

JSAVBR

動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会

The **Japanese Society**

For **Animal Vaccine**

and **Biomedical Research**

NEWSletter

令和 2 年 12 月 24 日発行
No. 22

動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会
事務局

〒252-0132

神奈川県相模原市緑区橋本台 3-7-11

一般財団法人生物科学安全研究所内

TEL : 042-762-2775

FAX : 042-762-7979

E-mail : jimukyoku@jsavbr.jp

U R L : <http://www.jsavbr.jp>

目 次

ニュースレター22号 2020年12月

【巻頭言】

動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会ニュースレター「コロナウイルスワクチン特集」の企画にあたって

宗田 吉広（農研機構動物衛生研究部門）・・・・・・・・・・・・・・・・ 1

【特集「コロナウイルスワクチン」】

農業・獣医畜産業の視点から新型コロナウイルス感染症（COVID-19）を考える

宗田 吉広（農研機構動物衛生研究部門）・・・・・・・・・・・・・・・・ 3

新型コロナウイルスを知る

水谷 哲也（東京農工大学 農学部附属国際家畜感染症防疫研究教育センター）・・ 7

ネココロナウイルス感染症：猫伝染性腹膜炎と抗体依存性感染増強

高野 友美（北里大学獣医学部獣医伝染病学研究室）・・・・・・・・ 16

伝染性気管支炎（IB）のワクチンについて

林 志鋒（日生研株式会社）・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 22

豚流行性下痢とワクチン

長尾 和哉（KM バイオロジクス株式会社）・・・・・・・・・・・・・・・・ 26

ペットと野生動物における COVID-19

前田 健（国立感染症研究所）・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 32

COVID-19 ワクチン開発の現状

保富 康宏（医薬基盤・健康・栄養研究所 霊長類医科学研究セン・・・・ 40

【事務局だより】

【前号の江口先生原稿 19 ページの訂正】

（著者 敬称略）

◆◆◆◆ 巻 頭 言 ◆◆◆◆

動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会ニューズレター「コロナウイルスワクチン特集」の企画にあたって

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門
宗田 吉広

2019年の12月末に中国の武漢で始まった新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の感染者数は、2020年の12月5日午前8時半(日本時間)現在、わずか1年弱で、全世界で6500万人を超える緊急事態となっており、そのうち約2.3%にあたる1,515,940人の死亡者が確認され(ジョンズ・ホプキンス大学調べ)、なお拡大を続けている。世界保健機構(World Health Organization: WHO)の専門家の発表では今後、世界の死亡者は200万人を超えるだろうとの予測が出されている。日本でも、2020年の12月4日現在、感染者数は15万人を超え、2,240名(致死率約1.44%)の貴重な命が失われている(厚生労働省調べ)。100名の感染確認者のうち約2名の命が失われるというこの数字は、現代の発達した医療体制の中では非常に高いものであると言わざるを得ず、日々発信される膨大な数の論文の一部に触れるだけで、このウイルス(SARS-CoV-2)の巧妙な生存戦略を思い知らされ、人類はこの感染症に打ち勝つのではなく、ウイルスとともに共存する社会を目指すべきだという考え方に共感する。

この間、WHOは、2020年1月30日に緊急事態を宣言し、我が国においても政府から4月7日(7都府県対象)及び4月16日(全国都道府県対象)に緊急事態宣言が発出され、外出自粛・休校、テレワーク、様々な経済活動の停止や自粛など、過去に例を見ない事態を引き起こした。

COVID-19の原因ウイルスであるSARS-CoV-2は、その起源が、中国・武漢の海鮮市場で取引されていた野生動物に由来すると考えられており、さらにたどれば野生のコウモリが保有しているウイルスと高い類似性を有していることが報告されている人獣共通感染症(ズーノーシス)である。2003年に発生したSARSおよび2010年に発生したMERSについても、それぞれ、ズーノーシスである。また、最近毎年のように発生を繰り返している高病原性の鳥インフルエンザも、ズーノーシスであり、ズーノーシスではないが、昨年まで猛威を振るった豚熱(Classical swine Fever:CSF)についても、野生動物であるイノシシが家畜豚への伝播に大きな影響を及ぼしたことは周知の事実である。このように、野生動物を介して、ヒトに直接的及び間接的に影響を及ぼす感染症の発生の増加は、ヒトの経済活動や活動域の拡大に合わせて、森林等の伐採や開発が進み、野生動物とヒトとの接点が増加していることがひとつの要因であると考えられている。

また、今回のCOVID-19の拡大は、世界的な都市への人口の集中と経済活動の拡大及びグローバル化の進展に伴う、ヒトやモノの移動と関連していることは明らかであり、日本国内の農業においても、農業分野での技能実習生の帰国や受け入れ不可による労働力の不足、学校の休校や飲食店の休業に伴って、行き場を失った野菜や畜産物等の問題が発生した。一方で、様々な経済活動の縮小に伴い、職を失ってその日の食料にも困窮している生活困窮者や失業者が増加するという事態も生じ、収穫間際の果物やコメ、飼育されている牛や豚が盗難に遭うなどの事件も起こっている。

このような緊急事態に際し、動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会でも、動物のコロナウイルスやワクチン等の観点から有益な知見を解説することで、今回のコロナ禍に対して少しでも役に立つような情報を提供したいという思いから、本ニューズレターでは「コロナウイルスワクチン特集」として、6名の先生方にご寄稿をお願いした。幸い、動物ではコロナウイルスはなじみの深い病原体であるため、かなり幅広く研究されており、動物用ワクチンとして実用化されている疾病も多い(表1)。

そこで私は、企画者として、今回の新型コロナウイルス感染について、農業・獣医畜産業の観点からその問題点及び今後のコロナとともに生きる社会での新たな生活様式や、食料生産という農業の担うべき役割について、この機会を前向きにとらえた考察を行った。また、東京農工大学の水谷哲也先生には、動物およびヒトのコロナウイルス全般に関する総説的な内容の執筆をお願いした。KM バイオロジクス株式会社の長尾和哉先生には、豚のコロナウイルス感染症である豚流行性下痢 (PED) ワクチンについて解説をいただき、日生研の林志峰先生には鶏のコロナウイルスである鶏伝染性気管支炎 (IB) ワクチンについて解説していただいた。さらに、北里大学の高野友美先生には、猫のコロナウイルス感染症である猫伝染性腹膜炎 (FIP) の病態、治療、変異、抗体依存性感染増強等について、国立感染症研究所・獣医科学部の前田健先生には、野生動物やペットにおける新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の状況について最新の知見を解説いただいた。最後に、医薬基盤・健康・栄養研究所 霊長類医科学研究センターの保富康宏先生には、新型コロナウイルス感染症に対するワクチン開発の最新状況についてレビューいただいた。

本ニュースレターが現在の新型コロナウイルス感染症の流行の一日も早い終息のために少しでも役立てば幸いである。本ニュースレターの企画にあたっては、動物用ワクチン-バイオ医薬品研究会の濱岡隆文会長及び平山紀夫先生に多くのご協力をいただいた。この場を借りて深謝したい。

(2020年10月30日執筆、12月5日情報更新)

表1 ヒト、家畜及び愛玩動物の主要なコロナウイルスとその特徴

宿主	ウイルス名	分類	疾患名	症状・特徴	ワクチンの有無
ヒト	SARS-CoV-2	βコロナウイルス属	COVID-19	肺炎・下痢・血管炎等多様な症状、致死率2.85% (1078411/37722044)*	無 (開発中)
	SARS-CoV	βコロナウイルス属	重症急性呼吸器症候群 (SARS)	高熱、肺炎、下痢、致死率9.6% (774/8098)	無
	MERS-CoV	βコロナウイルス属	中東呼吸器症候群 (MERS)	高熱、肺炎、下痢、致死率34.4% (858/2494)	無
	Human coronavirus OC43	βコロナウイルス属	風邪	上部気道炎、鼻炎、下痢	無
	Human coronavirus 229E	αコロナウイルス属	風邪	上部気道炎、鼻炎、下痢	無
豚	Porcine Epidemic diarrhea virus	αコロナウイルス属	豚流行性下痢	哺乳豚の下痢・嘔吐・脱水、致命的	有
	Transmissible gastroenteritis virus	αコロナウイルス属	豚伝染性胃腸炎	哺乳豚の下痢・嘔吐・脱水、致命的	有
牛	Bovine coronavirus	βコロナウイルス属	牛コロナウイルス病	子牛・成牛の呼吸器症状・下痢、冬季赤痢	有
馬	Equine coronavirus	βコロナウイルス属	馬コロナウイルス感染症	発熱・食欲不振・下痢・発生はまれ	無
鶏	Avian infectious bronchitis virus	γコロナウイルス属	鶏伝染性気管支炎	上部気管支炎、産卵率低下、幼鶏では死亡率高い	有
犬	Canine coronavirus	αコロナウイルス属	犬コロナウイルス感染症	多くは不顕性感染、軽い下痢や嘔吐	有
猫	Feline infectious peritonitis virus	αコロナウイルス属	猫伝染性腹膜炎	腹膜炎、致命的、猫コロナウイルスが変異	無
マウス	Mouse hepatitis virus	βコロナウイルス属	マウス肝炎	肝炎、致命的	無

*2020/10/13 8:30 現在 ジョーンズ・ホプキンス大学調べ (<https://gisanddata.maps.arcgis.com/apps/opsdashboard/index.html#/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6>)

◆◆◆◆ 特集「コロナウイルスワクチン」 ◆◆◆◆

農業・獣医畜産業の視点から新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) を考える

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門
宗田 吉広

1. 農業の視点から COVID-19 を考える

1-1 農業 (Agriculture) 及び農業従事者について

2020年のノーベル平和賞が世界食糧計画 (World Food Programme; WFP) に贈られた。この意味は、現在及び今後の世界において食料問題の解決こそが人類の平和の実現、紛争、貧困や感染症対策の解決にとって重要なカギとなることを示すメッセージである。そもそも、農業 (Agriculture) とは、英語に表れているように、ひとつの文化 (Culture) である。Agri とは農業に関する接頭語であるが、本来の語源はラテン語の Ager (土地・地所・野原・畑) を意味する言葉であり、農業は土地に基づくひとつの文化であるといえる。実際に、旧約聖書「創世記」によれば、神 (エホバ) が作りだした最初の人間である、アダムとイブの2人の息子であるカインとアベルの職業はそれぞれ農業 (農耕) と畜産業 (羊飼い) であり、人類最初の職業は農業と畜産業なのである。食料生産と食文化を担っている農業及び農業従事者は尊敬かつ重点的に支援されるべき職業なのである。

我が国では、2020年4月7日の緊急事態宣言以降、急速に経済活動が低下し、様々な社会・経済活動に影響が及んでおり、その影響は今後も長期化することが予測されている。また、今や人混みにおけるマスクの着用や3密 (密集・密閉・密接) を避ける行動をとることは新たな社会常識となりつつある。さらに、世界に目を転じれば、COVID-19の感染拡大は、欧米、インドや南米を中心にさらに拡大しているばかりか、暴動、貧困及び食料不足のため、COVID-19の影響というよりもむしろ貧困や飢餓のために亡くなっている人が増加していると報道されている。

農林水産省は、2020年3月に、食料・農業・農村基本計画を策定し、食料自給率を2018年度の37% (カロリーベース) から2030年に45%に引き上げると発表している (農林水産省, 食料・農業・農村基本計画, https://www.maff.go.jp/j/keikaku/k_aratana/attach/pdf/index-13.pdf)。一方で、COVID-19の感染拡大を受けて、食料不足への懸念から、食料輸出国から自国の食料確保を優先とするための食料輸出制限措置が広がっている (日本農業新聞, <https://www.agrinews.co.jp/p50452.html>)。国際食糧農業機関 (FAO) も2020年4月21日に「食料品の入手可能性への懸念から輸出制限の動きが起きて、国際市場で食料品不足がおきかねない」との声明を発表している (FAO, <http://www.fao.org/news/story/en/item/1272077/icode/>)。これまで、食料や飼料の大半を輸入に頼っていた従来 of Old Normal はもはや通用しなくなる可能性がある。今後のコロナウイルスとの共存を目指す新しい生活様式の中で、日本あるいは各都道府県レベルで、食料自給率を上げることも様々な経済的・社会的対策とともに重要な課題のひとつであると考えられる。

2. 獣医・畜産業の視点から COVID-19 を考える

2-1 獣医療におけるコロナウイルス感染症

獣医療において、コロナウイルス感染症はなじみの深い疾病である。コロナウイルスは遺伝

学的に、 α 、 β 、 γ 及び δ コロナウイルスの4種類に分類される^{1),2),3)}。例えば豚では、哺乳豚に下痢を引き起こす、豚伝染性胃腸炎や豚流行性下痢の原因ウイルスである、Transmissible gastroenteritis virus (TGEV) や Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) が知られるが、これらは α コロナウイルスに属する。また、鶏では伝染性気管支炎を引き起こす Infectious bronchitis virus (IBV) が知られるが、このウイルスは γ コロナウイルスに属する。さらに、牛コロナウイルス感染症であり、子牛や成牛に下痢や呼吸器病を引き起こす Bovine coronavirus (Bo-CoV) や馬の Equine coronavirus は、SARS-CoV-2 と同じ β コロナウイルスに属し、ヒトの風邪コロナウイルス OC43 株は Bo-CoV から派生したと考えられている⁴⁾。ただし、現在のところヒトから牛馬あるいは牛馬からヒトへのこれらのウイルスが感染したという例は全く報告されていない。猫のコロナウイルスである猫伝染性腹膜炎ウイルス (Feline infectious peritonitis virus; FIPV) は、猫の腸コロナウイルス (Feline enteric coronavirus; FECV) が猫の体内で変異して出現すると報告されている⁵⁾。このウイルスに関しては最近の報告で、経口投与で FIPV の糞便中への排泄をほぼ完全に抑える治療薬が報告されており⁶⁾、SARS-CoV-2 が猫に感染することからも、SARS-CoV-2 の発生や変異のメカニズム解明や、今後のワクチンや治療薬の開発研究への応用に期待が持たれる。詳細は、水谷先生や高野先生等ご専門の先生方の解説を参照されたい。

2-2 畜産業と COVID-19

畜産業 (Livestock Industry) の観点からも、COVID-19 の拡大によって見えてきた課題が多数存在する。1 点目は、これまで外国人観光客等の富裕層に対してのインバウンド需要に多くが占められていた高級な牛肉や海産物等の需要と供給のバランスが崩壊し、価格の下落や在庫増加をもたらしてしまった点である。2 点目は、学校の休校に伴い、給食用の食材として、牛乳等が活用できなくなり、毎日の搾乳が必要な牛乳を大量に廃棄する必要が出てしまった点である。World Organization for Animal Health (OIE) は、数年前からアニマルウェルフェアのスタンダードを各畜種において公開している (OIE, <https://www.oie.int/en/animal-welfare/an-international-network-of-expertise/#A>)。この中では、地震や台風、洪水等の自然災害や、感染症の発生 (もちろん家畜の感染症を想定したもので、今回の COVID-19 のようなヒトの感染症を想定してはいなかったかもしれない) を想定して、緊急時対応計画 (Emergency Plan) を事前に策定しておくことが求められている。今後はこのような計画の策定を徹底し、有事においても、家畜の生命やウェルフェアを守ることはもちろんのこと、生産や需給のバランスが揺るがず、かつサプライチェーンを短縮した、生産者と消費者をダイレクトにつなぐ電子商取引等も拡大することで、畜産物や乳製品を安全かつ安定的に供給し続けることのできる新たな畜産業のシステム構築が求められる。

3. 新しい生活様式における持続可能な農業の構築

日本政府は、2020 年 5 月 25 日に全国で緊急事態宣言を段階的に解除し、新しい生活様式を取り入れることで、徐々に日常生活や経済活動を再開させていくことを発表した (内閣府, https://corona.go.jp/news/pdf/kinkyujitaisengen_gaiyou0525.pdf)。また、2020 年 6 月 18 日からは都道府県をまたいだ移動の自粛も解除され、新たな日常が本格的に始動した。しかしながら、過去のスペイン風邪等の例や SARS-CoV-2 のウイルス学的に巧妙な感染戦略、すなわち、1)無症状で多くのヒトが感染している可能性があること^{7),8)}、2)症状の出る 48 時間前からすでにウイルスを排泄し感染を拡大させている可能性があること⁹⁾、3)唾液や糞便にもウイルスを排泄すること^{10),11),12)}、4)呼吸器以外にも幅広い臓器に受容体 (ACE2) があり下痢や血管炎等の多

様な症状を呈する可能性があること^{13), 14), 15)}、5)呼吸器のウイルスが陰性となっても糞便中に約2週間はウイルスを排泄している可能性があること^{16), 17)}、6)すでに変異株出現の報告があること¹⁸⁾、7)プラスチック等の表面では数日にわたってウイルスが生存すること¹⁹⁾、8)炎症性サイトカインストームが病態を悪化させること²⁰⁾、及び9)有効な治療法や予防法がまだ完全に確立していないこと等を考えれば、今冬に第3波の感染が再び訪れることは十分に想定しておかなければならない。

Old normal は戻らないと考えて、New normal を取り入れなければならないことが提唱されており、厚生労働省は、その実践例を公表している（厚生労働省、https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000121431_newlifestyle.html）。また、FAOは2020年4月20日のG20農業大臣会議で、COVID-19のパンデミックに対して、安全な食料と栄養へのアクセスを保全することが必要不可欠だと述べており、国内生産の強化やサプライチェーンの短縮を推奨している。また、生産者と消費者を直接つなぐ電子商取引（E-commerce）の農業・食品産業への導入を世界的にスピードアップし、新たなビジネスモデルの導入が必要とされると述べている（FAO、<http://www.fao.org/news/story/en/item/1272077/icode/>）。さらに、米国・カンザス大学のSanderson特別教授も、COVID-19パンデミックにおける農業と人間の価値について、この危機に入る前のOld Normalに戻るのではなく、より持続的かつ回復力や再生力のある農業のNew NormalへのNew Pathsを見つけるべきだと述べている²¹⁾。

4. おわりに

経済活動とコロナ対策の両立を目指す今後の世界では、COVID-19の第3波の襲来に備えたNew Normalの構築が急務である。現実に12月に入って、我が国では第3波の真ただ中にある。一方で、有効なワクチンの開発にも道筋が見えてきており、明るい兆しも見え始めた。我が国の農林水産業・食品産業においても、近年積極的に取り組んできたIoTやAIといった様々な先端技術を取り入れつつ、日本の食料自給率を上げ、日本の食料生産を担っている第1次産業従事者の賃金や収入の向上、都会の若者の農村や農業へ回帰や農業への就業、生産者と消費者をダイレクトに結ぶ産地直送の取り組み強化等、今こそ様々に変化し、農業・畜産業・食品産業のNew normalの構築に向けた多様な課題に取り組むべきである。冒頭のノーベル賞を受賞したWFPのピーズリー事務局長の言葉「新型コロナウイルス感染症のワクチンが開発されるまでの間、食料こそが混乱に対する最善のワクチンである」（<https://ja.wfp.org/news/world-food-programme-assist-largest-number-hungry-people-ever-coronavirus-devastates-poor>）で本稿を結びたい。

謝辞

この間、感染・対策・治療の最前線で日々戦っている医師や看護師をはじめとする医療従事者の皆様、様々な対策の策定等に携わっている政府関係者や専門家委員会の先生方、及びPCR検査等の分析業務に携わっている保健所の職員の方々等に、この場を借りて最大限の敬意を表する。

引用文献

1)今井俊邦、泉對博、津田知幸ら（2003）家畜・家禽のコロナウイルス病 <http://www.naro.affrc.go.jp/laboratory/niah/disease/sars/>.

2)国立感染症研究所（2020）コロナウイルスとは <https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi>

/9303-coronavirus.html.

- 3) 根本学 (2018) 馬コロナウイルス感染症 日本獣医師会雑誌, 71, 5-9.
- 4) Corman VM, Muth D, Niemeyer D, et al. (2018) Hosts and sources of endemic human coronaviruses. *Adv. Virus Res.*, 100, 163-188.
- 5) Pedersen NC, Liu H, Dodd KA, et al. (2009) Significance of coronavirus mutants in feces and diseased tissues of cats suffering from feline infectious peritonitis. *Viruses*, 1(2), 166-1
- 6) Addie DD, Curran S, Bellini F, et al. (2020) Oral Mutian®X stopped faecal feline coronavirus shedding by naturally infected cats. *Res. Vet. Sci.*, 130, 222-229.
- 7) Mizumoto K, Kagaya K, Zarebski A, et al. (2020) Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship, Yokohama, Japan, 2020. *Euro Surveill.*, 25(10), 2000180.
- 8) Nishiura H, Kobayashi T, Miyama T, et al. (2020) Estimation of the asymptomatic ratio of novel coronavirus infections (COVID-19). *Int. J. Infect. Dis.*, 94, 154-155.
- 9) Nishiura H, Linton NM, and Akhmetzhanov. (2020) Serial interval of novel coronavirus (COVID-19) infections. *Int. J. Infect. Dis.*, 93, 284-286.
- 10) Sharma S, Kumar V, Chawla A, et al. (2020) Rapid detection of SARS-CoV-2 in saliva: Can an endodontist take the lead in point-of-care COVID-19 testing? *Int. Endodontic J.*, 53(7), 1017-1019.
- 11) Tian Y, Rong L, Nian W, et al. (2020) Gastrointestinal features in COVID-19 and the possibility of fecal transmission. *Alimentary Pharmacol. and Therapeutics*. 51(9), 843-851.
- 12) To KKW, Tsang OTY, Yip CCY, et al. (2020) Consistent detection of 2019 novel coronavirus in saliva. *Clinical Infectious Diseases*, 71(15), 841-843.
- 13) D'Amico F, Baumgart DC, Danese S, et al. (2020) Diarrhea during COVID-19 infection: pathogenesis, epidemiology, prevention, and management. *Clin. Gastroenterol. and Hepatol.*, 18(8), 1663-1672.
- 14) Lamers MM, Beumer J, van der Vaart J, et al. (2020) SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. *Science*, 369(6499), 50-54.
- 15) Li MY, Li L, Zhang Y, et al. (2020) Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. *Infectious Diseases of Poverty*, 9(1), 45.
- 16) Quilliam RS, Weidmann M, Moresco V, et al. (2020) COVID-19: The environmental implications of shedding SARS-CoV-2 in human faeces. *Environ. Int.*, 140, 105790.
- 17) Xu Y, Li X, Zhu B, et al. (2020) Characterization of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding. *Nature Med.*, 26(4), 502-505.
- 18) Koyama T, Weeraratne D, Snowden JL, et al. (2020) Emergence of drift variants that may affect COVID-19 vaccine development and antibody treatment. *Pathogens*, 9(5), 324.
- 19) Suman R, Javaid M, Haleem A, et al. (2020) Sustainability of coronavirus on different surfaces. *J. Clin. Exp. Hepatol.*, 10(4), 386-390.
- 20) Zhang C, Wu Z, Li JW, et al. (2020) Cytokine release syndrome (CRS) of severe COVID-19 and interleukin-6 receptor (IL-6R) antagonist Tocilizumab may be the key to reduce the mortality. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 55(5), 105954.
- 21) Sanderson MR. (2020) Here we are: Agriculture and Human values in the coronavirus (COVID-19) pandemic. *Agriculture and Human Values*, <https://doi.org/10.1007/s10460-020-10040-w>.

新型コロナウイルスを知る

東京農工大学 農学部附属国際家畜感染症防疫研究教育センター
水谷 哲也

はじめに

この原稿を書いている 10 月下旬、ヨーロッパの国々では再び新型コロナウイルスの感染者数が増え、フランスとベルギーはロックダウンに踏み切り、スペインは非常事態宣言を出した。アメリカ合衆国も依然として感染者の減少がみられず、ニューヨークダウは大幅な値下がりになる日もあり、欧米は経済的に不安定な日々が続いている。一方、日本では 8 月初旬にピークとなった第 2 波はおさまらず、毎日 800 人前後の感染者数を出している。北半球はこれから冬に向かい、インフルエンザのシーズンに突入する。すでに冬を終えた南半球のオーストラリアではインフルエンザウイルスの陽性者は例年よりも激減していることがニュースで話題になった。日本でも秋から冬にかけてのインフルエンザの報告数は少ない。新型コロナウイルスとインフルエンザウイルスの同時感染があり得ることが論文でも報告されている¹⁾。武漢市の病院に入院した新型コロナウイルス感染患者の約半数がインフルエンザウイルスに感染していたのだ。論文の中では両方のウイルスに感染するとサイトカインストームが頻回に起こる可能性について論じられている。したがってこの冬は風邪症状がある場合には、インフルエンザウイルスが陽性か陰性かにかかわらず新型コロナウイルスの検査を受ける必要がある。いまだに毎日大量の新型コロナウイルスに関する情報が流れてくるなかで、有益な情報だけを選択することが難しくなっている。そこで、本稿ではウイルス学的・感染症学的・医学的・獣医学的に重要な情報を提供して、これまでの新型コロナウイルスの総復習として活用していただきたい。

コロナウイルスの基礎

まず、コロナウイルスの復習である。コロナウイルス粒子を図 1 に示した。コロナウイルスといえば、コロナウイルス科もしくはコロナウイルス亜科を指している。その上はニドウイルス目である。コロナウイルス亜科には α 、 β 、 γ 、 δ コロナウイルス属があり、新型コロナウイルスは β コロナウイルス属である。ヒトに感染するコロナウイルスは 1964 年に発見されたとされている。この年は東京オリンピックが開催された

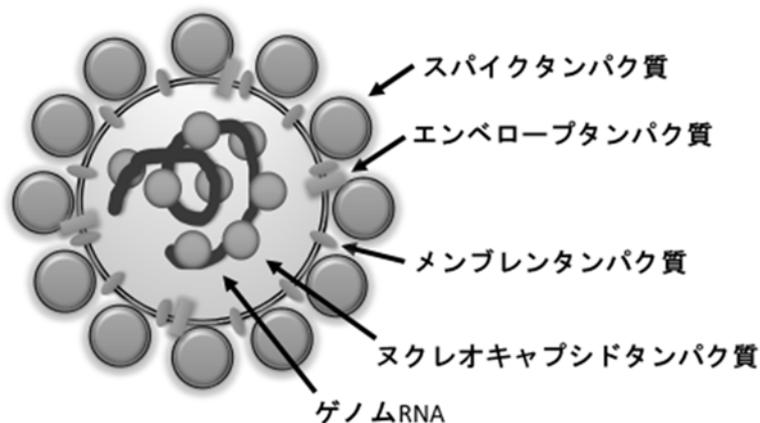


図 1 新型コロナウイルス粒子の模式図

年であり、著者が生まれた年でもある。著者がコロナウイルスの研究をすることが運命付けられていた、のように講演会の冒頭でお話させていただくこともある。しかし、動物のコロナウイルスの発見はもっと古くまでさかのぼる。1932 年に鶏伝染性気管支炎ウイルス、1946 年に豚伝染性胃腸炎ウイルス、1955 年にマウス肝炎ウイルスに関する論文が発表されている。2002 年に SARS-CoV が出現する前のヒトのコロナウイルスはマイナーな風邪の原因ウイルスであり、それ以降は 2012 年に MERS-CoV、2019 年に SARS-CoV-2 (新型コロナウイルス) が出現して、コロナウイルスという存在がメジャーになった。もしかしたら現在ももっとも研究者の多いウイルスになっているのではないだろうか。コロナウイルスは細胞内の複製様式に特徴がある。たとえば約 70 塩基の短いリーダー配列が起点となり転写が始まる leader primed transcription、mRNA は 3' 末端の配列を共通して持っているという 3' co-terminal set などである。また、

マウス肝炎ウイルスなどでは DI(欠損干渉)ウイルスができることが知られている。コロナウイルスと一口にいても転写や複製の様式は異なる点があるので、動物のコロナウイルスの知見が新型コロナウイルスに当てはまることと当てはまらないことがある。

動物コロナウイルスの代表選手

ウイルスの各論はこのあとに登場する先生方の総論にお譲りして、ここでは動物のコロナウイルス科の概要を述べていく。コロナウイルス科にはコロナウイルス亜科とトロウイルス亜科が含まれている。コロナウイルス亜科の α コロナウイルス属には猫コロナウイルス、犬コロナウイルス、豚伝染性胃腸炎ウイルス、豚流行性下痢ウイルス、ヒトコロナウイルス 229E および NL63 などが含まれる。 β コロナウイルス属には新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)をはじめとして、SARS-CoV、MERS-CoV、牛コロナウイルス、豚血球凝集性脳脊髄炎ウイルス、馬コロナウイルス、犬呼吸器ウイルス、マウス肝炎ウイルス、ヒトコロナウイルス OC43 と HKU1 などが属している。 γ コロナウイルス属は鳥のコロナウイルスである。伝染性気管支炎ウイルスや七面鳥コロナウイルスなどが含まれている。 δ コロナウイルスも鳥に感染するウイルスが多く属している。ここには珍しく豚に感染する豚コロナウイルス HKU15 が属している。ウイルスゲノムの変異という側面からみると、猫コロナウイルスは猫の腸内で変異して猫伝染性腹膜炎ウイルスになり、牛コロナウイルスはヒトコロナウイルス OC43 など様々な動物に感染するコロナウイルスを誕生させていると考えられている²⁾。豚伝染性胃腸炎ウイルスのスパイクタンパク質が欠損して豚呼吸器ウイルスになったとされている。

修復酵素をもつ RNA ウイルス

コロナウイルスのゲノムは RNA ウイルスの中で最も長い。30kb というゲノムの長さは、一般的な RNA ウイルスの 2 倍から 3 倍である(図2)。ここではなぜコロナウイルスのゲノムが長いのかについて考えてみる。そもそも RNA をゲノムとして持つ生物はウイルス以外に存在しない。ウイルスを生物ということには反論があると思うが、ここではカルタヘナ法にしたがってウイルスを生物として話を進めることにする。ゲノムが DNA の生物の多くは、複製時にポリメラーゼが間違っただ塩基を取り込んだ場合に修正するための酵素(修復酵素)を持っている。ポリメラーゼのミスは確率的に起こると考えると、ゲノムが長くなるほど間違っ

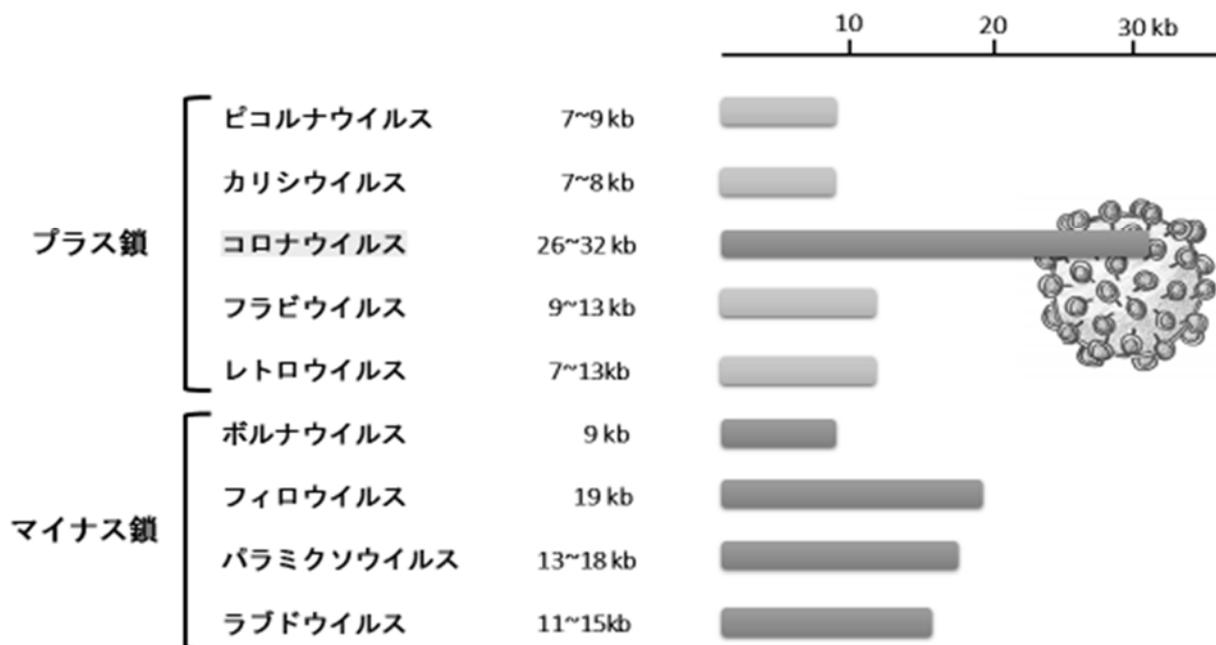


図2 RNA ウイルスのゲノムの長さ

主な 1 本鎖 RNA ウイルスのゲノムの長さを比較した。

まれる塩基数は多くなる。つまり、修復酵素を使って変異をできるだけ抑えようとしているのだ。2 本鎖 DNA ウイルスの多くはゲノムが長く修復酵素をもっているので変異率は低い。一方、コロナウイルス以外の RNA ウイルスは修復酵素を持たないので変異率は高い。ここからわかることは、10kb くらいの一般的な長さの RNA ウイルスゲノムは修復酵素がなくてもゲノムの機能を保てるが、30kb という長いゲノムをもつコロナウイルスは修復酵素がないと、そのゲノムを維持できないのである。図2を見ると、RNA ウイルスが修復酵素を持つか否かのゲノムの長さの境目は 20kb なのかもしれない。

免疫から逃げる手段

生物が多様性を持つためのひとつの手段として変異していくことは重要である。また、ウイルスが宿主の中で生き延びるためにも変異は必要な手段といえる。たとえば、C 型肝炎ウイルス(フラビウイルス科)は中和抗体が認識する領域に変異を蓄積させ免疫からエスケープしている。単純ヘルペスウイルス(ヘルペスウイルス科)は DNA ウイルスなので変異が少ないため抗体から逃れられないのだが、三叉神経節に潜り込んで抗体の攻撃から逃れている。HIV などのレトロウイルスでは宿主細胞のゲノムの中に入り込んで、あたかも宿主の一部のようにふるまうので巧妙である。このように、どのウイルスも宿主の免疫から逃れるための手段を持っていることは驚くべきことではない。逆に、免疫から逃れる手段を獲得したウイルスだけが現存していると考えられる。ウイルスが生き残るための最重要課題ともいえる。コロナウイルスは変異率の低いウイルスであることは、免疫からエスケープできないので宿主で生き延びるために不利といえる。コロナウイルスは潜伏感染をせず、宿主のゲノムの中に入り込むこともない。新型コロナウイルスではインターフェロンを抑制するタンパク質を持っていることが明らかになってきた³⁾。新型コロナウイルスは自然免疫には対抗できる手段を持っているが獲得免疫にはなすすべもなく駆逐されていくのかもしれない。

再感染と ADE

動物のコロナウイルスの免疫に対する戦略を見てみよう。マウス肝炎ウイルスでは C 型肝炎ウイルスのようにウイルス表面のスパイク蛋白質の領域を変異させている。猫伝染性腹膜炎ウイルスでは宿主体内で作られた抗体を ADE (Antibody dependent enhancement: 抗体依存性感染増強)として利用している(図3)。ADE は初感染で作られた抗体が、再感染時にウイルスに結合するとマクロファージに取り込まれて増殖しやすくなってしまふ現象である。本来、抗体は再感染を防御するために産生されるのに対して、ADE を起こすウイルスでは抗体が思いもよらずウイルス側に有利に働いてしまうことになる。新型コロナウイルスの場合にはヒトに対して ADE を起こすかどうかはまだわかっていない。著者は、新型コロナウイルスは ADE を起こさないのではないかと考えている。その理由は、非常に低い確率で再感染が起こっているが、再感染時の重症例はほとんど報告されていないからだ。ただし、再感染で重症化したケースが 1 例アメリカ合衆国から報告されている⁴⁾。多くのウイルスは低い割合で再感染を起こす。ヒトコロナウイルス 229E も再感染を起こすことが知られているが、2 回目の感染は軽度である。それゆえ、新型コロナウイルスの再感染も驚くべきことではない。今のところ、低い確率で ADE を起こすと

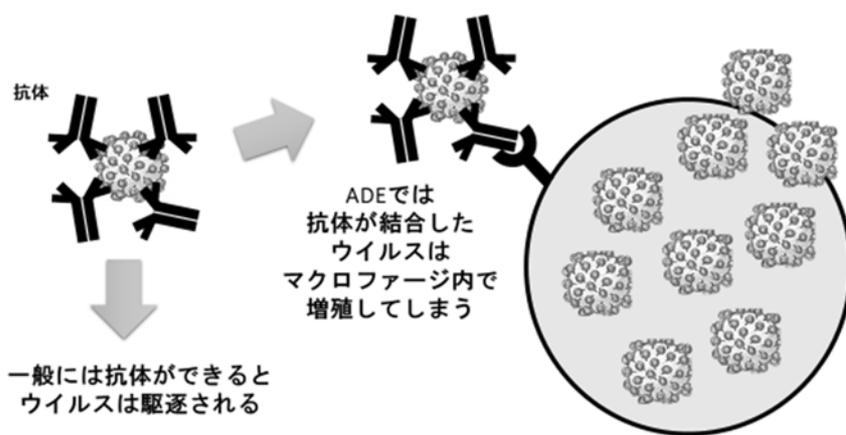


図3 抗体依存性感染増強の模式図

図3 抗体依存性感染増強の模式図

いう可能性も否定できない。

変異は落ち着いたかもしれない

コロナウイルスは修復酵素を持っているので RNA ウイルスの中では変異が少ない方であるが、新型コロナウイルスでは 5,000 以上の変異を起こしていると話題になったことがあった。しかし、ウイルスの変異は病原性にどのように影響しているかを考えるべきである。そもそもアミノ酸に影響しない変異は無視しても良い。また、変異すると必ずしも強毒化するわけではない。一般的な RNA ウイルスの運命は感染拡大にともない弱毒化していく。GISAID (インフルエンザウイルスのための情報サイト: <https://www.gisaid.org/>) は新型コロナウイルスのゲノムの情報源として活用できるサイトである。フルゲノムが登録され、変異箇所の推移がわかるようになってきている。スパイクタンパク質の 614 番目のアミノ酸が D (アスパラギン酸) のウイルスを武漢型、G (グリシン) に変異したウイルスを欧州型と呼んでいる。この D614G 型ウイルスが強毒型になっているかの結論は出ていない。感染力は増したが病原性には影響していないことを示唆する論文が発表されている⁵⁾。2020 年 8 月以降、GISAID に新規登録される新型コロナウイルスのゲノム数は減少しているように見られる。楽観的に見ると、新たな変異が見つからないために投稿するのが控えられているのかもしれない。また、D614G 以後に注目されるような変異も登場していない。

ウイルスゲノムの組換えも重要

少しだけ変異についての視点を変えてみる。コロナウイルスは 1 万年前に出現し、4つのコロナウイルス属を作っていた(図4)⁶⁾。進化速度の計算によっては 5000 年前に出現したという論文もある。コロナウイルスの進化の過程ではインフルエンザウイルスやアストロウイルスとのゲノムの組換えがあったのではないかといわれている。ウイルス科を超えたゲノムの組換えは頻繁に起こらないが、機能性タンパク質を獲得したウイルスがパワーアップすることは想像に難くない。我々は麻布大学獣医学部の長井誠教授と共同で、豚トロウイルスの PLCP (パイリン様システインプロテアーゼ) が豚エンテロウイルスのゲノム (非構造タンパク質領域の 2C と 3A の間) に組み込まれているウイルスを養豚場の豚糞便から発見した (図5:1 型組換えウイルス)⁷⁾。トロウイルスはコロナウイルス科 (トロウイルス亜科) に属するウイルスである。このウイルスは PLCP の持つ抗インターフェロン活性の機能を獲得してパワーアップしたといえる。同様のウイルスはイノシシからも発見した⁸⁾。さらに我々は豚エンテロウイルスの構造タンパク質を欠失し、その代わりに PLCP と機能不明な 2 種類のタンパク質が挿入されているウイルスも発見した (図5:2 型組換えウイルス)⁹⁾。このウイルスはとても奇妙である。構造タンパク質が無いのでウイルス粒子を作れないのである。自然にできたレプリコンといえる。機能不明なタンパク質の一部はバキュロウイルスの持つ抗アポトーシス活性をもつタンパク質と相同性があることがわかった。このウイルスはどのように感染していくのかは今後の研究課題である。

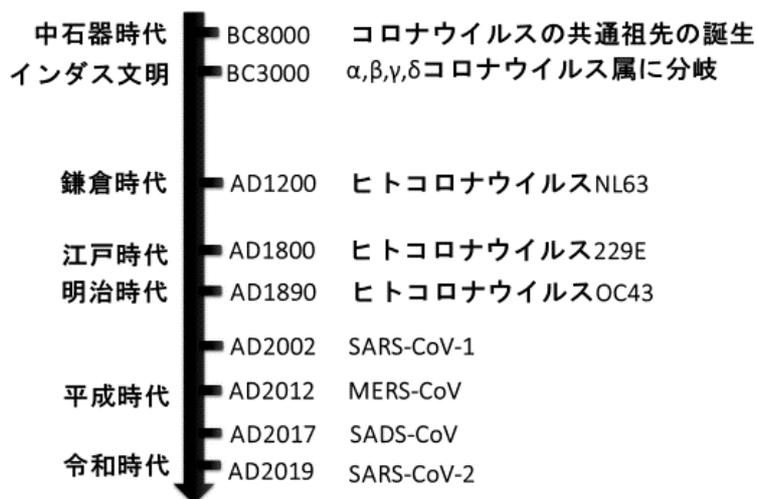


図4 コロナウイルスの歴史

分子時計による研究では今から 1000 万年前にコロナウイルスが誕生したとされている。その後、それぞれのウイルスが分岐した。

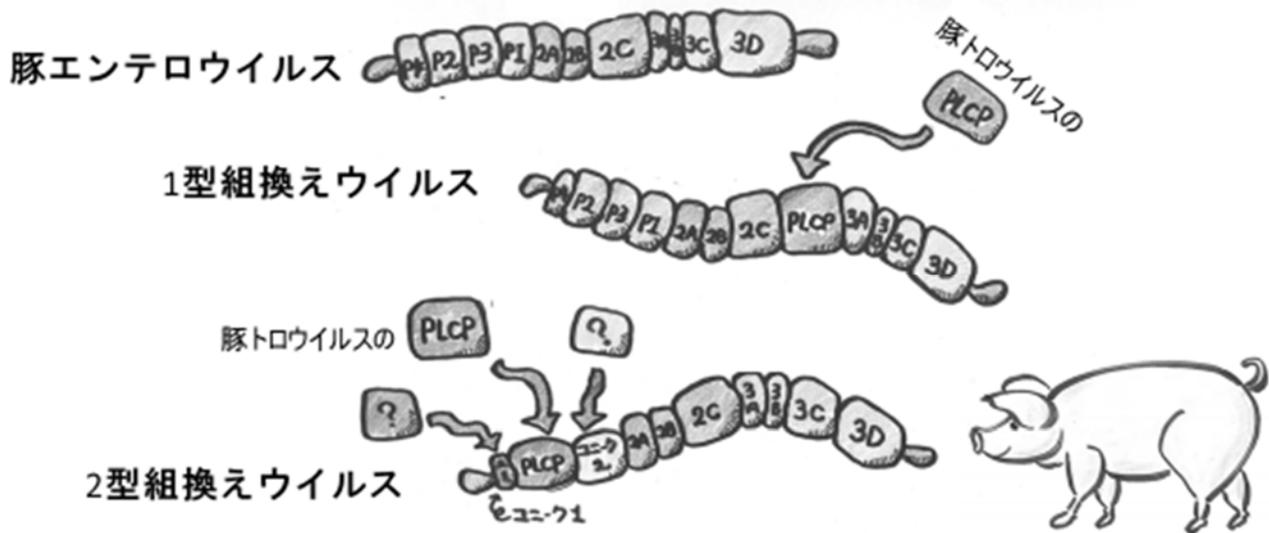


図5 ピコルナウイルス科とコロナウイルス科のゲノムの組換え

我々が日本の豚農場の糞便から次世代シーケンサーを用いて発見した新しい組換えウイルスのゲノム構造である。

検査の問題点

新型コロナウイルスの PCR 検査は、一般には Nucleocapsid タンパク質をコードする mRNA10 をターゲットにしたリアルタイム PCR が行われている。これは国立感染症研究所が N セット、N2 セットとして地方衛生研究所に提示した検査法がそのまま普及したものである。Nucleocapsid タンパク質はウイルスゲノムに結合するという性質を持っており、変異の少ないタンパク質である。新型コロナウイルスの PCR 検査は大量・簡易・迅速・高感度の方向へ工夫されている。著者らは PSS 社と全自動のリアルタイム PCR 装置、日本板硝子社とハンディータイプのリアルタイム PCR 装置について共同研究契約のもとに研究を進めている。日本では CRISPR システムを応用した CONAN 法¹⁰⁾や RNA の G4 という特殊構造に着目した SATIC 法¹¹⁾が開発されている。長い歴史を持ち核酸の検出においては圧倒的な優位に立っている PCR 法にとって代わる技術が出てくるかもしれない。検出限界ギリギリのウイルス量は他人に感染する可能性は極めて低い。新型コロナウイルスでは陽性者の入院・隔離・自宅待機などを行う必要があるため、極めて少ないウイルス量を検出することの意義が問われている。ウイルス抗原の検出では、インフルエンザウイルスのようなイムノクロマト法が開発されている。抗体検査は ELISA 法をベースにした方法がある。各社からキットが販売されているが、結果が一致していないという問題は解決されていない。ELISA のカットオフ値はある程度の経験(ウイルスの蔓延年数)によるところがある。新型コロナウイルスのように発生してから日の浅いウイルス感染症では、ELISA などの抗体検査法が落ち着くまでには時間がかかるのは仕方のないことである。

ワクチンが集団免疫を作る

新型コロナウイルスに対する有効なワクチンは開発可能であると考えられる。しかし、上記のように ADE が起こるか否かについては確認が必要である。ウイルス感染症を終息させるために集団免疫を獲得することは有効な手段である。国民の 6 割以上が感染し中和抗体などの免疫を獲得すると、感染者数は減って行き終息に至る。しかし、集団免疫を獲得するために払わなければならない犠牲は計り知れない。単純な計算を試みる。たとえば、人口 1 億人の国で集団免疫を獲得しようとする場合、6,000 万人が自然感染し

なければならない。つまり、致死率1%の感染症の場合は60万人が死亡してしまうことになる。致死率5%の場合には300万人におよぶ。死亡者数÷感染者数を致死率とすると、世界では10月時点で約3%の致死率になる。世界の人口を76億人とすると2.3億人の犠牲を払わなければ集団免疫を獲得できないことになる。集団免疫の獲得を目指していた国もあったが、かなりの覚悟が必要な政策である。ところが集団免疫を獲得したという地域がプレプリントの論文で発表された¹²⁾。ブラジルのアマゾナス州の州都マナウスは人口220万人の約66%が抗体を持っているという。確かに5月を感染者数のピークとしてその後は激減している。しかし、マナウスの10万人あたりの死者数は101人であり、国別では1位のペルーの102人とほぼ同数である。

ワクチンの開発競争

集団免疫を安全に獲得するための方法はワクチン以外にはない。新型コロナウイルス感染症に対するワクチンレースが激化している。仮にワンショット分のワクチンが1,000円とした場合、全世界の人が接種すると76兆円の売り上げになる。世界のGDP総額は約8,000兆円と見積もられているので、その100分の1に相当する。世界の人口の半数がワクチンを接種した場合でもGDPの200分の1である。各社ができるだけ早くワクチンの承認を取り販売するために競っているか納得できる数値である。もちろん、開発を急ぐのは人道的な理由が大きいことも付け加えておく。これまで我々が接種されてきたワクチンは弱毒生ワクチン、不活化ワクチン、サブユニットワクチンなどのウイルスを加工したものが主流であった。しかし、新型コロナウイルスではアデノウイルスベクターワクチン、mRNAワクチン(DNAワクチン)などの新しい手法のワクチンが治験に入っている。ウイルスベクターを利用したワクチンでは2019年12月に米国FDAが承認したエボラウイルスワクチンが有名である。このワクチンでは水疱性口内炎ウイルス(VSV)ベクターを用いている。エボラ出血熱はP4ウイルスとして有名だが、感染者数は少ない。そのためこのワクチンは限定的な地域への接種になる。一方、新型コロナウイルスでは多くの国の多くの人に投与されることになるので、ウイルスベクターの安全性を十分に確認した上で承認される必要がある。また、mRNAワクチンやDNAワクチンがヒトのワクチンとして用いられた例はない。新型コロナウイルスのワクチンは治験の段階からその効果などが論文として発表されている。ファイザーのmRNAワクチン¹³⁾やガマレヤ研究所¹⁴⁾のアデノウイルスベクターワクチン(スプートニクV)は、いずれも新型コロナウイルスに感染して回復した人達よりも高い抗体価を誘導できることが示されている。その一方で、アストラゼネカのアデノウイルスを使ったワクチンの治験で、横断性脊髄炎を出したケースがあり治験が一時期中止された。ワクチンは健康なヒトに接種するので副作用については特に注意が払われている。

治療薬の慌ただしい動き

新型コロナウイルスに対する治療薬の基本的な考え方は、ドラッグリポジショニングである。つまり、他の疾患を治療する目的で使われている薬を新型コロナウイルスの治療薬として転用している。その理由はすでに治療薬として承認されているので、用量や用法、副作用が明らかになっているので医師が使いやすいからである。たとえば、レムデシビルはエボラ出血熱、アビガンはインフルエンザ、クロロキンはマラリア、カレトラ・イオナビル・リトナビルはHIV感染症、イベルメクチンは腸管糞線虫、シクレソニドは気管支喘息、カモスタットは急性膵炎に使われている、もしくは使われていた。この中でクロロキンとイベルメクチンの効果に関する論文は、情報元の会社に不備があり取り下げられている(イベルメクチンの論文はプレプリント)。2020年10月はこれらの薬の評価がある程度定まった月である。WHO(世界保健機構)はレムデシビル、ヒドロキシクロロキン、インターフェロン、イオナビルとリトナビルには効果が認められないことを発表した(10月15日)。その少し前に新型コロナウイルス陽性を発表したアメリカ合衆国のトランプ大統領はレムデシビルを投与されている。また、10月22日にはFDA(米国食品医薬品局)はBeigelらの論文¹⁵⁾等を根拠に

レムデシビルを新型コロナウイルスの治療薬として承認している。日本はレムデシビルを5月7日にすでに承認済みである。10月16日、富士フィルム富山化学はアビガンを新型コロナウイルスの治療薬として申請した。

猫が終息の鍵を握る

獣医学の領域では伴侶動物などへの感染が気になる場所である。新型コロナウイルスは中国武漢市で野生のコウモリなどから感染したと考えるのが妥当なので、人獣共通感染症（もしくは動物由来感染症）である。全世界で多くの人々が新型コロナウイルスに感染しているため、飼い犬・猫に感染するとしても驚くべきことではない。これまでにヒトから感染したことが確認されている動物は、犬、猫、マレートラ、ミンクである。犬はほとんど症状が出ないとされているが、猫やマレートラは軽い呼吸器症状を起こす場合がある。アメリカではミンクが発症すると1日以内に死亡し、累計1万頭死亡していると報道されている。一方、デンマークでもミンクの感染が報告され250万頭が殺処分される見込みである。10月下旬のヒトにおける死亡数の2倍以上が殺処分されてしまうことになる。新型コロナウイルスの実験感染では、猫、フェレット、ゴールデンハムスターに感染することが確認されている^{16), 17)}。論文では猫から猫への感染、フェレットからフェレットへの感染が成立している。しかし、豚や鶏には感染が成立していない。現在、中国武漢市ではコウモリなどの野生動物からヒトへの感染は起こっていないと考えられる。したがって、現在の新型コロナウイルスは動物由来感染症からヒト由来感染症に移行しているといえる。日本では8月に2頭の犬で感染が確認されている。その後、著者らも犬での感染を確認している（論文準備中）。犬や猫に新型コロナウイルスが感染しても、その多くはウイルスの排出期間が1週間前後と短い。しかも、現状では犬や猫は飼い主から感染したと考えてほぼ間違いない。ヒトでは感染してから最大3週間くらいウイルスを放出すると仮定すると、同居している犬や猫は飼い主よりも早くウイルスフリーになると考えられる（図6）。いま気を付けなければならないことは、特に感染した猫が外に出て野生動物に感染させることである。豚熱は豚へのワクチン接種により養豚場での感染を抑えることができるが、イノシシへの感染が拡大しているため終息が困難になっている。新型コロナウイルスに感染した猫が野外でハクビシンなどの野生動物へ感染させると、新たな感染源を作ることになってしまい終息への道が遠くなってしまう。

次に出現するコロナウイルス

2002年にSARSが突如出現し、2012年にMERSが出現した（図4）。その後、コウモリから豚に感染して子豚を大量死させたSADS（swine acute diarrhoea syndrome coronavirus：豚急性下痢症候群）が2017年に出現した¹⁸⁾。そして、2019年に新型コロナウイルス感染症（COVID-19）が我々の前に姿を現した。このようにコロナウイルスが野生動物からヒトや動物に感染して被害を及ぼすサイク



図6 飼い主から猫への感染

飼い主のウイルス量がピークに達したときに飼い猫に感染することを想定した。このほかのパターンも考えられる。

ルは短くなってきている。それゆえ、次にアウトブレイクするコロナウイルスはすでにコウモリなどの野生動物の中に準備されていると考えても良い。ここで大胆に予測すると、次のコロナウイルスはコウモリからではなく、牛から感染してくるかもしれない。牛コロナウイルスは冬季に下痢を起こす畜産界では重要なウイルスであり、効果のあるワクチンが開発されている。そのため、牛コロナウイルスはコロナウイルスの中では地味な存在である。ところが、牛コロナウイルスの他の動物への感染力は他のコロナウイルスと比べものにならないくらい強いのである。上述のように、ヒトコロナウイルス OC43 は分子時計の研究から 1890 年に牛コロナウイルスから分岐してきたとされている²⁾。この論文の中には、1889 年から世界的に流行した風邪のウイルスがヒトコロナウイルス OC43 であったのではないかというディスカッションがある。また、ヒトに下痢を起こすヒトコロナウイルス 4408 も牛コロナウイルスに近縁である¹⁹⁾。さらに、ウシコロナウイルスは少なくとも 20 種類以上の野生動物に感染していることが知られている²⁰⁾。この中には変異して牛以外の動物に感染できるようになったものもあると考えられる。このように考えると、再びウシコロナウイルスからヒトに感染するウイルスが出現しても不思議ではない。

SADS-CoV の再興

上記の豚の SADS は 2017 年に中国広東省で突如出現した。広東省といえば SARS が発生したところである。4 か所の豚農場で SADS が発生し 24,000 頭以上の豚が下痢や嘔吐を起こして死亡した。SADS-CoV は養豚場近くの洞窟に棲息するキクガシラコウモリから 2016 年に分離されたコウモリコロナウイルスと 98% の相同性があった。一旦は終息したかに見えた SADS であったが、2019 年に再びその姿を現したのである²¹⁾。豚の間で慢性的に感染していたことは考えられないので、キクガシラコウモリのコロニーの中で受け継がれていた SADS-CoV が再び豚に感染したか、コウモリコロナウイルスから再び SADS-CoV が誕生して感染したと考えられる。

おわりに

ここまで新型コロナウイルスについて、いわゆる理系の分野から情報の提供をおこなってきた。しかし、新型コロナウイルス感染症は社会や経済にも大きく影響している。次々と襲ってくる感染症に対して、すでに理系分野だけで解決できる時代は終わっている。数年で新型コロナウイルス感染症が終息を迎えても、新たなウイルス感染症は必ず人類を襲ってくる。その前提に立って、文系と理系分野が共同して感染症対策をシミュレーションして次に備えることが重要である。最後に、新型コロナウイルス感染症で亡くなられた方々のご冥福をお祈り申し上げます。

文献

- 1) Ma S, Lai X, Chen Z, et al. (2020) Clinical characteristics of critically ill patients co-infected with SARS-CoV-2 and the influenza virus in Wuhan, China. *Int J Infect Dis.* 96. 683-687.
- 2) Vigen L, Keyaerts E, Moes E, et al. (2015) Complete genomic sequence of human coronavirus OC43: molecular clock analysis suggests a relatively recent zoonotic coronavirus transmission event. *J. Virol.* 79: 1595-1604.
- 3) Yuen CK, Lam JY, Wong WM, et al. (2020) SARS-CoV-2 nsp13, nsp14, nsp15 and orf6 function as potent interferon antagonists. *Emerg Microbes Infect.* 9. 1418-1428.
- 4) Tillett RL, Sevinsky JR, Hartley P, et al. (2020) Genomic evidence for reinfection with SARS-CoV-2: a case study. *The Lancet Infect Dis.* [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30764-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30764-7)
- 5) Plane JA, Liu Y, Liu J, et al. (2020) Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. *Nature*

<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2895-3>

- 6) Woo PC, Lau SK, Lam CS. et al. (2012) Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus.: *J. Virol.* 86: 3995-4008.
- 7) Tsuchiaka S, Naoi Y, Imai R. et al. (2018) Genetic diversity and recombination of enterovirus G strains in Japanese pigs: High prevalence of strains carrying a papain-like cysteine protease sequence in the enterovirus G population.: *PLoS One.* 13: e0190819.
- 8) Nagata A, Sekiguchi Y, Oi T. et al. (2020) Genetic diversity of enterovirus G detected in faecal samples of wild boars in Japan: identification of novel genotypes carrying a papain-like cysteine protease sequence.: *J. Gen. Virol.* 101: 840-852.
- 9) Imai R, Nagai M, Oba M. et al. (2019) A novel defective recombinant porcine enterovirus G virus carrying a porcine torovirus papain-like cysteine protease gene and a putative anti-apoptosis gene in place of viral structural protein genes.: *Infect. Genet. Evol.* 75: 103975
- 10) Yoshimi K, Takeshita K, Yamayoshi S, et al.: Rapid and accurate detection of novel coronavirus SARS-CoV-2 using CRISPR-Cas3. medRxiv <https://doi.org/10.1101/2020.06.02.20119875>
- 11) Fujita H, Kataoka Y, Tobita S, et al. (2016) Novel One-Tube-One-Step real-time methodology for rapid transcriptomic biomarker detection: Single amplification by ternary complexes. *Anal. Chem.* 88, 7137-7144.
- 12) Buss LF, Prete Jr CA, Abraham CMM, et al.: COVID-19 herd immunity in the Brazilian Amazon. medRxiv. <https://doi.org/10.1101/2020.09.16.20194787>
- 13) Mulligan MJ, Lyke KE, Kitchin N, et al. (2020) Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. *Nature* 586: 589-593.
- 14) Logunov DY, Dolzhikova IV, Zubkova O, et al. (2020) Safety and immunogenicity of an eAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomized phase 1/2 studies from Russia. *Lancet* 396:887-897.
- 15) Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. (2020) Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Final Report. *N Engl J Med* 10.1056/NEJMoa2007764
- 16) Shi J, Wen Z, Zhong G, et al. (2020) Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science* 368: 1016-1020.
- 17) Sia SF, Yan LM, Chin AWH, et al (2020) Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. *Nature* 583: 834-838.
- 18) Zhou P, Fan H, Lan T, et al. (2018) Fatal swine acute diarrhoea syndrome caused by an HKU2-related coronavirus of bat origin. *Nature* 556, 255-258.
- 19) Han MG, Cheon DS, Zhang X, et al. (2006) Cross-protection against a human enteric coronavirus and a virulent bovine enteric coronavirus in gnotobiotic calves. *J Virol.* 80. 12350-12360.
- 20) Amer HM. (2018) Bovine-like coronaviruses in domestic and wild ruminants. *Anim Health Res Rev.* 19. 113-124.
- 21) Zhou L, Li QN, Su J, et al. (2019) The re-emerging of SADS-CoV infection in pig herds in Southern China. *Transbound Emerg Dis.* 66. 2180-2183.

1 はじめに

猫伝染性腹膜炎(Feline infectious peritonitis: FIP)は免疫介在性血管炎を特徴とするネコ科動物の致死性コロナウイルス感染症である。FIPは1963年に米国で報告されて以来¹⁾、世界各国のイエネコおよび他のネコ科動物においてその発症が認められている^{2),3)}。本病はネコ科動物以外での発症は確認されていない(ただし、その病原体は乳のみマウス等の脳内で増殖可能⁴⁾)。

本稿では、FIPの病原体であるネココロナウイルス(FCoV)の特徴を記すとともに、FIPの発症機序、抗体依存性感染増強、ワクチンおよび治療薬の開発状況をお伝えする。

2 ネココロナウイルス(FCoV)の特徴

FIPの病原体はネココロナウイルス(FCoV)である。国際ウイルス分類委員会(ICTV)の分類によると、FCoVはアルファコロナウイルス属、テガコウイルス亜属に分類されるアルファコロナウイルス1種の亜種として、イヌコロナウイルス(CCoV)および豚の伝染性胃腸炎ウイルス(TGEV)とともに属している(<https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>)。アルファコロナウイルス1に属するウイルスは、共通の祖先ウイルスから分化したと考えられている⁵⁾。FCoVのゲノムおよび構造は他のアルファコロナウイルス属のウイルスとほぼ同じである⁶⁾。

FCoVはSpike(S)タンパク質の抗原的性質の違いからI型FCoVとII型FCoVの二つの血清型に分けられる⁷⁾。なお、I型FCoVはプロトタイプFCoVであり、II型FCoVはI型FCoVとII型CCoVの遺伝子組換え体である⁸⁾(CCoVにもI型CCoVとII型CCoVの二つの血清型が存在する⁹⁾)。世界各国において、FCoV感染ネコの多くはI型FCoVに感染している(70-90%)^{10),11)}。

FCoVは宿主に対する病原性の違いによって猫腸コロナウイルス(FECV)とFIPウイルス(FIPV)の二つの生物型に区分される^{11),12)}。FECVはネコに腸炎を起こす病原体として認識されている¹²⁾。FECVの病原性は弱く、FECV感染ネコの大半は無症状(不顕性感染)であると考えられる¹³⁾。一方、FIPVはネコ科動物の致死性疾患であるFIPの原因ウイルスである。FIPVはネコに感染したFECVがネコ体内において遺伝子の一部が変異して生じたものと推察されているが、FECVとFIPVを明確に区別する因子は未だ同定されていない¹⁴⁾。FECV感染ネコでは糞便中にウイルスが多量に排出されているが、FIP発症ネコでは糞便中に排出されるウイルス量は少ない¹⁴⁾。以上のことから、飼育環境下ではネコ同士の濃厚接触がない限りFIPVの感染リスクは低いと考えられる¹⁵⁾。FECVおよびFIPVの感染様式を図1に示す。

3 FIPの発症機序

FIPの発症機序については未だ解明されていない部分も少なくない。現時点におけるFIPの発症機序(推定)を以下に記載した。

経口的にネコ体内に取り込まれたFCoVは、直腸に達してその上皮細胞で盛んに増殖する。このとき、FCoVが遺伝子変異を生じて単球/マクロファージへの感染性を獲得することがある。このウイルスがFIPVである。FIPVは単球に感染することで全身の諸臓器に伝播し、それぞれの部位で病変を形成すると考えられる。FIPの特徴的病変として漿膜炎および化膿性肉芽腫が認められる¹⁶⁾。また、FIPを発症したネコでは体腔(特に腹腔)における滲出液の貯留が認められる。この現象の発生

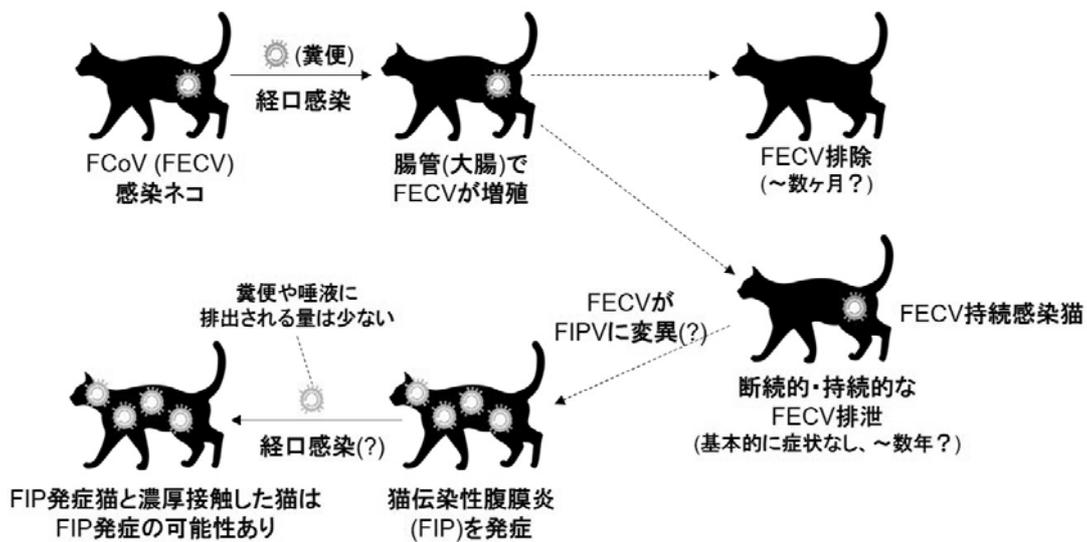


図1 FCoV(FECV および FIPV)の感染様式。

機序は長らく不明であったが、我々は、滲出液が多く貯留した FIP 発症ネコにおいて血管内被増殖因子(VEGF)が多く産生されていることを明らかにした¹⁷⁾。これを踏まえると、FIPV に感染した単球/マクロファージから VEGF が盛んに産生されることで血管透過性を亢進し、その結果、体腔への滲出液の貯留が誘発されると推察される。FIP では FIPV 感染マクロファージから様々な炎症性サイトカインが放出されるが、その中で特に TNF- α が症状の悪化に関与するのではないかと考えられている¹⁸⁾。

4 抗体依存性感染増強(Antibody-dependent enhancement: ADE)

ADE とは抗体の存在下においてウイルスの感染が増強される現象で、1964 年に Hawkes によって初めて報告された¹⁹⁾。これまで、フラビウイルス科を中心に多くのウイルスにおいて ADE が確認されているが、そのほとんどは培養細胞や実験動物を使用した事例である。本来の宿主において ADE が実証されているウイルスは非常に少ない^{20),21)}。

FIPV は宿主において ADE を発現することが確認されている数少ないウイルスの一つである。FIPV 感染ネコ由来の抗体をネコに受身免疫した後に FIPV を攻撃すると、受身免疫していないネコと比べて FIP の発症が早まる²²⁾。筆者の知る限り、抗体を受身免疫した宿主をウイルスで攻撃して ADE 発現が確認されている感染症は FIP とミンクアリューション病のみである^{22),23)}。

FIPV の ADE の発現については、1980 年に Pedersen と Boyle が初めて報告した²²⁾。彼らは抗 FCoV 抗体陽性のネコを FIPV で攻撃すると抗 FCoV 抗体陰性のネコと比較して発症が早まることを確認した。この結果を受けて、FIPV の ADE に関する研究が始まった。北里大学の宝達らは FIPV に対する様々なモノクローナル抗体を作出し、Fc レセプターを持たない CrFK 細胞と Fc レセプターを有するネコマクロファージにおける FIPV の中和・ADE の機序を解析した。その結果、CrFK 細胞で FIPV 感染を抑制する抗体(中和抗体)²⁴⁾の中に、ネコマクロファージにおいて ADE を誘発するものが存在することを初めて証明した²⁵⁾。これらの抗体はいずれも FIPV の S タンパク質を認識するものであった。また、FIPV を中和する最小限の抗体濃度で ADE 発現が強く認められること²⁵⁾、ADE を誘発するモノクローナル抗体はそのサブクラスが影響すること²⁶⁾、ネコマクロファージにおける FIPV の ADE 発現はウイルスレセプター(APN:CD13)を使用せずに Fc レセプターのみを使用すること²⁷⁾、を相次いで明らかにした。さらに、宝達らは ADE を発現するモノクローナル抗体(CrFK 細胞で FIPV を中和する抗体)を数種類使用して、FIPV の中和抵抗変異株を作出し、S タンパク質の中

和エピトープと ADE エピトープの関連性を解析した²⁸⁾。その結果、FIPV の S タンパク質の中和エピトープは ADE エピトープと一致する可能性が明らかとなった。即ち、ワクチンや受身免疫による中和抗体の賦与は、FIP の発症を早めることが示唆された。

以上より、FIP では中和抗体が ADE に関与することが明らかとなった。しかし、野外では抗 FCoV 抗体保有ネコが多く存在するにもかかわらず、そのようなネコで FIP 発症が早まったとの報告はなされていない。実際、ADE の解析に用いられていたウイルスは II 型 FIPV であり、野外に多く存在する I 型 FIPV では ADE 発現は認められない可能性が推察された。そこで、我々は I 型 FIPV における ADE 発現を確認するため、I 型 FIPV 感染ネコ由来の血清または腹水精製 IgG をネコに受身免疫した後に I 型 FIPV を攻撃して経過を観察した²⁹⁾。その結果、エビデンスに基づく予想に反して、受身免疫したネコでは対照群である受身免疫をしていないネコと比べて FIP の発症率が有意に上昇するとともに発症時期が早まるということが判明した。一方、抗体と FIPV が異なる関係(抗 II 型 FIPV 抗体+I 型 FIPV)では、受身免疫群と対照群において FIP の発症率および発症時期に差は認められなかった。即ち、野外に多い I 型 FIPV でも ADE が発現すること、FIPV の ADE は抗体とウイルスの血清型が同一の場合に生じることが明らかとなった。FIPV の ADE の特徴を図 2 に示した。

FIPVのADE・・・中和抗体 (S蛋白質に対する抗体) が関与。単球/マクロファージで発現。

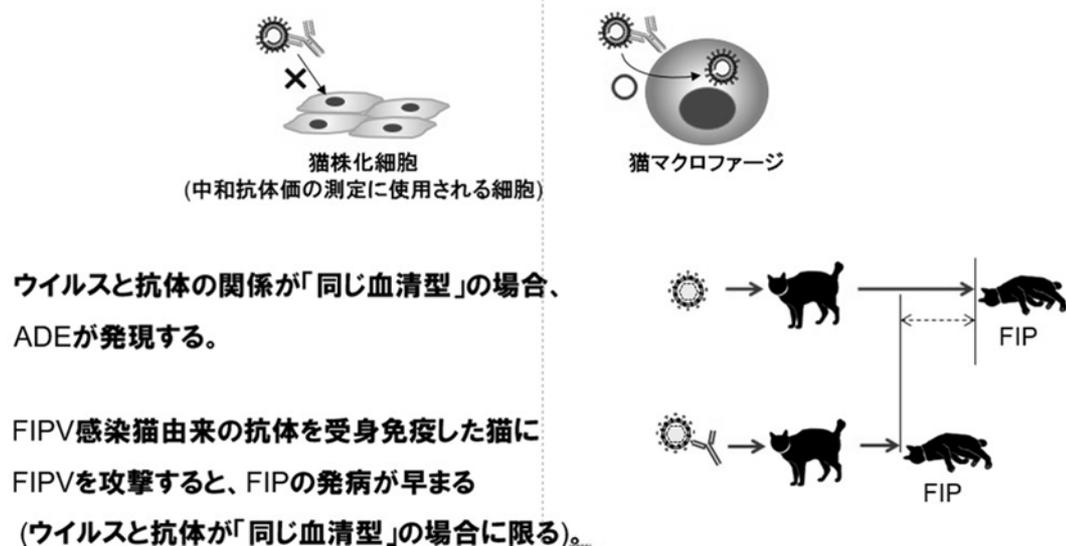


図 2 FIPV の ADE の特徴。

ADE は FIP の重症化に関与する可能性が示唆されている。FIPV と抗 FIPV S タンパク質モノクローナル抗体を接種したネコマクロファージでは、FIPV のみを接種した場合と比較して、ウイルスの増殖が増加するとともに TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、GM-CSF、VEGF などが多量に産生される^{17),31)-33)}。これらのサイトカインはいずれも FIP の病態悪化に関与すると考えられている。以上を踏まえると、FIPV 感染後のネコ体内では、抗体が産生されるとともに FIPV のマクロファージへの感染効率が上昇し、マクロファージからサイトカインが過剰に産生されるのではないかと推察される。しかし、マクロファージからのサイトカイン産生が過剰になったとしても FIP の病態悪化につながるとは考えにくい。Malbon らは FIP 発症ネコの心臓および肝臓において TNF- α 、IL-1 β および IL-6 の mRNA の発現が増加していることを報告した³⁴⁾。著者の推察であるが、FIPV 感染マクロファージ、特に ADE を発現したマクロファージでは様々なサイトカインや炎症性メディエーターが放出され、これらが心臓や肝臓の細胞に作用して、炎症性サイトカインの放出を促すのではないかとと思われる。この結果、FIP 特有の臨床病理学的所見を示すのではないかと考えられる。

5 FIP のワクチンおよび治療薬

日本ペットフード協会によると、2019年のネコの推定飼養頭数は約980万頭であった(<https://petfood.or.jp/topics/img/191223.pdf>)。伴侶動物であるネコは家族の一員として扱われることが多く、そのため飼いネコの病気に対しても関心が大きいのが実情である。このような背景において、致死性感染症であるFIPに対する実用的なワクチン・治療薬の開発が強く求められている。

FIPV感染およびFIPの発症を防ぐワクチンについては数多くの研究がなされてきた。一部の国においてはII型FIPVの低温継代株を使用した経鼻接種用弱毒生ワクチンが使用されている。このワクチンは鼻腔・咽喉頭周囲の粘膜から抗FIPV IgAを誘導することで、FIPVの経口・経鼻感染を防ぐことを目的としている³⁵⁾。しかし、上述の通り、世界各国ではII型FIPVではなくI型FIPVが大部分を占めていることから、本ワクチンの使用には疑問が残る。これまで報告されたワクチンの中でFIPの発症を有意に抑制したものは2つ存在する。一つはORF3遺伝子およびORF7遺伝子を欠損させた組換えFIPVを抗原とした弱毒生ワクチン³⁶⁾、もう一つはバキュロウイルス組換えFIPV Nタンパク質を抗原としたコンポーネントワクチン³⁷⁾である。残念ながら、これらはいずれも実用化に至っていない。しかし、これらの研究結果を踏まえると、FIPVに対するワクチンを開発することは決して夢物語ではない。FIPの発症防御には細胞性免疫が重要である³⁸⁾。我々はFIPV由来タンパク質において細胞性免疫を優性に誘導する部分をいくつか同定しており^{39),40)}、今後はこれらをFIPのワクチンとして応用できるか否かを検討する必要がある。

FIPに対する治療薬も数多くの研究がなされている。FIPの治療薬として有力視されているのはGS-441524(ヌクレオシドアナログ)とGC376(3CLプロテアーゼインヒビター)である^{41),42)}。前者は新型コロナウイルス感染症の治療薬として用いられているレムデシビルの代謝活性型である。残念ながら動物用製剤として認可されておらず、実験用試薬以外の用途で入手することは出来ない。我々は、抗真菌薬のイトラコナゾールが、後期エンドソームのコレステロール輸送を阻害すると同時にI型FIPVの細胞内侵入を抑えることを報告した。また、ネコTNF- α の活性を中和するヒト抗TNF- α 製剤(アダリムマブ)を投与したFIP発症ネコにおいて治療効果が得られることを確認した。FIPはウイルス感染症であるとともに免疫が大きく関与する疾患である。即ち、一つの薬剤でFIPを治療することは困難であると思われる。今後は、HIV感染患者の治療に応用されている抗レトロウイルス療法(ART:複数の抗ウイルス薬を併用する治療法)の様に、これらの薬物を上手く併用することで、FIPを確実に治療できる方法が開発されることが望まれる。また、獣医療の現状を考えると、今後は安価で安全なFIPの治療薬の開発・同定が期待される。

参考文献

- 1) Holzworth, J. (1963), *Some important disorders of cats*, Cornell Vet, 53, 157-160.
- 2) Lutz H, Hauser B, Horzinek MC. (1986), *Feline infectious peritonitis (FIP) -the present state of knowledge*, J Small Anim Pract, 27(2), 108-116.
- 3) Stephenson N., Swift P, Moeller RB, et al. (2013), *Feline infectious peritonitis in a mountain lion (Puma concolor), California, USA*, J Wildl Dis, 49(2), 408-412.
- 4) Osterhaus AD, Horzinek MC, Wirahadiredja RM, et al. (1978), *Feline infectious peritonitis (FIP) virus. IV. Propagation in suckling rat and hamster brain*, Zentralbl Veterinarmed B, 25(10), 816-825.
- 5) Lorusso A, Decaro N, Schellen P, et al. (2008), *Gain, Preservation, and Loss of a Group 1a Coronavirus Accessory Glycoprotein*, J Virol, 82(20), 10312-10317.
- 6) Dye C, Siddell SG. (2005), *Genomic RNA sequence of Feline coronavirus strain FIPV WSU-79/1146*, J Gen Virol, 86, 2249-2253.
- 7) Motokawa K, Hohdatsu T, Aizawa C, et al. (1995), *Molecular cloning and sequence determination of the peplomer protein gene of feline infectious peritonitis virus type I*, Arch Virol, 140(3), 469-480.
- 8) Terada Y, Matsui N, Noguchi K, et al. (2014),

- Emergence of Pathogenic Coronaviruses in Cats by Homologous Recombination between Feline and Canine Coronaviruses*, PLoS One, 9(9), e106534.
- 9) Takano T, Yamashita S, Murata-Ohkubo M, et al. (2016), *Prevalence of canine coronavirus (CCoV) in dog in Japan: detection of CCoV RNA and retrospective serological analysis*, J Vet Med Sci, 78(2), 341-345.
 - 10) Hohdatsu T, Okada S, Ishizuka Y, et al. (1992), *The prevalence of types I and II feline coronavirus infections in cats*. J Vet Med Sci, 54, 557–562.
 - 11) Pedersen NC. (2009), *A review of feline infectious peritonitis virus infection: 1963–2008*, J Feline Med Surg, 11, 225–258.
 - 12) Pedersen NC, Black JW, Boyle JF, et al. (1984), *Pathogenic differences between various feline coronavirus isolates*. Adv Exp Med Biol, 173, 365-380.
 - 13) Pedersen NC. (2014), *An update on feline infectious peritonitis: virology and immunopathogenesis*, 201(2), 123-132.
 - 14) Barker EN, Stranieri A, Helps CR, et al. (2017), *Limitations of using feline coronavirus spike protein gene mutations to diagnose feline infectious peritonitis*. Vet Res, 48(1), 60.
 - 15) Barker EN, Tasker S, Gruffydd-Jones TJ, et al. (2013), *Phylogenetic Analysis of Feline Coronavirus Strains in an Epizootic Outbreak of Feline Infectious Peritonitis*, J Vet Intern Med, 27(3), 445-450.
 - 16) Kipar A, Meli ML. (2014), *Feline Infectious Peritonitis; Still an Enigma?*, Vet Pathol, 51(2), 505-526.
 - 17) Takano T, Ohyama T, Kokumoto A, et al. (2011), *Vascular endothelial growth factor (VEGF), produced by feline infectious peritonitis (FIP) virus-infected monocytes and macrophages, induces vascular permeability and effusion in cats with FIP*, Virus Res, 158(1-2), 161-168.
 - 18) Takano T, Hohdatsu T, Hashida Y, et al. (2007), *A “possible” involvement of TNF-alpha in apoptosis induction in peripheral blood lymphocytes of cats with feline infectious peritonitis*, Vet Microbiol, 119(2-4), 121-131.
 - 19) Hawkes RA, (1964), *ENHANCEMENT OF THE INFECTIVITY OF ARBOVIRUSES BY SPECIFIC ANTISERA PRODUCED IN DOMESTIC FOWLS*, Aust J Exp Biol Med Sci, 42, 465-482.
 - 20) Tirado SMC, Yoon KJ. (2003), *Antibody-dependent enhancement of virus infection and disease*. Viral Immunol, 16(1), 69-86.
 - 21) Takada A, Kawaoka Y. (2003), *Antibody-dependent enhancement of viral infection: molecular mechanisms and in vivo implications*, Rev Med Virol, 13(6), 387-398.
 - 22) Petersen NC, Boyle JF. (1980), *Immunologic phenomena in the effusive form of feline infectious peritonitis*. Am J Vet Res, 41(6), 868-876.
 - 23) Porter DD, Larsen AE, Porter HG. (1972), *The pathogenesis of Aleutian disease of mink: II. Enhancement of tissue lesions following the administration of a killed virus vaccine or passive antibody*. J Immunol, 109(1), 1-7.
 - 24) Hohdatsu T, Okada S, Koyama H. (1991), *Characterization of monoclonal antibodies against feline infectious peritonitis virus type II and antigenic relationship between feline, porcine, and canine coronaviruses*, Arch Virol, 117(1), 85-95.
 - 25) Hohdatsu T, Nakamura M, Ishizuka Y, et al. (1991), *A study on the mechanism of antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis virus infection in feline macrophages by monoclonal antibodies*, Arch Virol, 120(3-4), 207-217.
 - 26) Hohdatsu T, Tokunaga J, Koyama H. (1994), *The role of IgG subclass of mouse monoclonal antibodies in antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis virus infection of feline macrophages*, Arch Virol, 139(3-4), 273-285.
 - 27) Takano T, Katada Y, Moritoh S, et al. (2008), *Analysis of the mechanism of antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis virus infection: aminopeptidase N is not important and a process of acidification of the endosome is necessary*, J Gen Virol, 89(4), 1025-1029.
 - 28) Kida K, Hohdatsu T, Fujii K, et al. (1999), *Selection*

- of antigenic variants of the S glycoprotein of feline infectious peritonitis virus and analysis of antigenic sites involved in neutralization, J Vet Med Sci*, 61(8), 935-938.
- 29) Takano T, Kawakami C, Yamada S, et al. (2008), *Antibody-dependent enhancement occurs upon re-infection with the identical serotype virus in feline infectious peritonitis virus infection, J Vet Med Sci*, 70(12), 1315-1321.
- 30) Takano T, Hohdatsu T, Toda A, et al. (2007), *TNF-alpha, produced by feline infectious peritonitis virus (FIPV)-infected macrophages, upregulates expression of type II FIPV receptor feline aminopeptidase N in feline macrophages, Virology*, 364(1), 64-72.
- 31) Takano T, Katoh Y, Doki T, et al. (2013), *Effect of chloroquine on feline infectious peritonitis virus infection in vitro and in vivo, Antiviral res*, 99(2), 100-107.
- 32) Takano T, Azuma N, Hashida Y, et al. (2009), *B-cell activation in cats with feline infectious peritonitis (FIP) by FIP-virus-induced B-cell differentiation/survival factors, Arch Virol*, 154(1), 27-35.
- 33) Takano T, Azuma N, Satoh M, et al. (2009), *Neutrophil survival factors (TNF-alpha, GM-CSF, and G-CSF) produced by macrophages in cats infected with feline infectious peritonitis virus contribute to the pathogenesis of granulomatous lesions, Arch Virol*, 154(5), 775-781.
- 34) Malbon AJ, Fonfara S, Meli ML, et al. (2019), *Feline infectious peritonitis as a systemic inflammatory disease: contribution of liver and heart to the pathogenesis. Viruses*, 11(12), 1144.
- 35) Gerber JD, Ingersoll JD, Gast AM, et al. (1990), *Protection against feline infectious peritonitis by intranasal inoculation of a temperature-sensitive FIPV vaccine. Vaccine*, 8(6), 536-542.
- 36) Haijema BJ, Volders H, Rottier PJ. (2004), *Live, attenuated coronavirus vaccines through the directed deletion of group-specific genes provide protection against feline infectious peritonitis, J Virol*, 78(8), 3863-3871.
- 37) Hohdatsu T, Yamato H, Ohkawa T, et al. (2003), *Vaccine efficacy of a cell lysate with recombinant baculovirus-expressed feline infectious peritonitis (FIP) virus nucleocapsid protein against progression of FIP, Vet Microbiol*, 97(1-2), 31-44.
- 38) de Groot-Mijnes JD, Van Dun JM, Van Der Most RG, et al. (2005), *Natural history of a recurrent feline coronavirus infection and the role of cellular immunity in survival and disease, J Virol*, 79(2), 1036-1044.
- 39) Satoh R, Furukawa T, Kotake M, et al. (2011), *Screening and identification of T helper 1 and linear immunodominant antibody-binding epitopes in the spike 2 domain and the nucleocapsid protein of feline infectious peritonitis virus, Vaccine*, 29(9), 1791-1800.
- 40) Takano T, Morioka H, Gomi K, et al. (2014), *Screening and identification of T helper 1 and linear immunodominant antibody-binding epitopes in spike 1 domain and membrane protein of feline infectious peritonitis virus, Vaccine*, 32(16), 1834-1840.
- 41) Pedersen NC, Perron M, Bannasch M, et al. (2019), *Efficacy and safety of the nucleoside analog GS-441524 for treatment of cats with naturally occurring feline infectious peritonitis, J Feline Med Surg*, 21(4), 271-281.
- 42) Pedersen NC, Kim Y, Liu H, et al. (2018), *Efficacy of a 3C-like protease inhibitor in treating various forms of acquired feline infectious peritonitis, J Feline Med Surg*, 20(4), 378-392.
- 43) Takano T, Akiyama M, Doki T, et al. (2019), *Antiviral activity of itraconazole against type I feline coronavirus infection, Vet Res*, 50(1), 5.
- 44) Takano T, Wakayama Y, Doki T. (2019), *Endocytic pathway of feline coronavirus for cell entry: differences in serotype-dependent viral entry pathway, Pathogens*, 8(4), 300.
- 45) Doki T, Toda M, Hasegawa N, et al. (2020), *Therapeutic effect of an anti-human-TNF-alpha antibody and itraconazole on feline infectious peritonitis. Arch Virol*, 165(5), 1197-1206.

伝染性気管支炎（IB）のワクチンについて

日生研株式会社
林 志鋒

【 はじめに 】

伝染性気管支炎（IB）は鶏のコロナウイルスである伝染性気管支炎ウイルス（IBV, *Coronaviridae*, *Gammacoronavirus*）によって引き起こされる鶏の感染症で、呼吸器症状、腎炎、産卵異常などの症状を示す。IBV の抗原性状はウイルス株によって多様で、血清学的に異なるウイルスが多数存在することが知られている¹⁾。また、ウイルスの病原性も弱いものから強いものまで幅広く、症状が認められない不顕性感染が多いことも本病の特徴の一つである。野外の鶏群ではそのほとんどが生涯にわたって繰り返し IBV の感染を受けており、本病の発症には感染ウイルスの病原性とともによくの要因が関連すると考えられている。これまでに数多くの IB ワクチンが開発され実用化されてきたが、現在もなおコントロールが難しい疾病の一つとなっている。本病の予防には本病の特性やワクチンについてよく理解し、効果的なワクチネーションを行うことが重要である^{1,2)}。本稿では IB 生ワクチンを中心に IB のワクチンとワクチネーションの現状について紹介する。

【 IB の症状と病型 】

ワクチンによる IB 予防という観点から IB の症状と病型について簡単に述べる。IB は「伝染性気管支炎」という名のとおり呼吸器症状を主徴とした呼吸器病を基本とする。発現する症状によって呼吸器病型、腎炎型及び産卵異常型に分けられる。いずれの病型も呼吸器におけるウイルスの増殖がその後の病態に影響すると考えられ、呼吸器でのウイルス増殖の抑制が IB 予防上重要となる。基本形となる呼吸器病型は呼吸器症状のみで終息することが多く、IBV の単独感染で死にいたることはほぼない。しかし、細菌の混合感染などを起こすと病状が悪化し被害が増大する。

腎臓に親和性が高いウイルスに感染した場合は、呼吸器症状に続いて腎臓障害が起こり腎炎型となる。この場合も感染当初は呼吸器でウイルスが増え、その後ウイルス血症とともに腎炎を発症する。腎炎型 IB では呼吸器症状の発現に気付かず腎炎が発症することもある。鶏群全体で腎炎が発症した場合、腎機能障害による大量の水様便によって激しい床汚れが認められる。腎炎で死亡した鶏の腎臓は肉眼的に特徴的な大理石様模様を呈し、致死率が高いことも特徴的である。IB による腎炎は若齢時での発生が多く、これは血中抗体価の動向が大きく関連すると考えられる。

IBV の感染により生殖器異常や産卵障害を起こした場合は産卵異常型となる。IB による産卵異常は、ウイルスが直接生殖器に病原性を示して生殖器の発育障害や卵巣及び卵管炎などを起こすケース（直接的作用）とウイルス感染により呼吸器障害、ストレス、二次感染、体力の低下、ホルモンバランス異常等さまざまな障害が起こり、結果的に産卵異常に至るケース（間接的作用）が考えられる。IB による産卵異常の対策は成鶏期におけるウイルス感染の予防はもとより、育成段階のウイルス感染による性成熟への影響を最小限に抑えることが重要となる。

【 IB 生ワクチンの歴史と種類^{1,3)} 】

国内における IB 生ワクチンの実用化は 1960 年代後半にさかのぼる。当初は、海外から導入されたウイルス株 2 株（H120 株、L2 株）と国内分離株 2 株（練馬株、ON 株）のそれぞれを製造用株とする 4 種類の生ワクチンで、これらのウイルスは Connecticut（C）タイプ（L2 株）あるいは

Massachusetts (M) タイプ (その他 3 株) の古典型 (クラシックタイプ) ウイルスであった。その後、ワクチン接種鶏群でも IB が発生し、当時のワクチンでは予防困難な野外株の流行が明らかとなり、1980 年代後半には従来の血清タイプと異なるいわゆる変異型 (バリエントタイプ) ワクチンとして初めてとなる C-78 ワクチンが開発された。1990 年代後半には国内で流行した腎炎型 IB に由来する新たな変異株 (TM-86 株および宮崎株) を用いた弱毒生ワクチンが開発され、2000

表1. 市販IB生ワクチンの製造用株一覧

血清タイプ	株名 (略称)	製品名
クラシックタイプ	練馬 KU	鶏伝染性気管支炎生ウイルス予防液 “京都微研”IB生ワクチン
	Ma5	ノビリス IB MA5
	H120	ポールバック IB H120
	H120	IB生ワクチン (H120G)
	H120	IB生ワクチン「BI」H120
	北-1	IB生ワクチン「NP」
	ON*	日生研NB生ワクチン
バリエントタイプ	L2*	NB(C)混合生ワクチン
	S95	ガルエヌテクト S95-IB
	C-78	日生研C-78・IB生ワクチン
	宮崎	日生研MI・IB生ワクチン
	AK01	アビテクト IB/AK
	GN	“京都微研”ポールセーバーIB
	TM-86	IB TMワクチン「KMB」
4-91	ノビリス IB 4-91	

*ニューカッスル病との混合生ワクチン

年代に入ると欧州を起源とする変異型ウイルスを製造用株とした 4/91 ワクチンが国内に導入された。その後、2000 年代中盤から近年にかけて新たな国内分離株である GN 株、AK01 株及び S95 株による生ワクチンが承認され実用化に至っている。2020 年 12 月現在、7 株のクラシックタイプと 7 株のバリエントタイプの計 14 株の弱毒ウイルスが IB 生ワクチン (ニューカッスル病との混合生ワクチンを含む) の製造用株として用いられている (表 1)。

【 IB 生ワクチンの投与方法 】

IB 生ワクチンは育成期から成鶏期にかけて複数回にわたって投与するが、ワクチンの接種時期や飼養形態によって、点眼 (点鼻)、飲水、散霧あるいは噴霧の方法で投与される (図 1)。

点眼 (点鼻) 投与は鶏を 1 羽ずつ保定してワクチンを鶏の眼あるいは鼻腔に滴下する方法で、最も確実にワクチンを接種することが可能な投与方法である。点眼 (点鼻) 投与は非

常に有効な投与方法であるが、多くの時間と労力がかかるため、種鶏を除き多くの農場でその採用は困難とされている。しかしながら、近年その確実性による有効性を重視し、複数回のワクチネーションのうち 1 回は点眼投与を採用するケースが見られるようになった。

飲水投与は鶏の飲水量に合わせて飲水で希釈し経口的に投与する方法で、IB 生ワクチンのワクチネーションプログラムにおいては初生を除く育成段階で多く採用されている。飲水投与は鶏にストレスを与えることなく省力的に行える方法であるが、ワクチンの損失が比較的多いことに加え、飲水量に個体差が生じやすく免疫にバラツキが起こりやすいという欠点がある。飲水投与では飲用水の脱塩素処理等とともに、可能な限り全羽が均一に摂取できるよう、断水および飲水時間の設定や

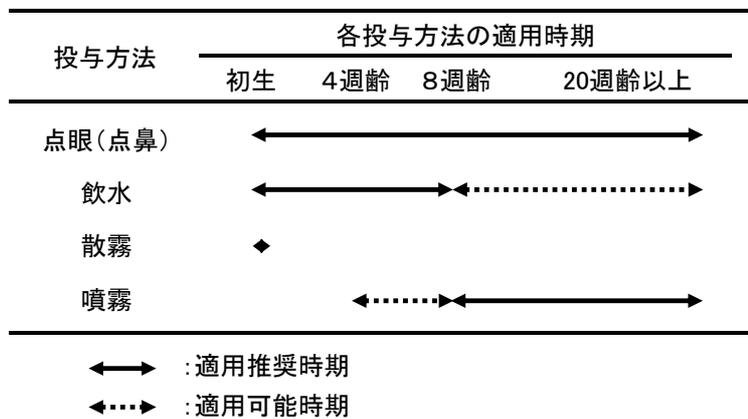


図1. IB生ワクチンの投与方法と適用時期

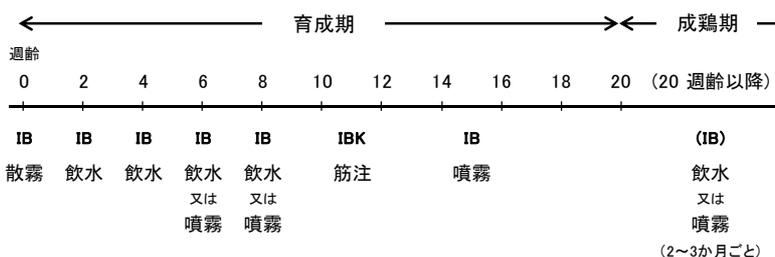
飲水システムの管理を徹底することが重要である。

散霧投与はスプレイヤーを用いて 100 μm 以上の比較的粗い粒子のワクチン液を噴射して投与する方法で、IB 生ワクチンの初生時における投与方法として応用される。この方法は点眼投与の代替法として考案され、輸送箱等に納められた一定羽数のひなの頭上からワクチン液を散霧し、ひなの眼（顔面）からワクチンが吸収されるのを期待する方法であるが、実際にはひなの体表や箱の内面に付着したワクチン液が経口的に取り込まれることが免疫の成立に関係すると考えられる。散霧投与方法では、その条件として適切なひなの収容密度とワクチンのテイクを定着させるための一定時間の収容箱内での確保が重要と考えられる。なお、散霧投与はその粒子径の大きさからワクチン液が気道の深部まで到達し難いことから、副反応の発現の心配はほぼない。

噴霧投与は 100 μm 以下の細かい粒子径のワクチン液を噴霧して投与する方法で、IB の生ワクチンでは中雛以降の鶏に応用される。スプレイヤーの噴射口をケージ内の鶏の頭部やや上方に向け鶏群全体に均一に噴射しながら鶏舎内を移動して投与する。特に細かい粒子（20 μm 以下）は呼吸器の深部にまで到達するため、強い免疫応答の誘導が期待される反面、呼吸器症状など副反応が発現する危険性がある。この副反応は若齢なひなでより発現しやすいことから、噴霧投与は通常 28 日齢以降に限定される。また、噴霧投与による副反応は IB 生ワクチンの接種歴がない場合も発現しやすいため、IB 生ワクチンとして 3 回目以降での採用が推奨される。

【IB のワクチネーションプログラム】

IB のワクチネーションプログラムは多様な抗原性のウイルスに対する幅広い免疫を付与させるため、生ワクチンをメインとした多数のワクチンの組み合わせにより構成される（図 2）。



IB: IB生ワクチン IBK: IB不活化ワクチン
図2. IBのワクチネーションプログラム

初生時及びそれに続く 2 回目の IB 生ワクチンは IB の初期免疫の付与と

して非常に重要である。初期のワクチネーションは各種 IBV に対する血中抗体の立ち上がりに影響する。母鶏からの移行抗体はふ化後早期の発症を抑えるが、ワクチンウイルスを含め IBV の感染を防ぐことはできない。そのため、生ワクチンを接種された初生ひなでは、移行抗体が消失する 2~3 週齢時を谷間として、移行抗体の消失とともにワクチン抗体の上昇が認められる（図 3）。腎炎型 IB の発症には血中抗体の有無が大きく影響するため、血中抗体が未熟な弱齢時で発症し易い。腎炎型 IB の発症予防には、野外ウイルスの侵入を防ぐことに加え、当該ウイルスに対する血中抗体を早期に保有させることが必要であり、腎炎型 IB の予防対策としても初期ワクチンの選定は重要になる。

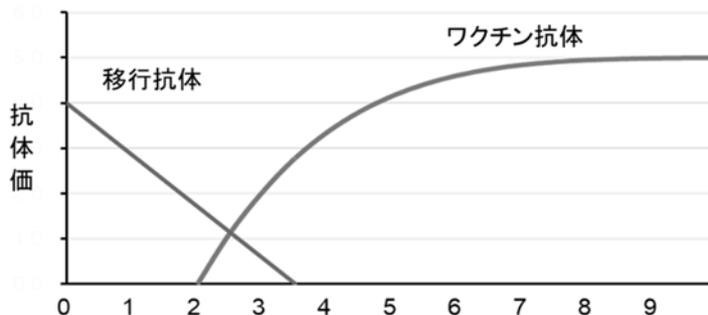


図3. 移行抗体とワクチン抗体の関係

初生時に続く生ワクチンの投与は複数回にわたりそれぞれ一定の間隔を開

けて投与される。生ワクチンの追加投与は通常飲水投与で行われるが、基礎免疫成立（血中抗体をある程度保有している状態）以降は免疫刺激がより強くなる噴霧投与を採用するケースが多い。IB

生ワクチンは互いに干渉するため、異なる生ワクチンを投与する場合は2週間以上の間隔をあける必要がある。より多くの種類の生ワクチンを接種するために過密なスケジュールで接種するケースがあるが、このようなプログラムは鶏に過度のストレスを与えるのみならず、個体間の免疫にバラツキが生じ、結果的に鶏群として不均一な免疫状態になる危険性がある。さらにこのような免疫状態は野外ウイルスの潜在的な不顕性感染に繋がる可能性も考えられる。従って、IBのワクチネーションは一つ一つ確実に投与して免疫を成立させることが重要である。

育成期間のIB生ワクチンは、卵用鶏など長期飼育鶏では6~7回程度の投与が可能であるが、肉用鶏では飼育期間にもよるが2~3回が限度である。卵用鶏や種鶏では10~12週齢前後に不活化ワクチンによる追加投与を行い、生ワクチンによって産生された抗体のブースターを図る。また、育成期でのワクチネーションの最終仕上げとして産卵開始前(15週齢前後)に生ワクチンを噴霧投与するケースも認められる。

産卵期間中の成鶏期は、産卵への影響が懸念されるためIB生ワクチンの投与は行わないとされてきたが、近年、2~3か月ごとに生ワクチンを飲水あるいは噴霧投与するケースが見られるようになった。これはウイルスの感染経路である呼吸器における局所免疫を刺激することによって野外ウイルスの侵入を防ぐことを目的としており、その効果として卵殻や卵質の向上が期待されている。

【 IB生ワクチンによる抗体応答 】

抗体を保有しないひなにIB生ワクチンを投与した場合、通常投与3~4週後には数百~数千倍の中和抗体価の上昇が認められ、その後同等の抗体価を少なくとも20週以上は持続する³⁾。これは1回の生ワクチン投与で長期間にわたり免疫状態を維持することができることを示している。しかしながら、この抗体価はワクチン株そのもの(ホモウイルス)に対する抗体価であり、野外に存在する多様な抗原性のウイルス(ヘテロウイルス)に対する抗体価はワクチン株とその野外株との抗原性の差異に依存する¹⁾。

IB生ワクチンに用いられている製造用株には抗原域が広い株もあれば狭い株もあり、株によって特徴が異なる²⁾。抗原域が広いワクチンを接種すればそれだけで多種類のウイルスに対してある程度の予防効果が期待できるが、より万全な免疫状態にひなを導くためには、多くの野外流行ウイルスに対して可能な限り高い抗体価を持たせることが重要である。

【 おわりに 】

IBの発症にはウイルスや環境などさまざまな要因が関わっており、ワクチンで完全にコントロールすることは困難である。しかしながら、IBワクチンの特性を良く理解し、その能力を最大限引き出すことにより、強固な防御レベルを確保することが可能と考えられる。

引用文献

- 1) 鶏病研究会 (2010), 伝染性気管支炎ウイルスの型別と予防, 鶏病研究会報, 46(1), 1-12
- 2) 鶏病研究会 (2017), 伝染性気管支炎の最近の野外発生状況とワクチン防疫, 鶏病研究会報, 52(4), 231-241
- 3) 動物用ワクチン・バイオ医薬品研究会 (2011), 3 鶏伝染性気管支炎生ワクチン、動物用ワクチン—その理論と実際、pp185-186、文永堂出版

1. はじめに

豚流行性下痢（Porcine Epidemic Diarrhea; PED）は、嘔吐及び水様性下痢を主徴とするコロナウイルス科アルファコロナウイルス属（*Coronaviridae, Alphacoronavirus*）に属する PED ウイルスによる豚の急性感染症である。PED ウイルスは豚の品種、性別、年齢を問わず感染し、若齢哺乳豚ではほとんどが死亡する。ウイルスは主に腸管上皮細胞に感染し壊死脱落を起こすため、子豚は脱水を起こして死亡し、生残り豚でも小腸絨毛が著しく短縮し発育が停滞する（図 1）。死亡率は加齢とともに低くなるが、ほぼ全ての豚が感染して症状の有無にかかわらず農場内の汚染源になる。特に、発症豚の下痢便中には多量のウイルスが排出され、経口及び経鼻的に他の豚に伝播する。PED ウイルスは同属の豚伝染性胃腸炎（Transmissible Gastroenteritis; TGE）ウイルスとは血清学的に異なるが、両ウイルスに由来する下痢症を臨床的に区別することは困難である²⁾。

本病は、1970 年代初頭にイギリス及びベルギーなどヨーロッパ諸国において初めて確認されているが、国内では 1980 年代及び 1990 年代に大規模な流行があり、それぞれ哺乳豚を中心に数万頭が死亡した。1994 年に始まった大流行後、巷では PED は 10 年単位の疾病かと言われてきたが、1996 年の最後の大流行から 10 年が経過した 2006 年が過ぎると、次第に忘れられた疾病となっていた。しかし、2013 年 4 月以降、米国において初めての PED が大流行すると、日本においても 2013 年 10 月、PED の発生が沖縄県において報告された。検出された PED ウイルスの遺伝子解析から、この時期米国で流行しているウイルスと近縁であることが報告された。さらに 11 月、今度は茨城県において発生があり、12 月には豚の大飼養県である鹿児島県の養豚密集地帯で発生が始まると、瞬く間に県内に、そして、宮崎県に伝播し猛威を振るい始めた。しかし、翌 2014 年 1 月までの発生は南九州中心の局所的な感染爆発に留まっており、同地域での PED の伝播リスク情報の共有や飼養衛生管理基準の徹底と共に、主要道路における消毒ポイントの設置や感染農場からの出荷方法の見直し等の体制構築による効果と思われた。2 月に入ると、南九州における感染爆発は鎮静化の傾向を見せ始めたが、青森県

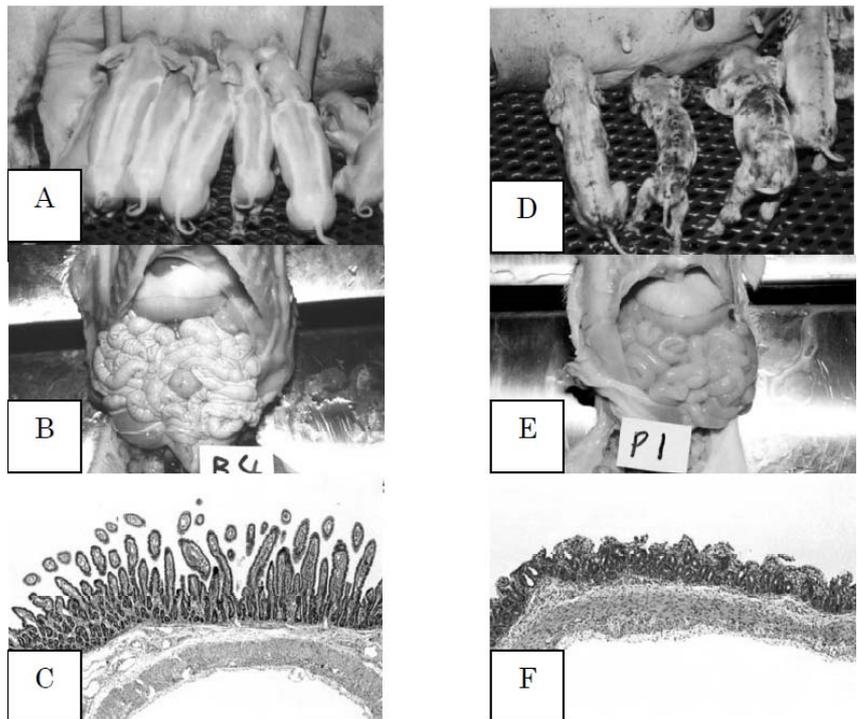


図 1 PED を発症した哺乳豚の臨床症状、剖検時の肉眼的特徴及び組織学的特徴

A, B, C : 非感染豚

D, E, F : 感染豚の腸管は弛緩、菲薄化し、絨毛は顕著に委縮している

本病は、1970 年代初頭にイギリス及びベルギーなどヨーロッパ諸国において初めて確認されているが、国内では 1980 年代及び 1990 年代に大規模な流行があり、それぞれ哺乳豚を中心に数万頭が死亡した。1994 年に始まった大流行後、巷では PED は 10 年単位の疾病かと言われてきたが、1996 年の最後の大流行から 10 年が経過した 2006 年が過ぎると、次第に忘れられた疾病となっていた。しかし、2013 年 4 月以降、米国において初めての PED が大流行すると、日本においても 2013 年 10 月、PED の発生が沖縄県において報告された。検出された PED ウイルスの遺伝子解析から、この時期米国で流行しているウイルスと近縁であることが報告された。さらに 11 月、今度は茨城県において発生があり、12 月には豚の大飼養県である鹿児島県の養豚密集地帯で発生が始まると、瞬く間に県内に、そして、宮崎県に伝播し猛威を振るい始めた。しかし、翌 2014 年 1 月までの発生は南九州中心の局所的な感染爆発に留まっており、同地域での PED の伝播リスク情報の共有や飼養衛生管理基準の徹底と共に、主要道路における消毒ポイントの設置や感染農場からの出荷方法の見直し等の体制構築による効果と思われた。2 月に入ると、南九州における感染爆発は鎮静化の傾向を見せ始めたが、青森県

及び愛知県では伝播経路がはっきりしない発生事例が認められた後、3月以降、瞬く間に全国に広がり、6月までに東京都、滋賀県、京都府、兵庫県、大阪府、奈良県、和歌山県、島根県及び山口県以外の全ての道県において発生する事態となった。3月から5月にかけての第2の感染爆発は、1990年代の大流行時を上回る大規模なものとなり、発生から約1年間でおよそ39万頭が死亡する事態となった³⁾。その後全国的な流行は沈静化するものの、ウイルスが常在化した農場の存在や、2018年には千葉県において大流行時と変わらない発生が起こるなど、依然として予断を許さない状況である。

2. PED ワクチンの開発戦略

局所感染症である PED に対する感染防御を惹起するワクチンの開発は困難であることから、PED の発症を抑制できるものを考えるべきである。特に、PED によって生じる経済的損失の主要部分は哺乳期の豚の下痢と死亡であることから、このワクチンの開発目標は、「哺乳期間中の発症抑制」ということになる。そこで我々は、母豚にワクチン接種を行い、その乳汁免疫によって哺乳豚の下痢症の抑制を目的としたワクチンの開発を行った。消化器感染症を受動免疫で防御するには、初乳ばかりでなく常乳を介して特異抗体を間断なく哺乳豚の消化管に供給することが効果的である。このように抗体を含んだ乳汁を子豚が不断に吸飲することによって成立する免疫を乳汁免疫という。

PED ウイルスと同属ウイルスによって引き起こされる TGE の病態は PED と同様であるが、その TGE のワクチン研究において、不活化ウイルスまたは弱毒生ウイルスの筋肉内接種による乳汁免疫では、哺乳豚の防御に有効な抗体、すなわち IgA が産生されず有効ではないとの報告もあった^{4),5)}。しかし、日本において、乳汁免疫を基盤とした注射型の母豚用 TGE 生ワクチンが 1970 年代前半に初めて実用化され、本病の防疫に成果を上げている⁶⁾。そこで著者らは同様の戦略をとり、生ワクチンの開発を進めた。

3. PED ワクチン株の概要

ワクチンの親ウイルス (96-P4 株) は 1996 年鹿児島県で発生した病豚より、パンクレアチンを培養液に添加した Vero 細胞を用いて分離された。この親ウイルスを限界希釈法によりクローニング後、パンクレアチン非添加培養液で増殖する株を作出したのち、さらにブラッククローニングを行い、Vero 細胞で分離初代から 49 代継代したウイルスを弱毒 96-P4C6 株とした。この弱毒株を豚の筋肉内に接種しても、病原性を示さず同居感染もしないことが確認されている。

4. PED ワクチンの有効性

4.1 親ウイルスの母豚への筋肉内接種による乳汁免疫効果

TGE ワクチンの研究においては、前述のように不活化ウイルスまたは弱毒生ウイルスの筋肉内接種では哺乳豚の防御に有効な抗体が乳汁中に産生されず有効ではないとの報告もあったことから、ワクチン開発の事前調査として、親ウイルス (96-P4 株) の母豚への筋肉内接種による乳汁免疫が哺乳豚の PED 防御に有効か否かを検討した。

まず、96-P4 株を $10^{6.3}$ TCID₅₀/dose に調製し、母豚に 3 週間隔で 2 回筋肉内接種した。2 回目の接種は分娩予定 2 週間前とした。接種母豚から生まれた生後 2 日目の哺乳豚に $10^{6.5}$ TCID₅₀/mL の 96-P4 株を 1 頭当たり 3mL 経口投与し、その後 14 日間臨床観察を行った。なお、試験期間中哺乳豚は母豚と同居させ、自由に哺乳させた。

その結果、非免疫母豚由来の哺乳豚は、攻撃後 1 日目から重度な水様性下痢および嘔吐が発現し、著しく消瘦した。さらに下痢による脱水、栄養不良により 7 頭中 6 頭が攻撃後 10 日目までに死亡

した。これに対し、96-P4 株で免疫した母豚由来の哺乳豚は、下痢を発現したものの死亡例もなく、また症状も軽度で、消瘦も認められなかった。このことから、免疫ルートが筋肉内であっても、乳汁免疫による防御が可能であることが明らかとなった。この成績から、著者らは筋肉内接種であっても株の条件次第で乳汁免疫による防御は可能であると考え、96-P4 株から弱毒 96-P4C6 株を作出し、その有効性を検討した。

4.2 96-P4C6 株の防御能試験

接種量を $10^{5.3}$ TCID₅₀/dose、 $10^{4.3}$ TCID₅₀/dose、並びに $10^{3.3}$ TCID₅₀/dose に調製した弱毒 96-P4C6 株をそれぞれ母豚各 1 頭に 3 週間隔で 2 回筋肉内接種した。2 回目の接種は分娩予定 2 週間前とした（以下、 $10^{5.3}$ 免疫群、 $10^{4.3}$ 免疫群及び $10^{3.3}$ 免疫群）。攻撃は、上述した方法で 96-P4 株を用いて実施した。

< 攻撃後の臨床観察成績 >

96-P4C6 株免疫母豚由来哺乳豚の 96-P4 株による攻撃後の防御効果を表 1 に、下痢発現率の推移を図 2 にそれぞれ示した。非免疫母豚由来の哺乳豚は、攻撃 1 日目から 3 日目までは全頭下痢を発現し、その後回復するものの、攻撃 8 日目まで下痢は観察された。また、攻撃 4 日目から死亡が発生し、9 日目までに 10 頭中 7 頭が死亡した。これに対し、

表 1 96-P4C6 株免疫母豚由来哺乳豚の 96-P4 株による攻撃後の生存率

群	供試哺乳豚数	攻撃後の生存頭数 (生存率%)
$10^{3.3}$ 免疫群	9	9 (100)
$10^{4.3}$ 免疫群	8	7 (88)
$10^{5.3}$ 免疫群	11	11 (100)
非免疫対照群	10	3 (30)

96-P4C6 株を接種した母豚由来の哺乳豚は、いずれの接種量においても攻撃 1 日目から下痢は発現したが、対照群に比較し回復は早く、7 日目には認められなくなった。 $10^{4.3}$ 免疫群で攻撃 7 日目に 1 頭死亡したものの、 $10^{5.3}$ 及び $10^{3.3}$ 免疫群に死亡する哺乳豚はなく全頭耐過した。各免疫群は非接種対照群に比較し、死亡率は有意に減少した（ $10^{5.3}$ 免疫群：P=0.001、 $10^{4.3}$ 免疫群：P=0.024、 $10^{3.3}$ 免疫群：P=0.003）。

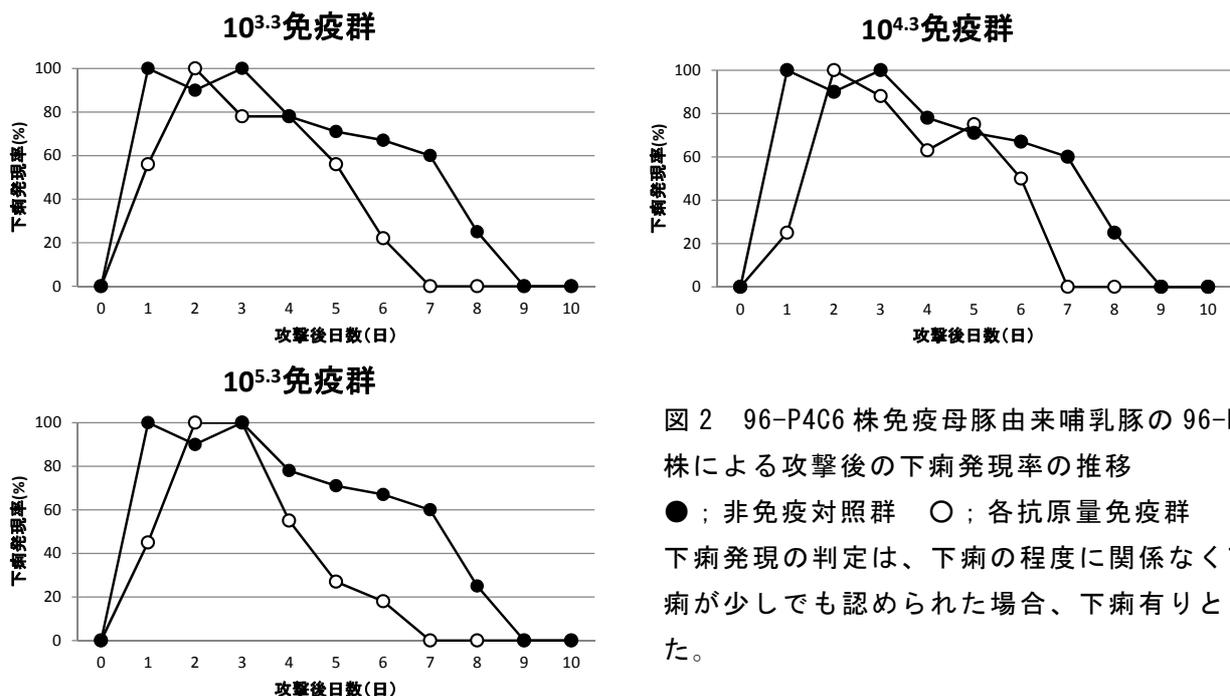


図 2 96-P4C6 株免疫母豚由来哺乳豚の 96-P4 株による攻撃後の下痢発現率の推移
●；非免疫対照群 ○；各抗原量免疫群
下痢発現の判定は、下痢の程度に関係なく下痢が少しでも認められた場合、下痢有りとした。

<平均増体率成績>

平均増体率の推移を図 3 に示した。非免疫母豚由来の哺乳豚は、攻撃時体重に比較し攻撃 3 日目に-10.8%、6 日目には-19.2%と減少し、10 日目までに生き残った 3 頭は 7.8%の増加を示した。これに対し、96-P4C6 株免疫母豚由来哺乳豚の増体率は、 $10^{5.3}$ 免疫群では攻撃時体重に比較し攻撃 3 日目に 10%、6 日目に 7%及び 10 日目に 38%増加した。 $10^{4.3}$ 並びに $10^{3.3}$ 免疫群は、攻撃 3 及び 6 日目では攻撃時体重に比較し減少したが、対照群に比較しその減少率は低く、10 日目にはそれぞれ 27%及び 19.7%と増加し、回復後の増体率も非免疫対照群より高い値を示した。

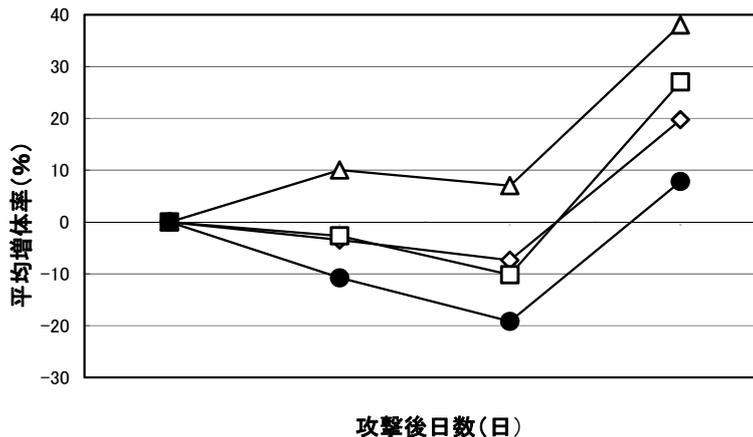


図 3 96-P4C6 株免疫母豚由来哺乳豚の 96-P4 株による攻撃後の平均増体率の推移
● ; 非免疫対照群 ◇ ; $10^{3.3}$ 免疫群 □ ; $10^{4.3}$ 免疫群 △ ; $10^{5.3}$ 免疫群

<抗体応答成績>

免疫開始時の補体要求性中和抗体価は全頭 2 倍未満であり、2 回免疫後では $10^{5.3}$ 免疫母豚の中和抗体価が 32 倍で、 $10^{4.3}$ 及び $10^{3.3}$ 免疫母豚のそれはいずれも 4 倍であった。以上のことから、本ワクチンの有効抗体価を、「3 週間隔で 2 回筋肉内接種（2 回目の接種は分娩予定 2 週間前）された母豚の分娩時血中抗体価が補体要求性中和試験で 4 倍以上」と設定した。なお、本設定は 96-P4C6 株の有効性を示すものであり、すべての PED ワクチン株に共通するものではない。

<糞便からのウイルス分離成績>

哺乳豚糞便からの攻撃ウイルスの分離成績を表 2 に示した。母豚への 96-P4C6 株免疫による乳汁免疫によって、哺乳豚から攻撃ウイルスが回収されなかったり、分離したウイルスの感染価が低い例が認められ、非免疫対照群に比較して哺乳豚体内での攻撃ウイルスの増殖抑制が示唆された。

以上の成績から、96-P4C6 株で免疫した母豚からの乳汁免疫により、哺乳豚の PED ウイルスに対する発症軽減とウイルス排泄抑制効果が確認された。すなわち、腸管内でのウイルス増殖が抑制され、下痢発症の程度が軽減し、生存率が改善されることが示された。

このように、有効な PED 生ワクチン株が作出できたことから、現在 TGE/PED 混合生ワクチンが開発、上市されている。本ワクチンの用法用量及び効能効果は次のとおりである。

表 2 母豚免疫抗原量と攻撃後の哺乳豚糞便からのウイルス分離成績

群	攻撃後日数		
	1	2	3~ $10^{3)}$
$10^{3.3}$ 免疫群	2.1 ¹⁾	5.0	— ²⁾
	5.8	—	—
$10^{4.3}$ 免疫群	—	—	—
	4.6	—	—
$10^{5.3}$ 免疫群	—	—	—
	4.7	—	—
非免疫群	—	5.1	—
	1.8	—	—
非免疫群	6.5	5.7	—
	6.0	6.5	—
非免疫群	6.3	5.4	—

1) ウイルス感染価 (logTCID₅₀/g)

2) ウイルス分離陰性

3) 3~10日目はすべて分離陰性

- ・用法及び用量

乾燥ワクチンに添付の溶解用液を加えて溶解し、その 2 mL を妊娠豚の筋肉内に約 3 週間間隔で 2 回接種する。第 2 回目の接種は、分娩予定日の約 2 週間前とする。

- ・効能・効果

乳汁免疫による子豚の豚伝染性胃腸炎の予防及び豚流行性下痢の発症軽減。

- ・使用上の注意

本剤は、妊娠豚に投与し、子豚が免疫母豚の乳汁を常に飲むことによって予防効果が発揮される。免疫母豚が十分量の乳汁を分泌しているかどうか、また乳汁を飲んでいない子豚がいないかどうか確認すること。

5. 最後に

TGE/PED 混合生ワクチンに使用されている PED ワクチン株である 96-P4C6 株は、高用量の筋肉内接種においても臨床症状に異常は認められず、ウイルス排泄はなく、同居感染も起こさない性状を有していた。また、防御能試験においては、96-P4C6 株で免疫した母豚からの乳汁免疫により、哺乳豚の PED ウイルスに対する発症軽減効果が確認された。すなわち、腸管内でのウイルス増殖が抑制され、下痢発症の程度が軽減し、生存率が改善されることが示された。また、2013 年以降に流行している PED ウイルスに対しても、本ワクチンの効果は攻撃試験により確認されている（成績未記載）。しかしながら、現在の筋肉内接種による PED ワクチンは、発症防止や症状軽減の観点からも完全ではなく、あくまでも暴露ウイルス量が少ない場合により高い効力を発揮する。

PED が発生した農場では、繁殖豚群は感染免疫を持ち高度な乳汁免疫を哺乳豚に供給しているはずである。ところが、分娩舎における発生を断ち切れずに終息できない農場がある（続発農場）。また、分娩舎では一旦終息していたにもかかわらず、再度分娩舎で繰り返す農場がある（再発農場）。このような発生農場で PED の発生をコントロールするために重要なことは、繁殖豚群の早期回復と PED 特異免疫の早期獲得、0 日齢感染をさせないための人と物の動線管理、そして分娩舎のクリーンアップ、である。たとえ母豚が感染免疫による強固な乳汁免疫を提供していたとしても、発生した哺乳豚群を触ったのちに分娩介助を行えば、乳汁免疫が効果を発揮する前に哺乳豚は感染する。その結果、特に分娩舎を豚舎毎にオールイン/オールアウトできない場合には、発生を速やかに終息させることは難しく続発する。また、分娩舎で再発しやすい農場については、母豚に対する免疫付与だけでなく、農場内に常在しているウイルスを分娩舎へ侵入させない動線管理や洗浄消毒を再度考え直し、それを強力に進めなければ分娩舎での発生を抑制することはできない。すなわち、養豚農場内や分娩舎内への PED ウイルスの侵入を防止し、侵入が起こったとしてもウイルスの増殖や拡散を防ぐような衛生管理を行うことが、ワクチンの有効性を高めることに繋がる。

PED ワクチンに関しては、将来的には局所免疫を高める粘膜ワクチン等の開発が必要であろう。ヒトのように経鼻または経口ルートでも簡単に投与できれば良いが、群飼育である豚の場合、投与方法が難しい。ワクチン開発にあたり、経鼻投与では豚の保定、また飲水または混餌による経口投与では投与の均一性等の課題に考慮しなければならない。ただ、粘膜免疫に対しては分泌型 IgA が重要ではあるが、IgG が腸管などにおける防御に関与していることも報告されている。母豚をロタウイルスで免疫し、その母豚由来の初乳を飲ませた新生豚においては、腸管から吸収され血中に移行した IgG がさらに腸管へと移行することが確認され、血中抗体価（IgG）と腸管中の IgG 抗体価は相関していた。初乳摂取後の 3 日齢時に攻撃した成績では、全頭下痢は発症したものの、移行抗体価の高い群では下痢の程度はより軽く、ウイルスの排泄期間はより短くなり、増体も非攻撃群と同等であった⁷⁾。また、第 126 回日本獣医学会において、恒光らは、野外の新生子牛において初乳

を介して血中に移行した IgG 抗体が牛ロタウイルスの防御に働くかを調べた成績を報告している。その成績では、移行した子牛の血中抗体価と発症日齢とは正の相関が、また下痢持続日数とウイルス排泄期間とは負の相関があった⁸⁾。高力価の IgG 抗体を産生する不活化ワクチンが開発出来れば PED 制御の手段の一つとなるかもしれない。

なお、粘膜局所における IgG の働きについては、本ニュースレターNo.7 「IgG は粘膜局所における防御に働くのか 化血研（現 KM バイオロジクス） 坂口正士」を参照されたい。

引用文献

- 1) Pensaert, M. B., et al. (1981), *An immunoelectron microscopic and immunofluorescent study on the antigenic relationship between the coronavirus-like agent, CV777, and several coronaviruses*, Arch Virol, 68, 45-52
- 2) Debouck, P., et al. (1981), *The pathogenesis of an enteric infection in pigs. experimentally induced by the coronavirus-like agent, CV777*, Vet Microbiol, 6, 157-165
- 3) 宮崎ら(2015), 豚流行性下痢 (PED) , 日獣会誌, 68, 89~92
- 4) Kodama, Y., et al. (1980), *Characterization of immunoglobulin A antibody in serum of swine inoculated with transmissible gastroenteritis virus* , Am J Vet Res, 41, 740-745
- 5) 児玉義勝(1989), 免疫関連製剤による哺乳期下痢症の予防, 畜産の研究, 43, 173-180
- 6) 長尾和哉(2011), 豚伝染性胃腸炎生ワクチン (母豚用) , 動物用ワクチン—その理論と実践—, 122-123, 文永堂出版
- 7) Ward LA., et al. (1996), *Role of maternally derived circulating antibodies in protection of neonatal swine against porcine group A rotavirus*, J Infect Dis, 174(2), 276-282
- 8) 恒光ら(1998), 初乳抗体による牛ロタウイルス病の防御効果, 第 126 回日本獣医学会講演要旨 p.35

はじめに

2019 年末に中国武漢からコロナウイルス感染症-2019 (COVID-19)の流行が始まった。原因ウイルスを詳細に解析すると 2002 年に発生し、8096 名の感染者と 774 名の死者を出した重症急性呼吸器症候群ウイルス(Severe acute respiratory syndrome (SARS) virus)と近縁であるため、SARS-CoV-2 と命名された。現在も猛威を振るっており多くの感染者・死者が発生している。また、世界経済がその影響を受け、副作用的な犠牲者も増加している。歴史においては、中世のペスト流行、第一次世界大戦中のスペイン風邪流行などの感染症により多くの人が犠牲になり、その後の世界を変えてきた。COVID-19 の流行中の今何ができるか？は非常に難しいことであるが、正確な情報を共有し、感染しない、感染を広げないための方策をとり、有効なワクチン・治療薬ができるのを待つことである。そのための、正確な情報の収集とワクチン・治療薬開発における動物の役割は大きい。現在までに報告されている情報を概説したい。

SARS-CoV-2 の分類(表 1)

表 1 コロナウイルスの分類¹⁾

Nidovirales	Cornidovirineae	Coronaviridae	Orthocoronavirinae	Alphacoronavirus	<i>Tegacovirus</i>	<i>Alphacoronavirus 1</i> (豚伝染性胃腸炎ウイルスなど)
					<i>Colacovirus</i>	<i>Bat coronavirus CDPHE15</i>
					<i>Decacovirus</i>	<i>Bat coronavirus HKU10</i>
					<i>Duvinacovirus</i>	Human coronavirus 229E
					<i>Setracovirus</i>	Human coronavirus NL63
					<i>Minunacovirus</i>	<i>Miniopterus bat coronavirus 1</i>
					<i>Minacovirus</i>	<i>Mink coronavirus 1</i>
					<i>Pedacovirus</i>	<i>Porcine epidemic diarrhea virus</i> (豚流行性下痢ウイルス)
					<i>Rhinacovirus</i>	<i>Rhinolophus bat coronavirus HKU2</i>
					<i>Myotacovirus</i>	<i>Myotis ricketti alphacoronavirus Sax-2011</i>
					<i>Nyctacovirus</i>	<i>Nyctalus velutinus alphacoronavirus SC-2013</i>
				<i>Luchacovirus</i>	<i>Lucheng Rn rat coronavirus</i>	
				Betacoronavirus	<i>Embecovirus</i>	<i>Betacoronavirus 1</i> (Human coronavirus OC43 など) Human coronavirus HKU1 、マウス肝炎ウイルス
					<i>Merbecovirus</i>	<i>Middle East respiratory syndrome-related coronavirus</i> (MERS-CoV など)
					<i>Sarbecovirus</i>	<i>Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus</i> (SARS-CoV , SARS-CoV-2 など)
					<i>Hibecovirus</i>	<i>Bat Hp-betacoronavirus Zhejiang2013</i>
				Deltacoronavirus	<i>Buldecovirus</i>	<i>Bulbul coronavirus HKU11</i>
					<i>Moordecovirus</i>	<i>Common moorhen coronavirus HKU21</i>
					<i>Herdecovirus</i>	<i>Night heron coronavirus HKU19</i>
					<i>Andecovirus</i>	<i>Wigeon coronavirus HKU20</i>
				Gamma coronavirus	<i>Igacovirus</i>	<i>Avian coronavirus</i> (鶏伝染性気管支炎ウイルス)
<i>Cegacovirus</i>	<i>Beluga whale coronavirus SW1</i>					
<i>Brangacovirus</i>	<i>Goose coronavirus CB17</i>					

太字はヒトに感染するコロナウイルスを示す

SARS-CoV-2 は分類上ニドウイルス目 *Nidovirales*、コルニドウイルス亜目 *Cornidovirineae*、コロナウイルス科 *Coronaviridae*、オルトコロナウイルス亜科 *Orthocoronavirinae*、ベータコロナウ

ウイルス属 *Betacoronavirus*, サルベコウイルス種 *Sarbecovirus* の Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus の一つである。ヒトに感染する他のコロナウイルスとして、2002年に発生した SARS-CoV が同じ種に分類され、2012年に発見された Middle-East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV-2)、ヒトの風邪ウイルスとして知られるヒトコロナウイルス(HCoV) OC43 と HKU1 が同じ属に含まれ、229E と NL63 が同じウイルス亜科に属している (表 1)。これまで、ヒトに感染するコロナウイルスは合計 7 種類である(表 1 太字)。

コロナウイルスについて

コロナウイルスは一本鎖プラス鎖 RNA の大きなゲノム (約 30kb) を有しており、ゲノムは脂質二重層からなるエンベロープに包まれている。エンベロープからは Spike タンパク質が突き出ており、電子顕微鏡で観察した際に、王冠(ラテン語で Corona)のように見えることからコロナウイルスと命名された。ウイルスの大きさは約 50-200 nm である。

ウイルスゲノム(プラス鎖)からマイナス鎖 RNA が転写される際に、全長のマイナス鎖 RNA ならびに異なるマイナス鎖 RNA が転写される。これら鋳型マイナス鎖 RNA から Transcription regulatory sequence(TRS)を介してゲノム RNA とサブゲノミック RNA が転写される。サブゲノミック RNA は 8 本コードされ、ゲノム RNA からは ORF1(ORF1a, 1b)、サブゲノミック RNA からは Spike(S)タンパク質、ORF3 タンパク質、Envelope(E)タンパク質、Membrane(M)タンパク質、ORF6, ORF7(7a, 7b), ORF8, Nucleocapsid(N)タンパク質が翻訳される。ウイルス粒子に存在するタンパク質 S, E, M, N タンパク質を構造タンパク質、それ以外をアクセサリタンパク質と呼んでいる。

SARS-CoV-2 の細胞への感染

コロナウイルスの細胞への感染は、表面から突出している S タンパク質がレセプターと結合することにより開始される。そのレセプターに関しては、SARS-CoV, SARS-CoV-2, HCoV-NL63 はアンギオテンシン変換酵素(Angiotensin-converting enzyme 2: ACE2)、MERS-CoV-2 はジペプチジルペプチダーゼ 4 (dipeptidyl peptidase-4: DPP4)、HCoV-229E はアミノペプチダーゼ N (aminopeptidase N: APN)をレセプターとして使用することが知られている。S タンパク質とレセプターとの結合の後に、細胞膜上に存在する II 型膜貫通型セリンプロテアーゼ(transmembrane protease serine 2:TMPRSS2)で S タンパク質が切断され活性化し、ウイルスの細胞への侵入が開始される。その後、細胞内に侵入したウイルスゲノムより ORF1 タンパク質の翻訳が開始され、ウイルスの増殖が開始される²⁾。

上記の理由から、SARS-CoV-2 のヒトへの感染には ACE2 の発現と TMPRSS2 の発現が重要であることがわかる。ACE2 は肺胞上皮細胞、小腸柔毛細胞、血管内皮細胞でよく発現している。TMPRSS2 はヒト気管上皮細胞、ヒト鼻腔、末梢気管支や肺によく発現している。そのために、SARS-CoV-2 は呼吸器で両分子を利用して感染・増殖した結果、呼吸器症状を引き起す。

SARS-CoV-2 の由来(図 1、図 2)

SARS-CoV-2 は 2019 年末にヒトでの流行が始まった。突然、SARS-CoV-2 が発生するという自然発生説はパストールの時代で終わっており、どこかにいた先祖となるウイルスが変異して、SARS-CoV-2 が出現したことは間違いない。では、その祖先となるウイルスがどこにいたのかという答えは、ほぼ間違いなく動物である。2002年の SARS-CoV の発生には、キクガシラコウ

モリとハクビシンが関与していたと考えられている。親株となるキクガシラコウモリ由来のウイルスが、ハクビシンなどの中間宿主を介してヒトに感染するように変異を遂げたと考えられる。MERS-CoV もコウモリからラクダに感染し、現在はラクダを自然宿主としてラクダからヒトへの感染が生じている。SARS-CoV-2 における先祖ウイルスはおそらくコウモリである²⁾。中国の雲南省のナカキクガシラコウモリからは、これまで知られているコロナウイルスの中で SARS-CoV-2 と最も近縁なウイルス RaTG1 株が 2013 年に検出されている。また、2015 年と 2017 年にも中国浙江省のコキグカシラから近縁なウイルス CoVZXC11 株と CoVZC45 株が見つかった。2019 年には中国雲南省のマレーキクガシラコウモリから近縁なウイルス RmYN02 株が発見されている。加えて、中国に輸入されたセンザンコウからも 2017 年と 2019 年にそれぞれ MP789 株と P1E 株が見つかった。RaTG13 株と SARS-CoV-2 との塩基配列相同性は、全ゲノムで約 96% と非常に高い。SARS-CoV がキクガシラコウモリ、MERS-CoV もコウモリ由来であり、また、コウモリからはほぼすべてのコロナウイルスが検出されていることから、哺乳類コロナウイルスの祖先はコウモリ由来コロナウイルスであると考えられる。そのため、SARS-CoV-2 の祖先は間違いなくコウモリ由来コロナウイルスであると考えてよい。では、センザンコウから検出されている SARS-CoV-2 様ウイルスはどのように考えるのがよいのであろうか？ 仮説ではあるが、センザンコウもコウモリから SARS-CoV-2 に似たコロナウイルスに感染し、独自にウイルスが進化した結果と考えている。SARS-CoV-2 により近縁なウイルスをコウモリが保有していることから、センザンコウから

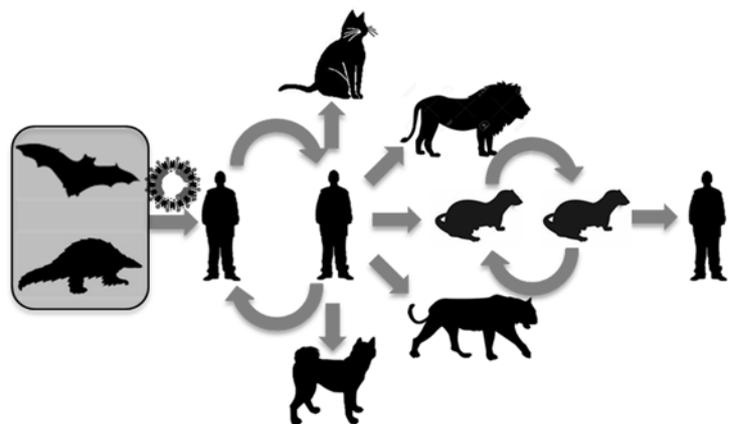


図1 SARS-CoV-2の感染環

ヒトに感染する SARS-CoV-2 が発生したとは考えにくい。コウモリからおそらく宿主となる動物を介してヒトに感染する SARS-CoV-2 に進化したと考えている。

SARS-CoV-2 の Spike タンパク質²⁾ (図 2)

前述した SARS-CoV-2 に最も近縁なウイルスとして知られる RaTG13 は全ゲノムで 96% と高い相同性を有している。しかし、S タンパク質における ACE2 結合領域(receptor binding domain, RBD)において、SARS-CoV-2 とは幾つかの違いが認められている。特に、図 2 で示したレセプター結合モチーフ(receptor binding motif, RBM)内に、RaTG13 株を除くコウモリ由来 SARS-CoV-2 様ウイルスは、大きな欠損を有している。一方、センザンコウ由来ウイルスは比較的 RBM が SARS-CoV-2 に類似しており、特に MP789 はヒト ACE 結合アミノ酸が SARS-CoV と比較してすべて保存されている。野生動物の間でヒト ACE2 と結合する能力を有するコロナウイルスが存在していることを意味している。

更に、SARS-CoV-2 の S タンパク質の特徴として、連続した塩基性アミノ酸残基 (PRRAR) が存在しており、全身に存在するタンパク質分解酵素 furin により分解され、S1 と S2 タンパク質に開裂する。一方、SARS-CoV や動物由来の SARS-CoV-2 様ウイルスにはこのような配列が存在していない。これは、SARS-CoV-2 の特徴であり、SARS-CoV-2 の進化の過程で獲得した形質であると考えられる。

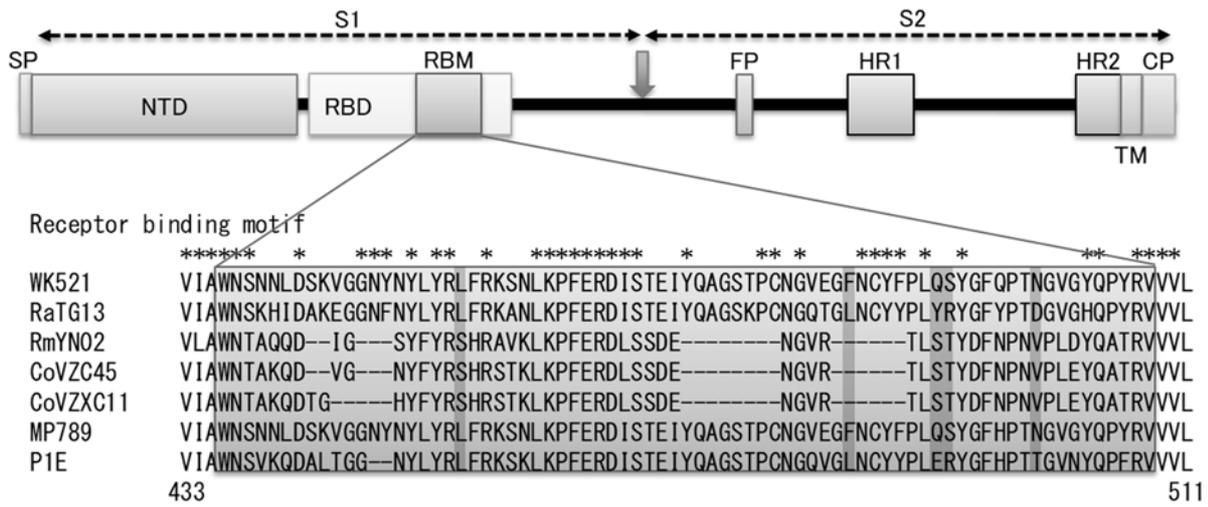


図2 SARS-CoV-2のSpike蛋白質の模式図とSARS-CoV-2様ウイルスのアミノ酸の比較²⁾
 矢印は開裂部位を示す。濃い色の部分はACE2結合アミノ酸残基を示す。*印は保存された相同性アミノ酸残基を示す。

SP:シグナルペプチド、NTD: N末端ドメイン、RBD:レセプター結合領域、RBM:レセプター結合モチーフ
 FP:融合ペプチド、HR: 7アミノ酸繰り返し配列、TM:膜貫通領域、CP:細胞内領域

SARS-CoV-2 の動物への自然感染 (OIE のレポート;表 2)

SARS-CoV-2 はヒトだけの感染にとどまらない。多くの動物が感染している(図 1; 表 2)。自然感染が明らかになっている動物として、イヌ・ネコ・トラ・ライオン・ミンクなどがある。3月に香港とベルギーで COVID-19 患者のペットのイヌとネコから SARS-CoV-2 の遺伝子が検出された。更に、3月には米国ニューヨークのブロンクス動物園で 7頭のトラとライオンが発症し、SARS-CoV-2 が検出されている。その後、多くの動物で感染が確認されており、一部の動物では呼吸器症状が認められている。動物での SARS-CoV-2 感染は国際獣疫事務局 (OIE) へ届け出ることになっている (<https://www.oie.int/en/scientific-expertise/specific-information-and-recommendations/questions-and-answers-on-2019-novel-coronavirus/events-in-animals/>)。現在までのところ、ミンクを除いては COVID-19 患者からペットならびに飼育動物に感

国	動物種	最初の報告日
香港	イヌ	21/03/2020
	ネコ	24/07/2020
ベルギー	ネコ	28/03/2020
アメリカ	トラ、ライオン、ネコ、イヌ、ミンク	06/04/2020
オランダ	ミンク	26/04/2020
フランス	ネコ	02/05/2020
スペイン	ネコ	11/05/2020
	ミンク	16/07/2020
ドイツ	ネコ	13/05/2020
ロシア	ネコ	26/05/2020
デンマーク	ミンク	17/06/2020
イギリス	ネコ	28/07/2020
日本	イヌ	07/08/2020
	ネコ	06/11/2020
イタリア	ミンク	30/10/2020
スウェーデン	ミンク	29/10/2020
チリ	ネコ	22/10/2020
カナダ	イヌ	28/10/2020
ブラジル	ネコ	29/10/2020
ギリシャ	ミンク	16/11/2020

染していると考えられている。ミンクについては別の項で述べる。

国内の動物への SARS-CoV-2 自然感染

国内では 2020 年 7 月 26 日に第一例の SARS-CoV-2 感染動物が報告された。COVID-19 患者の飼育犬 1 頭を、飼い主が入院するために世話ができないことから、ボランティア事業をしているペットの保険会社(アニコム)が世話を引き受けた。アニコムにより飼育前の当該犬の口腔拭い液の検査を実施した結果、SARS-CoV-2 遺伝子陽性となり、更に、国立感染症研究所でも確認の遺伝子検査を実施した。我々は、イヌの場合は 2 日間連続して陽性となった場合にのみ、遺伝子検査陽性と判定としている。今回も 2 日間続けて陽性であったことから、SARS-CoV-2 感染と最終診断した。臨床症状は全く認められなかった。遺伝子検査で陰性が確認された後に、飼い主のもとへ返すこととなった。最初に遺伝子検査陽性となってから 28 日後に血清を回収し、ウイルス中和試験をした結果、ウイルス中和試験でも陽性となり、改めて感染が成立していたことが確認された。9 月 12 日には同様にアニコムで世話をすることになった COVID-19 患者が飼育している 2 頭のネコが遺伝子検査陽性となった。ネコの場合は、1 日でも遺伝子検査陽性になった場合、陽性と診断している。これらのネコにも症状は認められなかった。遺伝子検査の陰性を確認後に、飼い主のもとへと返された。15 日後に回収された血清では 2 頭とも中和抗体陽性であった。以上のイヌとネコを含めて、現在までに我々が把握している限り、国内でのイヌ・ネコでの SARS-CoV-2 感染は、イヌ計 5 頭、ネコ計 3 頭に認められている。そのすべてが、飼育者が SARS-CoV-2 に感染していたことから、飼育者から動物への感染と考えられている。多くの SARS-CoV-2 感染したイヌとネコは無症状であったが、ネコの 1 頭は呼吸器症状を呈していたことが飼い主から報告されている。

国内での対応（個人的な考え）

我々は、COVID-19 流行の初期から、SARS-CoV-2 にペットが感染する場合に備えて、大学関係者・獣医療関係者と対応を協議していた。SARS-CoV-2 に関わる動物での対応法を簡単に述べると、ペットは基本的に COVID-19 の患者から SARS-CoV-2 に感染する。そのため、COVID-19 患者はペットとの接触を可能な限り避けることが重要である。万が一、ペットが SARS-CoV-2 に感染していた場合でも、ペットが重症になったという報告、ペットからヒトへ感染したという報告がないので、冷静に対応することが重要である。ペットが陽性となった場合、ケージ飼育などで感染の拡大を防ぐことが重要である。我々の危惧していたことは、飼育者が COVID-19 になって入院し、誰も飼育するヒトがいなくなった場合であった。現在、前述のペット保険会社のアニコムや獣医病院などが世話をしてくれる可能性があるので少し安心している。

SARS-CoV-2 の動物での診断

SARS-CoV-2 の動物での発生に備えて、遺伝子検出ならびに抗体検出のための方法を述べていきたい。我々は、以下の方法をイヌ、ネコ、マウスでは検証しているが、他の動物種で応用可能かは不明である。遺伝子検出法並びに抗体検出法はすべて国立感染症研究所の病原体検出マニュアルに従って実施している。ホームページよりダウンロード可能である。参考にさせていただきたい。(https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2518-lab/9403-lab-manual.html)

1) 遺伝子検出法

- ・ nested RT-PCR（汎用性は高いがコンタミや非特異反応などを検出してしまうため塩基配列の確認が必要）
- ・ Real-time RT-PCR（プローブを用いるため特異性が高いが、特殊な PCR 機器が必要）

2) 抗体検出法

- ・ マイクロウェルウイルス中和試験（唯一、特異性が高い方法であるが、BSL3 施設が必要）

遺伝子検査に関して重要な点は、イヌでは 2 日間、ネコでは 1 日遺伝子検査が陽性になれば陽性と診断している点である。ネコは SARS-CoV-2 に感受性が非常に高いので、遺伝子検査が陽性になればほぼ感染していると判断してよいが、イヌの場合は SARS-CoV-2 に感受性が低いので、COVID-19 患者から排出された SARS-CoV-2 が口腔粘膜に付着していただだけの可能性が否定できないため、2 日間の検査での陽性をもって陽性と診断し、1 日のみの検査陽性は SARS-CoV-2 感染の可能性ありと診断している。実際、イヌでの検査において 1 日のみ遺伝子検査陽性であった個体から 30 日後に血清を回収して検査してもウイルス中和抗体は検出されなかった。

抗体検査に関して重要な点は、少なくとも多くのネコが猫コロナウイルスに感染しており、猫コロナウイルスに対する抗体が SARS-CoV-2 にも交差反応することである。我々が作出した各種発現タンパク質を用いた ELISA 系やヒト用の抗体検出キットをネコの診断に応用したが、多くが猫コロナウイルスと交差することが判明した。現在、ウイルス中和試験が動物における唯一の確実な抗体検出法であると考えている。

SARS-CoV-2 の実験動物モデル（表 3）

様々な動物種で SARS-CoV-2 の実験感染が実施されている^{3), 4)}。高感受性動物として、霊長類、げっ歯類、ネコ、フェレット、エジプトルーセットコウモリ、中程度感受性動物として、イヌ、タヌキ、ウサギ、ツパイ、非感受性動物としてブタ、ニワトリ、アヒルなどが判明している。その中で、実験動物として利用される可能性が高い動物種を表 3 に挙げた。霊長類はヒトに最も近縁であることから実験動物モデルとしては最適であり、上部・下部呼吸器でよく増殖し、年齢感受性なども示す。病状は限局的あるいは中程度の症状である。ハムスターは中程度の症状を示し、飛沫感染なども引き起こすために、優れた動物モデルである⁵⁾。我々の知る限り、体重減少などで感染を評価できるために、小動物モデルでは最も優れていると考えている。しかし、静脈内注射の困難さなどの幾つかの問題もある。最も汎用しやすいマウスは通常ほとんど感受性を示さない。ヒトの ACE2 を発現させたマウスでは、その発現量・発現臓器などの違いにより、致死から軽度な症状までを示すようになり、評価したい項目により使い分けことが可能である。また、様々なツールがマウスには存在していることから病態の解析にも有効であると考えている。更に、マウスに馴化した SARS-CoV-2 も作製されており、年齢感受性などのモデルにも利用できる⁶⁾。ただ、S タンパク質に変異が生じていることから、ワクチン試験や抗体療法などの際には注意が必要である。フェレットは多くの呼吸器感染症のモデルに使われており、SARS-CoV-2 にも感受性を示し、飛沫感染も引き起こすため、モデルとしては優れているが、増殖が上部気道を中心に行っているため、肺炎などのヒトの臨床症状のモデルにはならない。ネコは、自然感染が証明されており、感染実験においても高感受性である。実験感染動物では症状を示さないが、肺炎などの病変は示す。また、我々の研究では、100 個のウイルスで実験的に感染することが証明されており、自然感染を反映できると考えている。他の動物モデルでは 10000~100000 個のウイルスを感染させており、少量で感染できるネコの実験

感染モデルは、様々な治療薬や予防薬の評価に優れていると考えている。

完璧な実験モデルはなく、目的に合わせた動物モデルを選択する必要がある。これまで SARS-CoV-2 においては、既に承認されている医薬品を既存薬再開発(Drug repositioning)により利用してきたため、動物実験をする必要性があまりなかった。現在新たに開発されている医薬品に関しては実験動物モデルが必須である。動物実験モデルは今後需要が高まると信じている。

表 3 SARS-CoV-2 の実験動物モデル

動物種	特徴	問題点
サル	呼吸器でよく増殖。軽症から中程度の COVID-19 のモデル。	取り扱いが困難。高価。個体差。重症のモデルではない。
マウス	ヒト ACE2 トランスジェニックマウスは中程度の臨床症状のモデル マウス馴化ウイルスは効率よく増殖し、年齢感受性などを示す。	マウス ACE2 はレセプターとしてほとんど機能しない。 ワクチンやモノクローナル抗体の治療効果実験には注意
フェレット	フェレット→フェレット感染。	上部気道でよく増殖するが、ヒトの臨床症状を再現できていない。
シリアンゴール デンハムスター	小動物で最も優れたモデル。鼻腔粘膜・下部呼吸器上皮で増殖。ハムスター→ハムスター感染	中程度の COVID-19 症状のモデル。
ネコ	少量のウイルスで感染成立。ネコ→ネコ感染。	取扱が困難。高価。個体差。無症状。病気モデルにはならない。しかし、猫科動物の自然感染を再現できる。

ミンクにおける SARS-CoV-2 感染⁷⁾

2020年6月以降、デンマークではミンク由来の変異 SARS-CoV-2 感染により 214名の患者が発生している。11月5日に特徴的な変異を有するミンク由来 SARS-CoV-2 の感染者 12名が報告された。デンマークの北ユラン(North Jutland)での発生で、8名はミンク農場と関連があったが、4名は農場との関連がない感染であった。更に、これら 12名から検出されたウイルスは、ACE2 結合領域の 453番目のアミノ酸が Y から F に変化していた。また、それ以外にも 69-70番目のアミノ酸の欠損、692番目のアミノ酸が I から V、1229番目のアミノ酸が M から I へと変異していた。重要なのは、これまでの SARS-CoV-2 感染に対する中和抗体との反応性が弱まっているという点である。現在、ミンク由来変異ウイルスの感染が拡大している証拠はなく、デンマークではミンクの処分を実施することにより対策が取られている。しかし、動物での流行は、変異ウイルスの出現の基点となる。自然感染する動物(ミンク・ネコ・トラ・ライオン・イヌなど)での感染には今後も注意をする必要がある。なお、ミンク農場での発生は、デンマークのみならず、オランダ、スペイン、スウェーデン、イタリア、米国で報告されている。今後も監視が必要である。

おわりに

SARS-CoV-2 は動物から発生し、ヒトに感染しパンデミックを引き起こし、今また、動物で変異を起こしている。動物での調査研究の重要性をこれまでも主張してきた。改めて、動物を知

ることが感染症対策の重要な課題であり、基礎研究の積み重ねが、今回のような予測不能な感染症発生に備える我々人類の知恵となる。今回のパンデミックにより、我々研究者に与えられた課題も多い。現在も収まる気配がない SARS-CoV-2 感染対策に集中し、その後、反省して将来にこの経験を生かしていかなければいけない。

- 1) Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses (2020) *The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2*. Nat Microbiol. 5:536-544
- 2) V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, et al. (2020) *Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2*. Nat Rev Microbiol. 2020 Oct 28:1-16.
McAloose D, Laverack M, Wang L, et al. (2020) *From People to Panthera: Natural SARS-CoV-2 Infection in Tigers and Lions at the Bronx Zoo*. mBio. 11(5):e02220-20.
- 3) Shi, J, Wen Z, Zhong G, et al. (2020). *Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS coronavirus 2*. Science, 368(6494), 1016–1020.
- 4) Jo WK, de Oliveira-Filho EF, Rasche A, et al. (2020) *Potential zoonotic sources of SARS-CoV-2 infections*. Transbound Emerg Dis. 10.1111/tbed.13872.
- 5) Imai M, Iwatsuki-Horimoto K, Hatta M, et al. (2020) *Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development*. Proc Natl Acad Sci U S A. 117(28):16587-16595.
- 6) Leist SR, Dinnon KH 3rd, Schäfer A, et al. (2020) *A Mouse-Adapted SARS-CoV-2 Induces Acute Lung Injury and Mortality in Standard Laboratory Mice*. Cell. 183(4):1070-1085.e12.
- 7) WHO (2020) *SARS-CoV-2 mink-associated variant strain – Denmark*. Disease Outbreak News. 6 November 2020

COVID-19 ワクチン開発の現状

医薬基盤・健康・栄養研究所 霊長類医科学研究センター
保富 康宏

はじめに

2019 年晩秋から中国で問題となっていた肺炎は、当初、ヒト-ヒト感染は明確ではないとされ、中国のみならず WHO も軽視をしていた。しかしながら、その後感染は一気に拡大し、中国のみならず世界的に拡大したパンデミックとなった。病原体はコウモリが起源ではないかと考えられたコロナウイルスで、**Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) -CoV-2** と命名され、この新型コロナウイルス感染症は **COVID-19** と名付けられた。感染性も過去の新型コロナウイルス(**SARS-CoV-1**、**MERS-CoV**)に比較し極めて高く、米国大統領や欧米の政府高官の感染も数多く報告されている。本原稿作成時においても感染者は世界的に拡大しており(4,043 万人)、死亡者も 100 万人を超えている(1,120,183 人、いずれも 2020 年 10 月 21 日時点)。本疾患が過去のコロナウイルスと大きく異なる点は主に若齢者では無症候キャリアとなことも多く、このことが感染拡大に大きく関与している。この様な状況下でワクチン開発が求められるのは当然の流れであるが、パンデミックにワクチンが即応できたという事実は歴史上ない。本文においては、この様な未知の条件でのワクチン開発の現状と種々のワクチンの特徴等を述べる。

COVID-19 で要求される条件

ワクチン開発においては対象となる感染病原体により要求される条件は異なってくる。各条件において COVID-19 ではどうかを以下に示す。

1) 開発期間

ワクチンは他の治療薬等に比べ開発には長期間を要する。今回は世界的パンデミックであるために従来までの開発のスピードを大きく超え、**Operation Warp Speed** とよばれているが、これは極めて例外的な事例といえる。

2) コスト

ワクチン開発にかかるコストは、直接的に薬価に反映されることになる。今回の様なパンデミックでは発展途上国も含め広く世界中で利用される必要がある。そのために開発コストを抑えることも重要である。また、広く供給されるために **COVAX Facility** というものが構築され、広くワクチンを世界的に普及させる試みが行われ、我が国も参加をしている。

3) 安全性

ワクチンは健常人に対し広く使用され、今回は世界規模で用いられることになる。そのために、安全性の担保は必須であり、通常許容できる範囲の副反応であってもワクチン接種者が世界的規模で存在するので、極めて慎重にならざるを得ない。

4) 必要な免疫反応

ワクチンで要求される免疫反応は細胞性免疫と液性免疫に大別されるが、COVID-19 は何れか、または両者が重要なのかを検討する必要がある。それによりワクチンの形態は大きく変わる。

5) 生産量

今回のパンデミックにおいては、必要な生産量を合理的な短期間で確保できることが重要となる。一方、パンデミック後 (**After Pandemic**) ではこの要件は変わることになるので、その場合のワクチンの開発も必要となる。

6) 適切な免疫反応

上述の 4) 必要な免疫反応、にも関連するが投与方法(投与ルート)、投与回数等で適切な免疫反応の誘導が必要である。今回は呼吸器を主とした粘膜面からの感染が重要であることから、経鼻や経口投与等による粘膜免疫の誘導の必要性も考慮する必要があるかもしれない。

以上に加え、ワクチンの提供システム等、他にも大きな問題は存在するが、上記 6 項目が重要なものとなっている。

開発中のワクチン

現在、世界的には約 160 種類以上の COVID-19 ワクチンが開発中であり、約 30 が第 1 相試験以降のヒト治験に入っており、最終の第 3 相試験は 10 月時点で 10 種類のワクチンで行われている(表 1)。ヒト治験(第 1 相試験以降)に進んでいるものの特徴等を以下に述べる。

1) 不活化ワクチン

Sinovac、Wuhan Institute of Biological Products/Sinopharm、Beijing Institute of Biological Products/Sinopharm (いずれも中国)が既に第 3 相試験を行っている。最も公知で古典的な手法によるワクチンであり、安全性

は高い。問題となるのは、今回の様なパンデミックに対応するためには Bio Safety Level (BSL)-3 病原体を大量に培養する必要があり、容易にどこでも可能なものではない。また、細胞性免疫の誘導は期待できない。同じく古典的な公知のワクチンとして弱毒生ワクチンがあるが、現時点ではヒト治験に進んでいるものはない。

2) 組換えタンパク質ワクチン、サブユニットワクチン

Novavax 社(米)が組換えタンパク質ワクチンを、GSK 社(独)がサブユニットワクチンの開発を行っている。技術的には安定しており、安全性も高い。使用には通常アジュバントが必要となる。不活化ワクチンと同様に細胞性免疫の誘導の期待は低い。

3) ウイルスベクターワクチン

今回先行しているのはいずれもアデノウイルスベクターを用いたものであり、各社において独自工夫がみられる。細胞性免疫と液性免疫の両者が期待できる。最も問題となるのはベクターであるアデノウイルスに対する免疫反応である。ベクターに対しては強い免疫反応が誘導されることが知られており、ワクチン投与前にベクターのアデノウイルスに対する免疫反応が存在すれば挿入抗原(SARS-CoV-2 抗原)に対するワクチン効果は期待できず、また、ワクチン効果を上げるために頻回に免疫することもアデノウイルスベクターへの免疫反応が主体となるために、少数回(通常 2 回)で十分なワクチン効果を誘導する必要がある。そのために Gamaleya Research Institute(ロシア)では 1 回目と 2 回目のアデノウイルスベクターを違うものとしている。また、University of Oxford/Astra Zeneca では人が通常感染していないチンパンジーのアデノウイルスをベクターとしている。これ以外にも Johnson & Johnson(米国)、CanSino Biological Inc./Beijing

表1 第3相試験まで進んでいるワクチン

開発/製造	開発国	ワクチンの種類
Sinovac	中国	不活化
Wuhan Institute of Biological Products/Sinopharm	中国	不活化
Beijing Institute of Biological Products/Sinopharm	中国	不活化
University of Oxford/AstraZeneca	イギリス	ウイルスベクター
CanSino Biological Inc./Beijing Institute of Biotechnology	中国	ウイルスベクター
Gamaleya Research Institute	ロシア	ウイルスベクター
Johnson & Johnson	アメリカ	ウイルスベクター
Novavax	アメリカ	タンパク質サブユニット
Moderna/NIAID	アメリカ	RNA
Pfizer	アメリカ	RNA

WHO Draft landscape of COVID-19 Vaccinesを元に作成

Institute of Biotechnology (中国)も開発を行っている。しかしながらこの手法では現在までに実用化された例はない。

4) VLP (Virus Like Particle) ワクチン

Medicago 社(カナダ)が開発をしており、日本の製薬企業とも提携をしている。また、日本でも開発を行っている。ウイルスの立体構造のみを保持し、遺伝子産物(核酸)を持たないために安全性が高い。アジュバントも不要な場合が多い。高力価の中和抗体の誘導が可能であり、細胞性免疫の誘導も期待出来るが、パンデミック対応への大量生産が困難である。

5) DNA ワクチン

Inovio(米国)、Osaka University/ AnGes が開発を行っている。製造が簡単で、安価であり、頻回免疫も可能である。また、細胞性免疫と液性免疫の両者が誘導可能である。しかしながら、長い開発の歴史があるが、いまだ実用化した例はない。

6) mRNA ワクチン

Moderna/NIAID(米国)、Curevac(ドイツ)、Pfizer(米国)がヒト治験に入っている。日本企業も開発中である。DNA ワクチンと同様、製造が簡単で、安価であり、頻回免疫も可能である。さらに DNA ワクチンより少量の投与で免疫誘導可能であるので、パンデミック対策には適している。また、細胞性免疫と液性免疫の両者が誘導可能である。しかしながら開発の歴史が短いので、実用化に至ったものがなく、今後も注目すべきワクチンである。

以上、ヒト治験に入っているものを述べたが、近くヒト治験に入るものや、上記に含まれないワクチンも今後第 1 相試験に入ってくるであろう。

今後 (After Pandemic)

ワクチン投与等による集団免疫が成立した後の COVID-19 ワクチンはどうなるのであろうか。一度免疫すればそれでいいのか、追加のワクチンは必要なのか、何を使用するのか、何回投与するのか、いつ投与するのか等、これらを検討するには更なる COVID-19 研究が必要となる。ワクチンに関しては、ウイルスベクターワクチンはベクターに対する免疫反応の関係で、今後は定期接種するワクチンとして定着することは困難だろう。投与時期に関しても、幼少期に接種すればそれで十分なのか、インフルエンザのように毎年の定期接種になるのか、肺炎のワクチンのように高齢者を対象にするのか等、今後の研究結果に注目することになる。

事務局だより

【活動報告】

1. 会員数 (2020年11月30日現在)

名誉会員：1
正会員：97
学生会員：1
賛助会員：18

2. 2020年度総会について

従来はシンポジウムの開催に合わせて総会を開催しておりましたが、2020年度第12回シンポジウムの延期に伴い、2020年度総会につきましては、ニュースレターに添付いたしました資料により、ご審議いただくこととさせていただきます。お気づきの点やご意見等がございましたら、2021年1月末日までに事務局 (jimukyoku@jsavbr.jp)宛てにご連絡いただきますようお願いいたします。なお、ご承認いただける場合は、ご連絡いただく必要はございません。

3. シンポジウムの開催について

2020年度の第12回シンポジウムにつきましては、新型コロナウイルス感染症の影響により延期いたしました。感染症の状況を考慮した上で、2021年度に開催する予定としております。開催が確定いたしましたら、改めてご連絡いたします。

4. 前号(第21号)における訂正について

前号の江口祐輔先生(農研機構西日本農業研究センター)の原稿19ページについて、写真の説明文がずれておりました。お詫びとともに、次ページのとおり訂正させていただきます。

News Letter 編集委員会

犬丸 茂樹、上西 博英、今内 覚、末永 清剛、
河合 透、林 智人