４．分離ウイルスの性状等

１）ウイルスの遺伝的由来について

平成30年１月10日に発生農場の死亡家きんから採取された気管スワブを香川県東部家畜保健衛生所において、発育鶏卵に接種して分離されたウイルス（A/chicken/Kagawa/1T-1/2018：香川株）を用いて、遺伝的、ウイルス学的解析を行った。本ウイルスの赤血球凝集素タンパク質（Hemagglutinin: HA）ならびにノイラミニダーゼ（Neuraminidase: NA）遺伝子の塩基配列からH5N6亜型と同定された。また、HA遺伝子の推定アミノ酸配列から本ウイルスのHAタンパク質は、その前駆体であるHA0タンパク質からHA1,HA2の二つのサブユニットに開裂される部位（開裂部位）の配列に塩基性アミノ酸の連続配列（PLREKRRKR/GLFG：塩基性アミノ酸を赤色で表示）を有することから高病原性鳥インフルエンザウイルス(HPAIV)と判定された。

ウイルスの全ゲノム配列を決定し、公表されている過去に分離されたウイルスや2017-18年に韓国で発生したHPAIの原因ウイルス等の配列と比較した（表３）。

表３　香川県発生株（A/chicken/kagawa/1T-1/2018）とその関連株の遺伝子・アミノ酸比較

HA		Nucleoside						
		Kagawa2018	Korea2017	NL2018	NL2017	NL2016	Shimane2017	Aomori2016
Amino acid	Kagawa2018	ID	0.998	0.992	0.991	0.991	0.983	0.933
	Korea2017	1	ID	0.994	0.992	0.991	0.984	0.933
	NL2018	0.989	0.989	ID	0.992	0.991	0.983	0.931
	NL2017	0.987	0.987	0.984	ID	0.991	0.984	0.934
	NL2016	0.992	0.992	0.989	0.991	ID	0.991	0.938
	Shimane2017	0.985	0.985	0.982	0.987	0.992	ID	0.936
	Tokyo2018	0.984	0.984	0.98	0.985	0.991	0.994	0.934
	Aomori2016	0.955	0.955	0.95	0.957	0.959	0.959	ID

NA		Nucleoside					
		Kagawa2018	Korea2017	NL2018	NL2017	Shimane2017	Aomori2016
Amino acid	Kagawa2018	ID	0.997	0.99	0.991	0.97	0.864
	Korea2017	0.993	ID	0.992	0.994	0.972	0.865
	NL2018	0.982	0.989	ID	0.995	0.971	0.862
	NL2017	0.984	0.991	0.993	ID	0.973	0.864
	Shimane2017	0.953	0.96	0.958	0.962	ID	0.864
	Tokyo2018	0.956	0.962	0.96	0.964	0.995	0.864
	Aomori2016	0.909	0.912	0.903	0.905	0.898	ID

PB2		Nucleoside						
		Kagawa2018	Korea2017	NL2018	NL2017	NL2016	Shimane2017	Aomori2016
Amino acid	Kagawa2018	ID	0.997	0.907	0.994	0.992	0.99	0.868
	Korea2017	0.997	ID	0.909	0.996	0.993	0.991	0.871
	NL2018	0.986	0.989	ID	0.91	0.91	0.91	0.876
	NL2017	0.996	0.998	0.99	ID	0.994	0.992	0.871
	NL2016	0.993	0.996	0.989	0.997	ID	0.994	0.873
	Shimane2017	0.996	0.998	0.99	1	0.997	ID	0.871
	Aomori2016	0.969	0.972	0.971	0.973	0.973	0.973	ID

PB1		Nucleoside						
		Kagawa2018	Korea2017	NL2018	NL2017	NL2016	Shimane2017	Aomori2016
Amino acid	Kagawa2018	ID	0.997	0.992	0.992	0.988	0.982	0.893
	Korea2017	0.997	ID	0.992	0.993	0.989	0.983	0.894
	NL2018	0.992	0.992	ID	0.993	0.986	0.981	0.892
	NL2017	0.996	0.996	0.993	ID	0.986	0.981	0.891
	NL2016	0.994	0.994	0.989	0.993	ID	0.989	0.896
	Shimane2017	0.989	0.989	0.984	0.988	0.992	ID	0.892
	Aomori2016	0.978	0.978	0.973	0.977	0.984	0.976	ID

PA		Nucleoside						
		Kagawa2018	Korea2017	NL2018	NL2017	NL2016	Shimane2017	Aomori2016
Amino acid	Kagawa2018	ID	0.997	0.955	0.995	0.991	0.986	0.914
	Korea2017	0.998	ID	0.956	0.996	0.992	0.986	0.915
	NL2018	0.98	0.981	ID	0.959	0.96	0.954	0.92
	NL2017	0.997	0.998	0.983	ID	0.993	0.988	0.916
	NL2016	0.99	0.991	0.987	0.993	ID	0.991	0.916
	Shimane2017	0.987	0.986	0.979	0.987	0.991	ID	0.913
	Aomori2016	0.967	0.969	0.962	0.967	0.969	0.96	ID

NP		Nucleoside						
		Kagawa2018	Korea2017	NL2018	NL2017	NL2016	Shimane2017	Aomori2016
Amino acid	Kagawa2018	ID	0.997	0.992	0.993	0.99	0.99	0.909
	Korea2017	0.993	ID	0.993	0.995	0.991	0.991	0.91
	NL2018	0.993	0.995	ID	0.994	0.989	0.989	0.908
	NL2017	0.993	0.995	0.995	ID	0.991	0.991	0.909
	NL2016	0.989	0.991	0.991	0.991	ID	0.991	0.911
	Shimane2017	0.993	0.995	0.995	0.995	0.991	ID	0.911
	Aomori2016	0.977	0.979	0.979	0.979	0.975	0.979	ID

M		Nucleoside						
		Kagawa2018	Korea2017	NL2018	NL2017	NL2016	Shimane2017	Aomori2016
Amino acid	Kagawa2018	ID	0.995	0.989	0.995	0.985	0.981	0.906
	Korea2017	0.992	ID	0.989	0.995	0.985	0.981	0.91
	NL2018	0.992	0.992	ID	0.993	0.983	0.977	0.908
	NL2017	0.996	0.996	0.996	ID	0.987	0.981	0.908
	NL2016	0.98	0.98	0.98	0.984	ID	0.991	0.912
	Shimane2017	0.98	0.98	0.98	0.984	0.992	ID	0.914
	Aomori2016	0.94	0.948	0.94	0.944	0.944	0.944	ID

NS		Nucleoside						
		Kagawa2018	Korea2017	NL2018	NL2017	NL2016	Shimane2017	Aomori2016
Amino acid	Kagawa2018	ID	0.998	0.994	0.995	0.98	0.98	0.889
	Korea2017	1	ID	0.992	0.996	0.979	0.979	0.887
	NL2018	0.995	0.995	ID	0.994	0.979	0.977	0.889
	NL2017	1	1	0.995	ID	0.98	0.978	0.886
	NL2016	0.972	0.972	0.967	0.972	ID	0.99	0.892
	Shimane2017	0.972	0.972	0.967	0.972	0.995	ID	0.894
	Aomori2016	0.866	0.866	0.861	0.866	0.866	0.87	ID

株名	略	亜型
A/chicken/Kagawa/1T-1/2018	Kagawa2018	H5N6
A/Mandarin_duck/Korea/K17-1866/2017	Korea2017	H5N6
A/Chicken/Netherlands/EMC-1/2018	NL2018	H5N6
A/Great Black-backed Gull/Netherlands/1/2017	NL2017	H5N6
A/Eur_Wig/NL-Reeuwijk/16015903-003/2016	NL2016	H5N8
A/mute swan/Shimane/3211A001/2017	Shimane2017	H5N6
A/muscovy duck/Aomori/1-3T/2016	Aomori2016	H5N6

香川株は全てに遺伝子分節において韓国で2017年12月にオシドリから分離されたH5N6亜型HPAIV A/Mandarin duck/Korea/K17-1866/2017(Korea2017:H5N6)と核酸レベルで99.5%以上の高いホモロジーを示した。また、2017-18年のヨーロッパでの H5N6 亜 型 の 野 鳥 由 来 株 で あ る A/Great Black-backed Gull/Netherlands/1/2017(NL2017:H5N6)とも全ての分節に渡り99.1%以上のホモロジーを示した。また、同じく2017-18年のヨーロッパでのH5N6亜型の家きん発生由来株である A/Chicken/Netherlands/EMC-1/2018(NL2018:H5N6)ともPB2, PA遺伝子以外の分節で98.9%以上の相同性を示しており、HA遺伝子の相同性はNL2017

よりも高かった。一方で、PB2、PA遺伝子との相同性は、それぞれ90.7%、95.5%であったことから、ヨーロッパでは香川株とは別の遺伝子再集合ウイルスが存在していたことが示唆された。2017年11月に島根県でコブハクチョウから分離されたH5N6亜型HPAIVであるA/mute swan/Shimane/3211A001/2017（H5N6:島根株:Shimane2017）とは、NA遺伝子が97.0%、その他７つの遺伝子は98.0から99.0%と比較的高い相同性を示した。一方で、2016-17年の冬にヨーロッパで流行したH5N8亜型HPAIVであるA/Eur_Wig/NL-Reeuwijk/16015903-003/2016(NL2017:H5N8)のNA遺伝子以外の７分節とは98.0%から99.2%の相同性であったが、同じシーズンに国内で流行したH5N6亜型HPAIVであるA/muscovy duck/Aomori/1-3T/2016(Aomori2016:H5N6)とは86.3%から93.3%と低い相同性しか示さなかった。

さらに香川株の８つの遺伝子分節について系統樹解析を行い、ウイルスの由来について検討した。HA遺伝子は図11に示すように、近年世界的に拡散しているクレード2.3.4.4に属することが示された。また、全ての遺伝子分節において2017年12月以降韓国、ヨーロッパで分離されているH5N6亜型HPAIVと遺伝的に大変近いことが示された（表３、図10)。NA遺伝子を除く７つの遺伝子分節では、HA遺伝子同様、香川株の遺伝子は2016-17年にヨーロッパ、ロシアで分離されたH5N8亜型HPAIVに由来することが示された（図11)。一方で、国内の死亡野鳥サーベイランスで島根県のコブハクチョウ、東京都のオオタカ、兵庫県のカラスから分離されたH5N6亜型HPAIVについては、2016-17年にヨーロッパ、ロシアで分離されたH5N8亜型HPAIVと近縁ではあるが、香川株と系統樹上では異なる分枝に位置していた。NA遺伝子に関しては、香川株、2017年12月以降の韓国株、ヨーロッパ株ならびに国内死亡野鳥例由来ウイルスともに、ヨーロッパで分離されたH3N6亜型やH4N6亜型の鳥インフルエンザウイルス（AIV）のNA遺伝子に由来していることが示された（図12)。さらに、国内野鳥由来株は2017年2月にギリシャで家きんから分離されたウイルスをその直近の祖先としているが、香川株、2017年12月以降の韓国株、ヨーロッパ株の共通の祖先として最も近いNA遺伝子を持つウイルスの遺伝子情報の報告はない。このことから、NA遺伝子についても香川株と国内死亡野鳥株の直接の由来が異なる可能性が強く示唆された。

以上の解析の結果から、本ウイルスは、昨年度ヨーロッパを中心に大きな発生を引き起こしたH5N8亜型HPAIVウイルスとユーラシア大陸で循環しているN6亜型NA遺伝子を持つAIVとの遺伝子再集合ウイルスであると考えられた。また、死亡野鳥由来HPAIVと香川株のNA遺伝子の直近の由来の違いから、香川株を生んだ遺伝子再集合は2017年春から夏に野鳥の営巣地で起こった可能性が推察された。以上のことから香川株は昨年度に国内で発生したHPAIの原因となったH5N6亜型HPAIVとは遺伝的由来の異なるウイルスが国外から新たに侵入したものと考えられる。

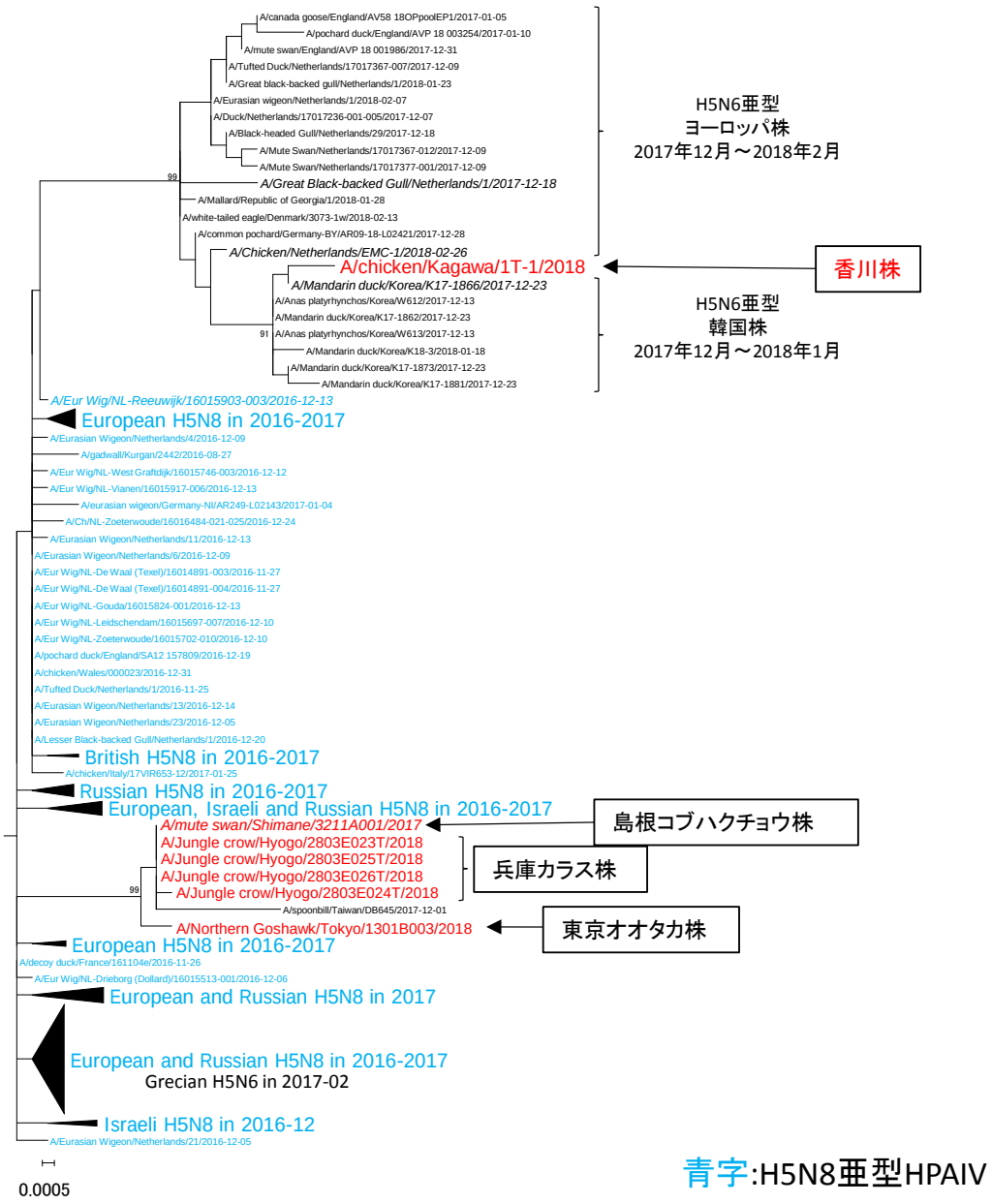


図10　H5HA遺伝子系統樹（クレード2.3.4.4部分拡大）

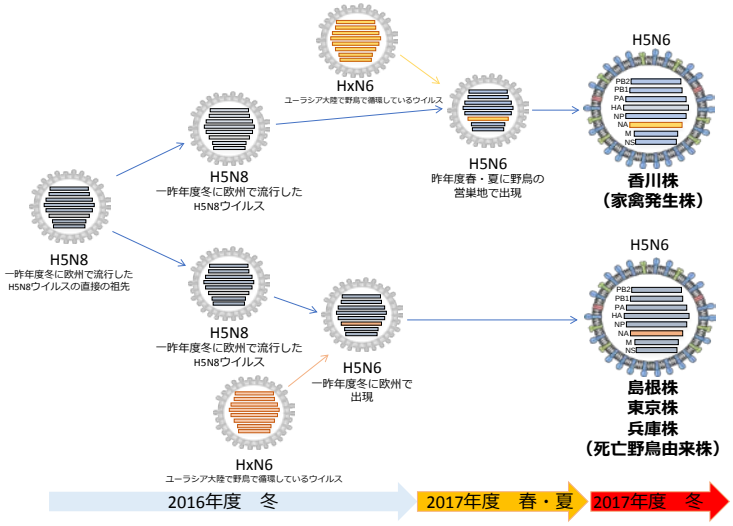


図11　H5N6亜型ウイルスの由来（模式図）

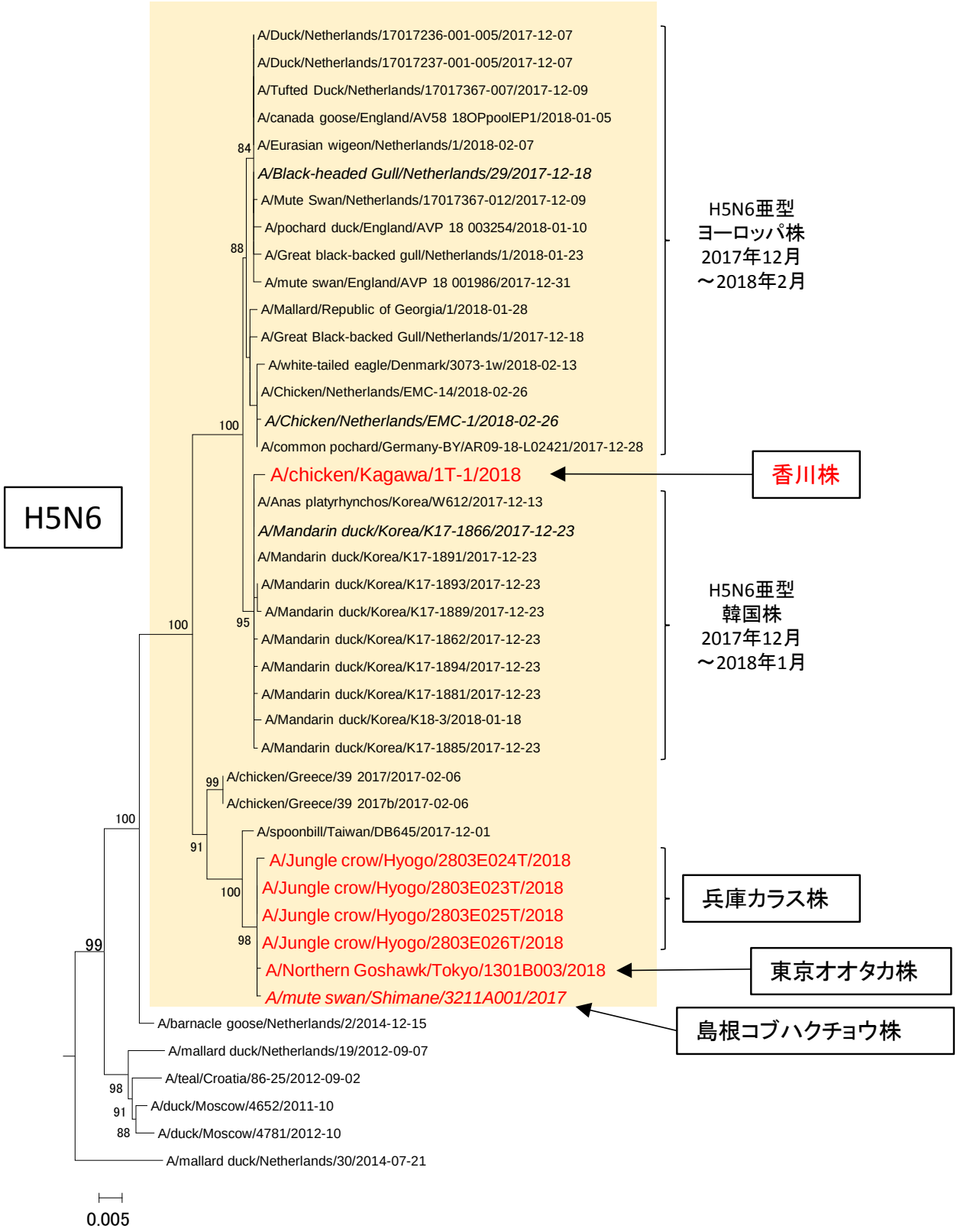


図12　N6 NA遺伝子系統樹

２）ウイルスの病原性について

香川株の病原性を調べるために、OIEの定める手法に従って８週齢の白色レグホ

ン８羽を用いて、静脈内接種試験を行った。その結果、ウイルス感染性漿尿膜腔液を静脈接種して24時間以内に全ての鶏が死亡した。

更に詳細な病原性の検討を行うために、４週齢、８週齢の白色レグホンを用いて10^6 50%鶏卵感染量（EID_{50}）のウイルス量の経鼻投与試験を行った（表４、表５）。ウイルスを投与された４週齢鶏は、５羽が投与２日後、１羽が投与３日後に死亡した(表４)。投与２日後に死亡した鶏は臨床症状を全く示さなかった(図13)。これらの鶏は写真１に示すように投与１日目には臨床的になんら症状を示さず、正常であったが、翌日に死亡していた。投与３日後に死亡した鶏では、沈うつ、目の浮腫、肉冠の軽度のチアノーゼが観察された。死亡時の気管スワブ、クロアカスワブのウイルス力価の平均は4.16 log10 EID_{50}/mlおよび3.52 log10 EID_{50}/mlであり、迅速診断薬(A社製:動物用医薬品として承認されているもの。以下同じ。)を用いた検査で全て陽性を示した。ウイルスを投与された８週齢鶏は、２羽が投与３日後、１羽が投与４日後に死亡した(表５)。投与３日後に死亡した鶏は沈鬱、目の浮腫といった軽度の臨床症状を示していた。投与４日後に死亡した鶏では、沈うつ、目の浮腫に加え、肉冠のチアノーゼが観察された。死亡時の気管スワブ、クロアカスワブのウイルス力価の平均は4.13 log10EID_{50}/mlおよび3.75 log10 EID_{50}/mlであり、迅速診断薬を用いた検査で全て陽性を示した。

鶏を死に至らしめるウイルス濃度を推定するために、４週齢の白色レグホンを４群に分け、10^2, 10^4, 10^5, 10^6EID_{50}のウイルスを経鼻接種して投与後２週間までの生存率を求めた（図14)。10^6EID_{50}投与群は投与３日目までに全例死亡、10^5EID_{50}投与群は、投与４日目までに80%(4/5)の鶏が死亡したが、残りの一羽は14日目まで生残した。10^2, 10^4 EID_{50}投与群は全例生残した。これらの結果から、50%鶏致死容量(50% Chicken lethal dose; CLD_{50})は4.63 log10EID_{50}と算出された。さらに、この実験においても死亡した鶏の死亡確認時の気管スワブ、クロアカスワブのウイルス力価とそれぞれのスワブの迅速診断薬を用いた検査を行った（表７)。気管スワブに関しては、通常の気管スワブ採取法に加え、気管を取り出し切開し、気管内部を拭うことでウイルスの回収を行う切開法でのスワブ採取も行った。10^6EID_{50}、10^5EID_{50}投与群ともに表に示す量のウイルス排泄が確認された。また、気管切開法と通常法でウイルス力価に統計的有意差は認められなかった。しかしながら、迅速診断薬が検出するウイルスの構造たん白質であるNPたん白質は、ウイルス粒子中の成分として細胞外に存在するもの以外にも、ウイルス合成中の細胞内や、ウイルス感染による細胞死で壊れた感染細胞に由来するものなどウイルス粒子中の成分として以外にも多量に存在すると考えられる。気管切開法では、通常法より確実にこれらの形で存在するNPたん白質が回収できると考えられるため、通常法よりも確実な検査手法となる可能性がある。

香川株の鶏の間での伝播能力を推定するために、２種類の方法で伝搬試験を行った（図15)。実験１では、１羽の鶏に10^6EID_{50}のウイルスを経鼻接種した後、接種18時間後に６羽の非感染鶏を同一のアイソレータに同居させた。実験２では、３羽の鶏に10^6EID_{50}のウイルスを経鼻接種した後、接種18時間後に４羽の非感染鶏

を同一のアイソレータに同居させた。実験１ではウイルスを接種した鶏は接種後２日目に死亡したが、同居系は同居後２週間後まで全例生残した。実験２では、ウイルスを接種した鶏は接種後３日目までに３羽とも死亡した。更に同居１週間後までに同居鶏も全て感染して死亡した。この結果から、香川株は個体からのウイルス排泄量が少なく、感染の拡大には感染鶏との密接な接触が必要であることを示唆している。

表４　４週齢鶏を用いた経鼻接種試験（10^6EID_{50}投与）

個体番号	死亡日	臨床症状	気管スワブ		クロアカスワブ	
			ウイルス力価（$log10EID_{50}/mL$）	簡易キット判定	ウイルス力価（$log10EID_{50}/mL$）	簡易キット判定
#1	2dpi	－	5.20	＋	4.87	＋
#2	2dpi	－	4.20	＋	3.07	＋
#3	2dpi	－	3.32	＋	3.20	＋
#4	3dpi	沈うつ 目の浮腫 肉冠チアノーゼ	4.32	＋	4.07	＋
#5	2dpi	－	3.87	＋	3.20	＋
#6	2dpi	－	4.07	＋	2.70	＋
		平均	4.16	平均	3.52	
		標準偏差	0.617	標準偏差	0.800	

沈うつ・目の浮腫

チアノーゼ

ウイルス接種後
1日目

ウイルス接種後
2日目

図13　４週齢鶏を用いた経鼻接種試験（10^6EID_{50}投与）

表５　８週齢鶏を用いた経鼻接種試験（10^6EID_{50}投与）

個体番号	死亡日	臨床症状	気管スワブ		クロアカスワブ	
			ウイルス力価（$log10EID_{50}/mL$）	簡易キット判定	ウイルス力価（$log10EID_{50}/mL$）	簡易キット判定
#1	3dpi	沈うつ 目の浮腫	2.53	＋	4.07	＋
#2	3dpi	沈うつ 目の浮腫	4.32	＋	3.87	＋
#3	4dpi	沈うつ 目の浮腫 チアノーゼ	5.53	＋	3.32	＋
		平均	4.13	平均	3.75	
		標準偏差	1.509	標準偏差	0.387	

沈うつ

目の浮腫及びチアノーゼ

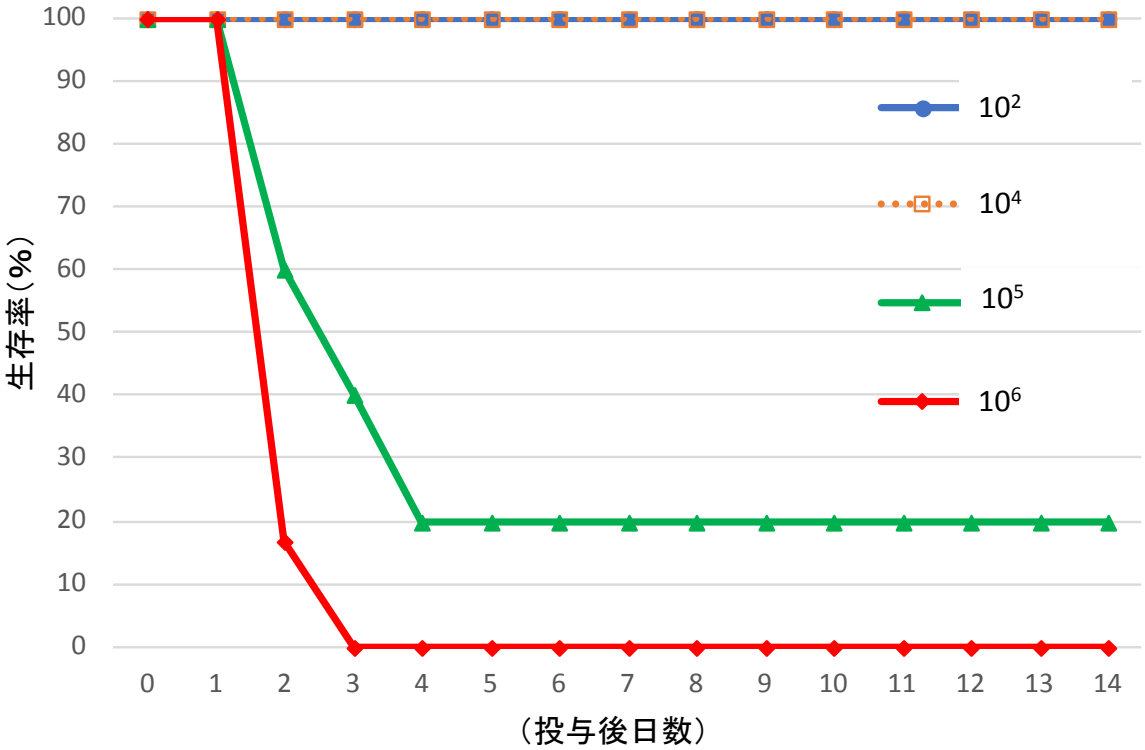


図14　香川株の経鼻接種による生存曲線

表６　香川株を用いたニワトリ接種試験

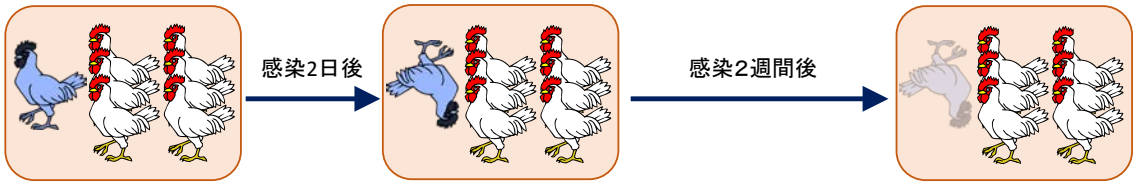
株名	経鼻接種試験による50%鶏致死ウイルス量(log10EID50/100μl)*	静脈内接種試験による致死率**
A/Chicken/Kagawa/1T-1/2018（香川株）	4.63	100%

*:4週齢鶏に10倍階段希釈したウイルスを100μl、経鼻接種
**: 8週齢鶏に10倍希釈したウイルス感染漿尿液を200μl、静脈内接種

表７　死亡時のウイルス排泄量（$logEID_{50}$/ml）

投与ウイルス量（EID_{50}）		気管スワブ（切開法）	気管スワブ（通常法）	クロアカスワブ
10^6	平均（N=6）	4.16	4.44	3.52
	標準偏差	0.62	0.53	0.80
10^5	平均（N=4）	4.32	4.45	4.20
	標準偏差	0.91	0.51	0.67

１）1羽感染



２）3羽感染

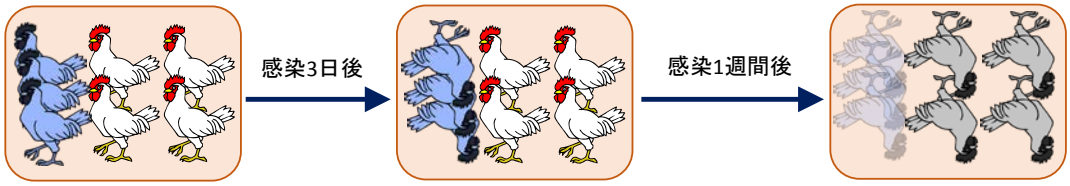


図15　香川株の鶏間での伝播性試験

５．初動対応の検証

１）目的

今事例では、通報当日（１月10日）の簡易検査に引き続き実施した精密検査の結果、HPAIと判断するには至らず、翌日の再検査で同病の疑似患畜と判断された。このため、香川県と動物衛生研究部門における検査成績の比較、分離ウイルスの感染試験により明らかとなった性状等を踏まえて今後の検査体制を検討するため、初動対応を検証する。

２）検査及び試験結果

（１）検査成績の比較等

ア．香川県で遺伝子検査に用いた検体を使って動物衛生研究部門で同検査を実施したところ、両者の検査結果は矛盾しないことを確認した。

イ．香川県が実施した死亡鶏の病理組織検査では、ウイルスと大腸菌症の混合感染所見が確認された。

（２）分離ウイルスの性状

ア．分離ウイルスは、昨年度までに検出されたウイルスと同様に、鶏に対し高い致死性を示したが、これまでの分離ウイルスに比べて、感染鶏から排せつされるウイルス量は1/10～1/100倍程度少なかった。

イ．これまでの分離ウイルスに比べて、感染の成立には比較的多くのウイルス量（平成23年分離株と比べて100倍程度）が必要であった。また、感染の拡大には感染した複数の家きんとの密接な接触が必要であることが示唆された。

３）検証の結果

（１）感染鶏からのウイルス排せつ量が少なく、感染の成立に多くのウイルス量が必要なことは、従来に比べて死亡家きんにおける簡易キットの検出率が低い結果を支持するものであった。

（２）死亡家きんの簡易検査の検出率が25%であったことから、少なくとも感染鶏を１羽以上確実に検出できるように死亡家きんの検査羽数を設定する必要がある。

（３）動物衛生研究部門が気管スワブの採取を行った際には、気管切開の有無により検査結果に差が認められなかったが、現場において採材にあたる者の手技等にかかわらず確実な採材を可能とするため、切開して採材することを推奨する必要がある。

（４）香川県の検査手技については問題がなかったが、大腸菌等の複合感染が検査結果等に影響を与えた可能性も否定できなかった。

４）今後の対応

検証の結果を踏まえ、農林水産省が30年１月15日に通知した検査体制の強化（検査羽数を５羽から11羽へ増加、採材は解剖して確実に実施）は、引き続き実施していくことが適当である。また、ウイルス株の性状により排せつ量が異なる可能

性を踏まえると、今後の発生事例においても、家きんから分離されるウイルスを用いた感染試験等によって検査の信頼性を確認する必要がある。

各県は家畜疾病の診断体制の信頼性を確保するため、引き続き家畜保健衛生所における精度管理体制の整備を進める必要がある。

この他、大腸菌等の複合感染が検査結果等に影響した可能性が否定できないことから、追加的に再現試験を実施し、複合感染の影響を確認する必要がある。

６．総合的考察

１）発生の概要

（１）発生農場の特徴

我が国における平成29年度の高病原性鳥インフルエンザの発生農場は、これまで発生が確認されていなかった香川県で確認された。

我が国への鳥インフルエンザウイルスの侵入経路として最も重要と考えられている野鳥については、香川県で発生が確認された時点では島根県及び東京都で８事例確認されており、その後兵庫県で38事例（４月５日時点）確認されている。野鳥での最大規模の発生となった28～29シーズンは218例（死亡野鳥：210例）で、北海道から九州まで広範囲で高病原性鳥インフルエンザウイルスが確認されたことと比べると、野鳥での発生は比較的落ち着いていたと考えられた。

発生農場の周辺環境としては、付近に竹林と雑木林があるなど、森林性野鳥やネズミ、イタチ等の小動物の生息に適した環境が存在していた。また、オオバンなどの野鳥が飛来するため池が農場敷地のほぼ中央に存在し、発生鶏舎はため池に最も近い場所に位置していた。櫻井らの報告によると、農場周辺における水辺の有無について発生農場と非発生農場を比較分析した結果、28-29シーズンの発生農場では周辺（25～105m）に水辺が有意に多いことが示された。これらのことを踏まえると、今回の家きんにおける発生に関しては、ウイルスに感染した野鳥が農場周辺に飛来し、農場周辺の環境中にウイルスが存在し、野生動物等何らかの手段によってウイルスが鶏舎内に侵入した可能性が考えられた。

（２）分離ウイルスの特徴

29年度に我が国の野鳥及び家きんで確認された高病原性鳥インフルエンザウイルスはいずれもH5N6亜型であった。分離されたウイルスの性状を明らかにするため、遺伝子解析及び感染試験が実施された。

ア．ウイルスの遺伝子的特徴

① 香川株の８本すべての遺伝子分節が29年12月にオランダでオオカモメから分離されたH5N6亜型高病原性鳥インフルエンザウイルス（オオカモメ株）と高い相同性を示した（99%以上）。このうち１本の遺伝子分節（NA遺伝子）は、オオカモメ株と高い相同性（99%以上）を示すとともに、ユーラシア大陸に生息する鳥類の間で循環している鳥インフルエンザウイルスのNA遺伝子と近縁であることがわかった。このことから、本ウイルスは28年度の冬にヨーロッパで流行したH5N8亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスとユーラシア大陸に生息する鳥類の間で循環しているHxN6亜型の鳥インフルエンザウイルスの遺伝子再集合ウイルスであると考えられた（図10）。

② 29年11月に島根県ではコブハクチョウから同じくH5N6亜型高病原性鳥インフルエンザウイルス（コブハクチョウ株）が分離されているが、香川株とオオカモメ株の遺伝子の相同性は、香川株とコブハクチョウ株（97～99%）

よりも高いことから、この冬には国内に遺伝的に区別のできる2種類のH5N6亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスが侵入したと考えられた。また、遺伝子相同性の違いや遺伝子系統解析の結果から28-29年冬季に発生した高病原性鳥インフルエンザの起因ウイルスが国内で潜伏し、再興した可能性は否定された。

③　香川株は、29年12月以降に韓国京畿道の渡り鳥飛来地で野鳥(マガモ等)から分離されたH5N6株及びヨーロッパ分離株と極めて相同性が高かったが、国内の野鳥（島根県のコブハクチョウ、東京都のオオタカ、兵庫県のハシブトガラス）から分離された株とは明確に区分された。

④　以上のことから、28-29年にヨーロッパで流行したH5N8亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスが渡り鳥の繁殖期に営巣地であるシベリアに運ばれて、そこでHxN6亜型鳥インフルエンザウイルスと遺伝子再集合を起こし、H5N6亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスとして渡り鳥の越冬期にオランダと日本や韓国等に運搬されたと考えられた。

イ．ウイルスの病原性について

①　昨年度までに検出された高病原性鳥インフルエンザと同様に、ウイルスの病原性は高く、家きんに対して高い致死性を示した。

②　一方で、感染した鶏から排せつされるウイルス量は1/10～1/100程度と少なく、感染成立には比較的多くのウイルス量が必要であり、また、同居鶏への感染試験においても、感染の拡大には感染した複数の家きんとの濃密な接触が必要であった。

③　以上のことから、今回分離されたウイルスは感染が成立すれば、過去の事例と同様に高い致死性を示すため、鶏の死亡数の増加は29年度の発生においても高病原性鳥インフルエンザ疑いの通報において有効な指標であったと考えられる。一方で、感染が拡大しにくい可能性も示されたことから、日頃から飼養家きんを注意深く観察し、死亡羽数の増加に注意を払う必要がある。

２）国内への侵入時期・経路

発生農場と海外との接点などは確認されておらず、また、我が国における29年度の野鳥での発生は昨年度に比べると少ない傾向にあったが、29年12月から30年１月にかけて韓国京畿道の渡り鳥飛来地で採材された野鳥（マガモ等）の糞便から分離されたH5N6亜型高病原性鳥インフルエンザは、香川株と極めて近縁であることが判明している。

以上のことを踏まえると、野鳥の確認は３都県のみであったが感染確認地点が島根県、兵庫県及び東京都と離れた場所であり、野鳥に対する致死性の変化によって死亡野鳥の検出率が低下した可能性も否定できないことから、ウイルスは29年11月初旬以降に渡り鳥により日本に侵入し、日本の広い地域にウイル

スが存在していたものと考えられる。また、発生農場の周辺環境、発生時期等を踏まえると、海外から人や物の移動を介してウイルスが日本国内に持ち込まれ発生原因となった可能性よりも、渡り鳥等によって日本に持ち込まれた可能性が高いと考えられた。

現在、渡り鳥の北上は始まっているものの、過去には４月中旬に高病原性鳥インフルエンザの発生が確認された事例もあることから、高病原性鳥インフルエンザ対策については、これまでどおり、秋の渡りの開始時期から春の渡りの終了時期までは、特に警戒が必要である。

３）農場・家きん舎への侵入

（１）侵入時期

感染試験の結果､50%鶏致死ウイルス量は､過去のウイルスと比べて高い値(病原性が弱い）を示したことから、感染により多くのウイルスを要することが示唆された。

生存曲線解析の結果、高濃度（10^6EID_{50}）に感染させた場合は２～４日後に死亡が確認された。自然感染の場合には、ウイルスの暴露量や感染経路が一定でないこと等から、農場においてウイルス感染による死亡羽数の明確な増加が観察されるまでには感染試験に比較して更に数日を要すると考えられた。

以上のことを踏まえると、家きん群へのウイルス感染時期は、死亡羽数の増加が確認されたおよそ４～６日前程度と考えられた。

野鳥での発生状況との関連については、22年度、28年度の発生ともに、野鳥での発生件数が多い月で家きんでの発生件数も多くなっていることから、野鳥でのサーベイランス結果に注意を払う必要がある。

（２）侵入経路

発生農場の敷地中心にはため池が存在し、水鳥の飛来やため池周囲には野生動物の糞等も確認された。また、発生鶏舎はため池に最も近い場所に位置していることからも、水辺が近くに存在するリスクが改めて示唆される事例となった。

当該鶏舎の周囲には、ウイルスに感染した鳥類を含む野生動物及びその排せつ物によってウイルスが存在していたと考えられ、このような環境の中、侵入経路としては、①ネズミ等の何らかの野生動物が家きん舎周辺にあったウイルスを家きん舎内に持ち込んだ可能性や②（人や車両又は野鳥を含む野生動物が農場内にウイルスを持ち込み､)家きん舎周辺にあったウイルスを家きん舎内に出入りする人（手指、衣服、靴底等に付着）が持ち込んだ可能性が考えられるが、いずれの経路によるのかを明らかにするには至らなかった。

特に、今回のように鶏舎周囲に水辺が存在し、ウイルスが極めて多く存在すると考えられる場合は、家きん舎へ持ち込むすべての物がウイルスの侵入リスクを高める要因となり得るとの危機感を常に持って、リスク低減のための対策

の徹底が重要である。

４）平成29年度における我が国の防疫対応

（１）防疫体制の構築

① 29年６月に全国の家畜衛生担当者等を参集した「28年度における高病原性鳥インフルエンザの発生に係る疫学調査報告書全国説明会」を開催するとともに、都道府県に対し、29年度のシーズンに向けた発生予防対策について通知を発出し、農場への指導及び助言に係るチェックポイントを示した。

② 29年９月、国際的な発生状況や渡り鳥の動向を踏まえ、都道府県に対し、発生予防対策及びまん延防止対策の強化について通知するとともに、飼養衛生管理基準の遵守状況の確認及び報告、指導について依頼した。また、各地域における指導に活用できるよう、小規模の家きん飼養農場における優良な取組事例を具体的に共有した。

③ 29年９月、全国一斉の防疫演習を実施し、防疫作業を困難とする課題等の整理と、課題の解決に向けた検討を行った。また、各県及び地域においても演習や研修会等を開催し、万が一の発生に備えた準備対応を行っていた。

④ 29年11月、島根県で回収された死亡野鳥から高病原性鳥インフルエンザウイルス（H5N6亜型）が検出されたことを受け、都道府県に対し、我が国での発生リスクが極めて高い状況となり、改めて高病原性鳥インフルエンザが発生した場合に迅速かつ円滑な初動対応が講じられるよう、必要人員の確保及び緊急連絡先の確認並びに必要な防疫資材の備蓄・調達先の確認について通知を行った。

⑤ 29年11月、韓国の家畜衛生当局から、韓国の家きん飼養農場における高病原性鳥インフルエンザ（H5N6亜型）の検出事例について連絡があり、これを受け、改めて都道府県に対し、防疫対策の再徹底について通知を行った。

⑥ 29年12月、関係団体等に対し、防疫資材等の安定供給及び輸送、消毒ポイントにおける消毒作業、防疫作業員の派遣等について、協力依頼を行った。

⑦ 27年度以降、都道府県の家畜保健衛生所が行う診断の信頼性確保のため、全国的な精度管理体制の構築を進めている。29年度は、鳥インフルエンザ遺伝子検査（リアルタイムPCR、コンベンショナルPCR）及び血清学的試験を対象とした外部精度管理のモデル実施と結果の検証を行った。

⑧ これらの取組によって、飼養者、都道府県、国等の関係者間において、高病原性鳥インフルエンザに対する危機意識の共有と発生を見据えた体制の構築が図られ、このような事前の備えが、29年度の防疫対応に有効であったと考えられた。

（２）発生時の対応

① 農林水産省は、１月10日の香川県からの簡易検査陽性の報告を受け、同日直ちに農林水産省に対策本部を開催し、今後の対応方針を決定するとともに、

関係省庁や都道府県との情報共有、プレスリリースによる情報提供、家きん疾病小委員会の開催等の対応を行った。

② 今回は、過去の発生事例と異なり、簡易キット及び遺伝子検査の検出率が低く、また、簡易キットと遺伝子検査との結果に整合性がとれず疑似患畜との判断が出来なかったこと、特徴的な臨床所見が見られなかったこと、死亡数の推移等から、適切な検査結果が得られていない可能性を考慮し、専門家と協議の上、速やかに動物衛生研究部門の専門家を現地に派遣し、香川県とともに再検査を実施することとした。

③ これらの状況を踏まえ、専門家と協議の上、高病原性鳥インフルエンザを疑う異常家きんの届出を受けた場合の当面の対応として、①検査対象羽数を増やす、②解剖による検体採材及び③動物衛生研究部門に速やかに検体を送付することとし、１月15日に各都道府県に通知した。

（３）まとめ

29年11月以降、韓国においては家きんの主要飼養地域を中心に、30年３月21日までに家きんにおいて22件の発生があり、約654万羽の殺処分が行われ、また、野鳥では12件の発生が報告されている。一方、我が国においては、野鳥での発生が３都県の確認にとどまっているものの、周辺諸国での発生状況を踏まえると、我が国の家きん群へのウイルス侵入の潜在的なリスクは少なからずあったと考えられる。

このような状況であったにも関わらず、我が国での家きん飼養農場での発生は１件のみであった。これは、過去の発生を踏まえて農場段階での消毒の徹底、野鳥の侵入防止対策の強化等の飼養衛生管理の徹底が図られるとともに、都道府県での防疫演習の実施など、万一に備えて構築してきた防疫対策が有効に機能した結果と考えられた。

７．提言

高病原性鳥インフルエンザの近年の国際的な発生動向をみると、アジアのみならずヨーロッパの国々でも発生が継続して確認されている。国際的な発生状況及びウイルスを保有した渡り鳥がアジアを含む様々な地域から営巣地や中継地に飛来し、翌秋以降、渡り鳥の渡りに伴って我が国にウイルスが持ち込まれることが懸念されることから、今後とも、高病原性鳥インフルエンザの発生リスクは高いと言わざるを得ない。

今回の発生は、香川県で初めての発生であったが、関係者の協力の下で迅速かつ的確な初動防疫が実施された結果、周辺農場へ感染が拡大することなく、まん延防止が適切に図られたと考えられる。一方で、今後の防疫対策に反映させることで更なる対策の強化につながると考えられる点も認められた。

このため、今回の疫学調査等の結果に基づき、今後の高病原性鳥インフルエンザ対策に向けて提言を以下に示すので、生産者、都道府県、国を始めとするすべての関係者で意識の共有を図り、発生を見据えて更に強固な防疫体制の構築に努められたい。

（１）周辺に水辺があるなどの発生リスクが比較的高い農場における発生予防対策

28年度シーズンの発生を踏まえ公表した「平成28年度における高病原性鳥インフルエンザの発生に係る疫学調査報告書」では、同年度の発生において発生農場と非発生農場を比較した結果、発生農場は周辺に水辺のある農場が多いことが示唆された。その後、櫻井らも、28年度シーズンの発生を解析した結果、近隣の水辺の存在が家きん農場における高病原性鳥インフルエンザ発生と有意に関連していることを報告した[1]。

今回の発生事例においても、発生農場の敷地のほぼ中央部にため池があり、発生鶏舎はこのため池に最も近い場所に位置していたことが確認されている。このため、周辺に水辺がある農場においては、水辺というリスクを減らす取組（季節を限って水を抜く、野鳥を寄せ付けないよう忌避テープを張る等）を実施することが効果的である。一方で、対策を講じることが困難な農場においても、家きん舎周辺にウイルスが存在するかもしれないという危機感を常に持って、人・車両、野鳥を含む野生動物を介した農場内及び家きん舎内へのウイルスの侵入することを防止するための対策を例外なく厳格に行っていくことが高病原性鳥インフルエンザの予防対策として重要である。

（２）水際検疫における携帯品等を介したウイルスの侵入の防止

我が国への訪日外国人数は年々増加しており、29年は過去最高の2,869万人と

[1] Shimizu Y., Hayama Y., Yamamoto T., Murai K. and Tsutsui T. Matched case-control study of the influence of inland waters surrounding poultry farms on avian influenza outbreaks in Japan. *Sci Rep.* 2018 Feb 19;8(1):3306.

なった。このうちの多くは中国、韓国等の高病原性鳥インフルエンザの発生が確認されている東アジア地域の国々が占めており、人や物の移動を介して高病原性鳥インフルエンザを含めた越境性動物疾病の侵入リスクが高まっている。

動物検疫所においては、越境性動物疾病の侵入リスクを低減するため、入国者への口頭質問、ホームページの多言語化、靴底消毒等による侵入防止措置の強化、検疫探知犬の増頭を行っているが、海外から携帯品として持ち込まれる家きん肉のモニタリング検査により、高病原性鳥インフルエンザウイルスが分離された事例が確認されている。このような携帯品を介して国内で飼養されている家きんが高病原性鳥インフルエンザウイルスに暴露するリスクは必ずしも高いとは言えないが、リスクの高まりに対応した水際防疫によるウイルス侵入防止を講ずる必要がある。また、家きん飼養農場における外国人労働者等の受入実態や農場従事者の渡航歴も踏まえ、引き続き、関係団体とも連携して効果的な飼養衛生管理基準の遵守の徹底を図る必要がある。

（３）国内の研究・診断体制及び国際的な連携関係の強化

高病原性鳥インフルエンザは、営巣地や中継地に侵入したウイルスの遺伝子再集合によって生じたウイルスが、秋以降、渡り鳥の渡りによって我が国にウイルスが持ち込まれることによって引き起こされることが示唆されている。

このため、今後とも、家きんや野鳥から高病原性鳥インフルエンザウイルスが分離された際には、迅速に一連の診断・研究を行い、その結果を関係各国と情報共有する体制を維持・整備する必要がある。

今般の発生事例では、発生後直ちに動物衛生研究部門ではウイルスの遺伝子解析、鶏を用いた感試験等を、また、鳥取大学でも発生農場等から採取した多数の疫学サンプルの分析が実施された。これらの診断・研究体制は、初動対応の検証、今後の検査体制の在り方の検討、発生農場におけるウイルス動態の推定等に必須で有用な科学的データを多数もたらした。

また、高病原性鳥インフルエンザの対策には周辺国との連携も重要であることから、従来から、韓国の家畜衛生当局と我が国の担当者間では迅速な情報共有の枠組の構築に努めている。この枠組を通じて、29年11月18日、韓国全羅北道においてシーズン初めてとなる家きんでの高病原性鳥インフルエンザウイルスの検出（病原性は翌日判明）及び殺処分等の緊急防疫措置の実施状況について韓国当局担当者から直接我が国の担当者に連絡が入った。この情報提供によって、国内の関係者に対する迅速な情報共有に加えて、農場での飼養衛生管理対策の強化につなげることができた。越境性動物疾病の防疫対策については、一国のみでは自ずと限界があり、周辺諸国との連携が重要であることから、日中韓農業大臣間での協力覚書の締結、G7の獣医当局間での技術的協力枠組の構築等を通じた協力関係の強化を継続し、高病原性鳥インフルエンザ対策の強化を図る必要がある。

（４）迅速で的確な初動対応の確保に向けた防疫演習及び防疫資材の備蓄・管理

万一発生した場合には、飼養者からの早期発見・早期通報と関係者一体となった迅速で的確な初動対応が最も重要である。

早期発見・早期通報については、香川県で分離されたウイルスは鶏に対する病原性が低下している可能性が示されたが、感染試験でも死亡が確認されていることから、毎日の飼養家きんに対する健康観察と死亡羽数の増加といった異状が見られた場合の早期通報の徹底を引き続き周知していく必要がある。

迅速で的確な初動対応については、毎年、すべての都道府県において、関係者の参加も得て地域の実態を踏まえた防疫演習を複数回実施しており、日頃から万一の発生に対する準備を行っている。16年以降、20道府県で家きんでの発生が確認されていることからも、高病原性鳥インフルエンザの発生には地域性はないことは明らかであり、すべての都道府県において、自県で発生することを想定した実践的な防疫演習及び防疫資材の備蓄・管理を行うことが重要である。特に、防疫演習で実施できないことは実践では成し得ないという心構えで防疫演習に臨むことが重要であり、実際の発生時に迅速かつ的確な初動対応を確保するためには農場ごとの防疫計画をあらかじめ作成し、具体的な人員や資材･機材の確保について関係者と事前に調整を行い､発生に備える必要がある。

また、防疫演習とともに防疫資材の備蓄・管理は迅速な防疫措置には不可欠であり、発生時に確保することとしている資材の入手先とその連絡先の定期的な確認とともに、必要に応じて近隣県と人員や資材を融通する協力体制を構築することも重要である。

（５）初動対応の検証を踏まえた今後の検査体制の在り方

初動対応の検証結果を踏まえ、農林水産省が30年１月15日に通知した検査体制の強化（検査羽数を５羽から11羽へ増加、採材は解剖して確実に実施）は、引き続き実施することが適当である。

今回分離されたウイルスは昨年度までに検出されたウイルスと比較して、感染鶏から排せつされるウイルス量が少ないことから、ウイルス株によって排せつ量が異なる可能性が示唆される。今後の発生事例においても、家きんから分離されるウイルスを用いた感染試験等によって引き続き実施する検査の信頼性を確認する必要がある。

さらに、家畜疾病診断の信頼性を確保するため、家畜保健衛生所における精度管理体制の構築を進め、ソフト及びハード両面から診断水準の高位平準化を進める必要がある。

この他、本事例の解剖検査及び病理組織学的検査から高病原性鳥インフルエンザと大腸菌との複合感染が示唆されており、この複合感染が検査結果等に影響した可能性を否定できないことから、追加的な再現試験によって複合感染の影響を確認する必要がある。

1　高病原性鳥インフルエンザ疫学調査チーム委員名簿

泉川　康弘	香川県東部家畜保健衛生所防疫課長
伊藤　壽啓	国立大学法人鳥取大学農学部共同獣医学科教授（チーム長）
内田　裕子	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門越境性感染症研究領域 インフルエンザユニット長
金井　裕	公益財団法人日本野鳥の会参与
西藤　岳彦	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門越境性感染症研究領域長
白田　一敏	株式会社ピーピーキューシー専務取締役
森口　紗千子	国立大学法人新潟大学自然科学研究科特任助教
山本　健久	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門ウイルス・疫学研究領域疫学ユニット長

2　事務局

農林水産省消費・安全局動物衛生課

3　高病原性鳥インフルエンザ疫学調査チーム検討会

第１回検討会　平成30年２月14日

第２回検討会　平成30年３月28日

4　公表日

平成30年４月24日