

総説

豚繁殖・呼吸障害症候群（PRRS）の現状と最新の学術的知見

高 木 道 浩 ((独)農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 ウイルス・疫学研究領域)

Takagi, M. (2014). The situation and latest scientific information
of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS).
Proc. Jpn. Pig Vet. Soc. 63, 1-5.

キーワード：豚繁殖・呼吸障害症候群（PRRS）、HP-PRRS、ウイルス、病原性

はじめに

豚繁殖・呼吸障害症候群（PRRS）は、1980年代に突如出現した新興感染症であり、PRRS ウイルス（PRRSV）感染によって引き起こされる母豚の流死産などの繁殖障害と育成肥育豚の呼吸器病を主な症状とする疾病であり、世界の養豚産業において大きな経済損害をもたらしている。PRRSV は欧州型と北米型の二つの遺伝子型に分類され、両遺伝子型内において遺伝的多様性が報告されている。これは PRRSV の遺伝子変異の頻度が高いことに起因しているが、この変異機構については明らかとなっていない。この遺伝的多様性は、農場内で PRRSV を常在化しやすくなる一因となっている。さらに、PRRSV の病態や宿主の免疫

応答など未だに不明な点が多く残されており、これらのことも PRRS 対策を困難とさせている。本稿では、PRRSV の検出法、国内の PRRSV 流行状況、国内分離株の病原性およびアジアにおける高病原性 PRRS (Highly Pathogenic PRRS: HP-PRRS) の状況を概説する。

PRRSV の検出法

最近、RT-PCR 法で検出できない PRRSV が増えていくのではないかと問い合わせが多い。(独)農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所（動衛研）や全国の家畜保健衛生所では病性鑑定マニュアルに従い、PRRS の遺伝子診断には Kono らと Christopher らの方法のいずれか、または両方法を実施しているが^{2,4)} (図1)、両方法とも問題なくウイルス遺伝子は検出されている。RT-PCR 法で検出できないと言われ

PRRSウイルスの検出について

PRRSV検出のためのRT-PCR法

1, Christopher-Hennings et al. J. Clin. Microbiol., 33: 1730-1734, 1995.
→北米型の検出

2, Kono et al J. Vet. Med. Sci. 58(10): 941-946, 1996.
→1st: 北米型および欧州型PRRSウイルスを検出
→nested PCR: 北米型と欧州型を区別

ORF5: 塩基配列の決定、分子系統樹作成

1, Andreyev et al. Arch. Virol., 142: 993-1001, 1997.

P420 (F): CCATTCTGTTGGCAATTTGA
P620 (R): GGCATATATCACTGGCG

2, Yoshii et al. J. Vet. Diagn. Invest., 16(4): 342-347, 2004.

13586F: GTGGTATTTGGCAATGTGTC
14652R: CTCCAGGTTTCTATGGCTGA

3, NIAH

Go3F: GAGACCATGAGGTGGGCAAC
Go5R: CGCCAAAAGCACCTTTTGT

図1 RT-PCR 法による PRRSV の検出および ORF5 遺伝子の増幅

ているのは、ORF5 遺伝子の塩基配列決定に用いている RT-PCR 法を診断に用いているためである。動衛研では ORF5 遺伝子の塩基配列決定に RT-PCR 法で使用しているプライマーセットを用意している (図 1)。以前はこの Andrejev らの報告したプライマーセットのみを用いていたが⁵⁾、このセットでは増幅できない検査のため Yoshii らの報告したプライマーセットを用いて実施していた⁶⁾。しかし、再び増幅しなくなり、新たなプライマーセット (NIAH) を用意して実施している。現在は Andrejev らと NIAH のプライマーセットを使用し、増幅しない場合は Yoshii らのプライマーセットで実施している。この 3 セットで増幅しない場合は、これらのプライマーを組み合わせ、RT-PCR 法、nested-PCR 法を実施し、増幅産物の塩基配列を決定している。ORF5 遺伝子は変異の頻度が高いため、作製したプライマー部位に変異が入る可能性があり、いくつかのプライマーセットを用意すべきである。また、ORF5 遺伝子を標的とする RT-PCR 法は PRRS の遺伝子診断には適さない。

国内の PRRSV 流行状況

PRRSV は遺伝子変異の頻度が高いウイルスであり、特に ORF5 遺伝子はウイルス粒子の構造上もっとも変異する部位とされ、世界中でこの遺伝子を指標とした野外分離株間の比較が行われている。1993年に国内で PRRSV が初めて分離されて以降の ORF5 遺伝子の配列データを用いて分子系統樹を作成すると 5 つの遺伝学的グループ（クラスター I、II、III、IV、V）に区別され^{3,7)}、遺伝学的に多様な株が存在している（図 2）。

1. クラスター I

このクラスターに分類されるウイルスは西日本で分離されていたが、2007年以降は九州のみで分離されている。このクラスターは北米で流行しているグループに属している⁵⁾。

2. クラスタ－Ⅱ

我が国で使用されている弱毒生ワクチン

株が属している。2000年以降、ワクチン接種をしていない農場においてクラスターⅡに属するウイルスが多く確認されている。クラスターⅡ内で近年の分離株のORF5 遺伝子はワクチン株のそれと高い相同性を示しており、今後他の遺伝子を解析して比較する必要がある。

3. クラスタ－Ⅲ

我が国の分離株では特に多くが属し、全国で確認される。このクラスターに属するウイルスの ORF5 遺伝子は分子系統樹上で近い関係にあるものは少なく、特

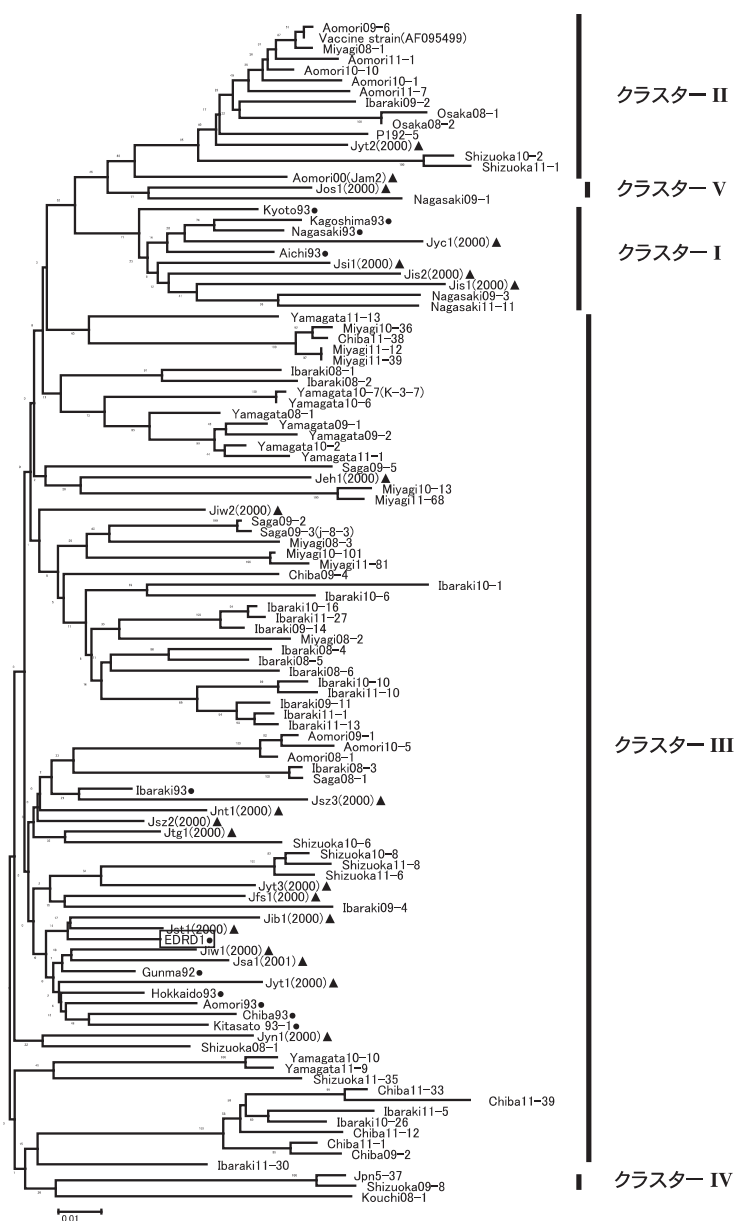


図2 日本で1993年から2012年に分離された PRRSV の ORF5 遺伝子に基づく分子系統樹解析
四角囲みは国内標準株 EDRD1、語尾に黒丸は1993年分離株、黒三角は2000年および2001年分離株、印無しは2007年以降の分離株を示す。

に2007年以降の分離株はクラスター内でも多型になってきていることが明らかとなっている。また、このクラスターが世界中で日本特有の遺伝学的グループであることが最近、報告されている⁵⁾。

4. クラスターⅣ

国内では、2008年に初めて確認された³⁾。このクラスターは北米やタイで広く分布しているウイルスから成っており、日本での分離株は2006年に米国で分離された株と高い相同性を示していることから両者は近縁な関係であると考えられ、最近新たに国内へ侵入したものと推察される。

5. クラスターⅤ

2000年に分離された1株が属しているのみであったが、2009年に分離された株が分子系統樹上で同じクラスターに分類された。しかし、両者は近い関係ではないことから今後注視していく必要がある。

以上のように、国内のPRRSVは多様化してきている上、新たに国外から侵入したことが推測される株が確認されており、さらに詳細な状況を把握し、今後のPRRSのコントロールに役立たせていく必要がある。一方、2009年に国内で初めて欧州型PRRSVが分離されたが、現在までの野外調査では欧州型PRRSVは検出されていない。しかし、全国的な調査を実施していないことから欧州型PRRSVの国内での浸潤状況は明らかではないため、今後も注視する必要がある。

国内のPRRSV分離株の病原性

PRRSVは主に扁桃あるいは肺のマクロファージに感染し、付属リンパ組織に拡がる。その後急性のウイルス血症となり、ウイルスが全身に拡散する。ウイルス血症は、ウイルス株にもよるが通常3～4週間と長

期間持続する。感染豚は、発熱、食欲不振などが見られ、母豚では流死産を主徴とする繁殖障害、離乳豚・肥育豚では呼吸障害を引き起こす。病変として間質性肺炎やリンパ節の腫脹が見られる。

国内のPRRSV標準株であるEDRD1株による感染実験は既に実施されていたが、国内の各クラスターのPRRSV分離株による感染実験は実施されておらず、その病原性については不明である。そこで、各クラスターのPRRSV分離株を用いて感染実験を実施した(表1)。実験はPRRSVおよび豚サーコウイルス2型

表1 感染実験に用いたPRRSV分離株

クラスター	株	年	ワクチン株との相同性(ORF5)
I	Nagasaki11-14	2011	90.0%
II	P192-5	2012	94.6%
III	EDRD1	1993	91.2%
	Saga09-3	2009	87.9%
	Yamagata10-7	2010	88.4%
V	Jos1	2000	90.7%

に感染歴のないコンベンショナルな豚(4～5週齢)の鼻腔内に各クラスターの分離株(1×10^5 TCID₅₀/頭)を接種(各クラスター5頭)、経時的に臨床症状の観察、血清中ウイルスの検査を実施し、接種21あるいは22日後に解剖して、病理学的検査(免疫組織化学的染色を含む)を実施した。

1. クラスターⅠ(Nagasaki11-14株)

接種豚は、ウイルス接種2日後にやや発熱(39.5℃)が認められたが、その他の臨床症状は実験期間中に観察されなかった。ウイルス接種1日後には血清中ウイルスRNAが確認され、接種5から17日後まで換算値でおよそ $10^3 \sim 10^4$ TCID₅₀/mlのウイルス血症が継続し、その後減少した(図3)。本クラスターの感染豚は、他クラスターと比較して接種17日後より個体差が著しく

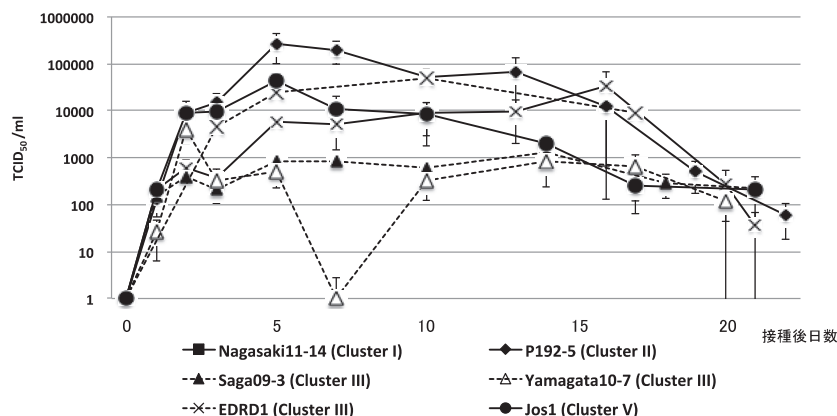


図3 各クラスターのウイルス株接種豚の血清中ウイルス量の比較
数値は5頭の平均値、バーは標準誤差を示す。

大きく、今後さらに検討する必要がある。

2. クラスターⅡ (P192-5株)

接種豚は、ウイルス接種2日後から発熱(40.0～41℃)が5日間継続したが、その他の臨床症状は認められなかった。ウイルス接種5から13日後に血清中ウイルスRNAが換算値でおよそ 10^5 TCID₅₀/mlの最大値を示し、その後は緩やかに減少した(図3)。

3. クラスターⅢ (EDRD1株)

接種豚は、ウイルス接種2、6から12日後に発熱(40.0～40.5℃)が見られたが、その他臨床症状は観察されなかった。ウイルス接種後から血清中ウイルスRNAは確認され、10日後では最大でおよそ 10^5 TCID₅₀/mlであった。

4. クラスターⅣ (Saga09-3株)

接種豚は、ウイルス接種2から4日後に発熱(40.0～40.5℃)が見られたが、その他の臨床症状は観察されなかった。ウイルス接種1日後には血清中ウイルスRNAが確認されたが、接種21日後まで換算値でおよそ $10^2 \sim 10^3$ TCID₅₀/mlであった(図3)。

5. クラスターⅤ (Yamagata10-7株)

接種豚は、ウイルス接種2日後に発熱(40.0～40.5℃)が見られたのみで、その他の臨床症状は認められなかった。ウイルス接種2日後には血清中ウイルスRNAが換算値でおよそ 10^4 TCID₅₀/mlの最大値を示したが、接種7日後にウイルスRNAが一時的に検出できない量まで減少した(図3)。しかし、その後、解剖時まで血清中ウイルスRNAは換算値でおよそ $10^2 \sim 10^3$ TCID₅₀/mlであった。

6. クラスターⅥ (Jos1株)

接種豚は、ウイルス接種2日後から発熱(40.0～40.5℃)が5日間継続したが、その他の臨床症状は実験期間中に観察されなかった。ウイルス接種1日後には血清中ウイルスRNAが確認され、接種5日後には血清中ウイルスRNAが換算値でおよそ 10^5 TCID₅₀/mlの最大値を示したが、その後は緩やかに減少した(図3)。

各クラスターの分離株を接種した全ての豚では、感染初期に一過性の発熱が認められたものの、その他は顕著な臨床症状は見られなかった。また、病理学的検査では明らかな肉眼病変は確認できず、病理組織検査でも肺病変は軽度の間質性肺炎にとどまり、肺の免疫組織化学的染色においてPRRSV抗原は検出されなかった。一方、血清中のウイルス量においては、接種後5および7日目てクラスターⅡの分離株が他の株と

比べて10倍以上高かった。また、EDRD1を含めたクラスターⅢではウイルス株間で宿主内でのウイルス増殖に違いがみられた。

既にPRRSVが浸潤している農場では、ウイルス株、宿主の免疫状態、混合感染、飼養環境や飼育管理、衛生状態などの要因により、程度は様々ではあるが臨床症状が現れる。特に、混合(二次)感染が重症化する大きな要因である。今回の感染実験においては、ウイルス血症の程度は株間によって差はあるものの、上記の要因がないために顕著な臨床症状が見られなかったものと考えられる。

アジアにおけるHP-PRRSの状況

2006年、中国において高熱、青耳、呼吸障害などの臨床症状を特徴とし、高致死率を示すHP-PRRSが発生した。原因ウイルスは北米型に分類され、非構造タンパク質であるNSP2に30個のアミノ酸の欠損が認められることが特徴である。2007年までに中国全土で発生が認められ、さらに、2007年にはロシアのイルクーツクおよびベトナムでもその発生が報告された(図4)。ベトナムにおいては3ヶ月間でおおよそ30万頭の豚が失われた。2008年にはタイ、フィリピンおよびカンボジアでも発生が報告された。ベトナムでは、2010年にも流行し、隣国であるラオスでも発生、他にモンゴルやミャンマーでも発生がみられた。2013年にはインドにおいて初めてPRRSの発生が報告され、PRRSVが北米型であることは報告されたが、HP-PRRSVであるかは不明である。しかし、発生地域はHP-PRRSの発生があったミャンマーとの国境に接している地域であり、



図4 東・東南アジアにおけるHP-PRRSの発生状況
濃色は発生国、淡色は発生が疑われている国を示す。

同地域はミャンマーより豚の輸入を行っていることから HP-PRRS であると推察されるが、今後、詳細を確認する必要がある。

おわりに

国内において、北米型 PRRSV の遺伝的多様性は年々進んでいる。過去にのみ存在していたクラスターに分類されるウイルス株が再び分離、さらに、国外より侵入したと推測されるウイルス株も分離されている。また、欧州型 PRRSV については現在までの調査により国内で広がっていないが、今後も引き続き疫学調査を行う必要がある。一方、HP-PRRS は、毎年のように東・東南アジアで流行し、さらに発生地域が拡大しており、侵入に対して警戒をする必要がある。

国内の各クラスターの分離株による感染実験では、発熱以外に顕著な臨床症状が見られず、混合感染などの要因を排除できれば臨床症状をある程度軽減することができると推察される。

PRRS は様々なことが未だに不明であるが、今後も PRRS のウイルス学的診断法、国内の PRRS 流行状況、国内分離株の病原性、HP-PRRS の状況などの研究を続け、情報を提供していきたい。

謝辞

本稿に記載された研究内容は、恒光裕博士、小林秀樹博士、川瀧健司博士、芝原友幸博士、井関博博士、黒田淑子博士、服部奈千子氏（動衛研）、奥村貴樹先生（愛知県中央家畜保健衛生所）、名部美琴先生（兵庫県姫路家畜保健衛生所）、下出圭吾先生（鳥根県家畜病性鑑定室）、谷内洋次郎先生（共立製薬）、Dr. Hlaing Min Oo (Myanmar)、Dr. Suryo Purnomo Edi (Indonesia)、Dr. Tung Nguyen (National Center for Veterinary Diagnosis, Vietnam)、Dr. Ken Inui (FAO) と共に行われました。心より感謝いたします。また、材料等を提供いただいている全国の家畜保健衛生所に感謝いたします。

引用文献

- 1) Andreyev VG, et al. (1997) Genetic variation and phylogenetic relationships of 22 porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) field strains based on sequence analysis of open reading frame 5. Arch Virol, 142: 993-1001.
- 2) Christopher HJ, et al. (1995) Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in boar semen by PCR. J Clin Microbiol, 33: 1730-1734.
- 3) Iseki H, et al. (2011) Genetic analysis of ORF5 in porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Japan. Microbiol Immunol, 55: 211-216.
- 4) Kono Y, et al. (1996) Nested PCR for detection and typing of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in pigs. J Vet Med Sci, 58: 941-946.
- 5) Shi M, et al. (2010) Phylogeny-based evolutionary, demographical, and geographical dissection of North American type 2 porcine reproductive and respiratory syndrome viruses. J Virol, 84: 8700-8711.
- 6) Yoshii M, et al. (2004) Polymerase chain reaction-based genetic typing of Japanese porcine reproductive and respiratory syndrome viruses. J Vet Diagn Invest, 16: 342-347.
- 7) Yoshii M, et al. (2005) Genetic variation and geographic distribution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Japan. Arch Virol, 150: 2313-2324.