

研 究 主 論 文 抄 録

論文題目 鶏アデノウイルスおよびニューカッスル病ワクチンに関する研究
(Researches on Fowl Adenovirus Infection and Newcastle Disease Vaccine)

熊本大学大学院自然科学研究科 複合新領域科学専攻 生命環境科学講座
(主任指導 安部眞一 教授)

論文提出者 太田秀幸
(Hideyuki Ohta)

主論文要旨

《本文》

鶏アデノウイルス (FAV: Fowl adenovirus) は世界各地の鶏群に浸潤し、12 の血清型が報告されている。一般に FAV の病原性は低く、不顕性感染が多いものの、封入体肝炎あるいは心膜水腫症候群の原因となり被害を招くことがある。このほか産卵低下、増体重抑制あるいは呼吸器症状の一因としても考えられている。いっぽう、近年 FAV による筋胃びらんが注目されている。わが国では 1993 年に採卵鶏での発生事例が最初の報告例となっており、1998 年以降に肉用鶏での事例が続いて報告され、砂ずりの確保に支障が生じた。さらに、2001 年には 17 日齢の若齢肉用鶏ひなにおける発生例が報告された。しかしながら、FAV の病原体としての役割はいまだ不明であり、FAV による筋胃びらんの機序もほとんど解明されていない。

そこで本研究では野外発生事例からの分離ウイルスを用いた特定病原体不在鶏および移行抗体保有鶏での病変再現試験、そして全国血清疫学調査を実施した。さらに、血清型 1 の FAV 迅速診断法開発のためにモノクローナル抗体の作出を試み、また血清型 1 の FAV 宿主レセプター解明のために筋胃タンパク質中に血清型 1 の FAV に結合するタンパク質が存在するかどうかを確認した。

その結果、鹿児島県内の食鳥処理場で見つかった肉用鶏筋胃びらん材料から血清型 1 および 8 の FAV を分離し、血清型 1 の FAV では病変が再現されることを確認した。その後、斃死を伴った 2~3 週齢若齢鶏ひなでの FAV による筋胃びらん発生事例からも同様に血清型 1 の FAV が分離されたので、農場周辺における血清疫学調査および移行抗体保有鶏ひなでの再現試験を実施した。血清疫学調査から、周辺農場での FAV 汚染率は遠隔農場でのそれより高いことが確認された。当該事例から分離された血清型 1 の FAV および食鳥処理場材料から分離された血清型 1 の FAV を用い、若齢の移行抗体保有肉用鶏ひなでの実験感染を試みたところ、移行抗体の高低に関わらず、両 FAV 感染による筋胃びらんが再現され、両株とも同程度の病原性を示した。このことから、臨床的に気付かれ

ない若齢での FAV 感染による筋胃びらんが野外で発生している可能性があると思われた。

次に分離ウイルスがどの程度国内に浸潤しているかどうかを調べるために全国での血清疫学調査を実施した。その結果、血清型 1 および 8 のいずれも地域性はなく全国的に分布していた。このことから同様のウイルスが国内に広く浸潤していると思われた。

今後、筋胃びらんが発生した際に FAV の血清型を早急に診断する必要がある。従来 FAV の血清型同定は寒天ゲル内沈降反応試験では交差反応性のためにできないことから、一般に中和試験により実施されている。しかしながら、中和試験は試験開始から判定までに約 1 週間を要することから、迅速診断法の開発が急務であった。そこで血清型 1 の FAV 迅速診断を目的とし、筋胃びらんを呈した鶏から分離された血清型 1 の FAV に対するマウスモノクローナル抗体 (Mab) の作製を試みた。その結果、血清型 1 の FAV のヘキソンと考えられる約 100kDa のタンパクを認識する Mab を 3 クローン得た。これらはすべて血清型 1 の FAV 抗原にのみ反応し他の血清型には反応しなかったことから、血清型 1 の FAV 迅速診断に応用できるものと思われる。

また、先述のとおり FAV による筋胃びらんの機序は解明されておらず、FAV に対する宿主のレセプターも同定されていない。したがって、筋胃びらんを引き起こす血清型 1 の FAV が結合するタンパク質が筋胃に存在するかどうかを確認した。その結果、血清型 1 の FAV が筋胃の約 200 kDa のタンパク質に結合することを確認した。今後このタンパク質がレセプターとしての役割を果たしているかどうかを検証する必要がある。

次に別テーマとして、卵内注射用ニューカッスル病ワクチンについて研究した。卵内注射用ワクチンの特徴としては、早期免疫の賦与、注射の機械化・自動化による省力化および均一で確実な注射が可能、ヒナへのストレス軽減などがある。これらの多くの利点を有することから、卵内注射用マレック病ワクチンは広く普及しているが、卵内注射用ニューカッスル病ワクチンはウイルスが鶏胚に対して致死的な影響を与えることから、いまだ開発されていない。そこで本研究において、生ウイルスをウイルス吸着剤に吸着・保持させることで卵内注射後のウイルス増殖を抑制し、鶏胚への病原性低下が可能であるかどうかを検討した。その結果、鶏胚に対する安全性を高めることに成功した。本手法の応用により卵内注射用生ワクチンとして開発が困難であった多くの生ウイルスにおいても卵内注射用ワクチン開発が期待される。