

# 鶏種,投与時期,投与法と国内ニューカッスル病生ワクチン株 の免疫応答に関する検討

誌名	農林水産省動物医薬品検査所年報
ISSN	03887421
著者名	岩本,聖子 嶋崎,洋子 山崎,芙美 吉永,麻希子 野牛,一弘
発行元	農林水産省動物医薬品検査所
巻/号	41号
掲載ページ	p. 45-50
発行年月	2004年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## 〔技術資料〕

鶏種、投与時期、投与方法と国内ニューカッスル病生ワクチン株の  
免疫応答に関する検討岩本聖子、嶋崎洋子、山崎芙美<sup>1</sup>、吉永麻希子、野牛一弘

(受付：平成16年8月20日、受理：平成16年10月18日)

## 〔TECHNICAL REPORT〕

EXAMINATION OF THE IMMUNE RESPONSE INDUCED IN CHICKENS BY  
DOMESTIC LIVE NEWCASTLE DISEASE VACCINES ADMINISTERED  
UNDER DIFFERENT CONDITIONSShoko IWAMOTO, Yohko SHIMAZAKI, Fumi YAMAZAKI<sup>1</sup>, Makiko YOSHINAGA and Kazuhiro YAGYU*National Veterinary Assay Laboratory, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, 1-15-1 Tokura, Kokubunji-shi, Tokyo 185-8511, Japan.*  
(Received : August 20, 2004 ; Accepted : October 18, 2004)

The immune response induced by domestic authorized Newcastle Disease (ND) live vaccines was determined. The effect of administration of the vaccines under different conditions, such as in the presence of maternal antibodies and using different vaccination periods and routes, was examined.

・ ND vaccine strains (B1, VG/GA, Clone30 and MET95) were administered to 4 day-old specific pathogen free (SPF) chickens by the oral route either by gavage or *ad libitum* in drinking water. After 3 weeks post inoculation (PI), there was no difference in the increase in the HI titers induced by the different ND vaccine strains. However, groups that received the ND vaccine strains *ad libitum* showed greater increases in HI titers than those that received the ND vaccine strains by oral gavage.

・ The B1 strain was administered by either eye drop or *ad libitum* in drinking water to 4 day-old layer chickens that had maternal antibodies against the ND virus. The geometric mean (GM) of the HI titers increased more than 10-fold in all experimental groups. The HI titers in the groups that had high maternal antibody titers decreased until 4 weeks PI.

・ Three chicken breeds (Chankey (CH), Cobb (CB) and Redbird (RB)) were inoculated with 4 ND vaccine strains by oral gavage at 3 weeks old. The GM of the HI titers increased more than 30-fold in all experimental groups at 4 weeks PI, although the HI titers in the CB group inoculated with the B1 strain were significantly lower than those in the other groups.

・ The CH, CB and RB chickens were inoculated with the B1 strain *ad libitum* in drinking water. The ratio of chickens that showed more than a 5-fold increase in HI titer at 4 weeks PI was 100% in CH, 93.3% in CB and 93.3% in RB. These immune responses were better than those in the chickens that were inoculated with the B1 strain by oral gavage.

・ These data suggest that the immune response against ND vaccines is affected by differences in vaccination route, chicken breed and the existence of maternal antibodies. Therefore, it is essential to adhere to the generally recommended vaccination programs and dosage regimen for ND vaccines.

ニューカッスル病ウイルス (Newcastle Disease Virus ; NDV) は、鶏に急性あるいは慢性的の呼吸器症状、下痢、神経症状などを起こすニューカッスル病 (Newcastle Disease ; ND) の原因ウイルスである。NDVは多くの国に常在化し、各種の家禽に強い伝染性を有し、養鶏業者にとっての経済的損失が大きい。そのため、ニューカッスル病は日本においては家畜伝染病予防法における法定伝染病として防疫対策が講じられている。

国内では、大流行は免れているものの、NDの発生はワクチン非接種愛玩鶏のみならずワクチン接種歴のある鶏群においても

散発しており (鶏病研究会 2001 ; 農林水産省消費・安全局 2004 ; 竹原 2002)、その原因究明が求められている。ワクチン接種動物での対象ウイルス疾病の発生原因として、一般的にはウイルス側の要因と宿主側の要因が挙げられるが、ウイルス側の要因については、NDでは近年の分離株の遺伝的性状 (真瀬 2002) や野外株を使った感染防御試験の報告など (Collinsら 1998 ; 湯浅 2000) から、現行ワクチンがこれまでの分離株の攻撃に対して十分な防御能を与えることが示されている。

一方、宿主側の要因として、ワクチン接種群でのNDの発生例の多くが飲水投与によるものであること (鶏病研究会 2001 ; 農林水産省畜産局衛生課 1988 ; 竹原 2002)、また、移行抗体が

1 日本獣医畜産大学 獣医病理学教室  
Department of Veterinary Pathology, Nippon Veterinary and Animal Science University

ワクチン効果に影響を及ぼすことも知られていることから (Chu & Rizk 1975; Giambone & Closser 1990; 鶏病研究会 2001; 山田 1992)、ワクチンの投与方法や投与時の宿主側の移行抗体の保有状況がワクチン効果に何らかの影響を及ぼす可能性が類推される。加えて、近年の鶏種の多様化がワクチンに対する感受性に影響を及ぼす可能性も検討する必要がある。

ND生ワクチンは1967年から実用化されており、現在、NDに対する単味の生ワクチンは組織培養生ワクチンを除いて、国内で4株13製品承認されている。これらの生ワクチン株は、従来からのB1株に加え、Clone30株、VG/GA株、MET95株の4株である。

本報告では、投与時期、投与方法、移行抗体の保有状況及び鶏種による違いが、国内で承認されている各種NDV生ワクチンの免疫応答に及ぼす影響について、これまで十分に比較検討されていなかった点を詳細に確認した。

実験は5項目にわたって実施された。実験ごとの材料及び方法と成績は以下のとおりである。

#### 実験1. SPF鶏への各種NDワクチンの経口投与

本実験では、国内承認されているNDワクチン4株について、一律の環境下でのSPF鶏を用いたHI価による免疫反応の推移を確認した。供試株はNDVのワクチン株であるVG/GA株 (製剤名アピVG/GA、以下VG/GA株と称する)、Clone30株 (製剤名ノブリスND、CLONE30・1000、以下Clone30株と称する)、B1株 (製剤名NDワクチン-KB、以下B1株と称する)、MET95株 (製剤名ND生ワクチン“化血研”S、以下MET95株と称する)を用いた。供試鶏は4日齢及び18日齢のSPF鶏(日生研)を用いた。SPF鶏4日齢、18日齢に対してそれぞれ、B1株、VG/GA株及びClone30株は $10^{5.5}EID_{50}/羽$ 、MET95株は $10^{4.5}EID_{50}/羽$ 、各群10羽の計8群に強制経口投与を実施し、供試株投与時、投与後1週、2週、3週、4週、6週の時点で採血を行い、各群のHI価を測定し比較した。

その結果、VG/GA株、B1株の抗体上昇はClone30株及びMET95株に比べ緩やかである傾向が認められたが、接種後3週目以降はいずれの株の抗体価も同様なレベルにまで上昇し、こ

れら4株の免疫反応の推移には大きな差は認められなかった (Fig.1a., Fig.1b.)。

#### 実験2. SPF鶏へのB1株の自由飲水投与

自由飲水投与の場合、個体の飲水量の違いなどから生じると考えられる抗体価の分布を確認するために、4日齢のSPF鶏30羽を一群として、B1株を $10^{5.5}EID_{50}/羽$ 以上となるよう飲水に希釈して自由飲水投与し、B1株投与時、投与後2週、4週の時点で採血を行い、計2群のHI価を測定し、実験1.の4日齢B1株強制経口投与群のHI価と比較した。

その結果、いずれの試験においても、投与後2週目のHI価が320倍以上の個体が最も多く、また、全ての個体でHI価40倍以上を示したこと、投与後4週時においてもHI価は全羽20倍以上を示したことから、自由飲水投与においても強制経口投与と同等以上の抗体価を付与できることが確認された (Fig. 2.)。

#### 実験3. 移行抗体保有採卵鶏へのNDワクチンの投与

本実験は、移行抗体を保有する鶏群に対してNDワクチンの投与方法によるHI価の推移を一律の環境下で確認することを目的とした。供試鶏として4日齢の移行抗体保有産卵鶏 (大宮家禽、以下OMと称する) 139羽を用い、点眼投与群、自由飲水投与群、無接種対照群の3群に分けた (各群の供試羽数はFig. 3.を参照)。点眼投与群及び自由飲水投与群にはB1株を $10^{5.5}EID_{50}/羽$ となるよう投与し、投与時、投与後2週、4週の時点で採血を行い、HI価を比較した。OMのB1株投与時の移行抗体価 (HI価) は10~20倍を中心として5倍未満から320倍以上まで分布した。投与後4週で、無接種対照群のHI価は全羽5倍未満であったのに対し、飲水投与群と点眼投与群ではそれぞれ20倍及び40倍をピークとして5倍未満~320倍以上のHI価が確認された (Fig. 3.)。また、これらの成績を元に、各群のB1株投与時の移行抗体価と投与後4週のHI価の相関を、投与時の移行抗体価の数値ごとにまとめた投与後4週のHI価の幾何平均(GM)値として調査したところ (Table 1.)、無接種対照群では、B1株投与時の移行抗体価にかかわらず、投与後4週のHI価が全羽5倍未満であったのに対し、点眼投与群及び自由飲水投与群では、どの数値群でも

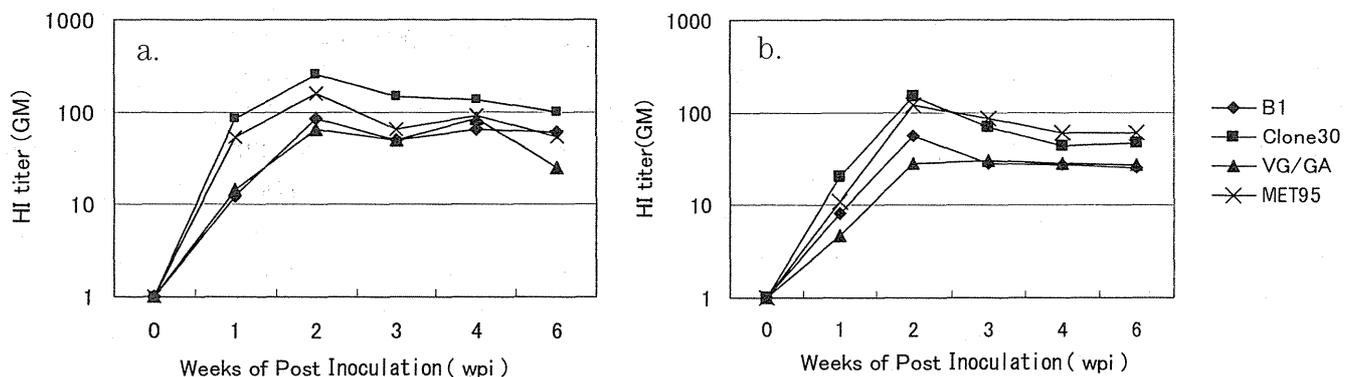


Fig. 1 HI titers of SPF chickens inoculated ND live vaccine strains by oral gavage.

a. SPF 4days old, b. SPF 18days old

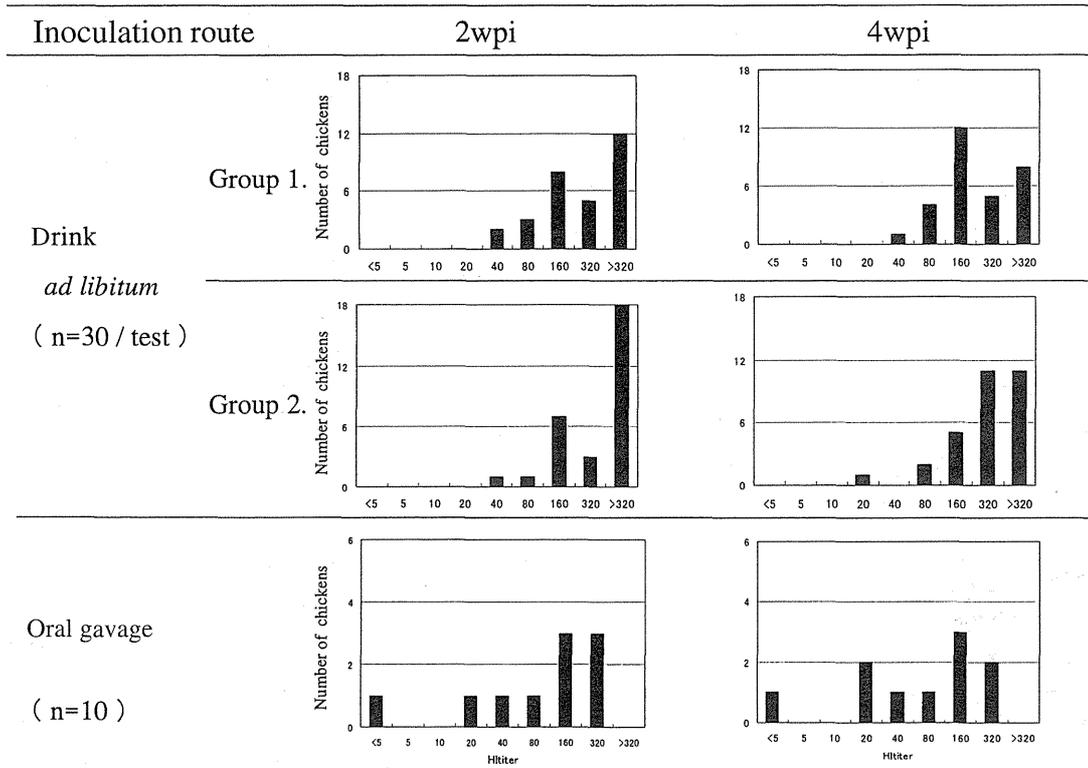


Fig. 2 Distributions of HI titers in SPF chickens after B1 strain inoculation by drink *ad libitum* or by oral gavage.

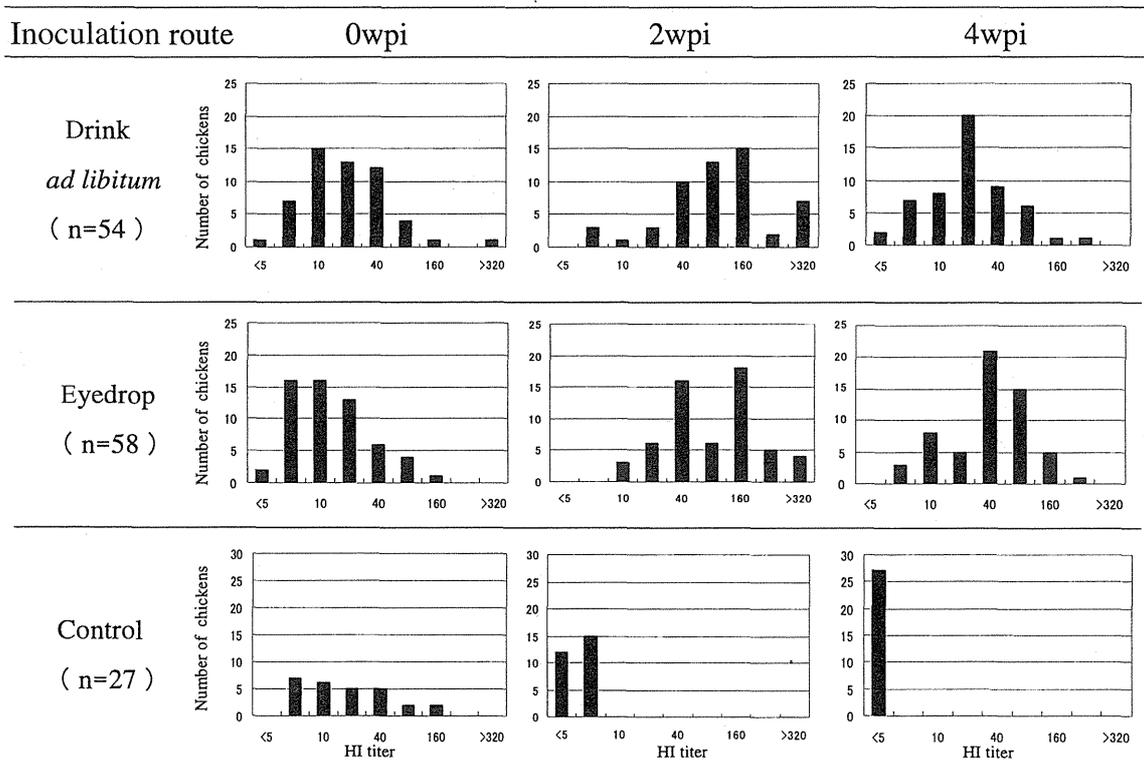


Fig. 3 Distributions of HI titers in layer chickens which have maternal antibody after B1 strain inoculation by drink *ad libitum* or by eyedrop.

HI価 (GM) 10倍以上となった。B1株投与時の移行抗体価が5倍から80倍の範囲では、点眼投与群の方が自由飲水投与群よりも高いGM値を示した。更に、この群の全羽に対して、B1株投与後4週時に佐藤株を $10^{4.0}$ 致死量/羽にて攻撃し、感染防御効果を確認した結果、自由飲水投与群では54羽中10羽、点眼投与群では58羽中2羽が死亡し、無接種対照群では全羽が死亡した。感染防御率は自由飲水投与で81.5%、点眼投与で96.6%となり、点眼投与の方が自由飲水投与に比べ防御効果が高い結果となった (Table 2.)。

更に、投与時の移行抗体価が320倍以上の個体がほとんどを占めるOMを用い、各群30羽として、B1株を上記と同様に点眼投与及び自由飲水投与し、無接種対照群を置いた。投与時、投与後2週、4週の時点を採血を行い、HI価を比較した。その結果、全体にワクチン投与後のHI価が減少し、各群のHI価の分布は、投与後2週時で、点眼投与群及び自由飲水投与群とも40倍が中心であり、無接種対照群では20倍であった。投与後4週では点眼投与群は20倍、自由飲水投与は10倍のHI価を示し、高い移行抗体価を持つ鶏群では、ワクチンの免疫付与効果が低い結果となった (Fig. 4.)。

Table 1. HI titer at the period of B1 strain inoculation (0wpi) and at the 4 wpi of the inoculation in the layer chickens which have maternal antibody.

0wpi HI titer	GM of 4wpi HI titer (n)		
	Drink <i>ad lib.</i>	Eyedrop	Cont.
<5	>320 (1)	20 (2)	
5	16.4 (7)	49.7 (16)	<5 (7)
10	25.2 (15)	36.7 (16)	<5 (6)
20	21.1 (13)	34.1 (13)	<5 (5)
40	14.4 (12)	35.6 (6)	<5 (5)
80	16.8 (4)	56.6 (4)	<5 (2)
160	20 (1)	20 (1)	<5 (2)
320			
>320	10 (1)		
Total n	54	58	27

Table 2. Protective percentages of layer chickens which have maternal antibody inoculated B1 strain by drink *ad libitum* or by eyedrop.

0wpi HI titer	Drink <i>ad libitum</i>				Eyedrop				Control			
	n	Mortality	Protection against challenge (%)	HI titer at the period of challenge	n	Mortality	Protection against challenge (%)	HI titer at the period of challenge	n	Mortality	Protection against challenge (%)	HI titer at the period of challenge
<5	1	0	100		2	0	100		0	—	—	
5	7	2	71.4	(5,20)	16	0	100		7	7	0	(all<5)
10	15	2	86.7	(5,10)	16	0	100		6	6	0	(all<5)
20	13	2	84.6	(5,10)	13	1	92.3	(5)	5	5	0	(all<5)
40	12	2	83.3	(<5,20)	6	0	100		5	5	0	(all<5)
80	4	1	75.0	(10)	4	1	75.0	(40)	2	2	0	(all<5)
160	1	0	100		1	0	100		2	2	0	(all<5)
320	0	—	—		0	—	—		0	—	—	
>320	1	1	0	(10)	0	—	—		0	—	—	
Total	54	10	81.5		58	2	96.6		27	27	0	

#### 実験4. 異なる鶏種への各種NDワクチンの経口投与

本実験では、一律の環境下で異なる鶏種にNDワクチン4株を投与し、HI価の推移の相違を確認した。供試鶏として、ブレイラー系の鶏種であるチャンキー、コブ、赤鶏 (松本鶏園、以下CH、CB、RBと称する) 3週齢を用いた。試験群は各群10羽以上とした (供試羽数はTable 3.に記載)。供試株にはB1株、VG/GA株、Clone30株及びMET95株を用いた。また、鶏種ごとに無接種対照群を5羽置いた。CH、CB及びRBにそれぞれ供試株を、B1株、VG/GA株及びClone30株は $10^{5.5}$ EID<sub>50</sub>/羽、MET95株は $10^{4.5}$ EID<sub>50</sub>/羽、強制経口投与した。各供試株投与時、投与後1週、2週、3週、4週の時点を採血を行い、HI価を測定し比較した。また、4週時の採血後に、佐藤株を $10^{4.0}$ 致死量/羽、全羽に攻撃し、感染防御効果を確認した。その結果、全鶏種で、投与時のHI価 (GM) がCHで14、CBで1.48、RBで4.0あることが確認された。供試鶏は一般的に流通しているコンベンショナルな鶏種で、OMと同様移行抗体を保有していることが確認された。HI価の推移では、CHで他の鶏種よりHI価の上昇が顕著であった (Fig. 5a.)。投与後2週では、CBへのB1株投与群を除いて、各供試株のHI価 (GM) は20倍以上に推移した。攻撃試験による感染防御効果は、CB、RBでは投与された供試株に関係なく、投与後4週時のHI価が5倍以上のものに認められたが、CHでは死亡鶏の4週時のHI価は10倍から1280倍の間に分布し、GMは44.2であり、必ずしもHI価と感染防御能が相関しなかった (Table 3.)。また、本実験の強制経口投与では、CBのB1株投与群でHI価が上昇しなかった (Table 3. and Fig. 5b.)。本群について個体ごとにHI価を確認すると、HI価の上昇にばらつきが見られた。従って、本試験では特定の鶏種と投与方法とワクチン株の組み合わせにより、HI価の上昇にばらつきが現れる可能性が示唆された。

#### 実験5. 異なる鶏種へのB1株の自由飲水投与

本実験では、実験4.の結果を受け、より実地的な投与方法にて、特定の鶏種と投与方法の組み合わせによるNDワクチンのHI

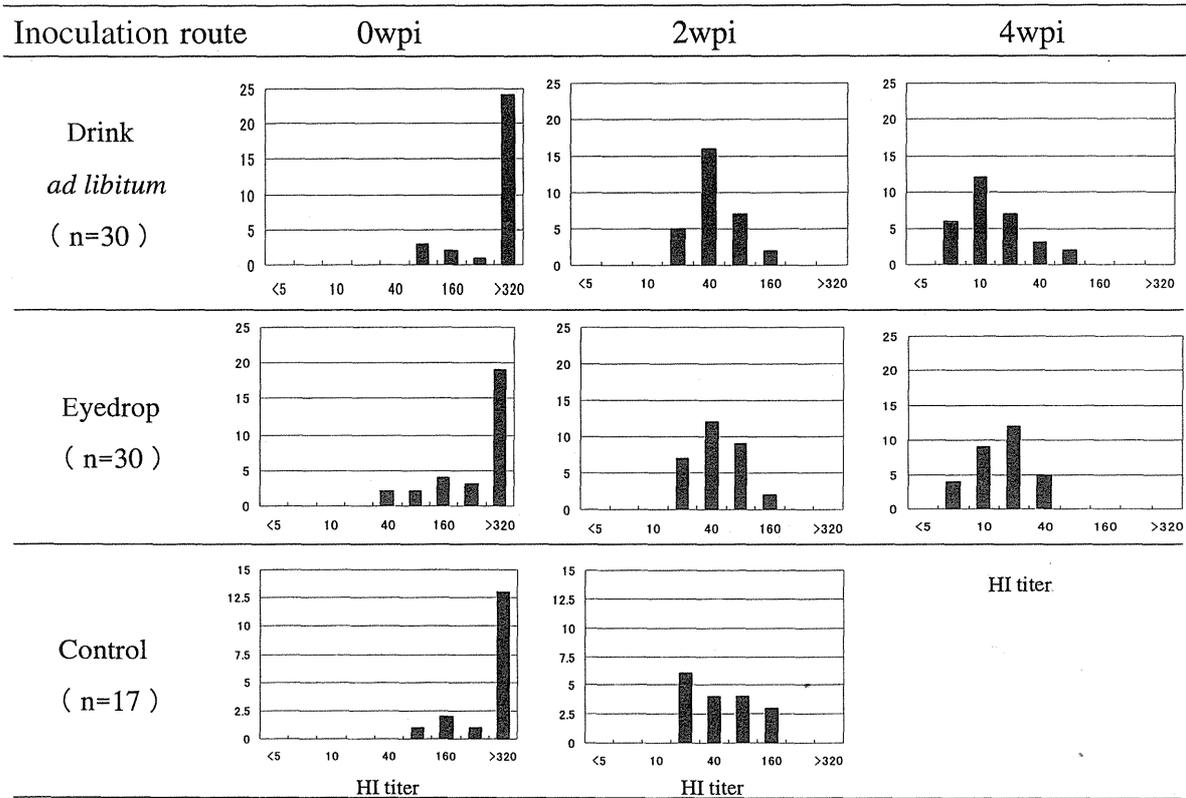


Fig. 4 Distributions of HI titers in B1 strain inoculated layer chickens which have high maternal antibody by drink *ad libitum* or by eyedrop.

Table 3. Percentages of chickens inoculated ND vaccine strains by oral gavage which have no fewer than 5 times of HI titer.

Chicken breed	ND vaccine strain	n	Percentages of chickens which have no fewer than 5 times of HI titer (%)				Protection against challenge (%)
			wpi				
			1	2	3	4	
CH	VG/GA	10	100 <sup>※</sup>	100	100	100	70
	Clone30	10	100	100	100	100	90
	B1	10	100	100	100	100	100
	MET95	10	100	100	100	100	70
	Control	5	0	0	0	0	
CB	VG/GA	10	30	60	70	70	70
	Clone30	10	60	100	100	100	100
	B1	11	0	45.5	45.5	45.5	45.5
	MET95	10	30	60	70	70	70
	Control	5	0	0	0	0	0
RB	VG/GA	12	58.3	83.3	91.6	91.6	91.6
	Clone30	12	58.3	100	100	100	100
	B1	12	41.6	91.7	91.7	91.7	100
	MET95	12	58.3	75	100	100	91.7
	Control	5	0	0	0	0	93.3

価の推移を確認することを目的とした。3週齢のCH、CB、RB各15羽に、B1株を $10^{5.5}$ EID<sub>50</sub>/羽以上となるよう自由飲水投与した。また、鶏種ごとに無接種対照群を5羽おいた。供試株投与時、投与後1週、2週、3週、4週の時点で採血を行い、HI価を測定し比較した。また、4週時の採血後に、佐藤株 $10^{4.0}$ 致死量/羽にて全羽を攻撃し、感染防御効果を確認した。その結果、

Table 4. Protective percentages and percentages which have no fewer than 5 times of HI titer in broiler chicken breeds (CH, CB, RB) inoculated B1 strain by drink *ad libitum*.

Breed	n	Percentages of chickens which have no fewer than 5 times of HI titer (%)				Protection against challenge (%)
		wpi				
		1	2	3	4	
CH	15	53.3	93.3	93.3	100	100
CB	15	53.3	100	93.3	93.3	93.3
RB	15	40	86.7	93.3	93.3	93.3
Control (CH,CB, RB)	5 each	0	0	0	0	0

鶏種ごとのHI価 (GM) は、いずれも2週以降10以上で推移し (Fig. 6.)、また、投与後4週で5倍以上のHI価を示す供試鶏はCH100%、CB93.3%、RB93.3%であり、感染防御率も同値であった (Table 4.)。従って、自由飲水投与群の感染防御効果は、特にCBで強制経口投与群より良好であった。

以上の結果より、ND生ワクチン株による免疫反応は、これまでの様々な報告と同様、移行抗体の有無 (Chu & Rizk 1975; Giambone & Closser 1990; 鶏病研究会 2001; 山田 1992)、投与方法 (Devosら 1975; Edison & Kleven 1976) 及び鶏種の違い (Freundら 2001; Hassanら 2004; Opuda-Asibo & Kabasa 1996) により影響を受ける可能性が示唆された。ただし、今回の試験では、自由飲水投与や点眼投与といった一般的なワクチンの接

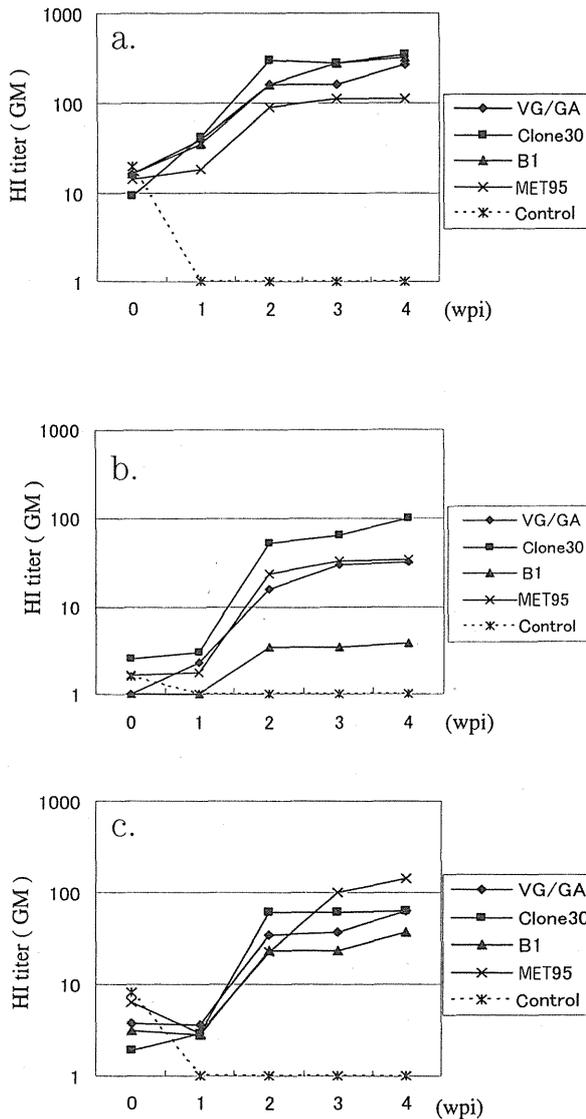


Fig. 5 HI titers of broiler chicken breeds (CH, CB, RB) inoculated ND live vaccine strains by oral gavage.  
a. HI titers of CH. b. HI titers of CB. c. HI titers of RB.

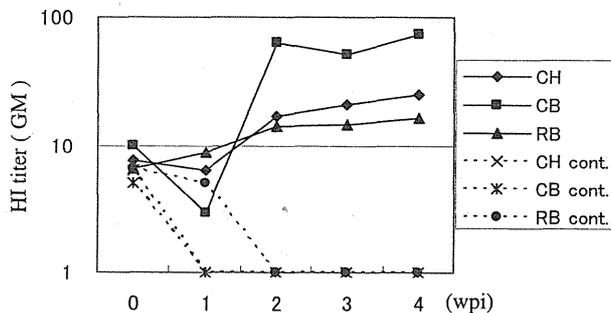


Fig. 6 HI titers of broiler chicken breeds (CH, CB, RB) inoculated B1 strain by drink *ad libitum*.

種方法では、NDに対するワクチン株の感染防御効果は十分に認められた。また、一般的に推奨されているワクチネーションプログラム（鶏病研究会 1999）は複数回の接種により移行抗体の消長等に十分に対応して防御効果が得られるようになっている。従って、ワクチンの感染防御効果に対してこれらの条件が影響をおよぼさないためにも、本報告で得られた結果からは、一般的に推奨されているワクチネーションプログラムと用法用量を踏まえて、鶏舎構造、飼育システムあるいは鶏種の差等に対応した投与法を考慮することにより、適切にワクチンが投与される重要性が改めて示された。

## 文 献

- Chu, H.P. & Rizk, K. (1975) The effect of maternal immunity, age at vaccination and doses of live vaccines on immune response to Newcastle disease. *Developments in Biological Standardization* 28, 451-463.
- Collins, M.S., Franklin, S., Strong, I., Meulemans, G., & Alexander, D.J. (1998) Antigenic and phylogenetic studies on a variant Newcastle disease virus using anti-fusion protein monoclonal antibodies and partial sequencing of the fusion protein gene. *Avian Pathology* 27, 90-96.
- Devos, A., Viaene, N., Maes, R., Devriese, L. & Spanoghe, L. (1975) Newcastle disease: effects of vaccines and vaccination techniques of hemagglutination-inhibition (HI) antibodies and clinical resistance. *Developments in Biological Standardization* 28, 464-472.
- Edison C.S. & Kleven S.H. (1976) A comparison of various routes of Newcastle Disease vaccination at one day of age. *Poultry Science* 55, 1778-1787.
- Freund, I., Dzapo, V., Vielitz, E., Redmann, T. & Kaleta, E.F. (2001) Immunisation of fancy chickens against Newcastle disease. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 108, 414-418.
- Giambrone, J.J. & Closser, J. (1990) Effect of breeder vaccination on immunization of progeny against Newcastle disease. *Avian Diseases* 34, 114-119.
- Hassan, M.K., Afify, M.A. & Aly, M.M. (2004) Genetic resistance of Egyptian chickens to infectious bursal disease and Newcastle disease. *Tropical Animal Health and Production* 36, 1-9.
- 鶏病研究会 (1999) 総合ワクチネーションプログラム. 鶏病研究会報 35, 187-196.
- 鶏病研究会 (2001) ニューカッスル病の防除対策. 鶏病研究会報 37, 149-159.
- 真瀬昌司 (2002) ニューカッスル病ウイルスの分子疫学. 鶏病研究会報 38, 67-74.
- 農林水産省消費・安全局 (2004) 平成14年家畜衛生統計. pp24-25. 農林弘済会. 東京.
- Opuda-Asibo, J. & Kabasa, J.D. (1996) Serum immunoglobulin responses among broiler chickens fed Ugandan commercial poultry feeds and vaccinated against Newcastle disease. *Tropical Animal Health and Production* 28, 163-173.
- 竹原一明 (2002) 地鶏、愛玩鶏、ダチョウなどに発生する疾病と具体的な衛生対策. 鶏病研究会報 38 増刊号, 17-24.
- 湯浅 襄 (2000) ニューカッスル病ウイルスの抗原型と遺伝子型. 鶏病研究会報 36, 207-209.
- 山田進二 (1992) ニューカッスル病. 山田進二著: 改訂鶏のワクチン. pp63-64. 木香書房. 東京.