

日本豚病研究会報

ISSN 0914-3017

PROCEEDINGS OF THE JAPANESE PIG VETERINARY SOCIETY

No. 15

August 1989

日本豚病研究会・The Japanese Pig Veterinary Society

目次

第36回日本豚病研究会講演抄録

1. 豚の腸内感染症とワクチン（主に大腸菌性下痢ワクチンについて）：清水幹夫 ……	1
2. 養豚産業の現状と将来：新井 肇 ……	5
3. 群馬県における養豚生産と豚病動向： 安田弘太郎 ……	9
平成元年度定期総会記録 ……	17
会報投稿要領 ……	19
事務局より ……	19

1. 豚の腸内感染症とワクチン（主に大腸菌性下痢予防ワクチンについて）

清水幹夫（全農家畜衛生研究所）

Shimizu, M. (1989). Enteric diseases of pigs and *Escherichia coli* vaccines. Proc. Jpn. Pig Vet. Soc. 15: 1-5

はじめに

豚の下痢症は環境要因のほかに、各種の細菌、ウイルス、寄生虫などによって引き起こされ、しかもこれらの要因が複合している場合が多い（表1）。しかし、哺乳期下痢（ND）、離乳後下痢（PWD）には毒素原性大腸菌（ETEC）の関与が大きいようである。豚の大腸菌症についていくつかの優れた総説^{1, 3, 14, 16)}が出ているので、大腸菌ワクチン開発の現状と問題点について本研究会での討論のために話題を提供する。

1) 下痢子豚由来ETECの分離状況

わが国でのいくつかの事例報告はあるが、広範囲の調査は少ない。Nakazawaら¹⁵⁾の調査（1981～1984年分離株）によると、ETEC陽性率はND豚（97頭）で29.8%（検査株300株中27.5%）、PWD豚（51頭）で64.7%（検査株267株中51.3%）で、付着因子陽性率はND由来ETECで54.5%、PWD由来ETECで26.3%と

表1. 豚の下痢の主要因

		ほ乳期 (0d - 35d)	離乳期 (35d - 60d)	肥育期 (60d - 180d)
細菌	E.coli(ETEC) C.perfringens T.hydysenteriae C.mucosalis S.cholerasuis ほか	ほ乳期下痢 壊死性腸炎	離乳後下痢 豚赤痢	増殖性腸炎 サルモネラ腸炎
ウイルス	Rotavirus TGEV PEDV ほか			
寄生虫	I.sius T.sius S.ransonii ほか			
環境要因	授乳不良 栄養障害 ストレス ほか			

高率であった。K88, LT株とK99, STa株が多く、またO抗原群ではO149, O157, O8が多かったことからMorris&Sojka¹³⁾による各国分離株についての整理結果と類似しており、ETECの血清型(O抗原群)と病原因子との相関に共通性のあることを述べている。著者ら²⁰⁾のND豚(64頭)の調査(1981～1983年分離株)では、ETEC陽性率は34.4%（検査株518株中16.6%）であり、付着因子陽性ETECは57%で、K99, STa株, K88, LT株, K88, STa株が分離された。また、寒冷と飼料切り換えストレスによるPWDをくりかえし経験したので、調査(1981年)したところ、ETECと溶血性大腸菌の増加が確認された¹⁹⁾。この場合、既知付着因子(K88, K99, 987P)非保有STa株が63%と多かった。上記のNakazawaらの結果でも、PWD由来ETECには既知付着因子を保有していない割合が多かった。以上はETECの分離頻度が比較的高い成績だが、これに対して、わが国の下痢豚からのETECは少ないという成績や意見¹⁶⁾もある。これは農場や地域による差によるものと思われる。

2) 子豚の下痢予防大腸菌ワクチン

これまで報告された大腸菌ワクチンを表2のように整理した。また、日本獣医学会で報告のあった大腸菌ワクチンを表3にあげた。大部分のワクチンは、分娩前の母豚に1~2回注射し、初乳を介して子豚に免疫を賦与するものである。実験感染防御試験や野外応用試験でのND予防効果はどのワクチンでも良好のようである。著者らの経験でも、攻撃株の付着因子がワクチンと同じ型(ホモ)の場合には良い成績が得られた。

豚由来ETECの付着因子(K88ab, K88ac, K88ad, K99, 987P, F41, type1, ほか)は多様なため、多価ワクチンが必要で、しかも、既知付着因子非保有ETECも多いことから、腸管毒素のトキシイドワクチン

は有用性がある。LTやコレラゲンを成分としたワクチンの報告もある。また、STは低分子なため抗原性が弱いので、ワクチンとしてグルタルアルデヒドで重合させたり、キャリア蛋白に結合させて抗原性をもたせるなど試みられている。Houghtenら⁸⁾はLTBサブユニット中の58~83番のアミノ酸(26個)とSTp(18個のアミノ酸)とを結合した合成トキシイドワクチンをつくった。これは毒性がなく、ラットへの腹腔内投与+経口投与によって、腸管内にIgA-LT, IgA-ST抗体が産生され、LT株及びST株の攻撃をに対して防御能(ループテスト)を示している。

その他、ETEC特異バクテリオファージを経口投与された子豚や子牛では、ETEC攻撃により下痢が抑制

表2. 子豚の大腸菌性下痢予防ワクチン

1. 生菌ワクチン	E.H.Kohler et al(1975), P.A.Evans et al(1980), S.Attridge et al(1988)
2. 不活化大腸菌	Intagen(Unilever), ほか
3. F抗原保有不活化大腸菌(K88株, K99株, 987P株, type1株, ほか)	Porcimmune (Pitman-Moore), Piliguard (Schering)
4. F抗原保有不活化大腸菌/Toxoid	Litterguard (Norden), 北里研(特許), ほか
5. F抗原保有不活化大腸菌/精製F抗原	GletvaxK88 (Wellcome), ほか
6. 精製F抗原(K88, K99, 987P, type株1, ほか)	EcoBac(Salsbury), E.coli-Vac(Syntex) Ecogen(Fromm Lab), NeoGARD(Elanco), ほか
7. 精製F抗原/Toxoid	Nobi-Vac LT・K88 (Intervet), Nobi-Vac E.coli 5 (Intervet), ほか
8. Enterotoxins	Ecopig, ST (Smithkline), Cross-linked LTB-ST (F.A.Klipstein et al), コレラゲン A, B (Sandz), ほか
9. 他菌種との混合	TGE/E.coli-Vac 4 (Syntex), Solvaxin Sow-4 (Salsbury): E.coli K88, K99, 987P / B.bronchiseptica/E.rhusiopathiae/P.multocida., Porsibac 2(Foort Dodge): E.coli/P.multocida/S.choleraesuis, ほか

表3. 日本獣医学会で報告された下痢予防大腸菌ワクチン

発表者	発表年会	ワクチン成分	試作/製造
大橋ら(日本全業)	97回(1984)	K99.ST株の不活化菌体(牛用)	Norden
稲垣ら(京都微研)	99回(1985)101回(1986)	K88.LT株, K99.ST株の不活化菌体(豚用)	自家
山本ら(全農, 日ワク)	101回(1986)	K88.LT株, K99.ST株の不活化菌体(豚用)	自家
阪野ら(全農, 日ワク)	101回(1986)	K99, FY, 31A線毛保有株の不活化菌体(牛用)	Rhône-Mérieux
高橋ら(塩野義)	101回(1986)103(1987) 107回(1989)	K88, K99, 987P, Type-1線毛保有株の不活化菌体(豚用)	Schering
横山ら(ゲン・コーポ)	103回(1987)	987P抗体(鶏卵黄)(豚用)	自家
徳永ら(化血研)	105回(1988)106回(1988)	K88ab, K88ac, K99, 987P線毛成分(豚用)	自家

されている。また実験感染においてK88モノクローナル抗体は下痢の予防的効果はなかったが、治療効果はあったという報告もある。

3) 組換えDNA利用ワクチン

産生遺伝子をクローン化して産生した付着因子や腸管毒素を成分ワクチンとする試みがなされ、一部はすでに商品化されている。組換えDNA利用ワクチンの特長として、①野生株よりも多くの抗原蛋白を安定に産生できる、②非病原性株を宿主に産生するので、大量製造上の安全性が高い、③野生株（病原株）自体に起因する毒性をさけることができる、④LTBサブユニットなどの形にして毒性を減ずることができる、などがあげられる。クローン化したK99産生遺伝子やSTa産生遺伝子のプロモーターをより強力なプロモーターに置換した場合に、産生量がそれぞれ4倍²⁾、128倍¹⁸⁾になったという。組換えDNA利用により産生したK88ab,K88ac,K99及び987Pの4成分ワクチン(NeoGARD)を調製し、分娩予定前の6週と2週の妊娠豚に注射したところ、豚での感染防御試験及び野外応用試験で良い成績が得られた⁵⁾。K88ab,K88ac及びLT93成分ワクチン(Nobi-vacLT.K88)でも同様に良好な成績が得られている。

このように、付着因子や腸管毒素の高産生のために組換えDNA利用は有用であるし、これにより調製された成分ワクチンも有効のようである。

4) 免疫効果持続のためのワクチン及び接種方法

これまで述べた大腸菌ワクチンは妊娠豚に注射して、乳汁を介して子豚に免疫を賦与するものである。しかし、抗体（主にIgG）の寿命は短く、腸管感染防御により有効なのはIgA抗体である。そこで、ワクチンを経口投与することによって、O抗原及びK抗原のIgA, IgM抗体を乳汁中に接続させる試みがいくつか

おこなわれている（表4）。

ChidlowとPorter³⁾は妊娠豚にK88⁺ETEC(O149)の加熱死菌の連続経口投与と筋肉内注射（ブースター）によって、乳汁中で高いIgM-O149抗体の産生を得、良好な感染防御成績を得ている。Moon¹²⁾らは妊娠豚にK99⁺ETECの生菌を経口投与（3回）し、次の妊娠時に不活化大腸菌ワクチン(Porcimmune)を注射したところ、乳汁中に高いK99抗体価が長く持続し、感染防御にも有効であったことを報告している。そして、生菌の経口ワクチン投与は次のワクチン・ブースター効果を高めるのに重要であることを述べている。

Evansら⁴⁾の成績では、K88⁺ETEC(O8)の生菌又は加熱死菌を妊娠豚に経口投与した場合、乳汁中に高いIgA-K88抗体が持続している。また、小腸絨毛細胞へのK88株の付着阻止活性はIgGとIgMの分画には出現せずIgA分画に認められている。Attridgeら¹⁾は弱毒変異株 *Salmonella typhimurium* G30(*galE*)に、クローン化したK88abとK99の産生プラスミドの各々を導入したE263株とEX167株を生ワクチン株とした。2株の混合生菌ワクチンを分娩前7、6及び5週に経口投与したところ、乳汁中にIgA-K88, IgA-K99, IgG-K88, IgG-K99抗体が産生され、子豚ですぐれた感染防御成績を得ている。同様に弱毒化した *Salmonella typhi* 株にLTB株産生プラスミドを導入した生ワクチンの報告もある。

豚赤痢菌ワクチンについて、ライソソズ¹¹⁾は子豚（4～6週齢）に *T.hyodysenteriae* の強毒株の不活化ワクチンを筋肉内に注射（2回）し、その後弱毒株生菌ワクチンを経口投与した場合のほうが、経口プライミング+非経口ブースターより、発症予防効果がすぐれていたことを報告している。

表4. 免疫効果・持続のためのワクチン接種法の検討

報告者	ワクチン株	接種方法（ワクチン形態）	産生抗体（乳汁）	持続期間
J.W.Chidlow et al(1979)	K88ETEC (O149)	po(K)+im(K),po(L) >im(K)+im(K)	IgM-O149	
H.W.Moon et al(1988)	K99ETEC(L) Porcimmune(K)	po(L)+im(K) >im(K)+im(K)	IgA or IgM-K99?	>4週間
P.A.Evans et al(1980)	K88ETEC (O8)	po(L)>po(K)	IgA-K88,IgA-O8 IgM-O8	>35日
S.Attridge et al(1988)	S.typh.G30 (K88,K99)	po(L)	IgA-K88,IgA-K99	>5週間
R.J.Lysons (1985)	T.hyodysenteriae P18A(K) VSI(L)	(pig)im(K)+po(L) >ip(K)+po(L) >po(L)+im(K),im(K)	IgA?(intestine)	

(注) po: 経口, im: 筋肉, L: 生ワクチン, K: 不活化ワクチン

5) 大腸菌ワクチンの問題点と方策

(1)免疫効果持続の問題：上述したように、腸内感染症の予防には局所免疫（ワクチンの経口投与）を組合せたIgA産生の促進が重要であろう。腸管免疫に関して、児玉⁹⁾による優れた総説があり、共通粘膜免疫系の概念が強調されている。死菌より生菌の方が抗原性は強いが、環境汚染の点から問題である。Attridgeらの弱毒サルモネラ株は安全であることを述べているが、自然界でENT（腸管毒素）プラスミドを獲得して、下痢原性株に変わる可能性は否定できず、成分ワクチンの効果を高めるために、油性アジュバントの検討が必要であろう。現在の大腸菌ワクチンはほとんどND対策用だが、PWD対策用の大腸菌ワクチンの研究・開発も必要である。また、PWD対策に免疫グロブリン製剤を使うのも一つの方策であろう。

(2)病原因子の多様性の問題：牛のETECに比べ、豚ETECの付着因子は多様なので、これらの多価ワクチンが必要である。また、PWD豚からは既知付着因子非保有ETECや溶血性大腸菌の分離頻度が高いことから、LT-STトキソイドや溶血毒素ワクチンの検討も必要であろう。

(3)複合感染性下痢の問題：Fitzgeraldら⁵⁾が子豚の下痢原性細菌の代表的な5菌種の分離頻度をNDとPWDで調査した結果を図1に示した。複合感染率はND豚で26.3%、PWD豚で41.7%であり、特にPWD豚ではロタウイルスとETECの複合感染が20.8%と高かった。Lecceら¹⁰⁾はロタウイルスとETECとの複合感染によって子豚のPWDが重篤化することを実験的にも証明した（図2）。従って、混合ワクチンの開発も必要であろう。

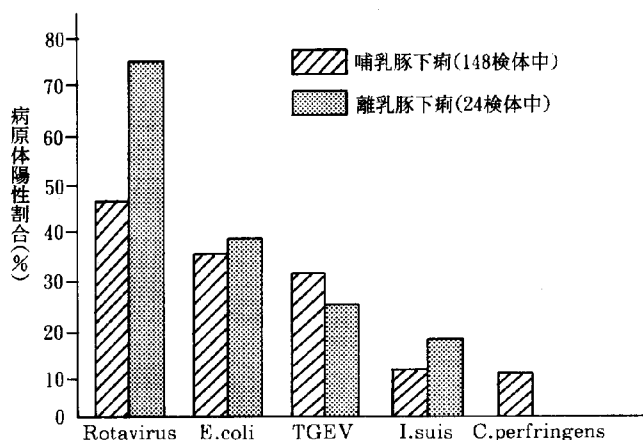


図1 哺乳豚下痢と離乳豚下痢からの病原体分離
(G.R.Fitzgeraldら, 1988)

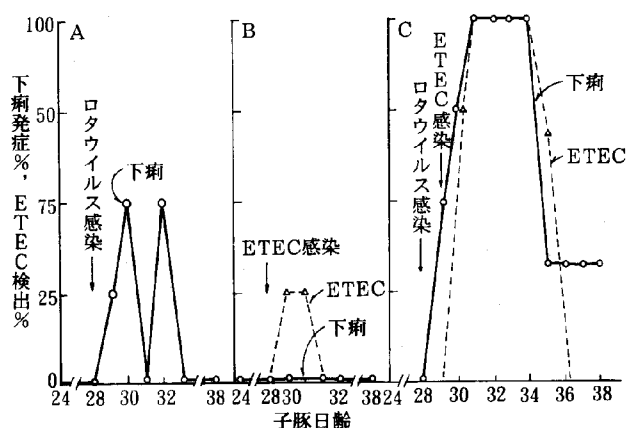


図2 ロタウイルスとETECの重感染による子豚下痢の重篤化

初乳非摂取子豚（各区4頭）の4週齢時に、(A)ロタウイルス粒子 10^9 個、(B)ETEC(O157:LT⁺, ST⁺) 10^9 個、(C)ロタウイルス粒子 10^9 個、24時間後にETEC 10^9 個をそれぞれ経口感染させた。
(Lecce, JGら, 1982)

(4)病原因子-Rプラスミドの問題：Gylesら⁷⁾はST-LT-Rプラスミド、Ohmaeら¹⁷⁾はLT-Rプラスミドの存在を下痢豚由来ETECに見出した。著者ら²¹⁾はK99-STプラスミド(68Md)とRプラスミド(51Md)を保有するND由来ETECと*E.coli* C株とのTransconjugants(被接合体)の中にK99-ST-Rプラスミド(90Md)の形成を見出した。芝ら(第104回日本獣医学会, 1988)も牛由来B41株で同様な現象を見出している。これらの病原因子-Rプラスミドが抗菌剤の多用により、選択され増加する可能性があるため、この面からも抗菌剤の適正使用が必要であろう。

主な参考文献

- 1) Attridge, S. et al. (1988). Towards a live oral vaccine against enterotoxigenic *Escherichia coli* of swine. Vaccine 6:387-389.
- 2) Baccker, P.A. et al. (1988). Expression of K99 adhesion antigen controlled by the *Escherichia coli* tryptophan operon promoter. Infect. Immun. 56:2317-2323.
- 3) Chidlow, J. W. & Porter, P. (1979). Intestinal defense of the neonatal pigs: Interrelationship of gut and mammary function providing surface immunity against colibacillosis. Vet. Rec. 104:496-500.
- 4) Evans, P.A. et al. (1980). Antibody response of the lactating sow to oral immunization with

- Escherichia coli*. Scand.J.Immunol. 11,419-429.
- 5) Fitzgerald, G.R.et al. (1988).Diarrhea in young pigs : Comparing the incidence of the five most common infectious agents. Vet.Med. 83:80-86.
 - 6) Greenwood, P.E.et al. (1988) Development and protective efficacy of a recombinant-DNA derived fimbrial vaccine against enterotoxic colibacillosis in neonatal piglets. Vaccine 6:389-392.
 - 7) Gyles,C.L.et al.(1977). Naturally occurring plasmid carrying genes for enterotoxin production and drug resistance. Science 198:198-199.
 - 8) Houghten,R.A.et al.(1985).Completely synthetic toxoid vaccine containing *Escherichia coli* heat-stable toxin and antigenic determinants of the heat-labile toxin subunit.Infect. Immun.48:735-740.
 - 9) 児玉義勝 (1985). 豚における腸管感染症の免疫. p228-237. 日本獣医学の進展, 日本獣医学会.
 - 10) Lecce,J.G.et.al. (1982). Rotavirus and hemolytic enteropathogenic *Escherichia coli* in weanling diarrhea of pigs.J.Clin.Microbiol. 16 : 715-723.
 - 11) ライソンス, R.J. (1986) . 豚赤痢用ワクチン. 特許出願公表 昭61-501323.
 - 12) Moon,H.W.et al.(1983). Effects of an orally administered live *Escherichia coli* pilus vaccine on duration of lacteal immunity to enterotoxigenic *Escherichia coli* in swine.Infect.Immun. 39 : 990-992.
 - 13) Morris, J.A. & Sojka, W.J. (1985). *Escherichia coli* as a pathogen in animals. pp47-77.The virulence of *Escherichia coli* (Sussman,M.,ed.),Academic Press,London.
 - 14) 中沢宗生 (1987) . 豚の大腸菌症. 動生協会会報, 20 : 13-20.
 - 15) Nakazawa,M.et al.(1987). Virulence factors in *Escherichia coli* isolated from piglets with neonatal and post-weaning diarrhea in Japan Vet.Microbiol. 13 : 291-300.
 - 16) 波岡茂郎 (1985). 子豚の大腸菌症. p369-375. 日本獣医学の進展, 日本獣医学会.
 - 17) Ohmae,K.et al. (1985). Naturally occurring plasmid coding for heat-labile enterotoxin production and drug resistance from *Escherichia coli* strain of porcine origin.Jpn.J.Vet. Sci. 47 : 125-128.
 - 18) Rasheed,J.K.et al.(1988). Hyperproduction of heat-stable enterotoxin(STa4)of *Escherichia coli* and analysis of the unusual electrophoretic behavior of reduced and alkylated forms of STa4. Microbiol.Path. 5 : 333-343.
 - 19) Shimizu,M.& Terashima,T.(1982). Appearance of Enterotoxigenic *Escherichia coli* in piglets with diarrhea in connection with feed changes.Microbiol.Immunol. 26:467-477.
 - 20) Shimizu,M.et al.(1984). Diarrhea in neonatal piglets caused by K99,ST enterotoxigenic *Escherichia coli*. Microbiol.Immunol. 28 : 645-649.
 - 21) Shimizu,M.et al.(1988). Linkage of K99 production and STa activity in a plasmid of an *Escherichia coli*. porcine isolate. Microbiol.Immunol. 32 : 635-639.
- 住所 : 〒285 千葉県佐倉市大蛇町47
-
- ## 2. 養豚産業の現状と将来
- 新井 肇 (東京農業大学)
- Arai,H.(1989).Situation and outlook of swine industry in Japan. Proc.Jpn.Pig Vet. Soc.15 : 5-8
- ### 1) 養豚生産構造の変化
- 戦後, わが国の養豚は, 第1期(昭21~35)の復興・普及期, 第2期(昭36~50)の多頭化・高度成長期を経て, 現在, 第3期(昭51以降)の低成長・過剰期にある。
- 飼育戸数は年率10%以上で減少する反面, 飼育頭数は3%前後の低い成長率で増加し, この結果1戸当り飼育頭数は203.8頭となり, 昭和63年にはじめて200頭を上回った。
- 高度成長期の年率2ケタ成長は, オイルショック後, 2~3%という低成長に転じ, 「作れば売れた」時代から「生産調整をしてお過剰」という厳しい時代を迎えている。拡大・成長を前提にすべてをすすめて来た時代は去り, 低成長の下で安定性と生産性を追求してゆく段階に入ったといえよう。
- 低成長化とともに注目すべきは, 養豚の地域性の変