

学 位 論 文 題 名

オイルアジュバントの注射局所反応に関する病理学的研究

学位論文内容の要旨

オイルアジュバントを用いた動物用ワクチンは近年、鶏病ワクチンを中心に、豚あるいは猫用など数種類が開発、実用化されており、高レベルの血中抗体の産生と、長期に及ぶ強毒株に対する防御効果が認められている。オイルアジュバントをはじめとするアジュバント物質の免疫増強効果に関する研究は数多くなされているが、アジュバントワクチンによって生ずる注射局所反応に関する研究は極めて少ない。とくに、アジュバントの種類や対象とする動物種による注射局所の反応を比較した病理学的研究はほとんどなされていない。本研究では、新しいオイルアジュバント ISA-70 を中心に、数種の動物におけるオイルアジュバントに対する局所反応性を病理学的に比較検討し、その特徴を明らかにした。さらに、オイルアジュバントを構成する各成分の局所反応に及ぼす影響を病理学的に検討し、各成分それぞれの役割について考察を加えた。

まず、モルモットおよびラットに4種類の異なるアジュバント（オイルアジュバント（ISA-70）、フロインド不完全アジュバント（FIA）、フロインド完全アジュバント（FCA）、リン酸アルミニウムゲルアジュバント（APG））に、それぞれニューカッスル病（ND）ウイルス不活化抗原あるいはリン酸緩衝食塩液（PBS）を加えて作製した乳剤を筋肉内に注射し、注射後 16 週間に亘り注射部位の病理学的変化を比較検討した。ISA-70 を注射したモルモットでは、肉眼的に注射後 2 ～ 8 週目に注射部位の皮下

組織の部分的肥厚、筋肉内結合組織の変色および所属リンパ節の腫脹が認められた。FIA 注射例は、ISA-70 とほぼ同様の肉眼変化を示したが、FCA では注射後 2 週目以降、局所の著明な腫脹と膿瘍形成を伴う硬結が観察された。また APG 注射例では、注射部位の筋肉内に限局性の変色病巣が認められた。

組織学的には、ISA-70 乳剤注射局所では、注射後 72 時間目には急性炎症反応が認められ、その後 4 週目をピークに種々の大きさのオイルシスト、マクロファージ、類上皮細胞の集簇および線維性組織から成る肉芽腫性病変の形成が、皮下組織及び筋肉内で観察された。これらの変化はモルモット、ラットともほぼ同様の経過で推移し、ISA-70 では他のアジュバントに比べて短期間に退縮する傾向を示した。ND ウイルス抗原を含む材料注射例では、上記の変化に加えてリンパ球、形質細胞の著明な浸潤が認められた。所属リンパ節では、実質に小型のオイルシストを伴ったマクロファージの集簇、形質細胞の増数、リンパ濾胞胚中心の明瞭化が所見された。また APG では、病巣は比較的限局していたが、注射材料の残留とこれを取り囲むマクロファージの集簇ならびに線維化が、注射後 2 週目以降長期間に亘って観察された。

次に、ワクチン対象動物であるニワトリに対し、ND ウイルス抗原を含む各種アジュバント乳剤を胸筋内に注射し、16 週間に亘り、血清抗体価の推移を検査するとともに、局所反応を病理学的に観察した。ISA-70 による局所反応の特徴は、小型のオイルシストとこれを取り囲むマクロファージ、類上皮細胞および線維芽細胞の増殖ならびにリンパ球、形質細胞の浸潤であった。これらの変化は、注射後 2 週目にピークに達し、その後退縮傾向を示した。ISA-70 による病変は、フロインドアジュバントによるそれに比較し軽度であった。FCA においては、最も強い肉芽腫性病変が皮下組織および筋肉内の広範囲に及んで長期間認められ、病巣内には微小膿

瘍形成も認められた。

以上の所見から、アジュバントに対する反応は動物種間で異なり、ニワトリにおける局所反応はモルモットやラットでのそれに比べ軽度で、早期に退縮する傾向を示した。また血清学的検査および乳剤の物理学的性状からも、ワクチンアジュバントとしての ISA-70 の有用性が示された。

最後に、オイルアジュバントを構成する各成分の局所反応に及ぼす影響をモルモットを用いて検討した。構成成分の一つである流動パラフィン単独の注射でも、大型のオイルシストを伴った肉芽腫性病変を惹起した。オイルアジュバントの乳化剤を構成する各成分のうち、無水糖脂肪酸エステルジ体群である画分 (Fr. 1) は、流動パラフィンと乳剤とした場合注射局所に大型の膿瘍を形成した。抗原として用いた牛血清アルブミンに対する血中抗体産生は、無水糖脂肪酸エステルモノ体群 (Fr. 2) を含む流動パラフィンとの乳剤を注射した場合にのみ認められた。この注射局所の組織病変では、活発なマクロファージの増殖を伴った肉芽腫性病巣に、リンパ球や形質細胞の参加が強く観察された。乳化剤のもう1つの構成成分であるポリオキシエチレン化糖脂肪酸エステル (Fr. 3) は、多量投与では注射後早期に筋線維の巣状変性、壊死を生じたが、流動パラフィンとの乳剤では肉芽腫性病巣内に形成されるオイルシストは、他の材料を注射した場合と比較し、小型で分布範囲も狭かった。

以上の成績から、オイルアジュバントを構成する成分のうち、Fr. 2 は流動パラフィンとともにオイルアジュバントの免疫活性に最も重要な役割を果たしているものと考えられた。また多量投与では、筋線維の変性をもたらす Fr. 3 は乳剤化に作用し、形成されるオイルシストを小型化し、病変の軽減に効果を示すものと考えられた。一方 Fr. 1 は、作用が不明で、病変を悪化させるようであった。

学位論文審査の要旨

主査	教授	板倉	智敏
副査	教授	橋本	晃
副査	教授	喜田	宏
副査	教授	小沼	操

学位論文題名

オイルアジュバントの注射局所反応に関する病理学的研究

本論文では、ワクチンの免疫増強に用いられるアジュバント、特に近年鶏病ワクチンに用いられるようになったオイルアジュバント（ISA-70）の注射局所反応を病理学的に研究した。

最初に、下記4種類のアジュバントをモルモットとラットの筋肉内に注射し、これによる局所反応を比較した。ISA-70注射局所では、注射後72時間で急性炎症が生じ、注射後4週を頂点に肉芽腫が形成された。この肉芽腫形成に至る過程は、フロイド不完全アジュバント（FIA）並びにフロイド完全アジュバント（FCA）注射局所においても同様であった。しかし肉芽腫の退縮は、ISA-70がFIA、FCAよりもやや早かった。リン酸アルミニウムゲルアジュバント（APG）注射局所では、注射後2週間以降長期にわたって、注射材料に対する異物反応が認められた。

次に、上記の4種の各アジュバントにニューカッスル病ウイルス（NDV）抗原を含ませて鶏の胸筋内に注射し、これらによる局所反応を比較した。ISA-70による反応の特徴は、小型のオイルシストとこれを取り囲む肉芽腫形成、さらに小円形細胞浸潤で、これは注射後2週で頂点に達し、以後退縮傾向を示した。ISA-70によるこの反応は、FIA、FCAによる反応より軽度であった。なお、これら3種のアジュバント注射例ではNDVに対するHI価が、注射後8週以降高値で推移した。

さらに、ISA-70を構成する以下の成分の局所反応に及ぼす影響を、モルモットを用いて検索した。その結果、流動パラフィン（流パラ）は肉芽腫形成を、無水糖脂肪酸エステルジ体群は流パラと乳剤にした時大型膿瘍を、無水糖脂肪酸エステルモノ体群（Fr2）は流パラと乳剤にした時牛血清アルブミンに対する血中抗体産生を惹起した。以上から、Fr2がISA-70の免疫活性に最も重要な役割を果たしていることが証明された。

以上の成果は動物用ワクチンの開発に大きく貢献する。よって審査員一同は、山中盛正氏が博士（獣医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。