

日 生 研 報

第 67 卷 第 1 号(通卷 618 号) 2021 年(令和 3 年)1 月

挨拶・巻頭言

年頭のご挨拶……………長井伸也(2)

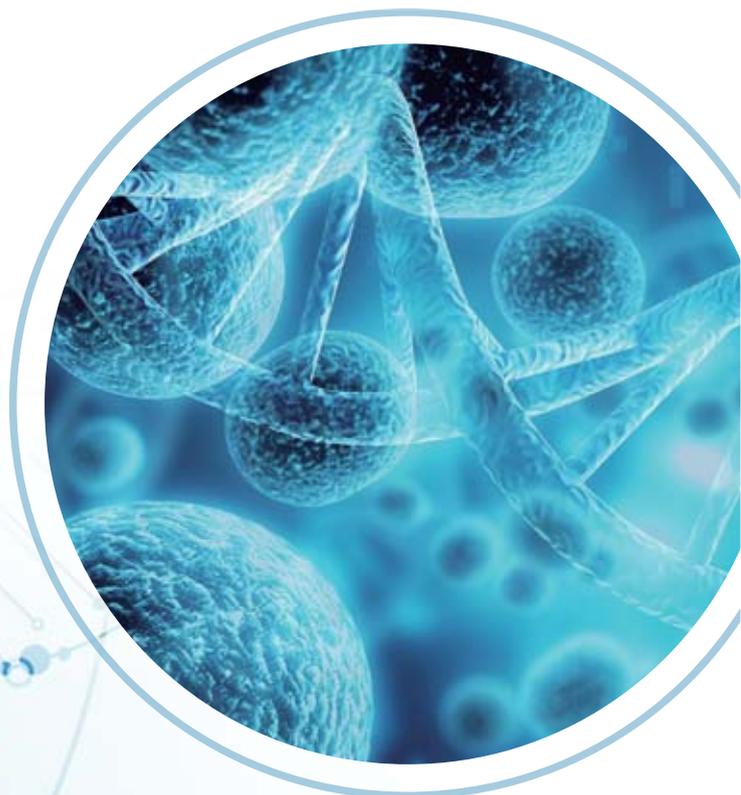
レビュー

魚類の細菌性感染症と水産用ワクチン
開発の展望……………加藤豪司(3)

豚繁殖・呼吸障害症候群 (PRRS)
ワクチン開発のこれまでとこれから
……………渡邊瑞季(10)

おしらせ

山手丈至評議員 日本獣医学会越智賞を
受賞……………(18)



年頭のご挨拶

長井伸也

謹んで新年のお慶びを申し上げます。皆様にはご健勝にて輝かしい新年をお迎えのことと存じます。2021年はぜひ幸多い年となりますことを心よりお祈り申し上げます。

昨年年初には、今年は東京オリンピックが開催され、その関係で海外交流もますます活発になり、わが国の経済もさらに弾みがつくだろうと予想しておりました。あにはからんや、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）によって、我が国のみならず、世界中が大混乱に陥るとは誰が予想できたでしょうか。人知を超えた事象が発生するリスクをいつも頭の片隅において行動・判断しなくてはならないことを痛感した1年でありました。

さて、私は1987年から2年間、研究プロジェクトの関係で国内のある医学系の研究所に派遣されておりました。その当時、当該研究所ではほとんどが癌と生活習慣病の研究に集中しており、感染症を扱う研究室は縮小の一途でありました。つまり、先進国ではもうヒトの感染症は克服された過去の病気であるという流れでした。そのような中、1980年代にはサルモネラ・エンテリティディスによる食中毒が各国で流行し、また日本でも1997年に堺市で学校給食に起因する腸管出血性大腸菌 O157 による集団下痢症が発生し、この現代に細菌感染症の再来？ と驚いたものでした。そしてその後、ノロウイルスや鶏および豚のインフルエンザなど、ヒトの健康を脅かす感染症が次々と発生し、そして極めつけは今回の新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の発生でありました。結局、ヒトの感染症は克服された病気ではなかったということが図らずも示されることとなりました。

では、新興・再興する人獣共通感染症の制御において、我々のような動物の感染症に携わるものの果たすべき役割は何なのでしょう？ 今回の新型コロナウイルスについては、大元はコウモリ由来なのかも知れませんが、人間界に侵入してくる前にマレーセンザンコウなどの哺乳動物を介していた可能性が示されています。残念ながら今回のケースでは動物の段階で感染を制御するだけの時間も情報もなく、気がついた時には既にヒト-ヒト感染に移行していました。一方、これまで動物の段階で感染を制御することによって、ヒトでの健康被害を抑え込んできた感染症の事例は多々あります。例えば、古くはイヌの狂犬病やブタの日本脳炎、最近ではニワトリのサルモネラ感染症などです。今後も地球温暖化による気候変動、森林破壊による地球環境の変化等により、これまで人類が経験したことのないような未知の病原体がいつ何時人間界に侵入してくるかも知れません。我々はこれらの病原体の動きをまず動物の段階でキャッチし、続いて病気について調査・研究を行い、そしてその制御法を見出すこと、すなわち未知の病原体が人間界に侵入する以前に動物の段階で制御することが「ワンヘルス」上大変重要になってくるのではないのでしょうか。

では、本年も当研究所に対する皆様方の温かいご指導、ご鞭撻をお願い申し上げ、これにて新年のご挨拶とさせていただきます。

(理事長)

魚類の細菌性感染症と水産用ワクチン開発の展望

加藤 豪 司 (東京海洋大学 学術研究院 海洋生物資源学部門)

はじめに

現在、我が国の養殖生産額は漁業総生産額のおよそ三分之一 (5,000 億円程度) を占めるようになった (農林水産省、経営・構造統計課、https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&layout=datalist&lid=000001245940&toukei=00500208&tstat=000001015664&tclass1=000001036597&tclass2=000001138746&cycle=7&year=20180&month=0&stat_infid=000031926904)。しかし、水産養殖現場ではウイルス、寄生虫、細菌および真菌などの病原体による感染症が発生し、魚介類生産量の主な減耗要因となっている。これら「魚病」による被害額は 1998 年に 261 億円程度であったが、2000 年にブリのビブリオ病ならびにレンサ球菌症に対する不活化注射ワクチンが実用化されたことにより、150 億円以下にまで抑えられるようになった。その後、現在に至るまで 9 種類の

病原体に対する 18 種類の水産用ワクチン製剤が使用されるようになり、養殖魚の計画的な生産に大きく貢献している。一方で、最近では従来の不活化ワクチン技術では予防が難しい感染症が多く発生しており、直近 15 年間の魚病被害額は 100 億円前後で停滞し続けている。本稿では、これら予防の難しい感染症のうち、海面養殖業および内水面養殖・放流事業それぞれにおいて大きな被害を出しているブリ属魚類のノカルジア症およびアユの細菌性冷水病について紹介する。また、これらの魚病に対する新しい水産用ワクチン技術開発の展望についても述べる。

ブリ属魚類のノカルジア症

ノカルジア症は、グラム陽性および弱抗酸性の非運動性桿菌 *Nocardia seriolae* を原因とする細菌性感染症で、国内ではブリ *Seriola quinqueradiata* およ

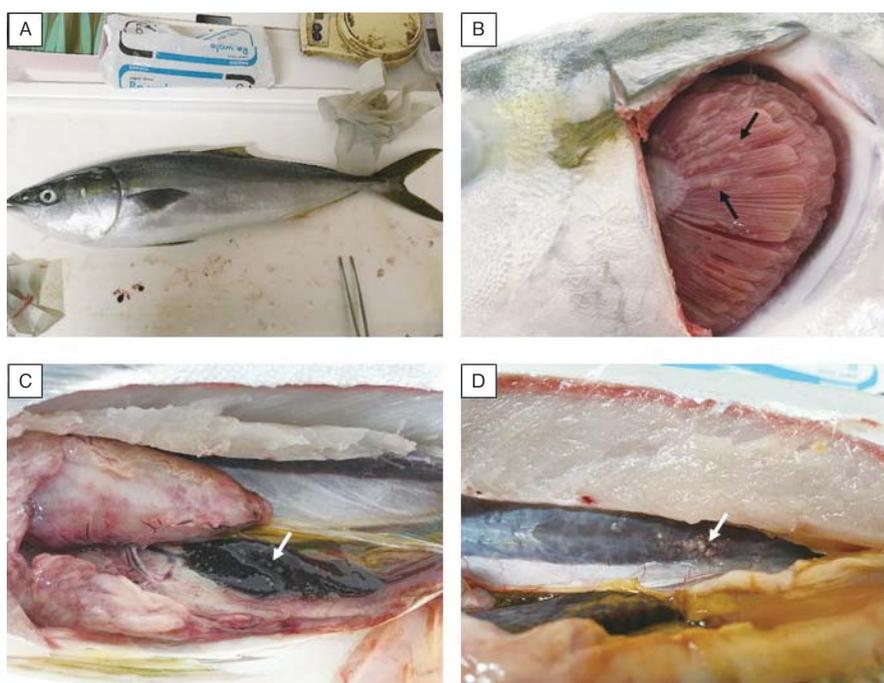


図1 ノカルジア症により死亡した養殖ブリ
(A) 病魚の外観。(B) 鰓における結節の形成。(C) 内臓諸器官の強い癒着と脾臓における結節の形成。
(D) 体腎における結節の形成。



図2 1%小川培地上に成育した *Nocardia seriolae* のコロニー

びカンパチ *S. dumerili* の養殖場で毎年発生している [1-3]。本症は 1968 年に三重県の尾鷲湾で初めて発生が報告され [1]、その後、ブリ養殖が行われている西日本各地へ広がっていった [4, 5]。ノカルジア症の病魚は痩せこけた外観を呈し (図 1A)、鰓には白い粟粒状の結節が観察される (図 1B)。解剖すると、内臓諸器官の激しい癒着が観察され (図 1C)、肥大した脾臓および体腎では結節の形成が確認できる (図 1D)。これら病魚の脾臓や体腎から組織片を採取して 1% 小川培地に接種し、25℃ で 1 週間程度培養すると白色粗面のコロニー (図 2) が生育してくるため、簡易的に診断できる。病理組織学的には、病魚の鰓、脾臓および体腎において、乾酪性肉芽腫が観察される (図 3A)。これら肉芽腫の中心部には Zhiel-Neelsen 染色に陽性となる *N. seriolae* が観察される (図 3B)。

ブリのノカルジア症は、夏から秋ごろの高水温期に発生することが多い。また、当歳魚よりも 1 年以上育成した出荷前の成魚で発症・死亡することが多いため、経済的被害が大きい。愛媛県で行われた当

歳魚を用いた調査では、*N. seriolae* に対する血中抗体価が 8 月および 9 月に上昇することから、これらブリ当歳魚は 7 月～8 月頃に本菌に感染したことが示唆された [6]。鹿児島県の養殖ブリでも同様の調査結果が報告されており (平成 24 年度鹿児島県水産技術開発センター事業報告書、<http://kagoshima.suigi.jp/jigyohoukoku/book/h24/shokuhin41.pdf>)、これら養殖場ではほとんどの個体が夏以前に *N. seriolae* の感染を受けることが推察される。そこで、我々は三重県尾鷲湾で養殖されていたブリ当歳魚 (健常個体) の抗 *N. seriolae* 血中抗体価の変化を 5 月～翌 1 月にかけて測定し、試験魚の感染履歴を調べた。さらに、これらブリ当歳魚を用いて脾臓からの菌分離、脾臓由来 DNA を用いた PCR、および脾臓組織切片を用いた免疫染色を行い、魚体内における *N. seriolae* の保持について調査した [7]。抗体価は 6 月以降上昇傾向にあり、11 月および 1 月には統計学的に有意に上昇した。脾臓から菌を分離することはできなかったものの、PCR では陽性となる個体が 5 月の時点でも確認され、7 月以降では増加した。さらに、抗 *N. seriolae* ウサギ抗血清を用いた免疫組織化学染色により、5 月から翌 1 月にかけて採取したすべての個体の脾臓から *N. seriolae* と思われる桿菌が検出された。これらのことから、ノカルジア症が発生したところのある海域では、当歳魚の海上生簞導入直後から本症への感染リスクがあることが示された。

Nocardia seriolae は宿主の貪食細胞内で生存・増殖可能な細胞内寄生性細菌である [8]。ヒトの肺結核の原因となる *Mycobacterium tuberculosis* などと同様に、*N. seriolae* は宿主貪食細胞の殺菌機構 (ファゴソーム・リソソーム融合) を阻害し、当該細胞内で生存・増殖できると考えられる [9]。病魚より分離された *N. seriolae* は、試験管内でフロルフエニコール (FF)、チアンフェニコール (TP)、スルフィソゾール (SIZ) およびスルファモノメトキシシン (SMM) に感受性を示し [10, 11]、SIZ および SMM 製剤が本症に対する水産用医薬品として使用されている。しかし、菌が生存・増殖する貪食細胞内やそ

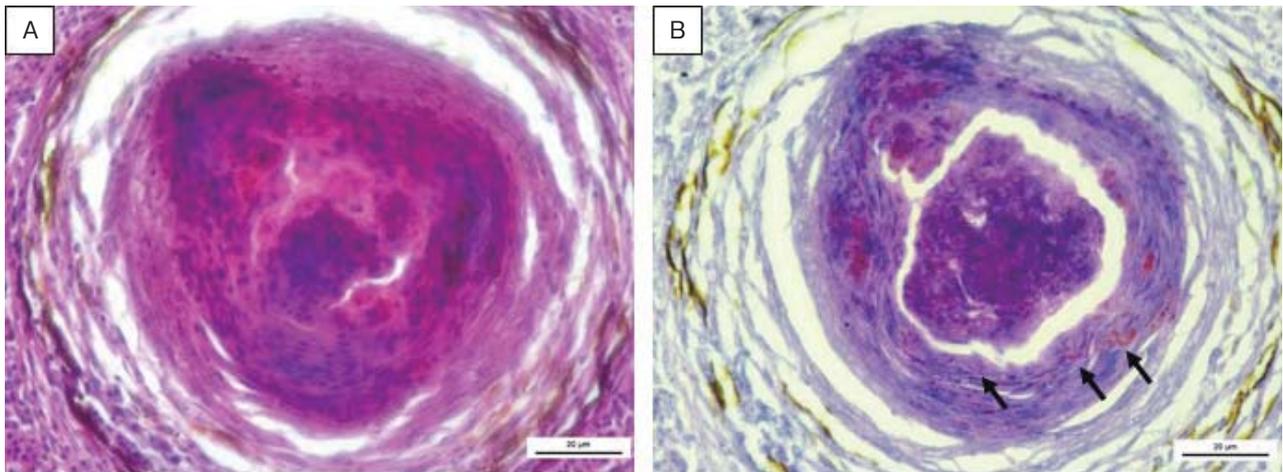


図3 ノカルジア症で死亡した養殖ブリ脾臓の組織像
(A) 脾臓における乾酪性肉芽腫の形成。Hematoxylin-Eosin 染色。(B) 脾臓の乾酪性肉芽腫内で赤く染色された *Nocardia seriolae*。Ziehl-Neelsen 染色。

れらを中心に形成される肉芽腫内にはこれら抗菌剤は浸透しにくいいため、発症魚の治療は困難だとされている。このことから、本症による大量死を防ぐためには、病魚の早期発見、早期診断および適切な投薬が非常に重要である。

ノカルジア症に対する DNA ワクチンの開発

細胞内寄生性細菌の感染に対して、宿主は Th1 系の細胞性免疫を誘導することでこれら病原体を排除する。特に、*Mycobacterium* 属細菌および *Nocardia* 属細菌などの排除には、Th1 系サイトカイン IFN- γ により誘導される活性化マクロファージによる殺菌経路 [12] や、細胞障害性 T 細胞 (CTL) がグラ

ニューライシンにより感染細胞ごと病原体を殺菌する経路 [13] が重要である。このため、一般的に Th2 系の液性免疫応答を強く誘導する不活化ワクチンはこれら細胞内寄生性病原体の予防には不向きであり、実際にノカルジア症に対してホルマリン不活化菌体は有効でないことが示されている [14]。一方で、弱毒生ワクチンは細胞性免疫応答を効率よく誘導できるため、医療分野では一般的に用いられている。Itano et al. (2006) は、病原性の低い *N. seriolae* 株および *Nocardia* 属の近縁種が弱毒生ワクチンとして利用できる可能性を示した [15]。しかし、水産分野では、弱毒株の病原性復帰および流出による環境負荷などが懸念されるため、弱毒生ワクチンの使用は認められていない。

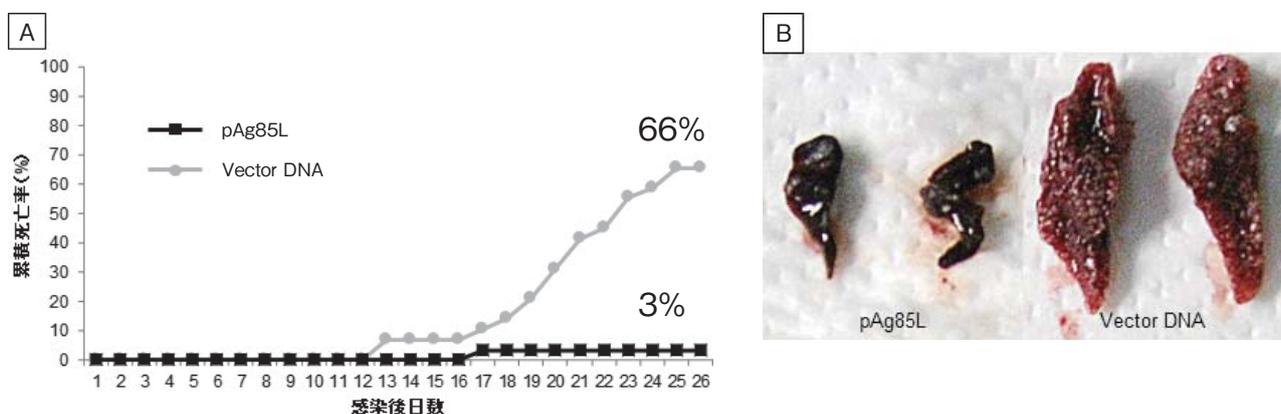


図4 DNA ワクチン pAg85L を投与したカンパチの *Nocardia seriolae* 攻撃試験
(A) pAg85L および Vector DNA (陰性対照) を投与した 4 週間後に *N. seriolae* で攻撃し、累積死亡率を観察した。
(B) 攻撃試験開始 26 日後における試験魚の脾臓。

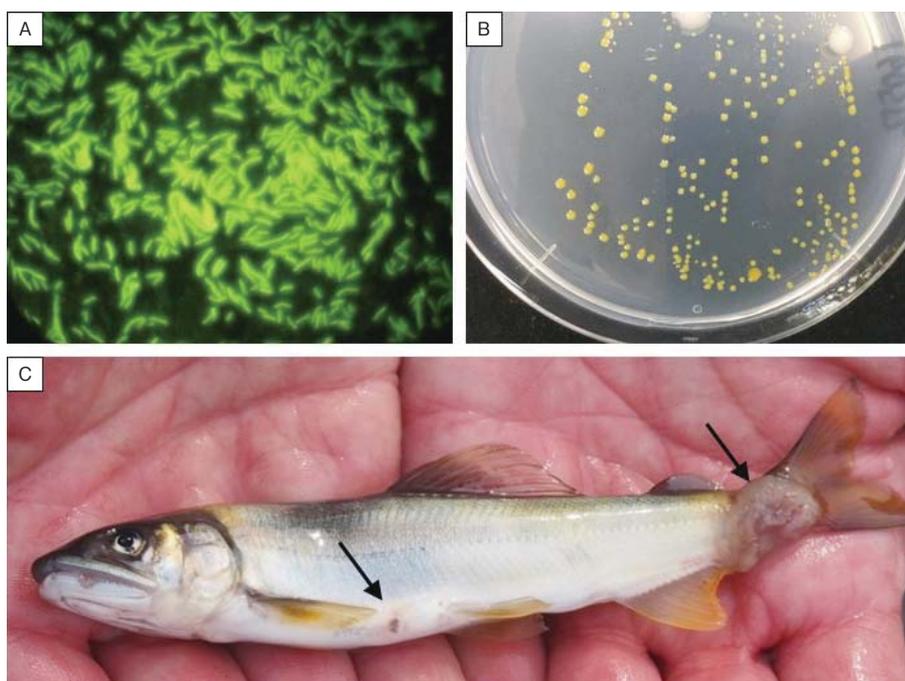


図5 細菌性冷水病の病魚と原因菌 *Flavobacterium psychrophilum*
 (A) 蛍光免疫染色像。(B) 改変サイトファーガ培地上に成育したコロニー。(C) 細菌性冷水病に罹患したアユ。矢印は体表に形成された潰瘍を示す。

DNA ワクチンは、真核生物のプロモーター配列の下流に病原体由来の抗原遺伝子を連結したプラスミド DNA である。Th1 系細胞性免疫応答および Th2 系液性免疫応答の両者を誘導できるとされている [16]。そこで、*N. seriolae* の抗原遺伝子 Ag85L をコードした DNA ワクチン (pAg85L) を作製し、その有効性を検討した [17]。カンパチに pAg85L を 1 尾当たり 10 μ g となるように筋肉注射により接種した。対照試験区として抗原遺伝子を含まないベクター DNA を同量筋肉内投与した試験区を用意した。ワクチン投与の 4 週間後に *N. seriolae* による感染実験を行ったところ、ベクター DNA 接種区の最終的な累積死亡率が 66% であったのに対し、pAg85L 接種区では 3% にとどまった (図 4A)。また、ベクター DNA 接種区では、攻撃後に脾臓の肥大および結節の形成が確認されたが、pAg85L 接種魚ではこれらの症状はまったく観察されなかった (図 4B)。

カナダのタイセイヨウサケ養殖では、感染性造血器壊死症ウイルス (Infectious hematopoietic necrosis virus, IHNV) に対する DNA ワクチンが既に承認・使用されている [18]。また、2016 年には、ヨーロッパ連合で salmon alpha virus に対する DNA ワクチ

ンが承認された (European Medicines Agency, First DNA vaccine in the EU recommended for use in salmon, https://www.ema.europa.eu/en/documents/press-release/first-dna-vaccine-eu-recommended-use-salmon_en.pdf)。DNA ワクチンとして接種された抗原遺伝子の DNA は宿主の染色体には組み込まれないため、DNA ワクチン接種動物は遺伝子組換え動物にはあたらない (FAO/WHO Expert Consultation on the Safety Assessment of Foods Derived from Recombinant-DNA Animals, http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/topics/report_biotech_07_en.pdf)。わが国でも産業動物への DNA ワクチン使用に関する法整備が始まっており (農林水産省、<http://www.maff.go.jp/j/syoutan/nouan/carta/tetuduki/>)、今後、DNA ワクチンが水産用医薬品として承認されることが大いに期待される。

アユの細菌性冷水病

細菌性冷水病は、北米やヨーロッパで養殖されているニジマス稚魚の rainbow trout fry syndrome と

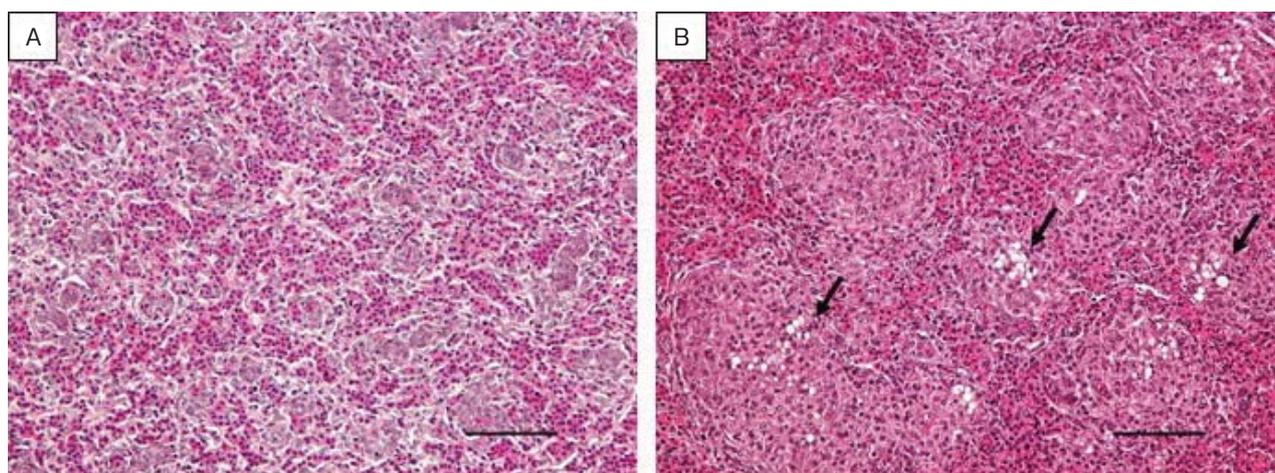


図6 油性アジュバント添加不活化ワクチンを投与したアユの脾臓組織

(A) *Flavobacterium psychrophilum* のホルマリン不活化菌体を単独で投与したアユの脾臓組織。目立った病理学的な組織変化はみられない。(B) 油性アジュバント添加不活化菌体を投与したアユの脾臓組織。鞘組織が顕著に発達しており、中心にオイルアジュバントと思われる油滴を含んだマクロファージの集簇が観察される。

して初めて報告された [19]。日本では 1987 年に徳島県で養殖されていたアユで本病の発生が初めて確認され [20]、その後ほぼ全国に蔓延した。原因菌である *Flavobacterium psychrophilum* は河川環境中に定着しており [21]、放流したアユが大量死する事例が多く発生している。アユの放流事業の一端を支えるのが、アユ釣りによる遊漁の収入である。アユ釣り（アユ遊漁）は、日本古来の伝統漁法「友釣り」により行われる人気のレジャーである。毎年6月に解禁されるが、解禁後約2週間で細菌性冷水病が発生し、その影響でアユがほとんど釣れなくなってしまう。このため、本病発生後は釣り人が激減してしまい、漁協収入が悪化することから、アユ遊漁（漁業）は危機的な状況に陥っている。このように、アユの細菌性冷水病は、養殖業、漁業および放流事業に深刻な影響を与えており、内水面水産業において最も被害額の大きな疾病と言える。

本病の原因はグラム陰性桿菌 *F. psychrophilum* であり（図 5A）、病魚の脾臓などを改変サイトファーガ培地に接種すると黄色いコロニーを形成する（図 5B）。病魚では体側、下顎および尾柄部などに潰瘍がみられる（図 5C）。また、鰓、肝臓および腎臓では貧血が観察されることから、上記のような体表幹部からの出血による貧血が死因であると考えられている [22]。ニジマスおよびアユの細菌性冷水病に対しては SIZ が治療薬として承認・使用されている。

また、アユの細菌性冷水病では、飼育水温を 28℃ に上昇させ 3 日間維持する昇温治療が有効である（アユ疾病に関する防疫指針、アユ疾病対策協議会、https://www.maff.go.jp/j/syouan/suisan/suisan_yobo/ayu_reisui/pdf/ayusisin.pdf）。

アユの細菌性冷水病に対するワクチンの開発

アユの細菌性冷水病に対しては、油性アジュバントを添加した不活化ワクチンが高い感染防御効果を示す [23]。アジュバントを添加しない場合に比べ、油性アジュバント添加不活化ワクチンでは、血中抗体価が高くなることが報告されている。しかし、抗体価の十分に高い感染耐過魚の血清を用いた移入免疫では、ある程度の感染防御効果しか得られなかったこと [24] から、本病に対する感染防御には特異抗体以外の何らかの免疫応答が必要であることが示唆されていた。そこで、我々は油性アジュバント添加不活化ワクチン（Adj-FKC）の感染防御メカニズムについて詳細な解析を行った [25]。既報の通り、Adj-FKC 接種魚の血中抗体価は、FKC のみを接種した魚よりも有意に高いことが確認された。Adj-FKC を腹腔内接種したアユの脾臓および体腎では、アジュバントと思われる油滴を内包した肉芽腫様の構造が多く観察され、マクロファージや好中球などの貪食細胞が非常に活性化していることがわかった

(図6)。一般的に、肉芽腫はTh1系細胞性免疫応答の一種であるため、Adj-FKC接種アユ体腎におけるTh1系サイトカインIFN- γ およびIL-12遺伝子の発現レベルを解析した。しかし、これらサイトカイン遺伝子の発現上昇は観察されなかった。以上のことから、Adj-FKC接種魚ではTh2系の液性免疫応答により抗体が盛んに分泌され、油性アジュバントにより活性化された貪食細胞が抗体によりオプソニン化された菌を貪食・殺菌すると考えられた。

このように、油性アジュバント添加不活化ワクチンは、アユの細菌性冷水病に対して非常に高い有効性を示す。しかし、油性アジュバントがアユの腹腔内に長期的に残留することから、本ワクチンは水産用医薬品として承認・実用化されていない。また、アユはハンドリングストレスに非常に弱いこと、および放流用の稚アユを数万尾単位で飼育することから、注射によるワクチン接種は現実的ではない。このように、アユの細菌性冷水病に対しては、抗体産生および貪食細胞の活性化を誘導でき、注射法によらない方法で投与が可能な浸漬ワクチンや経口ワクチンの開発が強く望まれている。

おわりに

近年、養殖技術の発展とともに、養殖対象魚種の多様化が進んでいる。それに伴い、新たな宿主一病原体の組合せや、新種の病原体による感染症（新興感染症）なども報告されている。また、新たな血清型の出現により、既存の水産用ワクチンでは予防できない事例なども発生している。このように、今後も新規の病原体による感染症は続々と発生すると考えられ、水産用ワクチン技術開発は養殖分野において引き続き重要な課題である。現在問題となっているこれら魚病被害軽減のために、今後、新たなワクチン技術（弱毒生ワクチン、DNAワクチン、成分ワクチンなど）や、注射法に依らないワクチン投与方法（浸漬法や経口投与方法）などが開発されることが期待される。

引用文献

1. Karita, T., Kubota, S., Nakamura, Y. and Kira, K. 1968. Nocardial infection in cultured yellowtails (*Seriola quinqueradiata* and *S. purpurascens*)—I Bacteriological study. *Fish Pathol.* **3**: 16–23. (in Japanese)
2. Kusuda, R. and Taki, H. 1973. Studies on a Nocardial infection of cultured yellowtail—I Morphological and biochemical characteristics of *Nocardia* isolated from diseased fishes. *Nippon Suisan Gakkaishi* **39**: 937–943. (in Japanese with English summary)
3. Kudo, T., Kishio, H. and Seino, A. 1988. *Nocardia seriolae* sp. nov. causing nocardiosis of cultured fish. *Int.J. Syst. Bacteriol.* **38**: 173–178.
4. Kusuda, R. and Nakagawa, A. 1978. Nocardial infection of cultured yellowtail. *Fish Pathol.* **13**: 25–31. (in Japanese with English summary)
5. Matsuzato, T. 1978. Nocardiosis of cultured yellowtail. *Fish Pathol.* **13**: 33–34. (in Japanese with English summary)
6. Itano, T., Kawakami, H., Kono, T. and Sakai, M. 2008. Estimation of the time for *Nocardia seriolae* infection of cultured yellowtail. *Fish Pathol.* **43**: 86–88. (in Japanese with English summary)
7. Kato, G., Oka, K., Matsumoto, M., Kanemaru, M., Yamamoto, M. and Sano, M. 2020. Prevalence of infection with *Nocardia seriolae* in juvenile of yellowtail *Seriola quinqueradiata* cultured in Owase Bay, Japan. *Fish Pathol.* **55**: 1–7.
8. Wang, F., Wang, X. G., Liu, C., Chang, O. Q., Feng, Y. Y., Jiang, L. and Li, K. B. 2017. Transparent tiger barb *Puntius tetrazona*, a fish model for *in vivo* analysis of nocardial infection. *Vet. Microbiol.* **211**: 67–73.
9. Yasuike, M., Nishiki, I., Iwasaki, Y., Nakamura, Y., Fujiwara, A., Shimahara, Y., Kamaishi, T., Yoshida, T., Nagai, S., Kobayashi, T. and Katoh, M. 2017.

- Analysis of the complete genome sequence of *Nocardia seriolae* UTF1, the causative agent of fish nocardiosis : The first reference genome sequence of the fish pathogenic *Nocardia* species. *PLoS ONE* **12** : e0173198.
10. Itano, T. and Kawakami, H. 2002. Drug susceptibility of recent isolates of *Nocardia seriolae* from cultured fish. *Fish Pathol.* **37** : 152–153.
 11. Ismail, T. F., Nakamura, A., Nakanishi, K., Minami, T., Murase, T., Yanagi, S., Itami, T. and Yoshida, T. 2012. Modified resazurin microtiter assay for in vitro and in vivo assessment of sulfamonomethoxine activity against the fish pathogen *Nocardia serioale*. *Fish Sci.* **78** : 351–357.
 12. Herbst, S., Schaible, U. E. and Schneider, B. E. 2011. Interferon gamma activated macrophages kill mycobacteria by nitric oxide induced apoptosis. *PLoS ONE* **6** : e19105.
 13. Thoma-Uszyński, S., Strenger, S. and Modlin, R. L. 2000. CTL-mediated killing of intracellular Mycobacterium tuberculosis is independent of target cell nuclear apoptosis. *J. Immunol.* **165** : 5773–5779.
 14. Shimahara, Y., Yasuda, H., Nakamura, A., Itami, T. and Yoshida, T. 2005. Detection of antibody response against *Nocardia seriolae* by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and a preliminary vaccine trial in yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* **25** : 270–275.
 15. Itano, T., Kawakami, H., Kono, T. and Sakai, M. 2006. Live vaccine trials against nocardiosis in yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Aquaculture* **261** : 1175–1180.
 16. Whitton, J. L., Rodriguez, F. Zhang, J. and Hassett, D. E. 1999. DNA immunization : mechanistic studies. *Vaccine* **17** : 1612–1619.
 17. Kato, G., Kato, K., Jirapongpairoj, W., Kondo, H. and Hirono, I. 2014. Development of DNA Vaccines against *Nocardia seriolae* Infection in Fish. *Fish Pathol.* **49** : 165–172.
 18. Saloniuss, K., Simard, N., Harland, R. and Ulmer, J. B. 2007. The road to licensure of a DNA vaccine. *Curr. Opin. Invest. Drugs* **8** : 635–641.
 19. Davis, H. S. 1946. Care and diseases of trout. US Department of the Interior Research Report no. 12. Washington, DC : US Government Printing Office.
 20. Wakabayashi, H., Toyama, T. and Iida, T. 1994. A study on sero-typing of *Cytophaga psychrophila* isolated from fishes in Japan. *Fish Pathol.* **29** : 101–104.
 21. Iida, Y. and Mizokami, A. 1996. Outbreaks of coldwater disease in wild ayu and pale chub. *Fish Pathol.* **31** : 157–164.
 22. Miwa, S. and Nakayasu, C. 2005. Pathogenesis of experimentally induced bacterial cold water disease in ayu *Plecoglossus altivelis*. *Dis. Aquat. Org.* **67** : 93-104.
 23. Rahman, M. H., Ototake, M., Iida, Y., Yokomizo, Y. and Nakanishi, T. 2000. Efficacy of Oil-adjuvanted Vaccine for Coldwater Disease in Ayu *Plecoglossus altivelis*. *Fish Pathol.* **35** : 199–203.
 24. Kato, G., Suzuki, K., Kawakami, M., Matsuyama, T. and Nakayasu, C. 2015. The role of a specific antibody against *Flavobacterium psychrophilum* infection in ayu sweetfish, *Plecoglossus altivelis altivelis* (Temminck & Schlegel, 1846). *J. Fish Dis.* **38** : 107–112.
 25. Kato, G., Isaka, Y., Suzuki, K., Watanabe, S., Izumi, S., Nakayasu, C., Endo, M. and Sano, M. 2020. Immune responses induced by oil-adjuvanted inactivated vaccine against *Flavobacterium psychrophilum* in ayu *Plecoglossus altivelis*. *Fish Shellfish Immunol.* **98** : 585–594.

豚繁殖・呼吸障害症候群 (PRRS) ワクチン開発のこれまでとこれから

渡邊瑞季

はじめに

豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス (PRRSV) は、豚の繁殖障害及び呼吸器症状を主徴とするウイルス性疾患の原因であり、世界中の養豚産業に甚大な経済的損失をもたらしている。本ウイルスは 1987 年にアメリカで初めて報告された [18] 後、1990 年～1992 年の間にヨーロッパ諸国において同様の症状を主徴とした疾患が多数報告され、瞬く間に世界中へ拡散された。当初は、その多様な病態並びに病因が不明であったことから、豚のミステリー病、不妊病 (swine infertility and respiratory syndrome) などと呼ばれていたが、1992 年に開催された国際学会において正式に porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) と命名された [18]。日本では 1987 年～1989 年の間に関東地方を中心に原因不明の異常産や脆弱豚の出産が多発していたことが記録されている。腹式呼吸を主徴とする稟告より“ヘコヘコ病”と呼称されており、1993 年に初めてウイルスが分離された [68]。

PRRSV は分類及び名称が頻繁に変更されており、2019 年の ICTV による分類では、ニドウイルス目 (*Nidovirales*) アルテリウイルス科 (*Arteriviridae*) ベータアルテリウイルス属 (*Betaarterivirus*) に分類されている。ウイルスの直径は 50–65 nm で、約 15 kb の + 鎖 RNA ゲノムをもつ、エンベロープウイルスである。ORF1a 及び 1b 遺伝子は全ゲノムの約 80% を占め、RNA ポリメラーゼをコードし、ゲノムの 3 末端側に位置する ORF2–7 遺伝子は構造タンパク質をコードしている [32]。PRRSV は大き

く *Betaarterivirus suis* 1 (欧州型; 2016 年までは PRRSV type 1 とされていた) と *Betaarterivirus suis* 2 (北米型; 2016 年までは PRRSV type 2 とされていた) の 2 つの遺伝子型に分けられる [34, 67]。欧州型と北米型のゲノムレベルでの相同性は約 60% である。両者は病原性、臨床症状及びゲノム構築などに関して類似した特徴を有する [27]。日本では 1990 年代以降、北米型が広く浸潤していると考えられていたが、2008 年に初めて欧州型が分離された [21] ため、新たな被害の拡大が危惧された。しかしながら、本例以降、欧州型の発生報告はこれまでになく、当該農場限局的な発生と考えられている。前述の構造タンパク質をコードする遺伝子のうち、ORF5 はエンベロープタンパク質 GP5 をコードし、高頻度で遺伝子変異を引き起こすことから、ORF5 遺伝子の分子系統樹解析によってわが国では遺伝子型クラスター分けがなされてきた。国内で分離されるウイルスは、I–V の 5 つの遺伝学的クラスターに分類され、クラスター III は日本特有の遺伝子グループとされており [56]、国内の分離株ではもともと多くがこのグループに含まれる。なお、現在国内で承認されている PRRSV 弱毒生ワクチンには、北米型分離株を使用した単味ワクチンが 2 種類と、国内分離株を用いた 2 価ワクチンがある。さらに、昨年 4 月に国内分離株を使用した初の北米型不活化ワクチンが承認された。

PRRSV の新たな発生とその病原性

PRRSV は既知の RNA ウイルスの中で最も進化ス

ピードが速く [20]、進化を続け、新たな野外株の中には、PRRSV 単独感染でも豚を死に至らしめるような強毒株が生まれてきた。2001 年以降、アメリカではクラスター IV に属する高病原性の MN184 株が猛威を振るい、この株に近似した株が我が国でも出現している [19, 22]。また、中国では 2006 年に離乳豚、育成・肥育豚、及び母豚に至るまでの全てのステージで高致死率を示す高病原性の PRRSV 株が出現し、その後、本ウイルスは古典的な CH-1a 株に類似したウイルスより派生したことが明らかとなった [2, 60, 62]。現在では、高病原性 PRRSV は中国の農場に浸潤する主要な株になり、さらに、その変異株も分離されている [24]。初発から 30 年以上経過し、ワクチンによる対策が講じられてきたが、現在でも新たな野外株によるアウトブレイクが報告され、PRRSV の制圧戦略はいまだに不十分と言える。効果的な PRRS ワクチンの開発は、養豚産業にとって大きな課題である。

弱毒生ワクチン (MLV)

現在、PRRS コントロールの方策として、弱毒生ワクチン (Modified live vaccines; MLV) の使用が世界的に広く普及している。PRRS MLV は遺伝学的にホモ (遺伝子型、遺伝学的系統共に相同の株) な野生型 PRRSV 株の感染を効果的に防御することができると考えられており、地域の流行に合わせて欧州型及び北米型それぞれのワクチンが開発されてきた [40]。PRRS MLV は PRRSV 感染によるウイルス血症、呼吸器症状及び繁殖成績を改善させ [8, 9]、感染豚への治療的投与も有効性を示すことが報告されている [8, 30]。さらに、母豚への使用は死産の発生率を減少させ、娩出された子豚は、対照群と比較して離乳時の増体率及び生存率が高かった [1, 44, 51, 53]。

一方で PRRS MLV は有効性、安全性及び抗体依

存性感染増強 (Antibody-Dependent Enhancement ; ADE、後述) の面でいくつかの問題を抱えている。PRRS MLV によって誘導された液性及び細胞性免疫応答は、接種後約 3~4 週間で検出されるようになるが、これは一般的なウイルス感染と比較して遅く、弱い [4, 15, 35, 75]。検出される抗体の大部分は、中和活性を持たないウイルスのヌクレオカプシド (N) タンパク質に対するもので、ワクチン接種後約 4 週間で出現する中和抗体は、免疫後も比較的低い力価を示す [10]。中和抗体価が低い理由は、GP5 上の中和エピトープ部位に近接するデコイエピトープの存在と中和エピトープを糖鎖で覆い隠す重度のグリコシル化が原因と考えられている [3, 63]。PRRS MLV による感染防御は、遺伝学的にホモな株に対して有効で、ヘテロな株には部分的な防御、もしくは全く防御能を示さないことが知られている [10, 50]。また、移行抗体を有する子豚への MLV 接種は、ワクチンテイクを阻害し、液性及び細胞性免疫の誘導が抑制されてしまうという報告もあることから、計画的に使用する必要がある [47]。これらの事象は、ワクチン接種群において散発的に PRRS が発生するという報告と一致する [36, 41]。

MLV の有効性に関しては、遺伝学的にホモな株に対しての効果が高いと考えられてきたが、Opriessnig らの報告では、MLV 接種はワクチン株との ORF5 遺伝子相同性が高い株よりも、低い株への感染時に肺病変をより顕著に減少させる例が示され [42]、ヘテロ株に対してもワクチンがテイクされていれば一定の効果は認められることが示唆された。したがって、MLV ワクチン株と感染株の遺伝学的な相同性の高さは、ワクチンの有効性と必ずしも一致しないと考えることができる。

有効性の問題に加えて、MLV ではワクチンウイルス株の持続感染や病原性復帰といった安全性の問題も指摘されている。MLV を接種された豚は接種後約 4 週の間、ウイルス血症を示し、排泄されたウ

ウイルスが周囲の非接種豚に伝播する事が報告されている [10, 65]。高病原性 PRRSV 株が出現した中国において、流行している高病原性 PRRSV 株をベースとした MLV が複数開発されたが、高病原性 PRRSV に由来する MLV には既知報告も踏まえ、病原性復帰のリスクがあることが指摘されている [24]。高病原性株由来として広く使用されている MLV JXA1-R 株 (JXA1-P80 株としても知られる) に関しての Jiang らの報告によれば、高病原性 PRRSV 由来ワクチン未接種農場において瀕死の豚から分離されたウイルス株はワクチン株である JXA1-P80 株との相同性が非常に高く (99.7%)、分離したウイルスは子豚に対して高い病原性を持つことが明らかとなった。このことから筆者らは、この分離株は JXA1-P80 株の病原性復帰株である可能性が高いと結論付けている [24]。さらにデンマークでは、2 種類の MLV 株間の遺伝子組換えによって病原性復帰株が発生、流行していることが報告された [31]。承認されている MLV 株は水平感染、

あるいは上述のような病原性復帰の懸念があることから、PRRSV 陰性農場では使用すべきではないとされている。また、ワクチン接種の選択的圧力下で、PRRSV は急速に変異し、遺伝的に多様化しているという報告が相次いでおり [11, 23, 74]、その使用に当たってはウイルスの相同組換えや病原性復帰に対して留意する必要がある。

さらに、先にも触れたように MLV の問題点として ADE があげられる。PRRSV の性状が明らかになり始めて間もなく、豚肺胞マクロファージへの PRRSV 感染は、非中和抗体に起因する ADE による可能性が報告された [69, 70]。ADE では非中和抗体によって媒介されるオプソニン効果の結果として、マクロファージによるウイルスの取り込み増強が引き起こされる。ADE 関連抗体を誘導するエピトープは、PRRSV の N 及び GP5 に存在することが報告されている [7, 66, 69]。ワクチン株特異的な中和抗体が誘導されていても、ワクチン接種群がヘテロな株に感染した場合には、ADE が引き起こされる可

表 1 PRRS 不活化ワクチンを投与した母豚における産子成績 [Papatsiros ら (2006) [43] より改変]

	0 doses	1 dose	2 doses	3 doses	4 doses
死流産 (%)	3.5 ^a	1.6 ^b	0.9 ^b	1.1 ^b	1.7 ^b
出生した子豚*	10.2 ^a ± 3.2	10.4 ^a ± 3.1	11.1 ^b ± 4.3	11.4 ^b ± 3.0	11.5 ^b ± 2.9
ミイラ化胎児*	0.3 ^a ± 0.7	0.1 ^b ± 0.5	0.1 ^b ± 0.6	0.1 ^b ± 0.4	0.1 ^b ± 0.5
虚弱子豚*	1.5 ^a ± 2.0	0.6 ^b ± 1.6	0.6 ^b ± 1.5	0.6 ^b ± 1.3	0.5 ^b ± 1.2
離乳した子豚*	8.8 ^a ± 1.6	9.3 ^{bc} ± 1.3	9.2 ^b ± 1.5	9.3 ^{bc} ± 1.4	9.5 ^c ± 1.4

母豚への不活化ワクチンの繰り返しの投与は産子成績を改善した。

*母豚 1 頭当たりの子豚の数

a, b, c; 異なる文字同士は有意差あり (p ≤ 0.05) を示す。

能性もあり、MLV 接種は ADE による PRRS の増悪リスクを高める可能性を併せ持つと示唆する報告もある [25, 72]。ただし、近年では感染初期の血清中には多くの炎症因子が含まれており、PRRS の症状悪化と ADE はそれほど強く関係していないと考えられるようになってきている [38]。

不活化ワクチン

MLV と比較して PRRS 不活化ワクチンの使用は安全性が高い一方で、有意な PRRSV 中和抗体の産生 [29] や、細胞性免疫応答 [4, 45] を認めないなど、野生型ウイルスの感染に対しての有効性が不十分であると捉えられてきた。PRRSV 陰性豚への不活化ワクチン投与は、ヘテロ株の感染による繁殖障害を防ぐことは難しく、ウイルス血症、精液中へのウイルス排出及び呼吸器症状を軽減できないという

報告もある [54, 75]。

しかし、不活化ワクチンの投与が、PRRS からの豚の保護に効果的であるという報告も少なくない。これらは主に治療的使用と免疫記憶を期待する使用方法に関するものである。Papatsiros らの報告によれば、PRRSV 抗体保有率の高い農場では、母豚への繰り返しの不活化ワクチン投与により、死流産数や離乳豚数等の改善が認められている (表 1) [43]。また、十分な抗原量の PRRS 不活化ワクチンの投与は PRRSV 攻撃後に有意に中和抗体を誘導することが認められている (図 1) [29]。さらに、不活化ワクチンを投与された豚において、PRRSV 感染後に CD4+ CD8+ T 細胞の誘導が有意に認められたことから、不活化ワクチンを投与された豚では、何らかの免疫記憶が誘導されると考えられている [45]。PRRS MLV 接種群への不活化ワクチンの追加投与は中和抗体価を有意に上昇させることも報告されて

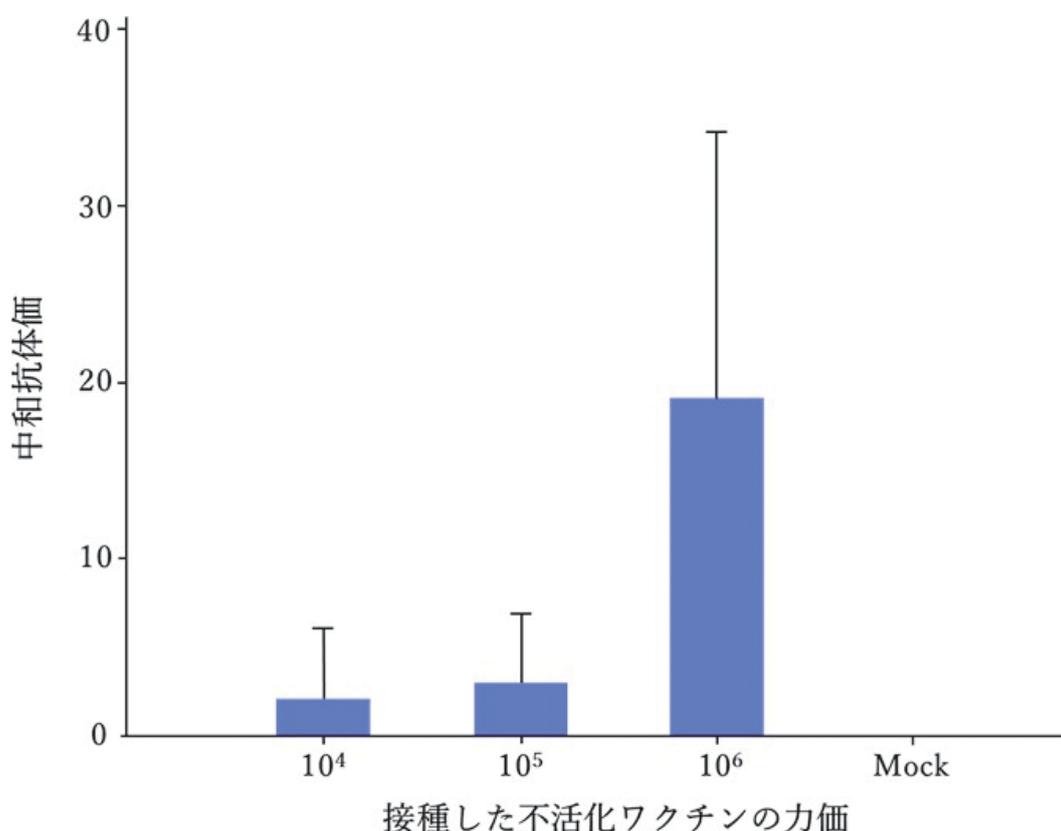


図1 攻撃後22日に回収した血清のPRRSV特異的中和抗体価 [Kimら (2011) [29] より改変] 10⁶ PFU/mLの不活化ワクチンを投与した豚における攻撃後のPRRSV特異的中和抗体価は、Mock、10⁴および10⁵ PFU/mLの不活化ワクチン抗原を投与したグループと比較して有意に高かった ($p < 0.05$)。

いる [4]。

不活化ワクチン投与時のアジュバントについての研究も進められている。poly (lactic-co-glycolic acid) や結核菌の whole cell lysate などのアジュバントを加え、ナノ粒子に捕捉させた不活化ワクチンは、抗 PRRSV 免疫の誘導を促進すると報告されている [5, 6]。

PRRS 不活化ワクチンの評価は報告によって様々であるが [28, 48]、その利点は、高い安全性と PRRSV 感染豚における治療効果、免疫記憶により感染時のウイルスの早期排除が期待できることである。また、上述のように新たなアジュバントを用いた免疫方法も検討の余地が残されている。

以上より、PRRS 不活化ワクチンは感染予防を目的とするよりも、PRRSV 感染後の弱い免疫記憶を補強し、迅速な免疫誘導を促すことを目的としたワクチンとも言えるかもしれない [10, 40]。世界で市販されている PRRS 不活化ワクチンは欧州型のみであったが、昨年4月、我が国においてクラスター III に属する株を用いた不活化ワクチンが承認された。PRRS 野外株攻撃試験において、本 PRRS 不活化ワクチン投与群の攻撃後ウイルス血症期間は対照群に比べて短縮し、PRRS に対する有効性が明らかになっている [52]。

DNA ワクチン、サブユニットワクチン、ウイルスベクターワクチン

すでに承認されている MLV や不活化ワクチンに加え、上述のように様々なアジュバントとの同時投与のような新たなアプローチや、DNA ワクチン、サブユニットワクチン及びウイルスベクターワクチンの開発が試みられている。しかしながら、これらの新たな技術を用いて現在までに開発されたワクチンの多くは、その免疫効果が MLV よりも弱い [10]。PRRSV が初めて報告されてから間もない頃より、バキュロウイルス [46] や遺伝子組換え植物 [12,

13] 発現系を用いたサブユニットワクチンの研究が進められてきたが、いずれも有効性が不十分であるという報告もされている [48]。

アデノウイルス、ポックスウイルス及びオーエスキー病ウイルスベクターなどを用いたベクターワクチンに関する報告がいくつか存在する [17, 26, 49, 55, 71]。アデノウイルスベースの PRRS ワクチンによって免疫されたマウスは、高いウイルス中和抗体価と強いリンパ球増殖反応を示したが [17, 26]、その後、豚において組換えアデノウイルス (rAd) を使用した類似の研究は報告されていない。ポックスウイルスベースの PRRS ワクチンは、強毒株 PRRSV で攻撃された際の発熱、ウイルス血症及びウイルス RNA 量を改善したが、完全な感染防御は認めなかった [55, 71]。これらの報告から 10 年以上が経過しているが、PRRSV のベクターワクチンに関する研究には残念ながら大きな進展を認めていないのが現状である。

PRRSV に対する DNA ワクチンも研究されている。これはサブユニットワクチンやウイルスベクターワクチンと同様の欠点を抱えているが、MLV が誘導する抗 PRRSV 免疫を増強する方法として期待できる知見がある。近年の研究で、MLV 免疫の 2 週間前に PRRSV N タンパク質欠損 DNA ワクチンをプレ免疫すると、攻撃後、IL-10 と Treg 産生の減少を伴う PRRSV 特異的な免疫が上昇（中和抗体価の上昇と IFN- γ 産生の増加）することが明らかになった [57]。また、他の研究では GP5 モザイク T-cell DNA ワクチンで免疫した豚では、ウイルス特異的抗体と IFN- γ mRNA 発現の上昇が誘発されるが、完全な防御はされないと報告されている [14]。このように PRRSV の単一抗原をベースにした DNA ワクチンの有効性は部分的であるため、これらの新たなアプローチによるワクチンの臨床応用は更なる検討の余地が残されている。これまでに紹介した PRRSV ワクチンの特徴を表 2 に示した。

表2 PRRS ワクチンの長所および短所

ワクチンの種類	長所	短所
弱毒生ワクチン (MLV)	<ul style="list-style-type: none"> ・ 遺伝学的にホモなウイルス株感染に対して高い有効性を示す ・ 治療的投与が可能 	<ul style="list-style-type: none"> ・ ヘテロなウイルス株に対して部分的、もしくは全く防御能を示さないことや、MLV の排出と持続感染、病原性復帰、MLV と野生型株間での組換えの可能性がある ・ 陰性農場に使用できない
不活化ワクチン (KIV)	<ul style="list-style-type: none"> ・ 治療的な使用が可能、免疫記憶により感染時のウイルスの早期排除が期待できる ・ 安全性が高く、陽性・陰性両農場に使用可能 	<ul style="list-style-type: none"> ・ ワクチン免疫のみでは有効な液性および細胞性免疫を誘導することが難しい
DNA ワクチン サブユニットワクチン ウイルスベクターワクチン	<ul style="list-style-type: none"> ・ DNA ワクチンは MLV による免疫ブースターとなり得る ・ 比較的安全性が高い 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 感染防御は部分的

新しい PRRS ワクチン戦略

これまでに紹介したように、高い免疫原性を有し、広範な野外株に有効な免疫を付与することができる安全な PRRS ワクチンを開発するために数多くの研究が行われてきたが、近年では新たなアプローチを用いたワクチン開発のための研究が進められている。その一つが組換え生ワクチンである。異なるウイルス由来の GP4 と M タンパク質を挿入したキメラウイルスは、広域な交差反応性を示す中和抗体を誘導した [73]。複数のヘテロな PRRSV 株の構造遺伝子 ORFs3-6 を PRRSV-VR2385 株に挿入したキメラウイルスは、多様なヘテロ株に対して交差防御反応を示したという報告もある [61]。このように、一つの ORF の組換えよりも、複数の遺伝学的背景を持つ株を組み合わせる方が、より広域な防御能を誘導するのに有望であることが示唆されている。

また、株特異的な中和反応の誘導には遺伝学的多様性が関与することから、Vu らは 59 種類のヘテロな PRRSV 株を系統樹解析することによって、PRRSV-2 のすべての株に対して同等な遺伝学的距

離の“centralized”配列を同定し、これに基づいて PRRSV-Con と称される新たな感染性クローンを作製した [64]。PRRSV-Con は MARC-145 細胞で効率よく複製し、ヘテロ株に対して広域な防御能を示したものの、強毒な MN184 株に対する防御能はわずかにしか誘導できず、有効性は不十分であった [64]。また、PRRSV-Con はそれ自身が宿主動物に対する病原性を保持していたことより、安全性についても問題点が確認された [37, 56, 58, 64]。

また、高い IFNs 誘導能を持つウイルス株にも注目が集まっており、新たなワクチン候補株として type I IFNs 産生を誘導する 2 つの PRRSV 株についての研究が進められてきた [33, 39, 59]。PRRSV-A2MC2 株は PRRSV プロトタイプである VR-2332 株との塩基配列の相同性が 99.8% とかなり高いが、VR-2332 とは異なり IFNs 誘導能が高い株である [39, 65]。A2MC2 株を MARC-145 細胞で 90 回継代した A2MC2-P90 株は、高い IFNs 誘導能等を保持したまま弱毒化した株である [16, 33]。上述の PRRSV-Con は、豚での病原性が維持されている点は異なるものの、IFNs 誘導能を保持しており、

A2MC2株と類似した性状を示すが、興味深いことに、マッピングによりA2MC2とPRRSV-ConではIFNs誘導に関与する遺伝的決定因子が異なることが示唆された[59]。これらのIFNs誘導に関与する因子を併せ持つキメラウイルス株は、さらに優れたIFNs誘導能を示すようになることも十分あり得る。以上より、高いIFNs誘導能を有し、広域な中和抗体を誘導する株が作出されると、遺伝子型を超えて有効性を示すワクチン株となることが期待される。

最後に

PRRSを制御するために世界で現在使用されているPRRSワクチンは、MLVと不活化ワクチンの2つのタイプである。PRRS MLVは、PRRSV株によっては十分な有効性が発揮されず、また、安全性などに問題を抱えている。一方、不活化ワクチンは、安全性は高いものの、MLVと比較してその免疫原性は低く、主にPRRSV感染時にその効果を発揮する。ここ10年でDNAワクチン、サブユニットワクチン及びウイルスベクターワクチン等の種々の研究が精力的に進められてきたが、いずれも有効性の面で現行のワクチンには及ばない。PRRSVは現在も断続的な変異が生じており、新たに発生したPRRSV株の中には、既存のPRRSワクチンでは有効性が不十分な株も少なくない。より効果的で安全性の高いワクチンを開発するためには、今回紹介したような新たな技術を組み合わせたワクチン開発も視野に入れていく必要がある。一方で既存の技術を組み合わせたアプローチ、例えばPRRS陰性農場等、MLVの使用が躊躇される場合にも不活化ワクチンを使用することにより免疫の安定化を図り、野外株が進入した際も農場のダメージを最小限にとどめることが可能であると考えられる。また、諸外国での報告を参考に、MLV接種群に対してブースター効果を

期待した不活化ワクチンの追加免疫も、PRRS対策に有効かもしれない。

PRRS-JAPAN ELIMINATION TEAM (P-JET)はPRRS対策の5大要素として、免疫賦与、ピッグフロー、バイオセキュリティ、モニタリング及びコミュニケーションを掲げている(<https://site-pjet.com>より引用)。農場内の的確かつ定期的なモニタリングを実施することで、肥育ステージごとのPRRS浸潤状況を的確に把握する。一見、非常に煩雑で長い道のりにも見えるが、これらの実践がPRRS撲滅への近道であることに異論の余地はない。これらの対策におけるファーストステップである免疫賦与ツールとして各種ワクチンが効果的に使用されることを切に願い、本稿を閉じることとする。

引用文献

1. Alexopoulos, C. et al., 2005. *Vet. Microbiol.* **111** : 151.
2. An, T.Q. et al., 2010. *Emerg. Infect. Dis.* **16** : 365.
3. Ansari, I. et al., 2006. *J. Virol.* **80** : 3994.
4. Bassaganya-Riera, J. et al., 2004. *Viral. Immunol.* **17** : 25.
5. Binjawadagi, B. et al., 2014a. *Int. J. Nanomed.* **9** : 1519.
6. Binjawadagi, B. et al., 2014b. *Int. J. Nanomed.* **9** : 679.
7. Cancel-Tirado, S. et al., 2004. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **102** : 249.
8. Cano, J. P. et al., 2007. *Vaccine* **25** : 4382.
9. Charerntantanakul, W. et al., 2006. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **109** : 99.
10. Charerntantanakul, W. 2012. *World. J. Virol.* **1** : 23.
11. Chen, J. Z. et al., 2015. *Vet. Microbiol.* **176** : 344.
12. Chia, M. Y. et al., 2010. *Vet. Immunol. Immunopathol.*

- pathol.* **135** : 23.
13. Chia, M. Y. et al., 2011. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **140** : 215.
 14. Cui, J. et al., 2016. *Vaccine. Rep.* **6** : 77.
 15. Diaz, I. et al., 2006. *Virology* **351** : 249.
 16. Fontanella, E. et al., 2017. *Vaccine* **35** : 125.
 17. Gagnon, C. A. et al., 2003. *Arch. Virol.* **148** : 951.
 18. Goyal, S. M. 1993. *J. Vet. Diagn. Invest.* **5** : 656.
 19. Han, J. et al., 2006. *Virus Res.* **122** : 175.
 20. Hanada, K. et al., 2005. *Mol. Biol. Evol.* **22** : 1024.
 21. Iseki, H. et al., 2014. *J. Vet. Med. Sci.* **76** : 1411.
 22. Iseki, H. et al., 2016. *Microbiol. Immunol.* **60** : 824.
 23. Jantafong, T. et al., 2015. *Vet. Microbiol.* **176** : 229.
 24. Jiang, Y. et al., 2015. *Vet. Microbiol.* **179** : 242.
 25. Jiang, Z. et al., 2003. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **92** : 125.
 26. Jiang, W. et al., 2008. *Virus Res.* **136** : 50.
 27. Kappes, M. A. et al., 2015. *Virology* **475**.
 28. Karniychuk, U. U. et al., 2012. *Theriogenol.* **78** : 1527.
 29. Kim, H. et al., 2011. *Virol. J.* **8** : 323.
 30. Kritas, S. K. et al., 2007. *J. Vet. Med. A.* **54** : 287.
 31. Kvisgaard, L. K. et al., 2020. *Transbound Emerg Dis.* **00** : 1.
 32. Lunney, J. K. et al., 2016. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* **4** : 129.
 33. Ma, Z. et al., 2016. *Sci. Rep.* **6** : 36312.
 34. Mardassi, H. et al., 1994. *J. Gen. Virol.* **75** : 681.
 35. Meier, W. A. et al., 2003. *Virology* **309** : 18.
 36. Mengeling, W. L. et al., 1998. *Am. J. Vet. Res.* **59** : 1540.
 37. Murtaugh, M. P. et al., 2010. *Virus Res.* **154** : 18.
 38. Murtaugh, M. P. et al., 2011. *Vaccine* **29** : 8192.
 39. Nan, Y. et al., 2012. *Virology* **432** : 261.
 40. Nan, Y. et al., 2017. *Front. Microbiol.* **8** : 1635.
 41. Opriessnig, T. et al., 2002. *J. Virol.* **76** : 11837.
 42. Opriessnig, T. et al., 2005. *J. Swine Health Prod.* **13** : 246.
 43. Papatsiros, V. G. et al., 2006. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health.* **53** : 266.
 44. Pejsak, Z. et al., 2006. *Vet. Rec.* **158** : 475.
 45. Piras, F. et al., 2005. *Viral Immunol.* **18** : 381.
 46. Plana-Duran, J. et al., 1997. *Virus Genes* **14** : 19.
 47. Renson, P. et al., 2019. *Vaccine* **37** : 4318.
 48. Renukaradhya, G. J. et al., 2015a. *Vaccine* **33** : 3065.
 49. Renukaradhya, G. J. et al., 2015b. *Vaccine* **33** : 4069.
 50. Roca, M., et al., 2012. *Vet. J.* **193** : 92.
 51. Rowland, R. R. R. 2010. *Virus Res.* **154** : 114.
 52. Sato, T. et al., 2015. *ISERPD2015*. Kyoto Japan.
 53. Scortti, M. et al., 2006. *Theriogenology* **66** : 1884.
 54. Scortti, M. et al., 2007. *Vet. Rec.* **161** : 809.
 55. Shen, G. et al., 2007. *Vaccine* **25** : 4193.
 56. Shi, M. et al., *Virus Res.* **154** : 7.
 57. Sirisereewan, C. et al., 2017. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **183** : 7.
 58. Stadejek, T. et al., 2013. *Vet. Microbiol.* **165** : 21.
 59. Sun, H. et al., 2016. *Virology* **499** : 313.
 60. Tian, K. et al., 2007. *PLoS ONE* **2** : e526.
 61. Tian, D. et al., 2017. *Vaccine* **35** : 2427.
 62. Tong, G. Z. et al., 2007. *Emerg. Infect. Dis.* **13** : 1434.
 63. Vu, H. L. et al., 2011. *J. Virol.* **85** : 5555.
 64. Vu, H. L. et al., 2015. *J. Virol.* **89** : 12070.
 65. Wang, R. et al., 2013. *Vaccine* **31** : 5537.
 66. Welch, S. K. et al., 2004. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **102** : 277.
 67. Wensvoort, G. et al., 1991. *Vet. Q.* **13** : 121.
 68. Yahara, Y. 1994. *Proc. Jpn. Pig Vet. Soc.* **24** : 10.
 69. Yoon, K. J. et al., 1996. *Viral Immunol.* **9** : 51.
 70. Yoon, K. J. et al., 1997. *Vet. Microbiol.* **55** : 277.

71. Zheng, Q. et al., 2007. *Virus Genes* **35** : 585. 748068.
72. Zhou, E. M. et al., 2004. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **101** : 49.
73. Zhou, L. et al., 2013. *PLoS ONE* **8** : e66645.
74. Zhou, L. et al., 2014. *Biomed. Res. Int.* **2014** : (研究員)
75. Zuckermann, F. A. et al., 2007. *Vet. Microbiol.* **123** : 69.

お知らせ

山手丈至評議員 日本獣医学会越智賞を受賞

当所の山手丈至評議員（公立大学法人大阪府立大学獣医病理学教室教授）には業績「幹細胞病理学の展開と応用：体性幹細胞を基軸とした万能細胞由来腫瘍の組織発生と線維化関連筋線維芽細胞の特性の解明」に対し、日本獣医学会から第163回学術集会

において越智賞が授与されました。越智賞は、獣医学の学術研究あるいは教育の振興に顕著な功績をおさめた会員に与えられる賞です。山手評議員が第31号受賞者となりましたことを謹んでお知らせ申し上げます。



—— テーマは「生命の連鎖」——
 生命の「共生・調和」を理念とし、生命体の豊かな明日と、研究の永続性を願う気持ちを快いリズムに整え、視覚化したものです。カラーは生命の源、水を表す「青」としています。

表紙題字は故中村稔治博士による揮毫です。

日生研たより 昭和30年9月1日創刊(年4回発行)
 (通巻618号) 令和2年12月25日印刷 令和3年1月1日発行(第67巻第1号)
 発行所 一般財団法人日本生物科学研究所
 〒198-0024 東京都青梅市新町9丁目2221番地の1
 TEL: 0428(33)1520(経営企画部) FAX: 0428(31)6166
 URL: <http://nibs.lin.gr.jp/>
 発行人 土屋耕太郎

編集室 委員/古澤貴章(委員長)、篠原みなみ、古賀早織
 事務/経営企画部

印刷所 株式会社 精興社
 (無断転載を禁ず)