

論文の内容の要旨

獣医学専攻

平成 14 年度博士課程 入学

氏 名 大森啓太郎

指導教員名 辻本 元

論文題目 Studies on allergic reactions after vaccination in dogs
(犬におけるワクチン接種後アレルギー反応に関する研究)

犬においてワクチン接種後に様々な副反応が起こることが知られているが、なかでもアレルギー反応の占める割合が多いことが報告されている。とくに全身性アレルギー反応であるアナフィラキシーショックは、ワクチン接種のために来院した健康な犬を生命の危機にさらし、ときには死亡させることがある。このような現状から、ワクチン接種後アレルギー反応は小動物臨床において克服すべき重要課題であると考えられる。しかしながら、犬においてワクチン接種後アレルギー反応に関する臨床的解析や発生メカニズムの解明を目指した基礎研究はこれまでにほとんど行われておらず、その実態については不明な点が多かった。そこで本研究においては、犬におけるワクチン接種後アレルギー反応の実態および病態を明らかにし、さらに犬用ワクチンに含まれるアレルゲンを特定することを目的として一連の解析を行った。

第一章：犬のワクチン接種後アレルギー反応の実態に関する疫学調査

2001～2002年に全国50箇所の開業動物病院の協力を得て、犬ジステンパーや犬パルボウイルス感染症などに対するワクチン接種の後、24時間以内にアレルギー反応と考えられる症状を示した犬85頭の臨床所見を解析した。85頭の犬をその臨床症状によって分類した結果、24頭が呼吸器・循環器症状（虚脱、血圧低下、徐脈、呼吸困難、呼吸促迫など）を、59頭が皮膚症状（顔面腫脹、痒み、紅斑、蕁麻疹など）を、2頭が呼吸器・循環器症状と皮膚症状の両方を示していた。また、これらの犬のうち16頭が消化器症状（嘔吐、下痢など）を併発していた。さらに呼吸器・循環器症状を示した犬のうち1頭が死亡していた。呼吸器・循環器症状を示した24頭、および呼吸器・循環器症状と皮膚症状を同時に示した2頭では、その症状は全例においてワクチン接種後60分以内に発現していた。一方、皮膚症状を示した59頭では、その症状は、22頭においてワクチン接種後60分以内に、37頭においてワクチン接種後1～24時間に発現していた。このことから、呼吸器・循環器症状はIgE媒介性即時型反応によるアナフィラキシーショックに起因するものであり、皮膚症状は即時型反応とT細胞媒介性の非即時型反応の両方が関与することが示唆された。また、85頭のうち、16頭が1回目のワクチン接種にもかかわらずアレルギー反応を示していたことから、これらの犬においてはワクチン接種以外の経路によってワクチン成分中のアレルゲンに感作されていたものと考えられた。また、今回の調査において、ワクチンに対するアレルギー反応が認められた85頭の犬のうち31頭（36%）がミニチュアダックスフンドであったことから、本品種がワクチンアレルギーの好発犬種である可能性が考えられた。

第二章：ワクチン接種後アレルギー反応を起こした犬におけるワクチンおよびワクチン成分に対する血清中IgE抗体の反応性

第一章におけるワクチン接種後アレルギー反応を起こした犬に関する疫学調査から、ワクチン接種後60分以内に臨床症状が発現した即時型反応の病態はIgE媒介性I型過敏反応であることが示唆された。そこでワクチン接種後即時型アレルギー反応を起こした犬におけるワクチン中アレルゲンの解析を行った。

ワクチン接種後60分以内にアレルギー反応を起こした犬10頭の血清を用い、ワクチンおよびワクチン成分に対する血清中IgE値をマウス抗イヌIgEモノクローナル抗体を用いたELISA法により測定した。また、ワクチン成分中に含まれる牛血清アルブミン（BSA）量をサンドイッチELISA法により測定した。

ワクチン接種後アレルギー反応を起こした10頭のうち、5頭が虚脱、呼吸困難、チアノーゼなどの呼吸器・循環器症状を起こし、5頭が顔面浮腫や痒みなどの皮膚症状を起こしていた。ワクチンに対する血清中IgE抗体を測定した結果、10頭中8頭においてワクチンに

に対する IgE 抗体が検出された。さらに、ワクチン成分に対する血清中 IgE 抗体の反応性を調べた結果、8 頭中 7 頭においてワクチンに含まれる牛胎子血清 (FCS) に対する IgE 抗体が検出され、1 頭において安定剤としてワクチンに含まれているゼラチンおよびカゼインに対する IgE 抗体が検出された。また、FCS 中のタンパク質成分の 1 つである BSA が、市販の犬用ワクチン中に多量に含まれていることが明らかとなった。

本研究の結果、ワクチン接種後即時型アレルギー反応はワクチンに対する IgE 媒介性 I 型過敏反応によって引き起こされることが示された。また、ワクチン中に含まれる FCS、ゼラチン、およびカゼインがワクチン接種後アレルギー反応の原因アレルゲンとなっていることが明らかとなった。

第三章：ワクチン接種後アレルギー反応を起こした犬における FCS 中アレルゲンの解析

第二章における研究結果から、犬におけるワクチン接種後アレルギー反応の主要な原因アレルゲンは、ワクチン中に含まれる FCS であることが明らかとなった。そこで FCS 中においてアレルゲンとなり得るタンパク質成分を解析した。

ワクチン接種後にアレルギー反応を起こし、ワクチンおよび FCS に対する IgE 抗体を有する 16 頭の犬の血清を用いた。ワクチンおよび FCS に対する IgE 抗体は ELISA 法により検出し、次いでこれら犬の血清 IgE 抗体と反応する FCS 中のタンパク質成分を、抗イヌ IgE 抗体を用いたイムノプロット法によって解析した。

血清を解析した 16 症例のうち、2 頭がアナフィラキシーと考えられる呼吸器・循環器症状を起こし、14 頭が顔面浮腫などの皮膚症状を起こしていた。これらアレルギー反応は、ワクチン接種後数分から 20 時間に認められていたが、即時型および非即時型反応のいずれを起こした場合にもワクチンおよび FCS に対する IgE 抗体が検出された。FCS 成分中アレルゲンのイムノプロット解析においては、ワクチン接種後アレルギー反応を起こした犬の血清 IgE 抗体が認識するさまざまな分子量のタンパク質が検出された。なかでも、16 頭中 14 頭の犬の血清が約 66-kDa のタンパク質に対し反応していた。分子量からこのタンパク質が BSA であることを想定し、精製 BSA に対する血清中 IgE 抗体の反応性を検討したが、精製 BSA に対する IgE 抗体が検出された犬は 16 頭中 4 頭のみであった。

これらの結果から、BSA の他、複数の血清タンパク質が FCS 中のアレルゲンとなっていることが明らかとなった。BSA は FCS の成分であるだけでなく、レプトスピラ用不活化ワクチンにも大量に含有されていることから、アレルギー反応の少ないワクチンを製造するためには、ワクチン成分からの FCS および BSA の除去が必要であるものと考えられた。

これら一連の研究結果から、犬においてワクチン接種後アレルギー反応を引き起こすワ

ワクチン成分中のアレルゲンとして、FCS、BSA、ゼラチンおよびカゼインを同定することができた。ヒトにおいては、ワクチン成分からアレルゲンを除いた低アレルゲン化ワクチンを開発することにより、ワクチン接種後アレルギー反応の件数が劇的に減少したことが報告されている。犬においても、ワクチン接種後アレルギー反応を減らすためには、ワクチン成分からアレルゲンを除去した犬用低アレルゲン化ワクチンを開発することが必要である。今回の一連の研究は、犬におけるワクチン接種後アレルギー反応の病態を明らかにしたものであり、その発生を減らすための具体的な方策を提示し得たものと考えられる。