

厚生科学研究費補助金

医薬安全総合事業

経鼻麻しんワクチン開発に関する研究

平成12年度 総括・分担報告書

主任研究者 齋加志津子

平成13(2001)年3月

目 次

I. 総括研究報告	
経鼻麻しんワクチン開発に関する研究	1
齊加志津子	
II. 分担研究報告	
1. 受動免疫存在下での麻しんワクチンの抗体反応	21
齊加志津子, 小船富美夫	
2. 受動免疫存在下での麻しんワクチン接種後のウイルス RNA の検出	32
木所 稔	
3. 受動免疫存在下での麻しんワクチンの感染防御試験－病理組織学的検索	39
大川時忠	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	46
IV. 研究成果の刊行物・別刷り	47

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

総括研究報告書

経鼻麻しんワクチン開発に関する研究

主任研究者 齋加志津子

（千葉県血清研究所）

研究要旨

開発途上国で麻疹撲滅のためのワクチンとして要求される移行抗体存在下でのワクチンの有効性をみるため、カニクイザルに受動免疫存在下でワクチンを経鼻または皮下接種し、その後 HL 株で攻撃し、その有効性を比較した。その結果、経鼻及び皮下両接種方法により明らかにプライミングが成立し、ワクチンの効果が認められた。また、HL 株の攻撃に対して、病理変化及び体内でのウイルス RNA 検出経過からみてある程度のウイルス増殖抑制効果を示した。皮下接種法と経鼻接種法では、皮下接種法の方がより増殖の抑制が見られたが、サルの子鼻に 0.25ml を経鼻接種した場合、大部分が食道から胃に流れており、有効な接種用量は皮下接種よりもかなり低かったと推定される。より効果的な接種方法を検討した上で比較すべきであろう。

分担研究者 齋加志津子¹⁾、木所 稔¹⁾、
大川時忠¹⁾、小船富美夫²⁾

1) 千葉県血清研究所、2) 国立感染症研究所

研究協力者 青木敦子¹⁾、片山未来²⁾、
森田和子¹⁾

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。本研究は従来皮下

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。また、麻しんが常在している途上国においては、麻しん罹患年齢が低いため母親由来の移行抗体を持つ乳児早期に有効な麻しんワクチンが求められている。麻しんワクチンに要求される移行抗体存在下での有効性をみるため、受動免疫を与えたサルにワクチンを経鼻または皮下に接種しその抗体産生能及び感染防御能を比較する。

B. 方法

1. 動物

新日本科学（株）で繁殖された抗麻疹抗体陰性の健康なカニクザル，雌，3～4歳を使用した。1頭ずつアイソレーター中で飼育した。

2. ウイルス株

ワクチン株は千葉県血清研究所製造弱毒生麻疹ワクチン TD97 株を，強毒株は小船博士が B95a 細胞で分離した HL 株を用いた。

1. 受動免疫用抗体

麻疹に自然感染し高い抗麻疹抗体価を示すカニクザルの血清を硫酸分画により精製した。50%及び30%硫酸飽和を行った後 1/100M 磷酸緩衝液 (pH7.6) で透析しγグロブリン画分を得た。これに含まれる抗麻疹 HI 抗体は 2^9 ，中和抗体価は $2^{18.3}$ であった。

3. 受動免疫試験

サルγグロブリンをサルの筋肉内に接種した場合，得られる血中抗体価は接種されたものが全血液量で稀釈された価になると推定し， 2^3 または 2^4 の血中 HI 抗体の受動免疫を得るように，サルγグロブリンを 1.2ml/kg またはその2倍量をカニクザルにそれぞれ1頭ずつ筋肉内に接種した。接種前，接種後1，3日後及び1週毎に12週まで採血した。血清について，抗麻疹抗体を HI，中和及び PA 法で測定し，その減衰を追跡した。

4. 受動免疫存在下でのワクチン接種

サルγグロブリンを 1.2ml/kg 筋肉内に接種し，翌日 TD97 株麻疹ワクチンを経鼻または皮下にそれぞれ5頭ずつのサルに $10^{5.2}$ TCID₅₀/頭接種した。

5. 感染防御試験

受動免疫存在下でワクチンを経鼻または皮下接種されたそれぞれ5頭ずつのサルの感染防御効果をみるため，ワクチン接種後12週目に HL 株で攻撃した ($10^{5.2}$ TCID₅₀/頭 経鼻接種)。対照として，受動免疫後ワクチン接種をしていない2頭も同様に攻撃した。

それぞれの群の内2頭ずつ及び対照のサル2頭は攻撃後1週目に解剖した。残り3頭ずつは4週後解剖した。解剖は深麻酔下で実施した。解剖時，RT-PCR 用の組織を採取しワクチン接種前及び接種後，攻撃前及び攻撃後1週毎に，血液，咽頭拭い液を採取し，RT-PCR でウイルス RNA の有無を試験した。

6. 検体の採取

綿棒でサルの咽頭部を拭い，その綿棒を RNA 抽出液 (QIAGEN) 1ml の中に折り入れ咽頭拭い液を採取した。血液は鼠径静脈から EDTA-Na 採血管に採血後，血漿と血球成分に分けた。血漿は抗体測定に，血球は RT-PCR に用いた。また，解剖時リンパ系組織（顎下リンパ節，腋窩リンパ節，鼠径リンパ節，腸間膜リンパ節，胸腺，扁桃，脾臓）および鼻粘膜の小片を RT-PCR 用に採取しドライアイスで瞬間凍結した後， -80°C に保存した。

7. RT-PCR

末梢血，咽頭拭い液及びリンパ系組織について RT-PCR 法にて麻疹ウイルス RNA の検出を行った。末梢血，咽頭拭い液及び組織中のウイルス RNA を検出するために，RNeasy キット (QIAGEN 社) を用いマニユア

ルに従って検体から総 RNA を抽出した。RT 反応と1段目 PCR はワンステップ RNA-PCR キット(AMV) (宝酒造) を、2段目 PCR は Z-Taq (宝酒造) を用いて行った。RT 反応と1段目の PCR は P 遺伝子内の 1807 から 2580 番目の領域を、2段目の PCR では 1973 から 2283 番目の領域を増幅した。PCR 産物は、1.5%アガロースゲル上で電気泳動し、SYBR Green で染色後、UV トランスイルミネーターまたは FMBIO II によって目的バンドの検出を行った。

8. 抗体測定

、抗麻疹抗体は麻疹 HA 抗原 (デンカ生研) を用いた HI 抗体, Vero 細胞及び攻撃ウイルスとして豊島株を用いた 50%ブランク減少法による中和抗体, セロディア PA キット (富士レビオ) による PA 抗体並びにエンザイグノスト麻疹 IgM (DADE BEHRUNG) による IgM 抗体を測定した。

9. 組織学的検査

解剖時採取した各組織は、10%ホルマリンリン酸緩衝液中で固定後、定法に従いヘマトキシリン・エオシン染色標本作製し、鏡顕した。

10. 経鼻接種された液の体内分布

経鼻接種された液の体内分布をみるため、墨汁 0.25ml/鼻腔をカニクザルの両鼻腔に接種した。約 30 分後解剖し、墨汁の分布を観察した

(倫理面への配慮)

サルを扱うときは、可能な限り苦痛を与えないように配慮し、解剖は深麻

酔下で行った。

C. 結果

1. 受動免疫の減衰

サルγグロブリン 1.2ml/kg 及びその倍量の 2.4ml/kg をそれぞれ1頭ずつのカニクザルに筋肉内接種したところ、翌日の血中抗体価は、1.2ml/kg 接種サル (No.311) が HI, 2^8 , 中和, $2^{5.3}$, PA, 2^6 で、2.4ml/kg 接種サル (No.021) が HI, 2^8 , 中和, $2^{6.7}$; PA, 2^7 であった。その後の抗体価の推移を表 1, 図 1 に示した。得られた中和抗体価は直線的に減衰し、その傾きはそれぞれ -0.45, -0.42 とほぼ同じ価を示し、中和抗体価は接種後 8 または 9 週目に検出限界以下になった。半減期は 2.4 週であった。

2. 受動免疫存在下でのワクチン接種による抗体反応

サルγグロブリン 1.2ml/kg を 10 頭のカニクザルの筋肉内に接種したところ、翌日の血中 HI 抗体価は $2^{3\sim 4}$, 中和抗体価は $2^{5.3\sim 6.7}$ であった。この時に、 $10^{5.2}$ TCID₅₀/頭のワクチン (TD797 株) を経鼻または皮下に 5 頭ずつ接種しその後の抗体価の推移を調べた。中和抗体反応を表 2 (1) 及び図 2 に示した。ワクチン接種により顕著な抗体応答は認められなかったが、1.2ml/kg のγグロブリンを筋肉内に接種した場合中和抗体価は 8 週後に検出限界以下になるのに対して、経鼻接種群 4 頭及び皮下接種群 5 頭は 12 週後でも中和抗体を保持していた。その値は皮下接種群の方が経鼻接種群よりも高かった。

IgM 抗体は全てのサルで上昇が認められたが、経鼻接種に比べて皮下接種の方がより高く誘導された。IgM 抗体のピークは接種後 2 週ないし 3 週目で、皮下接種群の方が経鼻接種に比べて若干遅れる傾向がみられた (表 2 (3) 及び図 3)。

3. 受動免疫存在下におけるワクチン接種後のウイルス RNA の検出

皮下接種群で接種後 1 週目の末梢血リンパ球からウイルス RNA が検出された (5 頭中 1 頭) のに対し、経鼻接種群では末梢血リンパ球からウイルス RNA は全く検出されなかった (表 3 (1))。

一方、経鼻接種群ではワクチン接種後 1 週目で 5 頭中 2 頭の咽頭拭い液からウイルス RNA が検出されたのに対し、皮下接種群では全く検出されなかった (表 3 (2))。

4. 感染防御試験

受動免疫存在下でワクチンを経鼻または皮下接種し、その 12 週後に HL 株で攻撃したところ、受動免疫のみのサル 2 頭は 1 週後抗体反応を認めなかった。ワクチン皮下接種群の 1 頭は若干抗体価が上昇しただけであった。その他の 9 頭は 1 週後から中和抗体の顕著な上昇を認めた (表 4 (1), 図 4)。IgM 抗体価は経鼻接種群が 5 頭全頭に明らかな上昇を認めたのに対して、皮下接種群では 5 頭とも若干上昇したのみであった。(表 4 (3), 図 5)。

ウイルス RNA の検出では、対照群では攻撃後 1 週目の咽頭拭い液、末梢血リンパ球、及び採取した組織全て(鼻

粘膜は未採取) からウイルス RNA が検出された。経鼻接種群では、末梢血中のウイルス RNA は 3 頭中 2 頭で 3 週以降に陰性化し (表 5 (1)), 咽頭拭い液からは、3 頭中 2 頭で 2 週以降に検出されなくなった (表 5 (2))。皮下接種群の場合、末梢血中のウイルス RNA は全頭で 3 週以降に陰性化し、うち 1 頭は攻撃後全くウイルス RNA が検出されなかった (表 5 (1))。咽頭拭い液においても、全頭で 3 週以降に陰性化し、うち 1 頭は攻撃後全くウイルス RNA が検出されなかった (表 5 (2))。

組織からのウイルス RNA は攻撃後 1 週目では、対照群の場合 2 頭とも全ての組織 (鼻粘膜は未実施) から検出されたのに対し、いずれのワクチン接種群においても 2 頭中 1 頭では検出される組織が減少していた (表 5 (3))。しかし、攻撃後 4 週目での結果では、皮下接種群の 3 頭中 1 頭で全くウイルス RNA が検出されず、他の 2 頭においても検出される組織が半分ほどに減少したのに対し、経鼻接種群では、検出されない組織があるものの、3 頭とも殆どの組織からウイルス RNA が検出された。

病理組織学的検査成績は表 6 (1) ~ (3) に示した。ワクチン経鼻接種群では 1 週目 2 頭の側頭葉軟膜に、また、4 週目 1 頭の脊髄軟膜血管周囲に軽度の細胞浸潤が認められた。さらに、4 週目の 3 頭全ての扁桃、1 頭の鼻粘膜及び腎臓に細胞浸潤がみられた。皮下接種群では 1 週目 1 頭の後頭葉、側

頭葉軟膜と側脳室脈絡叢に細胞浸潤が、1頭の胸腺に中程度の巨細胞が及び1頭の腎臓に細胞浸潤が認められた。4週目では3頭全ての扁桃及び腎臓に細胞浸潤が認められた。一方、ワクチン非接種群は接種後1週目に剖検したが、2頭中1頭のサルの中樞神経系に広範囲に軽度から中程度の病変が、また、2頭のリンパ系の一部に軽度から重度の病変が認められた。さらに、2頭の腎臓に軽度の病変が認められた。

5. 経鼻接種された液の体内分布

墨汁 0.25ml/鼻腔をカニクザルの両鼻腔に接種し、その約30分後解剖し墨汁の分布を観察したところ、気管には殆ど認められず、大部分が食道から胃に認められた。

D. 考察

麻疹流行が常在している途上国においては、麻疹罹患年齢が低いため母親由来の移行抗体を持つ乳児期早期に有効な麻疹ワクチンが求められている。ワクチンを経鼻または皮下に接種後 RT-PCR で末梢血リンパ球及び咽頭拭い液中のウイルス RNA の検出を行うと、皮下接種の場合は末梢血リンパ球から、経鼻接種の場合は咽頭拭い液から検出されている¹⁾。このことは今回の試験でも確認されており、接種経路により体内に入ったワクチンウイルスの初期増殖部位が異なり、経鼻接種法の場合は末梢血リンパ球中でよりも上気道粘膜局所で増殖しやすと考えられた。それゆえ、経鼻接種法は皮下接種法よりも移行抗体の影響を受けにくいことが推察された。そこで、受動免疫存在下でワクチンを経鼻または皮下に

接種しその有効性を調べた。

サルγグロブリン (HI 抗体 2^9 , 中和抗体価 $2^{13.3}$) を 1.2ml/kg サルの筋肉内に接種したところ、翌日の血中抗体は HI, 2^8 , 中和, $2^{5.3}$, PA, 2^6 であった。得られた中和抗体価は直線的に減衰し、半減期は 2.4 週であった。中和抗体価は接種後 8 週目に検出限界以下になった。一方、同量の受動免疫を与えたサルに、翌日 $10^{5.2}$ TCID₅₀/頭のワクチン (TD97 株) を経鼻または皮下に 5 頭ずつ接種したところ、顕著な抗体応答は認められなかったが、IgM 抗体が誘導され、また、中和抗体価の減衰が緩やかになった。12 週後に HL 株で攻撃したところ、皮下接種群の 1 頭は殆ど抗体の動きがなく、末梢血、咽頭拭い液、および解剖時の組織いずれからもウイルス RNA が検出されていなかった。このことは、ワクチンにより賦与された免疫により感染防御が成立し、攻撃ウイルスの増殖が完全に抑制されたためと考えられた。また、他の 9 頭は HL 株接種後 1 週目から 2 次反応と考えられる急激な中和抗体の上昇が認められた。IgM 抗体価は経鼻接種群 5 頭全てに明らかな上昇を認めたのに対して、皮下接種群では若干上昇を認めたのみであった。攻撃 1 週後に中和抗体の顕著な上昇をみたことは、明らかにワクチン接種によりプライミングが成立し、メモリーが残っていたことを示している。これらサルの攻撃後の末梢血及び咽頭拭い液中のウイルス RNA は経鼻接種、皮下接種いずれにおいても一時的に陽性になるものの、3 週目以降に殆どの個体で陰性化した。昨年度までの成績から、麻疹ウイルスに対して免疫の無いサルに HL 株を接種した場合、末梢血中のウイルス

RNA は接種後5週まで検出されることが確認されていることから、完全ではないものの麻疹ワクチンによって免疫系が感作され、攻撃によるウイルス増殖を抑制したことを示唆している。解剖時の組織からのウイルス RNA 検出では、攻撃後1週の場合に経鼻接種群、皮下接種群ともに対照群と差が認められ、2頭中1頭で組織からの RNA 検出が陰性であった。攻撃後4週目では皮下接種群で部分的または完全にウイルス RNA 検出が陰性化したのに対し、経鼻接種群ではごく一部の組織で陰性化するか1頭では全ての組織から検出された。また、経鼻接種群と皮下接種群とで、攻撃後のウイルス増殖の程度を比較するために、末梢血および咽頭拭い液中にウイルス RNA が検出されたサンプリングポイントの合計（経時変化）および解剖時に RNA が検出された部位の合計（体内分布）を個体ごとに算出し、各群ごとの平均値を出し、ウイルス増殖の程度を表すスコアとした（表12）。その結果、経鼻接種群および皮下接種群のスコアのそれぞれの平均は、経時変化では4.3 および 2.0、体内分布では7.0 および 3.0 でいずれも経鼻接種に比べ皮下接種でウイルス増殖抑制の程度が大きかった。

病理変化では、ワクチンを接種していない1週間後対照群のサルは広範な中枢神経系及びリンパ系組織に軽度から重度の病変が認められたのに対し、TD97 株を経鼻接種した群では4週目1頭の鼻粘膜に中程度の病変が認められた以外は軽度の病変であった。また皮下接種した群では1週目1頭の胸腺に中程度の巨細胞が認められた以外は軽度の病変であり、明らかに HL 株でみら

れる病変より弱かった。しかし、TD97 株の経鼻接種によって惹起される病変は、扁桃のごく軽度のリンパ球浸潤のみであり¹⁾、ワクチン株による病変よりは強い傾向があった。加えて、これらの個体の組織からウイルス RNA が検出されたことからワクチンによる免疫によって完全ではないが HL 株の病変が抑制されたと考えられる。

本研究ではサルの片鼻に 0.25ml ずつを専用スプレーで両鼻腔に噴霧する経鼻接種方法をとっている。この際の接種液量の適否について検討したところ、体重2～3kg のサルでは接種液の殆どが食道から胃に流れており、実際に鼻腔内に残留する量は投与量の 1/10 以下と考えられた。今回実施した受動免疫下でのワクチンの経鼻または皮下接種試験では、抗体応答、ウイルス RNA の検出及び病理変化の検討から、両接種法ともにある程度の HL 株に対する増殖抑制効果が認められ、その抑制効果は経鼻接種に比べ皮下接種の方がより高かった。しかし、経鼻接種において免疫賦与に有効に作用しえた用量を考慮すると、今回の試験結果より接種経路による防御効果の優劣は判断できない。

今後、極少量でより高濃度のウイルスを効率よく鼻腔内に投与する方法を検討する必要がある。また、麻しん免疫に重要な役割を果たす細胞性免疫についても検討する必要がある。

参考文献

- 1) 齊加志津子：厚生科学研究費補助金研究報告書 経鼻麻しんワクチン開発研究 平成10年度

E. 結論

HI 抗体価 $2^3 \sim 4$ の受動免疫を持つサルに TD97 株を経鼻または皮下に接種した場合、野外株の攻撃に対して完全ではないものの、ある程度のウイルス増殖抑制効果を示した。また、高濃度のウイルスを極少量鼻腔内に投与することにより、より有効に免疫を賦与しうる可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

鈴木一義（千葉県血清研究所）：経鼻麻疹ワクチンの開発－サルにおける安全性と有効性の検討－，BIO Clinica 15(8),2000

2. 学会発表

なし

G. 知的財産等の取得状況

なし

表1 γ グロブリン接種後のカニクイザルの抗体価 (2^n) の推移

ワクチン接種後期間	サル番号					
	0 2 1			3 1 1		
	HI	NT	PA	HI	NT	PA
0	<3	<2	<2	<3	<2	<2
1d	3	6.7	7	3	5.3	6
2d	3	6.8	7	3	5.5	6
1w	3	6.2	6	<3	5.2	6
2w	<3	5.8	5	<3	5.6	5
3w	<3	5.3	4	<3	4.6	4
4w	ND	4.7	3	ND	4.5	4
6w	ND	3.2	2	ND	3.3	3
8w	ND	<2	2	ND	2.4	3
9w	ND	<2	ND	ND	<2	ND
10w	ND	<2	<2	ND	<2	2
12w	<3	<2	<2	<3	<2	<2

サル# 0 2 1には 2.4ml/kg, # 3 1 1には 1.2ml/kg の γ グロブリンを筋肉内接種した。
ND, 試験していない。

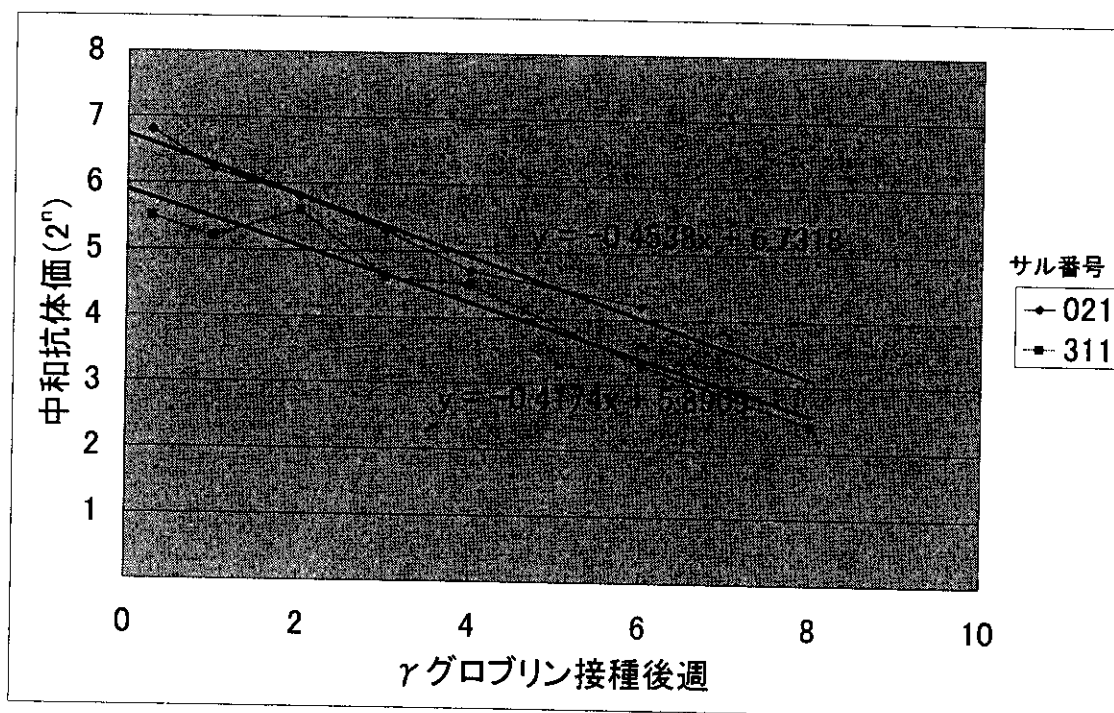


図1 γ グロブリン接種後の中和抗体価の推移

表2 受動免疫存在下でのワクチン接種後の抗体反応

(1) 中和抗体価 (2ⁿ)

ワクチン 接種後週	経鼻接種サル番号					皮下接種サル番号				
	011	221	161	261	821	641	811	061	111	619
0	6.1	6.3	6.5	6.4	6.6	6.3	5.9	5.4	5.2	6.7
1	5.5	5.1	4.9	5.0	6.3	6.2	6.3	4.7	5.0	7.3
2	4.4	5.4	4.8	4.9	5.4	7.0	6.2	5.1	4.8	7.3
3	4.3	6.8	4.5	4.5	5.3	6.8	5.2	4.8	4.8	4.4
4	3.6	6.2	4.8	4.7	4.7	8.0	5.1	6.1	5.2	4.7
5	3.6	5.6	5.1	4.6	4.4	7.6	5.0	5.8	5.6	4.7
6	3.1	5.6	3.9	4.6	4.3	6.8	5.7	5.8	6.8	4.6
8	<2	5.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9	<2	5.6	ND	ND	N	ND	ND	ND	ND	ND
12	<2	6.1	4.2	2.9	3.8	7.6	4.8	5.8	6.8	4.0

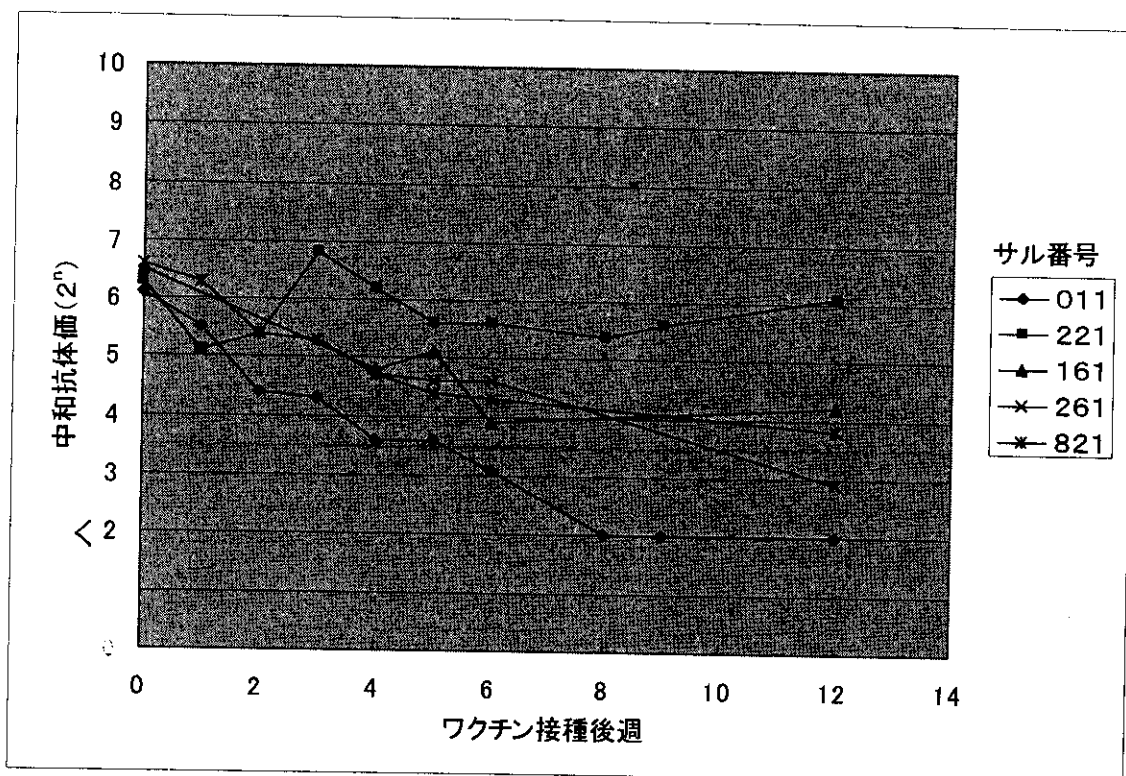
(2) HI 抗体価 (2ⁿ)

ワクチン 接種後週	経鼻接種サル番号					皮下接種サル番号				
	011	221	161	261	821	641	811	061	111	619
0	3	3	4	4	4	4	3	4	4	4
1	<3	<3	3	3	3	4	4	3	3	3
2	<3	<3	3	3	3	5	4	4	4	3
3	<3	4	<3	<3	<3	6	4	4	6	4
4	<3	4	<3	<3	<3	6	4	4	6	4
5	<3	4	<3	<3	<3	7	4	4	6	3
6	<3	4	<3	<3	<3	7	4	5	6	3
12	<3	4	<3	<3	<3	6	4	4	6	3

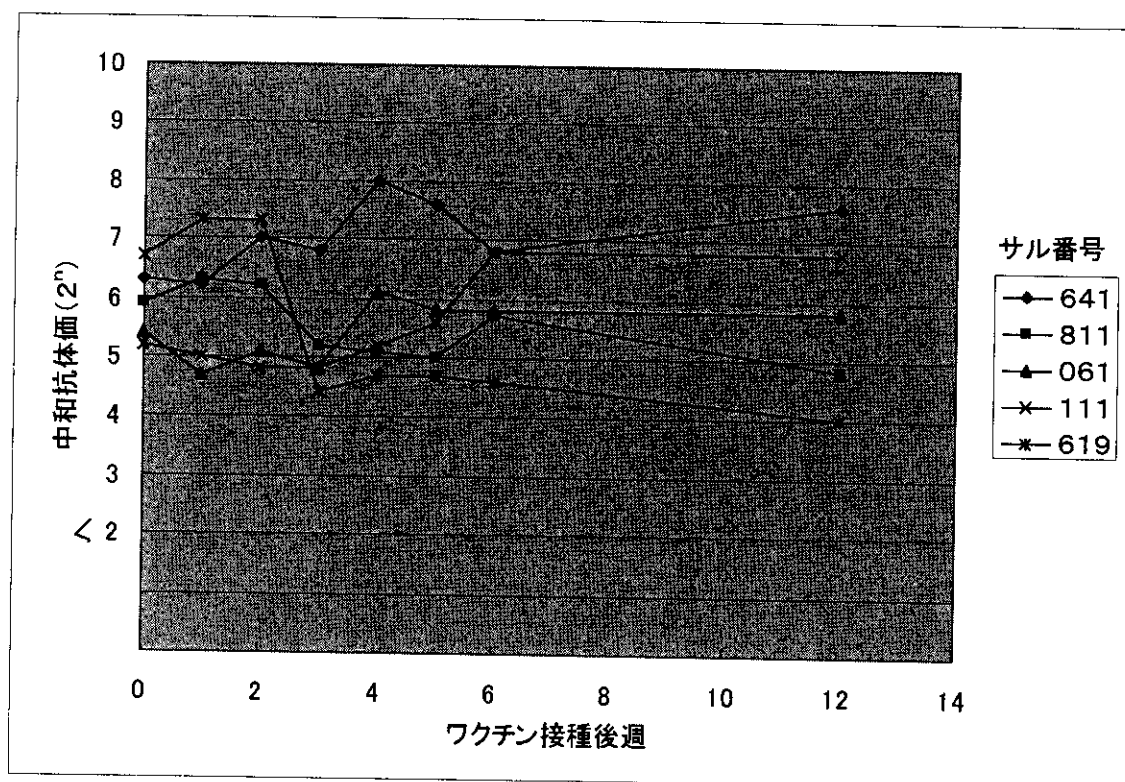
(3) IgM 抗体価 (OD)

ワクチン 接種後週	経鼻接種サル番号					皮下接種サル番号				
	011	221	161	261	821	641	811	061	111	619
0	0.038	0.019	0.094	0.002	0.006	0.013	0.025	0.068	0.003	-0.037
1	0.025	0.016	0.161	-0.003	0.011	0.035	0.025	0.086	0.035	0.000
2	0.066	0.195	0.216	0.035	0.038	0.293	0.349	0.519	0.246	0.224
3	0.228	0.19	0.16	0.059	0.107	0.306	0.214	0.369	0.161	0.290
4	0.121	0.167	0.158	0.045	0.089	0.309	0.18	0.308	0.141	0.147
5	0.073	0.117	0.139	0.033	0.055	0.283	0.083	0.311	0.126	0.086
6	0.042	0.103	0.111	0.016	0.038	0.157	0.079	0.275	0.102	0.069
12	0.010	0.000	0.067	0.001	0.003	0.077	0.056	0.164	0.019	-0.052

ND, 試験していない。

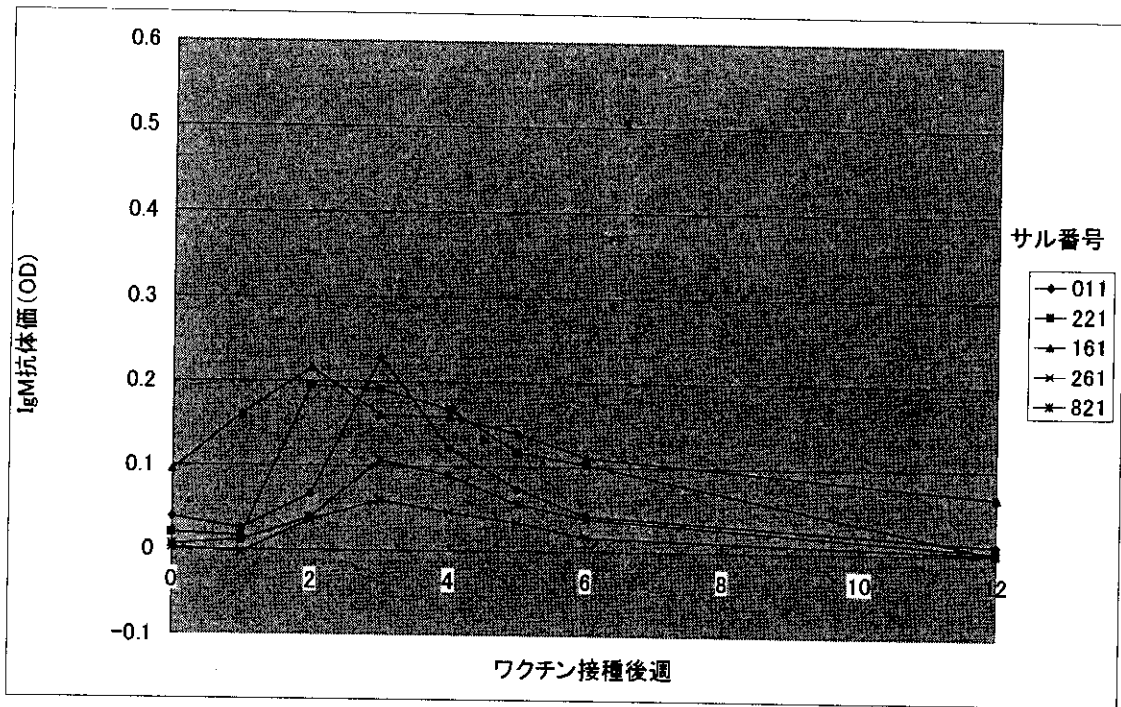


経鼻接種群

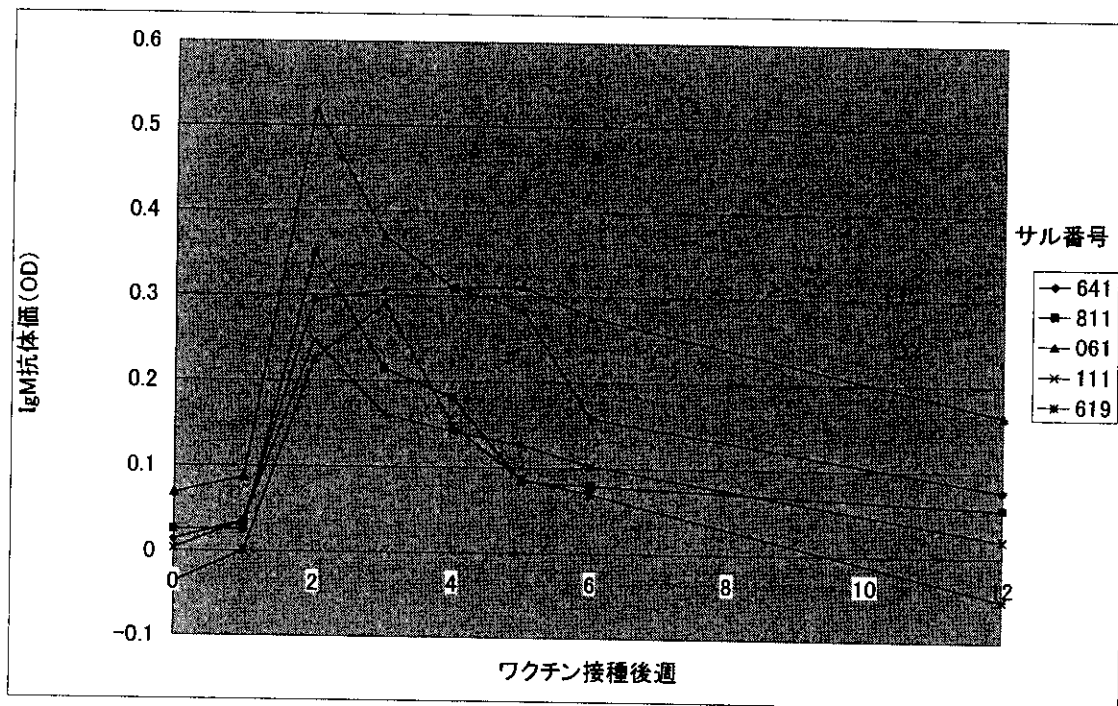


(2) 皮下接種群

図2 受動免疫存在下でのワクチン接種後の中和抗体価の推移



(1) 経鼻接種群



(1) 皮下接種群

図3 受動免疫存在下でのワクチン接種後の IgM 抗体価の推移

表3 受動免疫存在下でのワクチン接種後サル末梢血及び咽頭拭い液からのウイルスRNAの検出

(1) 末梢血

ワクチン 接種後週	経鼻接種サル番号					皮下接種サル番号				
	011	221	161	261	821	641	811	061	111	619
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	ND	ND	-	-	-	-	-	-	-	-
6	ND	ND	-	-	-	ND	ND	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(2) 咽頭拭い液

ワクチン 接種後週	経鼻接種サル番号					皮下接種サル番号				
	011	221	161	261	821	641	811	061	111	619
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	ND	ND	-	-	-	-	-	-	-	-
6	ND	ND	-	-	-	ND	ND	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

表4 受動免疫存在下でのワクチン接種サルへの感染防御試験—抗体反応

(1) 中和抗体

攻撃後週	経鼻接種群サル番号					皮下接種群サル番号					対照群サル番号	
	011	221	161	261	821	641	811	061	111	619	021	311
0	<2	6.1	4.2	2.9	3.8	7.6	4.8	5.8	6.8	4.0	<3	<3
1	6.7	>8	12.5	11.8	9.9	>8	>8	6.8	8.1	6.6	<3	<3
2	ND	ND	14.4	15.4	15.9	ND	ND	6.9	13.2	14.0	ND	ND
3	ND	ND	14.8	15.6	14.6	ND	ND	6.8	12.7	13.8	ND	ND
4	ND	ND	14.5	13.9	14.4	ND	ND	6.6	11.8	13.7	ND	ND

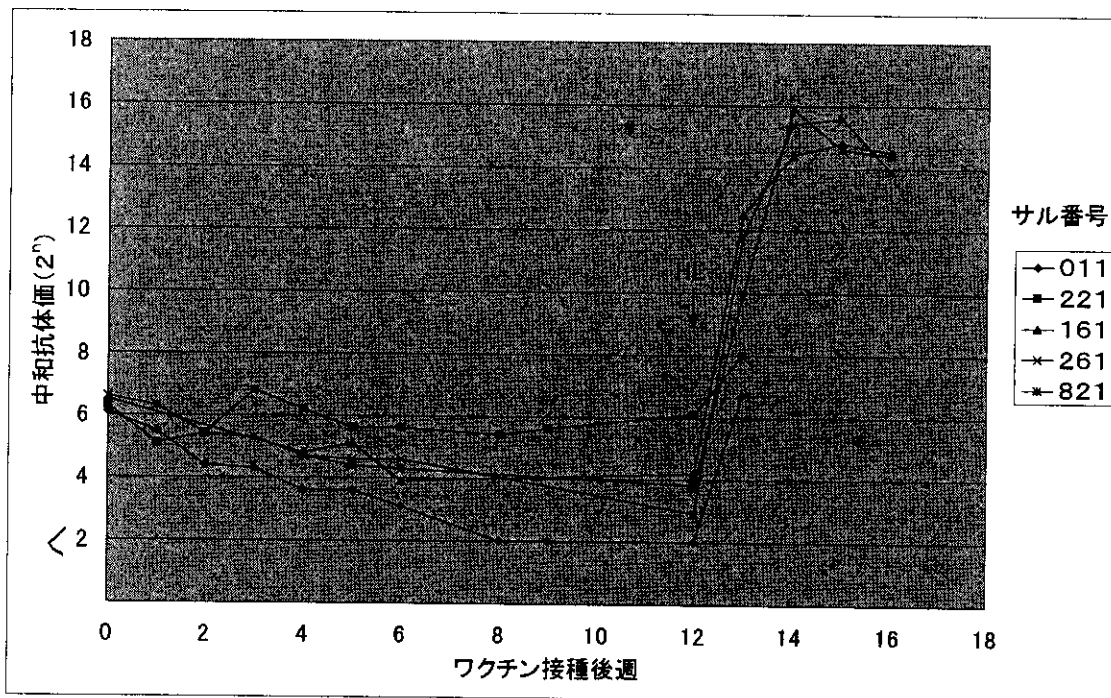
(2) HI 抗体

攻撃後週	経鼻接種群サル番号					皮下接種群サル番号					対照群サル番号	
	011	221	161	261	821	641	811	061	111	619	021	311
0	<3	4	<3	<3	<3	6	4	4	6	3	<3	<3
1	7	8	9	8	8	6	6	4	6	5	<3	<3
2	ND	ND	12	12	12	ND	ND	5	10	10	ND	ND
3	ND	ND	12	12	11	ND	ND	4	11	11	ND	ND
4	ND	ND	12	11	11	ND	ND	4	10	11	ND	ND

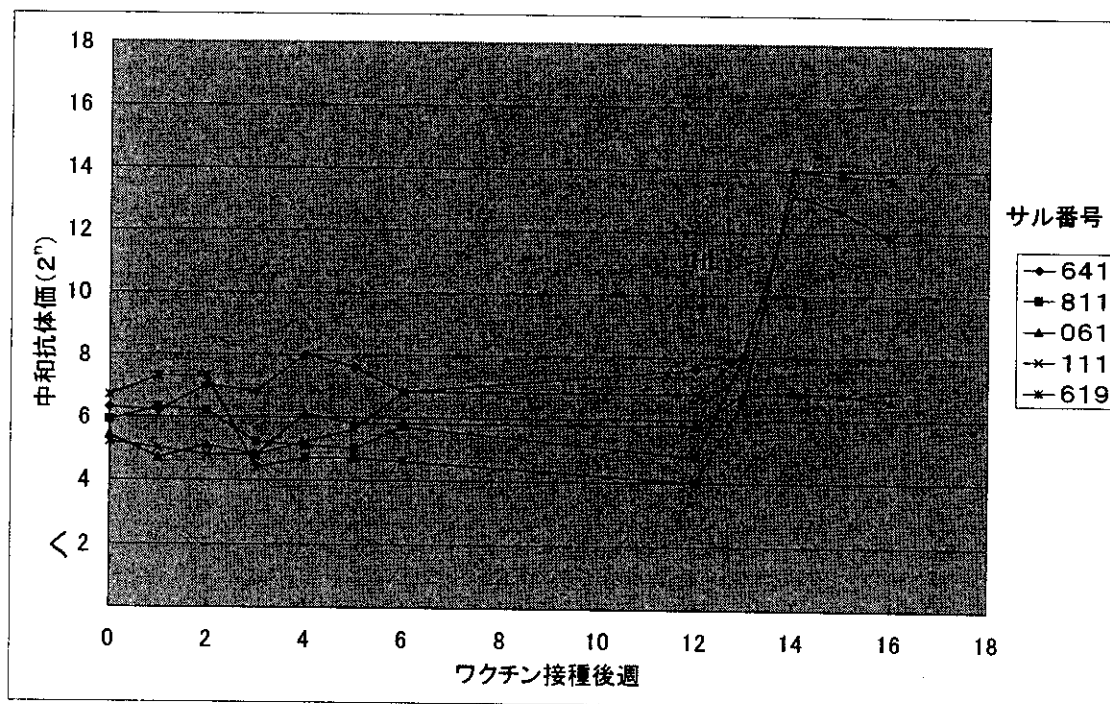
(3) IgM 抗体

攻撃後週	経鼻接種群サル番号					皮下接種群サル番号					対照群サル番号	
	011	221	161	261	821	641	811	061	111	619	021	311
0	0.010	0.000	0.067	0.001	0.003	0.077	0.056	0.164	0.019	-0.052	0.014	0.008
1	0.174	0.323	0.412	0.101	0.208	0.124	0.077	0.155	0.067	-0.038	0.013	0.012
2	ND	ND	0.452	0.194	0.602	ND	ND	0.186	0.065	0.068	ND	ND
3	ND	ND	0.378	0.148	0.459	ND	ND	0.181	0.069	0.061	ND	ND
4	ND	ND	0.283	0.109	0.353	ND	ND	0.164	0.058	0.084	ND	ND

ND, 試験していない。

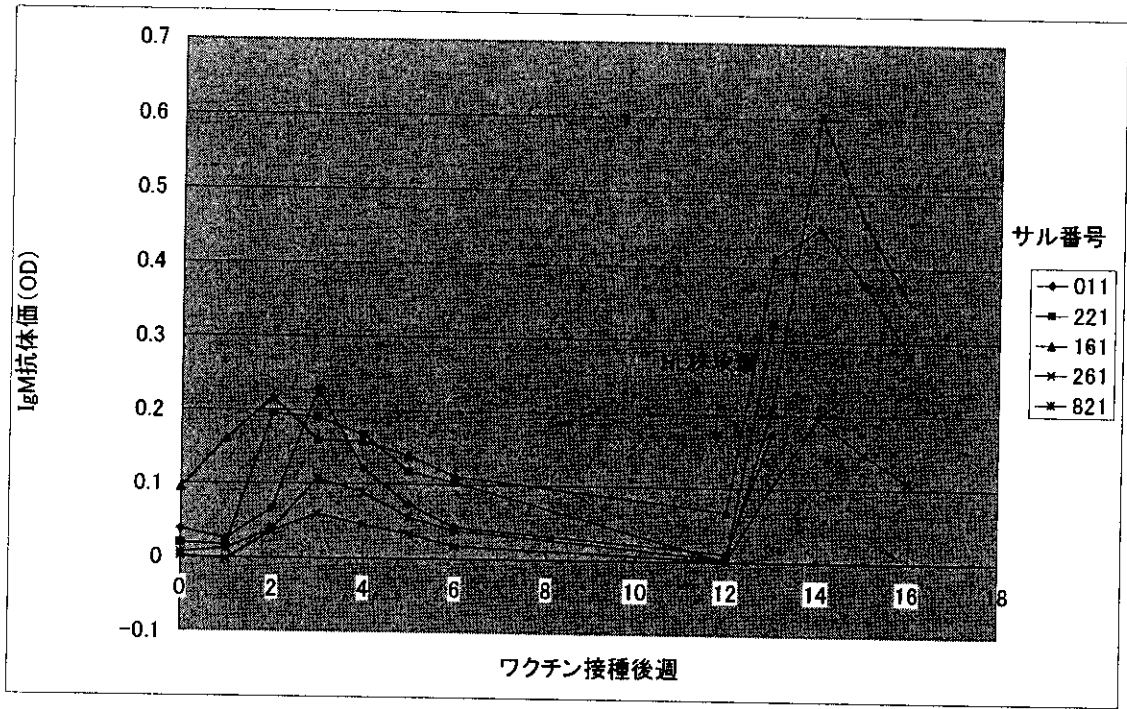


(1) 経鼻接種群

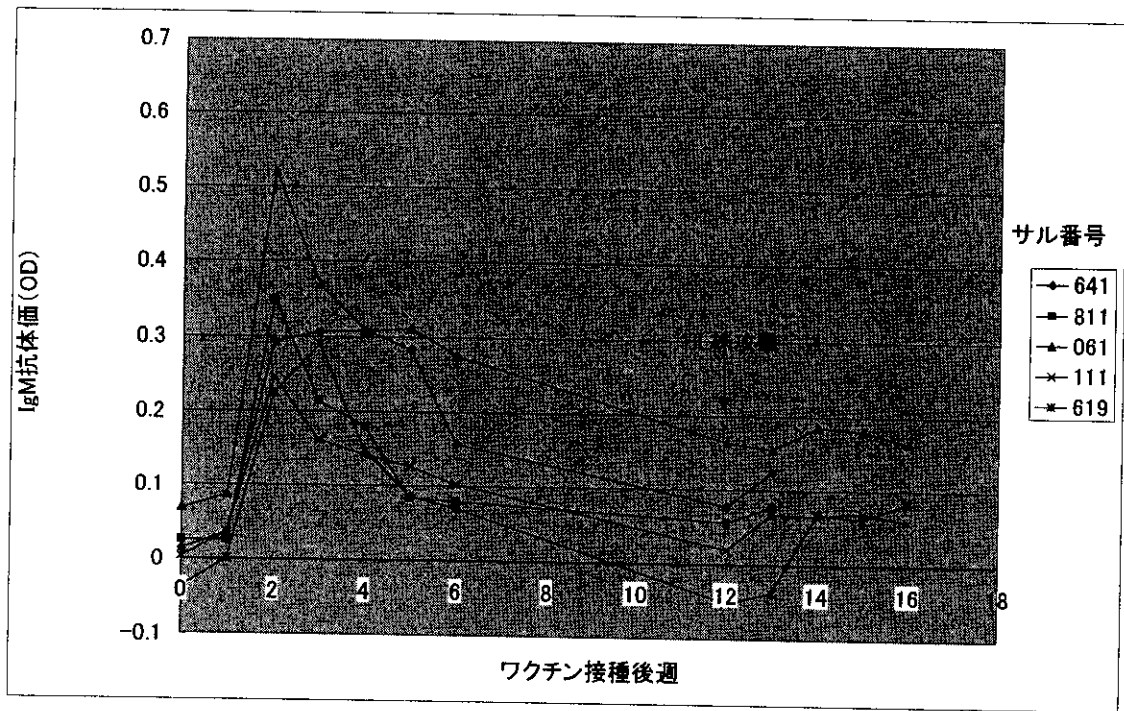


(2)皮下接種群

図4 受動免疫存在下で TD97 株を経鼻または皮下接種し、12 週後に HL 株で攻撃した時の抗麻疹中和抗体反応



(1) 経鼻接種



(2) 皮下接種

図5 受動免疫存在下で TD97 株を経鼻または皮下接種し、12 週後に HL 株で攻撃した時の抗麻疹 IgM 抗体反応

表5 受動免疫存在下でのワクチン接種サルへの感染防御試験

HL株攻撃後の末梢血，咽頭拭い液及び組織からのウイルスRNAの検出

(1) 末梢血

攻撃後週	経鼻接種群サル番号					皮下接種群サル番号					対照群サル番号	
	011	221	161	261	821	641	811	061	111	619	021	311
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
2	ND	ND	+	+	+	ND	ND	-	-	+	ND	ND
3	ND	ND	-	-	+	ND	ND	-	-	-	ND	ND
4	ND	ND	-	-	+	ND	ND	-	-	-	ND	ND

(2) 咽頭拭い液

攻撃後週	経鼻接種群サル番号					皮下接種群サル番号					対照群サル番号	
	011	221	161	261	821	641	811	061	111	619	021	311
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+
2	ND	ND	-	-	+	ND	ND	+	-	-	ND	ND
3	ND	ND	-	-	-	ND	ND	-	-	-	ND	ND
4	ND	ND	-	-	+	ND	ND	-	-	-	ND	ND

(3) 組織

組織名	経鼻接種群					皮下接種群					対照群	
	1週*		4週*			1週*		4週*			1週*	
	011	221	161	261	821	641	811	061	111	619	021	311
顎下リンパ節	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
腋窩リンパ節	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
鼠径リンパ節	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+
腸間膜リンパ節	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+
胸腺	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+
扁桃	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
脾臓	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
鼻粘膜	ND	ND	-	-	+	-	-	-	-	-	ND	ND

* ; 解剖時の攻撃後週数

(4) HL 株攻撃後のサル体内におけるウイルス増殖のスコア

検体	経鼻接種群			皮下接種群		
	161	261	821	061	111	619
末梢血*	2	2	4	0	1	2
咽頭拭い液*	1	1	3	2	0	1
合計	3	3	7	2	1	3
平均	4.3			2.0		
組織**	7	6	8	0	4	5
平均	7.0			3.0		

* ; 末梢血および咽頭拭い液中にウイルス RNA が検出されたサンプリングポイント数

** ; 解剖時に RNA が検出された部位の数

表6 受動免疫存在下でのワクチン接種サルの感染防御試験
病理組織学的検査

(1) 経鼻接種群

攻撃後解剖時期		1週		4週		
サル番号		011	221	161	261	821
中枢神経系	前頭葉	-	-	-	-	-
	側頭葉	+ ^m	+ ^m	-	-	-
	後頭葉	-	-	-	-	-
	視床	-	-	-	-	-
	小脳	-	-	-	-	-
	脳橋	-	-	-	-	-
	延髄	-	-	-	-	-
	脊髄	-	-	-	-	+ ^{pc}
	嗅球	-	-	-	-	-
	嗅球根部	-	-	-	-	-
	嗅神経	-	-	-	-	ND
	リンパ系	顎下リンパ	-	-	-	-
腋窩リンパ		-	-	-	-	-
鼠径リンパ		-	-	-	-	-
腸管膜リンパ		-	-	-	-	-
胸腺		-	-	-	-	-
その他組織	扁桃	-	-	+ ^{ci}	+ ^{ci}	+ ^{ci}
	鼻粘膜	-	-	-	-	+ + ^{ci}
	肺臓	-	-	-	-	-
	気管	-	-	-	-	-
	気管支	-	-	-	-	-
	脾臓	-	-	-	-	-
	肝臓	-	-	-	-	-
	腎臓	-	-	-	-	+ ⁱⁿ
	心臓	-	-	-	-	-

-, 病変なし; +, 軽度; ++, 中程度

pc, 脊髄軟膜の血管周囲に細胞浸潤; 脳橋実質の血管周囲に細胞浸潤; ci, 扁桃と鼻粘膜の腺小葉間に細胞浸潤; gc, aggn, リンパ節, 胸腺, 腎臓などに巨細胞の出現とその細胞凝壊壊死; in, 腎臓の尿細管間質に細胞浸潤