

## IBワクチネーションについて

### はじめに

鶏のワクチネーションにおいて、最も難しいのはIBワクチンの選択ではないでしょうか。

現在、国内で販売されている生ワクチンはNB混合生ワクチンを含めて22製剤、13株あります。また不活化ワクチンは7所社から販売されており、合わせて8種類の株が用いられています。それぞれの株は複数の血清型、遺伝子型に分類されており、覚えるのも大変ですので、まとめて表1に示します。

農場でそれらのワクチンをどのように使う/組み合わせるかについては、メーカーや研究者のそれぞれの主義・主張が異なるため、混乱を招いている場合があります。例えば、近縁な株を並べて効果を確認すれば、「様々な株に効果がある」ように見えるのは当たり前です。様々な野外株を用いる場合は、様々な血清型の野外株を用いなければ、ワクチンの交差防御能が高いとは言えませんが、そこが曖昧のまま交差性が高いとの話になっていることがあるようです。またIBV感染の可能性のある農場で、その野外株の血清型を調べないままワクチン株を変更することは、最も非効率で危険なことです。ロットでも効果がないばかりか、ワクチン株と野外株で遺伝子組み換えを起こして新しい野外株が生じる恐れもあります。

そのような混乱に加えて、分離された野外株の血清型/遺伝子型が国内ワクチン株を用いた分類に合致しないこともしばしばあり、農場管理者や獣医師の先生はさらに頭を悩まされることになります。

しかし、ワクチンによるIB防御に関する基本的なことは明らかです。①野外株と同じ、あるいは近縁の血清型ワクチン株が最も有効であるということ、②異なる血清型のワクチンを組み合わせることで交差防御域が広がるということ、③不活化ワクチンの効果は生ワクチンの基礎免疫に影響されるということ、④不活化ワクチンは血中抗体を高く上げ、体内への侵入は防御できること、です。

この4点を念頭に置けば、大枠のワクチネーションの骨

子ができます。即ち、①農場に存在する野外株を把握する、②幼雛のワクチネーションは異なる血清型株で2回以上投与し、農場に野外株が存在する場合はそのうち1回は野外株と同じ血清型株を用いる、③生ワクチンと不活化ワクチンで同じ株または血清型株を用いる、④不活化ワクチン投与後も必要に応じて定期的に生ワクチンを投与する、です。

以上の基本からぶれないことが重要です。それを踏まえて、以下に更に詳しくIBワクチネーションに関する知見を解説したいと思います。

### 血清型と遺伝子型

現在、日本国内で発売されている生ワクチン株は7種類の血清型に分類されます。それぞれの株を用いて交差中和試験を行うと、それぞれで交差反応性が低いことから異なる血清型と定義されます(表2)。野外株の血清型を同定するときは、これらワクチン株抗血清を用いて野外株との中和試験を実施し、血清型あるいは血清型の傾向を決めます。野外株では一般に一つの血清型と同定されることの方が少なく、血清型Aとよく反応するが、血清型Bともそれなりに反応する、などという結果が多いようです。

遺伝子型は血清型を決定する領域であるS (スパイク)1蛋白の遺伝子やアミノ酸の相同性の比較から決定されます。日本国内のワクチン株および野外株は6種類のS1遺伝子型に分類され<sup>1)</sup>、それぞれの遺伝子型間の遺伝子配列の相同性は70-85%程度、遺伝子型内での株間の相同性は90%以上です。遺伝子型は血清型を決定する領域を用いているので、双方の一致率は高いと思われるかもしれませんが、弊所での検討や論文報告では、一致率は60-65%です<sup>2)3)</sup>。ワクチン株での血清型:遺伝子型の組み合わせは、マサチューセッツ:Mass、C78:JP I、TM86:JP II、AK01:JP III、4/91:4/91となります。しかし野外株で調べると、血清型はC78でも遺伝子型はJP IIなど、ワクチン株を用いた組み合わせと異なるケースが35-40%あるということです。遺伝子配列の僅かな違いが、それによって

組み立てられる蛋白質の構造を大きく変える場合があり、それが一致率が100%ではない理由かもしれません。最近、試験方法の簡便さから野外株を遺伝子型で判定するが増えています。遺伝子型は血清型を推測するツールとしては60-65%の精度であることを知っておいて頂けたらと思います。

## 血清型と防御

冒頭で述べた通り、ワクチンは同じ血清型の野外株に対して最も高い防御効果を発揮します。ただし、同じ血清型ほどではないまでも、異なる血清型に対してもある程度の交差防御効果はあります(表3)。残念ながら、広くかつ高い交差防御能を示すワクチン株というものはまだなく、血清型が違えば交差防御能はあくまでも“ある程度防御”になります。一方、ワクチンの免疫能が高い(抗体価が高い)場合は、交差防御能も高くなります。ちょうど、試験点数にゲタを履かせて合格及第点に達する人数を増やすのと同じです。ワクチンを実験室内で確実に投与し高い免疫能を獲得している場合は、野外株攻撃に対し“ある程度+ゲタを履かせた”交差防御効果があるため、“よく効く”実験結果になることもあり得ます。血清型の異なるワクチンで野外株を防御した報告が複数ありますが<sup>4) 5) 6)</sup>、そのような理由によるのかもしれませんが、野外で様々な阻害要因(大羽数飼育、暑熱寒冷によるストレス、ワクチン投与方法)のある中では、実験室内ほど効果の高い結果にはならないでしょう。野外で一般的に行われている飲水投与は、実験室内でよく用いられる点眼投与ほど高く確実な抗体応答は望めません。

まとめると、実験条件下でワクチンによる高い免疫能を獲得していれば、異なる血清型ワクチンでも防御できている場合もあるが、野外では同じ血清型ワクチンを用いることが第一、となります。

## 生ワクチンのコンビネーション

異なる血清型のワクチンを組み合わせて投与すると、幅広い交差防御/中和域を誘導することが確認されています。

弊所の実験では、初生散霧-21日齢飲水投与のスケジュールで初生に練馬株、21日齢にTM86株を用いた場合35日齢には練馬株、TM86株はもとよりAK株およびそれ以外の血清型A株に対する抗体も発症防御レベル以上に達しました。ワクチンコンビネーション投与群の血清抗体価は4種類の血清型すべてについて、35日齢には感染防御レベルの目安となる10倍を超えています。Cookらは、Ma5株および4/91株ワクチンのコンビネーションを検討し、初生にMa5株、2週齢に4/91株を投与することで2株の抗体価を最も高く誘導したことを報告しています(逆の組み合わせではMa5の抗体上昇が抑制されました<sup>4)</sup>。Witらは、ワクチン株のいずれとも異なる野外株D388株に

対する防御効果を様々な組み合わせで検討し、初生でMass+D274の2株の混合ワクチン、2週齢に793Bの組み合わせが最も防御効果が高かったことを報告しています<sup>7)</sup>。いずれの試験でも、最初の投与がマサチューセッツ型(練馬株、Ma5株、Massはマサチューセッツ型との記載あり)であることが共通しています。

これらのことから、組み合わせ次第でワクチンの交差防御能に差があることが分かります。これらの報告はいずれも実験室内試験であり、実際のワクチネーションとは異なりますので、そのまま野外応用は出来ないかもしれませんが、組み合わせの中にマサチューセッツ型を含むことと、その後に他の血清型を用いること、この2点だけは確実に広い交差防御/中和域を誘導する方法と言えると思います。IBの発生がない農場で予防的にワクチネーションを組む場合は参考になると思います。

なお、野外感染あるいは農場に野外株が常在している場合は、野外株と同じ血清型を使用すべきであることは言うまでもないと思います。それに併せて、予防的にも広い交差防御域を誘導できる組み合わせを考えると良いでしょう。弊所の実験では、初生にTM株を用いた場合は追加にAK01株、初生にAK01株を用いた場合は練馬株を追加で用いると、最も広い交差域を誘導しました。

## オイルアジュバントワクチンの効果

### 血中抗体価

生ワクチンによって基礎免疫された鶏にオイルアジュバントワクチンを注射すると、ブースターがかかり抗体価が上昇します。オイルアジュバントワクチン投与後に抗体価が二桁上昇することもめずらしくありません。また、オイルアジュバントによる高い抗体価は長く持続します。オイルアジュバントワクチンが開発、上市されて以降は、IBによる産卵異常が激減しました。IBVは呼吸器感染を経て血中へ入り、腎臓や卵巣に到達して障害を起こすと考えられています。オイルアジュバントワクチンによる高い血中抗体価は血中へ侵入するウイルスを中和するのに十分な量なのです。

ところで、オイルアジュバントワクチンを注射しているにも関わらず、注射後の抗体上昇が思わしくないとの経験はないでしょうか？オイルアジュバントワクチン注射後の抗体を効果的に上げるためには、基礎免疫の質が重要です。基礎免疫で十分な抗体価を保持していなければ(注射前抗体価で32倍程度はあることが望ましい)十分なブースター効果を得ることはできません。なおその際、基礎免疫のワクチン株とオイルワクチンの株が同じである方がオイルワクチン株の抗体価は高く上がります(図2)。

従って、オイルアジュバントワクチンの効果を最大限に引き出すためには、生ワクチンによる基礎免疫で十分な抗体価を持たせることと、生ワクチンとオイルアジュバントワクチンで同じ株を用いることがポイントです。

ましい)十分なブースター効果を得ることはできません。なおその際、基礎免疫のワクチン株とオイルワクチンの株が同じである方がオイルワクチン株の抗体価は高く上がります。

従って、オイルアジュバントワクチンの効果を最大限に引き出すためには、生ワクチンによる基礎免疫で十分な抗体価を持たせることと、生ワクチンとオイルアジュバントワクチンで同じ株を用いることがポイントです。

#### 局所免疫

オイルアジュバントワクチンでは前述の通り注射後の血中抗体価が高く上昇します。では、IBの侵入門戸である呼吸器官への感染に対してオイルアジュバントワクチンは効果があるのでしょうか？血中の抗体価は気管支などの局所粘膜面へは届きにくく、また、オイルアジュバントワクチンは局所免疫を誘導することができません。弊所の実験では、L-K法(初生L、21日齢L、70日齢K)でワクチネーションした鶏を50、100、150日齢に強毒株で攻撃しました。その結果、抗体価と攻撃後の気管からのウイルス回収量との相関が、50、100日齢では認められたのです

が、150日齢では全くありませんでした(投稿中)。即ち、不活化ワクチン投与後80日(生ワクチン追加投与後130日)経過すると血中抗体価は高くても気管支への感染を防ぐことはできなかつたのです(ただし、多くの個体で臨床症状は認められませんでした)。

近年、採卵鶏や種鶏で問題とされるIBは、呼吸器感染が起因となるストレスから産卵に影響を及ぼすケースが多いように思います。通常はオイルアジュバントワクチンの追加だけでその後は不顕性感染で済むのですが、ストレスなどが重なると、流行株の血清型の問題と相まって成鶏期でも発病に至った事例に時々出会います。そのようなことを防ぐためには成鶏後も定期的に生ワクチンを投与した方がいいのかも知れません。

#### 最後に

IBのワクチネーションは悩ましい問題ですが、これまで述べたような基本を押さえた上で、それぞれの農場で最適なワクチン選択ができるよう、本原稿がお役に立てれば幸いです。

表1 IBVワクチン株/野外株の分類:血清型とS1遺伝子型

生ワクチン	不活化ワクチン	血清型	S1遺伝子型
練馬 H120	練馬 ボーデット42		
北-1	M41	マサチューセッツ	Mass
KU	石田		
Ma5	滋賀		
ON	—	Gray	Gray
L2	—	コネチカット	Conn
C78	—		
GN	AO-27 GN-58	C78	JP-I
TM-86	TM-86	TM-86	JP-II
宮崎	宮崎		
AK01	—	AK01	JP-III
4/91	—	4/91	4/91
—	D274	D274	
—	—	—	JP-IV

青字:1997年以降、国内で野外株が分離されている血清型/遺伝子型

(鶏病研究会報, 46巻1号, 1-12, 2010に一部データ追加・改変)

表2 IBV5血清型参照株間の交差中和試験成績

株	血清型	各抗血清の中和指数				
		練馬	TM-86w	C-78	A5968	AK01
練馬	マサチューセッツ	<u>6.8</u> *	2.0	1.4	1.5	1.5
TM-86w	TM-86w	1.4	<u>5.4</u>	1.8	1.2	1.4
C-78	C-78	2.4	2.8	<u>3.4</u>	1.2	0.2
A5968	コネチカット	3.5	2.1	1.4	<u>5.0</u>	2.2
AK01	AK01	1.8	2.2	1.4	1.9	<u>5.2</u>

\* 中和指数:練馬株抗血清は練馬株ウイルスを $10^{6.8}$ 抑えるが、TM-86株は $10^{1.4}$ しか抑えないことを示す

下線:ホモ株間の中和指数

(アビテクトIB/AK製造販売承認申請書より作成)

表3 A株ワクチン投与鶏の野外分離株に対する防御効果

攻撃株群	攻撃時		発症防御 <sup>b)</sup>	
	平均中和指数 <sup>a)</sup>		スコア	発症防御率 <sup>c)</sup>
	A株	各攻撃株		
A株元株	3.60	-	3.00	100
野外株B	3.62	3.58	2.06	100
野外株C	3.85	0.60	0.70	60
野外株D	3.45	1.20	1.24	60

a)ワクチン投与鶏の攻撃時のA株および攻撃株に対する中和指数

b)ワクチン投与鶏の平均気管線毛運動スコア-非投与鶏の平均気管線毛運動スコア

c)攻撃後4日目に観察した個体あたりの気管リング6個のうち正常気管線毛運動3+が1個以上認められた場合を発症防御とした

(アビテクトIB/AK製造販売承認申請書より作成)

## 参考資料

- 1) Mase, M et al. Phylogenic analysis of avian infectious bronchitis virus strains isolated in Japan. Arch. Virol. 2004, 149, 2069-2078
- 2) Shimazaki, Y et al. Serological studies of infectious bronchitis vaccines against Japanese field isolates of homologous and heterologous genotypes. J. Vet. Med. Sci. 2009, 71, 891-896
- 3) Ariyoshi, R et al. Classification of IBV S1 genotypes by direct reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) and relationship between serotypes and genotypes of strains isolated between 1998 and 2008 in Japan. J. Vet. Med. Sci. 2010, 72, 687-692
- 4) Cook, J. K. A et al. Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis vaccines against challenge with infectious bronchitis viruses of heterologous serotypes. Avian Pathology. 1999, 28, 477-485
- 5) Sun, C et al. Phylogenetic analysis of infectious bronchitis coronaviruses newly isolated in China, and pathogenicity and evaluation of protection induced by Massachusetts serotype H120 vaccine against QX-like strains. Avian Pathology. 2011, 40(1), 43-54
- 6) Wood, M. K et al. Massachusetts live vaccination protects against a novel infectious bronchitis virus S1 genotype DMV/5642/06. AVIAN DISEASE. 2009, 53, 119-123
- 7) Wit, J. J. et al. Induction of cystic oviducts and protection against early challenge with infectious bronchitis virus serotype D388 (genotype QX) by maternally derived antibodies and by early vaccination. Avian pathology. 2011, 40(5), 463-471