

## 動物用ワクチンの概要とその正しい使い方 IV

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者名	倉田,一明
発行元	日本獣医師会
巻/号	33巻2号
掲載ページ	p. 85-87
発行年月	1980年2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



## 動物用ワクチンの概要とその正しい使い方(Ⅳ)

## 4. 日本脳炎生ワクチン

倉田 一 明\*

## 1. 日本脳炎の現状と予防接種

日本脳炎(日脳)は日脳ウイルスに起因する人畜共通の伝染病で、家畜では豚、馬、牛、綿羊、山羊などの感染が知られている。なかでも、豚では妊娠豚が感染すると高率に死産を起し、子豚生産に与える被害は甚大であった。

日脳ウイルスは小さな球形(直径約 35 nm)のRNA型で、HA性があり、酸や熱に弱く、エーテルで感受性を失う。哺乳マウスの脳内で極めてよく増殖し、豚腎、ハムスター腎、鶏胎児などの培養細胞でよく増殖する。感染哺乳マウスの脳乳剤や感染細胞培養の培養液は、が鳥や1日ひなの赤血球を凝集する抗原を含み、この凝集は抗日脳血清により特異的に阻止されることから、血清学的診断に用いられている。自然界における蚊→豚→蚊→人のウイルス伝播サイクルが提唱されて以来、豚が感染源となり、保毒蚊を殖やすことから、ウイルス増幅動物としても注目されてきた。ウイルスの伝播は蚊によって行なわれるため、本ウイルスは節足動物媒介ウイルス(Arbovirus)のB群に整理されてきたが、最近の分類によると、Togavirus科のFlavivirus属に所属している。

これまでの流行は沖縄、九州にはじまって、次第に北上し、北海道北部を除くほぼ全都道府県におよぶ規模で、初めて越夏する豚では100%近くの日脳抗体の陽転が各地でみられ、初感染を受けた妊娠豚からの産子の30~40%に死産や異常が報告されている。しかし、最近ではこの流行の様相が変わり、初めて越夏する豚にもそれほど高率な抗体の陽転がみられず、流行の強弱は年ごとに異なり、流行期も遅れるなど、以前のようなパターンを示していない。近年、東日本における流行はそれ程顕著でないが、近畿以西の地方では依然としてかなりの流行が起こっている。

豚が感染した場合、脳炎よりもむしろ妊娠豚の死産が特徴的である。妊娠中の母豚は感染しても軽度の熱発を認めることもあるが、ほとんど異常を示さない。しかし、分娩予定日前後になって異常子を娩出し、白子や黒子、ミイラ化したもの、脳水腫を呈しているもの、神経

症状を示し、生後まもなく死亡するものなどがみられ、とくに異常初生子の神経症状は、日脳感染に特徴的といわれている。

また、最近の研究で、本病に感染した雄豚に造精機能障害の起こることが報告されている。夏から秋にかけて陰囊の充血や水腫、精巢上体の硬結などがみられ、交尾欲の減退、精子活力の低下、精子数の減少などを示し、交配しても不妊になることがある。重症例では回復せず、廃用となる。感染豚の精液中には本ウイルスが検出されることがあり、交配により雌豚が感染する可能性も考えられる。

豚では世代の更新が早く、例えばその年に徹底的に予防接種しても、その翌年には予防接種を経験していない多数の豚が夏を迎えることや、最近の流行で、人の発生がほとんどない年や地方においても、豚の間には抗体が陽転するものが認められている。

予防方法としては、生ワクチン(生ワク)または不活化ワクチンの予防接種が行なわれているが、まず前者について述べることにする。

## 2. 日脳生ワクの概要

生ワクの研究は、組織培養技術の進歩を背景に積極的に進められ、弱毒変異株の作出に成功し、生ワクが開発された。

生ワクの安全性については、各研究所で厳密な基礎試験が行なわれ、日本獣医学会家畜家禽生ワクチン研究協議会において慎重審議された。「弱毒株を生ワクとして野外応用する場合の安全性の基準」が設定され、この基準にもとづいて各弱毒変異株が検討された結果、すべての株は生ワクとしての安全、有効なことが確認され、生ワクの製造が許可された。

その基準の内容は、概略次のようである。

①10日齢以内の子豚に、野外で使用するワクチンウイルス量の10倍量を皮下接種したとき、臨床症状が認められないこと、②妊娠1カ月前後の豚に、野外で使用するワクチンウイルス量の10倍量を皮下接種したとき、母豚に異常がなく、胎盤、胎児感染あるいは異常分娩が認められないこと、③1カ月齢の豚にワクチンの使用量を皮下接種したとき、ウイルス血症の認められないこと

\* 農林水産省動物医薬品検査所(東京都国分寺市戸倉1-15-1)

と、④ワクチンウイルスのコガタアカイエ蚊に対する感染性が減弱していること、⑤猿に対する病原性が減弱していること、⑥ワクチンウイルスは、野外株と異なる安定なマーカーを有すること。

すなわち、①～②は豚に対する安全性、③～⑤は人に対する安全性を考慮したものである。

市販されている生ワクチンは、製造に用いる種ウイルス株（弱毒変異株）から、現在、4種類のものがあり、その概要は次のようである。

**m 株ワクチン**：1961年、井上が人感染脳より分離した向井株を、マウス胎児線維芽細胞とハムスター腎培養細胞で継代して弱毒変異ウイルスm株を作出し、この株を豚腎由来培養株化細胞で増殖させ、製造したものである。

**S<sup>-</sup>株ワクチン**：1963年、佐沢らが輸入豚の異常分娩子の脳から分離した相良株を、牛腎培養細胞で継代を重ねて弱毒変異ウイルスS<sup>-</sup>株を作出し、この株を牛腎培養細胞で増殖させ、製造したものである。

**at 株ワクチン**：1960年、日本生物科学研究所で外見上健康な豚の血液から分離したAT<sub>31</sub>株を、竹原らがハムスター腎培養細胞で継代して弱毒変異ウイルスat株を作出し、この株をハムスター腎培養細胞で増殖させ、製造したものである。

**ML-17 株ワクチン**：1966年、大阪府立公衆衛生研究所で、人の感染脳から分離されたJaOHD 566株を、吉田らが猿腎培養細胞で継代して弱毒変異ウイルスML-17株を作出し、この株をウズラ胎児線維芽細胞で継代して製造したものである。

すなわち、すべての生ワクチンはウイルスを培養細胞で継代を重ねて弱毒変異株を作出し、これをクローニングして得られたウイルスを種ウイルスとして製造されたものである。種ウイルスの性状はワクチンの安全性と有効性の上から極めて重要なことで、性状を一定に保つため、保存、継代などが厳重に規制されている。

生ワクチンの製造は種ウイルスを適当な培養細胞で増殖させ、増殖極期に培養液を採取し、河過あるいは遠心分離などの処理で清澄化し、これに保護剤を添加して、分注後凍結乾燥し、減圧下で封栓して行なわれる。ただし、ML-17株ワクチンでは、凍結乾燥後、窒素ガスを充填し、封栓されている。

製造に際して、各製造所では材料はもちろん、それぞれの製造過程および最終製品について自家検査を実施し、品質について厳重なチェックを行なっている。自家検査が終了後、都道府県の薬事監視員により、最終製品から規定量の試験品が収去され、国家検定を受けるため当所に提出される。

本ワクチンの国家検定は、動物用生物学的製剤基準の日脳生ワクチンの基準により、①特性試験、②真空度試験、

③含湿度試験、④無菌試験、⑤純粋試験、⑥安全試験、⑦効力試験、⑧ウイルス含有量試験、⑨迷入ウイルス否定試験が行なわれる。各試験の概要は次のようである。

①～⑤については他の生物学的製剤の場合とはほぼ同様に行なわれる。⑥1カ月齢の抗体陰性の子豚4頭、体重約300gのモルモット3匹および体重約15gのマウス5匹を使用して行なわれる。3頭の子豚には試験品の使用法に従って1回接種し、無処置対照豚の1頭とともに21日間観察する。モルモットおよびマウスには試験品をそれぞれ2および0.2mlずつ皮下接種し、14日間観察する。各動物は観察期間中異常を示してはならない。⑦安全試験の終了時に各子豚から採血し、試験豚のプール血清および無処置対照豚の血清について抗体価を測定する。試験豚の抗体価は20倍以上、無処置対照豚では10倍以下であること。⑧培養細胞または哺乳マウスの脳内に接種し、ワクチンのウイルス価を測定し、 $10^5$ TCID<sub>50</sub>または $10^5$ LD<sub>50</sub>/ml以上であること。⑨試験品の日脳ウイルスを抗血清で中和し、豚の精巣および腎培養細胞に接種する。接種した培養細胞には細胞変性作用および豚コレラウイルスの存在を認めてはならない。

以上、国家検定の各試験について略述したが、試験品はこれらすべての試験に合格して、はじめて市販される。

### 3. 日脳生ワクチンの使用法

本ワクチンの使用に際して、それまでの保存状態と有効期間を確かめ、ワクチンに添付された使用量に従うことが大切である。ワクチンは凍結乾燥され、灰白色の乾固状を呈しているが、添付の溶解用液を注射器またはクイッカーを用いて注入し、十分に溶解してから接種する。溶解したワクチンは淡赤橙色の透明な液体であるが、色調は製造所により多少異なることもある。

溶解したワクチンは比較的短時間で効力が低下すること、ワクチンには防腐剤が添加されていないので、溶解後はできるだけ早く使用することが望ましい。

豚における抗体価の推移を流行期の前後で比較すると、抗体価の高いものでは変動がなかったり、流行期後に低下する傾向がみられる。しかし、抗体陰性か、あっても低い抗体価の豚では、流行を経験することにより、抗体価が上昇する傾向がみられる。従って、豚における感染ないし死産を防止するためには、流行期前あらかじめ高い抗体価を保持させておくことが必要で、本ワクチンが賞用されている。

豚に強固な免疫を獲得させるためには、本ワクチンを約1カ月の間隔で2回接種する方法が行なわれている。接種量は大部分のワクチンが1mlであるが、一部2mlのものもある。製品の小分容器は10ドーズが普通であるが、製造所によって、20および50ドーズのものもある。

市販日本脳炎生ワクチンの種ウイルス，製造所，用法・用量および小分容量

種ウイルス	m 株	S <sup>-</sup> 株			a t 株	ML-17株
製造所	(株)微生物化学研究所	(財)化学及血清療法研究所	千葉県血清研究所	(株)北里研究所	日生研(株)	(財)阪大微生物病研究会
用法と用量	1mℓ 1mℓ—1mℓ 4W 2mℓ 2mℓ—2mℓ 4W	1mℓ * 1mℓ—1mℓ 1M	1mℓ—1mℓ 4W 2mℓ	1mℓ	1mℓ * 1mℓ—1mℓ 1M	1mℓ
小分容量	1mℓ用 10頭分(10mℓ) 2mℓ用 10頭分(20mℓ) 20頭分(40mℓ)	10頭分(10mℓ)	10頭分(20mℓ)	10頭分(10mℓ) 20頭分(20mℓ) 50頭分(50mℓ)	10頭分(10mℓ)	10頭分(10mℓ)

接種ルート=皮下，W=週，M=月 \* 生後4~5カ月未満の豚

る。

使用時の便利を考え，市販生ワクチンについて，種ウイルス別に，製造所，用法および用量，小分容量を表示すると次のようである。

生ワクチンの使用に際して，次の点について留意することが大切である。

まず，ワクチンを接種しようとする豚について，移行抗体の存否を検討しておくことである。子豚の移行抗体は，母豚の抗体価により，持続期間はまちまちであるが，一般に，生後約4カ月で消滅する。ワクチン接種時にもし移行抗体が存在すると，ワクチンウイルスは無効となり，予防接種したはずの豚が，その後感染することになる。従って，予防接種の対象豚については，月齢を考慮し，もし移行抗体が残存する懸念のある場合には，2回接種法を実施すべきである。

予防接種の対象は，従来から，前年の夏以降に生まれた豚を主体としてきたが，前述のように流行が不定な昨今の状況から，経産豚でも抗体陰性のものがかかりみられており，従来は1回接種でもよいとされてきたが，2回接種した方が効果的な場合もあると考えられる。初産豚には2回接種した方が安全である。

また，雄豚が本病に感染した場合，造精機能障害や精液を介してのウイルス伝播の危険性などが明らかにされており，初めて夏を迎える雄豚や，外国から輸入した雄豚についても，予防接種を考える必要がある。

また，予防接種時期の決定も重要なことである。数年来実施されてきた日脳流行予測調査の結果，年により，また地域によって，流行時期にはかなりの差があることが知られている。最近では，前年の流行と同様のパターンとは限らず，流行時期の予測は困難になってきているが，できるだけ最近の調査成績からその時期を推定する以外に方法がないようである。夏を迎えるから予防接種をする，といった莫然とした方法でなく，接種したワクチン効果の最高時期が，流行期に合致するように予防接

種計画をたてることが大切である。そのためには，各地域における日脳流行の情報に常に注意すべきである。1回接種法の場合には，少なくとも，予測される流行の1カ月前には予防接種を完了すべきで，2回接種法の場合には，2回目の接種が完了するように計画をたてなければならない。

本ワクチンの有効性については，数多くの成績があるが，なかでも，とくに高率な死産を示す抗体陰性の初産豚を対象とした成績から，次のように要約される。

①抗体面からみた場合，抗体の上昇は接種後約2週目からみられるが，再接種を行なうとさらに抗体価の上昇が認められる。また，流行が始まり，ワクチン非接種の豚に抗体陽転がほぼ100%みられるような場合でも，生ワクチン接種豚では抗体価の上昇は低率にとどまり，生ワクチン接種にもとづく抗体により，野外ウイルスの増幅阻止が認められる。②分娩状態からみた場合，生ワクチン接種群と非接種群について比較すると，死産発生率，母豚当たりの異常子豚数，正常子豚数は，両群間に有意差がみられ，生ワクチンの有効なことがうかがわれる。③死産子豚からみた場合，生ワクチンの接種を受けた母豚の死産子豚から，日脳ウイルスは認められないが，ワクチン非接種の流産母豚，あるいはその新生子から日脳野外ウイルスが認められている。

なお，日脳不活化ワクチンについては，次回に述べる。

— 日 獣 の 図 書 案 内 —

家畜衛生指導専業研修用テキスト

注 意 し た い

豚 の 伝 染 性 疾 病

A 5 36 頁 定価 200 円