



Title	風疹性ワクチンに関する研究
Author(s)	鈴木, 紀元
Citation	大阪大学, 1971, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30266
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 3 】

氏名・(本籍)	すず 鈴	き 木	のり 紀	もと 元
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	2224	号	
学位授与の日付	昭和46年3月25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 深井 孝之助 教授 蒲生 逸夫			

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

風疹は軽症の発疹性ウイルス疾患であるが、妊娠初期の婦人がこれに感染すると、高率に先天異常児の出生をみるのが、主に米国や沖縄での大流行に際して経験され、これを予防すべく、ワクチンの開発に多くの努力が払われている。本研究では、安全で有効なワクチン株を得るために、わが国で分離同定されたウイルス株を、発育鶏卵羊膜腔 (E) および初代ブタ腎組織培養細胞 (PK) で継代することにより、その弱毒化を目的とした。

〔 方法ならびに成績 〕

- (1) 風疹ウイルス 当研究室での分離株である 松浦 株の E 継代11代目のもの (ME11) を出発材料として、さらに E で数代継代してみたが、産生ウイルス量はかなり低値 ($10^{0.3} \text{InD}_{50}/0.1 \text{ml}$ 以下) を示し、かつ不安定であった。一方、その他の種々の動物細胞についても検討したところ、PK でのウイルス産生が良好 ($2.5 \times 10^3 \sim 6.2 \times 10^4 \text{PFU}/0.2 \text{ml}$) であることが判った。そこで ME11 を E で3代継代し (ME14)、これをさらに PK で12代継代したもの (ME14 PK12)、ME14 をさらに E で3代継代し (ME17)、これを PK で8代、14代および23代継代したもの (ME17 PK8, ME17 PK14 および ME17 PK23) の4種を試験生ワクチンとして使用した。なお、サルでの接種試験では、ME17 を PK で5代継代したもの (ME17 PK5) と ME17 PK8, ME17 PK14 および ME17 PK23 を用いた。
- (2) PK での継代 培地として lactalbumin 加 Earle's BSS を用い、適当な条件のもとでウイルスを培養し、凍結融解を行なったのち、遠沈し、その上清を原液継代した。ワクチンとして harvest する場合は、gelatin, erythromycin および kanamycin を加えた medium 199 を用いて培養し、凍結融解のち遠沈し、上清に適当な安定剤を加えて 1ml ずつアンプルに分注して凍結乾燥した。接種時には、滅菌蒸留水で元の量に復元し、その 0.5ml をサルに、0.25ml をヒトに接種した。
- (3) 赤血球凝集抑制 (HI) 試験 抗原には M-33 株を BHK 21 細胞で培養し、Tween 80—ether 処理

を施したのち、凍結乾燥したものを、希釈液にはM/100 リン酸緩衝食塩水 (pH6.4) を、血球としては1日ニワトリヒナの赤血球を0.33%に浮遊させたものを用いた。なお術式は通常のマイクロタイター法によった。

(4)ウイルスの定量法 ME14をPKで継代し始めて以後は、RK-13細胞を用いたプラック法によった。各ワクチンの力価をPFU(plaque forming units)/0.5mlで示すと次の通りである。ME14PK12: 1.25×10^4 、ME17PK5: 2.5×10^3 、ME17PK8: 7.5×10^3 、ME17PK14: 2.5×10^3 、ME17PK23: 2.5×10^4 。

(5)サルでの接種試験 各ワクチンをそれぞれ3~4頭のカニクイザルの大腿部皮下に接種し、臨床反応の有無に注意しながら、適当な時期に採血し、血清HI抗体価を測定した。

(6)ヒトでの試験接種 1~10才の健康小児を対象として、接種直前と接種後の適当な時期に採血し血清HI抗体価を測定した。また接種後約20日間にわたって、発疹、発熱、リンパ節腫脹などの臨床反応の有無を調べ、一部のものについては、接触感染の有無を、HI抗体価を指標にして調べた。

(1)サルでの実験成績 いずれのワクチンも十分な血清HI抗体価の上昇をもたらし、臨床反応については何ら症状を認めなかった。

(2)ヒトでの試験接種の成績 概要を示せば次表の通りである。

ワクチン	発疹 (%)	発熱 (%)	陽転率	接種後の平均抗体価
ME14PK12 (卵14代ブタ12代)	7/22 (31.8)	6/22 (27.3)	15/15	$2^{7.4}$
ME17PK8	6/36 (16.7)	6/36 (16.7)	15/15	$2^{7.1}$
ME17PK14	5/29 (17.2)	3/29 (10.3)	22/22	$2^{7.0}$
ME17PK23	10/56 (17.9)	4/56 (7.1)	36/36	$2^{7.3}$

なお、平均最高体温は、いずれのワクチンにおいても大差なく、38℃前後であり、発疹の程度はME17のグループでは、PKでの継続が進んだものほど軽かった。

(3)ME17PK23のウイルス量を1/10にして13人に接種したところ、臨床反応は皆無であり、陽転率は100%、接種後の平均抗体価は $2^{6.7}$ であった。

(4)計14人について調べた結果、同胞への感染は認められなかった。

〔総括〕

当研究室での分離株で発育鶏卵羊膜腔継代の風疹ウイルス松浦株を、初代ブタ腎組織培養細胞(PK)に馴化継代することに成功した。PKでのウイルス産生は良好で、継代ウイルスは、動物実験および小児での試験接種において、免疫原性を十分保持し、かつ弱毒化されていることが確認された。また被接種者から接触者への感染性も認められなかった。これによって、小児を対象とした、安全かつ有効な風疹生ワクチンの基礎研究が確立されたものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

妊婦が風疹に感染すれば、先天性奇形児が高頻度に出生することが近年重視され、風疹予防のためのワクチンの開発が大いに期待されている。

本研究の結果、ブタ腎細胞での継代弱毒化により、臨床反応が少なく、接触感染の恐れのない、し

かも高度の免疫を得る弱毒風疹生ワクチンの製造が可能となった。また、ここで初めて使用されたブタ腎細胞においては、外来性因子を除外することが可能であり、本研究は、安全有効な風疹生ワクチンの実用化を促進し、風疹予防の面で多大の貢献をなし得るものと考えられる。