移行抗体保有豚に対するオーエスキー病ウイルス

弱毒生ワクチンの有効性

柴田 勲 宇留野勝好 鮫ヶ井靖雄

西村雅明 大田峻二

全農家畜衛生研究所（佐倉市大蛇町7，〒285）

（平成5年1月18日受付・平成5年3月19日受理）

Efficacy of an Attenuated Aujeszky's Disease Virus Vaccine for Pigs with Maternal Antibodies

Isao SHIBATA, Katsuyoshi URUNO, Yasuo SAMEGAI, Masaaki NISHIMURA and Shunji OHTA
Zen-Noh Institute of Animal Health Sakura-shi, Chiba-ken 285, Japan

SUMMARY

An attenuated Aujeszky's disease virus (ADV) vaccine with deletions in thymidine kinase and glycoprotein-gⅢ genes was evaluated in pigs with maternal antibodies. Fifteen 7-week-old pigs were vaccinated intramuscularly with one dose of the vaccine, and challenged intranasally with a virulent strain of ADV 4 weeks after vaccination together with 5 non-vaccinated pigs of the same age. Maternal antibody titers ranged from 8 to 128 at the time of vaccination. Following vaccination, there was no increase in antibody titer. After challenge exposure, the vaccinated pigs developed no clinical signs except for fever. On the other hand, two of the control pigs developed mild clinical signs such as reduced appetite and nasal discharge. The duration of fever and viral shedding of the vaccinated pigs were reduced compared with non-vaccinated pigs. Mean weight gain of the vaccinated pigs was higher than that of the non-vaccinated pigs at 1 week post-challenge. Efficacy of the vaccination showed a tendency to decrease with increasing maternal antibody levels at the time of vaccination. Serum neutralizing antibody titers in the vaccinated pigs, especially those with low maternal antibodies at the time of vaccination, increased rapidly after challenge.

—Key Words : Aujeszky's disease virus, efficacy, maternal antibodies, vaccine.

-----J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 46, 565~568 (1993)

要 約

移行抗体保有豚に対する糖蛋白 gⅢおよびチミジンキナーゼ遺伝子欠損オーエスキー病ウイルス生ワクチンの有効性について検討した。7週齢の移行抗体保有豚15頭にワクチンを1ドーズ筋肉内接種し、4週後に強毒株で鼻腔内攻撃した。ワクチン非接種対照群は同週齢の移行抗体保有豚5頭とした。ワクチン接種時の移行抗体価は中和抗体価で8~128倍でワクチン接種後の抗体価の上昇は認められず、攻撃時の抗体価は2~32倍であった。攻撃後、免疫群では元気消失、食欲不振等を認めず、対照群と比較して発熱期間が短縮され、攻撃後1週目の平均増体重量も多かった。さらに、ほとんどの免疫群の豚でウイルス排泄期間の短縮が認められた。ワクチンの防御効果はワクチン接種時の移行抗体価が低いほど顕著な傾向を示し、攻撃後の抗体価も急激に上昇する傾向が認められた。

—キーワード：オーエスキー病ウイルス、有効性、移行抗体、ワクチン。

-----日獣会誌 46, 565~568 (1993)

昭和56年にオーエスキー病(AD)がわが国で初めて確認されて以来、発症豚および抗体陽性豚の摘発ならびに淘汰を基本とした清浄化対策が図られてきた。平成3年からは本病が発生または浸潤している地域に限って生ワクチンの使用が可能となった。AD清浄化のためにワクチンを使用する場合、野外ウイルス感染豚をワクチン接種豚と区別して摘発し淘汰する必要があるが、現在使用されているワクチンは野外ウイルス感染抗体とワクチン

抗体を識別できる特徴を有している。

われわれは前報でこれらのワクチンの1つである糖蛋白 gⅢ・チミジンキナーゼ(TK)遺伝子欠損オーエスキー病ウイルス(ADV)弱毒生ワクチンの安全性と有効性について報告した⁹⁾。今回、自然感染母豚から産まれた移行抗体保有豚に対する本ワクチンの有効性について検討した。

移行抗体保有豚に対する AD 生ワクチンの有効性

表1 移行抗体保有豚免疫試験：試験豚の攻撃後の臨床症状、発熱、ウイルス排泄および中和抗体価

区 分	豚番号	臨床 ¹⁾ 症状	発熱 ²⁾		ウイルス ³⁾ 排 泄	中 和 抗 体 価									
			+	+		ワクチン接種後週数					攻 撃 後 週 数				
						0	1	2	3	4	1	2	3	4	5
ワクチン 接 種 群	A25	—	2	0	2	8	8	4	4	2	≥4096	≥4096	≥4096	≥4096	≥4096
	A34	—	4	0	2	8	8	4	4	4	≥4096	≥4096	≥4096	≥4096	≥4096
	A39	—	3	2	2	16	8	4	4	4	≥4096	≥4096	≥4096	≥4096	4096
	A23	—	4	0	3	16	8	8	8	4	256	≥4096	≥4096	≥4096	≥4096
	A36	—	4	0	3	16	8	8	8	8	128	512	2048	2048	2048
	A22	—	4	0	2	32	16	16	16	8	128	1024	2048	2048	4096
	A21	—	4	0	3	32	16	16	16	16	256	2048	≥4096	2048	4096
	A31	—	3	2	3	32	32	16	16	16	2048	2048	2048	1024	1024
	A28	—	1	4	2	64	32	16	16	16	512	1024	4096	2048	2048
	A32	—	2	3	3	64	16	16	16	16	1024	2048	1024	1024	1024
	A24	—	3	2	2	64	32	32	16	16	16	512	512	512	1024
	A37	—	2	4	3	64	32	32	32	16	32	512	2048	4096	2048
	A38	—	4	0	3	64	32	32	32	32	128	512	2048	2048	1024
	A29	—	5	1	3	128	32	32	32	32	32	2048	2048	2048	2048
	A27	—	5	1	6	128	64	64	32	32	16	64	256	512	512
対 照 群	A30	+	6	3	4	16	8	8	8	4	8	512	2048	2048	1024
	A35	—	3	5	6	16	8	8	8	4	4	256	512	1024	2048
	A26	—	6	4	4	16	16	8	8	8	4	128	256	512	1024
	A40	+	5	3	6	16	16	8	8	8	4	64	128	512	512
	A33	—	4	4	4	64	32	32	16	16	16	32	64	128	256

¹⁾ —：異常を認めず +：軽度の食欲不振または鼻汁流出

²⁾ +：40.0℃以上 41.0℃未満 ++：41.0℃以上

数字は各区分の発熱が認められた日数を示す。

³⁾ 鼻汁からウイルスが回収された回数を表す。ウイルス回収は攻撃後2週間、隔日に実施した。

材 料 お よ び 方 法

材 料

試験には豚腎臓由来の CPK 細胞を使用した。培養条件は前報の方法⁹⁾に従った。攻撃ウイルスには農林水産省家畜衛生試験場より分与された ADV 山形 S 81 株を使用した。また、使用した市販の AD 生ワクチン*のウイルスは糖蛋白 gⅢおよび TK 遺伝子が欠損している⁶⁾。

供試豚は ADV 抗体陽性母豚から生まれた3週齢子豚20頭を無菌空調の実験感染施設に搬入し、7週齢まで鼻汁からのウイルス分離と抗体測定を毎週実施し、ADV 感染のないことを確認後、供試した。

方 法

有効性試験は7週齢豚20頭のうち15頭にワクチンの1ドーズ(2ml)を筋肉内接種し、残り5頭はワクチン非接種対照豚とした。ワクチン接種後4週目に山形 S 81 株の 10^{6.6}TCID₅₀を全頭の鼻腔内に接種し攻撃した。攻撃後、一般臨床症状の観察、体温の測定(2週目まで毎日)、経時的に体重測定および血清採取を行った。また、攻撃後2週目まで隔日鼻汁を採取しウイルス回収を

実施した。

鼻汁からのウイルス回収は前報⁹⁾の方法に従って実施した。

中和試験は2倍階段希釈した非動化被検血清に等量のウイルス液(約200TCID₅₀)を加え、37℃、24時間処理後、マイクロプレート培養CPK細胞に0.05ml/ずつ接種し、維持培養液を0.05ml/ずつ加え、37℃で7日間培養しCPEを観察した。中和抗体価は前報⁹⁾の方法に従って示した。

成 績

臨 床 症 状

攻撃後、ワクチン接種群では元気消失、食欲不振等の異状は認められなかったが、対照群では軽度の食欲不振と鼻汁の流出が各1頭認められた。発熱期間は対照群の8～10日間に対し、ワクチン接種群では2～6日間と短縮され、その程度も軽減された。ワクチン接種時および攻撃時の抗体価が低いほど発熱期間の短縮および程度の軽減効果は顕著な傾向を示した(表1)。平均増体重は攻撃後1週目でワクチン接種群が対照群に比べ多かった(図1)。増体重とワクチン接種時の移行抗体価のレベルとの関係は認められなかった。

* AD生ワクチン「ゼンノウ」〔オムニマーク〕：(株)科学飼料研究所

図1 攻撃後の平均増体重の推移

ウイルス回収成績

鼻汁へのウイルス排泄は攻撃後隔日にウイルス分離を試みた結果、対照群では4～6回ウイルスが分離されたのに対し、ワクチン接種群では2～3回で明らかにウイルス排泄期間が短縮された（表1）。ただし、ワクチン接種時の移行抗体価が128倍の2頭中1頭（A27）は対照群と差がなく6回分離された。

中和試験成績

ワクチン接種後の抗体上昇は全ての豚で認められず、ワクチン接種群の抗体価は対照群と同様に攻撃時まで徐々に低下した。攻撃後、ワクチン接種群では対照群に比べ急激な抗体上昇が認められ、ワクチン接種時の移行抗体価が低いほど急激に上昇する傾向がみられた。

考 察

移行抗体を保有する7週齢の豚を用いて糖蛋白gⅢ・TK遺伝子欠損弱毒生ワクチンの有効性を検討した結果、強毒ウイルス攻撃による発症を抑え、ワクチン非接種豚と比較して発熱の軽減および発熱期間の短縮等の免疫効果が認められた。この発熱抑制効果はワクチン接種時の移行抗体価が低いほど顕著な傾向を示した。さらに、体重の増加量も攻撃後1週目においてワクチン接種群が対照群より多かった。ワクチン接種群における鼻汁へのウイルス排泄期間の短縮はワクチン接種時の移行抗体価が64倍以下の豚で認められ、128倍の豚では2頭中1頭は短縮されたが他の1頭は対照群と差がなかった。

ADワクチン接種後の能動免疫の発現には移行抗体価のレベルが重要な因子であることが知られており^{8,10}、AD陽性農場においてワクチネーションにより本病を防御するうえで重要な問題と考えられる。移行抗体保有豚に対するワクチン接種については、その接種経路が種々検討されている。すなわち、移行抗体保有豚では生ワクチンを筋肉内接種するより鼻腔内接種の方が移行抗体の影響を受けにくく、効果が高いと報告されている^{1,4}。DE LEEUWら²は移行抗体価の低い豚では不活化ワクチ

ンを1～2回筋肉内接種するより生ワクチンを鼻腔内接種するほうが防御効果の高いことを報告し、同様の成績が中程度の移行抗体価の豚においても認められている¹³。さらに、VAN OIRSCHOT¹¹は移行抗体価の高い豚においても鼻腔内接種は筋肉内接種より高い効果を認めたが、移行抗体価が高くなるとその有効性が低下することを報告した。このように移行抗体価の低い豚に対するワクチン接種経路は筋肉内より鼻腔内の方が効果の高いことが報告されている。しかし、鼻腔内接種の問題点としてワクチン接種後一定期間、ワクチンウイルスの鼻汁への排泄が認められていることから^{4,11,12}、ワクチンウイルスが同居感染を起こす可能性がある。さらに報告⁵されているように野外の強毒ウイルスとの組み換えウイルスが産生される危険性が考えられる。

今回の試験においてはワクチン接種後の抗体上昇は認められなかったにもかかわらず、ワクチン接種の有効性が確認された。今回の結果と同じようにワクチン抗体の能動的な産生が移行抗体により抑制されるにもかかわらず、効果が認められることは既に他の生ワクチンについても報告されている^{11,14}。また、今回、発熱抑制効果は攻撃時の抗体価が低いほど顕著な傾向を示した。これらの結果は生ワクチンの防御効果を評価する場合、抗体価は指標にはならないというこれまでの報告と一致する^{2,3,7,13}。前報⁹で、本ワクチンの防御効果はワクチン接種後4～7日目のまだ血中抗体が検出されないときに認められることを示した。したがって、ワクチンの防御効果は細胞性免疫、インターフェロンなどによるものと推察される。

今回の試験において移行抗体価128倍以下の豚ではワクチンによる発症防御効果が、また64倍以下の豚では攻撃ウイルスの排泄期間の短縮効果が認められたが、ワクチン接種時の移行抗体価が高くなるに従って有効性の低下傾向が認められた。なお、128倍以上の高い移行抗体を保有する豚におけるワクチンの有効性については今後の検討課題である。野外陽性農場では母豚および子豚ごとの移行抗体価のバラツキの大きいことが多く、一律に子豚のワクチン接種時期を決めることは困難である。したがって、移行抗体保有豚に対してワクチンを使用する場合、個体ごとあるいは母豚ごとの抗体価を測定し子豚のワクチン接種時期を決めることが、ワクチンの免疫効果を確実に子豚に付与するためには重要である。しかし、野外で全ての豚の抗体価を測定することは困難である。いっぽう、移行抗体価の高い豚では生ワクチンを2回接種することにより効果がより確実に得られることが報告されている¹¹。したがって、本ワクチンも移行抗体保有豚群に対して使用する場合、2回接種することによりワクチンの防御効果がより確実に得られるものと考え

引用文献

- 1) ARELLANO PE, MORRISON RB, MOLITOR TW et al : J Am Vet Med Assoc, 200, 685-691 (1992)
- 2) DE LEEUW PW, VAN OIRSCHOT JT : Res Vet Sci, 39, 34-38 (1985)
- 3) DE LEEUW PW, VAN OIRSCHOT JT : Vet Quarterly, 7, 191-197 (1985)
- 4) DE LEEUW PW, WIJSMULLER JM, ZANTINGA JW et al : Vet Quarterly, 4, 49-56 (1982)
- 5) HENDERSON LM, LEVINGS RL, DAVIS AJ et al : Am J Vet Res, 52, 820-825 (1991)
- 6) KIT S, SHEPPARD M, ICHIMURA H et al : Am J Vet Res, 48, 780-793 (1987)
- 7) McFERRAN JB, McCracken RM, Dow C : Aujeszky's disease, WITTMANN G et al, Curr Top Vet Med Anim Sci, 17, 163 - 170, Martinus Nijhoff Publishers, London (1982)
- 8) Pensaert MB, VANDEPUTTE J, ANDRIES K : Res Vet Sci, 32, 12-16 (1982)
- 9) 宇留野勝好, 柴田 勲, 鮫ヶ井靖雄ほか : 日獣会誌, 45, 312-316 (1992)
- 10) VANNIER P : Am J Vet Res, 46, 1498-1502 (1985)
- 11) VAN OIRSCHOT JT : Res Vet Sci, 42, 12-16 (1987)
- 12) VAN OIRSCHOT JT : Vet Microbiol, 27, 103 - 113 (1991)
- 13) VAN OIRSCHOT JT, DE LEEUW PW : Vet Microbiol, 10, 401-408 (1985)
- 14) WRIGHT JC, THAWLEY DG, SOLORZANO RF : Can J Comp Med, 48, 184-191 (1984)

動物用医薬品

共済薬価基準表収載品

下痢の予防と治療に!! 動物用ミヤリサン®

効能・効果

下痢における症状改善
消化器疾患、消化器衰弱、食欲不振
における症状改善

包装 500g (50g×10包)

ミヤリサン株式会社

東京都北区上中里1丁目10番地
〒114 TEL(03)3917-1191