Control	i.t.	8	3.05	3.14	3.12	3.15	3.27	3.03
Measles virus vaccine 0.3 (mL/body)	i.t.	11	3.65	3.76	3.75	3.67	3.79	3.51
		12	2.93	3.11	3.07	3.06	2.97	2.84
		Mean	3.290	3.435	3.410	3.365	3.380	3.175

Notes) i.n.: intranasal administration
i.t.: intratracheal administration

Table 3-2 Body weights (kg) in female cynomolgus monkeys

Group	Route	Animal No. /Day	-7	-1	0	6	13	14
Control	i.n.	3	2.75	2.79	2.78	2.92	2.99	2.62
Measles virus vaccine 0.5 (mL/body)	i.n.	6	2.45	2.50	2.52	2.65	2.57	2.37
		7	2.72	2.80	2.76	2.81	2.91	2.67
		Mean	2.585	2.650	2.640	2.730	2.740	2.520
Control	i.t.	9	2.37	2.61	2.62	2.66	2.76	2.59
		10	2.65	2.57	2.60	2.58	2.75	2.41
		Mean	2.510	2.590	2.610	2.620	2.755	2.500
Measles virus vaccine 0.3 (mL/body)	i.t.	13	2.72	2.64	2.65	2.72	2.89	2.49
		14	2.74	2.94	2.90	2.87	3.04	2.68
		Mean	2.730	2.790	2.775	2.795	2.965	2.585

Notes) i.n.: intranasal administration
i.t.: intratracheal administration