

麻疹不活化および弱毒生ワクチン併用接種法に関する一考察

—両ワクチンの接種間隔について—

金沢大学医学部小児科学講座(主任 佐川一郎教授)

吉 田 清 三

新 谷 謙 次

(昭和42年11月25日受付)

本論文の要旨は1965年5月第68回日本小児科学会総会において発表した。

麻疹弱毒生ウイルスワクチン(以下LVと略)は米
国製と日本製とをとわず等しく抗体産生は良好である
が、臨床反応として38.9~39.3°Cの発熱を90%以上
に認めるのが大きい欠点とされている¹⁾。この欠点を
なくするためにr-globulinと併用^{2)~5)}、あるいは不
活化ワクチン(以下KVと略)をあらかじめ接種す
る併用法^{6)~16)}が提唱されている。ことに後者は実地
上前者よりすぐれ広く実用化されようとしているが、
著者らは1963年9月荒川KVならびにLV併用法につ
いて実験を試みる事ができたので、その成績を報告
する。

研究材料および研究方法

I. 接種ワクチンの種類および接種量

荒川KV No.638²⁾(Kと略) 1.0 ml 皮下注射
荒川LV No.639²⁾(Lと略) 0.5 ml 皮下注射
松本LV Lot 3¹⁾(Mと略) 0.5 ml 皮下注射
荒川不活化ワクチン Placebo (Pと略) 1.0 ml 皮

下注射

II. 接種対象

金沢市内に在住し、麻疹の既往歴のない生後1歳か
ら5歳10カ月の健康幼児72名に接種した。その年齢区
分は1~2歳27名、2~3歳14名、3~4歳13名、4
~5歳10名、5~5歳10カ月8名であった。

III. ワクチン接種方法

表1に示すごとく、5群にわけて接種した。すなわ
ちK₂L₄M群14名には荒川KV接種2週後に荒川LV
を接種、さらに4週後にLVの効果を吟味する目的で
松本LVを追加接種した。K₂M群18名には荒川KV
接種2週後に松本LVを接種した。K₂K₄M群17名に
は2週間間隔で荒川KVを2回接種し、さらに4週
後に松本LVを接種した。K₄M群には荒川KV接種
4週後に松本LVを接種した。P₂M群18名は対照群
として荒川不活化ワクチン Placebo 注射後2週目に
松本LVを接種した。

IV. 臨床反応

表1 はしか不活化ワクチンおよび生ワクチンの接種方法

接種群	1回目接種		2回目接種		3回目接種	
K ₂ L ₄ M	採血	荒川不活化 ワクチン 2週	採血	荒川生 ワクチン 4週	採血	松本生 ワクチン 4週 採血
K ₂ M	採血	荒川不活化 ワクチン 2週	採血	松本生 ワクチン 4週	採血	
K ₂ K ₄ M	採血	荒川不活化 ワクチン 2週	採血	荒川不活化 ワクチン 4週	採血	松本生 ワクチン 4週 採血
K ₄ M	採血	荒川不活化 ワクチン 4週	採血	松本生 ワクチン 4週	採血	
P ₂ M	採血	Placebo 2週	採血	松本生 ワクチン 4週	採血	

Studies on the Combined Use of Killed and Live Attenuated Measles Vaccines. A Comment on the Interval between Killed and Live Vaccine Injections. **Kiyozo Yoshida & Kenji Shintani**, Department of Pediatrics (Director: Prof. I. Sagawa), School of Medicine, Kanazawa University.

アンケートにより、各自1日4回検温および諸症状を記入させるとともに、1~2日間隔で医師による検診をおこなった。

V. 血清学的検査

対象幼児はすべて、各ワクチン接種直前および最終ワクチン接種後4週目と6カ月目および一部は1年後に採血し、抗体を調べた。抗体検査はつぎの術式で NT, HI, CF 抗体を検査した。

1. 中和 (以下 NT と略) 試験

1) ウイルス

大阪府立公衆衛生研究所より分与された豊島株を中和反応にもちいた FL 細胞であらかじめ3代以上継代したものをを用いた。

2) 組織培養

大阪府立公衆衛生研究所より分与された FL 細胞をもちい、角瓶 (50 mm×50 mm×1000 mm) に単層に発育しているものに EDTA 液 4 ml/bottle を加え、37°C 10~15分間放置 (その間 1~2回、細胞結合をすみやかに離すために振盪する)、ついで硬質遠心管に移し遠心 (800~1,000 rpm) 5分後上清液を除き、沈渣 (FL 細胞) に培養液を 30~40 ml 加えピペットで充分に攪拌した。この FL 細胞浮遊液 (20~3×10⁴/mm³) を 1 ml ずつ硬質遠心管に分注し、その試験管を10~15度傾斜させ 35°C において4~5日間静置培養し、細胞の発育の良好なものを選んで実験にもちいた。

3) 中和試験術式

Hanks 液で2倍に希釈後56°C 30分間非働化した血清をさらに Hanks 液で1024倍まで2倍段階希釈をおこない、その 0.3 ml を等量の 100 TCD₅₀/0.1 ml のウイルス液と混合し37°C 30分、さらに4°C で一夜放置後、発育培地をすて 1 ml の維持培地を入れた細胞試験管に 0.2 ml/tube 接種した。使用本数は各血清希釈ごと2本とし、中和用ウイルスを 100 TCD₅₀/0.1 ml にあわせるための希釈は 1/15 mol PBS (pH 7.2) を使用した。

4) ウイルスの2次定量

中和試験にもちいたウイルスを Hanks 液で2倍に希釈後、中和と同養に培養し、中和と同時に10倍段階希釈後 10⁰~10⁻⁴ まで各段5本の試験管をもちい、0.2 ml/tube 接種したものを2週間観察し、中和ウイルス価が 10^{1.5}~19^{2.7}/0.1 ml の範囲をはずれたものは再検査した。中和の終末点はウイルス2次定量の10⁻¹の試験管がすべて細胞変性 (以下 CP と略) をおこしたとき、全試験管を検鏡し Reed & Muench 法にしたがって算定し <2¹ を NT 抗体陰性とした。また接

種後、維持培地が pH 7.0 以下のときは検鏡後 CP 陰性のもので培地交換をおこなった。

2. 血球凝集抑制 (以下 HI と略) 試験

1) 抗原

大阪府立公衆衛生研究所より分与された豊島株を KB 細胞に順応させたもので培養液および KB 細胞を採取し3回の凍結融解によって細胞を破壊したのち、3,000 rpm, 15分間遠沈し、上清を 18,000 rpm, 60分間再遠沈して (HITACHI 40P 型超遠心機) 上清をすて、残りの沈渣にもとの液の 1/10 量の 1/15 mol PBS (pH 7.2) を加えて再浮遊させ、これを4°C で一夜放置し Tween 80 を最終 2 mg/ml になるように加え、さらに等量のエーテルを加える。これを氷水中で15分間振盪後 3,000 rpm, 10分間遠沈し、エーテル層、水層の3層のうち水層のみをとって凍結乾燥処理したものである。これを4°C の氷室に保存しておき使用直前に滅菌蒸留水で溶解してもちいた。

2) 猿血球

血清吸取用血球および凝集用血球には、African green monkey (Cercopithecus Aetiops) の血球を 1/15 mol PBS (pH 7.2) で3回洗浄してもちいた。

3) 血清処理

生血清 0.2 ml に M/15 PBS を 0.6 ml 加えたものに Kaolin (1 N. HCl でけん濁し沈渣を蒸留水で洗浄し25%浮遊液にしたもの) を 0.8 ml 加え室温で20分間振盪し 2,500 rpm 10分間遠沈後、上清を新しい試験管にうつし、これに 50% green monkey 血球液 0.2 ml を加えて室温で60分間充分に振盪後 2,500 rpm, 10分間遠沈した上清を使用した。このような処理をしたため血清の最低希釈増数は 2³ 倍となった。

4) 血球凝集抑制試験術式

血清処理をおこなった被検血清 0.2 ml を 1/15 mol PBS で 2¹⁰ 倍まで2倍段階希釈をおこない各々にあらかじめ感染価を測定した 8HAU/0.4 ml の抗原 0.2 ml を加えて充分振盪後、室温に60分間放置し 0.5% の green monkey 血球浮遊液を 0.2 ml 加え再度充分振盪し 35°C 2時間後に判定した。

5) 抗原の2次定量

8HAU/0.4 ml にあわせたものを原液から 2⁵ 倍まで2倍段階希釈し、抗原単位の確認をおこなった。

6) 判定

血球対照が陰性であるものについて判定し、痕跡または陰性を示す血清の最高希釈倍数をもって HI 抗体価とし陰性は <2³ とした。抗原の2次定量が1管多いときは HI 抗体価を2倍とし、1管少ないときは

1/2倍とした。

3. 補体結合 (以下 CF と略) 試験

1) 抗 原

豊島株で感染させた FL 細胞をその培養液とともに凍結融解を 3 回くりかえしたあと 2,500 rpm. 15 分間遠沈して作製したものを 4 単位に調整してもちいた。

2) 血 清

56°C 30 分間非働化した血清を 2² 倍から 2¹⁰ 倍まで段階希釈をおこなった。

3) 補体結合試験術式

Kolmer の少量法にならっておこなった。すなわち血清 0.1 ml, 抗原 0.1 ml, 2 full units/0.2 ml の補体 0.2 ml を混合してのち, 4°C 一夜, さらに室温で 30 分間放置し, 3 単位の溶血素に 2% 綿羊血球を等量に加えた溶血系を 0.2 ml 加え, 37°C 15 分間恒温槽に入れ 2 次定量の補体の 1 単位のところが溶血したとき判定した。

4) 判 定

溶血度を測定するために標準血球浮遊液をおき, 75% またはこれ以上の不溶血を示す血清の最高希釈数をもって CF 抗体価とした。陰性は <2² とした。

研 究 成 績

1. 臨床成績

K あるいは P 接種による臨床反応は 1 例も認められなかった。LV 接種による反応は表 2 に示すごとくである。

なお, やく 6 カ月後の金沢市内麻疹の流行時には, K₂L₄M, K₂K₄M, K₄M, P₂M 群では 1 名の感染発症例もなかったが, K₂M 群 18 名中 1 名に軽度の発症をみたというが確認はできなかった。

2. 血清学的成績

LV 接種後の成績は表 3 に示すごとくで, NT および HI 抗体中どちらか一方あるいは両者とも陽性となったものの抗体陽転率は各群とも有意の差はなく 88.2~100% の高率を示した。

表 2 各接種群における生ワクチン接種後の臨床反応

接 種 群	臨床反応陽性者	発 熱 (平均)			発疹/ 発熱者	けいれん/ 発熱者
		発熱日	日 数	最高体温		
	1/14 (7.1%)	5日	2日	38.3°C	0	0
	0/14				0	0
	4/18 (22.2%)	9.3	2.3	38.6	2/4	1/4
	2/17 (11.7%)	12	2	39.5	0	0
K ₄ → M	0/15				0	0
P ₂ → M	15/18 (83.3%)	10.4	2.7	38.4	6/15	1/15

表 3 各実験群における臨床反応陽性, 抗体陽転率および 4 週後の CF, HI, NT 抗体価

実 験 群	臨床反応陽性率 (%)	抗 体 陽 転 率 (%)	4 週後の抗体価(幾何平均)		
			C F	H I	N T
K ₂ L ₄ M	1/14 (7.1)	13/14 (92.8)	23.1	26.3	25.7
K ₂ M	4/18 (22.2)	18/18 (100.0)	25.0	27.1	26.8
K ₂ K ₄ M	2/17 (11.7)	15/17 (88.2)	21.7	26.4	24.8
K ₄ M	0/5 (0)	5/5 (100.0)	23.2	28.0	25.8
P ₂ M	15/18 (83.3)	17/18 (94.4)	24.2	26.3	26.5

表4 各接種群における HI, NT 抗体価の推移 (幾何平均値)

実験群	H I 抗体価						N T 抗体価					
	接種前	1回目	2回目	1月後	6月後	1年後	接種前	1回目	2回目	1月後	6月後	1年後
K ₂ L ₄ M (14例)	<3	0.9	3.8	6.3	4.0	3.8 △(5)	<0.5	<0.5	1.9	5.7	5.4	4.5 (5)
K ₂ M (18例)	<3	1.8		7.1	4.5	4.4 (5)	<0.5	1.1		6.8	6.3	4.7 (5)
K ₂ K ₄ M (17例)	<3	<3	2.3	6.4	3.8	4.5 (4)	<0.5	<0.5	2.3	4.8	4.5	4.7 (4)
K ₄ M (5例)	<3	7.0		8.0	3.0	3.0 (3)	<0.5	4.4		5.8	5.4	4.5 (3)
P ₂ M (18例)	<3	<3		6.3	6.1	5.3 (6)	<0.5	<0.5		6.5	6.4	5.3 (6)

(註) 数字は log₂ を示す。 △() は1年後の観察者数を示す。

表5 不活化ワクチンおよび生ワクチンの組合せ接種における生ワクチン接種前の中和抗体価と接種後の中和抗体価の上昇例

接種群	NT抗体価	生ワクチン接種前	生ワクチン接種後
K ₂ M (18例)	≤ 3	14	0
	> 3	4	18
K ₂ K ₄ M (17例)	≤ 3	9	2
	> 3	8	15
K ₄ M (5例)	≤ 3	1	2
	> 3	4	3

△ log₂ で示す。

HI および NT の平均抗体価の推移は表4に示すごとくで、Kを1回ないし2回接種後の抗体上昇は著明ではないが、LV接種によりいずれも著しい上昇をみている。K₄M群ではK接種後4週後にかんりの抗体上昇をみ、LV接種による抗体上昇は著しくない。しかしこれらの抗体価はいずれも漸減の傾向にあるが1年後でもかなり維持されていた。

つぎに K₂M, K₂K₄M および K₄M 群の KV 接種による NT 抗体価と LV 接種による NT 抗体価の上昇との関係を見ると表5のごとくである。すなわち K₄M において LV 接種前の抗体価が高いものは LV 接種による抗体価の上昇が他の2群より低いように見えるが、推計学的にはこれだけの少数例では有意の差がみられなかった。

考 察

LV 接種の副作用である発熱を軽減する目的で KL を併用する方法はすでに種々試みられている。

Karelitz⁶⁾ は KKKL では臨床反応がほとんどなく、KL では24例中8例 (33.3%) に 37.8°C 以上の発熱がみられ、発疹は1例 (4.2%) あったと報告し、KV と LV の併用は LV と r-globulin の併用に代わる実用的方法であると述べている。また Fulginiti⁷⁾ は 4,800 名の対象に LV+r-globulin, KKK, KKL を試み、臨床反応は LV+r-globulin で 20~70%, KKK おおび KKL では 5% 以下で抗体産生率はそれぞれ 95.3%, 90%, 90.5% であり、KKL は抗体価がより高くなったので推奨すべき接種法であるとしている。Guinee ら⁸⁾ は 4,798 名の対象に KKK, KKL, Placebo の 3 群の予防効果をみ、接種後 4 カ月以内では前 2 群ではそれぞれ 82%, 79% の効果があったが、Placebo ではやく半数に麻疹疾患があり、KKL 群の平均 HI 抗体価は 1:45 で、KKK 群の 1:17 より高くなったと報告している。Krugman ら⁹⁾ は 90 名の乳児に生後 1~2 カ月より DPT (ジフテリア、百日咳、破傷風) ワクチンと同時に KV を 3 回接種し 12~14 カ月の月令時に LV を接種したところ、KKK では抗体産生が 0.1% であったのが LV 接種により 100% になり発熱が 2.5% であったので、生後 2~4 カ月から KV を 3 回接種し、12~14 カ月に LV を接種する方法を提唱した。Karelitz ら¹⁰⁾ は KL 296 名、KKL 117 名、KKKL 75 名のうち 37.8°C 以上の発熱はそれぞれ 15.0%, 8.0%, 1.3% で、抗体産生は KV 接種 66.8~100%, LV 接種後ほぼ 100% となり、NT 抗体価は 1:200 以上に上昇したと報告している。Alexander¹¹⁾ は DPT ワクチンと共に KV を 3 回接種し、生後 9 カ月ごろ LV を接種する KKKL がよいとしている。本邦では浅野¹²⁾ が昭和 38 年春、荒川 KV と LV を 2 週間隔で接種し、

ほとんど臨床反応がみられなかったことを報告している。また野呂ら¹³⁾は荒川 KV, 荒川 LV を1回ずつ2週間隔で接種し, 発熱, 発疹が全くなく, 富田¹⁴⁾も荒川 KV, LV を同じ方法で接種し, 発熱が LV 接種後に21%みられたがこれは感冒流行によるものとし, ワクチンによるものではないとしている。

奥野ら¹⁵⁾は彼らのワクチンによる KV 接種後の NT 抗体価と LV 接種後の臨床反応との関係について研究し, KV 接種後の抗体価が高いほど LV 接種による臨床反応は少なくなるが, KV 接種後の抗体価があまり高いと臨床反応は認められなくなるが, LV 接種による抗体上昇も認められなくなるといっている。それ故 KV の接種量は臨床反応を減少せしめ, LV 接種による抗体反応を充分におこさせる量でなければならぬとし, そのための KV 接種後の NT 抗体価はおそらく $2^2 \sim 2^3$ が適当であろうとしており Karelitz¹⁰⁾の意見に同調している。しかし LV を噴霧法で接種する場合には抗体価が 2^5 になっても LV の免疫効果はおこせないとしている¹⁶⁾。

われわれの実験成績では, 単独接種 (P₂M) では, 83.3% の臨床反応陽性を示す松本 LV 接種の2週間前に荒川 KV を接種すると (K₂M), 臨床反応は 22.2% に減少し, 4週間前に接種すると (K₄M) 0% となった。荒川 KV を2週間隔で2回接種後4週目に松本 LV を接種した K₂K₄M 群では, 臨床反応は 11.7% に陽性で前2者の中間に位している。これら発熱率の減少は P₂M に比して推計学的に有意であるが, K₂M, K₄M, K₂K₄M 間では差がなかった。松本 LV の代りに荒川 LV をもちいた K₂L₄M 群の荒川 LV による臨床反応は 7.1% (1/14) で, しかも発熱日は5日で他の群の発熱者のそれより5~7日早い点から, 本発熱を生ワクチンによるものとは断定できがたい。いずれにしても松本 LV より荒川 LV の方が副作用が少ないと思われる。なお荒川 LV の抗原性については4週後に松本 LV を challenge しても1名も発熱しなかった点からも肯定できる。

免疫学的検査成績で, LV 接種4週後の HI および NT 抗体中一つ以上の陽性転化率をみると全群に有意の差なく高率を示した。なお荒川 LV と松本 MV との比較では, K₂L₄ 陽転率 92.8%, K₂M 100% と有意差なく, LV 単独の P₂M 群の 94.4% とも推計学的に差がないから, 両ワクチンの抗原性には差がないと考えるべきであろう。

以上のことから LV 接種による臨床反応軽減には KV を併用することが有効であるが, KV 接種回数, KV, LV の接種間隔の差による臨床反応, 血清抗体

反応には有意の差を認めなかったが, これらは接種ワクチンことに不活化ワクチンの不活化の方法, 接種量によって左右されることが考えられるので今後の検討を必要とする。また抗体持続期間については, KV, LV 併用の場合は LV 単独の場合より短かいとされ, ことに KV による抗体が高くて LV が受け入れられない場合には KV 単独の場合と等しく短かいという⁸⁾¹⁵⁾¹⁶⁾。われわれの場合では, 一部に接種後の抗体上昇のわるいものもあったが, 1年後の抗体価は低下しているとはいえ, なお有意の値を保っており, 感染も防衛していた。しかし今後さらに追求すべき問題である。

結 論

昭和38年9月荒川 KV, 松本 LV あるいは荒川 LV を接種回数および接種間隔により組合わせて5群に分けて接種した結果, KV, LV を併用することにより等しく臨床反応を軽減することができた。各群による優劣はつけがたく, 抗体は1年間有意な値を保った。本結果は今後症例をかきねて検討すべきものと考える。

稿を終るにあたり, 御校閲を賜った恩師佐川一郎教授および貴重なワクチンを御恵くださった東大伝研松本総教授および荒川清助数に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 麻疹ワクチン研究会 : I. 1 (1963).
- 2) 荒川清二 : 小臨, 17, 1607 (1964). 3) Krugman, S. : Amer. J. Dis. Child., 103, 353 (1962).
- 4) McCrumb, F. R. : Amer. J. Dis. Child., 103, 350 (1962). 5) Halonen, P. : Amer. J. Dis. Child., 103, 347 (1962).
- 6) Karelitz, S. : Amer. J. Dis. Child., 103, 425 (1962).
- 7) Fulginiti, V. A. : Amer. J. Dis. Child., 105, 39 (1963).
- 8) Guinee, V. F. : Amer. J. Public Health, 53, 441 (1963). 9) Krugman, S. : Pediatrics, 34, 795 (1963).
- 10) Karelitz, S. : JAMA, 184, 673 (1963). 11) Alexander, E. R. : Amer. J. Dis. Child., 108, 470 (1964).
- 12) 浅野秀二 : 小診, 27, 302 (1964). 13) 野呂忠夫 : 小臨, 17, 1690 (1964).
- 14) 富田 進 : 小臨, 17, 1640 (1964). 15) Okuno, Y. : Biken J., 8, 73 (1965).
- 16) Okuno, Y. : Biken J., 8, 81 (1965). 17) 新谷謙次 : 十全医会誌, 76, 1 (1967).

Abstract

Seventy-two healthy children aged one year to five years and ten months were immunized according to one or other of the following five measles vaccination schedules: (1) Arakawa killed vaccine (AKV) followed two weeks later by Arakawa live vaccine (ALV), and boosted four weeks later by Matsumoto live vaccine (MLV). (2) AKV followed two weeks later by MLV. (3) Two times biweekly vaccinations of AKV followed four weeks later by MLV. (4) AKV followed four weeks later by MLV. (5) Placebo injection followed two weeks later by MLV. Although the incidence of the clinical reactions was significantly reduced by the combined use of KV and LV, differences of the reduction rates among these groups (1) to (4) were not admitted statistically. The significant titers of neutralization-and hemagglutination-inhibition-antibodies one year after the last vaccination were equally acknowledged in these five vaccination groups.

These results should be further investigated in reference to more vaccination samples.