

最近の鶏病ワクチンの開発

誌名	鶏病研究会報
ISSN	0285709X
著者名	鶏病研究会
発行元	鶏病研究会
巻/号	49巻1号
掲載ページ	p. 21-30
発行年月	2013年5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



最近の鶏病ワクチンの開発

鶏病研究会

〒305-0856 茨城県つくば市観音台1-21-7 サンビレッジ川村C-101

キーワード：遺伝子組換え，開発，粘膜，ワクチン

はじめに

鶏病ワクチンは、養鶏産業の発展とともにその数や種類が増え、1955年には4種類であった対象疾病も2011年には20種類以上にのぼる。鶏用に承認された製剤は200品目を超え、動物用ワクチンの中でも最も多い品目数である。ワクチンの効果は、鶏に対する疾病予防に留まらず、産業動物の経済損失の軽減、公衆衛生上の食中毒予防、さらには抗生物質等の薬剤使用の軽減と多岐にわたりその役割は広がっている。多様化するワクチンの開発経緯をたどると、1989年のオイルアジュバント製剤の承認、1996年の原虫ワクチンの承認、また1990年代以降のワクチンの混合化・多価化の進展など、新しい知見・技術を取り入れながら、より効率的・効果的で、幅広い対象疾病に対応した新しいワクチンの開発が常に進められていることが伺える¹⁾。最近新しいタイプのワクチンとして、粘膜投与型の不活化ワクチンや遺伝子組換えウイルスを成分とする生ワクチンが開発された。これらワクチンの開発では、薬事法の規制の下、医薬品としての有効性・安全性についてさまざまな評価を受け、さらに遺伝子組換え体の生ワクチン場合には、遺伝子組換え体の環境への影響等についても評価されている。本稿では、ワクチンの開発に関わるさまざまな規制・制度と、これらの規制の下、新たに開発された遺伝子組換え生ワクチンを初めとした新しいタイプの鶏病ワクチンの概要について、国内および海外でのワクチンの開発状況や今後の開発の展望とともに紹介する。

1. ワクチン開発に関わる規制

1) ワクチンの製造販売承認の取得

新たに開発したワクチンを製造販売しようとする場

2012年10月12日受付

この解説は、鶏病研究会専門委員会で検討されたものである。

担当委員：嶋崎洋子，有吉理佳子，岡村雅史，永野哲司，野中富士夫，矢口和彦

鶏病研報49巻1号，21～30（2013）

合、薬事法に基づき品目毎に農林水産大臣より承認を受ける必要がある。承認の手続きは、開発した製剤に関する申請書および試験資料を添付して動物医薬品検査所を窓口として農林水産省へ申請を行うことから始まる（図1）。動物医薬品検査所の事務局において、提出された資料等に基づき製剤の品質、有効性・安全性等について審査を行ったのち、厚生労働省の設置機関である薬事・食品衛生審議会において審議される。さらに、食用動物に用いられる製剤の場合には、製剤に含まれる成分の人への安全性について、内閣府に設置された食品安全委員会の動物用医薬品専門調査会において食品健康影響評価を受け、さらに残留性については厚生労働大臣へも意見の聴取を行うこととなる。これら一連の審査や評価を経た後、申請製剤が承認されてはじめて製品として販売することができる。

開発した製剤の承認の申請にあたっては、ワクチンの製造用株の基本的な性状から製剤の品質を確保するための規格検査方法、製造方法、さらに有効性および安全性に関する試験や臨床試験等、申請された製剤を審査する上で必要な多くの試験資料が必要となる（表1）。これらの試験資料のうち、安全性に関する試験および臨床試験については、それぞれ農林水産省が定めた安全性に関する非臨床試験の実施基準（Good Laboratory Practice: GLP）および臨床試験の実施基準（Good Clinical Practice: GCP）に準拠し、より厳格な試験管理の下で実施されている。

また、ワクチンの製造施設については動物用医薬品製造所等構造設備規則、製造管理および品質管理については動物用医薬品の製造管理および品質管理基準（Good Manufacturing Practice: GMP）省令といった農林水産省が定めた基準に適合する必要がある、承認申請に直接関わる規制以外にもワクチンを製造・販売するために必要なさまざまな規制を受けることとなる¹⁴⁾。

2) 遺伝子組換え体のワクチンへの利用

遺伝子組換え体の利用に関しては、日本は生物多様性条約カルタヘナ議定書の批准国であるためそれに従わな

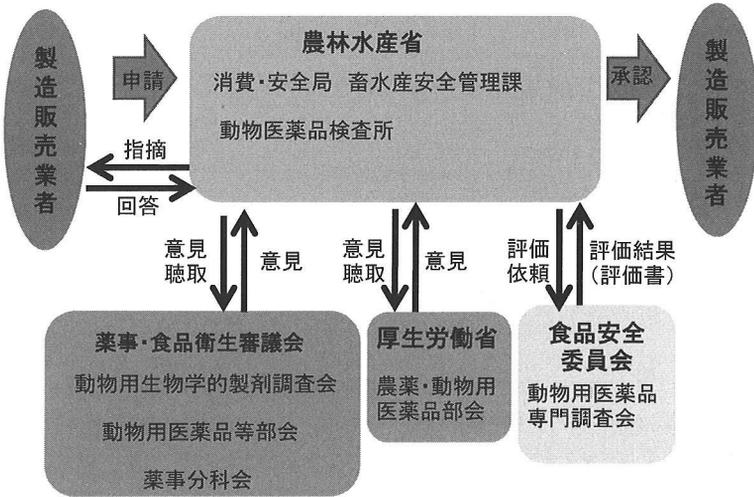


図 1. 鶏病ワクチンの審査の流れ

表 1. 鶏病ワクチンの承認申請に必要な資料の例

資料の区分	資料の内容
起源又は発見（開発）の経緯に関する資料	開発の経緯／外国での使用状況／類似製剤との比較表／製造用株の人への安全性 等
物理的、化学的試験に関する資料	製造用株の作出過程／製造用株の性状（抗原性・病原性・同居感染性・病原性復帰否定 等）／ワクチン製造に関する規格検査及び試作ワクチンの規格検査成績 等
製造方法に関する資料	製造工程フローチャート／不活化方法に関する資料
安定性に関する資料	試作ワクチンの安定性（経時変化の有無）／ワクチン溶解後の安定性 等
安全性に関する資料	実験室内での対象動物に対する安全性／接種局所のアジュバント等異物の消長／対象動物の品種や投与経路別の安全性 等
薬理試験（効力を裏付ける試験）に関する資料	抗原量及び抗体価と有効性（発症・感染防御等）との関係／免疫持続期間／移行抗体による影響 等
臨床試験に関する資料	野外で使用した場合の安全性・有効性（副作用発現状況・対象疾病発生状況等の比較等） 等

くてはならない。カルタヘナ議定書とは、生物の多様性の確保を図るため、遺伝子組換え生物等の使用等の規制に関する措置を講じる国際的な協力体制を求めたものであり、2003年に国際的に批准された。これを受けて国内では、遺伝子組換え体を利用する際、自然界の多様な生物の生態系のバランスを崩さないよう、その使用方法（生産・加工・運搬等）等を規定することを目的として、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（以下、カルタヘナ法）」が2004

年より施行された。

遺伝子組換え体をワクチン製造またはワクチン成分そのものとして利用する場合、遺伝子組換え体の利用形態により開放系で使用する第一種使用と、拡散防止措置がとられた閉鎖系で使用する第二種使用とに分けられ、それぞれ主務大臣（動物用医薬品では農林水産大臣）の第一種使用の承認、または第二種使用の確認が必要となる。第一種使用の承認は、遺伝子組換え生ワクチンのように開放系で 사용되는ものに必要であり、申請に際しては、

遺伝子組換え体に関する情報の他、接種動物体内での消長や環境への拡散の有無、野生動植物への伝播の可能性の有無に関する情報等に基づき、遺伝子組換え体が一般環境下に拡散し生物多様性に影響を与えないことを示さなければならない。第二種使用の確認とは、遺伝子組換え生ワクチンの製造やワクチン成分の製造に遺伝子組換え体を使用する場合(組換えコンポーネントワクチン等)に必要であり、遺伝子組み換え体を扱うワクチン製造施設の設備および体制等において、使用する組換え体のレベルに応じた拡散防止措置が執られているかを確認するものである。

遺伝子工学の技術を用いて遺伝子を操作された遺伝子組換え体のうち、カルタヘナ法で規制対象となるのは、本来自然界に存在しない新たな遺伝子の組合せをもつ生物である。そのため、遺伝子組換え体でも、導入された遺伝子が同一種に属する生物間の遺伝子のみを用いて導入・加工する場合(セルフクローニング)および異種に属する生物間であっても、自然条件で遺伝子を交換することが知られている種の核酸遺伝子のみを用いて導入・加工する場合(ナチュラルオカレンス)に該当するものは、カルタヘナ法の規制の対象外となる。

2. 最近承認された新しいタイプのワクチン

1) 遺伝子組換え生ワクチン

(a) 遺伝子組換え生ワクチンの開発状況

遺伝子組換え生ワクチンは、自然界に存在するウイルスや細菌について、遺伝子組換え技術を用いて人為的に遺伝子を一部改変し、新たな特性(新たな抗原性の付与、病原性の減弱化等)を付与させた生きた微生物を成分とするワクチンである。現行の弱毒化されたワクチン株等をベースにして外来抗原を発現させるワクチン(ベクターワクチン)は、感染防御に必要な外来抗原成分だけを発現させるため安全性が期待されるワクチンであり、かつベクター自身による当該疾病の予防と発現させる外来抗原による疾病予防を同時に可能とする多価ワクチンでもある。

ウイルスベクターには鶏痘(FP)ウイルス、七面鳥ヘルペスウイルス(HVT)、マレック病(MD)ウイルスおよびニューカッスル病(ND)ウイルスのワクチン株が用いられており、これらの株は長くワクチンとして用いられてきたものである。最初に実用化されたベクターワクチンとして、FPウイルスベクターによってNDを防御するワクチンが、1994年に米国で認可された。その後海外では、同じくFPウイルスをベクターとして、鳥インフルエンザ(AI)、鶏伝染性喉頭気管炎(ILT)、

マイコプラズマ・ガリセプチカム(MG)感染症を防御するワクチンが実用化されている。近年では、長期間免疫が持続するHVTベクターを用いたワクチン開発が盛んに行われており、ND、伝染性ファブリキウス嚢病(IBD)、ILTに対するワクチンが認可されている。またNDウイルスをベクターとしてAIを防御するワクチンがメキシコにおいて実用化されている^{9,13,16)}。

ベクターワクチンの利点として、従来の生ワクチンの開発で一般的に実施される野外株を継代させた弱毒化と異なり、安全性に実績のある弱毒生ワクチン株に対象病原体の感染防御に関する抗原のみを発現させることから、対象とする疾病へのワクチン株自体の副反応のリスクが低く安全性に優れている点があげられる。例えば、現行のIBD生ワクチンでは、ワクチン株は多少なりともファブリキウス嚢(F囊)にダメージを与えるが、HVTまたはFPウイルスをベクターとしてIBDウイルスの中和に関与するVP2遺伝子のみを発現するワクチンではこのようなF囊のダメージを与えることはない。また、同じく現行のNDまたはILTワクチンを投与した場合、投与後呼吸器症状を示す場合があるが、ベクターワクチンで抗原のみを発現させるとこの様な症状が示されることはない。

また、IBDウイルス抗原遺伝子を組み込んだHVTワクチンは1回の投与でIBDおよびMDの予防が可能であるように、ベクターワクチンはウイルスベクター自身による当該疾病の防御に加え、発現させた外来抗原による防御が可能となるため、さまざまな抗原を発現させることで複数の感染症を同時に予防できるワクチンの開発が可能となる。

一方、遺伝子組換え生ワクチンは自然界には存在しない微生物であるので、ワクチン株が排泄や同居感染により環境へ拡散しないこと、更に人への安全性についてのリスク評価を十分に行う必要がある。

表2に海外における主要な鶏用ベクターワクチンの承認状況を示す。欧州連合(EU)では、IBDウイルスのVP2遺伝子を組み込んだHVTベクター生ワクチン(Vaxxitek HVT+IBD, Merial)が2002年に承認されているのみである。一方、米国ではこれまでにILTウイルス、NDウイルス、MGあるいはAIウイルスの抗原を発現させるFPウイルスベクターワクチンが6種類、IBDウイルス、NDウイルスあるいはILTウイルスの抗原を発現させるHVTベクターワクチンが8種類の合計14種類、またカナダではIBDウイルス、NDウイルスあるいはILTウイルスの抗原を発現させるHVTワクチンが4種類、メキシコではAIウイルスを発現させる

表 2. 海外における主な鶏用ベクターワクチンの承認状況

地域	ベクター ^{a)}	発現抗原 ^{b)}	製品名	製造販売業者		
EU	HVT	IBDV	Vaxxitek HVT+IBD	Merial		
		ILTV	Vectormune FP-LT	Ceva		
		ILTV	Vectermune FP-LT+AE (ILT-FP ベクター・AE 混合生ワクチン)	Ceva		
		FPV	NDV	Vectormune FP-N (ND-FP ベクター生ワクチン)	Ceva	
			MG	Vectormune FP-MG	Ceva	
			MG	Vectormune FP-MG+AE (MG-FP ベクター・AE 混合生ワクチン)	Ceva	
		AIV	Trovac AI H5	Merial		
米国	HVT	IBDV	Vectormune HVT IBD	Ceva		
		IBDV	Vectormune HVT IBD & SB-1 (IBD-HVT ベクター・MDV2 型凍結ワクチン)	Ceva		
		IBDV	Vaxxitek HVT+IBD	Merial		
		NDV	Vectormune HVT NDV	Ceva		
		NDV	Innovax ND	Intervet		
		NDV	Vectormune HVT NDV & SB-1 (ND-HVT ベクター・MDV2 型凍結ワクチン)	Ceva		
		NDV	Innovax ND-SB (ND-HVT ベクター・ MDV2 型凍結ワクチン)	Intervet		
		ILTV	Innovax HVT-IL T	Intervet		
		カナダ	HVT	IBDV	Vaxxitek HVT+IBD	Merial
				NDV	Innovax ND	Intervet
ILTV	Innovax HVT-IL T			Intervet		
NDV	Innovax ND-SB (ND-HVT ベクター・ MDV2 型凍結ワクチン)			Intervet		
FPV	AIV			Trovac AI H5	Merial	
メキシコ	NDV	AIV	NewH5	Avimex		
		AIV	Innovac rND-H5	Avimex		

^{a)} FPV：FP ウイルス，NDV：ND ウイルス

^{b)} IBDV：IBD ウイルス，ILTV：ILT ウイルス，NDV：ND ウイルス，AIV：AI ウイルス

FP ウイルスベクターワクチンが1種類，ND ウイルスベクターワクチンが2種類の合計3種類のワクチンが承認されている。

(b) 国内において承認された遺伝子組換え生ワクチン

2010年8月に，国内では初となる遺伝子組換え生ワクチン「セルミュンN」(ニューカッスル病・マレック病(ニューカッスル病ウイルス由来F蛋白遺伝子導入マレック病ウイルス1型)凍結生ワクチン，一般財団

法人化学及血清療法研究所)が製造販売承認された。本製品の主剤は，MD ウイルス1型遺伝子のコード領域にND ウイルスの中和活性領域である Fusion (F) 蛋白遺伝子を挿入したMD ウイルスである。製剤の概要を表3に示す。

MD ウイルスは持続感染することから，組換えMD生ワクチンを投与された鶏では，1回の免疫により持続的にND蛋白が発現し抗体が産生される。またMDウ

表 3. セルミューン N の製剤概要

ワクチン成分	
主剤	ニューカッスル病ウイルス由来 F 蛋白遺伝子導入 マレック病ウイルス 1 型 207 株
安定剤	ジメチルスルホキシド
安定剤	牛血清
溶剤	トリプトース・ホスフェイト・ブロス
溶剤	イーグル MEM
保存剤	硫酸ゲンタマイシン
保存剤	ベンジルペニシリンカリウム
保存剤	硫酸ストレプトマイシン
用法及び用量	
凍結ワクチンを流水で速やかに解凍して、凍結ワクチン溶解用液“化血研”又は凍結ワクチン溶解用液“化血研” S200 mL 当たり 1 本懸濁し、鶏初生ひなの頸部皮下に 1 羽分 (0.2 mL) を 1 回接種する。	
効能及び効果	
鶏のマレック病及びニューカッスル病の予防	
剤型及び貯法	
凍結ワクチン, 2 mL/ アンプル (1,000 羽分), - 100°C 以下保存	

ウイルスは細胞から細胞へと伝播することから、ND 生ワクチンでは効果の妨げとなる血中抗体、即ち移行抗体の影響を受けにくい。これらの特徴から ND 遺伝子組換え MD ウイルスの生ワクチンは利便性と有効性が期待されるワクチンとなり得る。そのような基本概念から本製剤の開発が開始された。

本製剤の開発においては、薬事法にて要求される項目に加え、遺伝子組換え体の利用に関する法規制に適合するためのさまざまな試験が必要とされた。遺伝子組換え生ワクチンの開発では、野外での臨床試験（治験）等の実施に先立ち、前述のカルタヘナ法に従い、遺伝子組換え体による生物多様性への影響に関する試験資料等を揃え、第一種使用規程の申請をし、承認を受ける必要がある。本遺伝子組換えウイルスは、MD のワクチン株として知られている弱毒の CVI988 株を宿主とし、ND ウイルスの感染防御抗原である F 蛋白遺伝子を挿入したものである。本ウイルスは、宿主の CVI988 株と体内分布は同様であるものの、フケや糞便などに感染性のウイルスが排泄されず、同居感染性も認められていない。また、遺伝子を改変することによる性状変化は確認されていない。その他、挿入遺伝子の性状、宿主の病原性や自然界での生存能力等の成績より、本ウイルスについては、他の微生物を減少させる性質や遺伝子を水平伝播する性質はなく、また有害物質の産生性や病原性はないことから、生物多様性に影響が生じるおそれはないとして第一種使

用の承認が認められている⁴⁾。なお、遺伝子組換え生ワクチンの場合には、カルタヘナ法により承認された範囲外での使用は認められていないことから、必ず定められた用法・用量および目的とする効能・効果の範囲で使用することが製剤の添付文書において記載されている。

また、本製剤は鶏という食鳥に使用される製剤であることから、食品としての人への安全性が内閣府食品安全委員会においてリスク評価されている。人への食品を通じての安全性という観点から、鶏肉中での生存性確認試験や人工胃液中生存試験の成績、さらに製剤の添加剤等についても解析されている。その解析において、組換えウイルスは既承認の MD 生ワクチンと同様に生きた細胞でしか増殖せず、と殺後 4°C 保存した場合、本組換えウイルスの鶏肉における生存は、筋胃では保存後 7 日まで、また筋肉ではと殺当日のみで認められるが、冷凍保存や人工胃液により不活化されることが確認されている。遺伝子組換えウイルスは、その各種性状も踏まえ、各種感染試験から通常の MD ウイルス同様、人を含む他の哺乳動物に対する感染性を示す事実は認められないこと、人工胃液中生存試験の結果から人の消化管内でウイルスは不活性化されると考えられ、食品安全委員会での審議では、「本製剤が適切に使用される限りにおいては、食品を通じて人の健康に影響を与える可能性は無視できるものと考えられる」と評価されている⁵⁾。

2) 粘膜ワクチン

(a) 粘膜ワクチンの開発状況

腸管や呼吸器といった粘膜組織には、パイエル板や鼻咽頭関連リンパ組織という粘膜固有の免疫誘導組織が存在し、粘膜免疫システムを発動させるための中枢として機能することが明らかとなってきた。そして近年、この粘膜免疫システムを有効利用した不活性化成分を抗原とする経粘膜投与型ワクチン（粘膜ワクチン）が次世代型ワクチンとして、大きく期待されている。

粘膜ワクチンは、血流を介した全身レベルでの獲得免疫だけでなく、種々の病原体の侵入門戸である粘膜面における抗原特異的免疫応答も誘導することが知られ、従来の注射型ワクチンと異なり病原体の侵入門戸である粘膜局所での予防免疫が可能なワクチンとなる。

粘膜を経由するワクチンには、飲水投与や点眼・点鼻投与、また噴霧投与といった用法の ND や鶏伝染性気管支炎 (IB) の生ワクチンがあるが、これらは生きたワクチン株が局所から侵入し生体内での増殖を経て、全身および局所での強い免疫が誘導される。不活性化成分を抗原とする粘膜ワクチンの場合は、生ワクチンと同様な投与方法ができるため簡易であるということに加え、生ワクチンと異なり血流を介した移行抗体の影響を受けにくいという利点がある。一方で、生きた微生物ではないワクチン抗原を単独で経粘膜投与しても、抗体産生能に乏しく、感染防御に十分な免疫を誘導できない欠点もある。そのため、粘膜ワクチンの効果を発揮するためには、ワクチン抗原特異的な免疫応答を強化・活性化できる免疫増強剤（アジュバント）の併用が必要となってくる。

粘膜免疫およびこれを目的とした不活化ワクチンに関する報告および特許申請は非常に多くなされている^{2,11)}。人用に市販された粘膜免疫用不活化ワクチンとしては、2003年にスイスの Berna 社が開発した大腸菌易熱性毒素をアジュバントとした経鼻投与インフルエンザワクチンがある（商品名 NasalFlu¹⁵⁾。また、日本では二本鎖 RNA をアジュバントとした経鼻投与型のインフルエンザワクチンの実用化への検討が行われている。動物用として粘膜投与型の不活化ワクチンについての研究は行われているものの、海外で実用化された製剤についての報告は見あたらない。鶏用ワクチンに関する研究として、Nakamura ら⁸⁾ はアピバクテリウム・バラガリナルムの全菌体不活化抗原の鶏に対する経口投与で、抗原量を 100 倍増加させれば筋肉内注射に匹敵する効果があることを報告している。また、鶏大腸菌や鶏貧血ウイルス、ND ウイルスを抗原とした製剤の開発が進められている。

(b) 国内において承認された粘膜投与型の不活化ワクチン

2006年5月に不活性化成分の粘膜ワクチンとして「京都微研」ポールセーバー EC」(鶏大腸菌症 (O78 全菌体破碎処理) (脂質アジュバント加) 不活化ワクチン, 株式会社微生物化学研究所) が製造販売承認された。表 4 に本ワクチンの概要を示す。

本製剤は、家禽の監視伝染病の国内発生状況において最も発生件数が多い大腸菌症を軽減することを目的とする製剤である。通常の注射型の不活化ワクチンでは肉用鶏において食鳥処理時に可食部位にワクチンが残留す

表 4. “京都微研” ポールセーバー EC の製剤概要

ワクチン成分	
主剤	超高压破碎処理大腸菌 KAI-2 株 (O78)
不活化剤	ホルマリン
アジュバント	コレステロール
アジュバント	水素添加大豆リン脂質
アジュバント	塩化ジステアリルジメチルアンモニウム溶液
保存剤	硫酸ゲンタマイシン
pH 調節剤	リン酸緩衝食塩液
用法および用量	
O 日齢以上 100 日齢以下の鶏に 0.03 mL を 1 回点眼接種する。	
効能および効果	
鶏の大腸菌症の発症の軽減	
剤型および貯法	
液状ワクチン、30 mL/バイアル (1,000 羽分)、2 ~ 10°C 保存	

ば適用できないが、本製剤は用法を粘膜局所投与とすることによって残留問題をクリアし、肉用鶏への適用も可能とすることを基本概念として開発された。

本製品は、野外の大腸菌症罹患鶏から比較的高率に分離される血清群 O78^{10,17)}の不活化破碎菌体を主剤としている。この株は、その他の病原性関連遺伝子として、野外の大腸菌症罹患鶏由来大腸菌で高頻度に保有が認められる菌体表層構成成分で宿主の免疫機構（補体）から逃れる役割を担う糖タンパク質をコードする遺伝子（Increased serum survival: iss 遺伝子）および菌体表層構成成分で宿主から遊離鉄を奪う作用を有するタンパク質をコードする遺伝子（Iron uptake transport A: *iut A* 遺伝子）などを保有する。また、アジュバントとしては、粘膜との親和性が高いコレステロールおよび水素添加大豆リン脂質を用い、さらに粘膜との親和性をより高めるための陽性荷電体である塩化ジステアリルジメチルアンモニウムを含むリポソームを用いることによって、ワクチン抗原が生体内へ取り込まれ抗原提示されやすくしている。

また本製剤は、接種経路が点眼に設定されていること、さらにコレステロールおよび水素添加大豆リン脂質という動物および植物由来の脂質アジュバントを使用しているため代謝されやすいことから食品への残留性が少なく、人への安全性が高いことも特徴である。

また、本製剤は、オイルアジュバントの注射型の不活化ワクチンとは異なり、上述のとおり残留性の少ないアジュバントを使用していることから、免疫持続性は約 2 カ月と短い、主に肉用鶏の大腸菌症の軽減を目的として使用され、1 回の接種により出荷日齢まで効果は持続すると考えられる。

3. 今後のワクチン開発

1) ワクチン開発に求められるもの

現時点で養鶏産業において問題となる疾病のほぼ全てに対して生あるいは不活化ワクチンが開発されており、すでに広く普及している。臨床現場では、同様な効能、効果を有するワクチンについて、それぞれの農場に適したワクチン株・用法・用量および剤型等を選びながら、多様なワクチンプログラムを構築できる状況にある。

鶏卵・鶏肉の生産現場では、大規模化・合理化といった大量生産への動きがより一層加速しており、低価格・省力化を基本概念としたワクチンが常に訴求されている。また、育種改良される鶏種および効率化される飼養形態・鶏舎環境に適応したワクチンへの改良も強く望まれている。さらに、注射による苦痛の低減や、飲水投与前の断水時間の短縮など、産業動物としてのアニマルウ

エルフェアの概念が必要とされる場面もある。

近年は、サルモネラ食中毒が激増したことへの対策の一環として、サルモネラ・エンテリティディス不活化ワクチンが開発され、広く汎用されるようになった。この鶏卵・鶏肉を媒介とした食水系感染症を食品流通の最上流である農場で防御する、家畜衛生から公衆衛生への流れは、そのままカンピロバクターやクロストリジウム・パーフリンゲンスといった病原体に対するワクチン開発に向けられているところである。

2) ワクチン開発の方向性

国内外のワクチン製造販売業者は、国や地域によって少しずつ異なるこの複雑な背景を独自に解析しながら、今後数年あるいは十数年の間に鶏用ワクチン開発に何が求められているのかを模索している。その中では、管理育成技術がより高度化してきたこと、病原体に対する鶏の感受性が変化したこと、あるいは病原体そのものが強毒化する可能性を危惧して、これまでは問題とならなかった病原体によって引き起こされる感染症に対するワクチンの開発・研究が進められている。しかし、鳥インフルエンザを除き新興感染症や再興感染症の発生が久しく報告されない現状では、既存ワクチンの有効性の改良、利便性の追求またはコスト削減に徹することとなっている。

(a) ワクチン接種の省力化：ワクチンの接種方法については、より効率的で効果的な用法が現場から望まれていることから卵内接種への適用が拡大していくものと推察される。卵内接種はわが国を含め、30 カ国以上で行われている。接種は自動卵内接種器（動物用医療機器）を用い、18～19 日齢の発育鶏卵内に行く。利点として、①多数（1 時間当たり 2～7 万個）の発育鶏卵毎に正確な量を接種できる、②移行抗体の影響を受けにくい、③ひなのストレスを軽減する、ことが挙げられる。わが国では IBD（抗血清加）生ワクチン、MD 弱毒生ワクチン、MD と FP の混合ワクチンが承認されているが、他のウイルスを初めとしてこれから開発されていく細菌・原虫の弱毒生ワクチンにも適用しようとする試みがある^{1,12,19)}。なお、米国では現在、9 種類の卵内接種用ワクチン（IBD, MD, FP, ND, ILT, レオウイルス感染症、コクシジウム症のそれぞれの単味あるいは混合）が市販されている。

また、遺伝子組換え植物による経口型のワクチンなど粘膜ワクチンの開発の方向性も、ワクチン接種による鶏へのストレスの軽減化や作業の効率化につながるものと考えられる。

(b) アジュバントの開発：注射用ワクチンのアジュバ

ントについては、現行のオイルアジュバントでも十分に有効性を担保しうるものであるが、副反応がより穏やかでかつ長期間の有効性持続が得られるだけでなく、細胞性免疫を誘導する活性を有したアジュバント成分や組成の検討が行われている。また、粘膜アジュバントとして、毒素、核酸、サイトカイン、脂質、ポリペプチド、リポソーム等が知られているが、さらに安全かつ有効な新たなアジュバント候補の模索が行われている^{2,3,15)}。

(c) 遺伝子組換えワクチン：ワクチン開発に遺伝子組換え技術を応用することで、開発する側にとっては、病原性遺伝子を欠損させた株の作出などワクチン開発期間の短縮や培養が困難な病原体に対するワクチン開発が可能になるなどの利点があり、使用者にとっても、高い安全性（細菌由来成分による副作用の低減等につながるコンポーネントワクチン、弱毒生ワクチンよりも安全性および変異の懸念の少ないウイルスベクターワクチンなど）やワクチン接種の省力化（ウイルスベクターを用いた多価化や遺伝子組換え植物による経口投与型のワクチンなど）などのメリットが期待される¹⁹⁾。

ワクチン開発の方向性として遺伝子組換え技術を応用した弱毒生ワクチンの構築やベクターワクチンの開発が展開されているが、近年では、対象をウイルスだけでなく細菌・原虫といった微生物にも応用していくことが試みられている。また、遺伝子組換え技術を用いて感染防御に関与する抗原遺伝子や免疫活性に関与するタンパク遺伝子を特定し、それらを不活化ワクチンの免疫原やDNA ワクチンに応用することが加速していくと予想される。これらの結果として、混合製剤のより多価化が進んで利便性が向上するだけでなく、低価格化にも波及していくことが考えられる。

また、遺伝子組換えワクチンの開発では、特定の遺伝子のみを部分的に欠損させることができる遺伝子組換え技術を駆使して、カルタヘナ法での遺伝子組換え体に該当しないナチュラルオカレンスやセルフクローニングといった概念の弱毒ウイルスおよび弱毒細菌生ワクチンの研究開発が進められている。

(d) 粘膜ワクチン：不活化抗原を用いた粘膜ワクチンがすでに市販されていることから、今後も同様に粘膜免疫を期待する不活化ワクチンの開発が進んでいくと予想される。粘膜投与型のワクチンは注射型と比べて、接種作業の省力化、鶏へのストレス軽減化に繋がり、さらには肉用鶏への不活化ワクチンの適用の可能性が広がるものと期待される。また、ジャガイモやコマなどの植物に遺伝子組換え技術によりワクチン抗原を発現させたものを経口的に摂取することで免疫を付与させる「食べるワ

クチン」の研究が進められ、AI ウイルスやIB ウイルスなどを抗原としたものなどが研究報告されている^{5,18,20)}。飼料と同様に与えることで、ワクチン接種による鶏へのストレスや労力が飛躍的に改善し、ワクチン接種の省力化等においてのメリットも大きく、新しいワクチンとして実用化が注目される。

これら現状のワクチン開発の方向性は、何れも新規な病原体への効果を示すものではなく、これまでのワクチンと比べて飛躍的な有効性を付与するものでもない。しかし、養鶏産業における生産性の更なる向上や進歩する飼養管理方法への適応性を見据えたものであり、その方向性は流動的でありながらも常に多岐に亘っている。

おわりに

ワクチンに期待される役割は、疾病予防に留まらず、経済的損失の軽減や公衆衛生上の付加価値など多岐にわたる。一方、ワクチンには、対象動物に対する安全性のみならず食品を介した人への安全性、さらには環境への影響なども評価され、開発において求められる要件は高いものとなっている。新しいタイプのワクチンが製剤化されるに際しては、種々の規制をクリアするため多大な時間やコストをかけ、さまざまな試験が必要となるが、それにより承認され実用化された製剤は、これらの試験成績に実証されさまざまな観点からその品質が評価されたものである。1989年に国内ではじめて承認された油性アジュバントのワクチンが、現在では不活化ワクチンの主流を占めつつあるように、本稿で紹介した新たなタイプのワクチンも、野外応用での実績を積み重ね再評価されることにより、今後のワクチン開発における新たな方向性となることが期待される。

文 献

- 1) Clark, J.D. *et al.*: A toolbox facilitating stable transfection of *Eimeria* species. *Mol. Biochem. Parasitol.* 162, 77-86 (2008)
- 2) Gerdtts, V. *et al.*: Mucosal delivery of vaccines in domestic animals. *Vet. Res.* 37, 487-510 (2006)
- 3) 萱室裕之: 新規粘膜ワクチンアジュバントとしての機能性サイトカインの開発. *Drug Delivery System* 25, 22-28 (2010)
- 4) 厚生労働省: 厚生労働省関係審議会議事録等, 薬事・食品衛生審議会生物由来技術部会 (2008年4月23日) http://mhlw.go.jp/stf/shingi/2r985200000008fcs.html#shingi21_hann
- 5) 三好幸広ら: 組換え植物を用いた経口投与型鳥インフルエンザワクチンの免疫学的評価. 第150回日本獣医学会学術集会講演要旨集 p. 243 (2010)
- 6) 内閣府食品安全委員会: 動物用医薬品評価書「ニューカッスル病・マレック病 (ニューカッスル病ウイルス由来F蛋白遺伝子導入マレック病ウイルス1型) 凍結生ワクチン (セ

- ルミューン N)」(2009)
- 7) 中村成幸: 最近の鶏病ワクチンの開発と今後の展開 1) 鶏病ワクチンの過去・現在・未来. 鶏病研報. 44, 166-170 (2008)
 - 8) Nakamura, T. *et al.*: Protective effect of oral administration of killed *Haemophilus paragallinarum* serotype A on chickens. *Avian Dis.* 38, 289-292 (1994)
 - 9) 農林水産省: 欧州における家畜の粘膜免疫ワクチン開発に関する研究動向調査. <http://www.saffrc.go.jp/docs/kankoubutu/foreign/pdf/53.pdf>, 海外調査資料 53 (2009)
 - 10) Ozawa, M. *et al.*: Antimicrobial susceptibilities, serogroups, and molecular characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* isolates in Japan. *Avian Dis.* 52, 392-397 (2008)
 - 11) Pierce, N.F. and Sacci, J.B. Jr.: Enhanced mucosal priming by cholera toxin and procholeraenoid with a lipoidal amine adjuvant (avridine) delivered in liposomes. *Infect. Immun.* 44, 469-473 (1984)
 - 12) Roland, K., Curtiss, R. III and Sizemore, D.: Construction and evaluation of a delta cya delta crp *Salmonella typhimurium* strain expressing avian pathogenic *Escherichia coli* O78 LPS as a vaccine to prevent airsaccuulitis in chickens. *Avian Dis.* 43, 429-441 (1999)
 - 13) 坂口正士: 最近の鶏病ワクチン開発と今後の展開 5) 鶏用遺伝子組換えワクチン開発の現状. 鶏病研報. 44, 179 (2008)
 - 14) 関口秀人, 小佐々隆志, 牧江弘孝: 日本における動物用ワクチンの現状 (総論). 日獣会誌 63, 234-241 (2010)
 - 15) 谷本武史: 経鼻吸引型インフルエンザワクチンの開発. *Drug Delivery System* 25, 15-21 (2010)
 - 16) The Center for Food Security&Public Health: Vaccines; Mexico. http://www.cfsph.iastate.edu/Vaccines/country_list.php?country=93&lang=en
 - 17) Yaguchi, K. *et al.*: Vaccination of chickens with liposomal inactivated avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) vaccine by eye drop or coarse spray administration. *Avian Dis.* 53, 245-249 (2009)
 - 18) 幸 義和, 清野 宏: MucoRice; コメ発現システムを応用した経口ワクチン開発. *Jpn. J. Clin. Immunol.*, 31, 369-374 (2008)
 - 19) Zhang, X. *et al.*: Improving *Salmonella* vector with *rec* mutation to stabilize the DNA cargoes. *BMC Microbiol.* 11, 31 (2011)
 - 20) Zhou, J. Y. *et al.*: Generation of the transgenic potato expressing full-length spike protein of infectious bronchitis virus. *J. Biotechnol.* 111, 121-130 (2004)

Current Development of Vaccines for Poultry in Japan

The Japanese Society on Poultry Diseases

C-101 Sun Village Kawamura, 1-21-7 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-0857, Japan

Summary

In poultry production, vaccination has been used both to protect flocks from microbial infections and to reduce the use of antibiotics in farms and thus ensure food safety and hygiene of poultry meat and eggs. Since the development of vaccines against major infectious diseases in poultry, the target of vaccine development has been to improve efficiency, efficacy, and safety. To meet these demands, genetic modification of vaccine strains and the addition of new adjuvants that can induce effective immune responses have been applied. In this article, we introduce two types of vaccines that were recently approved; a genetically modified live vaccine and a mucosal vaccine with inactivated antigens. We also describe the approval process of developed vaccines, and the future prospects and direction of vaccine development.

(J. Jpn. Soc. Poult. Dis. 49, 21-30, 2013)

Key words : development, genetically modified organism, mucosal, vaccine