私の歩んだ研究の道とそこからの教訓⑨―ムンプスワクチン―

ムンプスワクチンの開発と開発過程における問題点

伊　藤　康　彦*

私は，名古屋大学医学部で故 永田育也先生の指導の下，インターヘロンの産生機構とセンダイウイルス持続感染の研究を行っていた．永田先生は，私がフランスのパスツール研究所在籍中に病気になり，1977 年の 2 月に亡くなられた．私はお亡くなりになる 2 カ月前に急遽戻り，やっとのことで先生の最期に立ち会うことができました．そこで，私の研究環境が激変し，私自身フランスへ行った以外は，名古屋大学医学部から離れたことがなかったのですが，縁あって，1982 年に国立予防衛生研究所（予研，現在の国立感染症研究所の前身）村山分室，麻疹ウイルス部（杉浦昭部長）に行くことになりました．名古屋からほとんど一歩もでたことがない自分が，東京へ行くことに大変不安であったことを覚えていますが，そこでは良い仲間に恵まれ，交友関係が随分広がり，それが今でも自分の財産になっています．そこで初めて，ワクチンの研究に携わることになりました．日常業務としてはワクチンの検定作業があり，研究としてはムンプスウイルスの基礎的研究とムンプスウイルスのマウス感染モデルを作製することにも力を入れました．そして，ムンプスウイルスだけを考えるのではなく，ヒト型パラミクソウイルス全体像を視野に入れる必要がでてきて，すべてのヒト型パラミクソウイルスの比較研究へ研究分野を広げていきました．

予研でのもう一つの大事な仕事は，麻疹，風疹およびムンプスの混合ワクチンの実用化に関する研究でした．弱毒生ウイルス混合ワクチン（MRM，以下，MMR と表記）研究班の最後の年にあたり，野外接種実験の最終評価が大詰めを迎えていましたが，いろいろな難問題が山積みでした．野外接種実験で抗体陽転率が高くならない，抗体測定法の感度が低いうえに，その判定に主観がどうしても入り込む，プラックサイズマーカーがあてにならないなど，どれもムンプスウイルスに関係することばかりでした．不思議な不顕性感染率の算定方法を知ったのもその頃でした．予研にお世話になったのは 4 年弱の短い間ですが，その間 MMR 開発研究のお手伝いをし，MMR ワクチンの実用化の準備が整ったところで，三重大学医学部へ移りました．1989 年 4 月から MMR ワクチンの接種が始まり，喜んでいたところが，例の無菌性髄膜炎の問題が起こり，衝撃を受けたことを覚えています．本稿では，ムンプスワクチン開発中の経過について，率直に書かせていただきましたので，ぜひ反面教師にしていただきたいと思います．今後ムンプスワクチンの接種率が高まり，また MMR ワクチンが復活し，ムンプスの流行がなくなることを期待しております．

はじめに

ムンプスは，和名でおたふくかぜといわれてきたように，発熱と耳下腺腫脹を特徴とする伝染性疾患である．ムンプスは一般には軽症と考えられがちであるが，その全身の感染によるいくつかの合併症を考えると必ずしも軽症ではなく，やはり予防して防ぐべき病気であるということができる．

* 中部大学生命健康科学部生命医科学科微生物感染症分野　Yasuhiko Ito
〔〒 487-8501 春日井市松本町 1200〕

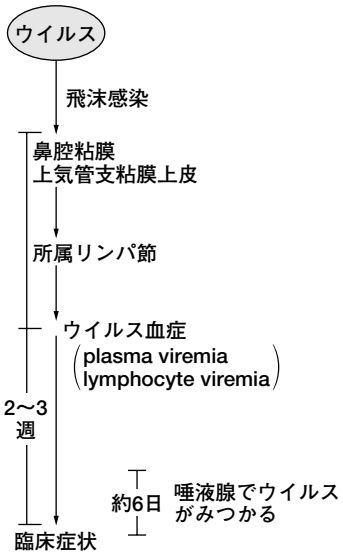

図　ムンプスウイルスの発生病理

Ⅰ．ムンプスウイルスについて

ムンプスウイルスは 1934 年，Johnson と Good-pasture によって初めて分離された．分類学上ではパラミクソウイルス属に分類され，遺伝学的にも免疫学的にもパラインフルエンザウイルス 2 型や 4 型と同じルブラウイルスに属している．ムンプスウイルスのゲノム構造は 1 本鎖で，直鎖状のマイナス鎖 RNA であり，15,384 塩基から構成されている．ゲノム上の遺伝子の配列は，3’-leader-NP-P-M-F-SH-HN-L-trailer-5’SH を有しているところがユニークである．

Ⅱ．ムンプスの発症病理

ムンプスウイルスは患者の唾液を介した接触感染，または飛沫感染で，ヒトからヒトへ伝搬すると考えられている．周辺への伝染力は意外に強く，同居家族では 97.4%，室内の友人でも 89.5%と高率に感染している[7,6]．経気道的に感染して鼻腔粘膜や上気道粘膜上皮で増殖し，所属リンパ節に感染が広がる．ついでウイルス血症が成立し，全身の標的組織に感染する．耳下腺（唾液腺）においてウイルスが主として増殖すると考えやすいが，耳下腺はムンプスウイルスの第一次的なウイルス増殖臓器でもなく，また耳下腺でのウイルスの増殖が不可欠のステップでもない．ウイルスが感染して，臨床的な症状が出現するまでに 2〜3 週間を要する．生体内における感染様式を**図**に示す．後述するように，その算定方式には疑問が残るが不顕性感染も多く，30〜40%といわれている[1〜3]．特に年少者で無症状感染が多く，しかも彼らからウイルスが分離されることもあり，伝播源として重要な役割をもつことが考えられている．

表 1　ムンプスウイルス感染症における侵襲部位

1．腺組織	
唾液腺	耳下腺
	顎下腺
	舌下腺
涙腺，甲状腺，乳腺，精巣，卵巣，バルトリン腺，膵臓	
2．神経系	
脳，髄膜，末梢神経	
3．その他の臓器，器官	
胸腺，肺，心臓，肝臓，腎臓，関節，皮膚	
4．感冒様症状	
5．無症状（不顕性感染）	

（文献 3）より引用）

Ⅲ．ムンプスの合併症（表 1）

耳下腺腫脹がムンプスウイルス感染症の最も顕著な特徴であり，流行性耳下腺炎と呼ばれている理由であるが，実際は全身感染症で，唾液腺はその一つの部分現象であり，最も頻度の高い侵襲部位と考えたほうがいい．

1．ムンプス性髄膜炎

中枢神経系は，耳下腺に次ぐムンプスウイルスの標的臓器である．ムンプスウイルスをマウスやサルの脳内に接種すると，病理学的に髄膜炎と確認できる病変を生じさせ得る[4,5]．わが国で無菌性髄膜炎と診断された症例で，ムンプスウイルスによるものが比較的多いといわれている（30 数%）[3]．米国での報告によれば，髄膜炎発症率は 0.3〜0.4%となっていた[3]．近年ではもう少し高いのではないかといわれており，報告者による差が大きいが 2〜37%，平均では 10%前後であるとされている[1,6]．注目すべきは髄膜炎症状のない患者の髄液検査で，62%に髄液細胞増多を認めたという報告もある[4]．また，髄膜炎合併率が 73%にもなると

いうウイルス（大館株）も知られている[4]．

2．ムンプス性難聴

ムンプスウイルス感染が中枢神経に及んで，第八脳神経の聴神経の脱随を伴う二次性迷路炎を起こすことがある．ムンプス性難聴の発生率は必ずしも高くはなく約 2 万人に 1 人程度と考えられていたが，青柳らは 1/294（0.34%）という高頻度の調査結果を報告している[7]．好発年齢も幼稚園〜学童期に多いし，治療に極めて抵抗性であり，その結果，高度の難聴を後遺症として残すことも多いので注意が必要である．

3．ムンプス性精巣炎

思春期後の男性の場合，唾液腺以外で最も広く起こる合併症である．その発生率は 20〜30%にのぼり，多くは一側性で，症状は急激で発熱と局所の疼痛を伴う．通常は完治するが，まれには無精子症を後遺症として残すことがある[1,3]．近年，中学生にも発症が確認されている[1,3]．

4．その他の合併症

その他の合併症として膵臓炎や心筋障害が報告されている．

以上ムンプス合併症には軽視できないものが少なくない．しかも，① 基本的にはヒト以外には感染しないこと，② 世界に広く分布しほとんどのヒトは一生のうちに 1 度は罹患すること，③ ムンプスウイルスは抗原的にはかなり保存されていて，一度の感染で終生の免疫が成立すること，があり，ムンプスはワクチンによって予防が必要であり，予防が可能でありかつ予防によって制御が可能な疾患であるということができる．

Ⅳ．日本におけるムンプスワクチンの開発の歴史[3,8,9]

1946 年に Enders らによりムンプスワクチンの研究が始められた．最初は不活化ワクチンが用いられたが，予防し得る期間が短く，効果も芳しいものではなかったので，弱毒生ワクチンの開発にその研究が移った．ムンプスウイルスを孵化鶏卵羊膜腔で継代して，弱毒生ウイルスワクチンとするという研究が進められ，1966 年に Jeryl-Lynn 株生ムンプスワクチンが作られた．このワクチンは，抗体陽転率もよく，副反応も少ない非常に安定したワクチンということで，現在世界的に広く使われている．

日本のムンプスワクチンは，初めから弱毒生ワクチンの研究で出発した．1960 年以後阪大微研奥野らによって，まず孵化鶏卵漿尿膜継代で弱毒化された Towata 株，続いて孵化鶏卵羊水腔で継代し，弱毒化した，Urabe 株を開発し，試作ワクチンの作製に成功した．

1970 年厚生省科学研究費による『ムンプスワクチンの開発に関する基礎的研究』（研究代表者 奥野良臣）によって公的な基礎的研究が始まり，続いて 1972 年に，多くの基礎ウイルス学研究者と臨床ウイルス学研究者を会員とする『ムンプスワクチンの開発研究会』（研究代表者 宍戸亮）が結成され，以後この研究会が中心となってその実用化のための研究が推進された．この研究会では奥野らの開発した Urabe 株ワクチン，武田薬品生物研で矢追らが開発したウシ腎臓細胞継代により弱毒化された Torii 株ワクチン，北里研究所 牧野らが開発したニワトリ胚線維芽細胞に低温で継代して，弱毒化した Hoshino 株ワクチンが検討対象になった．研究会では野外接種試験での免疫原性や副反応の検討以外に，麻疹および風疹ウイルスとの混合ワクチンの使用の可能性，ワクチンに含まれる最適なウイルス量の検討，ワクチンの品質管理に必要なワクチン株の各種動物を用いた安全試験の検討，*in vitro* や *in vivo* のマーカー試験の検討なども行われた．

これらの研究会での研究成果をもとにして，Urabe 株ワクチンや Hoshino 株ワクチンが選ばれ，これに対しては厚生省中央薬事審議会ではその製造に必要なムンプスワクチンの基準を決めた．ムンプスという言葉がわかりにくいため，薬品名としては弱毒生おたふくかぜワクチンと呼称することとなった．1978 年には厚生省の特別研究費で「これまですでに開発の進んでいる国産ワクチンについて最終的にその力価の評価，安全性の検討をしてその実現化を図ることを目的」とした研究会（研究代表者 宍戸亮）が組織され，その報告書は翌年の 3 月に刊行された．その結果，1981 年 2 月から任意接種として，一般接種が開始された．

表 2　国産ムンプスワクチン副反応のまとめ（厚生省生物製剤課資料 1979 年）

ワクチン	接種数	対象年齢	副反応	
			耳下腺腫脹（%）	発熱（%）
北研ワクチン	2,381	1〜15	23（1.0%）	14（0.6%）
阪大微研ワクチン	1,491	1〜15	0（0%）	2（0.1%）

（文献 3）より引用）

V．ワクチンの免疫原性と効果

ワクチンの効果を判定するには感染防御を指標とする中和抗体を測定するのが理にあっている．この検査法は，感度はあまり良くないが[10]，Urabe 株ワクチンや Hoshino 株ワクチンの中和抗体によるその免疫原性の調査では，10^4 $TCID_{50}$/m*l* 以上の力価のあるワクチンウイルスでは，ワクチン被接種者の 90%以上が抗体陽性になることが確かめられていた[3]．生物学的製剤基準解説（解説と略）[11]には「わが国で開発され承認された Urabe-Am9 株，Torii 株，Hoshino-L32 株，Miyahara 株，NK-M46 株はどれもほぼ同様な性状を示す．抗体陽転率では，12〜20 カ月児で 92〜100%になる」と記載されている．

VI．ワクチンの副反応

宍戸研究会で発表された副反応のまとめを**表 2** に示した．その頻度は 1%を超えない程度で，極めて軽微であると結論された．中枢神経障害については接種例が少ないので，報告がないとされた．当時の米国での成績では，1968〜1976 年の間に 16 例の報告があり，ワクチン接種者 100 万人当たり 0.9 人と計算され，この数は自然ムンプス 100 万人当たり 2,600 人の髄膜炎発生率に比べれば，はるかに少ないことは明らかであると結論された．そして，日本において今後ムンプスワクチンが広く行われるにしても，おそらくはこれに近い極めて低い発生率であろうと予想された[3]．しかしながら，無菌性髄膜炎の発生頻度は予想より高く，現行の解説[11]にも「Urabe-Am9 株による副反応としての無菌性髄膜炎頻度は，10 万例に 5〜100 件程度に達し，Jeryl-Lynn 株より高く，Leningrad-3 株とほぼ同等の値を示している」と記載されている．

VII．MMR ワクチンの開発

ムンプスワクチン開発当初から混合ワクチンの構想は考えられていた．1974 年には厚生省委託研究費による『麻疹・風疹及びムンプスの三種混合ワクチンの実用化に関する研究班』（研究代表者 宍戸亮）が発足し，野外接種実験を行った[12]．ムンプス中和抗体陰性者に対する三混ワクチン接種による抗ムンプス中和抗体の陽転率および平均抗体価は，微研ワクチン 95.5%，$2^{2.8}$，北研ワクチン 86.6%，$2^{3.5}$であったと報告された．この陽転率は，その後の野外接種試験の結果を知るものには信じられないくらい高い．「2^2前後のところに抗体価が集中している」という記載も注目され，その判定に主観的判断が入り込む余地があったと感じられる．臨床反応についても，「ワクチン被接種者の示した臨床反応はほとんど皆無であるといってよい」と報告され[12]，将来ムンプスワクチンは混合ワクチンとして使用することも可能であると結論された．

諸々の事情のため一端中断の状態にあったとのことであるが，1978 年には単味のムンプスワクチンの実用化を目指す最後の研究会が組織され，1979 年にはその報告書が出された[4]．続いて，1980 年には，「それぞれの単味のワクチンが実用に供されるようになって 3 年以上が経過し，それぞれの評価もおよそ定まったと考えられるので，適切な組合せの単味ワクチンを用いて安全かつ有効な MMR ワクチンを作製する可能性を再び検討する」という『弱毒生ウイルス混合ワクチン（MMR）開発研究班』（研究代表者 宍戸亮）が発足した[5]．

表 3　ムンプス中和抗体非保有者の MRM あるいはムンプス単味ワクチン接種後のムンプス抗体価分布

中和抗体価（Log_2）	MRM	ムンプス単味
＜2	100*	25
2 以上 3 未満	19	7
3 〃 4 〃	71	15
4 〃 5 〃	63	12
5 〃 6 〃	21	10
6 〃 7 〃	8	3
7 以上	2	0
計	284	72
陽転率	184/284(64.8%)	47/72(65.3%)
平均抗体価（Log_2）†	4.0	4.1

＊：人数　†：抗体陽転者のみから算出
（文献 5）より引用）

表 4　ムンプス中和抗体非保有者の MRM あるいはムンプス単味ワクチン接種後のムンプス抗体価分布

中和抗体価（Log_2）	MRM	ムンプス単味	
		鳥居株	占部株
＜2	179※	33	20
2 以上 3 未満	39	2	6
3 〃 4 〃	81	10	13
4 〃 5 〃	34	9	5
5 〃 6 〃	21	0	0
6 〃 7 〃	9	1	2
7 以上	3	0	0
計	366	55	46
陽転率	187/366 (51.1%)	22/55 (40.0%)	26/46 (56.5%)
平均抗体価（Log_2）†	3.7	3.8	3.5

※：人数　†：抗体陽転者のみから算出
（文献 5）より引用）

1 年経過した後，研究代表者は杉浦昭先生に交代した．この研究会では，「合理的かつ科学的根拠に基づいて最良の組合せを提示し得るならば，1 種類の MMR ワクチンを普及するほうが，多種類のワクチンの出現をみるよりも，国民の健康のためには望ましい」と考え[5,14]，過去の実績に基づき，麻疹については北研 AIK-C 株，ムンプスは微研占部株，風疹は To-336 株の統一株を提案した．

私が予研に赴任したのは 1982 年 4 月で，MMR 開発研究班（杉浦昭班長）の最後の年であった．そこでは，抗体陽転率の低さが問題になっていた．第 1 回目の MMR ワクチンの野外接種実験（1981 年 11 月〜1982 年 1 月の間に実施）の結果は，MMR ワクチン接種後抗体陽転率は 64.8%，獲得された抗体価平均値 $2^{4.0}$，ムンプス単味ワクチン接種後抗体陽転率は 65.3%，平均抗体価 $2^{4.1}$であり，いずれの種類のワクチンを用いても陽転率も抗体価も満足すべきものとはいえなかった（**表 3**）．第 2 回目の野外接種実験（1982 年 11 月〜1983 年 1 月の間に実施）はムンプスワクチン株を占部 Am-9 株から鳥居株に変え，接種ウイルス量も前回の $10^{4.0}$から $10^{5.5}$に増強して行われたが結果は同じで，MMR ワクチン接種後抗体陽転率は 51.1%，平均抗体価 $2^{3.7}$，鳥居株単味ワクチン接種後抗体陽転率は 40.0%，平均抗体価 $2^{3.8}$であった（**表 4**）．同時に測定した占部株単味ワクチン（ウイルス量は前回より 10 倍多い $10^{5.0}$）でも，陽転率 56.5%，平均抗体価 $2^{3.5}$であった（表 4）．すなわち，いずれの種類のワクチンを用いても陽転率も抗体価も 1 回目同様やはり満足すべき結果は得られなかった．それまでの研究会で得られた陽転率とは随分異なった結果であった．例えば，特別研究「ムンプスの予防に関する研究班」（宍戸亮班長）の報告しているムンプス単味ワクチン接種後抗体陽転率は明らかに高く，$10^{5.0}$前後のウイルス量を用いれば，いずれのワクチン株であっても 86%と報告されている．

そこで抗体検出感度を上げることにし，補体添加中和法を考案・改善し，第 3 回目の野外接種試験の検体についてこの補体法を用いて測定した．その結果を**表 5** に示す．MMR ワクチン接種後抗体陽転率は 84.4%，占部株単味ワクチン接種後抗体陽転率は 85.4%となり，良好な結果が得られた．この方法を用いて，さらに 2 回目の野外接種試験の結果を再評価してみたところ，MMR ワクチン接種例では 82%，占部株単味ワクチン接種例では 85.6%と推定ができ，第 3 回目の野外接種試験とほぼ同じ結果になった．その後，補体添加中和法はさらに改善が加えられ，さらに陽転率は向上し

表 5　各種測定によるムンプス抗体陽転率（%）

ワクチン	抗体測定法		
	通常法（予研法）	補体法	ELISA 法
MRM	51.1	84.4	90.1
鳥居株単味	40.0	71.7	88.5
占部株単味	56.5	85.4	97.2

（文献 5）より引用）

た[13]．

この研究会の結論として，

① MMR ワクチンのサル接種では，それぞれ単独のウイルスを接種した結果生じる以上の病変は見出されなかった．

② 希望者に MMR ワクチンを接種した場合，それぞれの単味ワクチンによって生じる以上の臨床反応はみられなかった．

③ 3 種類のワクチンを混合して接種した結果，いずれかのワクチンの免疫原性が低下することを示唆する結果は得られなかった．

以上の成績から今回使用した組合せの MMR ワクチンは安全かつ有効であると結論される．

④ 現在ムンプスワクチンの効果を評価するために用いられている中和試験は，自然感染に比して免疫原性の低いワクチンの効果を判定するには必ずしも適当でない．判定に際しての客観性を高めかつ抗体検出の感度を上げるためには補体添加中和試験がすぐれていると考えられる．

以上の結論で，MMR ワクチンの実用化にゴーサインが出た[5]．

統一株が誕生し，「1988 年 6 月公衆衛生審議会伝染病予防部会予防接種委員会から麻疹の定期接種時に MMR ワクチンを接種できるようにすべきであるという意見が出され，1989 年 4 月から麻疹定期接種に際し，同時に風疹およびムンプスの予防接種を希望する旨申し出があったときには，MMR ワクチンが使用できる」こととなった[14]．日本における MMR ワクチンの一般接種は，1989 年 4 月〜1993 年 4 月まで行われたが，1989 年夏頃より，MMR ワクチン接種後の無菌性髄膜炎の発生が問題になってきた．MMR ワクチン導入以前にも，任意接種におけるムンプスワクチン接種後の無菌性髄膜炎の発生報告はあるが，それがワクチンウイルスによるものであるか，自然感染によるものであるかの判定が難しかった[14,15]．しかしながら，ワクチンウイルス自体により無菌性髄膜炎を発症した症例が否定できなくなったので，厚生省は同年 9 月に MMR ワクチン接種後の無菌性髄膜炎の発生について注意喚起をし，同年 10 月には MMR ワクチンの接種に慎重を期すべきことを都道府県に通知した[14]．実態が明らかになり，同年 12 月，保護者からの申し出があった場合に限り，MMR ワクチンを接種するという通知とともに，厚生省は通知「MMR ワクチンの接種について」を示し，保護者の判断の参考にするために，疾患の重篤性，ワクチンの意義と副反応の実態を事前に周知・広報するように通知した[14]．1991 年 6 月には，小児科学会予防接種委員会の要望を受け，「保護者の申し出があれば，MMR ワクチンを接種する場合には統一株に代え自社株ワクチンが使用できるようにした」[14]。しかしながら，その後も無菌性髄膜炎の発生状況は改善せず，1993 年 4 月に MMR ワクチンの接種を一時見合わせる措置をとるに至った．

ここで注意を喚起したいことは，MMR ワクチン接種時期には，当然のこととして，ムンプスワクチンの接種率も飛躍的に向上し，ムンプスの流行も一時的に影を潜めていたとの事実があったことである[2]．

Ⅷ．ワクチン開発過程での問題点

1．ムンプスワクチンの副反応の把握

ムンプスワクチン開発当時，ムンプスワクチンの副反応は，同じ弱毒生ワクチンである麻疹ワクチンなどに比べると，極めて軽微であるという，楽観的な評価であった[3]．しかしながら，よく知られているように，MMR ワクチンの実用化とともに無菌性髄膜炎が多発し，その原因がムンプスワクチンによるものと確認された．日本における MMR ワクチンの一般接種は，1989 年 4 月〜1993 年 4 月までのわずか 4 年間であったが，被接種者は 183 万余人に達し，接種後の無菌性髄膜炎は 1,754 人（1/1,044 人）に発症し，そのうち PCR 法でワクチン株と同定できたものは 627 人（1/

表 6　MMR ワクチンおよびムンプスワクチン接種後の無菌性髄膜炎発症状況（1989.4〜1993.4）

ワクチン（ムンプス株）	MMR ワクチン	ムンプスワクチン
統一株（占部 Am9 株）	1/933 人	—
自社株合計	1/1,984 人	—
北里株（星野株）	1/1,883 人	1/17,749 人
武田株（鳥居株）	1/1,212 人	1/12,718 人
阪大微研株（占部 Am 9 株）	1/18,686 人	1/6,435 人
千葉血清株（NK-M 46 株）	—	1/4,415 人
化血研株（宮原株）	—	1/8,088 人

（文献 1, 14）より引用）

2,920 人）であった（丸山：厚生省エイズ結核感染症課）[14]．なぜ，無菌性髄膜炎の多発という副反応が，実用化前に見出されなかったのだろうか．その原因ははっきりしていて，症例数が絶対的に少なかったのが理由と思われる．MMR 開発研究班（研究代表者 宍戸，杉浦）では MMR ワクチンの野外接種試験を 3 回行ったが，すべて数百人のレベルで，無菌性髄膜炎の副反応を検出するには無理があったが，その当時の野外接種試験の症例数としては，必ずしも少ないほうではなかった．次なる問題は，単独のムンプスワクチンと MMR ワクチンとで無菌性髄膜炎の発症率は異なるかどうかという点である（**表 6**）．星野株ワクチン単独の無菌性髄膜炎の発症は 17,749 人に 1 人であるが，星野株を含む北里 MMR ワクチンでは 1,883 人に 1 人であった．同様に，鳥居株ワクチン単独の無菌性髄膜炎の発症は 12,718 人に 1 人であるが，鳥居株を含む武田 MMR ワクチンでは 1,212 人に 1 人であった．両ワクチンとも，ムンプス単味ワクチンは MMR ワクチンの約 1/10 の発生となっている．これは麻疹・風疹ワクチンとの混合による影響なのかについての詳細は解析されていない．ただ，奇妙なのは占部株ワクチン単独の無菌性髄膜炎の発症は 6,435 人に 1 人と他の株の 2〜3 倍であるが，占部株を含む阪大微研 MMR ワクチンでは 18,686 人に 1 人と，明らかに低かった．MMR 研究会が推奨した統一株には占部株が含まれており，その発症は 933 人に 1 人と高率で，明らかに自社株とは発生頻度に大きな違いがあることが明らかになった．一方，国立予防衛生研究所では，プラックサイズの分布と細胞における増殖曲線から統一株に含まれる占部株と微研自社株ワクチンに含まれている占部株とは異なっていることを見出した[16]．ここで，占部株ワクチンに対する疑念が生じ，立入検査が行われ，薬事法違反の事実が確認され，すでに承認されているワクチン製造法とは異なった方法で製造されていることが明らかになった．この経過については現感染研のムンプスワクチンの責任者である加藤の論文に詳しく記載されている[9]．現在，阪大微研では，ムンプスワクチンも MMR ワクチンも製造と販売を中止している．

1991 年 10 月に自社株 MMR ワクチンの市販されたのを契機に，「わが国における自社株および統一株 MMR ワクチンに関する」研究班（研究代表者 木村三生夫）が組織され，全国的に MMR ワクチンの接種後の副反応につき主として無菌髄膜炎の発生に関して prospective study が，1993 年 4 月に MMR ワクチン接種見合わせの指示が出るまで続けられ，詳細な報告がなされている[16]．本研究班による各ワクチンの無菌性髄膜炎の発生頻度は従来の調査結果と一致したと結論された．もう一つの注目すべき結論は，「無菌性髄膜炎の発生頻度が極端に異なる 2 つのムンプスワクチン占部株について，生物学的性状に相違があることが初めて明らかにされた．今後のムンプスワクチンの改良研究に際して，貴重な資料となるものと考えられる」という点である．

2．ムンプスワクチンのサル接種実験

現行の弱毒生ムンプスワクチン基準ではサル脳内接種が義務づけられており，「サル 10 匹以上に，1 匹当たり検体 0.5 m*l* ずつを左右各半球視床内に，

表 7　ウイルス株間の相違（ムンプスワクチン研究会 1979 年）

ウイルス		プラックの大きさ		増殖
		R-66 細胞	Vero 細胞	R-66 細胞
野生株	W-S 株	＋	＋＋	＋＋
	W-U 株	＋＋	＋＋	NT
ワクチン株	J. L. 株	−	±	±
	微研株	±	±	＋
	北研株	±	±	NT
継代株	E-Y 株	＋＋	±	＋＋

（文献 4）より引用）

0.25 m*l* を小脳延髄槽内にそれぞれ注射して，21 日間観察する．この間，いずれの動物も麻痺その他の神経系の障害を示してはならず，かつ動物の 80％以上は生き残らなければならない．ただし，いずれの動物も接種ウイルスあるいは接種材料中の外来性微生物に基づく異常な臨床症状および死亡を認めてはならない．さらに，観察期間終了時に剖検を行うとき，試験動物の中枢神経組織に接種ウイルスもしくは，接種材料中の外来性微生物に基づく異常な病変を認めてはならない」[11] と決められている．が，わざわざサルに接種して検定を行わなければならない根拠はほとんどなかったのではないかと思われる．宍戸も「サル接種実験で，ワクチン株と野生株との間でその病原性に有意の差がみられれば，ワクチンの弱毒の 1 つの指標になり得るであろう．しかしながらサルに対するムンプスウイルスの脳内接種ならびに耳下腺接種試験では，ワクチン株ウイルスと野生株ウイルスとの間にさして著しい相違を見出すことはできず，サル接種試験ではワクチン株の弱毒確認試験となり得ないことが見出された」と報告している[3,4]．このことはその後の，MMR 開発研究班においても追認されている．これらの事実はムンプスワクチンの検定にはサル接種試験というのは必ずしも必要ではないことを示している．ムンプスワクチンの検定におけるサル接種試験は現在でも続いているが，動物愛護の見地からも中止されるべきでなかろうか．また，このことはムンプスワクチンウイルスの弱毒化がまだ十分でないことも示唆している．第 21 回臨床ウイルス談話会において，「サルの脳内接種病理像で強毒株と明瞭な差のある弱毒株を開発するよう，今後引き続き改良の努力をお願いしたい」という質疑がなされ[3]，宍戸は「野生ウイルスとワクチンウイルスとの間でサルに対する反応に差があることが望ましいが，現在の段階では両者とも弱い反応ながら共通に認められ，差はみつけられなかった．しかし臨床反応では明らかに差が認められその安全性を一応は信じたい」と答えている[3]．

3．マーカー試験について

弱毒ウイルス株と野生ウイルスとを簡単に鑑別できるマーカーがあると，ワクチンウイルスを追跡するうえで，非常に便利であるので，ワクチン開発初期に，いろいろ調べられた．*in vivo* の各種動物の感受性試験，*in vitro* の各種細胞に対する感受性，プラックの大きさ等について検討が行われ，ワクチン株は Vero 細胞に対して小さなプラックを作り，野生株あるいは継代株と区別されることが報告された（**表 7**）[3]．このプラックサイズは日本のワクチン株の品質管理のために使用するように決められた[3,4]．これはワクチン製造の際の弱毒マーカーとも理解され，分離ウイルスのプラックサイズを測定し，ワクチン株や野生株のそれと比較することでワクチン株か野生株かの鑑別が可能であるといわれた．しかしながら，菱山らがプラックサイズは比較的簡単に変動し，ワクチン株であっても，Vero 細胞で 1 代継代するだけで容易に大きくなるような遺伝学的に不安定な性状であることを明らかにした[17]．その後，広島衛生研究所の仕事も，「MMR ワクチン接種後に髄膜炎を発症した患者から分離され，予研での PCR 法による鑑別の結果ワクチン由来株であると判定されたムンプスウイルス株について，それらのプラックサイズを測定し，ワクチン株や標準野生株と比較した結果，分離ウイルスのプラックサイズを指標として野生株かワクチン株かの鑑別を行うことは適切ではない」ことが証明された[18]．現行の解説[11]にも，「国産のワクチン株のプラックは野外株のプラックに比べて小さい．しかし，弱毒株として世界的に認知され得ている Jeryl-Lynn 株のプラックは大き

く，プラックサイズをもってしてヒトの弱毒性のマーカーにはならない」と書かれている．「プラックサイズをもってしてヒトの弱毒性のマーカーにはならない」ということを認めたことはいいのだが，Jeryl-Lynn 株はプラックサイズが大きいと書かれていることに関しては，疑問が残る．開発当時の報告書の記録には，「R-66，Vero においては，野外株は大きく，ワクチン株では（プラックサイズが）小さい傾向が認められ，特に R-66 においては Jeryl-Lynn 株がプラックを形成されないことが注目された」と書かれているし[3,4]，本報告（表7）のなかでも，「Vero 細胞でも Jeryl-Lynn 株はプラックサイズが小さい」と書かれている[3,4]．この矛盾はどのように解決されたのであろうか．

このプラックサイズマーカーの採用は，他の分野で大きな間違いをもたらした．ムンプスワクチン接種後にムンプスウイルスが分離された場合，分離ウイルスが接種ワクチンに由来するのか，あるいはたまたま同じ時期に自然感染した野生株に由来するのかの鑑別に，このプラックサイズマーカーが採用された．その結果，ムンプスワクチン接種後にムンプスウイルスが分離された場合のほとんどが野生株由来であると判断されたが，その後の研究成果から判断すると，これらのなかにはかなりの高率でワクチン由来ウイルスが含まれていたと推測される．1989 年の厚生省予防接種副作用研究班における山田らの報告[19]によれば，ワクチン接種後耳下腺腫脹および軽度の髄膜炎症状を呈したものから得られた 8 株を PCR 法で同定したところ，すべてワクチン株と同一であったとのことである．この事実は，ムンプスワクチンの副反応の判定にも，重大な誤りがあった可能性を示唆している．

その後，予研によってワクチン株かどうかを PCR 法で鑑別する方法が提案され[20]，北研からは RFLP 法による鑑別法も報告された．現在では塩基配列を直接決定することも容易になっているのに，いまだに，生物製剤基準[11]にプラックサイズマーカーは採用されていて，「プラックサイズを測定するとき，その値は参照ウイルスと同程度でなければならない」と記載されている．解説書[11]によれば，「ウイルスが製造中に集団として変化していないことを，プラックサイズの変化から確かめることは可能である」とのことである．徳山ダムが最初多目的ダムで計画され，発電所用に変更され，ついで治水目的に変わり，また多目的ダムに目的を変更され，工業用，飲料水用といろいろ目的を変えながら結局は計画を変更しないのと似ている感じがする．

4．不顕性感染率[4]

ムンプスの予防に関する研究班（宍戸亮班長）の報告書に奇妙な文章が掲載されている．「今年度の試験接種のために罹患歴がないとして集められたワクチン接種前血清 307 例について不顕性感染率の検討を行い，不顕性感染率は 94/307（31%）であった」．抗体陰性を感染がなかったと判断することは，当時の抗体測定の感度の低さを考えれば少し問題があるが，それはこの際は無視しても，あまりにも非科学的でびっくりしたことを思いだす．不顕性感染率というのは無症状者数/感染者数（抗体陽性者数）と計算すべきなのを，抗体陽性者数/無症状者数で簡単に算定している．もう少し詳しく書くと，A：感染して症状が出た者の数，B：感染しても症状が出なかった者の数，C：感染しなくて，もちろん症状の出ない者の数とすると，不顕性感染率は B/A＋B であるのに，この文章では B/B＋C が不顕性感染率として計算されている．この報告が例外だと思いたかったのだが，同じ報告書[4]のなかの東京大学関係の報告や総合成績にやはり同様な方式で不顕性感染率が算定されていることを併せて考えると，当時はこのように不顕性感染率が考えられていたとは驚きを禁じ得ない．

5．抗体検出方法

MMR 開発研究班（杉浦昭班長）の野外接種実験は 2 回行われたが，いずれの場合も抗体陽転率は低く満足すべき結果は得られなかった．従来の中和抗体測定法[10]では，ワクチン被接種者検体の多くが，最初の希釈段階のところで 50%前後の抑制率を示したので，その判定に主観の入り込む余地が多分にあった．そこで，抗体検出法の改善に取り組み，補体添加中和法という高感度中和法を確立し，当初認められた安定な成績が出ない欠点も，改善された[13]．この方法の特徴として[5]，① 通常法と比較して感度が良い，② 非特異的反応

（疑陽性）は極めて少ない，③ プラック減少曲線の勾配が急峻である，④ ワクチン被接種者も抗体検索においては，16 倍希釈段階以降のところに，50％の抑制を示す検体が多く，陽転率の判定に主観的要素の入り込む余地は少ない．ただ，⑤ 操作が少し複雑なので，一般医療機関や検査機関で施行するには少し困難な点がある．この補体添加中和法を用いて，野外接種実験の検体を再評価したところ，前述したように，良好な陽転率が得られた．その後開発された EILSA 法は感度も高く，操作も簡便なので，抗体測定法として優れているが，必ずしも感染防御抗体を測定していないという点は考慮しておいたほうがいいと思われる．改善された補体添加中和法は ELISA 法と非常によく相関するようになり，かつ両者の試験もかなり一致するようになったので，現在は ELISA 法を用いて抗体が測定される場合が多い．

その当時考えたことは，使用したムンプスワクチンの免疫原性が弱いのではないかということと抗体測定法の感度が低いのではないかということであった．自然感染における抗体の上昇とワクチン接種後の抗体価とは明らかな差が認められるので，その意味ではより改善したムンプスワクチンの出現が望まれるという正しい判断をしながら，抗体測定法の感度を上げるほうに力を入れてしまった．改善したムンプスワクチンを開発することは簡単なことではないので，抗体測定法の改善に向かったというのは，わからないでもないが，低い抗体価の底上げを図った感があるのは否定できない．私自身の責任もあると反省している．

6．抗体価算定方式の問題点

低い中和抗体価を計算する方法として Behrens-Karber 法が採用されていた[4,10]．その採用された理由はわからないが，低い抗体価を高くみせようとする気持ちがあったような気がする．杉浦報告書[5]には「計算方法として Behrens-Karber の方法を応用して，各希釈段階の抑制率を加算するやり方をしているけれど，どこまで加算するかという点で曖昧さがある．また抗体価が実際より高くでがちである．いかなる方法を採用しようとも，プラック中和法の場合はプラック数を 50％抑制した希釈数の逆数でもって中和力価とすべきだと思われる」と記載されている．

Ⅸ．今後の課題

現行のワクチンでは一定の頻度で無菌性髄膜炎が発症することは避けられないが，自然感染に比べればはるかに低いし，その病状も軽い．ワクチン接種率をなんとかして高くしたいものである．しかしながら，ムンプスウイルスは病原性と免疫原性のバランスが非常に難しいウイルスのような気がする．現行のワクチンは弱毒化という意味ではまだ不十分かもしれないが，免疫原性は限界に近づいており，現行ワクチンの改良にもあまり希望がもてない可能性がある．1995 年の木村報告[16]には，「無菌性髄膜炎の発生頻度が大きく異なる 2 つの占部株に関する臨床的，基礎的知見は今後のムンプスワクチンの改良に際して貴重な資となるものと考えられている」と書かれているし，その後占部株の塩基配列は解析されているので，そこから何か情報は得られていないのだろうか[21]．

ムンプスワクチンの任意接種が開始されたのが，1981 年 2 月であり，MMR ワクチンの一般接種が開始されたのが 1989 年 4 月で，その間に 8 年以上の年月が経っているが，無菌性髄膜炎の副反応が大きく問題になったのは 1989 年の夏頃である．この理由は解明されているのだろうか．

ムンプスウイルスは一生の間ではかなりの人が感染する．ムンプスでは死亡例は少ないかもしれないが，必ずしも軽い疾患ではない．高度の難聴も起きるし，無菌性髄膜炎もかなりの頻度で生じる．ぜひワクチンで予防したい病気である．

文　献

1）宮津光伸：ムンプスワクチンの副反応のとらえ方．新・予防接種のすべて（堺　春美編）．診断と治療社，東京，1997，108
2）宮津光伸，磯村思无：ムンプスワクチンとその問題―有効性について―．予防接種のすべて（堺春美編）．診断と治療社，東京，1994，80
3）宍戸　亮：ムンプスワクチン．臨床とウイルス 8：319，1980
4）宍戸　亮：特別研究　ムンプスの予防に関する研究．1979
5）杉浦　昭：弱毒生ウイルス混合ワクチン（MRM）

開発研究報告書．1983
6）高橋義宏，他：高頻度に髄膜炎をおこし，占部ワクチン株との異同が問題となったムンプスウイルス株（大館株）の臨床的検討．臨床とウイルス 24：30，1996
7）青柳憲幸，他：ムンプス難聴．小児科 37：1273，1996
8）木村慶子：国産弱毒生ムンプスワクチンの臨床的意義．慶應医学 54：503，1977
9）加藤　篤：おたふくかぜワクチン．臨床とウイルス 34：261，2006
10）速水正憲：ムンプスのウイルス学的・免疫学的検査法．臨床とウイルス 8：306，1980
11）渡邉治雄編：生物学的製剤基準　解説．じほう，東京，2007，34
12）宍戸　亮，他：1974 年麻疹・風疹・ムンプス三混ワクチン野外接種成績．臨床とウイルス 4：75，1976
13）菱山美智子，他：ムンプス補体添加中和試験の改良法と ELISA との相関．臨床とウイルス 16：393，1988
14）丸山　浩，富澤一郎：MMR ワクチン接種後の無菌性髄膜炎発生状況とその対応．臨床とウイルス 22：77，1994
15）高橋理明：MMR ワクチンの現状．小児科臨床 43：751，1990
16）木村三生夫，他：わが国における自社株及び統一株 MMR ワクチンに関する研究．臨床とウイルス 23：314，1995
17）菱山美智子，他：おたふくかぜワクチン株プラークサイズの Vero 細胞継代による変化．医学の歩み 153：445，1990
18）高尾信一，他：MMR ワクチン接種後に発症した無菌性髄膜炎患者髄液から分離されたムンプスウイルスのプラークサイズの検討．臨床とウイルス 19：304，1991
19）山田章雄，他：Polymerase Chain Reaction を用いたムンプスウイルス株の鑑別．厚生省予防接種副作用研究班報告書．1989
20）山田章雄：ムンプスワクチン接種に伴う無菌性髄膜炎の起因ウイルスの鑑別法．実験医学 8：207，1990
21）森　千里，他：ムンプスウイルス占部ワクチン株の塩基配列の解析．臨床とウイルス 23：351，1995

＊　　＊　　＊