



# 岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

## 超強毒ウイルスによる致死型鶏伝染性ファブリキウス嚢病の予防対策

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2008-03-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 平井, 克哉 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/123">http://hdl.handle.net/20.500.12099/123</a>

## ま え が き

本報告書は平成4年及び5年にわたり交付された文部省科学研究費補助金一般研究(C)「高い界面光機能を有する半導体薄膜の作成と有機合成への応用」(課題番号04650727)の研究成果をまとめたものである。

研究代表者等はこれまでに粉末光触媒を利用したいくつかの有機合成反応を試み、その中で酸化チタン粉末を光触媒として用いると、アゾベンゼン類から2-フェニルインダゾール及び1,2,4-トリフェニル-1,2,4-トリアゾリジンを合成できること等を見いだしてきた。それらの反応機構を検討する中で、これらの反応には光生成された正孔による酸化反応と電子による還元反応の両者が関与している可能性を推測した。一方、研究代表者等は半導体電極の光電気化学に関する研究を十数年来進め、多くの基礎的データを積み重ねてきた。これに基づき、粉末上で進行する上記の反応の機構の解析を行うと共に、粉末系と電極系との関連をより詳しく明らかにすることによって、界面光機能の高い半導体特に薄膜系を作成するための条件を明らかにし、さらにそのような硫化カドミウム薄膜を作成する試みをおこなった。本書はそれらの成果について記したものである。

平成6年3月

研究代表者 箕浦 秀樹

## 総 括

1990年の夏頃から、西日本を中心に死亡率の高い超強毒型ウイルスによる鶏伝染性ファブリキウス嚢病(IBD)が流行し始めた。我々は、超強毒型IBDの効果的な診断および予防策の確立を目的として、野外発生例から多くのIBDウイルスを分離し、病理学的、血清学的および分子遺伝学的解析を行った。

### 1. 病理学的解析

#### 1) 病原性

分離したIBDウイルスをSPF鶏に接種し、ウイルスの病原性と鶏体内での分布状況等を調べた。分離されたIBDウイルスは、これまでのウイルスとは異なり、高率に(30-70%)鶏を死亡させ、鶏に対する病原性の高いことが明らかになった。超強毒型IBDVの鶏貧血ウイルス(CAV)の感染に与える影響を調べたところ、超強毒型IBDVは、1)CAVの抗体産生を一過性に抑制するが、CAVによる発症は惹起しないこと、2)CAVに対する中和抗体存在下においてもCAVの持続感染を容易に成立させることが明らかになった。

#### 2) 病理所見

超強毒株及び従来型病原株感染鶏の病変を比較検討した。全ての株が同程度のBFの萎縮を引き起こしたが、超強毒株感染鶏にはF嚢・脚筋肉・線胃の出血と、F嚢以外に、胸腺・脾臓・骨髄・ハーダー腺・盲腸扁桃・肝臓等に従来型病原株よりも重度の病変が認められた。超強毒株感染雛のファブリキウス嚢病変は従来型病原株感染雛のそれに比べて重度で長期にわたって持続し、リンパ濾胞の再生が遅れた。また、超強毒株は従来型病原株に比べて胸腺重量指数の著しい減少をもたらした。超強毒株に特徴的な胸腺の病変に注目し、従来型病原株および超強毒株感染雛の病変を比較検討した。超強毒株感染雛には重度の胸腺皮質の萎縮がみられ、皮質リンパ球はアポトーシスの機構によって崩壊することが示唆された。ヨーロッパで分離されたDV86株によって引き起こされる病理学的変化は日本で分離された超強毒株によって引き起こされる変化とほとんど同一であった。

#### 3) ウイルス抗原の分布

IBDVの病理発生解明のため、超強毒株、従来型病原株、従来型馴化株の3種類のウイルスを雛に接種して、1週間にわたり4種類のリンパ組織(F嚢、胸腺、脾臓、骨髄)におけるそれぞれのウイルス力価、ウイルス抗原力価及びウイルス抗原分布を、ELISA及び免疫組織化学を用いて解析した。超強毒株及び従来株接種雛では、接種後1~3日で高力価のウイルスがF嚢に検出された。一方、従来型馴化株接種雛では、F嚢のウイルス力価は接種後3日目に最高に達した。超強毒株および従来型病原株接種雛の間に、F嚢及び胸腺におけるウイルス力価及び抗原力価に差は認められなかったが、それらの力価はいずれも従来型馴化株接種雛の場合よりも高かった。超強毒株接種雛では、従来型病原株よりも多数のウイルス抗原陽性細胞が脾臓と骨髄に検出された。一方、従来型馴化株接種雛の胸腺、脾臓、骨髄には、ウイルス抗原はほとんど検出されなかった。従って、IBDVの増殖及び病理発生には、F嚢だけではなく、脾臓や骨髄も関与していることが示唆された。超強毒株感染鶏由来の組織には、BFのリンパ球、マクロファージ、胸腺の上皮性細網細胞、脾臓の細網細胞またはマクロファージ、骨髄の単球の各々の細胞質内にウイルス粒子が認められた。

#### 4) まとめ

超強毒型IBDV感染鶏には、重度の症状及び高死亡率、BFと他のリンパ組織における重度のリンパ球減少、胸腺の萎縮、骨髓造血細胞の重度の減少、他臓器におけるマクロファージの増数が特徴的に認められた。超強毒株の病原性は、リンパ・造血臓器における病変形成と相関し、リンパ・造血臓器におけるウイルス抗原の分布と病原性との関連が示唆された。

#### 2. 抗原性状

超強毒株の抗原性状を交差中和試験および単クローン性抗体 (MAb)による中和試験により解析した。交差中和試験の成績から、1)超強毒株は、互いにほぼ同一の抗原性を有し、ヨーロッパの超強毒株ともよく交差すること、2)超強毒株は3株中2株の生ワクチンとも比較的よく交差することが明らかにされた。また、MAbによる中和試験で、超強毒株、従来型病原性株、ワクチン株の間に大きな抗原性の相異は確認されなかった。これらの成績から、超強毒株は2株の生ワクチンを含む従来型のウイルス株と抗原性が類似すると考えられた。一方、超強毒株を細胞に馴化した細胞馴化株を用いて交差中和試験を行ったところ、細胞馴化株2株は互いに高い交差率を示したが、ワクチン株を含む従来株との交差率はやや低かった。また、MAbによる中和試験で、細胞馴化2株は5種のMAbにほぼ同じ反応パターンを示したが、従来型の5株は、それぞれ細胞馴化株とは異なる反応パターンを示し、超強毒株の抗原性状が従来株とは若干異なることが示唆された。

#### 3. 分子遺伝学的解析

超強毒株分節Aのラージオープンリーディングフレーム(LORF)および分節BのVP1遺伝子の全塩基配列を決定した。超強毒株は、弱毒化によりLORFに5ヶ所のアミノ酸置換を生じ、このうち4ヶ所がVP2のアミノ酸変異領域に認められた。また従来株との比較で、VP2のアミノ酸変異領域、前駆蛋白質のプロセッシングに関与する部位、およびウイルスゲノムとの相互関係が推察されているVP1およびVP3のC末端付近に超強毒株特異的なアミノ酸配列が認められ、これら特異的なアミノ酸配列が超強毒株の致死病的病原性に関与している可能性が推察された。分節BのVP1遺伝子には、169ヶ所の超強毒株特異的な塩基配列が認められ、17ヶ所に特異的なアミノ酸配列が予測されたが、機能的に重要と考えられる領域に従来株との相異は認められなかった。決定した塩基配列から分子系統樹を作製したところ、超強毒株は従来株と同時期あるいは従来株以前に既に出現していた可能性が示唆された。

#### 4. 診断法

##### 1) ウイルス検出

鶏のリンパ系細胞に由来する4種類の培養細胞の野外ウイルスに対する感受性を調べた結果、LSCC-BK3が最も高い感受性を示した。この細胞を用いて測定した超強毒株の力価(TCID50)は、発育鶏卵を用いて測定した力価(EID50)と一致した。この培養系とIBDVの抗原検出系ELISAとの組み合わせで、多数の野外ウイルス材料を感度よく、検出することが可能となった。

##### 2) 遺伝子診断

塩基配列の解析から、超強毒株、ワクチン株および従来型病原株にそれぞれ特異的な制限酵素切断点が認められ、RT-PCR法と併せて迅速な診断・型別が可能になった。

## 5. ワクチンの検討

### 1) 現行ワクチンの効果

移行抗体を保有しない感受性鶏では、3種の供試生ワクチンはいずれも超強毒株に対して有効であったが、移行抗体保有鶏では中等毒生ワクチンが最も有効であった。弱毒生ワクチンの防御効果が移行抗体保有鶏で低下した原因は、移行抗体によってワクチン株のテイクが阻止されたことに起因しており、移行抗体保有鶏でもワクチンをテイクした鶏では、超強毒株の攻撃に対して防御効果が認められた。これらの成績から、いずれのワクチン株でもテイクされれば超強毒型IBDを予防できると考えられた。

### 2) 新ワクチンの作出

超強毒株を鶏胚で30代以上継代し、鶏胚馴化株およびCEF細胞で増殖が可能な馴化株を確立した。これら馴化株は十分に弱毒化されており、免疫試験において中和抗体が免疫後早期から認められ、超強毒型IBDVによる攻撃に対し既存のワクチンよりも早期に感染防御が成立した。これらのことから、超強毒株由来の鶏胚馴化および細胞馴化株は、超強毒株感染予防のための新しい生ワクチンとして極めて有望と思われた。