原 著

はしか生ワクチンについて

第 4 編 はしか生ワクチン接種前後の免疫血清学的検査成績

日本医科大学付属第 1 病院小児科学教室

村 上 勝 美 関 谷 駿 一 山 本 正 生
Katsuyoshi Murakami Shunichi Sekiya Masao Yamamoto

赤 松 洋 山 本 博 章 金 子 家 和
Hiroshi Akamatsu Hiroaki Yamamoto Iekazu Kaneko

日本医科大学細菌学教室 (主任: 木村義民教授)

山 地 幸 雄 高 橋 昌 己 留 目 優 子
Yukio Yamazi Masami Takahashi Yūko Todome

緒 言

われわれは昭和 37 年度に 68 名の乳幼児に、はしか生ワクチン (麻疹ワクチン) を接種し、第 2 編において Edmonston 株 (Enders ワクチン)、杉山株 (伝研ワクチン) および豊島株 (微研ワクチン) のいずれのワクチンの場合でも、90%以上の発熱と 50%以上の発疹を認め、臨床反応の顕著なことから、および Gamma-Globulin (以下 G.G と略す) を併用することによって、それらの臨床症状を或る程度軽減できることを述べたが、昭和 38 年度にはさらに同地区住宅の 66 名の麻疹未罹患乳幼児について、微研ワクチン (豊島株) の噴霧吸入と皮下注射による場合の接種成績の比較検討を行ない、ほぼ同様の結果を得た。麻疹ワクチン研究会の集計も既に発表されているが^{2), 3)}、本編では昭和 37 年・38 年度の両年度にわれわれが担当した、麻疹ワクチン接種乳幼児のワクチン接種前後の血清学的検査成績を中心に、免疫血清学的検討を行ない、あわせて G.G の併用について若干の考察を行なったので報告する。

実験対象並びに実験方法

昭和 38 年度の対象者の臨床反応の調査は、第 2 編で記述したと同様の方法で行なった。

血清学的検査は、昭和 37 年度および昭和 38 年度の対象者の、ワクチン接種前と接種後 4 週後に採血し得た血清について、中和試験と補体結合試験を行なった。血清反応の術式は麻疹ワクチン研究会の方法^{2), 3)}によったが、以下にその概略を記す。

中和試験: 被検血清を Hank's BSS で 2 倍に希釈して、57°C 30 分非働化した後、その 2 倍階段希釈液 (2×~1024×)、および対照として Hank's, BSS に、等量の FL 細胞継代 Edmonston 株ウイルス液 (100 TCID₅₀/0.1 ml) を混和し、室温に 60 分放置した。これらの virus-serum mixture は、その 0.2 ml ずつを、0.9 ml の維持培地 (3% コウシ血清 YLE) を入れた 4 本ずつの FL 細胞単層培養 tube に接種した。毎回同時に、使用ウイルスの再測定を行なった。すなわち、上記の Incubation を行なった対照ウイルス液の 10 倍階段希釈を行ない、その 0.2 ml ずつを FL 細胞 tube 5 本ずつに接種した。tube は 37°C に培養し、必要に応じて維持培地の交換を行なった。培養 7 日後より毎日細胞の C.P. を検し、対照ウイルス液の 10⁻¹ 希釈を接種したすべての tube に明らかな C.P. の認められたとき (通常、約 10 日後)、判定を終った。中和の 50%終末点は Reed and Muench (1938) の法により計算し、中和抗体価は、ウイルス液添加前の血清希釈倍数の log 2 で算出した。

補体結合試験: Kolmer の微量法 (微量補体結合反応術式、予研リケッチアウイルス部第 4 室編) を用いた。抗原は Edmonston 株を感染させて強い C.P. を生じた FL 細胞培養を、3 回凍結融解を行なった後、25,000 rpm 15 分遠心した上清を、抗原価 2 単位に調整して用いた。血清は非働化済みのものを 4×~1,024×の 2 倍階段希釈で試験した。反応は血清 1 滴、抗原 1 滴、補体 2 full unit (2 滴) を混合して 4°C 1 液

表1 昭和38年度ワクチン*接種者の臨床反応

		対 象	発 熱					発 疹			不 元 気			食 欲 不 振			消 化 器 類 症 状			班	目ヤ	結膜充	鼻汁	咳	瘰癧			
			初 発 日	終 日	接 続 数	最 高 体 温		初 発 日	終 日	持 続 日 数	初 発 日	終 日	持 続 日 数	初 発 日	終 日	持 続 日 数	初 発 日	終 日	持 続 日 数	初 発 日	終 日	持 続 日 数	初	初	初	初	初	初
						体 温	病 日																					
皮 下 接 種	%	33名	94.0					87.9			87.9			94.0			67.7			6.1	30.3	39.4	36.4	48.5	6.1			
	平均 (病日)	(2)	5.3	9.0	4.9	(°C) 39.6	7.2	9.9	12.8	4.5	5.8	10.6	5.8	5.9	10.3	5.6	7.9	9.8	2.5	7.5	7.5	6.6	5.4	7.3	5.0			
吸 入	%	33名	97.0					87.9			87.9			91.0			48.5			9.1	27.3	39.4	54.5	48.5	3.0			
	平均 (病日)	(1)	6.8	10.4	4.5	(°C) 39.3	8.4	10.6	14.2	4.6	7.8	11.3	4.5	7.8	11.9	5.1	8.3	9.9	2.6	8.7	8.3	7.9	8.0	7.4	6.0			

* 微研ワクチン 皮下接種は0.25 ml 皮下注射 (Lot 19) ( ) 内は接種前抗体所有者
吸入は Nebulizer で1分間噴霧吸入 (Lot 16)

表2 昭和38年度ワクチン接種前後の抗体保有状況

接種 法	接種前(%)		接種4週後		接種後抗体価 の幾何平均値	
	NT	CF	NT	CF	NT	CF
皮下	2/30 (6.7%)	0/30	25/25 (100%)	25/25 (100%)	111×	13×
吸入	1/32 (3.1%)	0/32	31/31 (100%)	27/28 (96.4%)	73×	12×
計	3/62 (4.8%)	0/62	56/56 (100%)	52/53 (98.1%)	90×	12×

NT: 中和試験, CF: 補体結合試験
抗体価4×以上の例数/被検例数

さらに室温分放置した後、感作ヒッジ血球液 (20 単位: hemolysin+2.5% ヒッジ血球: 37°C 30 分) 2 滴を加え、37°C 30 分後さらに 4°C 30 分で判定した。判定は、100% 溶血から不溶血にいたる間を、0,1,2,3,4 の3段で記録し、終末点は3または4をとった。

成 績

昭和38年度の臨床反応および抗体産生: 表1の如く、66名の乳幼児の臨床反応は、第2編¹⁾で述べた昭和37年度のそれとほぼ同様であり、接種前に抗体を所有した皮下接種群2名と、吸入接種群1名の計3名を除いて、全例に発熱を認め、臨床反応および抗体産生の面からも微研ワクチンの皮下注射と吸入の接種法による差異は認められなかった(表2)。

昭和37年度の血清学的検査成績

1) 生ワクチン単独群, G.G 併用群と Placebo 群に分けて、おのおのの Edmonston の豊島および杉山株による場合の成績を比較してみると Placebo 群では、1名の接種前抗体所有者と3名の自然麻疹患者を除けば、抗体陽転者を認めなかった。生ワクチン単独群と G.G. 併用群とでは、抗体の陽転率に差はなく、いずれも96%の陽転率を示し、Edmonson, 豊島および杉山株のいずれの群においても高い陽転率(89~100%)がみられた(表3)。抗体の幾何平均値もほぼ同様

表3 ワクチン接種前後の抗体所有率(陽転率)

(1) 生ワクチン単独群

ワクチン グループ	接種前(%)		接種4週後(%)	
	NT	CF	NT	CF
1	0/7	0/7	6/6(100%)	6/6(100%)
4	0/10	0/10	8/9 (89%)	8/9 (89%)
7	0/10	0/10	9/9(100%)	9/9(100%)
計	0/27	0/27	23/24(96%)	23/24(96%)

(2) G.G 併用群

ワクチン グループ	接種前(%)		接種4週後(%)	
	NT	CF	NT	CF
2	0/7	0/7	7/7(100%)	7/7(100%)
5	0/19	0/19	16/17(95%)	16/17(95%)
8	0/5	0/5	4/4(100%)	4/4(100%)
計	0/31	0/31	27/28(96%)	27/28(96%)

第2編のワクチングループ5'・5''は5として総括した

(3) Placebo 群

ワクチン グループ	接種前(%)		接種4週後(%)	
	NT	CF	NT	CF
3	1/7(14%)	0/7	4*/7	3**/7
6	0/8	0/8	0/8	0/8
9	1/3(33%)	0/3	1/3	0/3
計	2/18(11%)	0/18	5/18	3/18

* 1名は接種前抗体所有者、3名は自然麻疹患者

** 自然麻疹患者

ワクチングループ: 第2編¹⁾ 参照

で、中和抗体価 64×, 補体結合抗体価 18×であり、生ワクチン単独群と併用群の間に差はなかったが、杉山株の生ワクチン単独群では他よりも僅かに高い抗体価がみられた(表4)。

また昭和37年度1名、38年度3名の接種前中和抗体所有者は生ワクチン接種後も補体結合抗体の上昇を

表4 ワクチン接種後の抗体価の分布と幾何平均値
(1) 中和抗体価

ワクチン グループ	血 清 稀 釈 倍 数								幾何平均 値
	<4×	4×	8×	16×	32×	64×	128×	256×	
生 単 ワ ク チ ン	1				3	2		1	42×
	4	1	1		1	2	1	2	42×
	7				1	1	1	4	137×
G併 ・用 G群	2				1	2		4	73×
	5	1			4	4	3	3	59×
	8				1		3		55×
計	2	1	1	10	10	9	12	7	64×

(2) 補体結合抗体価

ワクチン グループ	血 清 稀 釈 倍 数								幾何平均 値
	<4×	4×	8×	16×	32×	64×	128×	256×	
生 単 ワ ク チ ン	1			1	3	1	1		9×
	4	1		1	3	2	2		17×
	7			2	1	2	4		29×
G併 ・用 G群	2			2	2	2	1		19×
	5	1		4	7	5			14×
	8		1		1	1	1		19×
計	2	1	10	17	13	9			18×

認めず、昭和 38 年度において中和抗体は上昇したが、補体結合抗体の上昇を併なわなかつた例が 1 例あった。

2) 昭和 37 年度麻疹ワクチン研究会の集計成績(表 5)を参照すると、中和抗体の陽転率と幾何平均値においては、生ワクチン単独群と G.G 併用群との間で差異は認められないが、豊島株は僅かに陽転率が低

かつた。また年令別の陽転率では、豊島株の 1 才以下の年令群でやや低値を示した他は、年令に差は認められなかつた。

3) 発熱と抗体上昇との関係を観ると、われわれの対象者で、抗体の上昇しなかつた杉山株の生ワクチン単独群(4)の 1 例は発熱を認めているが、全国集計²⁾を参照すると、発熱がある場合の抗体陽転率は、生ワクチン単独群と G.G 併用群で、いずれも 91%であるが、発熱を示さずに抗体上昇を認めたものは、生ワクチン単独群で 28%、G.G 併用群では 49%で、われわれの例でも、G.G 併用群で発熱を認めなかつた 4 例中 3 例において抗体上昇を認めた。

考 按

第 2 編¹⁾において、われわれはわが国で開発されたはしか生ワクチン、杉山株(伝研ワクチン)および豊島株(微研ワクチン)は、人体接種試験において、Enders の Edmonston 株と、ほぼ同様の臨床反応を示し G.G 併用接種によって或る程度発熱、発疹などの出現頻度を減じうることを述べたが、血清学的検査成績でも、ワクチン接種後の抗体の陽転率および抗体価の幾何平均値もほぼ同様で、上記 3 種のワクチンの間に有意差はなく、国産ワクチンは Enders ワクチンに比して、何ら遜色のないことが明らかとなり、松本教授、奥野教授によって開発されたワクチンの優秀性が実証され、従来噴霧吸入法によって接種された微研ワクチンも、皮下接種法で用いることができることがわかつた。なお全国集計²⁾で豊島株の陽転率が僅かに低かつたのは、われわれも経験した様に噴霧吸入の際の技術的な問題と考えられる¹⁾。

表 5 ワクチン接種後中和抗体の陽転率と幾何平均値(群別・年令別)(昭和37年度麻疹ワクチン研究会全国集計)

ワクチン 群	年令	8 ヶ月以下	8 ヶ月～1 才	1 才～2 才	2 才～3 才	3 才～4 才	4 才～5 才	5 才以上	計
		陽転率 % 幾何平均値	陽転率 % 幾何平均値	陽転率 % 幾何平均値	陽転率 % 幾何平均値	陽転率 % 幾何平均値	陽転率 % 幾何平均値	陽転率 % 幾何平均値	陽転率 % 幾何平均値
1	陽転率 %	100.0 (5)	88.9 (9)	100.0 (50)	97.8 (46)	100.0 (42)	100.0 (18)	100.0 (12)	98.9 (182)
	幾何平均値	182×(5)	151×(8)	162×(50)	140×(45)	102×(42)	99×(18)	66×(12)	126×(180)
4	陽転率 %	100.0 (3)	100.0 (22)	98.8 (81)	100.0 (40)	100.0 (34)	93.5 (15)	37.5 (8)	98.2 (203)
	幾何平均値	115×(3)	144×(22)	146×(80)	140×(40)	69×(34)	105×(14)	109×(7)	120×(200)
7	陽転率 %	50.0 (2)	69.3 (26)	62.5 (48)	80.0 (45)	72.1 (43)	76.1 (25)	98.9 (9)	72.2 (198)
	幾何平均値	182×(1)	226×(18)	217×(30)	204×(30)	204×(31)	135×(19)	64×(8)	186×(143)
2	陽転率 %	71.5 (7)	100.0 (10)	98.3 (60)	97.9 (45)	94.8 (38)	94.1 (17)	87.5 (8)	95.6(185)
	幾何平均値	69×(5)	137×(10)	112×(59)	100×(44)	81×(36)	80×(16)	65×(8)	95×(177)
5	陽転率 %	66.7 (6)	100.0 (18)	97.0 (66)	90.5 (42)	84.7 (26)	88.3 (17)	92.3 (13)	92.0 (188)
	幾何平均値	70×(3)	162×(18)	139×(64)	98×(38)	99×(22)	130×(15)	60×(12)	116×(173)
8	陽転率 %	33.3 (3)	62.0 (21)	74.5 (47)	68.2 (44)	83.3 (36)	85.0 (20)	81.2 (16)	74.4 (187)
	幾何平均値	90×(1)	170×(3)	131×(35)	134×(30)	87×(30)	68×(17)	122×(13)	139×(139)

( ) 内は検索例数

G.G 併用接種に関する研究は、これまで、Enders ワクチンを用いた報告は数多くある^{4)~18)}。G.G は臨床反応を軽減し、抗体産生を抑制することなく、免疫効果も満足すべきものであるとの報告もあり^{5), 7), 10), 11)}、われわれが参加した麻疹ワクチン研究会の全国集計³⁾においても、生ワクチン単独群と G.G 併用群で、抗体の陽転率および幾何平均値に有意差は認められなかったが、G.G は、それに含まれるはしか抗体の量が不定である他に、抗体産生を阻止する場合があるので、G.G 併用については、種類の未解決の問題を含んでいると思われる。

実際問題として、どの程度の G.G 量ならば適当であるかの点が大切である。Stokes⁴⁾、Hilleman⁸⁾ らは 1,000 TCID₅₀ のワクチンに 40 unit of Measles Antibody/lb(市販のヒト免疫グロブリンの約 0.002 ml/kg の G.G 併用が、はしかを modify するに適当であると結論しているが、80 unit/lb の G.G は 100% に自然麻疹を阻止するといわれている。

生ワクチン単独による抗体は、量的にも自然麻疹と区別できず、持続も自然麻疹と parallel と考えられているが²⁰⁾、G.G 併用による抗体の陽転率は、いずれの報告^{4), 5), 6), 9), 11), 29), 50)}も 95% 以上で高いとはいえ、抗体価の幾何平均値を観るに、自然麻疹または生ワクチン単独の場合の 1/4~1/5 であると報告されている^{1), 5)}。

またワクチンの接種時期および抗体上昇と年齢との関係であるが、1才以下の乳児の臨床反応は軽微であり抗体上昇も低いことはすでに報告されている^{16)~18)}。その理由としてこの時期には母体抗体 (Maternal Antibody) がまだ残存しているためか、もはや Titer は測定不能ではあるが、一応低い Titer を有するためと考えられているが、このことは罹患率と死亡率の最も高いこの年齢期には、ワクチン接種に信頼がおけないということの意味している。更に Martin らは¹⁶⁾、5才以上の年長児に G.G 併用でワクチン接種を行なうと、ワクチンの抗原性を著明に低下させると述べていることも注目値する。

接種前の抗体が少なければ、生ワクチン接種で booster 効果が得られることは、既に知られている事実である¹⁹⁾。われわれの経験でもワクチン接種によって

中和抗体価の上昇(4×→128×)を認めた例があつた。この事実は麻疹抗体の終生持続と再曝露 (Re-Exposure) との関係、および不活化ワクチンを併用する可能性の存在を示唆している。

なお次編³⁶⁾で詳述するように、中和抗体は補体結合抗体より高い Level の抗体価が得られ、陽転率も優れている。しかるに補体結合抗体は中和抗体よりおくれて出現し、かつ早く下降を始め、もはや再感染または生ワクチン接種にも response しないといわれている。

結 語

1. 昭和 37 年度に引続き、昭和 38 年度に行なつた、同一地区住宅の 66 名の乳幼児における、微研ワクチン (豊島株) 接種による臨床反応は、昭和 37 年度のそれとほぼ同様で、噴霧吸入法および皮下注射法による接種法の差異はなく、また血清学的成績にも、両者間の差異は認められなかった。

2. 昭和 37 年度対象児の血清学的検査成績では、Edmonston、豊島および杉山株のいずれのワクチン群でも、高い陽転率 (89~100%) を示し、生ワクチン単独群と G.G 併用群の間でも、抗体の陽転率 (96%) および幾何平均値に有意差を認めなかった (中和抗体価 64×、補体結合抗体価 18×)。

3. わが国の国産ワクチン (杉山株 (研伝ワクチン) 豊島株 (微研ワクチン)) は臨床反応および免疫血清学的成績において、Enders の Edmonston 株に比し何ら遜色のないことが明らかとなつた。

4. われわれの経験および麻疹ワクチン研究会の全国集計でも G.G 併用接種は或る程度臨床反応を軽減し、また抗体産生が抑制されるような成績は認められていないが G.G 併用接種およびワクチンの接種時期について、文献的考察を行ない検討を加えた。

5. はしかの中和抗体および補体結合抗体の免疫学的意義についても言及した。

本研究は麻疹ワクチン研究会 (会長釜洞醇太郎教授) の接種部会 (部会長西沢義人教授) のメンバー (村上勝美) として行なわれたもので、釜洞、西沢両教授に謝意を表し、また血清学的検査にご教示、ご援助をいただいた本学木村義民教授、予研北岡正見、矢戸亮の両部長に深謝する。

なお本論文の要旨は昭和 38 年 3 月 2 日および昭和 39 年 4 月 17 日、大阪関電ビルで行なわれた麻疹ワクチン研究会総会席上で報告した。文献は第 6 編末尾に一括する。

(受付: 1965 年 8 月 22 日)