



図5. 豚丹毒菌の培養上清とブタ抗血清との免疫電気泳動像

表6. 豚丹毒菌の培養上清とブタ抗豚丹毒菌血清との免疫電気泳動でえられた各沈降線の免疫原性

免疫接種 (マウス)	1回免疫 生存数*	2回免疫 生存数
沈降線 1	0/20	0/20
" 2	0/20	0/20
" 3	0/20	0/20
" 4	6/20	13/20
" 5	0/20	0/10
" (3~5 プール)	1/20	1/20

*生存数/供試数

Rothe (1982)

体を抗原とする現行法に一層の合理性をもたらすであろう。また、感染防御抗原の大量確保によって豚丹毒菌のコンポーネントワクチンへの改良の可能性も考えられる。

引用文献

- 1) Bisgaard, M. et al. (1980). Avian Pathol., 9:355-362.
- 2) Hashimoto, K. et al. (1974). Natl. Inst. Anim. Health Q. (Jpn.), 14:113-120.
- 3) Kucsera, G. (1979). Acta Vet. Acad. Sci. Hung., 27:19-28.
- 4) Müller, H.E. (1971). Pathol. Microbiol., 37:241-248.
- 5) Müller, H.E. (1971). Z. Immunitätsforsch. Exp. Ther., 142:31-37.
- 6) Müller, H.E. (1973). Zbl. Bakt. Hyg., I Orig., A, 223:220-227.
- 7) Müller, H.E. (1973). ibid. I Orig., A, 224:212-219.
- 8) Müller, H.E. (1974). Dtsch. Med. Wochenschr., 99:1933-1940.
- 9) Müller, H.E. (1974). Med. Microbiol. Immunol., 159:301-308.
- 10) Müller, H.E. and Seidler, D. (1975). Zbl. Bakt. Hyg., I Orig., A, 230:51-58.
- 11) Müller, H.E. (1976). Zbl. Bakt. Hyg., I Orig., A, 235:106-110.
- 12) Müller, H.E. and Krasemann, C. (1976). Z. Immunitätsforsch. Exp. Ther., 15:237-241.
- 13) Müller, H.E. and Böhm, K.H. (1977). Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 90:314-316.

- 14) Nicolai, H. et al. (1978). Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 359:393-398.
- 15) Rothe, F. (1982). Arch. Exp. Veterinärmed. 36:243-253.
- 16) Rothe, F. (1982). ibid., 36:255-267.
- 17) 沢田拓士ら (1984). 第98回日本獣医学会講演要旨集, P146.
- 18) Takahashi, T. et al. (1984). Am. J. Vet. Res., 45:2115-2118.
- 19) Wood, R.L. and Harrington, R. (1978). Am. J. Vet. Res., 39:1833-1840.
- 20) Wood, R.L. (1979). Am. J. Vet. Res., 40:795-801.

(第32回日本豚病研究会講演要旨)

住所: 〒277千葉県柏市松ヶ崎字立山1,139-1

豚サイトメガロウイルス

藤崎優次郎 (北里研究所附属家畜衛生研究所)

Fujisaki, Y. (1987). Porcine cytomegalovirus. Proc. Jpn. Pig Vet. Soc., No11, 9-12.

1955年に英国のDoneは世界で初めて豚の封入体鼻炎について報告した。本病の特徴は鼻腺に好塩基性核内封入体を有する巨細胞が出現することであった⁴⁾。

その後、本病の病原体がヘルペス様ウイルスで唾液腺、涙腺、腎細尿管上皮にも病変のあることが電子顕微鏡観察によって明らかにされた^{5, 15)}。封入体鼻炎は世界各国で発生し、わが国でもその存在が報告されている^{11, 19)}。この核内封入体を有する巨細胞が豚以外の動物や人の唾液腺に見いだされたことから唾液腺ウイルス (salivary gland virus) とも呼ばれたが、正式の名称はサイトメガロウイルス (cytomegalovirus) である。従って、本病の病原ウイルスは豚サイトメガロウイルスと呼ばれる。

このウイルスは、成豚では通常不顕性感染であるが、若齢豚では致命的な全身感染、妊婦豚では胎児感染を起こす。他のヘルペスウイルスと同様に潜伏感染が成立し、血中抗体が存在していてもウイルスを排出することがある。養豚場にこのウイルスが侵入すると、胎児や新生豚の死亡、鼻炎、肺炎、発育不良などの症状を示す子豚の発生がみられる。しかし、飼養管理が良好な場合はウイルスが常在化しても目立った経済的損失はみられない。

分類

ヘルペスウイルス科 (Herpesviridae) のベータヘルペスウイルス亜科 (Betaherpesvirine) に属する。ベ-

タヘルペスウイルス亜科はサイトメガロウイルス群 (Cytomeglovirus group) と一般に呼ばれている。豚サイトメガロウイルス (Porcine cytomegalovirus: PCMV) は分類学上豚ヘルペスウイルス 2 (Suid herpesvirus 2) とも呼ばれる。人やマウスのサイトメガロウイルスは属 (genus) としての分類学上の位置が確定しているが、PCMVは属としての位置がまだ確定していない¹²⁾。

ウイルス粒子の性状

PCMVの粒子は、DNAを含むcore (45~70nm) を正20面体のcapsid (80~110nm) が包み、さらにそれをenvelope (120~150nm) が覆っている^{6, 15, 17)}。

感染細胞の核内にはcapsid (100~110nm) が認められ、細胞質小胞体内には突起 (projection) を有するenvelopeに覆われたウイルス粒子 (170~190nm) が観察される。蔗糖密度勾配平衡遠心により約50%蔗糖の部分にウイルスが集まる。この材料を電子顕微鏡で観察したところ、capsid (100~120nm) がprojection (約10nm) を有するenvelopeに覆われたウイルス粒子 (140~170nm) が認められた。塩化セシウム密度勾配平衡遠心によりウイルス粒子のBuoyant densityを測定したところ、envelopeのない粒子は1.315 g/cm³、envelopeのある粒子は1.275 g/cm³であった。しかし、いずれの粒子もcoreが消失していた¹⁴⁾。PCMVはクロロホルム及びエーテルに対して感受性である²⁾。

培養

豚肺胞マクロファージが感受性高くPCMVの分離や継代に最も適している。核内及び細胞質内封入体を有する巨細胞が出現しCPEが観察される。しかし、無染色標本ではCPEが不明瞭なので、マクロファージをギムザまたは蛍光抗体 (FA) 法で染色して観察する必要がある。

ウイルスを豚肺胞マクロファージで4代継代しても無菌豚に対する病原性は失われなかった^{13, 18)}。なお、豚肺胞マクロファージは増殖しないので、使用する場合には、PCMVも含めて、迷入ウイルスのないことを確かめねばならない。豚肺胞マクロファージ以外の培養細胞、たとえば豚精巢細胞、豚腎細胞などでは感染細胞とco-cultureしなければウイルスは増殖しない¹⁴⁾。

増殖

In vitroでのPCMVの増殖に関する報告は少なく、これまで形態学的研究の範囲にとどまっている。感染細胞は正常細胞の約6倍にも大きくなり、膨脹したミトコンドリア、小胞体、ゴルジ装置が観察される⁶⁾。通常の標本で大型の好塩基性核内封入体が形成される。

この封入体はアクリジンオレンジで緑色に染まり、他のDNAウイルスと同様に、その形成はIUDRで阻止される。核内封入体以外に細胞質内封入体は出現し、特に核膜に沿った部位に認められる。

Nucleocapsidは核内で形成され結晶状配列を示す。大型核内封入体はnucleocapsidの形成に関係している。感染後期にはnucleocapsidが細胞質内に突き出るいわゆる出芽 (budding) の像がみられる。Nucleocapsidは核膜をよぎり細胞質内に出ていくときenvelopeを獲得して成熟粒子 (virion) になる。envelopeにはprojectionがみられる。virionは細胞質の小胞体あるいは空胞の内外にみられ、増殖後期にはその結晶状配列が細胞質内にも観察される^{16, 17)}。

伝播

感染豚は鼻汁と尿からウイルスを排出するので、豚と豚との直接接触あるいは尿に汚染された環境に飼育されることによって、感受性豚は鼻腔からウイルスに感染する。感染して耐過した豚は終生キャリア (carrier) になる。

感染後ウイルスを排出しなくなった豚の肺胞マクロファージを培養するとウイルスが回収され、またこのような豚にコルチコステロイドを投与するとウイルスの再排出がみられることから、少なくとも肺胞マクロファージでウイルスの持続感染が成立しているものと考えられる⁷⁾。また、感染後56~62日に免疫抑制剤を投与したところ、鼻腔と咽頭からウイルスが再排出された。以上のことは潜伏感染の状態にある豚がストレスをうけると、ウイルス増殖の再活性化が起こる可能性を示している。なお、マウスサイトメガロウイルス感染によって宿主抵抗性が変わるので、それが持続感染成立の一因になっているのではないかと考察している報告がある¹⁰⁾。

ある養豚場の調査によると、離乳期に多数の子豚と一緒に飼育したところ、ほとんどの豚は3~8週齢で鼻腔からウイルスを排出し始め、5~8週齢で最高になった。この時期に抗体価の低下がみられたが、8~11週齢で再び抗体価が上昇し23週齢まで持続した。このことは移行抗体が感染抗体に置き代わったことを示している¹³⁾。

子豚の中には3週齢でウイルスを最も多量に排出し5週齢で排出しなくなる例がみられる。このような養豚場では死産、生後死亡、鼻炎や肺炎を伴った発育不良豚の発生がみられることが多く、このことは胎児感染または生後早期の感染が起きたことを示している³⁾。

なお、PCMVは垂直感染を起こすことが証明され

ている^{3, 9)}。

妊娠豚の鼻汁、目やに、尿、子宮頸部粘液からPCMVが分離される。また、雄豚の精巣や精巣上体からウイルスが分離されるので、種雄豚の検査のとき注意が必要である⁸⁾。

わが国の4～6週齢の野外豚の精巣を細胞培養したところ、ウイルスが高率に分離された。豚精巣細胞は動物用生ワクチンの製造やウイルス感染価測定に用いられるので十分注意する必要がある¹⁴⁾。

病原性

PCMVはin vivoでもin vitroでも宿主特異性を示す。豚のみ感受性を有し、牛、ウサギ、ハムスター、マウス、鶏胎児は感受性がない。

豚体内におけるウイルス増殖は豚の年齢により異なる。成豚では個体差や飼育環境に影響されるが、通常は不顕性感染である。

3週齢以上の子豚が感染すると、ウイルスは鼻腺、涙腺、腎細尿管上皮、肝細胞、精巣上体、食道の粘液腺、十二指腸上皮などで増殖する。一過性の“かぜ”様症状を示し、鼻汁中にウイルスが排出され、発育不良やヒネ豚になる例が多くみられる。鼻甲介や鼻腔周囲の骨組織には病変がみられないが、鼻粘膜固有層に分布する腺細胞は数倍にも大きくなり好塩基性核内封入体が観察される。*Bordetella bronchiseptica*など細菌との混合感染によって粘膜上皮細胞が剥離し、固有層には好中球やリンパ球などの浸潤がみられる。

新生豚や胎児では、RES細胞でウイルスがよく増殖し全身感染を起こす。

新生豚が感染すると、頸、胸部、下腹部の皮下織における水腫が著しく、腎やリンパ節の点状出血、肺の間質の水腫、前葉、中葉の肺炎病巣が認められる。組織学的には好塩基性の核内封入体をもった巨細胞が肺、腎、肝、副腎、リンパ節などの臓器の網内系細胞や腎の細尿管上皮に認められる。これらの組織にはFA法によりウイルス抗原が検出される。感染豚の腎細胞の初代培養を行うとCPEが出現し、核内封入体とFA抗原が認められる。

ウイルスを鼻腔内接種したところ、3週齢豚では接種後14～16日の間、新生豚では接種後5～19日の間ウイレミーが認められた。ウイレミーに続いて鼻汁、咽頭と結膜のぬぐい液からウイルスが回収され、特に鼻汁からは長期間回収された。また、ウイレミーが検出される前に鼻腔や結膜のぬぐい液からウイルスが分離されることがあるので、ウイルスの第一次感染部位は鼻腔や涙腺ではないかと考えられた⁷⁾。血液中のウイ

ルスは白血球のみに存在する。

妊娠豚が感染すると、経胎盤感染により胎児が死亡し死産を起こす。産道を通過するときに感染することもある。抗体陰性の妊娠日数31～85日の豚にウイルスを鼻腔内接種したところ、14～21日後にウイレミーの期間と一致して元気喪失、食欲不振を呈し、次いで鼻腔ぬぐい液からウイルスが回収された。接種後30～35日に胎児由来と考えられるウイルスが子宮頸部粘液から分離されたが、大部分の胎児はこの時期に死亡していた。ミイラ胎児が娩出されたが、体内感染しても死亡せずに産まれた子豚はウイルスを排出しつづけ、生後7日以内に死亡した⁹⁾。感染母豚から産まれた同腹豚の中には、分娩後7～10日頃から鼻づまり、くしゃみ、鼻汁漏出、咳などの症状を示し2～3週間以内に昏睡状態になって死亡するものもみられる。このような新生豚は全身感染しており、諸臓器に病変が認められる。

マウスサイトメガロウイルスの感染が生体の防御能力を低下させ、特にT細胞の機能を抑制することが知られているので、PCMV感染の場合に合併症の病状を悪化させる可能性が考えられる^{1, 10)}。

診断

現在、抗体測定には間接蛍光抗体法が専ら用いられている¹³⁾。アセトン固定したカバースリップ上のPCMV感染豚肺胞マクロファージに倍数希釈した血清をのせて37°C 1時間感作した後PBSで洗浄する。蛍光色素標識抗豚ガンマグロブリンを加えて30分間静置する。この方法は中和試験より少なくとも8倍以上感度がよい。抗体は感染後3週から検出され6週後最高となる¹³⁾。野外豚の抗体価は64～128倍を示すことが多い。英国で分離されたPCMVの株間には血清学的差異は認められていない。

ウイルス分離は病豚の鼻汁、咽頭や結膜のぬぐい液、あるいは鼻粘膜、肺、腎、精巣などの材料について豚肺胞マクロファージを用いて行う。培養後7～14日に核内封入体をもった巨細胞が出現する病豚の肺胞マクロファージを直接培養すると分離率が高い¹⁸⁾。

早急に診断が必要なときは、鼻粘膜、肺、腎などの組織の凍結切片を作成して間接蛍光抗体法によりウイルス抗原を証明できる。死体を4°Cに保存しておく、感染性ウイルスが証明できなくなってから24時間後の材料でもウイルス抗原を検出することができ。かき取った鼻粘膜の病理学的検査も診断に役立つ⁵⁾。組織所見で巨大化した網内系細胞や鼻粘膜の腺細胞に出現する好塩基性内封入体は本病の特徴病変として診

断的価値が高いが、オーエスキー病や豚アデノウイルス感染症など核内封入体出現する疾病との類症鑑別に注意する必要がある。

死産や異常新生豚が発生した場合には、日本脳炎、豚パルボウイルス感染症、オーエスキー病との鑑別に注意しなければならない。なお、P CMV感染の場合には流産は起こさない。

予防

P CMVは世界的に広く分布している。英国における抗体調査では養豚場の90%以上が陽性といわれている。近年わが国で行われた調査によると、肉豚の陽性率は約83%であった¹⁴⁾。P CMVが常在している豚群でも飼養管理が良好なところではそれほど問題とならない。本病に対するワクチンはない。豚群におけるP CMV感染の有無を抗体調査により把握しておくことは発生予防の上で役立つ。病豚が発生した場合は直ちに淘汰する。回復して抗体を保有している豚でもウイルスが体内で持続感染しており、移動や環境の急変あるいは繁殖豚の導入などのストレスによってウイルスが再排出され、新たな感染源となるので、飼養管理に留意し一般伝染病の予防法に準じて消毒などの励行に心掛ける。子宮切断によるSPF豚作出法によりウイルスを保有しない豚群をつくることができるが、P CMVは胎盤を通過するので、作出した子豚については少なくとも数か月間は抗体検査をする必要がある。特異的治療法はないが、鼻炎発生時には同時に起こる細菌感染に対して抗菌剤等が使用される。

参考文献

- 1) Boos, J. Wheelock, E. F. (1977). *Infect. Immun.*, **17**: 378-381.
- 2) Booth, J. C. et al. (1967). *Res. Vet. Sci.*, **8**: 338-345.
- 3) Cameron-Stephan, I. D. (1961). *Aust. Vet. J.*, **37**: 87-91.
- 4) Done, J. T. (1955). *Vet. Rec.*, **67**: 525-527.
- 5) Done, J. T. (1958). *Vet. Rec.*, **70**: 877-878.
- 6) Duncan, J. R. et al. (1965). *Am. J. Vet. Res.*, **26**: 939-946.
- 7) Edington, N. et al. (1976). *J. Hyg. (Camb.)*, **77**: 283-290.
- 8) Edington, N. et al. (1976). *J. Comp. Pathol.*, **86**: 191-202.
- 9) Edington, N. et al. (1977). *J. Hyg. (Camb.)*, **78**: 243-251.
- 10) Kelsey, D. K. et al. (1977). *Infect. Immun.*, **18**: 754-760.
- 11) Konno, S. et al. (1972). *Natl. Inst. Anim. Health Q. (Jpn.)*, **12**: 89-94.
- 12) Matthews, R. E. F. (1982). *Intervirology.*, **17**: 47-51.
- 13) Plowright, W. et al. (1976). *J. Hyg. (Camb.)*, **76**: 125-135.
- 14) Shirai, J. et al. (1985). *Jpn. J. Vet. Sci.*, **47** (in press).
- 15) Valicek, L. et al. (1970). *Arch. Gesam. Virusforsch.*, **32**: 19-30.
- 16) Valicek, L. et al. (1973). *Arch. Gsam. Virusforsch.*, **41**: 344-353.
- 17) Valicek, L. and Smid, B. (1979). *Zbl. Veterinaermed.*, **B26**: 371-381.
- 18) Watt, R. G. et al. (1973). *Res. Vet. Sci.*, **14**: 119-121.
- 19) Yoshikawa, T. and Hanada, T. (1977). *Jpn. J. Vet. Sci.*, **39**: 47-58.

(受付: 1987年6月17日)

住所: 〒277千葉県柏市松ヶ崎字立山1, 139-1