

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

受働免疫存在下での経鼻麻しんワクチンの感染防御試験－病理学的検索

分担研究者 大川時忠

（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、カニクイザルに受働免疫存在下でワクチンを経鼻または皮下接種し、10ヵ月後に HL 株で攻撃し、その病理変化を比較した。その結果、受働免疫存在下でワクチンを接種した群では、攻撃後 1 週または 4 週目の組織に軽度の病変が認められたのみで、ワクチン非接種群と比べて明らかに HL 株の増殖が抑制されており、ワクチンの効果が認められた。また、経鼻接種法により噴霧されたワクチンの体内分布を確認するため、墨汁をカニクイザルに経鼻接種し調べたところ、鼻腔当たり 0.25 ml の接種量では大半が食道から胃に流れていた。適切な接種量の検討が必要であった。

研究協力者 青木敦子（千葉県血清研究所）

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しん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いて有用性が期待される。また、麻疹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。経鼻接種法と皮下接種法は接種されたウイルスの一次増殖部位が異なることがこれまでの成績から示唆されており、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と推察されたので、これを検証するため、受働免疫存在下で経鼻と皮下接種法でワクチンを接種し、HL 株で攻撃後の病変を比較した。また、経鼻接種法により噴霧されたワクチンの体内分布を確認するため、墨汁をカニクイザルに経鼻接種し解剖して調べた。

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、体重2~3kg、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. 受働免疫用抗体

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 燐酸緩衝液 (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 $2^{13.3}$ であった。

## 3. 感染防御試験

ワクチン非接種対照群としてサルγグロブリンを 1.2ml/kg またはその2倍量カニクザルにそれぞれ1頭ずつ筋肉内に接種した。また、ワクチン接種群として 1.2ml/kg を10頭の筋肉内に接種し、その翌日翌日 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 $10^{5.2}$  TCID<sub>50</sub>/頭接種した。感染防御能をみるために、ワクチン接種後12週目に HL 株で攻撃した ( $10^{5.2}$ TCID<sub>50</sub>/頭 経鼻接種)。対照群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。

## 4. 組織学的検査

解剖時採取した各組織は、10%ホル

マリン燐酸緩衝液中で固定後、定法に従いヘマトキシリン・エオシン染色標本を作製し、鏡顕した。

## 5. 墨汁の経鼻接種

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) サルを扱う時は可能な限り苦痛を与えないように配慮した。

## C. 結果

1. 病理組織学的検査成績を表1(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頭の脊髄髄膜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、非接種群は接種後1週目に剖検したが、2頭中1頭のサルの中枢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症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。

## 2. 墨汁の分布

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（図1）。

#### D. 考察

受働免疫存在下で TD97 株を経鼻または皮下に接種し、その 12 週後に HL 株で攻撃し、1 週後または 4 週後に解剖し、病理変化を観察した。ワクチンを接種していない 1 週後対照群のサルは 2 頭中 1 頭の中枢神経系に広範な病変が認められた。また、リンパ系組織には 2 頭とも軽度から重症な病変が認められた。一方、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<sup>1)</sup>、この病変よりは強い傾向があった。これらのことより、HI 抗体価で 8 倍の受働免疫を持つサルに TD97 株を経鼻または皮下に接種した場合、完全ではないものの、ある程度の感染防御が成立したと考えられた。また、皮下接種と経鼻接種では差は認められなかった。

経鼻接種は、経鼻スプレー（キートロン社）を用いて実施してきたが、今回、接種後の液の体内分布を観察したところ、体重 2～3 kg のサルに接種された液の大部分は食道から胃に流れており、鼻粘膜及び扁桃で吸収される量は極微量と考えられた。今回の試験では経鼻接種法と皮下接種法で接種用量は同じであるが、実際に体内に入

った量は経鼻接種の場合皮下接種の 1/10 以下と考えられる。今後、最適な接種量を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

1. HI 抗体価で 8 倍の受働免疫を持つサルに TD97 株を経鼻または皮下に接種した場合、完全ではないものの、ある程度の感染防御が成立した。
2. 皮下接種と経鼻接種で HL 株攻撃後の差は認められなかった。
3. 効率的な経鼻接種量を検討する必要がある。

表1 受働免疫存在下でのワクチン接種サルへの感染防御試験  
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	+ <sup>m</sup>	+ <sup>m</sup>	-	-	-
	後頭葉	-	-	-	-	-
	視床	-	-	-	-	-
	小脳	-	-	-	-	-
	脳橋	-	-	-	-	-
	延髄	-	-	-	-	-
	脊髓	-	-	-	-	+ <sup>pc</sup>
	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	-	-	+ <sup>ci</sup>	+ <sup>ci</sup>	+ <sup>ci</sup>
	鼻粘膜	-	-	-	-	++ <sup>ci</sup>
	肺臓	-	-	-	-	-
	気管	-	-	-	-	-
	気管支	-	-	-	-	-
	脾臓	-	-	-	-	-
	肝臓	-	-	-	-	-
	腎臓	-	-	-	-	+ <sup>in</sup>
心臓	-	-	-	-	-	

- , 病変なし ; + , 軽度 ; ++ , 中程度

pc, , 脊髓軟膜の血管周囲に細胞浸潤 ; m, 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, agg.n, 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

(2) 皮下接種群

攻撃後解剖時期		1週		4週		
サル番号		641	811	061	111	619
中枢神経系	前頭葉	-	-	-	-	-
	側頭葉	-	+ <sup>m</sup>	-	-	-
	後頭葉	-	+ <sup>m,ch</sup>	-	-	-
	視床	-	.	-	-	-
	小脳	-	-	-	-	-
	脳橋	-	-	-	-	-
	延髄	-	-	-	-	-
	脊髄	-	-	-	-	-
	嗅球	-	-	-	-	-
	嗅球根部	-	-	-	-	-
	嗅神経	-	-	-	-	-
	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		++ <sup>gc</sup>	-	-	-	-
その他組織	扁桃	-	-	+ <sup>ci</sup>	+ <sup>ci</sup>	+ <sup>ci</sup>
	鼻粘膜	-	-	-	-	-
	肺臓	-	-	-	-	-
	気管	-	-	-	-	-
	気管支	-	-	-	-	-
	脾臓	-	-	-	-	-
	肝臓	-	-	-	-	-
	腎臓	+ <sup>in</sup>	-	+ <sup>in</sup>	+ <sup>in</sup>	+ <sup>in</sup>
心臓	-	-	-	-	-	

-, 病変なし; +, 軽度; ++, 中程度; +++, 重症

gc, 胸腺のリンパ節に巨細胞出現; in, 腎臓の尿細管に細胞浸潤; m,ch 後頭葉, 側頭葉の軟膜に細胞浸潤と側脳室の脈絡叢に細胞浸潤; ci, 扁桃の腺小葉間に細胞浸潤; in, 腎臓の尿細管間質に細胞浸潤

(3) ワクチン非接種対照群

サル番号		0 2 1	3 1 1
攻撃後解剖時期		1 週	1 週
中枢神経系	前頭葉	—	—
	側頭葉	—	—
	後頭葉	+ <sup>m</sup>	—
	視床	+ <sup>m</sup>	—
	小脳	+ <sup>ch</sup>	—
	脳橋	+ <sup>pc, ch</sup>	—
	延髄	+ <sup>m</sup>	—
	脊髄	+ <sup>m</sup>	—
	嗅球	ND	—
	嗅球根部	—	—
	嗅神経	—	—
	リンパ系	顎下リンパ	—
腋窩リンパ		—	—
鼠径リンパ		—	+ <sup>gc, agg, n</sup>
腸管膜リンパ		+ ~ ++ <sup>gc, agg, n</sup>	—
胸腺		++ ~ +++ <sup>gc, agg, n</sup>	++ <sup>gc, agg, n</sup>
その他組織	扁桃	+ <sup>ci</sup>	+ <sup>ci</sup>
	鼻粘膜	—	—
	肺臓	+ <sup>ip</sup>	—
	気管	—	—
	気管支	—	—
	脾臓	—	—
	肝臓	—	—
	腎臓	+ <sup>in, gc, agg, n</sup>	+ <sup>in</sup>
	心臓	—	—

—, 病変なし; +, 軽度; ++, 中程度

m, 脳脊髄の髄膜に細胞浸潤; pc, ch h, 脳橋実質の血管周囲に細胞浸潤; ci, 腺小葉間に細胞浸潤; gc, agg, n, 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; ip, 肺の間質に細胞浸潤; in, 腎尿管の間質に細胞浸潤



図1 カニクザルに経鼻接種した墨汁の体内分布

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
鈴木一義	経鼻麻しんワクチンの開発	BIO Clinic	15(8)	62-66	2000年



20000808

以降のページは雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、  
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。