

マレック病ワクチン

誌名	鶏病研究会報
ISSN	0285709X
巻/号	7増刊号
掲載ページ	p. 15-21
発行年月	1971年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波事務所
Tsukuba Office, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat



3. マレック病ワクチン

椿原彦吉(農林省家畜衛生試験場中国支場)

マレック病の病原体として一種のヘルペスウイルスが分離されたのは1967年のことであるが、これを契機として、マレック病についての知見は急速に増加し、現在ではこのウイルスがマレック病の原因であるということは確定的であるといえる。原因がウイルスであるということがわかれば、病原学的な立場からその予防対策として2つの方法が考えられる。その1つはウイルスの侵入を阻止し、感染しないようにする隔離飼育であり、もう1つの方法はワクチンによる予防である。

幸いマレック病ウイルス(MDHV)は介卵伝搬しないか、もしあってもきわめて低率であるから、ヒナ発生時から隔離飼育することによって感染を阻止すれば本病の発生を防ぎうるわけで、すでに実験的には成功している。しかし特殊な施設を必要とするだけでなく、管理運営にあたっても十分な注意が要求されるので、企業として大規模に実施することは困難である。将来このウイルスをなくすことが要求されるようなことがあれば、当然この方法をとらなければならないであろうが、現時点においては実施できないことであろう。そのいみで当面実施しやすい方策としてはワクチンの応用であり、その開発が切実な問題となる。

ワクチンの可能性については1969年CHURCHILLらによって始めて報告された。それからわずか3年たらずにすぎないが、急速に研究が進み、一部の国ではすでに実用化される段階となっている。日本においても各方面で研究が進められ、試作ワクチンをはじめ、輸入ワクチンについて野外試験が行なわれている状況で、実用化される日も近い

と思われる。

研究はなお日々進められているので、10月4日にお話しする時には追加修正しなければならないことがおこるかも知れないが、現在手もとにある資料をもとに、マレック病ワクチンの現状を述べよう。

I 不活化ワクチン

マレック病ウイルス(MDHV)に感染させた細胞培養にホルマリンを加えてウイルスを不活化し、燐酸アルミニウムを添加処理したものである。

ウイルスは不活化されているので、安全性の点ではまず問題はない。予防接種は7, 17, 27日齢の3回、筋肉内注射により行なう。免疫の程度を表1に示す。テスト1は予防接種時期が7, 14, 21日齢となっていて基準の時期とは多少異なっているが、同居感染による成績で、テスト2は強毒を接種した場合の成績である。いずれの成績もワクチンは免疫効果のあることを示している。防御率(対照のMD発生率を100とし、ワクチン接種によって低下した割合を示す)は60%レベルとなつている。

生ワクチンの効果と直接比較した例は表4-1に示した鳥海らのものだけである。この場合使用された不活化ワクチンは初期の試作品であるため、その後の作品より効果は劣るということであるからその点を考慮しなければならないが、結果は生ワクチンより悪い。あとで述べるように生ワクチンの防御率は大体80%以上となっていることを考え併せ、不活化ワクチンの効果は生ワクチンより多少劣ると推定される。

不活化ワクチンはすでに動物医薬品特別部会の審査を通過しているので、近く市販されるようになるものと思われる。これを要するに不活化ワク

[註] マレック病の予防策の1つとして抵抗性品種の作出が考えられ、その可能性と方法については鶏病研究会報第7巻5頁コール博士の講演要旨に示されているので、参照されたい。

チンは安全性の点ではすぐれているが、3回注射するため省力的でないこと、免疫効果が生ワクチンにくらべて多少劣るのが欠点である。

II 生ワクチン

生きたウイルスを用い、ヒナに感染をおこさせて免疫にしようとするワクチンである。免疫効果がなければならぬのはいうまでもないが、ウイルスが生きているだけに安全性について問題になる。ワクチンに使用するウイルスがどんな性質のものでなければならぬかが十分検討される必要がある。

1. ワクチンウイルスの種類

現在ワクチンウイルスとして使用されているものを大きく区分すると次のように3つに分けられる。

1) MDHV を培養細胞に継代して弱毒化したもの。

日本では加藤らのアヒルやウズラ胎児線維芽細胞継代、野村らのニワトリ胎児線維芽細胞継代、佐々木らのアヒル胎児皮ふ細胞継代による弱毒株があげられる。

2) 自然の弱毒 MDHV

オランダの RISPENS らによって研究されている。野外の未発症成鶏から分離したものである。日本ではまだ検討されていない。

3) 七面鳥のヘルペスウイルス (HVT)

七面鳥は一種のヘルペスウイルスに感染していることが多い。しかも七面鳥は病状を示すことなく健康にみえる。HVT は表2に示すように抗原的にみて MDHV と一致するものではないが、明かに共通性をもっている。ニワトリに対しては、接種によって感染するが、接触感染はおこらない。しかも病原性を示さないのがワクチンウイルスとして適していることが BURMESTER らによって示された。日本でも七面鳥から分離したウイルスを用いてワクチンの作成が検討されている。

2. ワクチンウイルスの安全性

ニワトリに接種し、発病させるようなものはワクチンウイルスになりえないのは当然であるが、そのほかどのような条件が考えられるであろう

か、一応列記しておく。

- 1) ニワトリのヒナに対し病原性を有しない
- 2) 同居感染はおこらないか、おこってもきわめて低率である
- 3) ニワトリに継代しても病原性を獲得しない
- 4) 哺乳動物に対する発癌性を有しない
- 5) 哺乳動物(人を含め)由来細胞に増殖せず、細胞の transformation をおこさない。

などである。現在日本で検討されているワクチンウイルスは培養細胞継代により弱毒化したものと七面鳥由来ウイルスで、いずれも上記の条件をみたし、安全なものと考えられる。

先に述べた RISPENS らの自然から分離した弱毒 MDHV は同居感染がおこり上記の条件にははずれるので、日本ではまだワクチンウイルスとして取上げられていない。しかしこれはワクチンウイルスとして全然不適であるということをいみするものではない。同居感染が高率におこるという性質はワクチンとして使用することによって野外にそのウイルスをばらまくことによる心配があり好ましくないとされているが、反面このようなウイルスでは一部に予防接種すればすむという省力的な応用の可能性があり、このような利点、欠点をどのように評価するかによって使用の適否がきめられるべきものである。現時点では十分それをするに必要な資料がないので、同居感染のおこらないものをワクチンウイルスとして取上げているにすぎない。今後さらに検討すべきウイルスである。

3. ワクチンのタイプ

1) 凍結ワクチン

一般にウイルスは感染した細胞内で増殖したあと細胞外にあらわれ(フリーウイルス)、それが次の細胞に感染する。しかし MDHV ではウイルスは細胞結合性が強く、感染細胞を用いれば容易にウイルスを伝達できるが、細胞をこわしたり、除いた材料では伝達しにくいのが特徴とされ、ほかのウイルスの場合とは著しく様子が違っている。ニワトリ体内でもフリーウイルスは毛のう組織中に証明され、そのほかの部位では細胞結合性のウイルスのみでほとんどフリーウイルスは証明

できない。培養細胞に感染させた場合も、フリーウイルスはほとんど現われないので、生ワクチンとして使用するのには細胞を生かしたまま保存しなければならない。凍結乾燥は細胞を殺してしまうので適当ではないから、感染細胞浮游液を液体窒素の中に凍結保存する方法が応用されている。この方法によってワクチンは1か年以上効力を保持することができるが、貯蔵、輸送面では手まのかかるワクチンである。

2) 凍結乾燥ワクチン

HVT 感染細胞を特殊な溶液を加えてこわし、凍結乾燥すれば、ウイルスの活性を保持しうることがわかり、一部に凍結乾燥したワクチンが作出されている。このワクチンは前者にくらべ貯蔵、輸送面ではすぐれているので、今後このタイプのワクチンが主体となるものと考えられる。

4. 生ワクチンの免疫効果

ワクチンウイルスとしては色々な株が用いられている。いずれも効果のあることはいままでのないが、直接同一条件下で比較したデータがないので優劣をつけることはできない。表3に日本で研究されているものについてのデータをまとめた。

表3-1は培養細胞継代により作出された弱毒株のデータである。90%以上の防御率を示している。供試羽数が少ないので、防御率100%というのをそのまま完全防御すると考えてはならない。

表3-2は七面鳥由来のウイルスについてのデータである。上記同様90%以上の防御率を示している。表3-2の最下欄のFC-126を用いたものを除き、表3のデータはいずれもMDHVに対する抗体のないヒナを使用した成績である。

表3の成績は積極的にウイルスに曝した例であるが、自然の状態でウイルスにさらした場合はどうか。表4に成績を示した。しかし日本では目下野外テストが実施されている最中で、最終的にまとまったデータがないので、表4-1以外は外国のものを引用した。

1日齢に予防接種した場合、80%以上の防御率がえられている。ここで注目しておきたいことは表4-3の最下欄に全く効果のなかった例がある点である。慣れた技術者が予防接種を実施したにか

かわらずこのような結果になり、その原因は分らないということである。6回のテスト中1回効果のないことがあったということは困ったことで、今後原因を明かにしなければならない。

5. 免疫に関係する2, 3の条件

ワクチンが市販される段階ではそれぞれの製品について最も適当な使用方法が指示されるはずである。ここでは一般的に2, 3の問題を取上げて述べる。

1) ワクチンウイルス量

生ワクチンの効果はウイルスが感染することにもとづくものと考えられている。ワクチンウイルスのヒナの感染に要するウイルス量はどの位か。表5に日本で検討されているワクチンウイルスのデータを示す。使用羽数が少ないし、同一のヒナを使用したものではないので、株間のこまかい比較はできない。全体的にみると 10^8 PFUのレベルであれば接種したヒナの半数以上が感染し、 10^9 レベルであればほぼ全部が感染するとみなせよう。

免疫効果については日本にはデータがない。外国の例であるが、表4-2が1つの参考になる。500 PFU(少量免疫グループ)でも80%の防御率がえられているが、量がますにつれ防御率も増加している。しかし量が増加した割には防御率は増加していない。20倍の10,000 PFU(大量免疫グループ)を使用した場合でも100%の防御はえられていない。

これらの成績からみて500 PFU位が最低の必要量といえよう。一般に1羽当り 10^8 PFU以上を目標にワクチンの作成は試みられているようであるから、ほぼ十分量のウイルスが含まれているといえる。しかし 10^8 以上といっても、せいぜい 2×10^8 , 3×10^8 程度で、決して10,000とか100,000などという大量が含まれるわけではない。保存中や使用時にあやまってウイルス量を10分の1以下に低下させるようなことがあれば、効果は著しくなくなると思われるので、その間の取扱いには十分注意する必要がある。

2) 接種ルート

一般に腹腔内接種が使用されている。表3-2、

表4-3に皮下あるいは筋肉内接種の例があるが、これらの防御率も腹腔内のそれにくらべ、特に悪いようには思われない。これらのルートも使用できるようである。

点眼、点鼻については表6に1つの資料を示すが、劣るようである。

3) 移行抗体

一般にニワトリはほとんどMDHVに感染し、抗体をもっている。これは日本だけでなく、欧米でも知られていることである。したがって生産されたヒナはまず移行抗体をもっているとみなしてよい。抗体はゲル沈降反応や蛍光抗体法によって検出されるが、中和抗体の存在することも事実であるからヒナに中和抗体も移行しているものと推察される。このような抗体がワクチンウイルス、特にフリーウイルスを含む乾燥ワクチンの場合に抑制的に作用しないかどうかが問題である。

表7に1つの資料を示す。このデータでは抗体の有無は効果に影響しないとみることができる。しかし野外応用例の防御率が実験的な例にくらべ低い傾向にあるので、移行抗体が1役かっている可能性もある。しかし、現時点では移行抗体の影響はあっても小さいので、特に問題としなくてもよいといえよう。

4) 免疫発現の時期

これは免疫に関する条件とはいえないかも知れないが、使用上知っておきたいことであるので一寸ふれることにする。

通常テストでは2~4週齢に攻撃するので、それ以前いつ頃に効果があらわれるかは明かでない。表8に2週齢で攻撃した例を示したが、3週齢と変らず、効果がみとめられている。

一般に生ワクチンによる免疫は不活化ワクチンより早く現われ、ワクチン接種数日後である。このワクチンについては2週以内と推定されても、その点は明かでない。実際応用にあって少なくとも育すう期にはMDHVの侵入を阻止するように管理することが必要である。

III 感染と免疫

ニワトリにおけるMDHV、七面鳥におけるHVTは一度感染すれば、鳥は一見健康にみえて

もウイルスは潜在している。おそらく一生潜在しているようである。ワクチンウイルスの場合どうか。表9に1例を示したが、そのグループ3にみられるように長期に潜在しているようである。これはHVTに限らず、培養細胞継代株でも同様である。この点ニューカッスル病や伝染性気管支炎ウイルスでは2週以内にはウイルスが体内から消失し、検出できなくなるのとは著しく違っている。

予防接種した鶏に強毒MDHVが侵入した場合、どうなるかをみると、表9にみるようにMDHVも体内から回収されることからみて、感染し、潜在していることが分る。これはワクチンとしてHVTを使った場合だけのことではなく、培養細胞継代株で免疫した場合も同じである。

このワクチンでは強毒の感染を阻止することはできないが、発病をおさえているのだということになる。何故発病が抑えられるのかはまだ説明できない。理窟はどうであれ、発病は少なくなるのであるから当面の目的は十分達せられるわけである。しかし発病例がなくなってもMDHVが自分の養鶏場からはなくなったと早合点してはならない。

IV むすび

日本におけるワクチンの開発は英米にくらべ遅れていることは事実であるが、現在各方面で検討され、今秋の日本獣医学会には多くの成果が発表され、それをもとに生ワクチンの実用化が進むものと思われる。

生ワクチンは1回の接種でかなりよい効果をもっているのだから、養鶏界にとって大きな福音であるが、先に述べたように失敗例(表4-3)もあること100%防御率はえられないこと、感染を阻止しているのではなく発病を阻止しているにすぎないことなどを十分理解し、予防接種だけにたよるのではなく、飼育管理についてもおろそかにしないようにすることが予防の完璧を期する上で大切であることを心にとめておいてほしい。

表 1. 不活化ワクチンの免疫性

テスト	免 疫	羽数	MD 死数	防 御 率	
1	7-14-21日令 筋肉内	200 200	13 38	66	141日間かんさつ 同居攻撃
2	7-17-27日令 筋肉内	46 35	9 24	62	30日令接種攻撃 8週後の所見

表 2. MDHV と HVT の抗原関係

免 疫 血 清	ゲル沈降抗原		蛍光抗原		中和抗原
	FC-126	J M	FC-126	J M	F C-126
HVT:FC-126	+	+	++	+	+
MDHV:JM	+	++	+	++	+

(阪大微研観音寺研究所資料より: 防御率は著者算出)

(WITTER ら 1970)

表 3. ワクチンウイルスの免疫原性(実験室内試験成績)

1) 培養細胞継代により弱毒化した MDHV の例

ワクチンウイルス	ワクチネーション	羽数	強 毒 攻 撃	MD 陽性率	防 御 率	備 考
ウズラ胎児線維芽細胞 継代弱毒株 (加藤ら)	2.3×10 ⁸ P F U 1日令, 腹腔内	21	4週令時腹腔内	5	90	攻撃後17週かんさつ
		22	3週令時同居	0	100	
		21	—	0		
	対 照	18	4週令時腹腔内	50		
		18	3週令時同居	39		
		20	—	0		
ニワトリ胎児線維芽細胞 継代弱毒株 (野村ら)	5×10 ⁶ P F U 1日令, 腹腔内	20	10週令時腹腔内	5	93	攻撃後9週かんさつ
		20	// 同居	0	100	
		18	// 腹腔内	71		
	対 照	20	// 同居	35		
		20	// 腹腔内	0	100	
		20	// 同居	0	100	
アヒル胎児皮ふ細胞継 代株 (佐々木ら)	3.0×10 ⁸ P F U 1日令, 腹腔内	20	3週令時腹腔内	0	100	10週令まで
		20	// 同居	0	100	
		20	// 腹腔内	55		
	対 照	20	// 同居	20		
		20	// 腹腔内			
		20	// 同居			

2) 七面鳥由来ウイルスの例

HVT 株	ワクチネーション	羽数	強 毒 攻 撃	MD陽性率	防 御 率	備 考
H-2 (田島ら)	2×10 ⁸ P F U 1日令, 腹腔内	20	3週令時腹腔内	5	94	13週令まで
		20	// 同居	0	100	
	対 照	10	// 腹腔内	90		
		10	// 同居	60		
HT-1 (伊沢ら)	1.5~2.0×10 ⁸ P F U 1日令, 腹腔内	100	3週令時同居	1	98	18週令まで 2回のテストの合計
		101	// 同居	50		
	対 照	10	3週令時同居	0	100	
		10	// 同居	60		
TH-D F (佐々木ら)	2.3×10 ⁸ P F U 1日令腹腔内	20	3週令時腹腔内	0	100	10週令まで
		20	// 同居	0	100	
	対 照	20	// 腹腔内	55		
		20	// 同居	20		
F C-126 (吉田ら)	5×10 ⁸ P F U 1日令, 筋肉内	104	4週令時腹腔内	7	90	26週令まで
		91	// 腹腔内	67		移行抗体のあるひな使用

表 4. ワクチンの免疫効果 (自然曝露例)

1) ウズラ胎児線維芽細胞継代株

ワクチン	羽数	MD%	防御率	備 考
不活化	3052	18.0	40	7, 17, 27日令3回
生ワクチン	3058	5.5	81	1日令, 腹腔内
—	1058	29.6		

230日令までの成績。肉眼的に明らかにMDとみられるもののみについての成績 (鳥海ら)

2) HVT : FC—126

グループ	免疫方法	1~20週令			20~35週令		
		群数	MD%	防御率	群数	MD%	防御率
1日令, 少量免疫	360~730PFU, 腹腔内 —	6	1.3 2.8	54	5	1.1 5.9	82
1日令, 中等量免疫	1,270~3,700PFU 腹腔内 —	10	1.1 9.9	89	4	1.4 12.4	87
1日令, 大量免疫	8,400~11,500PFU 腹腔内 —	9	1.2 9.3	87	3	0.7 8.6	92
2.5週令, 中等量免疫	1,600PFU 腹腔内 —	1	2.1 14.0	86	1	6.0 32.0	73

1群の内30~40%を免疫し, 発生率を調査した成績のまとめ (PURCHASE, 1970)

3) HVT : TK/A乾燥

テスト	免疫	羽数	死亡率	MD率	防御率	かんさつ期間
1	+	3,000	5.5	2.9	91	7—17週令
	-	2,000	43.7	33.6		
2	+	300	6.4	5.0	83	7—17週令
	-	300	39.8	29.4		
3	+	8,000	0.8	0.07	90	25—28週令
	-	7,700	1.9	0.7		
4	+	5,500	5.5	0.6	93	0—22週令
	-	5,500	27.2	8.6		
5	+	2,000	1.0	0.6	92	11—19週令
	-	1,400	8.7	7.5		
6	+	8,000	24.5		—	10—32週令 MD発生
	-	5,500	16.6			

(1,000~2,000PFU/羽, 筋肉内注射, Welcome 資料より)

(ただし防御率は著者算出)

表 5. 感染に要するウイルス量

ワクチン ウイルス	1羽当りの ウイルス量 (PFU)	抗体陽性率		ウイルス 回収率	
ウズラ胎児線 維芽細胞継代 株 (加藤ら)	5×10^8	4/4	100		
	5×10^2	2/2	100		
	5×10^1	3/3	100		
ニワトリ胎児 線維芽細胞継 代株 (野村ら)	4.8×10^4	3/4	75	4/4	100
	4.8×10^3	4/4	100	4/4	100
	4.8×10^2	2/4	50	4/4	100
	4.8×10^1	0/4	0	1/4	20
七面鳥由来 ウイルス (田島ら)	5.1×10^4	3/3	100	4/4	100
	5.1×10^3	3/3	100	4/4	100
	5.1×10^2	2/3	67	4/4	100
	5.1×10^1	0/3	0	2/4	50
七面鳥由来 ウイルス (伊沢ら)	1.4×10^4			5/5	100
	4.5×10^3			4/5	80
	1.5×10^3			5/5	100
	5×10^2			5/5	100
	1.7×10^2			2/4	50

表 6. ワクチンウイルスの接種ルート比較

ウイルス	皮下	点鼻	点眼	—
HVT(フリー)	0	9	5	
HVT(結合)	0	8	4	
MDHV(弱毒化)	0	9	5	
—				

1群12羽

ワクチンは初生時 $3 \sim 4 \times 10^8$ PFU 接種, 3週令に攻撃。結果は羽数を示す。

(EIDSON & ANDERSON, 1971)

表 7. 移行抗体の作用

受身抗体	ワクチン	MD死(率)	
		羽数	MD死(率)
—	HVT(乾燥)	12	0 (0)
	HVT(液状)	17	1 (5.8)
	MDV(弱毒化)	18	2 (11)
	—	7	3 (43)
+	HVT(乾燥)	24	1 (4.2)
	HVT(液状)	24	2 (8.4)
	MDV(弱毒化)	21	0 (0)
	—	14	5 (36)

(受身抗体—, +両群の品種は異なるかも知れない。

攻撃法, かんさつ期間不明)

(Welcome 資料より)

表 8. 攻撃時期による免疫の比較

グループ	攻撃時期(週令)			
	2	3	4	5
HVT 初生	0/10	0/10	0/7	0/10
—	8/10	5/10	6/10	5/9

MD数/攻撃数を示す。

MDは肉眼及組織検査により判定,

ワクチン量は $10,000$ PFU/羽

(OKAZAKI ら, 1970)

表 9. 免疫鶏からのウイルス回収状況

グループ	羽数	条件		25週令時における所見		
		免疫	攻撃	MD病変	MDHV回収率	HVT回収率
1	7	+	接種	—	70	90
2	8	+	同居	—	50	100
3	8	+	—	—	0	100
4	3	—	接種	—	33	0
5	3	—	同居	1羽+	33	0

免疫: HVT 3×10^4 PFU 1日令, 腹腔内

攻撃: 5週令

ウイルス回収: 25週令時, 腎の培養による

(OKAZAKI ら, 1970)