

## 日本で分離された口蹄疫ウイルス O/JPN/2000の病原性について

坂本研一、山川 睦、菅野 徹、山添麗子

(家畜衛生試験場海外病研究部：〒187-0022 小平市上水本町6-20-1)

Sakamoto, K. et al. (2000) Pathogenesis of a foot and mouth disease virus : O/JPN/2000, isolated in Japan.

*Proc. Jpn. Pig Vet. Soc.* : 10-15

我が国において92年ぶりに口蹄疫の発生があり、2000年3月下旬から5月上旬にかけて宮崎、北海道の4農場において口蹄疫の患畜・疑似患畜が確認された。

発生のあった宮崎、北海道では、国、都道府県、市町村、関係団体、民間獣医師などとの連携・協力のもと本病の防圧に向けた懸命の努力がなされた。ワクチンを使用せずに本病の清浄化に成功したことから、本年9月下旬に国際獣疫事務局(OIE)により日本の口蹄疫清浄国への復帰が認められた。

今回の口蹄疫の発生では、豚の病性鑑定や野外における発生報告はない。しかし、動物実験で豚への接種試験を実施し、豚での病原性を確認した。

本原稿では、口蹄疫とはどのような感染症であるのかを再確認する。さらに、日本で発生した口蹄疫の説明のため、2年半前の台湾の口蹄疫について検証し、日本で認められた口蹄疫の野外での症状、その診断および動物実験から得られた成績を示す。

## 1. 口蹄疫とは

口蹄疫は、ピコルナウイルス科アフトウイルス属の口蹄疫ウイルスの感染による急性熱性伝染病である。口蹄疫ウイルスには、相互にワクチンの効かないO、A、C、Asia1、SAT1、SAT2、SAT3の7種類の血清型がある。同じ血清型でもワクチン効果が部分的にしか認められないウイルス株も存在する。臨床症状では、舌、歯齦、口腔粘膜、鼻孔粘膜、蹄間部、乳房及び乳頭における水泡形成が特徴的である。本病は伝播が速く、社会経済学的に被害が大きいことから、国際獣疫事務局により最も重要な家畜の伝染病(リストA疾病)に指定されている。

## 2. 1997年台湾での口蹄疫

### (1) 台湾の口蹄疫の特徴

1997年3月から発生している台湾の口蹄疫は、豚に特に適応した口蹄疫ウイルス株によることが、台湾家畜衛生研究所ならびにFMD World Reference Laboratory(英国)により確認された。牛や羊への自然感染は

認められていない。

臨床的には、潜伏期間は2~4日で、流行の初期においては、哺乳豚の死亡例が多数確認された。哺乳豚における致命率は、一般に50%に達すると言われる。今回の台湾での発生においても哺乳豚が全頭死亡する農場も確認された。このような哺乳豚においては多くの場合、虎斑心と呼ばれる特徴的な変性壊死病変が認められている。

発生後の疫学調査により、この初発は漁港近くの異なる5つの町の養豚場であり、発生はこの5カ所ではほぼ同時に起こきたと推測されている。

### (2) 台湾の養豚業の特徴

九州ほどの大きさのところに日本とほぼ同じぐらいの規模で台湾は豚を飼養していた。養豚業の盛んな屏東県を例に挙げると、農家戸数が6,400個、飼養頭数が240万等であった。日本でこの県と同じ大きさの神奈川県と比較した場合に、農家戸数で32倍、飼養頭数で24倍である。

台湾の家畜の飼養頭数は、1996年には牛16万5千頭、豚1,100万頭であったが、1998年には牛13万3千頭、豚654万頭となっている。九州ほどの大きさのところに日本とほぼ同じぐらいの規模で台湾は豚を飼養していた。このように飼養密度が高い養豚地帯では、口蹄疫のような伝播力の極めて強い疾病の拡がりは速く、この飼養密度の高さが被害を大きくした一つの原因である。

### (3) 台湾の最近の口蹄疫発生状況と現状

1997年3月19日、台湾で口蹄疫の発生があった。その後、この発生は台湾全土におよび、同年7月までに台湾における養豚場の4分の1に当たる6,147養豚場で発生が確認された。その間の死亡頭数と殺処分頭数は約500万頭に上った。輸入豚肉の4分の1を台湾に依存していた日本は、直ちに台湾からの偶蹄類の動物および肉類等の輸入を禁止するほか、各関連省庁と連携のもと種々の通達を出してこれに対応した。また、

国、都道府県、畜産農家が一体となり、口蹄疫防疫演習や講習会などを通じて、口蹄疫の防疫の理解とその強化を図った。発生国台湾においては、発生から2ヶ月かけて2,100万ドーズのワクチン接種を実施した。

(4) 口蹄疫発生による台湾での経済的被害

1997年3月の口蹄疫の発生から発生がほぼ終息した6月までの発生農場数は6,147農場、この間の発症頭数並びに蔓延防止のための殺処分頭数は約500万頭、総飼養頭数の約半数に達した。この1年間の養豚業への直接的被害は、450億円を上回り、製薬、飼料、日本への輸出等の関連産業の被害は、年間2,080億円(他の推測では年間4,270億円)に達する。この疾病の発生は、養豚業並びに関連企業すべてに影響をもたらした、この年の台湾のGDPはこれにより0.4%減少し、約65,000件の職が失われた。

3. 1997年以降の台湾と中国での口蹄疫の発生

1997年12月、1998年1月、4月、5月に小規模ながら再発生が認められた。1998年12月、1999年2月、4月(表1)に口蹄疫の発生が報告された。最近では、2000年10月に桃園県で発生が認められている。これら発生は、豚にきわめて親和性の高いO Taiwan株であった。

表1 1999年4月の台湾における口蹄疫の発生

地域	飼育頭数	発病頭数	死亡頭数	殺処分頭数
新竹県		12	0	12
高雄県	7	7	0	7
台南県	5	5	0	5
屏東県	4506	20	0	46

発生はすべて豚で認められた。

さらに1999年6月には中国本土に近い金門島で牛において口蹄疫の発生が認められ、同農場の牛45頭を殺処分、また、金門島全土の牛3,000頭、羊2,000頭にワクチン接種を行った。この感染牛から分離された口蹄疫ウイルスの遺伝子配列が今までの流行株(O Taiwan)と異なることから、新たなウイルス株の存在が明らかとなった。

これと同時期、台湾本島の台南県において牛の口蹄疫が発生し、200頭以上の牛を殺処分した。2000年1月にはその発生は他県にまで及んでいる。

このウイルス株が当初、台湾の在来牛である黄牛に不顕性感染を示していた。

表2 台湾における牛の口蹄疫(2000年1月)

発生場所	飼育頭数	発症頭数	死亡頭数	殺処分頭数	ワクチン接種状況
雲林県	134	64	3	131	偶蹄類に対して60万ドーズのワクチンの接種準備(台湾全土)
嘉義県	131	15	0	131	

(2) 中国本土における口蹄疫の発生

台湾で牛に感染する口蹄疫が確認される一ヶ月前の1999年5月20日に中国政府は、福建省、海南省、チベット自治区の3カ所で口蹄疫の発生があったことを国際獣疫事務局に報告している。

表3 中国における口蹄疫

発生地点	発生箇所	畜種	疑似症例数	発病数	捕殺数
1)福建省寧徳市	1	豚	58	12	70
2)海南省白沙黎族自治州	2	牛	-	8	8
3)チベット自治区	5	牛	-	60	60
日喀則地区		豚	-	1,195	1,195

4. 日本における口蹄疫

(1) 診断

初発から診断に至る間での経緯の概略を以下に示す。

平成12年3月21日	宮崎県宮崎市において民間獣医師が口蹄疫を疑う症例を発見し、所轄の家畜保健衛生所に通報
22日	口腔内および鼻腔内病変組織が海外病部に搬入。 抗原検出ELISA、補体結合(CF)試験、感受性細胞および乳のみマウス腹腔内への材料接種、RT-PCR法を実施。ELISA、CF反応は陰性 PCR法でバンドが認められ、確認同定の追加試験を実施
23日	数回にわたるPCR法でウイルスの存在がある可能性を報告
24日	抗体検出ELISA法で口蹄疫ウイルスOタイプに対する抗体を検出
25日	口蹄疫疑似患者と診断

その後臨床症状等が口蹄疫に典型的でないことから血清検査が実施された。

検査対象：半径20kmの移動制限、半径20～50kmの警戒地域および疫学関連の認められた牛

血清検査総数：47,177血清

検査方法：抗体検出 ELISA 法

検査場所：家畜衛生試験場海外病研究部特殊実験棟  
(高度封じ込め施設)

(口蹄疫緊急病性鑑定数)

3月下旬から8月上旬までの病性鑑定件数：35件

延べ約200検体の病変組織材料およびプロバング材料(咽頭拭い液)は検査の結果、初発以外は口蹄疫を疑う所見は得られていない。

血清検査及び全国血清サーベイランスで口蹄疫の患者・疑似患者が確認された地域

4月4日宮崎県高岡市

9日宮崎県高岡市

5月11日北海道本別町

(2) 野外における口蹄疫の症状

初発農場では、黒毛和牛に流涎と舌、鼻腔、歯齦部のび爛、潰瘍など症状が認められた(写真1～4)が、口蹄疫に特徴的な水疱形成や跛行は報告されていない。口蹄疫が疑われた黒毛和牛の鼻腔内び爛病変組織乳剤を材料として病性鑑定を実施した。診断法は国際標準法に準じて、補体結合(CF)反応、抗原検出ELISA法、感受性細胞(BHK, IB-RS2, MDBK, BK, BThy)への材料接種、乳のみマウスの腹腔内接種、RT-PCR法及び抗体検出ELISA法を用いた。その結果、病原診断はRT-PCR法で陽性反応が認められたが、CF反応やELISA法では陰性であった。この鼻腔内病変組織乳剤からはウイルスを分離できなかった。抗体検出ELISA



写真2



写真3



写真4



写真1

表4 野外における症状

発生場所	宮崎市	宮崎県 高岡町	高岡町	北海道 本別町
発生確認日	3/25/2000	4/3/2000	4/9/2000	5/11/2000
品種・用途	黒毛和種 肥育	黒毛和種 肉用繁殖	黒毛和種 肉用繁殖	ホルスタイン 黒毛・褐毛、F1肥育
頭数(頭)	10	9	16	705
臨床症状	鼻口腔内 び爛、潰瘍 流涎	なし	なし (流涎)	なし

法で当該牛が口蹄疫ウイルスOタイプに対する高い抗体価を有していた。

(3) ウイルス分離とその特徴

第3発生例のプロバング材料から初代牛腎臓細胞(BK)でウイルスを分離し、抗原検出ELISA法でOタイプと同定した(写真5, 6)。ウイルスのVP1領域の遺伝子の塩基配列を決定し、解析データを口蹄疫のワールドリファレンスラボである英国パーブライト研究所に送り、日本分離株がO/JPN/2000と命名された。他株との遺伝子の比較により、日本分離株O/JPN/2000が1999年に台湾で分離したウイルス株及び日本と同時期に発生した韓国の株に近縁であり、日本を含む東アジア地域において広く流行していることが判明した。

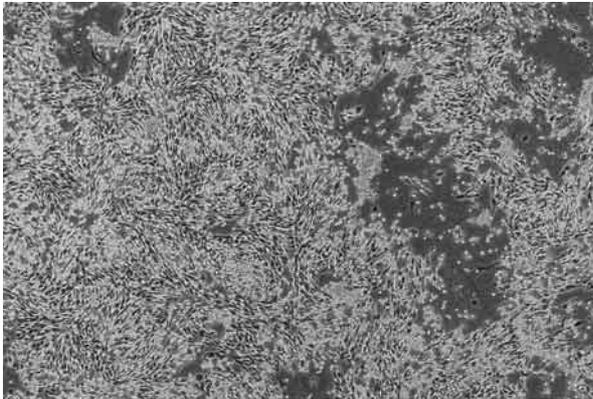


写真5



写真6 口蹄疫抗原検出ELISA

(4) 動物実験と分離ウイルスの病原性(写真7~14)

動物実験では、日本分離株O/JPN/2000 10<sup>6</sup>TCID<sub>50</sub>を黒毛和牛1頭の舌に接種し、同種動物1頭を接種後1日目から同居させた。同様に豚1頭の趾蹠部に接種し、豚2頭を同居させた。3週間臨床観察を行い、定期的に血清、血漿、鼻汁拭い液を採材し、抗体価の測定、ウイルス分離等を行った。接種牛では一過性に発熱し



写真7



写真8



写真9



写真10



写真11 接種後2日目



写真12 接種後4日目



写真13 接種後8日目



写真14 接種後10日目

たが、接種牛及び同居牛ともに臨床症状を認めなかった。接種豚には接種後2日目から蹄部に水疱を認めた。同居豚は、同居後2日目と3日目からそれぞれ同様の症状を示した。接種豚、同居豚とも発熱し、水疱形成に伴い跛行した。接種牛と接種豚、同居豚では、抗体の上昇を認めたが、同居牛では、明瞭な抗体応答は確認されなかった。接種牛、同居牛ともに鼻汁へはウイルスが排泄されていないことがRT-PCR法で確認された。接種豚及び同居豚ではウイルス感染後または同居後1日目から鼻汁中への排泄が確認された。接種牛では接種後4日目から6日目、豚では接種後または同居後1日目からそれぞれウイルス遺伝子が血漿からRT-PCR法で検出された。接種豚ではウイルス感染後2日目の血漿からウイルスが分離された。発症豚の蹄部の水疱上皮及び水疱液からBK細胞でウイルスが分離された。

日本分離株O/JPN/2000  $10^{6.5}$ TCID<sub>50</sub>を黒毛和牛2頭の舌に接種し、接種牛各1頭に牛と豚を同居させて、野外での黒毛和牛の症状の再現及び同種動物または豚への伝播の可能性を調べた。黒毛和牛ではウイルス接種後、4～5日目にび爛や潰瘍などの症状を認めた。同居黒毛和牛では、7日目にそれら症状が認められた。同居豚では臨床症状は認められなかった。黒毛和牛では、鼻汁からのウイルス排泄が、また、血液中におけるウイルスの存在もRT-PCR法でそれぞれ確認された。ELISA抗体、中和抗体もウイルス接種後4日目から上昇し、高い値を示した。同居牛でも同居後10日目から抗体価は上昇した。ウイルス接種黒毛和牛との同居豚においては、臨床症状、抗体の上昇とも認められなかったことから、感染黒毛和牛は豚への感染が成立するウイルス量を排泄していないことが考えられた。

以上のことから、O/JPN/2000株は豚には水疱を認める典型的な症状を示すが、1997年に台湾で分離された豚に親和性の高いO/TAW/1997と比較するとその病原性は低い。ホルスタインに対しては病原性はほとんど示さず、ウイルス排泄も起こっていないことが確認された。黒毛和牛では、び爛や潰瘍を口腔や鼻腔に認めるが、症状は軽度であり、病原性が弱いことが示された。病変部に水疱が形成されない今回の口蹄疫では、従来から有効な診断法と考えられていたELISA法やCF法のような抗原検出法では陰性の結果を示した。このことは病変部に十分量の抗原が存在しないためであると考えられる。