

JRA 畜産振興事業

家畜衛生技術等向上対策事業（動物用インフルエンザワクチン実践的株変更法確立事業）の成果について

掲載期間：平成23年10月1日～平成24年9月30日まで（1年間）

社団法人日本動物用医薬品協会

JRA 畜産振興事業の家畜衛生技術等向上対策事業（動物用インフルエンザワクチン実践的株変更法確立事業成果の公表について

事業実施主体：社団法人日本動物用医薬品協会

事業費：89 百万円

事業実施期間：平成 20 年度～平成 22 年度（3 年間）

I 事業の概要：

動物用インフルエンザワクチンには馬、鳥、豚のインフルエンザワクチンが承認されているものの、流行株に応じた株に迅速に対応できない状況になっている。このため、馬インフルエンザワクチンをはじめとする鳥及び豚インフルエンザワクチン候補株を選定するための策定方針及び試験計画を策定するとともに、野外流行株に的確に対応できるワクチン株選定に必要な適正性試験の試験項目、試験方法（プロトコール）を検討した。動物用インフルエンザワクチンのより有効性が高く安全性の優れたワクチン製造用候補株を確保するとともにワクチン株変更法の確立を図ることを目的とする事業で平成 20 年度から平成 22 年度まで 3 年間実施した。

II 事業の成果等

インフルエンザはしばしば抗原変異を起こすことから、①馬、鳥及び豚インフルエンザの国内外の疫学を調査し、現在流行している抗原性状等を明らかにした。馬、鳥、豚の 3 畜種のインフルエザワクチンの候補株について、発育鶏卵の増殖性、不活化条件の確認、抗原性状解析及び免疫原性についての試験を実施し、今後の株変更に必要な適正性試験を検討した。②上記①を調査・実施することにより馬インフルエンザワクチン、鳥インフルエンザワクチン及び豚インフルエンザワクチンについて適正性試験及び株変更に際して必要な手順法を検討した。③本事業の成果を受けて、動物用ワクチン株の変更については農林水産省動物医薬品検査所に設置が予定されている「株選定委員会」での検討に引き継がれ、事業の成果活用が期待される。

III 本事業で得られた主な事業成果

1 馬インフルエンザ

1972年にワクチン化されて以降、馬 2 型株である H3N8 亜型株は流行毎にわずかな抗原

性の変異が認められ、海外で流行している馬2型の流行株の抗原変異に対応するため、1985年、1996年及び2003年にワクチン製造用株が3回変更されてきた経緯がある。2007年、ワクチン接種馬に36年振り流行したことに対応するワクチン株として馬インフルエンザ2型のA/equine/Ibaraki/1/07（フロリダ亜系統クレード1）を新たに加え、A/equine/La Plata/93（アメリカ系統）、及びA/equine/Avesta/93（ヨーロッパ系統）の3株の含有製剤が新規承認（新薬ゾロ）され、平成21年秋以降に上市されている。最近、欧州、インド、アジアでフロリダ亜系統のクレード2株が分離されてきている。OIEの最新の情報によると、2009年にA型（H3N8）ウイルスの集団発生が、フィンランド、フランス、インド、アイルランド、スイス、英国及びウルグアイで、ワクチン接種馬と未接種馬の両方で認められている。OIEが推奨株としているクレード2の代表株A/Richmond/1/2007株に対し、現在の日本のワクチン株であるA/equine/La Plata/93（アメリカ系統）に対する抗体がよく交差している成績を得られている。現段階では早急にワクチン株を変更する必要性は低いと思われる。

2 鳥インフルエンザ

A 発生状況

2003年後半、高病原性鳥インフルエンザH5N1亜型が東南アジアに出現し、2004年以降、アジア各国、欧州、中東、アフリカ諸国に拡大し、64の国又は地域において家禽及び野鳥の感染症例が報告されている。日本近隣で巨大な家禽部門を有する中国においては、クレード2.3.2のウイルスが広域に流行し、2009年には野鳥及び家禽でクレード2.3.4のウイルスが検出され、クレード2.3.2、2.3.4及び7が混合感染している。

一方、日本においては、2004年の山口、大分県及び京都府の家禽でH5N1亜型の高病原性鳥インフルエンザの発生、2005年の茨城、埼玉県下でH5N2亜型の弱毒型ウイルスによる発生が見られた。最近では、2010年10月以降、野鳥からH5N1亜型ウイルスが分離され、2010年12月以降、島根、宮崎、鹿児島、大分、愛知、和歌山、三重県下の養鶏場において、続発している。現在アジアで流行している高病原性鳥インフルエンザウイルス（HPAI）のHAが、最近得られた水禽の分離株のHAと抗原性の面で密接な関係がある。

B 疫学調査

現在までに分離されているウイルスのHAとNA遺伝子は、1996年に発生したHPAIのH5N1に由来している。HA遺伝子はWHO/FAO/OIEワーキンググループにより10系統（クレード0-9）に分類されている。2003年以降に東南アジアを中心し発生しているHPAIは2005年、中国の

青海湖で大量野生家禽の斃死体が発見された。このウイルスは家禽ばかりでなく水禽に対しても高い病原性を示し、HA遺伝子はクレード2-2に分類された。家禽の間でHPAIが10年以上に亘り流行している間にクレード2-2は3次的に分化しているようで、抗原変異の進化に目が離せない状況にある。

一方、H7ウイルスは、2005年2月北朝鮮の養鶏場でH7N7亜型ウイルスによるHAPIが発生し、21万羽以上のニワトリが淘汰されているほか、弱毒型であるがH7N7亜型が平成22年10月18日に隣の韓国で家禽（鶏、アヒルなど）の発生があった。

（イ）試験方法作成のための調査について

A 鳥インフルエンザのグローバルサーベイランスとウイルス収集（21年度）

北海道大学において、北海道及びモンゴルの野生水禽の糞、香港、ベトナムの家禽のスワブからウイルス分離を行い、HI試験及びN1試験により亜型を決定し、その中から数種の遺伝子解析を行った。日本で2009年に分離された株は、H5N1ウイルスのクレート2.3.2及び2.3.4に属し、抗原性も多様で、家禽でウイルスが受け継がれることが原因であると推定された。

B Vac-1免疫鶏を用いた国内分離株による攻撃試験（平成21年度）

2008年に北海道の斃死オオハクチョウから分離されたA/whooperswan/Hokkaido/1/2008(H5N1)(Ws/Hok/08株)を用いてVac-1ワクチン免疫鶏の防御試験を実施した。交差HI試験の結果、Ws/Hok/08株と国内開発ワクチン株は大きく異なっていたが、ワクチン免疫鶏は14日間症状を示さず、生残した。しかしながら接種後2日後及び4日後の気管、腎臓、結腸からウイルスが分離され、抗原性の違いが免疫効果に影響を与えているものと考えられた。

なお、最近、高病原性鳥インフルエンザの野外株は種々のクレードの株が報告されるようになってきていることを踏まえ、日本及び周辺国における鳥インフルエンザの現状とその対策について北海道大学大学院獣医学部微生物学教室から報告された。

（ウ）鳥インフルエンザ適正性試験方法（プロトコール）の作成について

A ワクチン候補株比較試験

最近分離された国内分離株からリアソートメントにより作製されたA/duck/Hokkaido/Vac-3(H5N1)（以下「以下「Vac-3」という）がワクチン候補株として北海道大学大学院獣医学研究科微生物学教室から提供された。このワクチン候補株を用いて、マスターシードの作製及び試作ワクチンを製造し、不活化条件、発育鶏卵における増殖性

の比較試験を実施した。本製造候補株は現在製造株のVac-1株に比較して抗原性は同様であるが、発育鶏卵の増殖がよく、製造株としてより適当な株であることが2所社の成績から確認された。

3 豚インフルエンザ

A 豚血清実態調査

特定農場の保存豚血清を用い、日本各地における豚インフルエンザの抗体保有状況を調査した。H1N2抗原（栃木株）を用いたHI抗体価は各都道府県に広く浸潤していたのに対し、H3N2抗原（大阪株）に対するHI抗体価はほぼ陰性値を示した。またウイルス分離は250検体の鼻腔スワブをMDCK細胞に接種した結果、茨城県由来の2検体でCPEが確認され、型別PT-PCRを実施したところH1N1遺伝子が検出された。

B 文献調査

2009年4月、パンデミックA(H1N1)2009ウイルスが確認され、この遺伝子分節が豚インフルエンザに由来することが明らかにされて以来、豚インフルエンザウイルスへの注目が高まっている。豚インフルエンザの病因が確認されたのは、1931年であるが、豚の中で広く循環しているのは、H1、H3とN1及びN2の亜型で、1930年～1990年代に至るまで北米でH1N1が分離され、1947年頃から南米、欧州、アジアで検出されている。H1N2ウイルスは1992年まで北米での報告はなかったが、日本（1980、1985、1998、2003年）、フランス（1994年）、台湾（2003年）で検出され、ヒトH3N2と旧型H1N1の遺伝子集合体であった。また、ヒトウイルスと旧型豚ウイルス遺伝子が混合した再集合ウイルスH3N2ウイルスがアジア（1995年）及び北米（1994、1999年）に分離されている。

外国の最近のウイルス分離状況、地政学的リスクの高い韓国はじめ台湾の疫学情報、日本で最近分離されたH1N2亜型、豚インフルエンザウイルスの北米予測、タイ、ベトナム情報等を収集した。

(イ) 試験方法作成のための調査について

豚インフルエンザに関する研究実績や隔離施設を有し、都道府県からの病性鑑定を実施し、豚インフルエンザウイルスの情報を一元的に管理できる機関である独立行政法人農業・食品産業総合研究機構 動物衛生研究所人獣感染症研究チームに本事業を委託し、わが国で分離されたウイルス株、国外から入手したウイルス株について抗原性状や遺伝子解析等を行い、ウイルス株の抗原性状や遺伝学的解析を検討した。その結果、国内で

はH1N2亜型豚インフルエンザウイルスは、他国からのウイルス導入はほとんどなく、一つの系統として循環している可能性が高いことが明らかとなった。一方、少なくとも2つの亜系統が存在している可能性が示唆され、H3N2亜型ウイルスについては、ヒトでの流行によって散発的に国内各地の豚へのウイルス侵入が起こっていることが示唆されている。

IV 外部有権者等のコメント

動物用インフルエンザワクチン株変更法委員会において外部評価を受けた（平成22年3月）。概ね委員から総合評価Aを受けた。多くの委員からは①平成19年度のワクチン接種馬に流行した馬インフルエンザワクチンは平成20年中にワクチン株変更（H3N8亜型茨城株）が行われ上市されていること、馬及び鳥についてはワクチン株変更に対応する仕組みが出来上がったことについては高い評価を受けた。豚については事業計画中の平成21年4月にパンデミック（H1N1）2009株の流行があり、養豚農家への立入規制や検討時間の制約の問題もあり、豚インフルエンザワクチンの意義を含め今後の検討が必要とされた。