

氏 名 (本籍)	藤 川 英 雄 (熊本)
学 位 の 種 類	獣 医 学 博 士
学 位 記 番 号	乙 第 102 号
学位授与の日付	昭和52年3月14日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題名	マレック病の免疫方法に関する研究——とくに七面鳥ヘルペスウイルスに 由来するワクチンの開発について——
論文審査委員	(主査) 教授 今 井 信 実 (副査) 教授 山 田 俊 雄 教授 斎 藤 保 二

論 文 内 容 の 要 旨

マレック病 (以下 MD と略す) はヘルペス型ウイルスによって起る伝染性疾患で、最初に報告したのはハンガリーの Marek である。1907年に白血病の研究を行なったマレックは神経病変を示すものは他の白血病とは異なることを病理学的に証明した。その後 MD は欧米において若齢ひなに 1950年後半から1960年前半にかけ集団的に発生し注目されたが、現在では世界各国に流行発生している。我国においても MD は1963～1964年頃より発生しはじめ、今日では全国的に蔓延し、そのためひなの育成率低下の大きな原因となった。ことにひなは30～120日齢時に発病し死亡するため養鶏業界に甚大な被害を与えた。

MD の病原体は1967年 Churchill and Biggs により分離され、細胞随伴性の強いヘルペスウイルス (以下 MDHV と略す) であることが明らかにされた。MD の予防に関する研究は、病原体が分離され、各種の性状が検討されはじめると同時に始められ、ワクチンの研究はもとより、遺伝的抵抗性を持つ鶏の作出および閉鎖環境下での飼育が検討された。後二者ではそれぞれよい成績が得られたが、実際養鶏場での実施には経済的負担が著しく大きいため、ワクチンの開発を望む声が高かった。ワクチンについてはヨーロッパでは強毒を弱毒化した MDHV あるいは自然界より分離した弱毒 MDHV を用いるもの、またアメリカでは MDHV と抗原的にきわめて類似しており、かつ鶏に対して病原性を示さない七面鳥ヘルペスウイルス (以下 HVT と略す) を MD ワクチンとして利用しようという試みがなされた。いずれのワクチンも野外では MD の予防に効果のあることが報告された。いっぽう我国においてはまだ MD ワクチンの開発はされていない。そこで著者は MD ワクチンの開発を目的に本研究に着手した。

まず、本研究を進めるにあたり攻撃用の強毒ウイルスが必要であり、また MD の予防方法を確立するためには MDHV そのものの性状をも検討する必要が認められたので、野外から MDHV の分離を試みた。その結果強毒 MDHV は6株分離され、またこの分離株の2、3の性状を明らかにした。つづいて分離 MDHV を用い九州地方における MD の疫学をゲル内沈降反応を用い検討を行なった。その成績から MDHV は1964年頃より九州地方にはすでに広く浸潤していたことがわかった。

次に HVT の MD に対する発病防止効果に着目し、日本で飼育されている七面鳥から HVT の分離を試みた。その結果7群中2群より多数のウイルスが分離され、その代表株 (YT-7株と命名) の性状を詳細に検討したところ、HVT と同定された。HVT を用いて MD ワクチンの研究を進め、ワクチンが実用化

されるため必要な諸条件を検討し、凍結および乾燥ワクチンの試作に成功した。また試作ワクチンを用いて野外における本ワクチンの効果とその影響が詳細に検討された。さらにワクチン接種時の省力化を目的とし MD およびニューカッスル病（以下 ND と略す）混合生ワクチンを試作して実験室内および野外応用試験を行ない、実用可能な成績が得られた。

以下著者が検討し、得られた成績の概要について述べる。

1) 野外からの MDHV の分離およびその性状

1970年8月佐賀県の某養鶏場において臨床的に MD と診断された120日齢の鶏10羽より腎臓の直接培養で MDHV の分離を試みたところ9例中6例よりウイルスが分離できた。分離ウイルスの代表株（SD-3株と命名）について2、3の性状が検討された。分離ウイルスは鶏、アヒルおよび七面鳥由来の初代培養細胞に病原性を示し、屈光性の強い円形細胞の集族を特徴とする CPE を出現させたが細胞随伴性の強い性質を示した。また感染細胞は癒合して多核巨細胞となり、核内にはA型の封入体が認められた。しかし兎、モルモット、マウス、豚、牛腎、牛睾丸およびマウス胎児の初代細胞、猿、豚およびハムスター腎、ハムスター肺、人羊膜の継代細胞ではウイルスは増殖せず、CPE も認められなかった。分離ウイルスを発育鶏卵の漿尿膜上に接種するとボックを形成し増殖したが IUDR 添加により増殖は阻害された。電顕により形態学的な追求を行なったところヘルペス型のウイルス粒子が認められた。次に分離ウイルスの赤血球凝集性が鶏、モルモット、兎、牛および馬血球を用いて検討されたが、MDHV の凝集する血球は認められなかった。分離ウイルスを1日齢 SPF ひなの腹腔内に接種したところ、70日齢時までに33例中2例に症状を、10例に肉眼病変を、また全例に組織学的に変化が認められた。病変の部位は肝、脾、腎、肺および腺胃に著明で、神経には特に多発する傾向は認められなかった。また接種および不接種同居鶏全例からウイルスが回収され、ゲル内沈降抗体は50%のものが陽性を示した。

2) MD の疫学的検討

1964年に九州各県から収集された544例（A群）および1968～1971年に収集された871例（B群）計1,415例の血清についてゲル内沈降反応により抗体調査が行なわれた。その結果A群の血清では検査全県に陽性例が認められ、陽性率は低い県で15.4%、また高い県で44.8%であった。B群の血清では0～84.3%の陽性率が得られた。このことから MDHV はすでに1964年頃より九州地方に広く浸潤していたことが明らかになった。次に抗体陽性率は日齢により差があり、1～30日齢では1%であったが90～120日齢時になると72.4%を示し、日齢の進むとともに高くなった。鶏の系統別にみるとハンドレスでは10%の陽性率であったがデカルブでは68.8%と高く、系統により陽性率に差がみられた。次いで熊本県内で得られた1～3日齢のひな7群について移行抗体の保有状況を検討したところ、1群を除き55～83%の陽性率が得られた。これら MDHV の移行抗体は12日齢まで認められたが、15日齢以上では陰性となった。またウイルス感染の能動抗体の出現は早いもので30日齢、遅いものでは100日齢から認められた。その他七面鳥、アヒル、鳩、牛、犬および人の血清には MDHV に対する抗体は認めなかった。次にふ化後日齢毎にウイルス分離試験を行なったところ、汚染環境下では9日齢のひなから、消毒の行なわれた環境下では28～33日齢時からウイルスが検出された。

3) 野外からの HVT の分離およびその性状

健康な七面鳥の血液、腎および毛のう部からウイルスの分離を試みたところ、熊本県収集の37例は全例陰

性であったが、山口県収集の43例中39例の血液から分離できた。この分離ウイルスの代表株 (YT-7株) について2, 3の性状が検討された。

分離ウイルスは鶏胎児線維芽細胞 (以下 CEF と略す) およびアヒル胎児線維芽細胞 (以下 DEF と略す) に屈光性の強い CPE を現わした。感染細胞は多核巨細胞となり、核内にA型の封入体を形成した。またウイルスは細胞随伴性が強く、発育鶏卵で増殖し、漿尿膜上にはボックを形成した。しかし IUDR 添加により増殖は阻害された。分離ウイルスを電顕により形態学的に追求したところヘルペス型のウイルス粒子が認められた。次に鶏、モルモット、兎、牛および馬の血球を用いて分離ウイルスの HA 性を検討したが凝集した血球はなかった。その他分離ウイルスは実験用小動物 (乳のみマウス、成熟マウス、乳のみモルモットおよび兎) に対して病原性を示さず、また哺乳動物由来の初代 (兎、モルモット、マウス、豚、牛の各腎、マウス胎児および牛睾丸) および継代 (猿、豚、ハムスター腎、ハムスター肺および人羊膜) 細胞では増殖しなかった。次に分離ウイルスを1日齢 SPF ひな20羽の腹腔内に接種し70日間臨床症状を観察したが臨床症状を示したものは1例もなく正常に発育した。また70日齢時の剖検および組織学的所見においても全例変化は認められず、抗体は全例陽性であった。

4) HVT 凍結生ワクチンの野外応用試験

HVT (FC-126株) を用いて MD 凍結生 ワクチンを作成し産卵鶏および肉用鶏に対する野外応用試験が行なわれた。

産卵鶏に対する接種試験は熊本県内の5養鶏場をえらび接種群10,174羽、対照群4,970羽を対象とし、ワクチンは1,000PFU/羽を腹腔内あるいは皮下に接種し、180日間観察した。この間死亡とう汰されたもの全例についてその原因が病理組織学的に検討された。その結果ワクチン接種後臨床的に異常を示すひなは認められなかった。供試鶏の死亡とう汰の割合は接種群3.3~10.1%, 平均7.5%であったが対照群では6.1~23.2%, 平均14.4%で、接種群では対照群に比較し死亡とう汰率が48.1%減少した。これらの死亡とう汰率を推計学的 (χ^2 -test) に検討すると両群間に有意差 ($P<0.001$) が認められた。死亡とう汰原因の主ものは虚弱、事故、カンニバリズム、発育不良、MD、白血病および慢性呼吸器病などであった。虚弱、事故および卵巣異常を除いたその他の死亡とう汰の原因は接種群では対照群よりいづれも少なかった。MD 発生数はワクチン接種群で1.1%および対照群では7.1%, 両群間には推計学的に有意差 ($P<0.001$) が認められ、接種群の MD 発生数は対照群に比較し84%減少した。ワクチンウイルスは180日間91.4~100%回収され、また低率ではあるが同居感染が認められた。ワクチン接種でも野外 MDHV の感染を阻止できず重感染が成立していた。MDHV 抗原によるゲル内沈降抗体陽性率、伝染性気管支炎ウイルス中和抗体価、マイコプラズマガリセプチカム 凝集抗体陽性率および ND-HI 抗体価には接種群および対照群との間に差を認めず、また体重の増加率および産卵率においても差は認められなかった。

肉用鶏に対する接種試験は4養鶏場をえらび接種群103,509羽、対照群36,021羽を対象とし、ワクチンは1,000PFU/羽を1羽量として1, $\frac{1}{2}$ および $\frac{1}{4}$ 羽量を皮下に接種し49~70日間観察した。さらにまた出荷時食鶏処理場で腫瘍病変の出現状況が観察された。その結果、死亡とう汰率では接種および対照群で差を認めなかったが、腫瘍発生数は対照群に比較し接種群で88.7%減少し、推計学的に両群間に有意差 ($P<0.001$) を認めた。次に各鶏群について、各回50~150羽宛体重を測定し、その平均値とばらつきを求めた。その結果接種群の平均体重は対照群に比較し10~100g重く、また体重のばらつきも少なかった。ワクチンウイルス

は17日齢時から回収され、またゲル内沈降抗体も33日齢から陽性となった。飼料要求率は接種群で0.06~0.11、平均0.09少なく、経費計算をすると1羽当り14.38円の増収があった。

以上の成績から HVT を用いた凍結生ワクチンは MD 発病予防および肉用鶏の飼料要求率を減少させるため、きわめて有効なワクチンであると思われる。

5) HVT 凍結乾燥ワクチンに関する検討

HVT 分離株 (YT-7株) は DEF および CEE で継代を重ねると細胞フリーウイルスの量が次第に増加し、DEF 12代—CEF 40代継代株では 6.5×10^5 PFU/ml の細胞フリーウイルスが得られるようになった。また細胞フリーウイルスの性状を検討したところ原株と同じ性状が得られた。この継代ウイルスを用いて凍結乾燥ワクチンが作成され、1日齢 SPF ひなに 200~9,000 PFU/羽接種した。その結果接種群は全例臨床的に異常を示すものではなく、ゲル内沈降抗体は15週齢時80%の陽性率であり、ワクチンウイルスは100%のものから回収された。また3週齢時に攻撃試験を行なったところ対照群は80%に MD 病変が認められたがワクチン接種鶏では MD 病変を示すものはなかった。次に同居感染試験を行なったところ実験室内試験では同居感染は成立しなかった。つづいて $10^{3.0} \sim 10^{5.0}$ PFU/羽のウイルスを1日齢の移行抗体陰性および陽性ひなに接種しウイルスの回収試験を行なった。その結果抗体陰性ひなでは 10^3 PFU/羽接種群においてもワクチンウイルスは回収された。しかし大量 ($10^{3.0} \sim 10^{5.0}$ PFU/羽) 接種群に比較し、その回収率は低かった。また移行抗体保有ひな群は 10^3 PFU のワクチンウイルスを接種した場合、ウイルスの回収時期がおくれた。

このワクチンについて5養鶏場のひな13,965羽 (接種群10,384羽および対照群3,581羽) を用いて野外応用試験が行なわれた。観察は150日間行ない、この間死亡とう汰したものの全例についてその原因を病理組織学的に検討した。

ワクチンは皮下に0.2ml ($1,600$ PFU/羽) 宛接種された。その結果ワクチン接種により異常を示したひなは認められなかった。死亡とう汰数は接種群468例 (4.5%)、対照群271例 (7.6%) で減少率は41.8%であった。MD 発生数は、接種群117例 (1.13%)、対照群133例 (3.71%) で、MD の減少率は69.7%を示し、両群間には推計学的に有意差 ($P < 0.001$) を認めた。ワクチンウイルスは150日間、79~90%のものから回収され、また5群中1群に同居感染した例があった。ゲル内沈降抗体は121~150日齢時に72%の陽性率を示した。またワクチン接種鶏は野外 MDHV の感染を阻止せず重感染が成立していた。

これらのことからこの乾燥ワクチンは凍結ワクチンと同様に十分野外に應用できるものと思われる。

6) MD (HVT), ND 混合生ウイルスワクチンに関する試験

HVT およびニューカッスル病ウイルス (以下 NDV と略す) B₁ 株二種混合生ワクチンを作成し安全性および免疫原性が検討された。供試ひなは SPF および市販の1日齢ひなで、1羽量 (HVT $1,200 \sim 2,200$ PFU/羽、NDV $10^{4.1} \sim 10^{6.0}$ EID₅₀/羽) の混合ワクチンを皮下、筋肉および腹腔内に接種した。その結果混合ワクチンおよび MD 単味ワクチン接種鶏との間に MD ワクチンウイルス回収率、MD 中和価および攻撃試験による発病防禦に差はみられず、また混合ワクチンおよび ND 単味ワクチン接種鶏の間にも ND-HI 価および攻撃試験による耐過率に差がなかった。接種部位は腹腔内接種が皮下および筋肉内に比べてよかった。混合ワクチン接種後3日毎に MD ワクチンウイルスの回収試験を行なったところ6日目では86~100%回収され、MD 単味ワクチン接種群と比較し差を認めなかった。また混合ワクチンの接種は、その後

に再接種された ND 単味生ワクチンの免疫効果に影響を与えなかった。ND ワクチンウイルスの同居感染は市販および SPF ひなともに点鼻した ND 単味ワクチン群より皮下接種した混合 ワクチン群で起りにくかった。市販および SPF ひなを用いて安全試験を行なったところ、市販ひなでは全例接種反応は陰性であったが、SPF ひなでは ND 単味ワクチンと同程度の軽い一過性の呼吸器症状（5～10分間に1～2回クシャミ）が認められた。しかし反応を示したひなは発育には影響をうけなかった。次に混合ワクチンを用いて2養鶏場のひな5,092羽（混合接種群3,014羽、MD 単味接種群2,078羽）に野外応用試験を行ない、観察は120日間実施した。その結果混合ワクチン接種後接種反応が認められたものは1例もなく、120日齢時の育成率は96.1および98.8%と良好であった。またこれらの接種ひなからは MD ワクチンウイルスが100%回収され、ND-HI 抗体の上昇も認められた。次に試験管内で HVT および NDV B₁ 株の干渉の有無を検討したところ相互に干渉は起さなかった。

以上の成績から、この混合ワクチンは実用可能なものと考ええる。

論文審査の結果の要旨

マレック病 (Marek's disease) は鶏のウイルス性疾患としては有力なものの一つといえる。すなわち本病の存在については、すでに Marek (1907) によりハンガリーにおいて、指摘され、当時は鶏麻痺症の名称のもとにその病性の検討が行なわれていた。とくに本病は、長い間鶏白血病のカテゴリーにも入れられてみたりして、その病原体検出が仲々実現しなかったものであるが、今日ではすでに本病は一種の Herpes virus に基因することが明らかとなっており、一方1963～1964年の頃から本邦において急激に発生し、今日では全国的に蔓延している状況となった。従って経済的損失は少なからざるものがあり、その予防対策は急務となっている。

なお本病の病原ウイルスは1967年 Churchill and Biggs により分離されたものであるが、細胞随伴性の強い Herpes virus であることが特徴である。

本病の能動免疫方法を講ずるために各種のワクチンの開発が試みられて来て、特に本病ウイルスと共通抗原性の七面鳥ヘルペスウイルス (HVT と略記) に由来する生ワクチンの作出が有力な方向を見出してきた状況にある。

著者としては、マレック病 (以下 MD と略記) の免疫方法を講ずるに当り、やはり本病ウイルスを野外の感染鶏から分離して、その性状を観察し、鶏のふ化後の日齢によって感受性の程度 (すなわち発症時の日齢の判定) を知り、あるいは鶏の品種の差異、また MD ウイルス汚染の程度と発症鶏の出現率との関係、さらに本ウイルスに対する野外での罹患鶏を含む鶏群の特異抗体の消長を観察するなど、詳細にわたって本病の病性を検討してきた。

最も著者が重点を置いたのは、ワクチン接種鶏におけるワクチンウイルスの体内分布およびその後の MD ウイルス自然感染の状況 (MD ウイルスの検出による)、ワクチン接種鶏の死亡原因の追究など、逐一剖検し、病理組織学的観察を続行したことである。以下に、著者の試験研究成果を概説する。

1. MD ウイルスの分離

1970年8月佐賀県下において、MD の患鶏からの腎の直接培養により、9例中の6例から MD ウイルスを分離し、これを SD-3 株と命名した。この分離ウイルスは鶏、アヒル、七面鳥由来の初代培養細胞に病

源性を示し、屈光性の強い円形細胞の集族を特徴とする CPE を現出し、細胞随伴性の強いことを示した。しかもこの感染細胞は癒合して多核巨細胞となり、核内には A 型の封入体が見受けられた。また、このウイルスを发育鶏卵の漿尿膜上に接種すると、増殖してボックを形成したが、IUDR 添加により増殖は阻止された。電顕像としては、ヘルペス群ウイルス粒子の形態を認めた。

さらにこの分離ウイルスを 1 日齢の SPF ひなに腹腔内接種すると、70 日齢時までに 33 例中 2 例に症状を 10 例に肉眼的病変を、また全例に組織学的変化を認めた。病変の好発部位は、肝、脾、腎、肺及び腺胃に著明で、神経には特に多発する傾向は見られなかった。

なお、接種鶏および未接種同居鶏全例からウイルスが回収され、ゲル内沈降抗体は 50% のものに陽性に現われた。

2. MD の疫学的検討

1964 年に九州各県から収集した 544 例 (A 群鶏) および 1968～1971 年に採集した 871 例 (B 群鶏) の計 1,415 例の血清について、ゲル内沈降反応により抗体調査を行なったところ、A 群血清では検査全県に陽性例が見られ、その陽性率は 19.4% のような低値の県から 44.8% のような高値の県まで分布していた。一方、B 群血清は 0～84.3% の範囲の陽性率を示した。従って MD ウイルスはすでに 1964 年ごろから九州地方に広く浸潤していることが判明した。なお、抗体陽性率は日齢により差を示し、1～30 日齢では 1% であるのに、90～120 日齢時に 72.4% を示し、日齢の上昇と共に陽性率も高まる傾向を示した。さらに熊本県内で本ウイルスに対する移行抗体の保有状況を調査した結果、1 群を除き 55～83% の陽性率を認めた。しかし、この移行抗体は 12 日齢まで存在し、15 日齢以上では消失していた。さらに、ウイルス感染後の能動抗体の出現は、早いのは 30 日齢時に、おそいのは 100 日齢時から見られた。

3. 野外からの HVT の分離および性状

健康な七面鳥の血液、腎、毛のう部からウイルス分離を試みたところ、熊本県の 37 例は全部陰性であったが、山口県下での採取 43 例中の 39 例の血液から分離できた。この分離ウイルスの代表株 (YT-7 株) につき、性状を検討した。その結果このウイルスは CFF (鶏胎児線維芽細胞) および DEF (アヒル胎児線維芽細胞) に CPE を示し、感染細胞は多核巨細胞となり、核内に A 型の封入体を形成した。このウイルスも細胞随伴性に富んでいた。

4. HVT 凍結生ワクチンの野外応用試験

HVT (FC-126 株) を用いて MD 凍結生ワクチンを作成し、産卵鶏および肉用鶏に対する野外応用試験を行なった。すなわち産卵鶏に対するワクチン接種は、5 養鶏場を選び、接種群 10,174 羽、対照群 4,972 羽を対象としてワクチンは 1,000 PFU/羽を腹腔内または皮下に接種し、のち 180 日間観察した。その結果、供試鶏の死亡淘汰の比率は、接種群 3.3～10.1%、平均 7.5% であり、対照群は 6.1～23.2%、平均 14.4% で、接種群では対照群に比して死亡淘汰率が 48.1% だけ減少した。死亡淘汰原因の主なるものは、虚弱、事故、カンニバリズム、发育不良、MD、白血病および CRD までであった。MD 発生数は接種群では対照群に比して 84% 減少していた。

ワクチン接種群でも野外の MD ウイルスの感染を阻止できずに重感染が成立している場合があった (ワクチンウイルスの方は 180 日間に 91.4～100% 回収されていた。)

次に肉用鶏について上記の MD ワクチン接種を行なうため 4 養鶏場を選び、接種群 103,509 羽、対照群

36,021羽を対象とし、ワクチンは1,000PFU/羽を1羽量として、1、 $\frac{1}{2}$ および $\frac{1}{4}$ 羽量を皮下接種し、49～70日間観察した。その結果、死亡淘汰率では両群に差を認めなかったが、腫瘍発生数は対照群に比して接種群で88.7%減少し、推計学的に両群間に有意差 ($P \leq 0.001$) を認めた。また体重も接種群の方が対照群よりも平均10～100g重く、また平均体重の分散も少なかった。

5. HVT 凍結乾燥ワクチンの検討

HVT 分離株 (YT-7 株) は DEF および CEF で継代培養を重ねると細胞フリーウイルスの量が次第に増加し、DEF 12代—CEF 40代、継代株では 6.5×10^8 PFU/ml の細胞フリーウイルスが得られるほどになった。この継代ウイルスを用いて凍結乾燥ワクチンを試作し、1日齢 SPF ひなに 200～9,000 PFU/羽接種した。その結果、接種群は全例臨床的に異常を呈せず、ゲル内沈降抗体は15週齢時に80%の陽性率を示し、ワクチンウイルスは接種鶏から100%に回収された。しかし、3週齢時に攻撃試験を行なったところ、対照群80%に MD 病変を呈したが、ワクチン接種群には MD 病変を呈するものは現われなかった。また同居感染試験を実験室内で行なったところ、同居感染は成立しなかった。

一方、このワクチンの野外応用試験として、5養鶏場のひな 13,965 羽 (うち接種群 10,384 羽、対照群 3,581 羽) を対象とした。ワクチンは 0.2ml (1,600PFU/羽) を皮下に接種し、150日間の観察の結果、ワクチンそのものでは異常を呈する鶏は皆無であった。死亡淘汰は接種群468例 (4.5%)、対照群271例 (7.6%) で、減少率は41.8%であった。また MD の発生羽数は接種群117例 (1.13%)、対照群133例 (3.71%) で、MD の減少率は69.7%を示し、両群間には推計学的に有意差を認めた ($P < 0.001$)。なお、ワクチンウイルスは150日間に79～90%の割合で接種鶏から回収され、しかも5群中の1群に同居感染を認めた。ゲル内沈降抗体は121～150日齢時に72%の陽性率を示し、ワクチン接種鶏は野外の MD ウイルスの感染を阻止し得ずに重感染を呈していた。

6. MD (HVT)・ND 混合生ワクチンの検討

HVT 由来の MD ワクチンとニューカッスル病 (NDV) ワクチン B₁ 株との2種混合生ワクチンを作出し、安全性および免疫原性を検討した。供試ひなは SPF および市販の1日齢ひなで、一羽量 (HVT1,200～2,200PFU/羽、NDV $10^{6.1} \sim 10^{6.5}$ EID₅₀/羽) の混合ワクチンを皮下、筋肉内および腹腔内に接種した。その結果、混合ワクチンと MD 単味ワクチン接種鶏との間には MD ワクチン回収率、MD 中和価及び攻撃試験による発病防御に差は見られず、また混合ワクチンおよび ND 単味ワクチン接種鶏の間にも ND-HI 価および攻撃試験による耐過率には差がなかった。なお接種部位としては、腹腔内接種が皮下および筋肉内に比して良好であった。

次いで2養鶏場において、この混合ワクチン接種の野外応用試験を行なったところ、接種反応を呈したものは一例もなく、120日齢時の育成率は96.1及び98.8%のように良好であった。また MD ワクチンウイルスはこれらの接種ひなから100%にわたって回収され、しかも ND-HI 価も上昇していた。さらに in vitro で HVT (MD ワクチン株ウイルス) と NDV B₁ 株の干涉の有無を検討したところ、相互間には干涉の傾向は全く見られなかった。以上により、MD-ND 両種混合ワクチンによる免疫効果は著しく良好と判定された。

斯くして著者のマレック病予防用のワクチンの開発に関する研究は極めて広く精細に実行され、その成果は見るべきものがあり、とくに本研究の学術的興味は MD ウイルスの特異性状に向けられるが、鶏病の一

つとして本病の予防対策の進歩に新たな示唆を与えるものと見受けられ、本論文は獣医学博士の学位を受けるのに値するものと認定する。