

## 風疹生ワクチンの試験接種とその効果

明石 光伸・三舟求真人

長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学部門  
(主任 林 薫 教授)

Antibody response after the vaccination with live attenuated rubella virus vaccine.  
Mitsunobu AKASHI and Kumato MIFUNE (Department of Virology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University)

**Abstract:** One hundred and eighty unmarried young women were examined for rubella hemagglutination-inhibition (HI) antibody in their sera and then administered subcutaneously with live attenuated rubella virus vaccine (Kaketsuken, Lot 6-2, GMK<sub>3</sub>, SK<sub>60</sub>, RK<sub>6</sub>). Twenty-three (13%) of 180 individuals were seronegative for rubella HI antibody. When these susceptible subjects were immunized with single injection of the vaccine, all individuals manifested high levels of HI antibody response 6 weeks later. The remaining one hundred and fifty-seven individuals who were seropositive were also injected with the vaccine. The results indicated that in 70% of these individuals, HI antibody titers increased more than 2 times of the original titers and that the antibody response was higher in those whose original antibody titers were lower levels. Slight clinical reactions such as swelling of lymphnode and joint pain were observed only in 4 cases, but these cases were all from those who had possessed the antibody at the time of vaccination. No virus was recovered from the pharyngeal swabs which were collected from vaccine recipients on day 7, 11, 13 and 15 after administration of the vaccine.

Tropical Medicine, 16(4), 157~162, February, 1975

## 緒 言

風疹は特有な発疹, 発熱, リンパ節腫脹を主徴とする伝染性疾患で, 主として幼児, 学童に流行し, それほど重篤な疾患ではなく, 予後も良好である。しかし, 妊娠早期の妊婦が本症に罹患した場合, 出生児に白内症, 難聴, 心疾患などの奇形を伴う, いわゆる先天性風疹症候群児が生まれ易いことを, 1941年 Gregg (1941) が明らかにして以来, 本症の予防が重要視されてきた。その後, 妊婦の風疹感染による先天異常の発生は, 世界各地で認められたが, 米国において, 1963年から 1964年にかけて, 風疹の大流行があり,

そのために2万名以上の先天性風疹症候群児の発生をみた (Cooper et al., 1965)。一方わが国においても, これに続いて 1964年から 1965年にかけて, 沖縄地方に風疹の大流行があり, その後植田ら (1970) の調査によると, 先天性風疹症候群児の発生は類似患者を含めると, 600余名に及んでいる。これら先天異常児の発生は, 大きな社会問題となり, 本症の予防の必要性が痛感され, わが国においても, 1969年以来風疹生ワクチンの開発がおしすすめられている。

1970年長崎地方における風疹ウイルスの血清疫学的調査 (Mifune et al., 1973) によると, 15才から30才の青年女子 (妊婦可能年令) で, いまだ 28% が風疹

ウイルスに対する抗体を保有していないことが明らかになった。

そこで今回は、これらの年齢層をワクチン接種対象とし、現在開発されつつある風疹生ワクチンを使用して、その抗体産生能、及び臨床反応を調べ、今後のワクチン接種実施に資することを目的として、風疹生ワクチンの試験接種を行なったのでその成績について述べる。

## 材料及び方法

### 1) 使用ワクチンと接種方法

熊本化血研、野中博士より分与いただいた風疹生ワクチン Lot 6-2, GMK<sub>3</sub>, SK<sub>60</sub>, RK<sub>6</sub> を使用した。接種方法は、規定された希釈液を用いて溶解し、その 0.5 ml を皮下に接種した。

### 2) 対象者

長崎県立保健看護学校学生 40名、長崎大学医学部附属看護学校学生 111名、長崎大学教育学部学生 7名、某町青年団員 18名、長崎大学熱帯医学研究所職員 4名計 180名の未婚青年女子を対象とした。

### 3) 血清の採取

ワクチン接種の直前と、接種 6 週後、8 週後の 3 回採血を行ない、血清を所定の方法で分離し、HI 試験に供試するまで -20℃ のフリーザーに保存した。

血清のインヒビターの除去は、須藤ら (1968) の方法に従い、25% カオリン処理を行なったのち、さらに 50% ニワトリヒナ血球を加え 4℃ 1 時間処理して、4 倍希釈とし、56℃ 30 分非働化を行った。

### 4) 赤血球凝集抑制 (HI) 試験

予研のマイクロタイター法に従い、処理血清を 2 倍階段希釈し、HI 試験用抗原 4 単位 / 0.025ml を加え室温 60 分間反応後、0.2% ニワトリヒナ血球 0.05 ml 滴下混和し、4℃ 60 分間反応後、室温にもどし 15 分間放置して判定した。

使用血球は、予め注射筒に acid-citrate-dextrose

(ACD) 液を少量入れたものにニワトリヒナ血球を採血し、生理的食塩水で数回洗浄し、ブドウ糖ゲラチンペロナル緩衝液 (DGV) に浮遊後 4℃ で保存した。採血後は 1 日～10 日を使用期限とした。抗原及び血清の希釈液には pH 6.3 の DGV を使用した。HI 抗体価は被検血清の希釈の逆数で表わし、8 倍以上を陽性とした。

### 5) ウイルス分離

材料：ワクチン接種者について、ワクチン接種 7 日、11日、13日、15日後に咽頭部を綿棒で擦過して咽頭ぬぐい液を採取し、ペニシリン 1000 単位 / ml, ストレプトマイシン 1000  $\gamma$  / ml を加えた Hanks 液に溶出し、分離まで -80℃ に保存した。なお、一例については膝関節液を分離材料とした。

以上の材料を 2,000 rpm 20 分間冷凍遠心し、その上清を 5% 仔牛血清、3% にメイロン (7% NaHCO<sub>3</sub>) を含む 199 培地を増殖培地としたウサギ腎由来の RK-13 単層培養細胞に接種し、3 代盲継代を行ない、ウイルスの細胞変性効果 (CPE) を示標とし観察を続けた。また同時に Rawls ら (1967) の方法に従って、上記の RK-13 細胞でのウイルス増殖の有無を、アフリカミドリ猿腎由来の BSC-1 細胞を使用して、赤血球吸着ブラック法により確認した。

## 結 果

### 1) HI 抗体陰性者に対する接種効果

ワクチン接種直前に採取した血清について HI 試験を行ったところ Table 1 に示すごとく 180 名中 23 名 (13%) が風疹ウイルス HI 抗体を保有していなかった。

Table 2 は、抗体陰性者 23 名について、ワクチン接種 6 週後、8 週後に採血した血清の抗体価の分布状況を示すものであるが、これによると 6 週後でその平均抗体価は 2<sup>6.4</sup> 倍、8 週後で 2<sup>6.7</sup> 倍であり、ワクチン接種後 6 週間で有意の抗体上昇がみられた。また、6 週後と 8 週後の抗体価の分布、及び平均抗体価には殆ん

Table 1. Antibody response after 8 weeks of the administration of live, attenuated rubella virus vaccine

HI antibody	HI antibody possessing rates before vaccination	Increase in HI antibody titers			
		decreased	no changes	2-fold	more than 4-fold
Negative	23 <sup>a</sup> (13%)	0	0	0	23 (100%)
Positive	157 <sup>b</sup> (37%)	16 (10%)	31 (20%)	53 (35%)	54 (35%)

a: number of individuals

b: 3 of these samples were not obtained at 8 weeks after vaccination

Table 2. Antibody response in the susceptible individuals who were seronegative at the time of vaccination

HI antibody titer (log 2)	Distribution of HI antibody titers after	
	6 weeks No. of cases(%)	8 weeks No. of cases(%)
5	5 (22)	2 (9)
6	10 (45)	12 (52)
7	4 (18)	3 (13)
8	1 (5)	2 (9)
9	1 (5)	4 (17)
10	1 (5)	
Geometric mean HI antibody titer	$2^{6.4}$	$2^{6.7}$

ど差が認められなかった。

2) HI 抗体陽性者に対する接種効果

既に風疹ウイルスに対する抗体を保有していたもの157名について、抗体陰性者と同様に、ワクチン接種

を行った。

Table 3はその成績を示すが、先ずワクチン接種前の自然感染によって獲得したと考えられる抗体価の分布は $2^7$ 倍を最高として、 $2^4$ 倍から $2^{10}$ 倍に広がる正規分布型を示し、その平均抗体価は $2^{7.0}$ 倍であった。次に、これらの対象者について、ワクチン接種後のHI抗体価の分布の変動をみると、全体として抗体価は上昇しTable 1にも示されているが、2倍上昇したものが35%、また35%には4倍以上の抗体価上昇が認められ、その平均抗体価は6週後で $2^{7.7}$ 倍、8週後で $2^{8.1}$ 倍であった。しかし、Table 1に示す如く、16名(10%)にワクチン接種前の抗体価より低い抗体価になっているものが認められた。

Fig. 1 はこれらのうち4倍以上の抗体上昇が認められたものについて、ワクチン接種前、接種6週後、8週後のHI抗体価の変動を図示したものであるが、時間の経過と共に明らかに抗体価の上昇がみられTable 4に示す如く、その平均抗体価は、接種前の $2^{6.1}$

Table 3. Antibody response in the individuals who were seropositive at the time of vaccination

HI antibody titer (log 2)	Distribution of HI antibody titer		
	before vaccination	after 6 weeks	after 8 weeks
	No. of cases (%)	No. of cases (%)	No. of cases (%)
4	8(5)		1(1)
5	16(10)	3(2)	
6	33(21)	23(14)	15(10)
7	41(26)	41(26)	33(21)
8	33(21)	56(36)	42(27)
9	22(14)	22(14)	41(27)
10	4(3)	12(8)	22(14)
Geometric mean HI antibody titer	$2^{7.0}$	$2^{7.7}$	$2^{8.1}$

Table 4. Geometric mean HI antibody titers in the sera of vaccine recipients

HI antibody at the time of vaccination	Before vaccination	6 weeks after vaccination	8 weeks after vaccination
Negative	$\leq 2^{3.0}$	$2^{6.4}$	$2^{6.7}$
Positive	$2^{7.0}$	$2^{7.7}$	$2^{8.1}$
Positive <sup>a</sup>	$2^{6.1}$	$2^{8.1}$	$2^{8.6}$

a: the individuals who were seropositive at the time of vaccination and whose antibody titers increased more than 4 times of the original titers after vaccination.

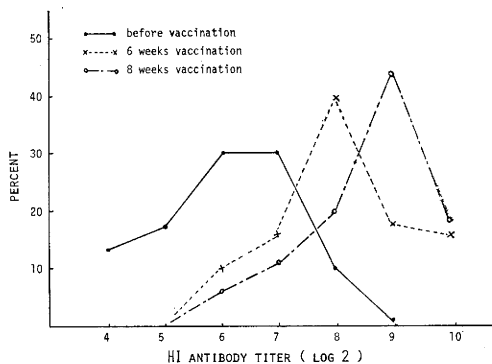


Figure 1. Antibody response in the individuals who were seropositive at the time of vaccination and whose antibody titers increased more than 4 times of the original titers after vaccination.

倍に対して6週後で $2^{8.1}$ 倍、8週後で $2^{8.6}$ 倍を示した。このことから、ワクチン接種後のウイルス排出、8週以後の抗体価の変動を詳細に観察する必要はあるが、ワクチン接種前に抗体保有者であっても、やや低い抗体しか保有しない人には、生ワクチン投与により不顕性感染が成立することが想像された。

### 3) ワクチン接種後の臨床反応

ワクチン接種後の臨床反応については、発疹、発熱、リンパ節腫脹、関節痛等についてアンケートにより注意深く観察したが、接種後発疹及び発熱が認められたものは全くなく、臨床症状が認められたものは、熱感を伴い左頸下リンパ節の腫脹を認めたもの1名、以前慢性リンパ腺炎と診断されたことのある者に、右後耳部リンパ節腫脹1名、右足関節痛1名、右膝関節痛1名計4名のみであった。これらの症状はいずれも軽度であり、日常生活に支障をきたすことはなかった。また、臨床症状を呈したものは、そのいずれもが、既に抗体を保有している者が、ワクチン接種を受けた場合に限られていた。

### 4) 咽頭ぬぐい液からのウイルス分離

ワクチン接種者8例について、接種後7日、11日、13日および15日後に咽頭ぬぐい液を採取し、ウイルス分離を試みたが、1株のウイルスも分離されなかった。

## 考 察

風疹ワクチンの開発は、わが国では1969年以後風疹ワクチン研究会により検討されているが、その野外接種成績(風疹ワクチン研究会:1970~1972)による

と、抗体産生は生ワクチン接種6週後でHI抗体陽転率は90~100%、その平均HI抗体価は $2^{4.3}$ ~ $2^{7.6}$ 倍である。臨床反応については発熱、発疹、リンパ節腫脹はきわめて少なく、関節痛は小児には全例認められず、又咽頭よりのウイルス排出は3~34%に認められるが、接触感染は0.3%(2/649)にみられたにすぎないという。

今回、使用した風疹生ワクチンの接種成績は、抗体陰性者群に対しては、接種6週及び8週後の平均抗体価はそれぞれ $2^{6.4}$ 倍、 $2^{6.7}$ 倍であり、自然感染によって獲得したと思われる抗体保有者群の平均抗体価 $2^{7.0}$ 倍よりやや低値ではあったが、十分な抗体産生が認められた。また、副作用としての臨床症状は全く認められず、咽頭からのウイルス排出も認められなく、その成績は上記研究会の報告とほぼ同様であり、生ワクチンの有用性が確認された。

一方、ワクチン接種の時点で、既に抗体を保有していた群での成績は、その抗体量がやや低い場合に、接種後4倍以上のHI抗体価上昇が認められ、2倍以上の抗体価上昇をみた人を合せると、70%の人が抗体価の上昇を示した。風疹ワクチン接種者の再感染についてはMeyerら(1969)、Wilkinsら(1969)の報告があるが、これらによると、明らかに臨床的風疹は予防し得るが、不顕性感染は成立するといわれている。今回の試験接種では、既に自然感染により抗体を保有する人でも、その抗体が低い場合には不顕性感染が成立することが想像された。臨床反応については、軽度のもので4例(2%)に認められたが、これがワクチンによる特異的なものかは疑わしかった。しかし最近、麻疹ワクチン接種者での異型麻疹(Chanock 1974, 山東浩二ら, 1969)や、デング熱ウイルスの再感染によると思われる出血熱等(Halstead, 1966; Halstead and Yamarat, 1965)いわゆる過敏反応が目立っており、抗体保有者に対する生ワクチン接種には慎重な配慮がはらわれなければならないことは言うまでもないが、今回の試験接種では問題とすべき過敏反応は認められなかった。

今後の風疹ワクチンの問題点としては、ワクチンによる場合、自然感染による免疫とは異なり分泌型抗体の産生に欠けると言う報告(Ogra et al., 1971)もあり、分泌型抗体産生能、産生された抗体の持続期間及びワクチン株による胎児への催奇性の有無等が残されており、そのいずれもが緊急を要する研究課題であると考えられる。

## 結 論

長崎県の未婚青年女子 180名について、風疹ウイルスに対する抗体保有状況を調査し、さらに風疹生ワクチンを皮下接種し6週後及び8週後の HI 抗体産生状況を調べて、次の結果を得た。

1) 180名中 23名 (13%) が風疹 HI 抗体を保有していなかった。既に抗体を保有していたものの平均 HI 抗体価は  $2^{7.0}$  倍であった。

2) 抗体を保有していない感受性者群のワクチン接種後の抗体陽転率は 100%であり、その平均 HI 抗体価は接種6週後で  $2^{6.4}$ 倍、8週後で  $2^{6.7}$ 倍であった。

3) 既に抗体を保有していたもの 157名についてのワクチン接種後の抗体の変動は、接種前の抗体価の2倍上昇したもの 35%、4倍以上上昇したもの 35%で計 70% が2倍以上の抗体価の上昇をきたした。しかし、接種前の抗体価より低値を示したものが16名 (10%) に認められた。

4) 臨床反応では発疹、発熱は認められず、わずかにリンパ節腫脹をみたもの2名、関節痛を訴えたもの2名のみであった。

5) 咽頭ぬぐい液からのウイルス分離は認められなかった。

## 謝 辞

稿を終るに臨み、風疹生ワクチン及び HI 試験用抗原の御分与をいただいた化血研の野中実男博士に心からお礼を申し上げるとともに、ワクチン接種及び採血作業に御協力いただいた教室員ならびに長崎県長崎保健所保健婦各位、また本ワクチン接種に御協力いただいた長崎大学医学部附属高等看護学校、長崎県立保健看護学校、長崎大学教育学部等の学生および青年団員各位に感謝の意を表します。

なお、本研究の一部は長崎県保健部医師充足対策費の援助を受けた。関係各位に厚くお礼を申し上げます。

## 引 用 文 献

- 1) Chanock, R. M. (1974): Altered reactivity to measles virus and respiratory syncytial virus infection induced by the administration of inactivated vaccine. 日米医学協力事業ウイルス部会での報告, 8月, 東京.
- 2) Cooper, L. Z., Green, R. H., Krugman, S., Giles, J. P. and Mirick, G. S. (1965) : Neonatal thrombocytopenic purpura and other manifestation of rubella contracted in utero. *Amer. J. Dis. Child.*, 110, 416-427.
- 3) 風疹ワクチン研究会 (1972): 風疹ワクチン野外接種成績. 1970, 1971, 1972.
- 4) Gregg, N. M. (1941): Congenital cataract following German measles in the mother. *Trans. Ophthal. Soc. Aust.*, 3, 35-46.
- 5) Halstead, S.B. and Yamarat, C. (1965): Recent epidemics of hemorrhagic fever in Thailand. *Amer. J. publ. Hlth.*, 55, 1386-1395
- 7) Halstead, S.B. (1969): Mosquito-borne hemorrhagic fevers of south and south east Asia. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 118, 155-165.
- 7) Meyer, H. M. et al. (1969) : Attenuated rubella viruses, laboratory and clinical characteristics. *Amer. J. Dis. Child.*, 118, 155-165.
- 8) Mifune, K., Matsuo, S., and Oka, R. (1973): Frequency of rubella antibody among the residents in Nagasaki district in southern Japan. *Trop. Med.*, 15 (1), 56-60.
- 9) Ogra, P.L., Kerr-Grant, D., Umana, G., Dzierba, J.B.S. and Weinrub, D. (1971): Antibody response in serum and naso-pharynx after naturally acquired and vaccine-induced infection with rubella virus. *New. Eng. J. Med.*, 285, 1333-1339
- 10) Rawls, W. E., Desmyter, J. and Melnick, J. L. (1976) : Rubella virus neutralization by plaque reduction. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 124, 167-172.
- 11) 山東浩二, 辰己敏郎, 加藤一博, 花谷徹行, 安倍四郎太夫, 辻章之 (1969): 現行市販麻疹ワクチン KL接種

法に於ける発熱反応と抗体産生効果. 日児科会誌, 73 (4), 594~599.

- 12) 須藤恒久, 森田盛大, 蔦谷登美子, 日沼頼夫, 石田名香雄 (1968): 風疹のHAI抗体. 医学のあゆみ, 64 (5), 225-230.
- 13) 植田浩司, 高林一明ら (1970): 先天性風疹. 小児臨, 23 (3), 257-266.
- 14) Wilkins, J. et al. (1969) : Reinfection with rubella virus despite live vaccine induced immunity. Amer. J. Dis. Child., 118, 275-294.