

最近のアフリカ豚熱の 研究状況について

1

ASFVの概略

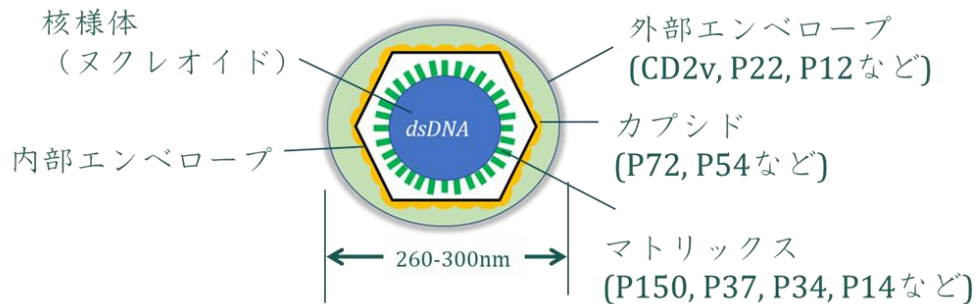
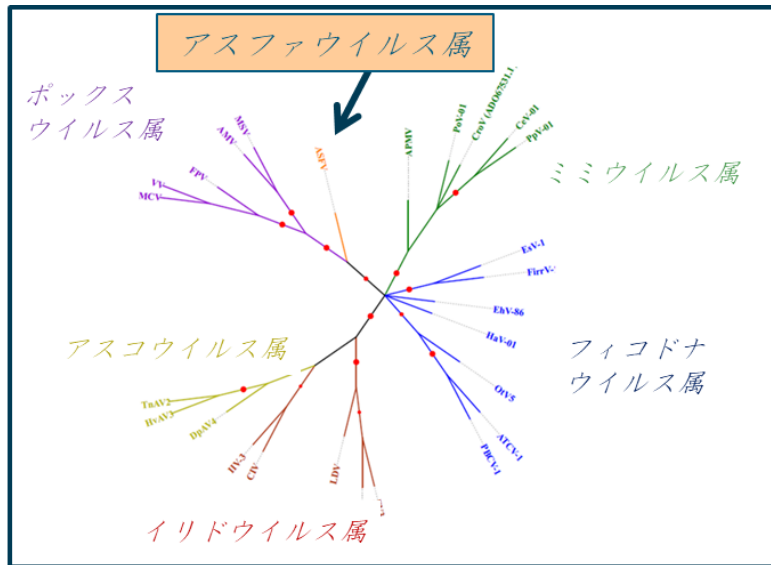
アフリカ豚熱（ASF）とは



- アフリカ豚熱ウイルス（**ASFV**）による伝染性の熱性感染症
- 病型は多様だが、現在の流行は概ね遺伝子型II型ウイルスによる急性又は甚急性感染で、致死率はほぼ**100%**（中米株等を除く）
- 伝播速度は遅く、有病率は低い（診断は発症豚／死亡イノシシが対象とするのが有効）
- **ASFV**の分類や特徴は極めてユニークである

ASFVの特徴

巨大核質DNAウイルス群 Nucleocytoplasmic Large DNA viruses (NCLDVs)



粒子径：260-300nm
ゲノム：直鎖状dsDNA (170-190kbp)
遺伝子数：170種、構造タンパク質60種
エンベロープ：2重構造

ASFVの特徴

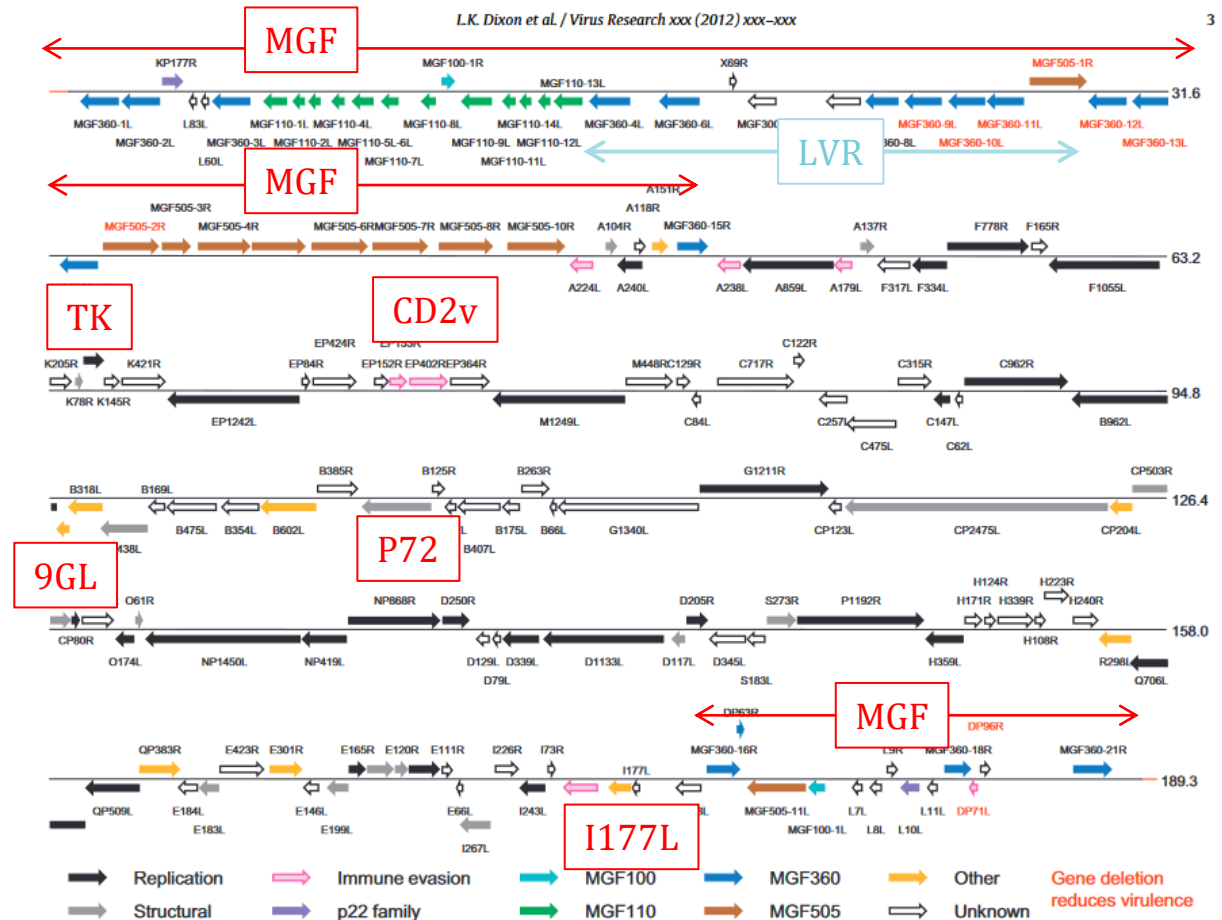


Fig. 1. Genome organisation of the African swine fever virus genome. The organisation of open reading frames (ORFs) on the genome of the virulent ASFV isolate Georgia 2007/1 is shown. ORFs are shown as arrows to indicate their size and direction they are read. The colours indicate ORFs with known functions. Black indicates ORFs encoding enzymes and factors involved in genome replication, repair or transcription. Grey indicates ORFs encoding structural proteins. Pink indicates ORFs encoding proteins involved in evading the host defences. Turquoise, blue, green, brown and mauve indicate members of multigene families. ORFs encoding proteins with other predicted functions are shown in yellow. ORFs encoding proteins of unknown function are shown in white. Red text indicates ORFs whose deletion reduces virus virulence.

アフリカ豚熱とは



- アフリカ豚熱ウイルス（**ASFV**）による伝染性の熱性感染症
- 病型は多様だが、現在の流行は概ね遺伝子型II型ウイルスによる急性又は甚急性感染で、致死率はほぼ**100%**（中米株等を除く）
- 伝播速度は遅く、有病率は低い（診断は発症豚／死亡イノシシが有効）
- **ASFV**の分類や特徴は極めてユニークである
- アフリカでの伝播には***Ornithodoros***属ダニが介在、それ以外の地域では豚／イノシシ間での直接伝播
- 有効な予防法・治療法はない → 侵入阻止、早期摘発が極めて重要

2

ASF研究について

ASF研究を実施する主な研究機関



【その他の研究機関】

- USHS, Plum Island (米)
- Ohio Univ. (米)
- Kansas Univ. (米)
- IZSUM (伊)
- INIA-CISA (西)
- NEBIH (ハンガリー)
- NCVD/NAVETCO (越)
- NIVR (越)
- Hanoi Univ. (越)
- 華中農大 (中)
- 山西農大 (中)
- 北京農大 (中)
- 上海獸醫大 (中)
- De La Salle Uni. (フィリピン)
- NIAH (タイ)
- Mahidol Univ. (タイ)
- NIAS (韓)
- 忠北大 (韓)
- AHRI (台)

最近のASF研究（その1：ウイルス学的解析）

Decoding a virus Achilles heel: the African swine fever virus interactome (ASFVINT; 2021-2024)

仏、英、西、独、エストニア

【目的】 ASFV遺伝子の機能解明

- ・ Y2HおよびLC/MSによる既知遺伝子産物80種と共役するタンパク質の解析
- ・ 遺伝子欠損ウイルスによる逆遺伝子解析

ASFVの宿主細胞内侵入に関わる宿主エンドソーム膜上の因子であるNPC1、NPC2がASFVのE248R、E199Lの両遺伝子産物と結合すること、NPC1欠損細胞ではASFVの増殖が起こらないことを明らかにした（2022年）。

PLOS PATHOGEN <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009784>

最近のASF研究（その1：ウイルス学的解析）

構造タンパク質A137R遺伝子産物は宿主細胞におけるI型インターフェロン（IFN β ）産生の抑制

①機能未知のASFV由来遺伝子産物（A137Rタンパク質）が宿主細胞の TANK binding kinase1 (TBK1) と結合し、この細胞内消化を促進することで IFN β 産生を抑制し、ASFVの増殖を促進する（2022年、中国）。

②A137R欠損型ASFV II型株が、ほぼ完全に弱毒化（ 10^2 で病原性無し） されていること、ならびに 同系統の強毒株の攻撃（ただし低用量）を防御し た（2022年、米国）。

J. Virol. <https://doi.org/10.1128/jvi.01957-21>

J. Virol. <https://doi.org/10.1128/JVI.01139-21>

最近のASF研究（その2：ワクチン開発）

ワクチン開発の趨勢

ワクチンの種類		ASFに対する防御免疫の誘導
不活化ワクチン	全粒子型	できない
	サブユニット型	
DNAワクチン		±※
その他のウイルスベクター型ワクチン		±※
弱毒生ワクチン	自然弱毒株	できる※
	遺伝子組換え株	

※ 防御はあくまでも特定の株、遺伝子型に対する防御に限られる。

弱毒生ワクチンをベースとしたワクチンの開発が進められている。

最近のASF研究（その2：ワクチン開発）

A safe DIVA vaccine for African Swine Fever control and eradication (VACDIVA; 2019-2013)

西、ほか43か国（アフリカ諸国、中、モンゴルを含む）：

【目的】 ASFワクチンの開発

- ・豚用およびイノシシ用ワクチン候補（3種）の樹立
- ・DIVAワクチンの開発
- ・リトアニアおよびケニアでの野外実証による費用便益分析

①Lv17/WB/Rie1株：ASF感染イノシシ（ラトビア産）から分離された自然変異株で、豚への病原性の低下が確認されている。血球吸着因子CD2v（EP402R）領域に変異を有する。経口投与でワクチン効果が認められている。ただし、ウイルスの増殖性に乏しく、DIVAについても検討の余地あり。（もう1株ワクチン候補株があるとのこと；未確認）

最近のASF研究（その2：ワクチン開発）

遺伝子欠損型弱毒ASFV株由来ワクチンの実用化

米、ベトナム：

①I177L遺伝子欠損型株：強毒のGeorgia株(ASFV-G)から、ゲノム編集によりI177L遺伝子のみを欠損させた株で、大量に接種(10^6)しても発症しない。低用量(10^2)で免疫した豚でも、その後の強毒株の攻撃を防ぐ。経口投与で免疫してもワクチン効果がある。増殖には豚初代マクロファージを利用。

Health

News | Sep 30, 2021

ASF Vietnam: Experimental vaccine proves efficacy

A recombinant experimental vaccine candidate is able to induce protection against virulent Vietnamese African Swine Fever virus and is effective in protecting local breeds of pigs in Vietnam as efficiently as previously shown for European cross-bred pigs, announces a report recently released by the USDA.



The USDA's ASFV vaccine has been shown to be effective for both European pigs and pigs native in Vietnam protecting against the circulating Vietnamese ASFV strain. Photo: Kenneth Schipper/USDA

最近のASF研究（その2：ワクチン開発）

遺伝子欠損型弱毒ASFV株由来ワクチンの実用化

米、ベトナム：

①I177L遺伝子欠損株：強毒のGeorgia株(ASFV-G)から、ゲノム編集によりI177L遺伝子のみを欠損させた株で、大量に接種(10^6)しても発症しない。

低用量(10^2)で免疫した豚でも、その後の強毒株の攻撃を防ぐ。経口投与で免疫してもワクチン効果がある。増殖には豚初代マクロファージを利用。

②I177L遺伝子およびLVR領域二重欠損株：上記I177L遺伝子欠損株を豚由来の上皮株化細胞(PIPEC)に馴化して得られた変異株。自然にLVR領域を失ったことで同細胞株で良く増殖する。病原性はI177L遺伝子欠損株と同様に無く、低用量(10^2)の強毒株の攻撃は防ぐ。

最近のASF研究（その2：ワクチン開発）

遺伝子欠損型弱毒ASFV株由来ワクチンの実用化

米、ベトナム：

- ① I177L遺伝子欠損株：強毒のGeorgia株(ASFV-G)から、ゲノム編集によりI177L遺伝子のみを欠損させた株で、大量に接種(10^6)しても発症しない。低用量(10^2)で免疫した豚でも、その後の強毒株の攻撃を防ぐ。経口投与で免疫してもワクチン効果がある。増殖には豚初代マクロファージを利用。
- ② I177L遺伝子およびLVR領域二重欠損株：上記I177L遺伝子欠損株を豚由来の上皮株化細胞(PIPEC)に馴化して得られた変異株。自然にLVR領域を失ったことで同細胞株で良く増殖する。病原性はI177L遺伝子欠損株と同様に無く、低用量(10^2)の強毒株の攻撃は防ぐ。
- ③ H108R遺伝子欠損株：強毒のGeorgia株(ASFV-G)から、ゲノム編集によりH108R遺伝子のみを欠損させた株。完全には弱毒化していない。ただし生残した豚は、低用量(10^2)の強毒株の攻撃は防いだとのこと(未公表)。

ASFVの特徴

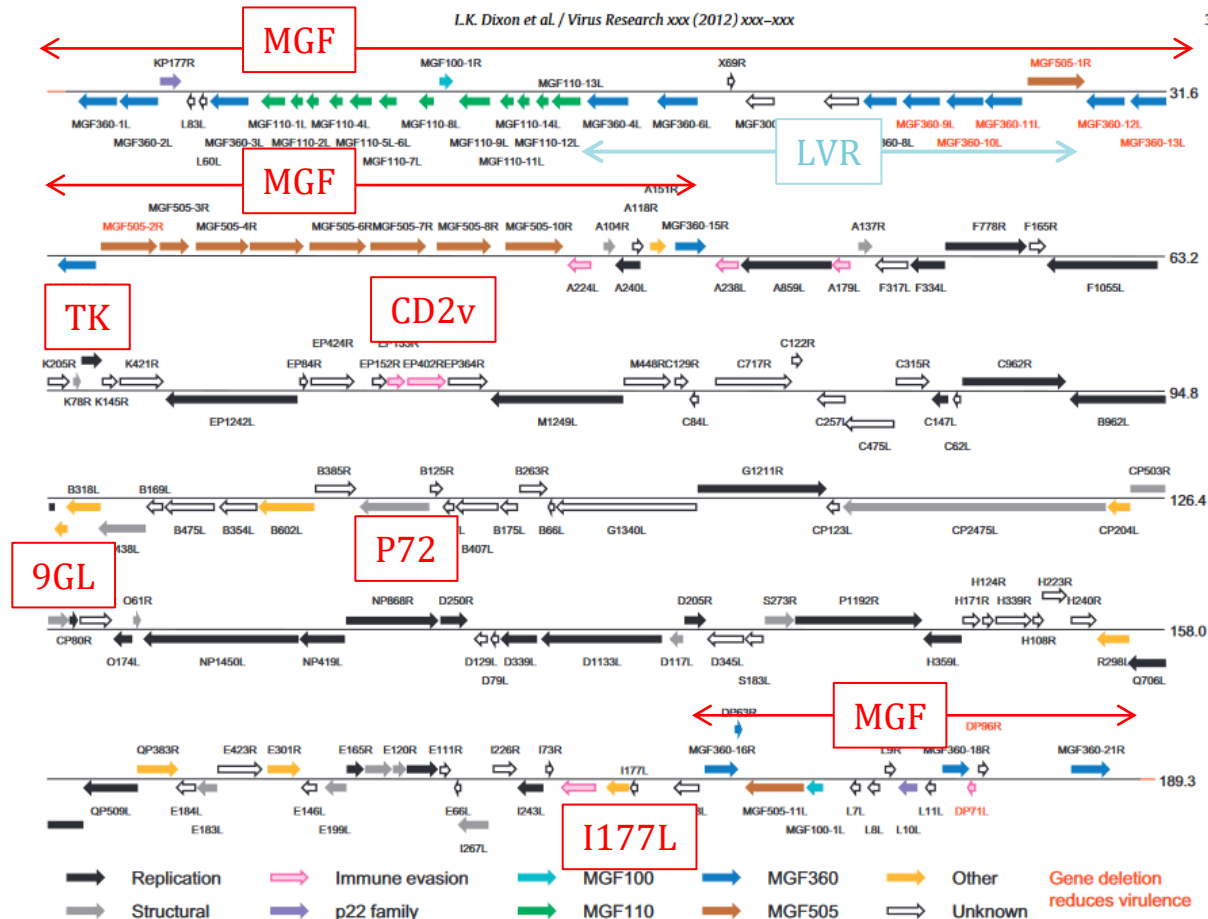


Fig. 1. Genome organisation of the African swine fever virus genome. The organisation of open reading frames (ORFs) on the genome of the virulent ASFV isolate Georgia 2007/1 is shown. ORFs are shown as arrows to indicate their size and direction they are read. The colours indicate ORFs with known functions. Black indicates ORFs encoding enzymes and factors involved in genome replication, repair or transcription. Grey indicates ORFs encoding structural proteins. Pink indicates ORFs encoding proteins involved in evading the host defences. Turquoise, blue, green, brown and mauve indicate members of multigene families. ORFs encoding proteins with other predicted functions are shown in yellow. ORFs encoding proteins of unknown function are shown in white. Red text indicates ORFs whose deletion reduces virus virulence.

最近のASF研究（その2：ワクチン開発）

遺伝子欠損型弱毒ASFV株由来ワクチンの実用化

中国：

①黒竜江省/18(HLJ/18)株由来7遺伝子欠損株：

MGF505-1R～3R、MGF360-12L～14L、CD2vを欠失した株で豚でのワクチン効果が報告されている。その後の情報無し。

日本：

①MGF11遺伝子欠損株：動物検疫所で摘発された試料から分離された強毒株AQS株(II型)の継代途中で出現した自然変異株。病原性を完全に消失しており、接種後速やかに体内から消失する(長期間のウイルス血症にならない)。

詳細は未発表。

②増殖欠損株：上記AQS株からゲノム編集により増殖関連遺伝子領域のみを欠損させた株で、病原性を完全に消失している(詳細は未発表)。

最近のASF研究（その3：免疫応答に関する研究）

Addressing the dual emerging threats of African swine fever and lumpy skin disease in Europe (DEFEND; 2018-2023)

英、20か国ほか：

【目的】 ASFおよびLSDの免疫応答解析（BSL3動物実験施設における長期間（6か月以上）に及ぶウイルス動態、免疫応答の追跡）ならびに両疾病のリスク評価、疫学解析

African Swine Fever pathogenesis and immune responses in Resistant And Susceptible Hosts (ASF RASH; 2021-2024)

西独、デンマーク、スイス、オランダ、ベルギー：

【目的】 ASFを感受性および非感受性動物における病原性発現機構の比較解析（EP405R遺伝子の糖鎖付加配列の変異に関する比較解析）

最近のASF研究（その4：新規遺伝子検査法）

Pen-sideでのASF診断用検査プラットフォームの開発

- ① 検出器を必要としない色素添加型ASFV特異的LAMP法の開発（タイ）
- ② ASFV P30特異的モノクローナル抗体を用いた（半）定量可能なICT抗体検出用キットの開発（米、台企業）
- ③ Padlock PCR法を用いた常温恒温遺伝子増幅法の開発
- ④ 携帯用リアルタイムPCR装置ならびにドライ式（ready-to-goタイプ）のダイレクトリアルタイムPCR用検査試薬の開発（米企業）

ASF/CSF識別用マルチプレックス型ダイレクトリアルタイムPCR法の開発
核酸精製工程を要することなく、血清および臓器乳剤からのASF/CSFの同時検出・識別が可能なりアルタイムPCR/RT-PCR法を開発（日）



最近のASF研究（その5：疫学的研究、リスク解析）

Unraveling the Effect of Contact Networks & Socio-Economic Factors in the Emergence of Infectious Diseases at the Wild-Domestic Interface (ASF NIFNAF; 2019-2023)

西米、仏、南ア、モザンビーク、西、マダガスカル：

【目的】 ASFをモデルとした野生動物と家畜のインターフェースにおける家畜伝染病の伝播様式の分析と経済影響評価

Epidemiological reflections on 8 years of ASF in the Baltic States

独、ラトビア、エストニア、リトアニア

①エストニアでは2017年以降豚での発生は消失し、一部リトアニアを含めて2020年8月までの1年間、野生いのししでの発生も見られなかったが、8月以降いのししでの発生数が増加し、陽性の地域も拡大している。

②この再流行の要因は不明だが、ダニの存在、感染イノシシの死体の残存、人的要因および抗体陽性の個体の関与が疑われ、対策の練り直しが必要。

最近のASF研究（そのら：その他の研究）

ASFV中米株等、流行株の解析

①ドミニカ共和国、ハイチ、米国：

ドミニカ共和国、ハイチの流行株（II型）は1979年の株（I型）と比べて致死性が低い。筋注では100%致死だが、経鼻経口接種では高力価のウイルス血症が長期に持続するが、慢性又は無症状で耐過し、同居豚へも伝播しない。

②中国：

大規模商用農場で繁殖異常が多発。調査の結果、II型弱毒株22株を検出。EP402R遺伝子領域に11種の異なる変異を検出していた（2021年）。
大規模商用農場で慢性症状の豚が認められ、検査によりポルトガル由来の弱毒株に近縁のI型株を検出した（2021年）。

最近のASF研究（その6：その他の研究）

媒介ダニの多様性とASFVの遺伝的多様性との相関に関する研究

ザンビア、米、日：

16SrRNA配列にもとづきザンビアで採取されたダニを系統解析したところ極めて多様な変異が観察された。*Ornithodoros*属ダニから分離された遺伝子型およびXIV型のASFVは、ザンビア国内で流行する豚でのASFの原因ウイルスとは異なる遺伝子構成が認められる。

南アフリカで採取した*Ornithodoros*属ダニから新規ASFV（XXV型）遺伝子を検出

南アフリカ：

国立公園1か所の163のイボイノシシの巣穴から採取したダニ（1,079検体）の1.31%（14検体）から6種（I、VII、XVII、XX、XXI、XXV）のp72遺伝子を検出。

最近のASF研究（その6：その他の研究）

新種のダニによるASFVの媒介の可能性に関する検討

米、ハイチ：

ハイチでは新種の*Ornithodoros*属ダニである*O. puertoricensis*の棲息が確認された。伝播への関与については今後検討。ただし、2021年現在（ともにII型ながら）遺伝的に異なる2種のウイルスが流行していると考えられ、この遺伝的に多様なウイルスの出現性にこのダニが関与している可能性が考えられる。

有難うございました。

農研機構 動物衛生研究部門

越境性家畜感染症研究領域

國保 健浩

