

実施課題２－２：

令和２年度は一般的にいのししを捕獲する際に誘引に使用されるトウモロコシや米糠等を用いたベイト剤について、条件を変えて試作ベイト剤を野外に設置し、センサーカメラを用いて採食の有無や採食の際の量および頻度等の観察を行い、国内のいのししの嗜好性を評価した。２－１で試作したベイト剤により７種の哺乳類、鳥類の誘引を確認、うち、いのししを含む４種の採食を確認した。センサーカメラの画像の解析の結果、いのししは薄明薄暮に出没することが多く、試行回数の増加⇨事前誘引によりいのししの出没率が向上して優先的にベイト剤を採食させられることが分かった（図２-2-1、２-2-2）。

ただし、地下にベイト剤を設置した場合は、発見率および採食率が低下するため、香料等の添加物による誘引性の向上が必要と考えられる。

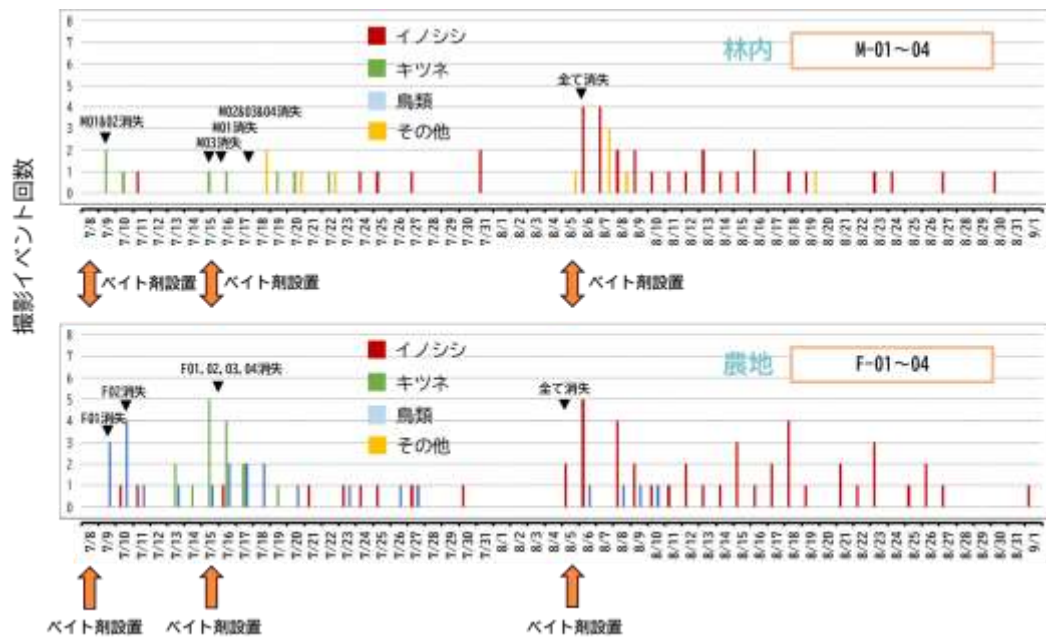


図2-2-1：試作ベイト剤設置時のベイト剤消失までの期間および採食した動物種の状況

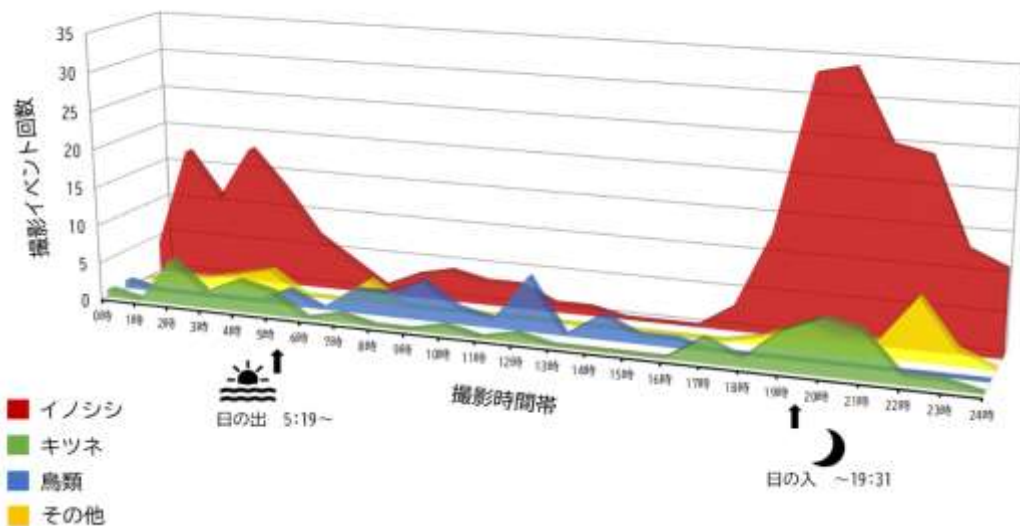


図2-2-2：試作ベイト剤設置時の動物種ごとの出没（誘引）時間帯

令和3年度は、令和2年度から実施している野外調査区において野生いのししにベイト素材等をCSF経口ワクチンの散布方法と同様の方法で散布し、イノシシの嗜好性や摂食方法等の確認を行った。さらに、新型コロナ対策およびCSFの野生いのししにおける陽性確認地域の急激な拡大に対応するため、九州および本州において複数の新規実証地を設置、センサーカメラに対する馴致調査や現地踏査を行ったが（図2-2-3）、令和3年度は全国的にいのししの出没状況および捕獲実績が少なく、実証地において明確な嗜好性の確認が困難であった。

さらに、積雪の影響やツキノワグマ等の他種の影響を調べるための現地踏査およびセンサーカメラ等による動物相調査等を実施した（図2-2-4）。その結果、いのししは積雪の影響を受けて生息地が限定されるとされていた地域においてもいのししの生息が確認できた。（ただし、積雪によって生息地の選択性に変化が生じている事が示唆された）

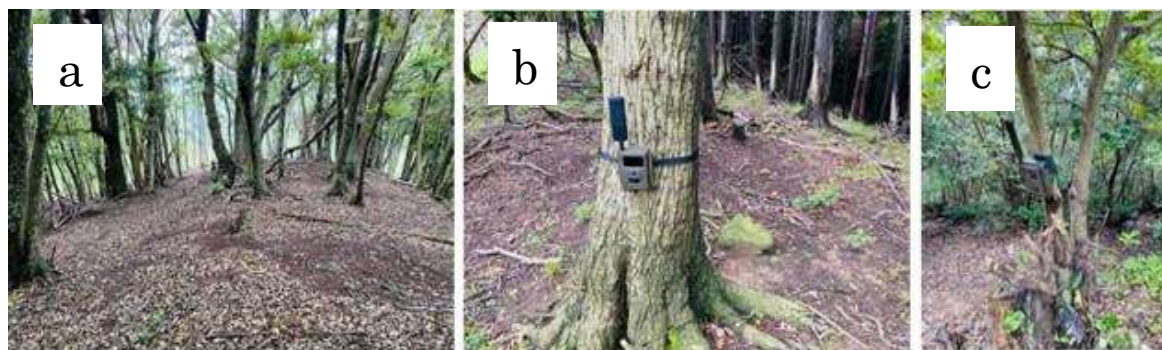


図2-2-3：新規実証地の様子（a）およびセンサーカメラの馴致および動物相調査（b）



図2-2-4：積雪時の動物相およびベイト素材に対する嗜好性調査

(a) いのししの牙擦り痕、(b) 積雪地域におけるセンサーカメラの設置

現地実証地に複数の調査区を設定し、現地踏査およびセンサーカメラ等により地域の動物相を把握した。その後、実施課題2-1で開発されたベイト剤を現地に散布し、誘引方法等の条件を変えながらイノシシの嗜好性を分析した。また、その際の誘引効果や採食方法等を分析し、CSF経口ワクチンの散布方法等の運用についても検証を行った。今回、複数の地域に実証地を設置し、現地踏査およびセンサーカメラ設置を実施した。特にセンサーカメラ設置作業等の静置が終わった群馬県の実証地に4か所の実証区を設置し、地域の動物相を把握した。その結果、哺乳類9種以上（イノシシ、ニホンジカ、ツキノワグマ、ニホンカモシカ、キツネ、タヌキ、テン、ハクビシン、アカネズミ等）、鳥類5種以上（ハシブトガラス、ガビチョウ、コジュケイ、キジバト等）を確認した。特に実証においては、ネズミ類（主にアカネズミ）とタヌキの出没が多く、ベイト剤および誘引エサを設置した際には顕著に出没回数が増加することが明らかとなった（図2-2-5）。これについては国内におけるCSF経口ワクチン散布時に問題となっているタヌキやアナグマ等の中型哺乳類によるベイト剤の盗食と同様の結果が得られ一方で、従来の痕跡等では検知できなかったネズミ類の出没と盗食の可能性を示唆する結果が得られた。また、年間を通じた実証においては、ベイト剤および抱合材についてイノシシ、キツネ、タヌキ、アカネズミ等による採食を確認した。このことから現在のベイト剤でのイノシシの嗜好性を確認できたものの、他種による盗食の可能性も懸念される結果となった。なお、イノシシの出没は誘引ありで3回、誘引なしでは1回確認できたが、ネズミ類およびタヌキの出没回数の値が大きく図1では確認できない状況にある（令和2年度、3年度のベイト剤素材の現地試験を通じて、イノシシの採食と嗜好性を確認済）。

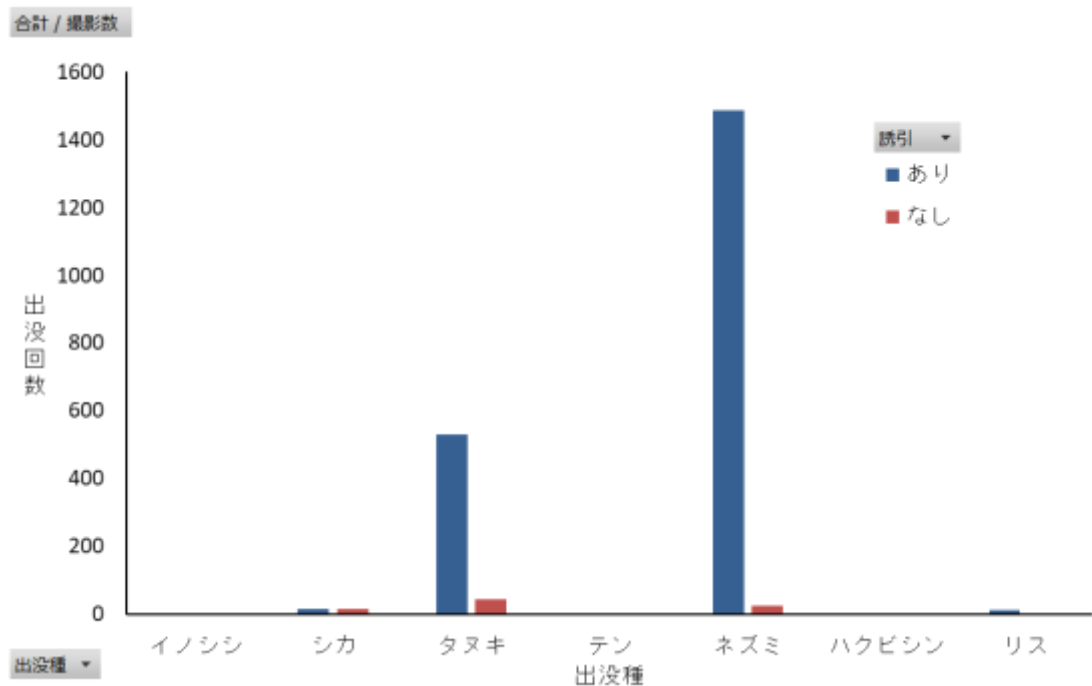


図2-2-5：誘引（ベイト剤および誘引エサ）の有無における動物種ごとの出没傾向

今回の結果から、誘引（事前誘引）により、イノシシ、タヌキ、ネズミの出没状況に影響を与えることが出来ることが示唆された（図2-2-6）。特に従来のCSF経口ワクチンの盗食の原因となっていたタヌキでは17時頃から採食が始まり、翌朝5時くらいに採食（誘引）のピークが確認できた。一方でイノシシの場合はタヌキよりも早い時間から活動を始め、採食（誘引）のピークが19時頃にあり、カラス類などの鳥類の盗食回避も合わせると、午後から夕方でのベイト剤散布のような誘引や経口ワクチンの運用により、経口ワクチンのイノシシでの採食効率を向上される可能性が示された。ただし、イノシシの警戒が強い地域ではタヌキの出没が先行および継続する可能性があることから、誘引範囲や散布範囲を広げにするなどの運用面での対応も併せて必要であると考えられる。

実施課題2で開発されたベイト剤および抱合材については、現在のドイツ製の物に比べて小型化されており、保管や運搬等が容易になった。また、イノシシによる採食および臼歯等によるすり潰しや咀嚼等も観察できている。

一方で小型化、軽量化されたことでアカネズミ等による盗食が多く確認されており（図2-2-7）、実用化の際には中型・小型の哺乳類および鳥類による盗食リスクが高いものと考えられる。このため、運用時の誘引や散布場所の検討などのワクチン運用方法の効率化に留意する必要がある。

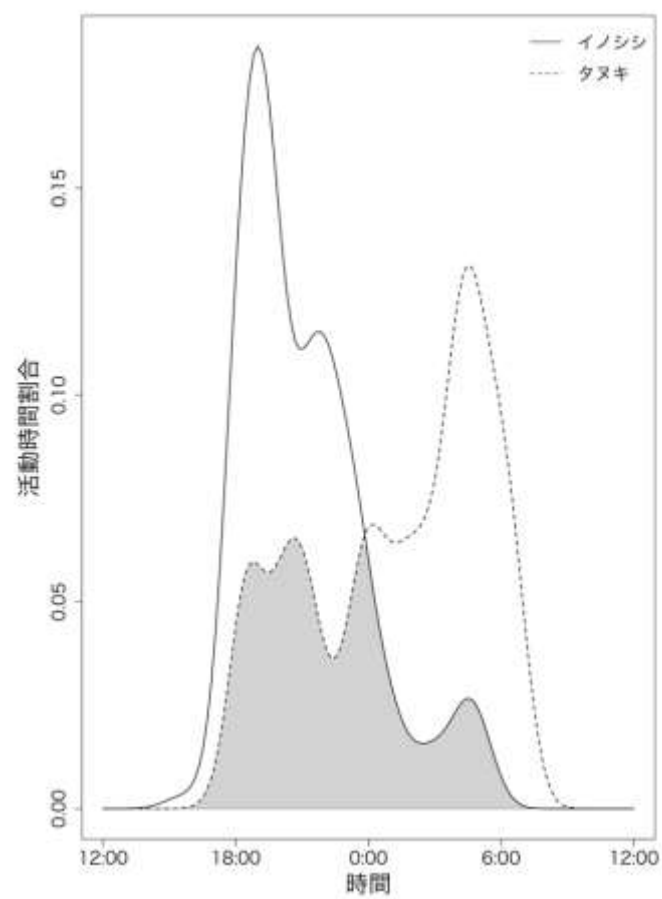


図2-2-6：誘引に伴うイノシシとタヌキの活動時間の割合



図2-2-7：ネズミ類によって持ち出されるベイト剤（矢印部分がベイト剤）

(エ) 研究成果の活用における留意点

ベイト剤の野外散布の実証試験を引き続き実施して、大きさについて検討が必要と考えられる。

今回の野外試験においては、イノシシの出没状況の変化を捉えることができたため、今後のワクチン戦略において季節によって自然界でのイノシシの餌資源および採食場所が変化することに留意し、野外でのイノシシや他の野生動物の嗜好性および摂食の有無等について現地確認をしながらワクチン散布を進める必要があると考えられた。

(オ) 研究目標の達成に当たっての問題点

最終目標に定めていた、国内での使用に適したベイト剤の開発に必要な素材の選定、ベイト剤に対するイノシシ等の誘引および採食効果を確認する目標を達成した。特段の問題点は見当たらない。

実施課題 2－3：

令和 2 年度は試作したベイト剤素材について、各種の環境条件で保存試験を行い安定性および物性変化を評価した。また、ワクチンの抱合素材として、生分解性樹脂（ポリ乳酸：PLA、ポリカプロラクタン：PCL、ポリブチレンサクシネート：PBS）を加工して、厚さ約 0.1－0.2 mm のシートを作製し、これをワクチン抱合用の候補素材とした。素材の生分解性を評価するために、シート切片を土壤に静置して 35℃ で保存した。また、生分解性の向上を期待して、PCL に米糠を重量比で 10 % および 30 % となるように配合したシートを作製し、同様に分解性の評価を実施した。

米糠を用いて加熱成型した試作物について、含水率を 44 % に調製した土壤に静置し、25℃ および 35℃ で保存した。保存 4 日目において、両温度ともに試作物の表面にカビが発生し、水分を比較的多く含んだ土壤では短期間の内に品質が損なわれることが判明した。梅雨の時期のように、土壤が湿潤しやすく温度も室温程度にまで上昇しやすい環境では、短期間の内に素材が劣化すると考えられる。一方で、乾燥した土壤（含水率 10 %）では、上記の温度で 14 日間保存してもカビの発生は見られず、物性測定の結果においても硬度の低下は認められずに十分な強度が保たれた。油脂を用いて成型した素材について、土壤での保存試験を実施したところ、湿潤土壤では両温度帯でカビの発生が見られた。しかしながら、加熱成型により作製した試作物と比較して、カビによる品質劣化の程度は低く、内包物の露出等の恐れは低いと考えられ、高湿度の時期においても適用性が高いと推測される。

また、トウモロコシ蛋白質（ゼイン）や小麦粉などから試作した成型品について、県立広島大学生物資源科学部附属フィールド科学教育研究センターの圃場で耐水（候）試験を行った。降雨（降水量 13.5 mm）後でも形状が維持されることが確認された（図 2-3-1）。

ワクチン抱合素材の試作物について、保存開始から 40 日後においても、完全に分解することはなかった（図 2-3-2）。分解によって内包するワクチン液が漏出する恐れはないものの、環境中での素材の速やかな分解性とのバランスを検討する必要がある。なお、PCL に米糠を配合して作製した素材では、部分的に素材の劣化が確認され、樹脂のみで試作した素材と比較して、土壤での分解が速やかに進む可能性があり、引き続き検証を進めていく予定である。

ただし、地下にベイト剤を設置した場合は、発見率および採食率が低下するため、香料等の添加物による誘引性の向上が必要と考えられる。



図 2-3-1：耐候試験の様子
左:1日目、右:3日目

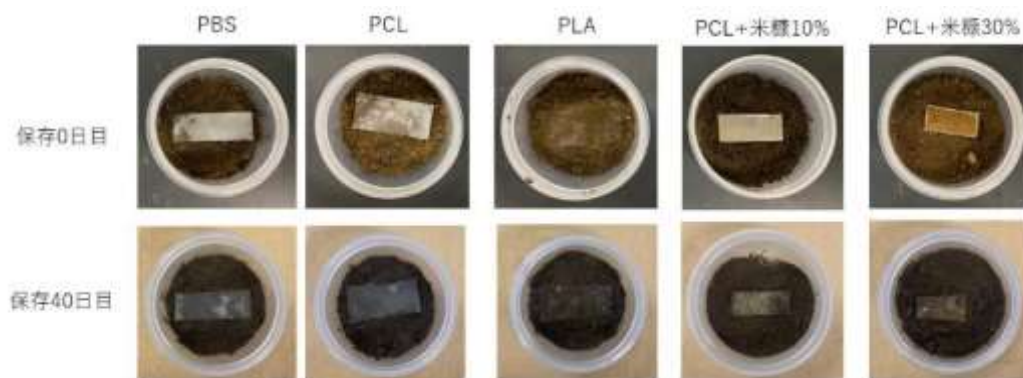


図 2-3-2：試作したワクチン抱合素材の外観の変化

令和2年度は作成したベイト剤素材の安定性を評価し、ワクチン抱合素材の生分解性を検討した。土壌（含水率10%）にトウモロコシ製のベイト剤を置き、25℃で14日間保存した。保存後、ベイト剤の物性を測定し、野外での安定性を検討した。また、生分解性樹脂であるポリ乳酸（PLA）、ポリブチレンサクシネート（PBS）およびポリカプロラクタ（PCL）について、厚さを約0.1-0.2 mmとしたシート状に熱プレスにより成型した。また、重量比で10%の混合率になるようにして、PCLに米糠を混合したシートを製作した。これらのシートについて、完熟コンポスト中に静置した上で密閉し、これを35℃で保存した。定期的に保存中のシートを取り出し、重量の変化を測定し、保存40日目のシートの外観を評価した。分解性が良好であったPCLを用いて、チューブ状のワクチン抱合材を試作し、原材料費の試算を行った。

土壌（含水率10%）に25℃で14日間保存したトウモロコシ製のベイト剤では、保存後においても、素材にかびによる明らかな外観の変化は見られなかった。保存前後のベイト剤の物性を比較したところ、顕著な変化は見られず、形状が十分に保たれており、乾燥した環境においては素材の安定性に特段の問題は起こらないと考えられた。

コンポスト中で保存した樹脂の分解性について、PCLおよび「PCL+米糠」では保存中に重量が大きく減少し（図2-3-3）、保存30日後の重量減少率は30%以上となり、外観上にも顕著な変化が認められた（図2-3-4）。一方で、PLAおよびPBSの分解は緩やかであった。抱合材の設計について、ワクチンを抱合する際に温度上昇を極力避けることを目的として、図2-3-3に示したようなスティック型となるように試作を行った。試作について、PCL樹脂はInegvity社製のCapa6500およびCapa6800を使用した。2つのグレードの違いは熔融時の流動性であり、Capa6500の方が高い流動性を示す。加工は押出成形により行った。2つのグレードの両者について、外径10 mm、内径9 mmのチューブを試作することが可能であったが、Capa6500は熔融時の流動性が高く粘度が低いため、チューブ状への加工の難易度が比較的高いことが示唆された。抱合材を生産する場合、Capa6800のように熔融時流動性が低い（MFI（Melt Flow Index）：0.3 at 80℃）グレードを使用すると生産が容易になると考えられる。試作したチューブは、片方を熱処理によりシールして、1 mLの液体を注入した後、他方を栓（PLA製）で封する方式としている（図2-3-5）。また、樹脂原料の単価から原材料費（人件費、光熱費等を除いた原料のみの費用）を試算したところ、抱合材1個当たり約2.5円と試算された。

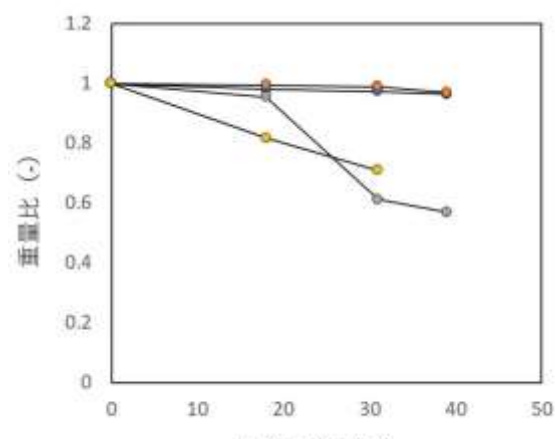


図2-3-3：コンポスト中で保存した生分解性樹脂の重量変化（温度：35 °C）



図2-3-4：コンポスト中で保存した生分解性樹脂の外観の変化

* 保存温度：35 °C、土壌水分：40 %

** PLA：ポリ乳酸、PBS：ポリブチレンサクシネート、PCL：ポリカプロラクタン



図2-3-5：試作したワクチン抱合材とベイト剤への埋設

射出成型により作製したカプセル材型試作品については示差走査熱量計(DSC)を用いて分析を行うと共に、耐候試験を実施した。CGM10%、CGM70%および原料のCGM粉末を県立広島大学フィールド科学教育研究センター内の圃場に地上放置した。観察は2021年9月6日より開始した。

カプセル材のDSC分析での融点と吸熱(融解)エネルギーの相関を図2-3-6に示す。PBSの融点はCGM0%では118.9℃だったが、CGMを10%混合するごとに融点が約1℃ずつ低下しており、CGM70%では112.1℃に低下した。さらに、融解エネルギーも同様に、CGM0%では44.0 mJ/mgからCGM70%では20.1 mJ/mgとなった。

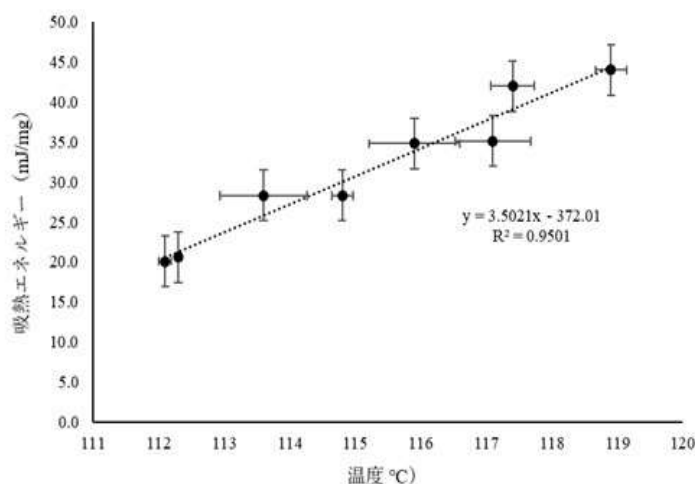


図2-3-6：温度と吸熱エネルギーの相関

耐候試験の中では、観察開始の2021年9月6日以降の9月の降水量は89.0 mmであったが、形の崩れやカプセル材の劣化等は確認されなかった。

1つカプセル材が無くなっており、小動物によって持ち去られたと考えられる。しかしながら、この日以降は小動物による食害はなかった。この結果より、射出成形したカプセル材は小動物による被害を軽減できるという優位性がある。

さらに、観察初期と2か月後の状況を図2-3-7～図2-3-9に示す。CGM10%では外観はあまり変わらなかった(図2-3-7)。CGM70%やCGMは色が黒みを帯びていた(図2-3-8)。CGM10%は硬さに大きな違いはなかったが、CGM70%は硬さも柔らかくなっていた。原料のCGM粉末はなくなっていた(図2-3-9)。

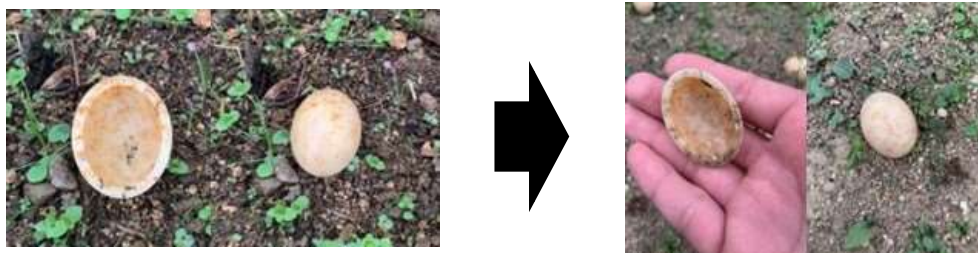


図2-3-7 : CGM10% 観察初期と2か月後の比較

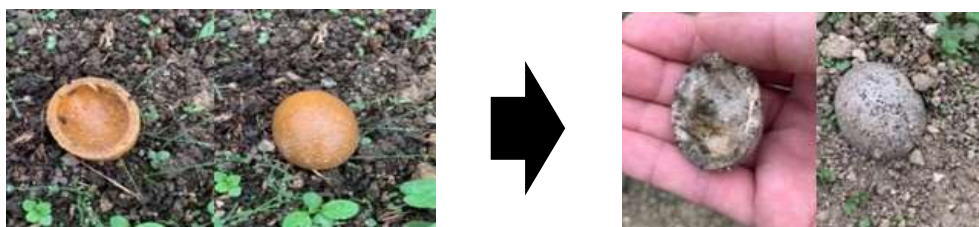


図2-3-8 : CGM70% 観察初期と2か月後の比較



図2-3-9 : CGM粉末 観察初期と2か月後の比較

(エ) 研究成果の活用における留意点

抱合材はいのししが噛むと破れることで、中のワクチンが口腔内に広がるようにその厚さと強度を調整する必要がある。図2-3-5で示されている当初の抱合材試作品は厚さが厚く、子豚が食べても中の液が出にくい問題点が至適された。令和3年度に追加で厚さと強度を改良した抱合材を作成している。今後その条件を検討することでより良い抱合材となることが期待される。

(オ) 研究目標の達成に当たっての問題点

土壌でのバイト剤の安定性を評価し、生分解性素材の選定と抱合材の試作までを終えており、最終目標を達成している。

3) 小課題名：試作経口ワクチンの効果確認（山田 学・農研機構 動物衛生研究部門）

（ア）研究目標

国内で豚熱（以下CSF）生ワクチンに使用されている弱毒CSFウイルス GPE 株は、皮下または筋肉内注射用に開発されているため、経口経路による投与によって注射と同等の免疫を誘導するかどうかは不明である。また、一般に経口投与で感染を成立させるためのウイルス量は、筋肉内投与によるそれよりも多く必要である。本課題では小課題1および2で得られた研究成果から試作された経口ワクチンを豚もしくはいのししに経口投与し、免疫応答を解析し、試作したワクチンが豚もしくはいのししに免疫付与できるかどうか確認する。

（イ）研究内容

小課題3は研究目標達成のため、「3-1：試作ワクチンの免疫付与効果確認試験」、「3-2：試作ワクチンのCSFウイルス感染防除効果確認試験」の2つの実施課題に分けて実施する。

実施課題3-1：試作ワクチンを豚もしくはいのししに経口投与し、免疫応答を解析し、試作したワクチンが豚もしくはいのししに免疫付与できるかどうか確認する（令和4年度）。

実施課題3-2：試作ワクチンをいのししもしくは豚に経口投与した後、CSFウイルス野外株で攻撃して、試作したワクチンがCSFウイルスの感染を防御するのか、CSFの発症やウイルスの排泄を抑制するのか確認する（令和4年度）。

（ウ）研究結果

実施課題3-1：

開発した米糠を主原料としたベイト材を用いて試作品を作製した。ゼラチンカプセルに封入したウイルス液をベイト材に包埋し、使用時まで-80℃に保管した。試作品を37℃及び50℃に静置し、内容のウイルス液の感染価を経時的に測定し、野外に散布した後のウイルス液の感染価がどのくらい維持できるか確認した。

試作ワクチンの免疫応答の確認試験では、8週齢の去勢豚5頭1群で、1頭当たり試作品またはゼラチンカプセル2個を摂食させた。ワクチン群は 10^5 TCID₅₀/頭となるように調整し、陰性対象群にはウイルスを含まない培地を使用した。給餌後は経時的に採血し、RT-PCR法でウイルス血症の確認、ELISA法および中和試験で抗体価を測定した。1回目の試験の結果を受けて、液の粘稠度を上げて改良した保護剤を使用して同様の要領で免疫付与の確認試験を実施した。

結果として、米糠を主原料に油脂添加されたたベイト素剤は45℃程度で加工が可能で、ウイルス感染価への影響が当初想定よりも小さいことが予想された。

保護剤で希釈したウイルス液を37℃および50℃で一定時間静置し感染価を測定したところ、保護剤を加えることで感染価の低下が抑えられることが確認された（図3-1-1）。

豚の株化細胞で継代馴化したGPE株を 10^5 TCID₅₀/頭で豚に経口投与した時のこれまでの免疫賦与率は、33～50%であった。今回の試験では21日目の血清で10頭中7頭からELISA抗体および中和抗体が検出された（表3-1-1）。ウイルス液を口腔内に直接接種するより、ベイト剤と一緒に豚に食べさせることで、ウイルス液が口腔内に留まる時間が長くなることで、免疫賦与率が上がったのではないかと考え、ウイルス液の粘稠度を上げて再試

験を試みたが、今回、ウイルス液の粘稠度は結果に影響しなかった。引き続き添加剤、保護剤について検討する必要があると考える。

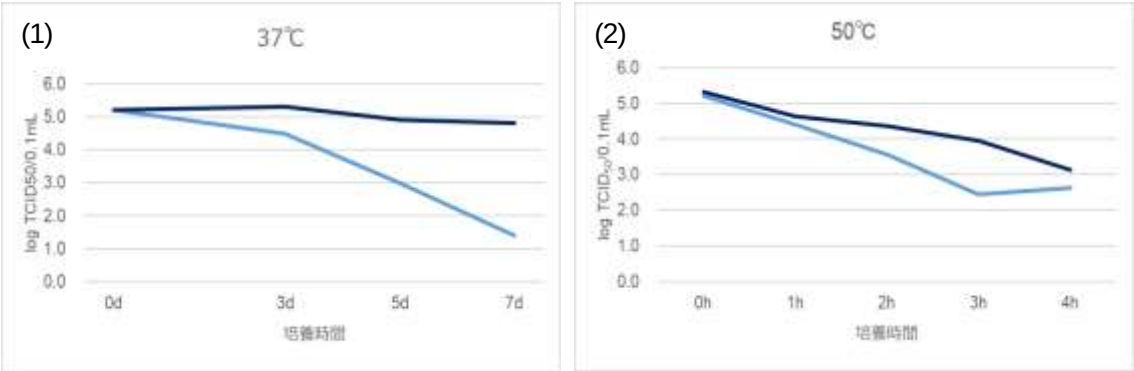


図3-1-1：温度感作による感染価の経時的変化に与える保護剤の影響
 —：保護剤有； —：保護剤無

表3-1-1：免疫付与の推移

接種方法	0 dpv	7 dpv	14 dpv	21 dpv	28 dpv
試作品	0/10*	0/10	5/10	6/10	7/10
(ウイルス液)	0/10*	0/10	6/10	6/10	7/10
試作品	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
(培地)	0/5	0/0	0/5	0/5	0/5
カプセル	0/3	0/3	2/3	2/3	2/3
(ウイルス液)	0/3	0/3	1/3	2/3	2/3

*：上段は中和試験（NPLA法 2倍以上を陽性）、下段はELISA（豚熱エライザキット II SP比0.1以上を陽性）による結果

実施課題 3-2 :

課題 3-1 で試作したワクチンの投与豚に、CSFウイルス流行株を接種し、その臨床症状の発現、ウイルス血症や排泄状況及び抗体応答を解析し、CSFウイルス流行株への試作ワクチンの有効性を検証するための感染試験を 1 回実施する。

感染試験の群編成は以下の通りである。

群 1 : ワクチン直接投与群 (カプセル) 3 頭 (豚31~33)

ワクチン直接投与群 (滴下) 3 頭 (豚34~36)

群 2 : 試作ワクチン投与群 5 頭 (豚37~41)

群 3 : ワクチン非投与対照群 5 頭 (豚26~30)

上記の豚に、 10^5 TCID₅₀のJPN/1/2018株 (国内 1 例目由来) を免疫開始28日後に経口接種した。なお、 10^5 TCID₅₀は50%豚感染力価の約60倍に相当する。ウイルス接種後 1 か月間、臨床症状の発現を観察するとともに、血液と口腔スワブを採取し、ウイルス血症や排泄状況及び抗体応答を検証した。

実施課題 3-1 でELISA及び中和抗体非検出であった豚33~36、39、40及び群 3 の全頭で、ウイルス接種 3 ~ 6 日後から10,000個/μL未満の白血球数減少症が (図3-2-1)、4 ~ 7 日後から40℃を超える発熱が確認された (図3-2-2)。また、活力低下、食欲低下、鼻汁漏出、下痢、振戦、発咳、血便、目脂漏出、紅斑、歩様不安定、後軀麻痺及び横臥が単独でまたは複合して観察された。さらに、豚28及び29は、ウイルス接種18日後に後軀麻痺及び横臥を示したため安楽殺するとともに、豚33、35、39、27及び34は、ウイルス接種21~24日後に死亡した (表3-1-1)。一方、その他の豚では、臨床症状が確認されなかった。

ELISA及び中和抗体非検出であった豚33~36、39、40及び群 3 の全頭では、ウイルス接種 2 ~ 3 日後から血清または全血及び両方において、3 ~ 5 日後から唾液においてウイルス遺伝子が検出された (図3-2-3および3-2-4)。一方、その他の豚では、ウイルス接種 4 ~ 10 日後から唾液においてウイルス遺伝子が検出されたが、一部例外を除いて、血清及び全血においては検出されなかった。ウイルス分離及び力価測定についても、ウイルス接種 7 日後までの時点ではウイルス遺伝子の推移と同様の傾向であった。

ELISA抗体は、ウイルス接種時にELISA抗体が検出された豚31、32、37、38及び41では試験期間を通して確認された (図3-2-5)。また、その他の豚でも、豚39、28及び29を除き、ウイルス接種11日後からELISA抗体が確認された。一方、ウイルス接種時の血清中のIFN-α量は、全頭でほぼ同様の値であった。

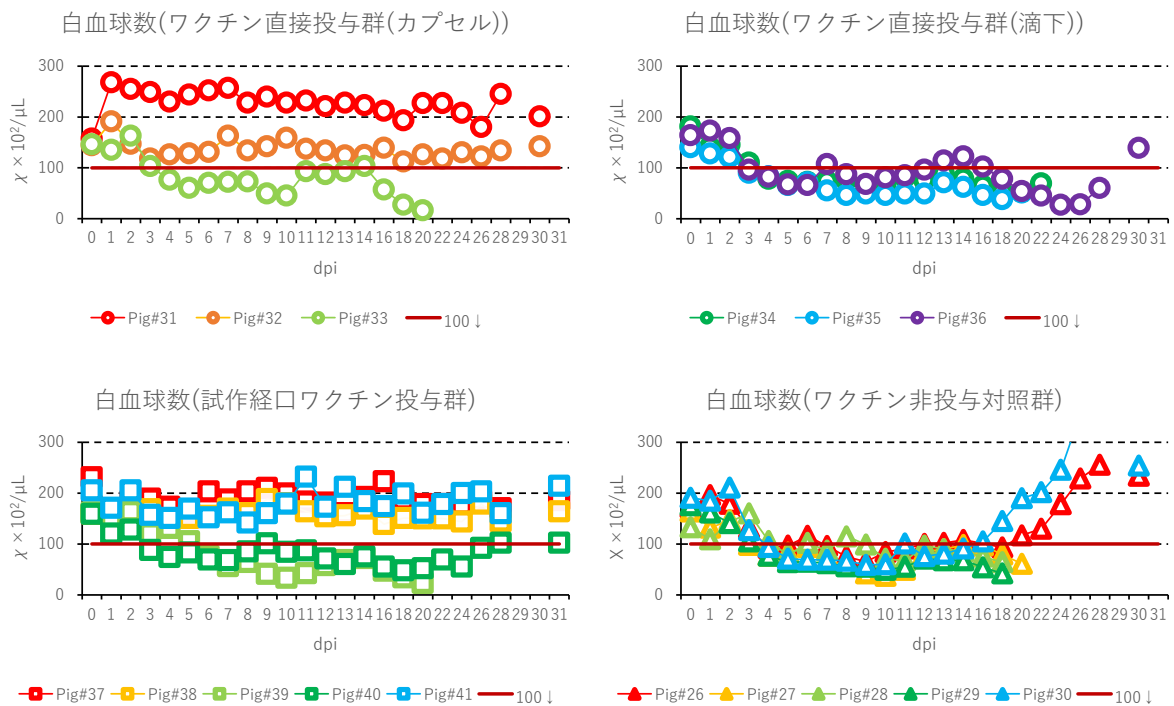


図3-2-1：白血球数の推移

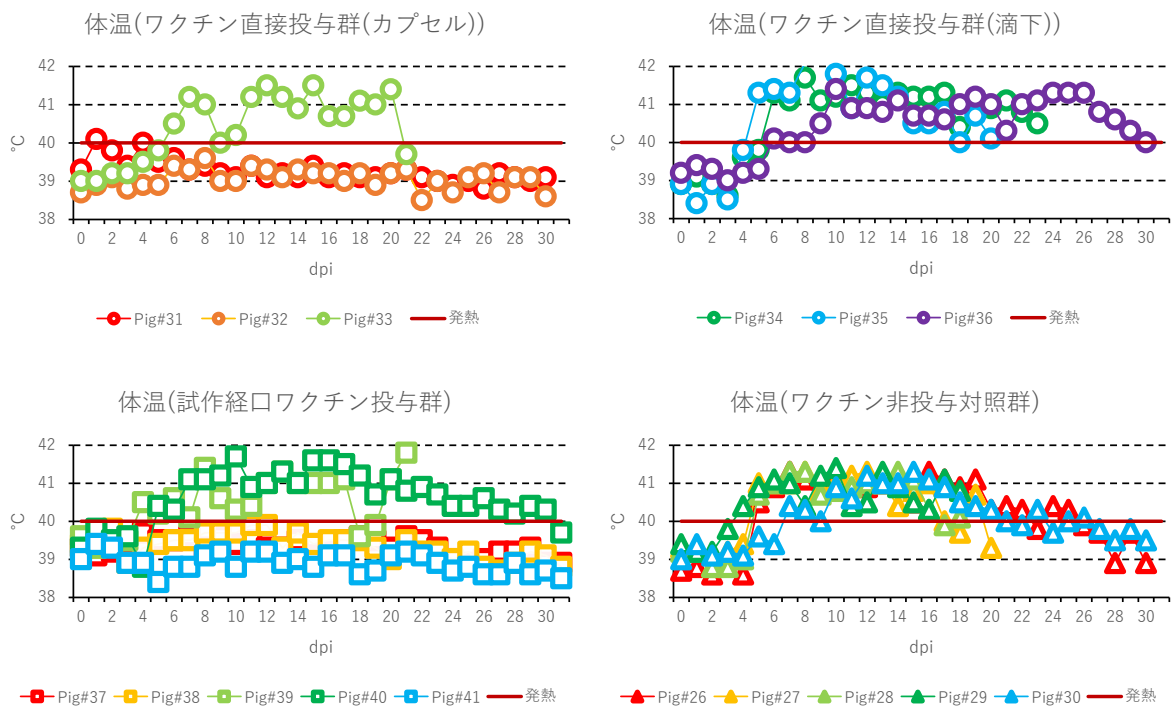


図3-2-2：体温の推移

表3-2-1：臨床症状の推移

群	豚 番号	dpi														
		0～5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	16	18	20	22	24
1	31															
	32															
	33															
	34															
	35															
2	36															
	37															
	38															
	39															
	40															
3	41															
	26															
	27															
	28															
	29															
	30															

■：ELISA及び中和抗体保有豚

■：活力低下、食欲低下、鼻汁漏出、下痢、振戦、発咳、血便、目脂漏出、紅斑、歩様不安定、後躯麻痺及び横臥のいずれかあるいは複数

■：安楽殺、死亡

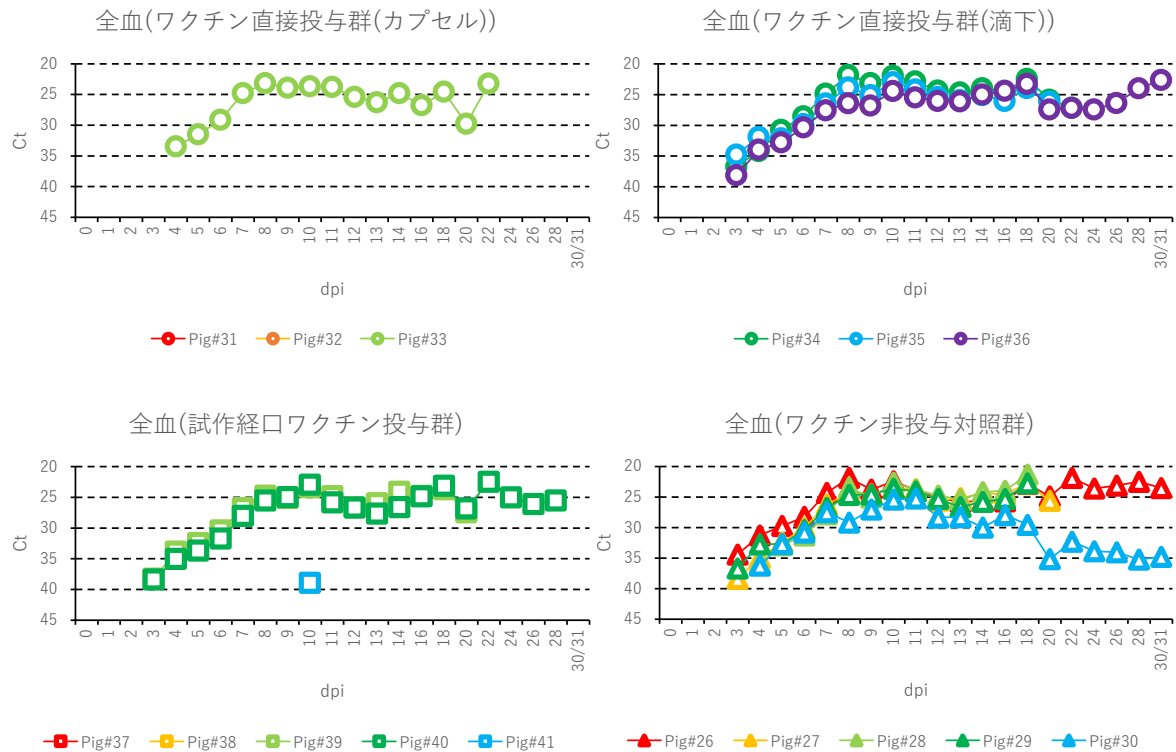


図3-2-3：全血中のウイルス遺伝子の推移

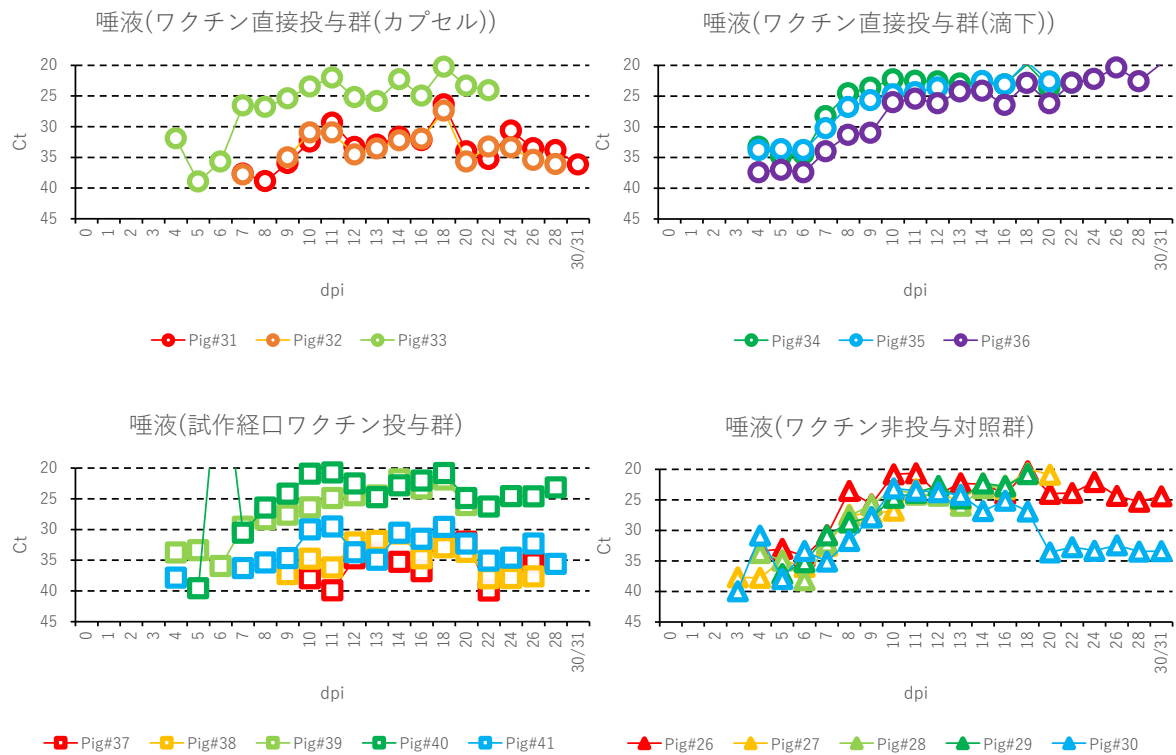


図3-2-4：唾液中のウイルス遺伝子の推移

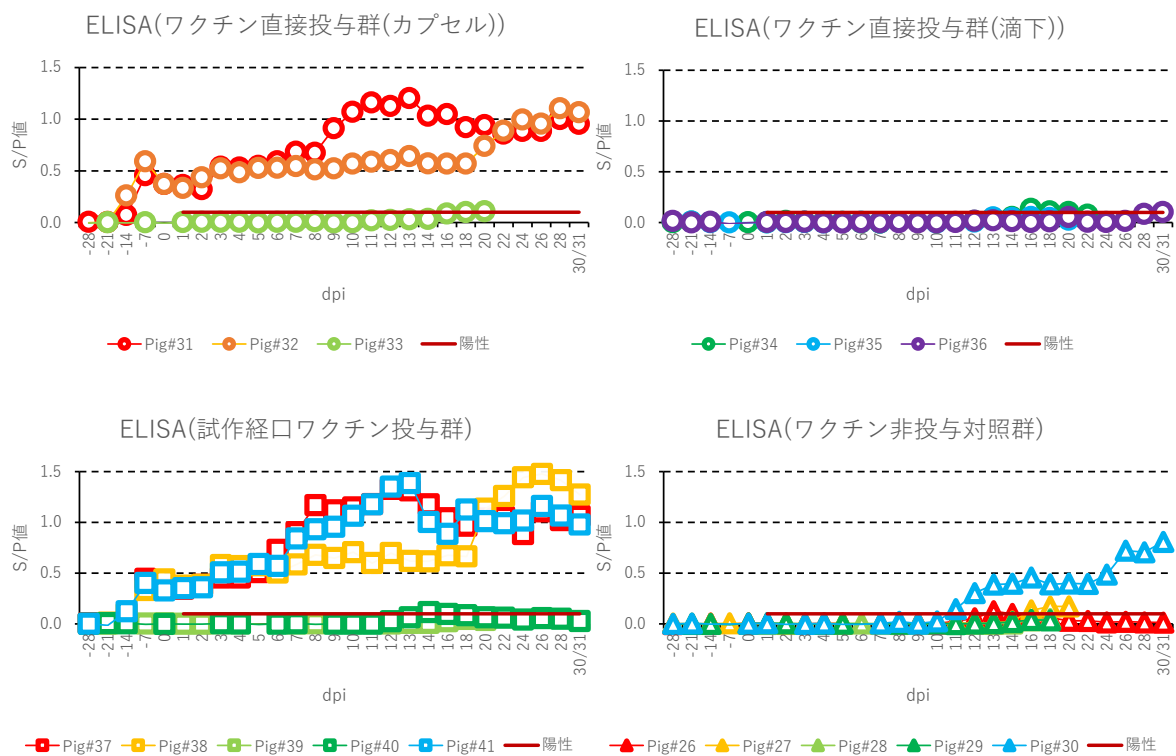


図3-2-5：ELISA抗体の推移

(エ) 研究成果の活用における留意点

今回作成した試作経口ワクチンは豚（いのしし）に抗体誘導できれば有効性が有ることが確認できた。現在使用されている輸入経口ワクチンの免疫賦与率はほぼ100%であり、それと比較すると、もう少し免疫賦与率を上げる必要があると考える。散布方法や摂食率向上等のワクチンの運用によっても野生のいのししの群れの中での免疫賦与率を上げることが可能であると考えている。

(オ) 研究目標の達成に当たっての問題点

最終目標である「試作した経口ワクチンをいのししもしくは豚に摂食させた後で、国内流行株で攻撃し、試作経口ワクチンの有効性を明らかにする」については達成出来た。

5 研究成果の発表

別添のとおり。

6 目的の達成に当たっての現時点での問題点等

研究目標は達成できたが、この試作ワクチンの社会実装化への課題はまだ残されている。

- ・ 試作した経口ワクチンの改良。

今回作成した試作経口ワクチンは社会実装化に向けて非常に期待できるものとして出来上がったが、免疫賦与率、ベイト剤の大きさと強度、抱合材の強度については改良の余地があると考えます。より良いものを目指して創意工夫を重ねていく必要がある。

- ・ 製造を念頭においたワクチンウイルスの培養条件検討の継続。

より低コスト化へつなげられるように、より良い培養条件を検討する必要があります。

- ・ 社会実装化への課題の整理。

実際どこでどのように作るのか、どのくらいの量作るのか、どう運用するのか等、社会実装化への課題を整理して、より早く社会実装できるように今後も検討を重ねる必要がある。

<研究総括者の自己評価>

項目		評価結果
試験研究全体 A		A : 順調 B : 概ね順調 C : やや遅れている D : 遅れている
研究小課題	経口ワクチンに適したウイルス株の作出 A	A : 順調 B : 概ね順調 C : やや遅れている D : 遅れている
	国内での使用に適したベイト剤等の開発 A	A : 順調 B : 概ね順調 C : やや遅れている D : 遅れている
	試作経口ワクチンの効果確認 A	A : 順調 B : 概ね順調 C : やや遅れている D : 遅れている
		A : 順調 B : 概ね順調 C : やや遅れている D : 遅れている
		A : 順調 B : 概ね順調 C : やや遅れている D : 遅れている
自己評価コメント 国産 CSF 経口ワクチンの試作品を開発し、試作した経口ワクチンを豚に摂食させた後で、国内流行株で攻撃し、試作経口ワクチンの有効性を明らかにした。3 年間の研究期間の中で、最終目標を達成することができた。		

別添

研究成果一覧

課題 番号	(1) 研究推 進会議 等開催 回数	(2) 行政が 活用し うる成 果の有 無	(3)学術論文		(4)学会等発表 (口頭またはポスター)		(5) 出版 図書	(6)国内特許権等		(7)国際特許権等		(8) 報道 件数	(9) 物品購 入の有 無
			和文	欧文	国内	国際		出願	取得	出願	取得		
0	2	有	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	無

(1)研究推進会議等の開催実績

区分:①推進会議、②現地検討会、③その他						
区分	推進会議の名称	年月日	開催場所	参加者 数	消費・安全局担当 官の出席有無	主な議題及び決定事項
①	令和4年度第1回研究推進 会議	令和4年9月28日	Teamsを用いたweb会議	40	有	本年度成果報告1
①	令和4年度第2回研究推進 会議	令和5年2月21日	農研機構動物衛生研究部門 管理棟2階大会議室 & Teamsを用いたweb会議のハ イブリッド開催	41	有	本年度成果報告2、社会実装化に向けての課題 確認

(2)行政が活用しうる成果

区分:①行政がすでに活用した成果、②行政が活用する目途がたった成果			
区分	成果の内容	主な利用場面	活用状況
②	イノシシの誘引および豚熱経口ワクチンの効率 的な散布方法について	国内のワクチン散布推奨地域における 豚熱経口ワクチン散布事業実施時	農林水産省が作成する「豚熱経口ワ クチンの野外散布実施に係る指針」にお いて、本事業で得られた成果の掲載を 検討中

(3) 学術論文

区分: ①原著論文、②その他論文

整理番号	区分	タイトル	著者	機関名	掲載誌	掲載論文のDOI	発行年	発行月	巻(号)	掲載ページ
1	①	Rational Design of Live-Attenuated Vaccines against Genome-Reduced Pathogens	Sayaka Nishikawa, Yohsuke Ogawa, Kazumasa Shiraiwa, Rieko Nozawa, Momoko Nakayama, Masahiro Eguchi, Yoshihiro Shimoji	農研機構・動衛研	Microbiology Spectrum	DOI: 10.1128/spectrum.03776-22	2022	12	10(6)	e0377622

(4) 学会等発表(口頭またはポスター)

整理番号	タイトル	発表者名	機関名	学会等名	発行年	発行月
	該当無し					

(5) 出版図書

区分: ①出版著書、②雑誌(学術論文に記載したものを除く、重複記載をしない。)、③年報、④広報誌、⑤その他

整理番号	区分	著書名(タイトル)	著者名	機関名	出版社	発行年	発行月
		該当無し					

(6)国内特許権等

区分:①育成者権、②特許権、③実用新案権、④意匠権、⑤回路配置利用権

整理番号	区分	特許権等の名称	発明者	権利者(出願人等)	機関名	出願番号	出願年月日	取得年月日
		該当無し						

(7)国際特許権等

区分:①育成者権、②特許権、③実用新案権、④意匠権、⑤回路配置利用権

整理番号	区分	特許権等の名称	発明者	権利者(出願人等)	機関名	出願番号	出願年月日	取得年月日	出願国
		該当無し							

(8)報道等

区分:①プレスリリース、②新聞記事、③テレビ放映、④その他

整理番号	区分	記事等の名称	機関名	掲載紙・放送社名等	掲載年月日	備考
	①	農研機構プレスリリース「世界初、ゲノム情報から短時間で細菌ワクチンを設計する新手法を確立ー生ワクチン開発の時間とコスト削減に期待ー」	農研機構・動衛研	農研機構メールマガジン52号	R5 01.31	

(9)購入物品

品名	規格	員数	購入実績(円)		使用目的	備考
			単価	金額		
焼成機用金型	(株)サンシン 丸型もなか 半径状手焼き金型	1	440,000	440,000	ベイト剤用の素材の試作	
焼成機用金型	(株)サンシン 四角型もなか 半径状手焼き金型	1	440,000	440,000	ベイト剤用の素材の試作	
低温恒温機	ヤマト科学IN604	1	491,700	491,700	ワクチンウイルスの低温培養	
電動ピペット(12ch、10～300μL)	Sartorius、品番:735461	1	158,158	158,158	ウイルス学的検査	
電動ピペット(12ch、50～1200μL)	Sartorius、品番:735491	1	158,158	158,158	ウイルス学的検査	
試験金型(JSW85t成形機向け)	特注/(株)ギケン、中空楕円型/アボカド形状 2ヶ取り(40mm×30mm)	1	910,800	910,800	ベイト剤用の素材の試作	
電気炉	FO310/ヤマト科学/アズワン1-1898-04	1	270,930	270,930	ベイト剤用の素材の試作	

試験金型(JSW85t成形機向け)	特注/(株)ギケン、中空楕円型/2個(1セット)取りアホカ形状(38mm × 28mm)	1	880,000	880,000	ベイト剤用の素材の試作	
小型卓上試験機	EZ-SX 200N/(株)島津製作所(本体1台、TRAPEZIUM X:材料試験オペレーションソフトウェア、据付調整費含む)	1	1,138,500	1,138,500	材料の遠心分離	

いのしし用国産豚熱経口ワクチンの開発

研究の目的・達成目標

- 豚熱感染野生いのししを介した豚熱ウイルスの拡散防止対策を講じるため、野生いのししに対し輸入経口ワクチンを散布している。
- 需要の増大に対しても安定的に供給できるよう体制を構築し、我が国の実態により即した**経口ワクチンを国内で開発**する。

主な研究成果

①ワクチン株を選定して、その大量培養系を確立

- ◆弱毒豚熱ワクチンGPE株は経口投与でも豚に抗体を誘導することが可能であることを確認した。
- ◆安定的なGPE株の大量生産を可能とする株化継代細胞を選定し、培養条件を確認して実際の製造に応用可能な大量培養系を確立した。さらにより効率的な高密度培養法の可能性も見出した。
- ◆豚熱ウイルスのE2蛋白質防御エピトープを発現する豚丹毒菌組換え株を作成し、そのワクチン候補株の免疫効果を確認した。



写真は、試作品イメージ

②国内での使用に適したベイト剤等の開発

- ◆米糠、トウモロコシ粉およびジャガイモ粉を原料として、加熱成型および油脂を用いた凝固成型によってベイト剤素材の試作品を作成した。
- ◆試作したベイト剤による野生いのししの誘引、採食を確認した。
- ◆ワクチンの抱合素材の試作品を作成した。



試作ワクチン非投与豚群
ウイルス接種20日後



試作ワクチン投与豚群
ウイルス接種20日後

③試作経口ワクチンの効果を確認

- ◆試作ワクチン摂食豚5頭中3頭で抗体の上昇を確認した。
- ◆豚熱ウイルス攻撃試験の結果、抗体の上昇を確認した3頭で臨床症状なし、解剖所見なし、ウイルス血症なし。
- ◆抗体陰性豚でも臨床症状低減効果を確認した。
- ◆再試験で試作ワクチン摂食豚5頭中4頭で抗体の上昇を確認した。

試作経口
ワクチンを
開発



いのしし用国産経口ワクチン
の開発につなげる

研究機関：CSF経口ワクチンコンソーシアム

研究総括者：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 山田 学