

## 委託プロジェクト研究課題評価個票（中間評価）

<b>研究課題名</b>	食品安全・動物衛生対応プロジェクトのうち、薬剤耐性問題（※1）に対応した家畜疾病防除技術の開発	<b>担当開発官等名</b>	消費・安全局食品安全政策課 研究開発官（基礎・基盤・環境）
		<b>連携する行政部局</b>	消費・安全局畜水産安全管理課 消費・安全局動物衛生課
<b>研究期間</b>	H29～H33（5年間）	<b>総事業費（億円）</b>	5.8億円（見込）
<b>研究開発の段階</b>	基礎      応用      開発	<b>関連する研究基本計画の重点目標</b>	重点目標 22

### 研究課題の概要

政府の「薬剤耐性対策アクションプラン」（※2）に基づく抗菌剤（※3）の使用量低減などの社会的要請に応えながらも、畜産・酪農の生産性阻害要因となる常在疾病（※4）の防除を強化するため、次の課題に取り組む。

<課題①：動物用抗菌剤の使用によるリスクを低減するための研究（平成29～33年度）>

- （1）薬剤耐性の発生・伝播機序及び危害要因の特定に関する研究
- （2）家畜生産現場で活用可能な薬剤耐性菌やその遺伝子の迅速検出法の研究開発
- （3）抗菌剤の使用中止による耐性率の変化に関する研究

<課題②：抗菌剤に頼らない常在疾病防除技術の開発（平成29～33年度）>

- （1）様々な家畜種の常在疾病に対する発病抑制・治療・予防のためのワクチンを含む免疫誘導技術の開発
- （2）地方病性牛白血病の感染・発症・伝播リスクの高い家畜を摘発する技術の開発

### 1. 委託プロジェクト研究課題の主な目標

中間時（2年度目末）の目標	最終の到達目標
<p>&lt;課題①：動物用抗菌剤の使用によるリスクを低減するための研究&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・薬剤耐性の発生・伝播試験等によるデータの蓄積</li> <li>・疾病情報等の収集・分析</li> <li>・抗菌剤の使用中止による耐性率の短期的な変化の解析</li> </ul>	<p>&lt;課題①：動物用抗菌剤の使用によるリスクを低減するための研究&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・薬剤耐性の発生・伝播機序の解明及び危害要因の特定</li> <li>・薬剤耐性の有無を迅速に判別可能な検査法の開発</li> <li>・実用化                             <ul style="list-style-type: none"> <li>・耐性率変化のモデル等の構築</li> </ul> </li> <li>以上に基づき、10以上の養豚農場において調査・分析・評価を実施し、従来法より迅速な薬剤耐性菌や耐性遺伝子の検出法を3つ以上開発し、3種以上の抗菌剤について使用中止に伴う薬剤耐性の変化に関するリスク評価に活用可能な知見を整備する。</li> </ul>
<p>&lt;課題②：抗菌剤に頼らない常在疾病防除技術の開発&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・サルモネラ、難治性乳房炎等についてワクチン等の候補物質の検索</li> <li>・地方病性牛白血病について感染・発症・伝播しやすい家畜を識別するバイオマーカー候補の検索</li> </ul>	<p>&lt;課題②：抗菌剤に頼らない常在疾病防除技術の開発&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・各種常在疾病の免疫増強効果の実証と、対象動物を用いたワクチンシーズの実用性評価</li> <li>・地方病性牛白血病の感染や感染から発症への移行を制御する機能の解明と、それを利用した疾病制御技術の開発</li> <li>以上を通して感染防御、排菌抑制または発病抑制効果の高いワクチンもしくは分子薬のシーズを5つ以上開発し、疾病摘発技術のための病態評価の指標となるバイオマーカーを2個以上同定する。</li> </ul>

## 2. 事後に測定可能な委託プロジェクト研究課題全体としてのアウトカム目標（H36年）

### <課題①>

本研究課題の成果を活用して、消費・安全局が「動物用抗菌剤の使用マニュアル」の策定や「家畜防疫対策要綱」等の防疫マニュアルを改訂し、対策を実施する。

### <課題②>

開発したワクチン等を防疫対策に活用することによって、常在疾病による被害が低減し家畜生産基盤の強化が見込まれる。

#### 【常在疾病による年間被害】

牛乳房炎：約800億円、ヨーネ病：80億円以上、下痢：牛の死廃頭数の16%、  
牛白血病：陽性率30～40%

## 【項目別評価】

### 1. 社会・経済の諸情勢の変化を踏まえた研究の必要性

ランク：A

#### ①農林水産業・食品産業、国民生活の具体的なニーズ等から見た研究の重要性

先進国におけるヒトの主な死因が非感染性疾患へと変化する中で、新しい抗菌剤の開発は減少している。そのため、ヒトの重症感染症治療に使用できる抗菌薬がなくなる懸念が指摘されている。2015年には世界保健機構（WHO）で薬剤耐性に関するグローバルアクションプランが採択され、さらに2019年1月にはWHOが新たな5か年の戦略計画を公表するにあたり、「地球規模の保健に対する10の脅威」の一つとして薬剤耐性問題を取り上げている。

上記のグローバルアクションプランに対応して2016年4月に公表された我が国の「薬剤耐性対策アクションプラン」では、抗菌剤の使用量を継続的に監視し、One Healthの観点から医療、畜水産の分野における抗微生物剤の適正な使用を推進することが求められている。そのためには、薬剤耐性の研究開発を推進することの必要性が提示され、その成果として、畜産分野においては、大腸菌のテトラサイクリン耐性率を2014年の45%から2020年には33%へ低減することといった具体的な数値目標も掲げられている。

一方、抗菌剤そのものは畜産業にとって必須の生産資材である。家畜生産現場において、抗菌剤の使用を必要以上に削減ないし中止すれば、それまで抗菌剤で制御してきた疾病、あるいはそういった疾病を制御してきたことによって間接的に発生が抑えられてきた疾病がまん延し、家畜生産性が低下するリスクがある。そのため、畜産現場における抗菌剤使用の削減を推進にあたっては、同時に低コストかつ生産現場が受け入れ可能な代替防除技術を開発・実用化することも重要となる。このことは「科学技術イノベーション総合戦略2016」における、家畜疾病対策等による低コスト生産技術を開発することと連動した課題となっている。

以上のことから、我が国の畜産業ならびに健康な国民生活の維持・向上にとって、家畜の薬剤耐性対策及びそれに関連する家畜の常在性疾病対策についての研究開発の推進は、引き続き重要である。

#### ②引き続き国が関与して研究を推進する必要性

上記のとおり畜産における薬剤耐性率の低減を期限付きの数値目標とともに国が示しており、また家畜の常在疾病による被害を低減するための対策の実行に必要な研究開発は、抗菌剤の使用規制等に関する国の施策とも連動する。そのため、本課題は国の委託プロジェクト研究としてわが国の研究勢力を結集して、総合的・体系的に実施する必要がある。

### 2. 研究目標（アウトプット目標）の達成度及び今後の達成可能性

ランク：A

#### ①中間時の目標に対する達成度

##### <課題①>

中間時目標のうち、「薬剤耐性の発生・伝播試験等によるデータの蓄積」については、以下のことを達成した。まず、抗菌剤使用量のモニタリングシステム「PigINFO Bio」を開発し、養豚場における抗菌剤使用量を農場ごとに効率的に把握することを可能にした。現在まで120～140戸／年の農場を対象に使用量の把握と各農場への情報還元を行うとともに、我が国における農場の豚1頭当たりの各抗菌剤の単位使用量やそのばらつき等を推定した。さらにこれらの農場の中で、生産性指標のデータも得られている約60農場については、抗菌剤の使用量と生産性指標の関連性の評価を開始している（別紙主要成果①-1）。一方、養豚場8戸を対象として、農場で購入した抗菌剤と豚舎排水及び豚舎内空気中の薬剤耐性菌汚染実態を調査したところ、一部の抗菌剤で、使用量の多い農場の薬剤耐性率が高い傾向にあることを明らかにした。さらにそのうち2農場においては、養豚業で用量が多い抗菌

剤の一つである「テトラサイクリン」の使用中止による大腸菌の耐性率への影響評価をするための試験を開始した。

以上のとおり、中間時の目標としていたデータの蓄積は順調に経過している。

「疾病情報等の収集・分析」については、以下のことを達成した。今年度までに収集した豚に下痢を引き起こす大腸菌「下痢原性大腸菌」を約1600株、国内の主要な牛マイコプラズマ病の病原種である「マイコプラズマ・ボビス (MB)」を約200株、およびみつばち疾病である腐蛆病についてはヨーロッパ腐蛆病菌およびアメリカ腐蛆病菌合わせて約180株について、薬剤耐性状況、病原因子、遺伝情報等を分析した。下痢原性大腸菌については、1990年代以降の主要株の変遷を明らかにするとともに、21種の抗菌剤に対する各株の耐性リスクを明らかにした。MBについては、遺伝的な関連情報と合わせて16種の抗菌剤の有効性の経年変化を明らかにした。さらに5系統の抗菌剤についてMBが耐性を獲得する可能性を示唆する遺伝子の変化を特定し、その動態についても明らかにした（別紙主要成果①-2）。腐蛆病菌について、アメリカ腐蛆病菌については、国内で利用が許可されている抗菌剤への耐性が認められないことを確認した。一方、ヨーロッパ腐蛆病菌については「ミロサマイシン」への耐性を確認し、さらに耐性株を生み出す機序についても既に解明することができた。

以上のとおり、中間時の目標である情報の収集・分析はいずれの課題も順調に進捗している他、一部については、耐性機序の解明など次年度以降に計画していた内容を前倒しで進めている。

「抗菌剤の使用中止による耐性率の短期的な変化の解析」については、以下のことを達成した。2018年に飼料添加剤としての国内使用が禁止された抗菌剤「コリスチン」については、実験豚舎で飼育する豚において、55日齢（子豚期）に本剤の使用を中止したことによる大腸菌の耐性の変化を明らかにした（別紙主要成果①-3）。さらに一般農場で飼育されている豚の薬剤使用中止にともなう腸内細菌の種類や数のバランスの変化の評価について、8農場における薬剤耐性状況等に関する予備調査のもと、詳細な解析を実施していく1農場を選抜した。また、肉用鶏においても、コリスチンの使用中中止に対する影響を評価するための基礎データを得ることができた。

以上から、中間時の目標としていた耐性率の短期的な変化の解析は順調に進捗している。

#### <課題②>

「サルモネラ、難治性乳房炎等についてワクチン等の候補物質の検索」については、それぞれ以下のことを達成した。サルモネラについては、ワクチン開発のために必要なタンパク質の候補を同定し、マウスにけるその感染防御への有効性を確認した。このタンパク質については、2018年に特許を出願したところである（別紙主要成果②-1）。難治性乳房炎については、その原因菌の一つである「レンサ球菌ウベリス」の国内発生株を収集し、ワクチンのシーズとなる2つのタンパク質の候補を作製するとともに、その効果検証に用いる本菌の乳房炎病態モデルを作出した（別紙主要成果②-2）。鶏に様々な病態によって被害を起こす「トリアデノウイルス」の新規ワクチンシーズの開発については、ワクチン抗原として用いる本ウイルスのうち高病原性を示す「血清型4」に関連するタンパク質を同定し、本ウイルスの外殻構造のうち、3種の構成部位の作製に成功し、さらにこれらを検出するための抗体検査法を開発した（別紙主要成果②-3）。弱毒化により豚への安全性が確認されている「豚丹毒菌」を活用した新たなワクチン開発については、これまで細菌性疾患1種、ウイルス性疾患2種のワクチン抗原となるタンパク質を内包する豚丹毒菌の作製が完了した。近年国内各地で大きな被害をもたらした「豚流行性下痢ウイルス」の病原性を制御するための基盤技術の開発については、これまで、約60代の継代を続けることにより、本ウイルスの増殖に際して抑制的に働くある種のタンパク質を分解する酵素を培養系に加えることなく増殖可能な株の作出ができた。またその株の遺伝子を解析して本ウイルスの弱毒化に関わる可能性のある変化を確認した。牛の法定伝染病で撲滅対象疾病になっている「ヨーネ病」の原因菌（ヨーネ菌）については、感染牛における免疫制御因子の動態解析を終了した。

以上のとおり、中間時の目標としていた各種感染症のワクチン等に関する候補物質の検索は順調に進捗しており、一部においては特許出願にいたるなど、予定を上回る成果も得ている。

「地方病性牛白血病について感染・発症・伝播しやすい家畜を識別するバイオマーカー候補の検索」については、以下のことを達成した。牛の監視伝染病のうち最も摘発数が多い「地方病性牛白血病 (EBL)」とその原因ウイルスである「牛白血病ウイルス (BLV)」について、収集したBLVの全ゲノム解析、若齢発症牛の感染ウイルスの性状解析、また乳汁中の白血球から分泌される小胞（エクソソーム）の分離方法を検討した。これまで収集したウイルス株が感染した際の感染ウイルス量とそのウイルスが持つ遺伝子情報（ゲノム）の変異状況（一塩基多型：SNP）（別紙主要成果②-4）、BLV

の胎盤感染に関連する牛側の因子の候補、発症に関する生体側の免疫関連因子の候補を同定するとともに、エクソソームについてはその効率的な分離・精製方法を確立し、そこに含まれる複数のバイオマーカー候補を同定した。

以上のとおり、中間時の目標としていたバイオマーカーの検索は順調に進捗している。

## ②最終の到達目標の今後の達成可能性とその具体的な根拠

### <課題①>

#### ・薬剤耐性の発生・伝播機序の解明及び危害要因の特定

日本養豚開業獣医師協会（JASV）と連携し、薬剤耐性率等のデータを継続的に解析しており、最終年度までにはさらなる参加農場数の増加が見込まれる。抗菌剤の使用量の多い農場に対して、データの解析に基づきJASVの農場管理獣医師介在のもと戦略的に抗菌剤の使用削減を進め、薬剤耐性率等に及ぼす影響をについて疫学解析により定量化することとしているが、既に順調なスタートができていることから、到達目標は十分達成可能である。

また、今後PigINFO Bioへ実装する情報については、今後も海外調査を進め、日本の実情を踏まえた抗菌剤使用量の測定方法を確立してその高度化を図る。一方、衛生管理実態と使用量の関連の解明については、現在のデータ収集状況を踏まえると一部の要因との関連の解明にとどまる見込みである。

環境中の抗菌剤の動態や耐性菌の分布状況、さらに抗菌剤使用中止に伴う影響評価は、これまでの取り組みで農場におけるサンプリングや試験方法を確立することができており、今後事例を増やしていくことについても常にJASVと協議を進めている。

以上から、当初目標の10農場以上での評価は十分可能である。

#### ・薬剤耐性の有無を迅速に判別可能な検査法の開発・実用化

下痢原性大腸菌についてはこれまで質・量ともに十分な基礎データの収集が完了した。今後それらを基に類似のグループを迅速に判別する検査法の開発にシフトするが、すでに基盤技術は保有していることから、当初目標を十分達成できる。

MBについては今後1年で耐性化リスクを持つ株の迅速判別技術を来年度中にほぼ確立できる見込みで、その有用性を残りの二年で評価することとしており、余裕をもった目標の達成が可能である。

腐蝕病菌については、上記のとおり前倒しで研究が進捗しており、今後2年間で腐蝕病菌への耐性遺伝子の供給源となりうるハチミツ中の腐蝕病菌以外の薬剤耐性菌について調査を行い、その情報を利用して、最終年度に予防薬使用の必要性と耐性菌発生リスクの評価ができる検査系の開発をすることは十分可能である。

以上から、当初目標の3つ以上の新たな検査法の確立は可能と判断できる。

#### ・耐性率変化のモデル等の構築

テトラサイクリンの中止による影響評価の課題については、上記のとおり目標とする数の対象農場からの協力を取り付けつつあり、順次評価を進めていくことによって課題としての目標達成は可能である。

コリスチンの使用中止による影響評価については、すでに一般農場での短期的な評価のデータを得ている。今後もモニタリングを継続することによって目標としている長期的な影響評価も可能である。さらに同様の手法によって、ほかの抗菌剤に関する予備データの収集を開始した。したがって、残りの3年間で当初の目標を達成することは可能である。

ブロイラーを対象にした課題については、これまでに予定していた試験自体は終了していることから、取りまとめを速やかに進めることと並行して、中期的影響に関する試験を続けていく。

以上から、当初目標の3つ以上の抗菌剤についての使用中止による影響評価は達成可能である。

### <課題②>

#### ・各種常在疾病の免疫増強効果の実証と、対象動物を用いたワクチンシーズの実用性評価

サルモネラワクチンシーズ開発については特許出願に至る成果を得ており、今後計画に沿って他の型のサルモネラにおける防御試験の実施および免疫応答の解析を行い、鶏、豚を用いた臨床試験へ研究を展開して、目標である細胞性免疫を誘導可能なサルモネラワクチンシーズの開発を完了できる。

難治性乳房炎のワクチンシーズ開発については、計画通りに複数のワクチン抗原の作製およびワクチン効果を検証する病態モデルの作出に成功している。ワクチン効果を持続させる物質（アジュバント）の評価系の作出も計画通り進めていることから、有効なワクチンシーズの開発は達成できる。

トリアデノウイルスのワクチンシーズ開発については、血清型4の抗原タンパク質を得ることに成功している。鶏を用いた攻撃試験を行う道筋はついており、ワクチンシーズの開発は達成できる。

豚丹毒菌を活用した新規ワクチンシーズ開発については、すでに3種の豚感染症について、ワクチン抗原分子上での発現を確認しており、豚を用いた有効性評価試験の準備も整っていることから、目

標である経口投与型ワクチンの開発は達成できる。

ヨーネ菌感染牛における排菌抑制機構の検証について、関連する生理活性物質を試験管内試験で見出したところである。残りの期間は牛を用いた宿主免疫の応答の検証に充てることとしており、当初の目標達成可能である。

豚流行性下痢ウイルスの病原性を制御するための基盤技術の確立については、当該ウイルスの弱毒化に関わる可能性のある遺伝子領域を見出している。次年度以降、豚を用いた病原性確認と遺伝子解析によって目標は達成できる。

以上から、当初目標である5つ以上のワクチンもしくは分子薬のシーズ開発は事業期間中に完了できる。

・地方病性牛白血病の感染や感染から発症への移行を制御する機能の解明と、それを利用した疾病制御技術の開発

牛白血病のバイオマーカー開発については、その候補となる遺伝子、タンパク質、生理活性物質等をすでに見出しており、今後もそれらの解析を継続し、同時により簡便な検出法の開発を並行して進めていくこととしており、当初目標の2つ以上の新規バイオマーカーの同定は達成可能である。

<b>3. 研究が社会・経済等に及ぼす効果（アウトカム）の目標の今後の達成可能性と その実現に向けた研究成果の普及・実用化の道筋（ロードマップ）の妥当性</b>	<b>ランク：A</b>
--	--------------

**①アウトカム目標の今後の達成の可能性とその具体的な根拠**

課題①において確立した抗菌剤使用量を把握するためのモニタリングシステムPigINFOBioを養豚場の管理獣医師へ普及し、農場単位での抗菌剤の慎重／適正使用の指導に活用することによって、抗菌剤使用量のより戦略的な低減が可能になる。また、抗菌剤使用による生産農場内外の環境中の薬剤耐性菌分布率に及ぼす影響、残留または環境中へ放出される抗菌剤や重金属の濃度といった情報、また抗菌剤の使用中止による生産性等の各種影響評価、さらに薬剤耐性菌の迅速検出法といった成果物については、行政部局による「動物用抗菌剤の使用マニュアル」策定のための基礎データとして活用していくこととしている。迅速検出法についてはそれぞれ開発が完了次第、手順書に取りまとめ、家畜保健衛生所等での活用を図る。

課題②において、プロジェクト完了時にサルモネラ、豚丹毒ベクターに含める疾病、難治性乳房炎、トリアデノウイルスについては有望な試作ワクチンが提示できることから、必要な特許を申請して民間企業に技術移転し製品化を目指す。この中にはすでに興味を示すメーカーとの検討を始めているものもある。牛ヨーネ病の免疫制御因子と豚流行性下痢の低病原性化技術は基盤的な知見となることから、プロジェクト完了後は民間との共同研究も想定しながら研究開発を推進する。地方病性牛白血病の感染・発症・伝播リスクの高い家畜を摘発する技術については、牛白血病の病態に関連する有望なバイオマーカーを見出していることから、家畜保健衛生所や家畜診療所と協力して検証を進め、牛白血病清浄化の技術体系に組み込んでいくこととしている。以上で確立した技術について実用化ができたものについては「家畜防疫対策要綱」等の防疫マニュアルの改訂内容として活用する。

以上から、本研究課題の成果を活用して、消費・安全局が各種マニュアルを整備または改訂し、対策を実施すること、また開発した技術による防疫対策を実施することで、アウトカム目標である「薬剤耐性菌及び常在疾病による被害が低減し家畜生産基盤の強化」は達成可能である。

**②アウトカム目標達成に向け研究成果の活用のために実施した具体的な取組内容の妥当性**

これまで国内に存在しなかった抗菌剤使用量のモニタリングシステムPigINFO Bioは既に実用化を見据えた運用が開始されている。またシステムの構築にあたって得られた予備知見は、薬剤耐性問題を所掌する消費・安全局畜水産安全管理課が平成31年度に実施予定の薬剤耐性関連事業にも参考情報として活用された。

また、現時点で特許出願済みで実用化の可能性が極めて高いサルモネラのワクチン開発の実行課題については、これまでの成果を広く周知する目的で、アグリビジネス創出フェアにおける消費・安全局食品安全技術室のブースでポスター展示を行い企業等とのマッチングを後押しした。このように社会還元が可能な成果が得られた、ないし得られる見込みが立つ実行課題については普及・実用化を見据えた活動へ展開しつつあり、取組は妥当である。

**③他の研究や他分野の技術の確立への具体的貢献度**

該当しない。

**4. 研究推進方法の妥当性**

ランク：A

**①研究計画（的確な見直しが行われているか等）の妥当性**

これまで本課題の事務運営を担当する消費・安全局食品安全政策課食品安全技術室のプロジェクトオフィサー（PO）ならびに研究専門官が各実施課題の進捗状況を把握しており、それらの情報を薬剤耐性問題及び動物衛生を所掌する行政側のリスクマネージャー（畜水産安全管理課及び動物衛生課）へ提供してきた。それらの情報を省内で蓄積した上で、これまで3回開催された受託者主催の研究推進会議には消費・安全局関連3課が必ず出席し、行政活用の観点から成果の妥当性を検討してきた。また、続いて開催される消費・安全局主催の運営委員会においては、注力すべき点や修正すべき点を指摘すること等を通して計画の策定と課題の適正な推進を後押ししている。その結果、中間時の目標はほぼ達成することができている。以上から、研究計画は妥当である。

**②研究推進体制の妥当性**

これまで各年2回の運営委員会を開催してきた。当該委員会はリスクマネージャーである担当2課および農水省の検査機関（動物医薬品検査所）に加え、薬剤耐性、ワクチン開発、畜産現場の衛生対策といった専門の異なる3名の大学教授（外部委員）等によって構成されており、常に行政ニーズを満たす出口戦略のもとに各課題が推進されているか確認し、必要に応じて助言を行ってきた。またそのフォローアップとして、助言が適切に課題推進と成果に反映されているかの確認を食品安全技術室が担ってきており、研究推進体制は妥当である。

**③研究課題の妥当性（以後実施する研究課題構成が適切か等）**

いずれの実行課題についても行政あるいは畜産の現場ニーズに即したものであり、全体を通して、これまでリスクマネージャーが想定した成果がほぼ得られていることから、以後実施する研究課題構成は適切である。

**④研究の進捗状況を踏まえた重点配分等、予算配分の妥当性**

初年度の成果に鑑み、小課題①については野外で実施すべき調査研究内容は明確になっており、必要な成果を得るためには協力農場との調整業務が重要となっていた。そこで2年目である今年度はワクチン抗原候補を確実に確保するための各種実験が必要となる小課題②へ重点配分を行った。いずれの小課題も今年度の2年目に目標とする成果を得ることができたため、予算配分は妥当である。

**【総括評価】**

ランク：A

**1. 委託プロジェクト研究課題の継続の適否に関する所見**

・中間時の目標は達成しており順調に進捗していることから、本研究を継続することは妥当である。

**2. 今後検討を要する事項に関する所見**

- ・データベースが乱立することのないよう、既に運用されている、例えば「WAGRI」に一本化するような方策を検討されたい。
- ・また、データベースの運用に当たっては、データ入力の手間が煩雑にならないようにするなど、利用する生産者に配慮して進める必要がある。さらに、入力した生産者の不利益にならないように検討されたい。
- ・動物用抗菌剤が成長促進剤として使われている側面もあると聞いている。このため、その利用を削減・停止した場合の家畜への影響も考慮して進めることが重要である。

[研究課題名] 食品安全・動物衛生対応プロジェクトのうち、薬剤耐性問題に対応した家畜疾病防除技術の開発

用語	用語の意味	※ 番号
薬剤耐性問題	薬剤耐性とは、細菌、真菌、寄生虫などの微生物による感染症に対して抗菌剤（下記）の効果が無効もしくは減弱する現象を指す。薬剤耐性問題とは、抗菌剤の不適切な使用等によって抗菌剤に耐性を持つ微生物が世界的に増えている現象を指す。	1
薬剤耐性対策 アクションプラン	「国際的に脅威となる感染症対策関係閣僚会議」において2016年4月5日に決定された、薬剤耐性問題に関するわが国の行動計画（対象期間：2016～2020年）。ヒトと動物の垣根を越えた取組（ワンヘルス・アプローチ）によって、薬剤耐性の発生を遅らせ、拡大を防ぐため、「1. 普及啓発・教育、2. 動向調査・監視、3. 感染予防・管理、4. 抗微生物剤の適正使用、5. 研究開発・創薬、6. 国際協力」の各分野について目標が掲げられた。本研究課題に特にかかわる部分としては、薬剤耐性及び抗菌剤の使用量を継続的に監視し、薬剤耐性の変化や拡大の予兆を適確に把握（2）し、医療、畜水産の分野における抗微生物剤の適正な使用を推進（4）するための手段として、薬剤耐性の研究や薬剤耐性微生物に対する予防・診断・治療手段を確保するための研究開発を推進（5）することが挙げられる。	2
抗菌剤	細菌の増殖を抑制したり、殺したりする働きのある化学物質。抗菌剤には、微生物が産生した抗生物質と、人工合成した化学物質が含まれる。	3
常在疾病	環境中に持続的に定着している病原体よる疾病。本研究課題では、これらの疾病のうち、特に現在我が国で問題となっている各種サルモネラ症、難治性乳房炎、豚の大腸菌症（浮腫病）、高い病原性を示すトリアデノウイルス、豚流行性下痢、地方病勢牛白血病等へ対応することとしている。	4

## 背景と目的

- 2016年4月に政府がとりまとめた「薬剤耐性対策アクションプラン」において、薬剤耐性の発生・伝播機序の解明や、新たな予防・診断・治療法等の開発に資する研究を推進するとされた。
- 経営体や県からは、常在疾病に対するワクチンや検査技術の開発要望。
- 一方、以下のような課題が存在
  - ・家畜生産現場における抗菌剤の不適切な使用により、耐性菌が増加し、治療効果が得られなくなる可能性
  - ・ただし、抗菌剤の使用を過度に抑制すれば、常在疾病がまん延し家畜の生産性が低下
  - ・このため、抗菌剤の使用を適正に削減し、かつ常在疾病も制御するための技術開発が必要

## 研究内容

### 【1】動物用抗菌剤の使用によるリスクを低減するための研究

- ・薬剤耐性の発生・伝播機序及び危害要因の特定
- ・薬剤耐性菌の迅速検出技術の開発
- ・抗菌剤の使用中止による耐性率の変化の解明

### 【2】抗菌剤に頼らない常在疾病防除技術の開発

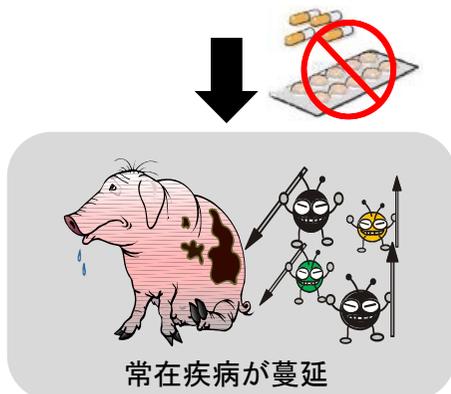
- ・細菌病に限らない国内常在疾病の発病抑制・治療・予防のための免疫誘導技術の開発
- ・発症・伝播リスクの高い感染家畜を摘発する技術の開発

## 研究目標

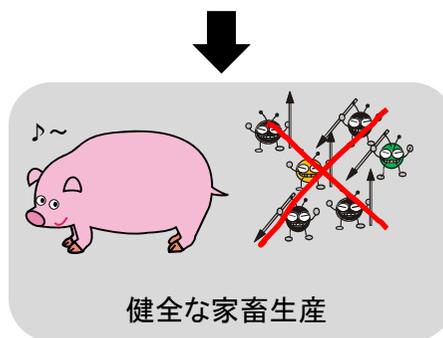
薬剤耐性対策の目標※を達成しつつ、  
常在疾病による家畜生産性の低下を  
抑制するための技術開発を実施

※大腸菌のテトラサイクリン耐性率を  
2020年に33%以下、セファロスポリン  
とフルオロキノロン耐性率を2020年に  
G7各国の数値と同水準

極端な抗菌剤使用抑制



抗菌剤の使用を適切に削減  
しつつ常在疾病防除

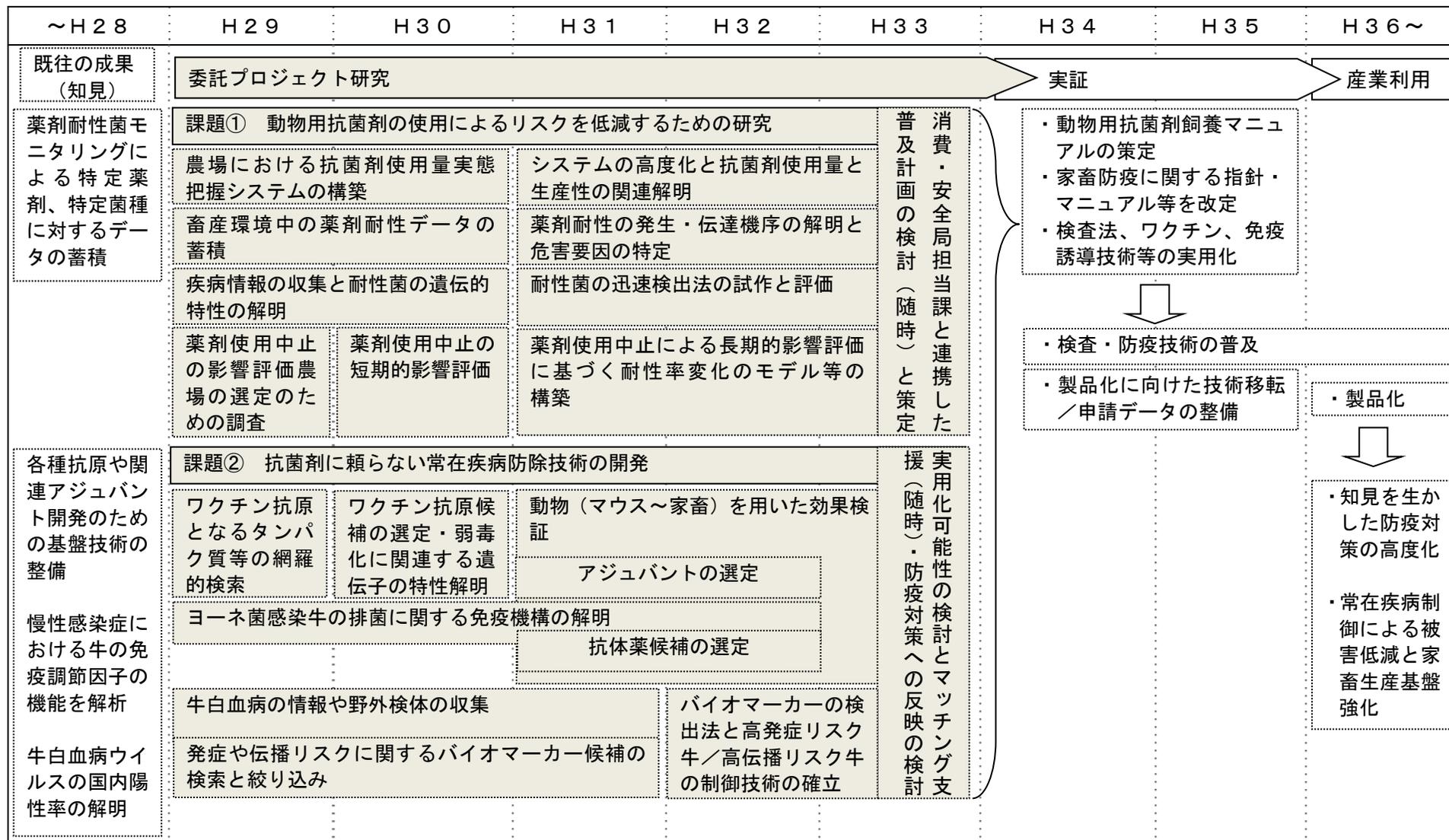


## 期待される効果

- ・抗菌剤の慎重使用に関するガイドラインや、家畜伝染病防疫対策の見直し
- ・常在疾病による被害を低減し、家畜生産基盤を強化

【ロードマップ（中間評価段階）】

食品安全・動物衛生対応プロジェクトのうち、薬剤耐性問題に対応した家畜疾病防除技術の開発



# (課題①-1) 養豚場における抗菌剤使用の実態評価システムの構築 及び生産性への影響解明

## 研究概要

養豚農場における抗菌剤使用実態をモニタリングするシステム(PigINFO Bio)を構築し、養豚場の生産性評価システム(PigINFO)と連携させることによって、生産性を損ねない戦略的な抗菌剤使用量の削減手法を確立する。

## 主要成果

### PigINFO Bioの構築



## 今後の研究推進方向

- ① システムの効率化のため、抗菌剤使用量を治療日数単位に換算した指標で比較する機能や、抗菌剤等の自動入力機能をPigINFO Bioに追加
- ② 特定の抗菌剤使用を中止したことによる耐性率の変化への影響を解明

# (課題①-2) マイコプラズマの特性解明と簡易迅速な薬剤耐性判別技術の開発

## 研究概要

マイコプラズマの薬剤耐性を検出するための検査は臨床現場での活用が難しい。その理由として、検査の迅速性と簡便性の低さが挙げられる。そこで、これまで国内で分離された菌株について耐性化の傾向を明らかにするとともに、従来法の短所を克服した新たな検査技術を開発し、有用性を評価する。

## 主要成果

### 「マイコプラズマ・ボビス」の薬剤耐性獲得につながりうる遺伝子変異を特定し分離株の変遷を解明

我が国の牛疾病由来のマイコプラズマ・ボビス(n=202)で特定した薬剤耐性獲得につながりうる変異

変異した遺伝子等	変異内容と箇所	影響を受ける薬剤(の系統)
16SリボゾームRNA	A 965 <sup>th</sup> , A 967 <sup>th</sup>	テトラサイクリン系
	C 1192 <sup>nd</sup>	スペクチノマイシン
23SリボゾームRNA	G 748 <sup>th</sup>	16員環マクロライド系
	A 2059 <sup>th</sup>	マクロライド系、リンコサミド系
gyrAとparCの変異の共存	セリン83 <sup>rd</sup> (gyrA)、 セリン80 <sup>th</sup> (parC)	フルオロキノロン系



本菌のまん延予防の基礎的知見となるとともに薬剤の適正使用にもつながる

## 今後の研究推進方向

- ① これまで特定した変異を検出する簡易迅速な検査法の確立
- ② マイコプラズマ・ボビス感染症の治療技術の高度化

# (課題①-3) 豚農場における抗生物質使用中止による豚由来大腸菌耐性率への影響評価

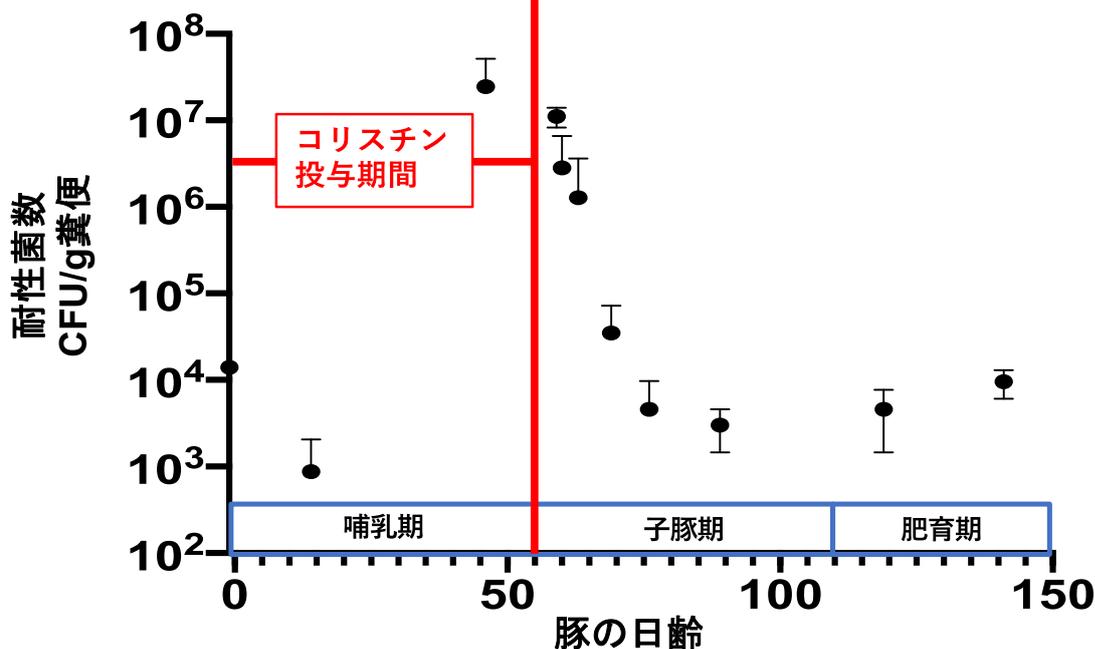
## 研究概要

飼料添加物としてのコリスチンについては、平成30年に使用が禁止された。そこで、豚への使用中止前後の大腸菌の耐性率への影響を明らかにするとともに、他の抗菌剤についても同様の評価を行い、抗菌剤の適正使用のための基礎情報として活用する。

## 主要成果

### コリスチン使用中止すると豚由来大腸菌の耐性は下がる

大学の試験農場にて豚群を150日齢まで飼養し、分離される大腸菌のコリスチン耐性等の性状を解析  
コリスチンの投与は55日目に中止



豚生体でのコリスチン使用による大腸菌の耐性上昇と、中止による耐性低減をともに実証

## 今後の研究推進方向

- ① 一般の養豚農場における、農場全体のコリスチン耐性率の変動の検証
- ② 他の抗菌剤についても同様に評価し、それらの慎重使用および適正使用についての基礎情報として活用

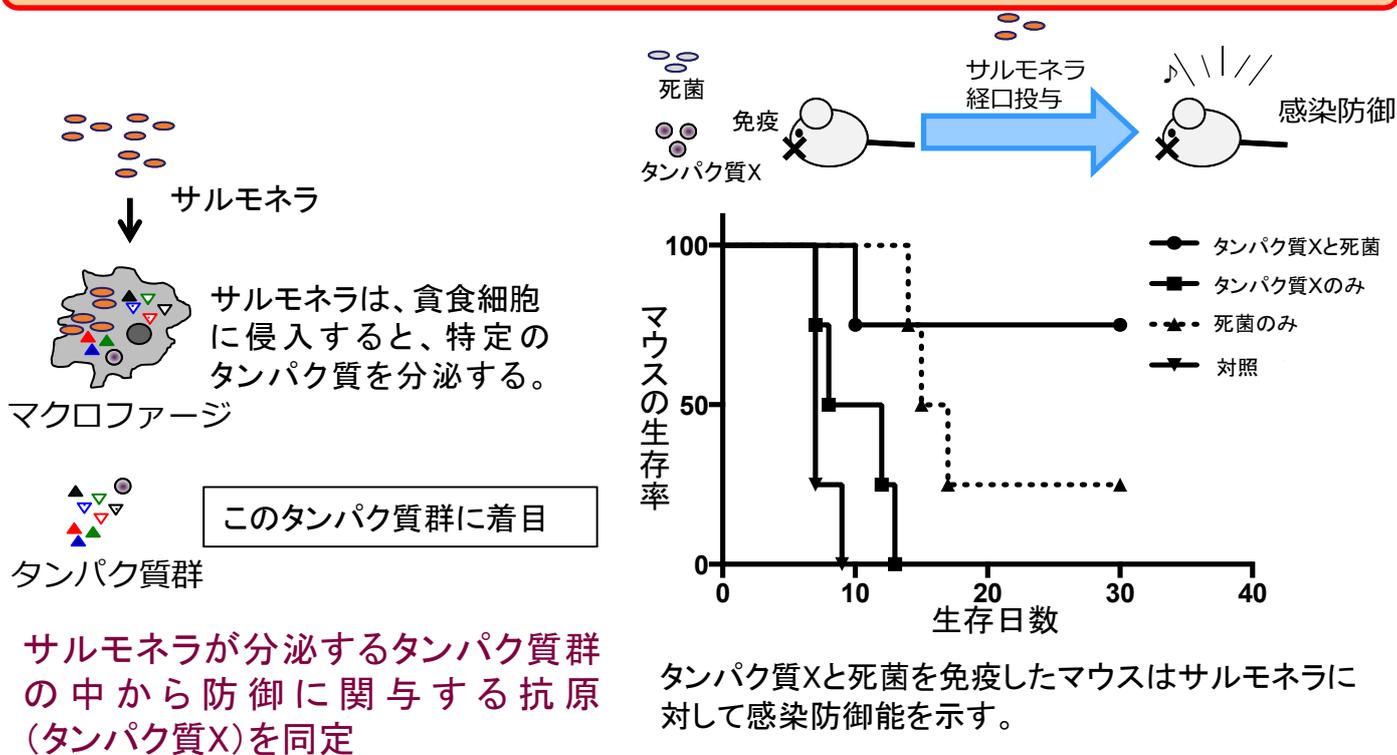
# (課題②-1)細胞性免疫を誘導可能なサルモネラワクチンの研究開発

## 研究概要

家畜・家きんのサルモネラ症制圧のため、家畜・家きんへの感染予防が可能な新規のワクチンを開発する。

## 主要成果

### マウスを用いてサルモネラ感染防御に関与するタンパク質を同定



同定したタンパク質(ワクチン抗原)は、家畜全般に対する安全で高機能な新規の「成分ワクチン」のシーズとして活用が期待できる(特許出願済)

## 今後の研究推進方向

- ① 異なる種類のサルモネラに対する感染防御能を検証
- ② 順次家畜・家きんにおける臨床試験を実施

## (課題②-2) 難治性乳房炎に対する発症制御法の開発

### 研究概要

酪農場において乳房炎対策に用いられる抗生物質の使用量と頻度を低減するため、難治性乳房炎の発症を制御するタンパク質(ワクチン抗原)とその効果を持続させる物質(アジュバント)を開発し、その適切な使用方法を確立する。

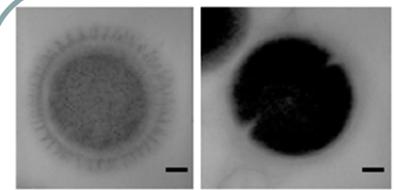
### 主要成果

#### 「レンサ球菌ウベリス」による乳房炎に有望なタンパク質を作製

臨床型乳房炎由来の分離株の遺伝子型および性状解析に基づき、ワクチン抗原となる2種類のタンパク質を選定・作製



1. 菌体表面の細胞接着因子2成分を含む「キメラタンパク質」の模式図と精製品の電気泳誘像



荚膜保有株 無荚膜株

2. 菌体表面に多種の病原因子が露出した無荚膜株の死菌体

これらのワクチン抗原候補のタンパク質について:

- 1、2ともに牛に抗原性があること
  - 細胞接着阻止(1)と食菌促進(2)に働く抗体を誘導することを確認
- 菌体表面の膜(荚膜)の型によらず効果が期待できる

### 今後の研究推進方向

- ① 抗原の内容と組み合わせを決定するための感染試験
- ② アジュバントの選定・開発
- ③ 乳牛において、組み合わせた抗原と最適なアジュバントの組み合わせを決定するための検証

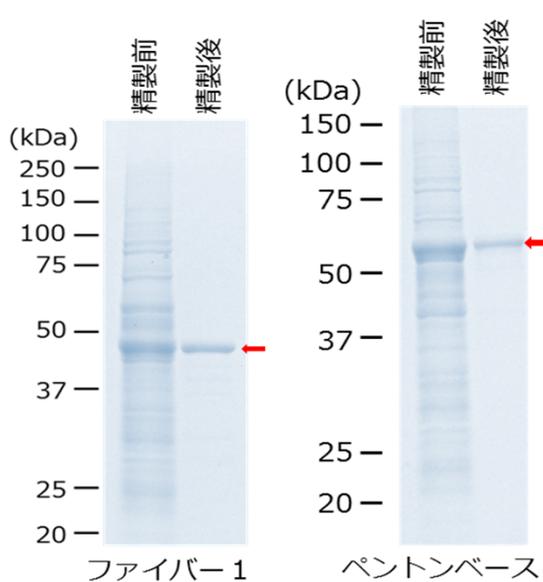
# (課題②-3) ウイルス様粒子作成技術を応用した トリアデノウイルスワクチンの開発

## 研究概要

我が国でもしばしば発生があるトリアデノウイルス(FAV)は鶏に様々な疾病を引き起こす。それらによる養鶏場の損耗低減のため、ウイルス様粒子作製技術を活用してFAVの検出法とワクチン候補株を作出する。

## 主要成果

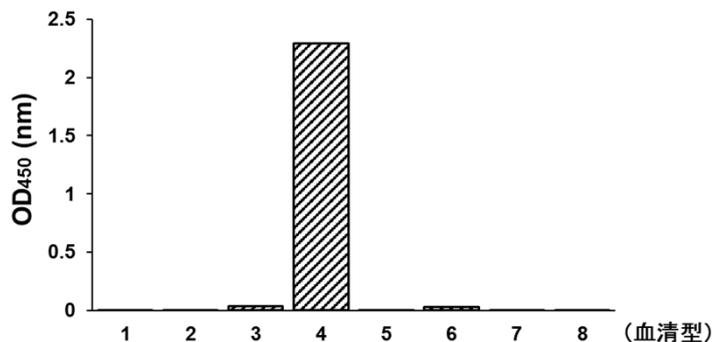
### 抗FAV抗体を検出するための抗体検査法を構築



◆: 発現した組換えタンパク質

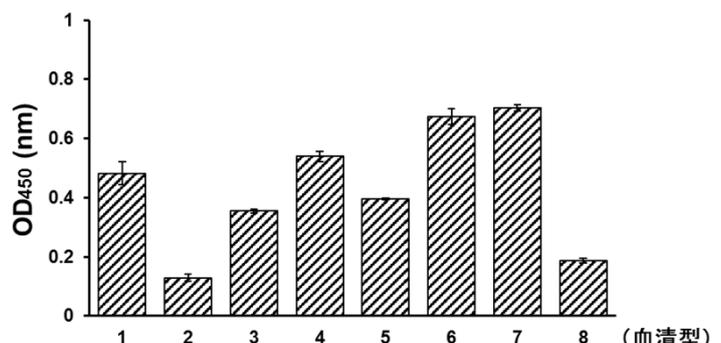
高病原性トリアデノウイルス  
(LVP-1/96株、血清型4)の外殻  
タンパク質の発現、精製

### 血清型特異的に鶏血清中のFAV4型抗体を検出



ファイバー1による抗アデノウイルス抗体の検出

### 幅広い血清型の抗FAV抗体を検出



ペントンベースによる抗アデノウイルス抗体の検出

ワクチン候補株の作出に先立ち、血清型共通、および高病原性株を含む血清型4に特異的な迅速抗体検査法(ELISA法)をそれぞれ確立。FAVの野外浸潤の実態解明により、ワクチンを必要とする鶏群の判別が容易となった。

## 今後の研究推進方向

- ① 今回得られたワクチン抗原候補となるタンパク質について、鶏における発症防御能を解析
- ② 異なる血清型のウイルスへの防御能も解析し、ワクチン抗原としての汎用性を評価

# (課題②-4) 地方病性牛白血病の発症・伝播リスク牛の摘発技術の開発

## 研究概要

牛の監視伝染病で摘発数が最多の地方病性牛白血病(EBL)の発生低減のため、その原因である牛白血病ウイルス(BLV)感染牛のEBL発症やBLVの伝播に関連するバイオマーカーを同定するとともに、それらを利用した高発症リスク牛あるいは高伝播リスク牛の早期摘発手法を確立する。

## 主要成果

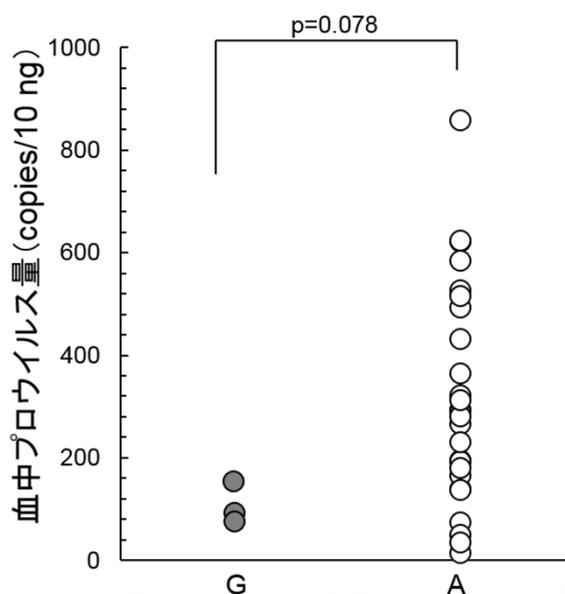
### BLV感染牛の保有ウイルス量に関連するウイルスの遺伝子情報(ゲノム)の特異的変異(SNP)を確認

#### 感染牛(n=30)由来のウイルス株の全ゲノムを解析

保有ウイルス量との  
関連が示唆されるSNPの位置

ゲノム上の位置	対応するタンパク質
37	LTR
794	GAG
1902	PRO
3071	POL
3761	POL
4299	POL
<b>6427</b>	<b>なし</b>
6853	なし
7053	R3
7532	TAX, REX
7838	TAX, REX
8226	LTR

保有ウイルス量  
との関連を評価



6427番目の遺伝子の核酸が“G”のBLVに感染した牛は、血中プロウイルス量が相対的に低かった

短期間での全感染牛の更新が困難な高度汚染農場においては、BLVの型別(SNP解析)を通して更新する牛の優先順位付けができる可能性

## 今後の研究推進方向

- ① 高い感染量と関連するSNPの同定とその有用性を検証
- ② その他の遺伝子やタンパク質の網羅的解析を通して、更に有望なバイオマーカー候補を探索