

第24回藤崎優次郎賞 受賞記念

豚の常在型損耗性疾病の診断法の確立と普及

川 寫 健 司¹⁾、勝 田 賢¹⁾、恒 光 裕²⁾(¹⁾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、²⁾Farm Animal Health Support)

Kawashima, K., Katsuda, K., Tsunemitsu, H. (2023). Establishment and dissemination of diagnostic methods for porcine endemic wasting diseases.

Proc. Jpn. Pig Vet. Soc. 82, 13-17.

キーワード：豚消耗性疾病、豚離乳後多臓器性発育不良症候群、診断法、子宮摘出・初乳未摂取豚、全国調査

はじめに

呼吸器病や下痢症等の常在型損耗性疾病の発生やまん延は、家畜の飼料効率や死亡率に大きく関わり農場の生産性に大きく影響する。特に飼料価格の高騰が経営を圧迫している近年の畜産においては、常在型損耗性疾病の制御は生産性を改善する重要な要素となっている。筆者らは、豚の呼吸器病や下痢症に関与する病原微生物の解析をきっかけに、農林水産省 家畜衛生試験場（現農研機構 動物衛生研究部門、以下「動衛研」）七戸研究施設（図）において、東北各県の家畜保健衛生所の職員とともに、常在型損耗性疾病である家畜の呼吸器病や下痢症の診断技術の確立を行った。特に、当時、豚の新興感染症として世界各地で大きな被害をもたらした豚サーコウイルス2型（PCV2; Por-

cine circovirus type 2）感染が関与する豚離乳後多臓器性発育不良症候群（PMWS; Postweaning multisystemic syndrome）について、国内初の報告、農場での調査、子宮摘出・初乳未摂取（HPCD; Hysterectomy-produced and colostrum-deprived）豚を用いた病態解析及び農林水産省事業での全国規模の調査を多くの家畜保健衛生所ならびに動衛研の職員と実施した。当時の関係者への感謝と敬意を込めて本稿を執筆したい。

1. 豚の常在型損耗性疾病について

2018年、岐阜県の養豚場においてわが国では26年ぶりとなる豚熱の発生が確認され、これまでに86事例、約35万7千頭の豚が処分されている（2023年3月時点）。また、農林水産省は、もし国内にアフリカ豚熱が侵入すると全国の飼養豚の40%が失われると推定している。このように越境性家畜感染症による被害は甚大であるが、一方で、常在型損耗性疾病の被害も養豚経営を圧迫している。日本養豚協会の2022養豚農業実態調査報



図 旧七戸研究施設

告書によると、平均育成率は約90%で¹⁾、近年、この数値には大きな変化はなく、このため、平均的な養豚では常時10%の豚が何らかの要因で育成期に失われていると推量される。その要因を調べるため、農林水産省の診断予防技術向上対策事業「PMWS」で、30～120日齢の発育不良豚427頭の病変を調べたところ、89%の豚に肺炎が認められており、肺炎による死亡や生産性の影響は非常に大きいものと推量される。豚の肺炎は、豚呼吸器複合病（PRDC; Porcine respiratory disease complex）と言われ、ウイルス、細菌等の病原微生物感染やアンモニア等の環境要因が複合して肺炎が重篤化する例が多い。上述の調査でも、PCV2、豚繁殖・呼吸障害症候群（PRRS; Porcine reproductive and respiratory syndrome）ウイルス、マイコプラズマに起因する肺病変を持つ発育不良豚が、それぞれ10～20%見られ、また、これらが重複して認められた。加えて、ほ乳期や育成期の損耗原因となる下痢症も、七戸研究施設の調査において、ウイルス、大腸菌、コクシジウム原虫等の複合要因により発症していることがわかった^{2,3)}。ある微生物が特定の病気の病因であることを証明する場合、1) ある病気には一定の微生物が見いだされること、2) その微生物を分離できること、3) 分離した微生物を感受性のある動物に感染させて同じ病気を起こせること、4) その病巣部から同じ微生物が分離されることのコッホの4原則を満たす必要がある。しかしながら、上述したように豚消耗性疾病は、混合感染症や日和見感染症であることが多く、この原則を満たさない例が多い。中でも、PCV2感染による疾病は、その病態も多岐にわたり、また実験感染で病態を再現することが難しく、今日でもPCV関連疾病（PCVAD; Porcine circovirus-associated diseases）と呼ばれている。

2. PMWS について

PMWSは、カナダで離乳後の育成豚の発育不良・呼吸困難等を主徴とし特徴的なリンパ組織病変をもつ疾病が1991年に発生していたことが1996年に報告された後、世界各地で発生が報告されている。わが国では1996年の病性鑑定材料においてPMWSの特徴病変を持つ発育不良豚が久保らによって1999年に報告された⁷⁾。PMWSは、一般に離乳後の死亡率が上昇することによって発見され、筆者らの調査では、一農場において離乳後の死産率がPRRSと相まって、3%から最大27%に上昇した。このような育成豚の死産率の上昇は

数カ月から1年以上に及んでいた。筆者らは、青森県の養豚場において豚の消耗性疾病の原因調査の中でPMWSと考えられる症例に遭遇したことを契機に調査を進め、家畜保健衛生所の職員とともに、PCV2の国内初検出の報告を行い、その後、実験感染による病態解析、全国規模の調査へと進展していった。なお、PCV2感染は、PMWS以外にも豚皮膚炎腎症症候群（PDNS; Porcine dermatitis and nephropathy syndrome）、豚呼吸器複合病（PRDC）及び繁殖障害などにも関与することが報告されたため、現在、PCV2感染に起因する疾病を欧州ではPCV病（PCVDs; Porcine circovirus diseases）、北米ではPCVADと総称されている。なお、PMWSはPCV2 systematic disease（PCV2-SD）とし、PCVDs/PCVADの一病型として整理されている⁹⁾。

3. PCV2の国内初報告

従来、豚由来培養細胞の迷入ウイルスとして知られてきた非病原性のPCV1型（PCV1）とは塩基配列や抗原性の異なったPCV2がPMWSの発生に関与していることが報告された。このため、七戸研究施設で受け入れていた山形県家畜保健衛生所の長期研修生らとともに病性鑑定材料を元に国内初のPCV2同定を目指すことにした。七戸研究施設には以前同施設に在籍した今田らが作製した豚の腎細胞から持続感染していたPCV1を除いたPPK細胞を保有しており、この細胞がこの後のウイルス同定に大きく寄与することとなった。現在、PCVはPCV1、PCV2及びPCV3が報告されており、PCV2には5つの遺伝子型（PCV2a、PCV2b、PCV2c、PCV2d、PCV2e）が提唱されている⁹⁾。また、遺伝子型間には抗原性の差は認められるが、血清型は同一と考えられている。PMWS罹患豚の組織学的特徴は、リンパ組織、肺、肝臓、腎臓や腸管粘膜における組織球・巨細胞による肉芽腫性病変、リンパ濾胞でのリンパ球の消失と浸潤した組織球内にブドウの房様の特徴的な細胞質内封入体が認められる。細胞質内封入体を電子顕微鏡で観察すると直径約20nmのPCV粒子を認め、罹患豚の耐過血清をビオチン化して免疫組織化学的染色法を実施し、組織内でウイルス抗原を検出した。PCVは、正二十面体、エンベロープを持たず、約1,700個の塩基で構成された一本鎖の環状DNAをもったウイルスで、PCV1とPCV2の相同性の違いを利用して両者を区別できるプライマーを設計し、PCR法によりPCV核酸を検出した。検出されたウイルスの塩基配列を既報のPCV2と比較し約97%の一致率の

結果を得て、国内初の PCV2 同定として報告した⁸⁾。さらに、この同定 PCV2 株（山形株）を持続感染させた PPK 細胞を利用して蛍光抗体法による PCV2 の抗体価測定法を確立し、PCV2 感染の浸潤率や農場でのウイルス動態の調査を可能とした。東北地域を主体とした材料を用いて PCV2 感染の浸潤率を調査したところ、飼養豚で 95% を超える陽性率を示すこと、青森県の保存血清で調査すると少なくとも 1988 年から PCV2 抗体を持つ豚が存在すること、及び PMWS 発症農場の月齢別抗体価調査から PMWS 発症前に比べて発症後はより若齢期の豚群で抗体価が急激に上昇し、そのピークも高値を示し、PCV2 感染が広がっていること、ならびに若齢期の感染ないしウイルス増殖が PMWS 発症に関連する可能性を示唆した⁵⁾。

4. PCV2 の実験感染

PCV2 が広く国内に浸潤しているため養豚場で飼養されている豚は実験感染に用いられないことがわかり、HPCD 豚を用いて分離ウイルスの病原性を確認することとした。HPCD 豚は無菌かつ母豚からの移行抗体を保有しないため、新規病原微生物の病原性解析には有用で、これまで動衛研では PRRS ウイルス等の解析に用いてきた。最初の HPCD 豚試験はつくば研究拠点で実施したが、HPCD 豚の作製・飼育技術を七戸研究施設に導入し、その後の病態解析やワクチン有効性評価試験等に活用した。七戸研究施設には母豚を帝王切開する設備や母豚用アイソレーターがなかったが、解剖室に簡易の母豚つり下げ装置や保育室を整備し、当時の職員総出で HPCD 豚の作製に従事した。既報の PCV2 実験感染ではウイルス接種豚に病変を示すものの野外に類似した症状は再現していなかったが、ワクチンアジュバントやワクチン接種による免疫刺激によりウイルス接種豚に重篤な症状を発現するという報告がなされていた。このため、本試験では逆に免疫抑制によるウイルス接種豚の病態を観察することとした。1 週齢の HPCD 豚 12 頭を 2 頭ずつ 6 群に分け、デキサメサゾン投与後に PCV2 を鼻腔内及び腹腔内に接種し、アイソレーターで 28 日間臨床症状を観察後、剖検して組織病変、PCV2 抗原分布、PCR 法によるウイルス核酸ならびに PCV2 抗体の検出を行った。感染 HPCD 豚に臨床症状は認められなかったが、組織からウイルス核酸ならびに特異抗体が検出され、組織学的に非化膿性心筋炎、間質性肺炎が認められた。さらにデキサメサゾン投与感染 HPCD 豚では、リンパ組織でのウイル

ス抗原を含むリンパ球減少と巨細胞浸潤が認められたことから、免疫抑制によって PMWS 症状は発現しないが、リンパ組織における PCV2 の増殖と病変形成が増強されることを示唆した⁴⁾。

5. 農場での PMWS コントロール

当時、PCV2 ワクチンは市販されておらず、PMWS 発生農場ではその対応に苦慮していた。そこで、青森県の養豚場の発案で、新設コンテナ隔離離乳舎を用いたオールインオールアウト飼育方式と既存豚舎での連続飼育、ならびに当時、子豚に一般的に用いられた PRRS、マイコプラズマ及び豚胸膜肺炎のワクチン接種の影響による PCV2 の動態と PMWS の発生を比較した。隔離離乳舎飼育豚では、既存豚舎飼育豚に比べて離乳後の死亡率（2.7% と 17.4%）ならびに PCV2 検出率（12.5% と 75%）と低く、また、既存豚舎では PMWS 発症豚が認められたが、隔離離乳舎飼育豚では PMWS を発症した豚が 1 頭も見られなかった。一方、前述の 3 種類のワクチン接種の有無での差は認められなかった。以上のことから、オールインオールアウト飼育方式では PCV2 の増殖抑制ないし感染時期が遅れたことにより、PMWS 発症を抑制したと考えた⁵⁾。残念なことに、隔離離乳舎での飼育においても、その後、PMWS が発生し、そのコントロールの難しさを痛感した。PMWS の発生は多くの農場で見られており、著者らも東北各地の養豚場を訪問し、発育不良豚を解剖して PMWS の診断を行い、そのコントロールについて農場関係者と一緒に模索した。

6. 全国規模の PMWS 実態調査

農林水産省消費・安全局動物衛生課の診断予防技術向上対策事業を活用して、東北地域から全国に拡げて、PCV2 感染率、PMWS 発生率及び PRRS ウイルス等の PMWS 発症に関与するコファクターを調べることにした。本事業では、PCV2 検出法や診断法を普及することも目的としており、プライマー情報、陽性対照サンプル及び PCV2 と PRRS ウイルス特異抗体を配布し、2000 年より全国 17 府県が参加して開始し、2003 年までの 4 年間で 26 府県が参加した（参加府県：青森、岩手、秋田、宮城、山形、福島、新潟、石川、茨城、群馬、神奈川、静岡、滋賀、京都、大阪、鳥取、島根、山口、香川、愛媛、徳島、高知、福岡、佐賀、長崎、沖縄）。本事業では、各県 2～7 農場で 1 農場あたり 3～5 頭の発育不良豚を剖検し、4 年間で合計 195 農場

692頭の発育不良豚を剖検した。剖検豚について、PCR法により、PCV1、PCV2、豚パルボウイルス（PPV）、PRRSウイルス、マイコプラズマ（*Mycoplasma hyopneumoniae* 及び *M. hyorhinis*）を検出し、さらに免疫組織学的染色法によりPCV2とPRRSウイルスを病変から検出した。ここでのPMWS罹患豚の診断基準は、複数のリンパ組織において中程度以上の特徴病変を保有しその病変内から免疫組織化学的染色法によりPCV2が検出された個体とした。その結果、PCV2は82.7%（556/672）の発育不良豚からPCR法により検出され、23.4%（162/692）がPMWS罹患豚と診断された。また、調査対象農場の96.6%（119/123）にPCV2陽性豚が存在し、さらに50.4%（65/129）にPMWS罹患豚が認められた。検査した半数以上がPMWS罹患豚の農場は22.5%（29/129）であった。以上のことから、我が国にPCV2感染ならびにPMWS罹患豚が広く浸潤していること、ならびにPCR法によりPCV2が検出されるがPMWSを発症していない発育不良豚が高率に存在することを明らかにした^{5,6)}。これまでの結果から、1) PCV2の単独接種では特徴病変は再現されるが、臨床症状は再現されないこと、2) 臨床的に正常な豚の大部分がPCV2抗体陽性であること、3) PCV2はPMWS病変を持たない豚からも高率に検出されることがわかった。このため、PMWSの診断基準として、離乳後に発育不良豚の発生が増加し、肝臓・腎臓・肺・腸管等に肉芽腫病変ならびに細胞質内封入体を含むリンパ組織病変及び病変からPCV2を検出することが相応しいと考えた。また、農場においても複数の豚を剖検して、半数以上の個体からPMWS罹患豚が存在することが、農場においてPMWSが問題になるとした。PMWS罹患豚と非罹患豚において病原微生物の検出数を比較すると、PRRSウイルスについては、PCR法ではPMWS罹患豚の59%が陽性となり（陰性豚48.3%、 $p=0.03$ ）、さらに免疫組織学的検出法では39.9%（陰性豚19.7%、 $p<0.001$ ）となり、PRRSウイルスの肺内増殖がPMWS発症に関連することが推察された。*M. hyorhinis*もPCR法でPMWS罹患豚の56.5%で検出（陰性豚39%、 $p=0.04$ ）された⁶⁾。

7. おわりに

PCV2の国内初報告、HPCD豚作製施設の設備と運用整備によるPCV2の感染試験、26府県が参加したPMWSの全国規模の調査を行い、海外で用いられているPMWSの個体診断ならびに農場診断のガイドライ

ンを加味したPMWSの診断基準を構築した。これは、臨床症状とともに病理組織学的な特徴病変ならびにPCV2抗原の検出を持って実施するコホの原則に合わない複合感染症としての診断基準となった。筆者らが確立した検査系や感染試験系など一連の技術は家畜保健衛生所や民間企業の調査の一助になったのではないかと自認している。また、平成20年に国内に導入されたPCV2感染症に対するワクチンについて、構築した設備・技術を用いた有効性評価を企業と連携して実施しており、これらを通して少しでも国内の養豚産業の生産性向上に役だったのであればありがたい。

利益相反状態の有無

すべての著者は開示すべき利益相反はない。

謝辞

本稿では、敢えてお世話になった方々のお名前には触れなかった。ともに対策に取り組んでいただいた都道府県の家畜保健衛生所の皆様、親しく意見交換をさせていただいた生産者や獣医師の方々、ならびに多くの知見や技術を継承していただいた動衛研の先輩方に感謝したい。

引用文献

- 1) 一般財団法人日本養豚協会, 2022年度 養豚農業実態調査報告書
<https://jppa.biz/zius/wp-content/uploads/2023/04/>
(2023年7月18日閲覧)
- 2) 勝田賢ら (2005) 複合感染症としての豚下痢症の実態解明. 平成17年3月動物衛生研究所研究報告, 111: 21-27.
- 3) Katsuda K, et al. (2006) Frequency of enteropathogen detection in suckling and weaned pigs with diarrhea in Japan. J Vet Diagn Invest. 18: 350-354.
- 4) Kawashima K, et al. (2003) Effects of dexamethasone on the pathogenesis of porcine circovirus type 2 infection in piglets J Comp Pathol. 129: 294-302.
- 5) 川畠健司ら (2003) わが国の豚における離乳後多臓器性発育不良症候群 (PMWS) の実態解明. 動物衛生研究所研究報告, 109: 9-16.
- 6) Kawashima K, et al. (2007) Epidemiological investigation of the prevalence and features of post-

- weaning multisystemic wasting syndrome in Japan. J Vet Diagn Invest. 19: 60-68.
- 7) 久保正法 (2000) 豚サーコウイルス 2 感染症. 豚病会報, 36 : 15-18.
- 8) Onuki A, et al. (1999) Detection of porcine circovirus from lesions of a pig with wasting disease in Japan. J Vet Med Sci. 61: 1119-1123.
- 9) Segales J, et al. (2019) Circoviruses, In: Zimmerman JJ, et al., eds. Diseases of Swine 11th ed, p473-487, John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey.