

# 11 ワクチン接種鶏群で発生した高病原性の変異株によるマレック病

県南家畜保健衛生所

登立 友紀・高山 裕介

中央家畜保健衛生所

秦 祐介・井上 大輔

マレック病(以下、MD)はトリアルファヘルペスウイルス2型、通称マレック病ウイルス(以下、MDV)の感染に起因するT細胞性リンパ腫である<sup>1)</sup>。ほぼすべての鶏が感染しており、一度感染すると生涯持続感染し、フケを介して伝播する<sup>1)</sup>。また、6週齢以降に散発的かつ継続的に発生し、内臓に腫瘍が形成される内臓型を発症すると、多くの場合、死亡率が高くなる<sup>1、2)</sup>。MDは、七面鳥から分離される非腫瘍原性株のHVT、鶏から分離される非腫瘍原性株のSB-1、極めて低い腫瘍原性を持つCVI988の3種のワクチンにより制御されてきた<sup>1)</sup>。ワクチンはウイルスの増殖及び腫瘍化を抑制するが、ワクチン免疫が成立する前に野外感染を受けると発症する<sup>1)</sup>。

MDVの病原性は、単独接種のHVTまたは2価ワクチン(HVT+SB-1)による免疫を突破する能力に応じて、弱毒(m)、強毒(v)、超強毒(w)、超強毒+(w+)の4つの病原型に分類されている<sup>1、2)</sup>(図-1)。HVTワクチンの防御効果はvMDVまで、HVT+SB1ワクチンはwMDVまでは防御効果を示すが、それ以上の病原型には防御効果が低いのに対し、CVI988を含むワクチンではいずれの病原型に対しても高い防御効果があることが報告されている<sup>1)</sup>。

MDVの腫瘍形成及び病原性において中心的な役割を果たす遺伝子の一つにMeq遺伝子がある。Meq遺伝子は339のアミノ酸からなるMeqタンパク質をコードしており、そのN末端にはDNA結合に関わるbZIPドメインを、C末端には4つのプロリンの繰り返し配列(プロリンリッチリピート)が含まれる転写活性化ドメインを持つ<sup>2、3)</sup>(図-2)。転写活性化ドメインは、4つのプロリンの繰り返し配列数(プロ

リンリッチリピート)によって特徴づけられる<sup>3)</sup>。Meqは細胞の増殖やアポトーシスを制御し、腫瘍原性に深く関与している<sup>3、4)</sup>。Meq遺伝子の特異的な多型及び点変異はMDVの病原性と相関しており、Meq遺伝子におけるプロリン含量及びプロリンリッチリピート数は病原性と強い負の相関を示すことが報告されている<sup>5-9)</sup>。そのため、Meq配列はMDVの病原性評価やウイルス株の分類における重要な指標となっており、従来の手間のかかるin vivo病原型判定試験に代わり、これらの分子特性に基づくMeq遺伝子配列の解析が、系統解析や病原性予測に広く活用されている<sup>1、6)</sup>。

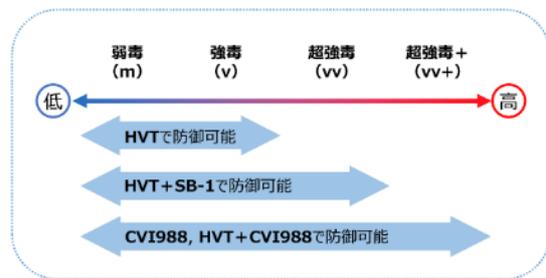


図-1 MDVの病原性

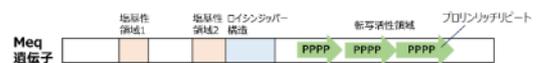


図-2 Meq遺伝子

以前から、国内において、ワクチン接種鶏群におけるMDの発生報告が散見されるが<sup>10)</sup>、病原性を検証した報告は少なく、国内浸潤株の病原性については不明な点が多いのが実情だった。一方で、近年、中国を中心として、従来株とは異なる進化を遂げた高病原性の変異株(以下hvMDV)によるワクチンブレイクが多く報告さ

れている<sup>5、11-13</sup>)。そのような状況の中、令和6年に、ワクチンを接種していた管内の2農場(A及びB農場)でMDが発生した。各症例で検出されたMDVのMeq遺伝子の塩基配列に基づく系統樹解析を行うとともに、A農場では、起因株の病原性を評価するため、既報<sup>5、6、12、14</sup>)を基に、Meqタンパク質内の病原性に関わるアミノ酸置換の有無、プロリン含有量、プロリンリッチリピート数を分析したため、その概要を報告する。

## 1 発生状況

A農場は、開放式平飼鶏舎4棟で地鶏2,100羽を飼養する肉用鶏農場で、鶏舎ごとにオールアウトする方式で飼養されていた。一部の導入鶏群は、道路を隔てた育雛舎で2週間程度隔離育雛されていた(図-3)が、入雛のタイミングや育雛舎の収容羽数の都合によって、すべての鶏群では実施できていなかった。



図-3 農場位置図

令和6年10月頃から650羽飼養の3号舎で元気消失、うずくまり、眼球白濁を呈し、死亡する個体が増えたことから、98日齢で病性鑑定を実施した。当該鶏群は、隔離育雛を行っていない鶏群であった。その後、隔離育雛の有無にかかわらず、4号舎及び1号舎においても、100日齢前後で同様の発生がみられた。

各鶏舎は、空舎期間に逆性石鹼、ヨード剤及びオルソ剤で消毒されており、MDワクチンは初生でHVTが皮下接種されていた。

発生前に入雛から出荷までの死亡率及び食鳥処理場での廃棄率の合計は各鶏群1~2%であったが、3号舎の発生以降は16.2~27.9%に増加した(図-4)。

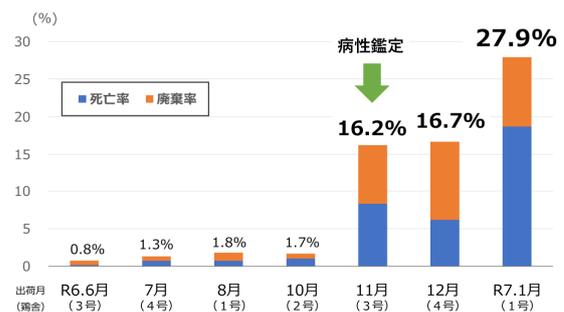


図-4 死亡率・廃棄率の推移

## 2 病性鑑定材料及び方法

98日齢の発症鶏3羽について、剖検後、定法に基づき、細菌検査、ウイルス検査、病理組織検査を実施した。ウイルス検査では、MDV、鶏脳脊髄炎ウイルス(AEV)及び細網内皮症ウイルス(REV)の遺伝子検査を行った。病理組織検査では、HE染色とともに免疫組織化学的染色(以下IHC)によるリンパ球の判別とMDV抗原(Meq蛋白質)の検出を行った。

## 3 病性鑑定成績

剖検では、脚弱、眼球白濁、肝臓の腫大、脾臓の腫大、坐骨神経の腫大、大腿部皮下の白色巣、腸管部及び腎臓の腫瘍が認められた。ウイルス検査ではMDV遺伝子が検出された。病理組織検査では、諸臓器や坐骨神経、眼球等におけるT細胞性リンパ腫及び非化膿性脳炎が認められた。さらにIHCでは、腫瘍性に増殖した細胞に一致してMDV抗原が確認された(写真-1)。

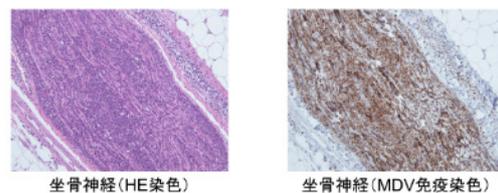


写真-1 病理組織検査所見

## 4 遺伝子解析

### (1) 系統樹解析

A農場の発症鶏から検出されたMDV株とともに、同時期に発生した管内の別農場(B農場)の

MDV 株についても系統樹解析を行った。A 農場由来の Nagasaki/AUC/2024 株と B 農場由来の Nagasaki/MMF/2024 株の塩基配列は 100%一致しており、過去に国内で検出された株と近縁で、平成 26 年の沖縄県検出株 (OkIH26070 株) と 100%、平成 28 年の岐阜県検出株 (Gifu-1 ~ 3 株) と 99.8~99.9%一致していた (図 - 5)。なお、これらの岐阜県検出株は、ワクチン接種鶏群での発生例で検出された株であった<sup>10)</sup>。

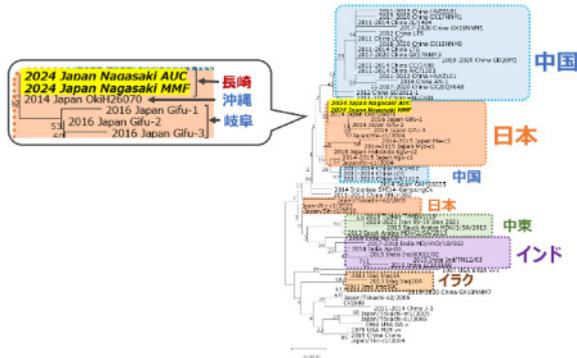


図-5 MDV meq遺伝子(834塩基)の系統樹

(2) Meq タンパク質内の病原性に関わるアミノ酸置換の有無、プロリン含有量及びプロリンリッチリピート数

Nagasaki/AUC/2024 株は、従来の野外株やワクチン株とは病原性に関わるアミノ酸配列が大きく異なっていた (表 - 1)。一方、Nagasaki/AUC/2024 株は過去に岐阜県や鹿児島県のワクチン接種鶏群で発生した国内株 (Gifu-1 株<sup>10)</sup> 及び Kgs-c1 株<sup>15)</sup>) と配列がほぼ一致していた。

また、Nagasaki/AUC/2024 株及び国内株は、vv ~ vv+に分類される hvMDV とプロリン含有量、プロリンリッチリピート数がともに同じであった (表 - 2)。

表-1 Meqタンパク質の病原性に関わるアミノ酸配列

株	病原型	71	77	80	88	93	110	115	119	139	153	176	180	202019 (HVPP)	210196 (HVPP)						
Nagasaki/AUC/2024		A	E	Y	A	Q	C	A	C	T	P	L	T	A	P	L	A	T			
Gifu-1 (JP)	NA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	
Kgs-c1 (JP)	NA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-	-	-	-	-	
SD2012-1 (CN)	vv+(hv)	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	R	-	-	-	-	-	-	
LTS (CN)	vv+(hv)	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	R	-	-	-	-	-	-	
OkIH26070 (CN)	vv+(hv)	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	R	-	-	-	-	-	-	
LS (CN)	vv+(hv)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	R	-	-	-	-	-	-	
TVJ/SDB/18	hv	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	R	-	-	-	-	-	-	
648A (USA)	vv+	-	K	D	-	-	-	-	-	V	R	-	-	Q	A	A	-	-	-	P	-
RB1B (USA)	vv	-	K	D	-	-	-	-	-	V	-	-	-	P	-	P	-	-	-	P	-
GA (USA)	v	-	K	D	-	-	-	-	-	V	-	-	-	P	-	P	-	-	-	P	-
CU-2 (USA)	m	S	-	D	-	-	S	V	-	-	-	-	-	P	-	P	-	-	-	P	-
CV1988 (NL)	ワクチン	S	-	D	-	-	S	V	-	-	-	-	-	P	-	P	-	-	-	P	-

黄色部分：長崎株 青部分：国内株 橙部分：hvMDV 緑部分：従来の野外株、ワクチン株  
NA：不明 ・：長崎株と同じアミノ酸配列

表-2 Meqタンパク質内のプロリン含量とプロリンリッチリピート数

株	病原型	プロリン含量 (%)	プロリンリッチリピート数
N	vv+	21.8	2
648A	vv+	22.2	2
SD2012-1	vv+(hv)	22.2	3
LTS	vv+(hv)	22.2	3
Nagasaki/AUC/2024		22.2	3
Gifu-1		22.2	3
Kgs-c1		22.2	3
OkIH26070		22.2	3
GX0101	vv(hv)	22.2	3
LS	vx(hv)	22.2	3
OkIH26035		22.6	4
Md5	vv	22.6	4
RB1B	vv	22.9	5
GA	v	22.9	5
CU-2	m	24.5	7
CV1988	ワクチン	24.5	7

※ Meqタンパク質のアミノ酸339残基のうち275残基を検索  
長崎株および国内株は、vv~vv+に分類されるhvMDVと同等の病原性を有する可能性が高い

5 まとめ及び考察

今回の分析で、Nagasaki/AUC/2024 株は、北米の野外株やワクチン株とは Meq タンパク質内の病原性に関わるアミノ酸配列が異なっていた一方、過去にワクチン接種鶏群で発生した国内株や中国等で検出された vv ~ vv+に分類される hvMDV とはほぼ一致していた。また、Nagasaki/AUC/2024 株 Gifu-1 株<sup>10)</sup> 及び Kgs-c1 株<sup>15)</sup> は、前述の hvMDV とプロリン含有量、プロリンリッチリピート数がともに同じであった。これらの結果から、今回検出されたウイルスや Meq タンパク質の解析を行った国内株は、近年中国等でワクチンブレイクの原因となっている hvMDV と同等の病原性を有する可能性が高いと考えられる。さらに、Meq 遺伝子の塩基配列を基にした系統樹解析の結果、本県で検出された株と過去にワクチン接種鶏群での発生例で検出された国内株が近縁であったことから、vv ~ vv+相当の MDV は以前から国内に存在しており、ワクチン接種鶏群での発生の一因となっていたことが示唆された。

今回の A 農場におけるワクチン接種鶏での発生は、起因株の病原性の強さに加え、農場オールアウトができない環境による汚染度の高さ、不十分な隔離育雛、ワクチン・消毒薬の選択等が複合して発生したものと推察される。MD ワクチンは、接種してから免疫獲得までに約 5 ~ 7 日間かかるとされており、その期間の感染を防ぐことは発病率を低減する上で重要である<sup>1、14)</sup>。そのため、鶏群ごとの育雛舎での飼養日数等を調整し、可能な限りすべての鶏群での隔離育雛を行うとともに、人や物を介して成鶏舎から育雛舎へウイルスが持ち込まれることがないような感染防止対策の強化を指導している。また、農場に浸潤する MDV の病原型が vv+ である可能性を想定し、ワクチンを HVT + CVI988 に変更するとともに、育雛舎を含めたすべての鶏舎でアルデヒド系消毒剤であるグルタルアルデヒドを追加した徹底消毒を指導している。

## 6 参考文献

- 1) 湯浅襄: マレック病の病理発生と防疫対策上の問題点, 鶏病研報, 47, 211–222 (2012)
- 2) 高木道浩ら: マレック病ウイルス癌遺伝子(Meq)と病原性との関連, 鶏病研報, 50, 199–205 (2015)
- 3) Zhao Y et al.: Critical role of the virus-encoded microRNA-155 ortholog in the induction of Marek's disease lymphomas, PLoS Pathog, 7, e1001305 (2011)
- 4) Bertzbach LD et al.: Viral Factors Involved in Marek's Disease Virus (MDV) Pathogenesis, Curr. Clin. Microbiol. Rep., 5, 238–244 (2018)
- 5) Zhang et al.: Molecular and pathogenicity characterization of Gallid herpesvirus 2 newly isolated in China from 2009 to 2013, Virus Genes, 52, 51–60 (2016)
- 6) Cheng et al.: Circulating hypervirulent Marek's disease viruses in vaccinated chicken flocks in Taiwan by genetic analysis of meq oncogene, PLoS One, 19, e0303371 (2024)
- 7) Renz KG et al.: Pathotyping of Australian isolates of Marek's disease virus and association of pathogenicity with meq gene polymorphism, Avian Pathol., 41, 161–176 (2012)
- 8) Chacón RD et al.: Molecular characterization of the meq oncogene of Marek's disease virus in vaccinated Brazilian poultry farms reveals selective pressure on prevalent strains, Vet Q., 44, 1–13 (2024)
- 9) Shamblin CE et al.: Comparative analysis of Marek's disease virus (MDV) glycoprotein-, lytic antigen pp38- and transformation antigen Meq-encoding genes: association of meq mutations with MDVs of high virulence, Vet Microbiol, 102, 147–167 (2004)
- 10) Abd Ellatieff et al.: Molecular characterization and phylogenetic analysis of a virulent Marek's disease virus field strain in broiler chickens in Japan, Avian Pathol., 47, 47–57 (2018)
- 11) Liu et al.: Emerging Hypervirulent Marek's Disease Virus Variants Significantly Overcome Protection Conferred by Commercial Vaccines, Viruses, 15, 1434 (2023)
- 12) Snog et al.: A Review on the Marek's Disease Outbreak and Its Virulence-Related meq Genovariation in Asia between 2011 and 2021, Animals (Basel), 12, 540 (2022)
- 13) Zhang et al.: Pathogenic characteristics of Marek's disease virus field strains prevalent in China and the effectiveness of existing vaccines against them, Vet Microbiol, 177, 62–68 (2015)
- 14) 西田直哉ら: 肉用鶏における変異型マレック病ウイルスに起因したマレック病の分子疫学的解析及び清浄化に向けた取り組み, 鶏病研報, 59, 16–23 (2023)
- 15) Murata et al.: Genetic characterization of a Marek's disease virus strain isolated in Japan, Virol J., 17, 186 (2020)