

Title	風疹ウイルス生ワクチンに関する研究
Author(s)	峯川, 好一
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29697
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	峯 川 好 一 みね かわ よし いち
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1 6 5 2 号
学位授与の日付	昭 和 4 4 年 3 月 2 8 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 病 理 系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	風疹ウイルス生ワクチンに関する研究
論文審査委員	(主査) 教 授 奥 野 良 臣 (副査) 教 授 釜 洞 醇 太 郎 教 授 蒲 生 逸 夫

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

妊婦が殊に妊娠の3ヶ月迄に風疹に罹患すると高率に奇形，所謂先天性風疹症候群の子供が生れることはよく知られている。その為これを予防するのに有効なワクチンの開発が望まれ，それに適するワクチン株確立の為に種々研究されている現状にある。

しかし風疹ウイルスの宿主域は比較的限定されている為にウイルス弱毒化に適した初代培養細胞が容易に得られない。そこで著者は風疹ウイルス新鮮分離株を比較的廉価に入手出来しかも扱い易い発育鶏卵の羊膜腔に馴化させるべく種々の試みを行ない，1株（松浦株）を馴化させることが出来た。

発育鶏卵継代6代のものについて弱毒化を示す *in vitro* marker の一つとして温度に対する感受性を検討し，更に11代継代のものと共にカニクイザルに試験的に接種し，免疫原性，臨床反応及び咽頭からのウイルス回収について検討した。

〔 方 法 〕

1) ウイルスと細胞

1966年春大阪地方に風疹の流行があった時，臨床的に診断された風疹患者の咽頭拭い液からアフリカミドリザル腎細胞 (GMK) における干渉法を利用して干渉因子を3株分離した。これらの干渉因子は別に準備した風疹ウイルス標準株 (Baylor 株) に対する家兎免疫血清によって中和同定し，風疹ウイルスであることを確認した。

2) 発育鶏卵への接種と継代

発育鶏卵羊膜腔への接種にはこれらの株を GMK 細胞における継代数6代から19代の間で使用した。発育鶏卵は市販のものを7日～8日卵で使用し，32°C で7日間培養した後羊膜を採取，0.2%に gelatine を含む燐酸緩衝液を羊膜1ヶにつき 3ml 加えて homogenize し，更に2,500回転30分間遠

沈した上清を原液継代した。ウイルス感染価は GMK 細胞における50%干涉価 (InD₅₀) で測定した。

〔成 績〕

1) 発育鶏卵への馴化

風疹ウイルスを発育鶏卵において継代出来るという報告は未だない。Fuccillo 等の報告によるとニワトリ胎児線維芽細胞ではよく増殖するが発育鶏卵羊膜腔では occasional growth がみられるに過ぎないと述べている。著者も唯単に原液継代するだけでは3代～4代目ですっかり感染価が消失してしまうことを経験したが、発育鶏卵を2代継代後 GMK 細胞を1代継代して再び発育鶏卵継代を続けることによりその後一定の感染価を維持することが出来た。これらは数代継代する毎に家兔免疫血清で中和同定し、風疹ウイルスであることを確認した。

2) ME 6 株 (松浦株発育鶏卵6代ヒト胎児腎細胞1代継代のもの) の温度感受性試験

ME 6 株の温度に対する感受性をみる為に2つの実験を行なった。即ち 50°C における耐性試験では対照に用いた標準株の Baylor 株が最も耐性が弱く次いで ME 6 株であるが、比較的野性に近いと思われる松浦株の GMK 細胞継代4代のもの (M4 と略称) は最も耐性が強いという結果が得られた。次に GMK 細胞での増殖に対する種々の温度の影響をみた実験では、3株の間に著明な差はみられなかったが、長く試験管内で継代された Baylor 株は広範な温度下において安定した増殖力を持っていることが判った。

3) カニクイザル接種試験

ME 6 株及び ME 11 株 (松浦株発育鶏卵11代ヒト胎児腎細胞1代継代のもの) を夫々4頭のカニクイザルの大腿部筋肉内に 0.5 ml づつ注射したが、両者共臨床症状は全く無く、しかも十分な免疫原性を示した。即ち ME 6 株接種群では接種後11日目には既に HI 抗体、中和抗体共上昇しており、又 ME 11 株接種群では ME 6 株よりも少し遅れて、13日目になって全例に、HI、中和抗体共上昇して来た。両接種群共抗体価は3週目に最高値に達するが、この時の平均抗体価は ME 6 群の方が約2倍高い。その後4週目にかけて少し減少した後少くとも7～8週目迄は十分高い水準にとどまった。しかし接種したウイルスは ME 6 群では8日目に2頭から、ME 11 群では10日目に1頭から夫々再分離された。

〔総 括〕

風疹ウイルス新鮮分離株を発育鶏卵羊膜腔に馴化させることが出来た。発育鶏卵6代継代の松浦株 (ME 6 株) は、GMK 細胞のみを4代継代した株 (M4 株) に比べ温度耐性試験において差がみられた。ME 6 及び ME 11 株を夫々4頭のカニクイザルに接種すると、発熱その他の臨床症状は全く無く、しかも十分高い抗体を産生した。しかし未だ合計3頭の咽頭からウイルスが回収された。

論文の審査結果の要旨

アフリカミドリザル腎細胞における干涉法を利用して3株の風疹ウイルスを分離した。この中の1株を発育鶏卵羊膜腔に馴化することが出来た。発育鶏卵を6代及び11代継代した株は両者共、カニク

イザルに対し高い免疫原性を示し、抗体価は中和抗体及び血球凝集抑制抗体共、少くとも2ヶ月後までは十分高い値を維持した。