

原著論文

徳島県で確認された離乳豚での豚痘

井口陽香¹⁾、小島久美子¹⁾、鈴木幹一郎¹⁾、山本由美子¹⁾、尾川誠次郎²⁾、芝原友幸³⁾、猪島康雄⁴⁾¹⁾徳島家畜保健衛生所、²⁾徳島家畜保健衛生所 阿南支所、³⁾国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所、⁴⁾国立大学法人 岐阜大学

Iguchi, H., Kojima, K., Suzuki, K., Yamamoto, Y., Ogawa, S., Shibahara, T. and Inoshima, Y. (2015).

Occurrence of swinepox in weaned piglets in Tokushima

Proc. Jpn. Pig Vet. Soc. 66, 26-29.

キーワード：離乳豚、豚痘、豚痘ウイルス、電子顕微鏡、徳島

要約

2014年1月、母豚数200頭規模の一貫経営養豚農家において離乳豚（40～50日齢）数頭の両耳介、頸部背側、前肢端に褐色発疹～円形黒色痂皮形成を認め、約2週間で消失する症例に遭遇した。重度な病変形成を示す2頭の耳端を材料に病性鑑定を実施した。病理組織学的検査では、有棘細胞の増生、風船様膨化および好酸性細胞質内封入体が確認された。電子顕微鏡下ではレンガ状の成熟ボックスウイルス粒子が認められた。ウイルス学的検査では、皮膚乳剤から豚痘ウイルスの遺伝子を検出したが、ウイルス分離は陰性だった。以上より豚痘と診断した。豚痘は不顕性感染が多く見過ごされることが多い疾病だが、胎内感染による死産も報告されており、経済的影響が考えられることから、衛生管理の徹底による感染経路の遮断が重要である。

背景と目的

豚痘は、ボックスウイルス科スイボックスウイルス属の豚痘ウイルスの感染によって起こる豚の皮膚病である⁵⁾。豚痘の発生は、ヨーロッパ・米国・アフリカ・オーストラリアなど世界各地で認められており、日本では1953年 Terakado⁷⁾が報告したのが最初で、それ以降は散発的に発生している^{1,8)}。近年では、鹿児島県や宮崎県の新生豚に死亡例を伴う発生の報告があった^{2,4)}。本病は、接触感染もしくはブタジラミやサシバエなどの昆虫による機械的伝播により感染し、好発部位は下腹部、内股部、腋窩部で、ブタジラミの寄生部位と一致する⁹⁾。発痘は、発赤、丘疹、水疱、膿疱、痂皮形成、落下の経過をとり、潜伏期間は研究者によ

て異なるが通常3～16日で、全経過は30～45日とされている¹⁾。発生は豚群に広範囲に広がり、日齢に関係なく発生し、発病率は高い場合と散発的な場合とがある。ブドウ球菌や大腸菌などの混合感染のない場合は致死率は低く、自然治癒するケースが多いので詳細に解析した報告は少ない。しかし、出生直後の子豚にも発生が認められる場合があり、経胎盤感染の可能性が示唆される^{3,5)}。

今回、徳島県内の養豚農家において、離乳豚の耳介、頸部および前肢に黒色円形の痂皮形成が認められ豚痘が疑われたので、見過ごされがちな豚痘に関する情報の蓄積のため病理学的及びウイルス学的解析を行った。

材料

2014年1月、徳島県内の母豚200頭規模の一貫経営農場において、40～50日齢の離乳豚の耳介に痂皮形成を認める病性鑑定の依頼があった。立ち入り検査では、同一豚房2～3頭の、両耳介に黒色痂皮形成を多数確認し、背側頸部および前肢端にも少数の病変形成を確認した。本症発見当初は耳介部付け根に米粒大の赤色発疹を確認し、小豆大～1円玉大に進行、発疹の大きさが増すにつれ赤色～暗赤色～黒色へと変化した。発症部位も、耳介から顔面、前肢、背側頸部へと拡大した。下痢、呼吸器症状は認めなかった。この農場は飼養衛生管理基準を遵守しており、豚ボルデテラ感染症不活化・パストレラ・ムルトシダトキシノイド・豚丹毒不活化混合(アジュバント加)ワクチン、大腸菌不活化・クロストリジウムトキシノイド混合ワクチン、内外寄生虫駆除薬、抗コクシジウム剤、マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症不活化ワクチン、豚サーコウイルス2型感染症不活化ワクチンを接種していた。重度な病変形成を示す2頭の耳端を切断採取し、それぞれ

No.1、2としたものを材料に、病理組織学的検査、電子顕微鏡検査、ウイルス学的検査を実施した。

方法

病理学的検査では、耳端円形黒色痂皮について病理解剖学的検査を行い、壊死脱落した痂皮を除去し、実質を10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。パラフィン包埋後薄切し定法に従い、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色標本を作成し、病理組織学的検査を行った。

電子顕微鏡検索では、皮膚における細胞質内封入体のウイルス粒子の観察を目的として、パラフィンブロックから病変部位を切り出した後、キシレンで脱パラフィン後細切した。さらにキシレン・プロピレンオキサイド (PO) 等量混合液で処理し、0.01% トルイジンブルー・無水エタノールで染色した。PO・エポキシ樹脂等量混合液とエポキシ樹脂で浸透させ、エポキシ樹脂に包埋、超薄切片作成後、酢酸ウラニル・クエン酸鉛による二重染色を行い、透過型電子顕微鏡 (H-7500、日立製作所、東京) にて観察した。

ウイルス学的検査では、No.1、2の皮膚を抗生物質添加 Eagle's MEM (日水製薬、東京) で10%乳剤とし、1,710 × g、10分間遠心後の沈渣を材料として、ウイルス遺伝子検査を実施した。ウイルス分離では、10%乳剤をCPK細胞 (動物衛生研究所より分与) 及びPK-15細胞 (ATCC) に接種し、37℃、5%炭酸ガス下で静置培養した。遺伝子検査では、材料から市販キット (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen, Hilden, Germany) にてDNAを抽出し、市販のPCRキット (Taq PCR Core Kit, Qiagen) と是枝らの豚痘ウイルス p42遺伝子を増幅するプライマー²⁾を用いPCRを実施した。PCR反応条件は、94℃ 2分で前熱変性を行い、熱変性98℃ 5秒、アニーリング50℃ 5秒、伸長反応72℃ 10秒を35サイクル後、伸長反応を72℃ 7分間実施した。得られたPCR産物は、1.5%アガロースゲルにて電気泳動し、豚痘ウイルスに特異的な遺伝子の増幅を確認した。PCR産物は、QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen) で精製後、クローニングプラスミド pTAC-2 (BioDynamics Laboratory, 東京) にクローニング、大腸菌 DH5α (Nippon Gene, 富山) に形質転換し、アンピシリン 50μg/ml を含む LB 寒天培地に塗布し37℃で一晩培養した。翌日、得られたコロニーを、T7プライマー (5'-TAA TAC GAC TCA CTA TAG G-3')、M13 Reverse プライマー (5'-CAG GAA ACA GCT ATG AC-

3')、GoTaq Green Master Mix (Promega, Madison, WI, USA) を用いてコロニー PCR を実施した。コロニー PCR でクローニングが確認できた大腸菌コロニーを、乳剤サンプル1と2についてそれぞれ4コロニーずつ選択し、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) を用いてサイクルシークエンシング反応を行った。DyeEx 2.0 Spin Kit (Qiagen) を用いて精製後、オートシークエンサー (310 Genetic Analyzer, Applied BioSystems) により、4コロニーの両鎖を解析し、塩基配列を決定した。

結果

外貌所見では、豚の両耳介に直径8~15mm、頸部背側、前肢端に直径2~5mmの境界明瞭な褐色~黒色の発疹が多数認められ、中心部が陥没し痂皮形成したものとみられた (図1)。他の部位に発疹は見られなかった。



図1 離乳豚 (豚 No.1) の外貌
耳介、前肢端に褐色~黒色痂皮形成

病理学的検査では、発疹部の表皮では細菌塊および細胞退廃物を含む痂皮形成があり、真皮では好酸球および類上皮細胞を主体とする炎症細胞の高度浸潤を認めた。また、有棘細胞の風船様膨化や好酸性の細胞質内封入体などの豚痘特有の所見が多数認められた (図2)。

透過電子顕微鏡検索では、細胞質内封入体が認められた皮膚の有棘細胞の細胞質内に、ボックスウイルスに特徴的な約250~310nm×150~200nmのレンガ状の成熟ウイルス粒子や一層の表層膜を有した未熟なウイルス粒子が観察された (図3)。

ウイルス学的検査では、CPK細胞による3代盲継代

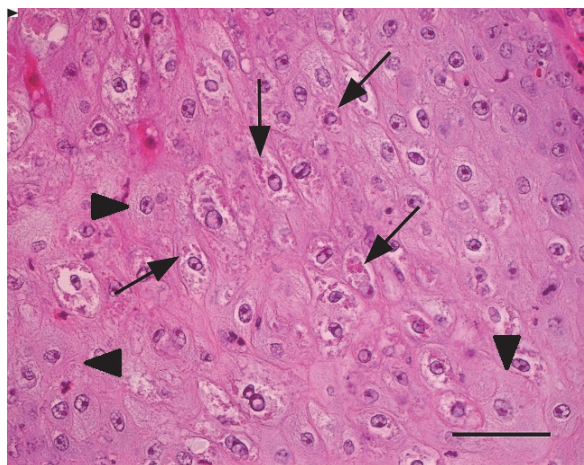


図2 皮膚(豚 No.2)のHE染色
有棘細胞の風船様膨化(矢頭)と好酸性細胞
質内封入体(矢印)(Bar = 50 μ m)

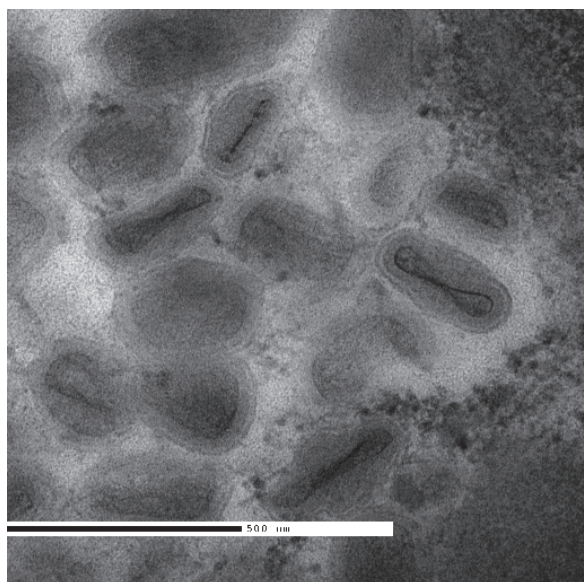


図3 皮膚(豚 No.2)の透過型電子顕微鏡像
約250~310nm×150~200nmのレンガ状の成熟ウ
イルス粒子(Bar = 500nm)

を実施したが細胞変性効果(CPE)は認められず、ウイルスは分離されなかった。遺伝子検査では、PCRによりNo.1, 2の検体から、豚痘ウイルスに特異的な880bpのPCR産物が得られた。シーケンスにより、プライマー結合部位を除く834bpの塩基配列を決定し、検出した豚痘ウイルスをTokushima14株とした(Accession No. LC016618)。Tokushima14株の塩基配列は、BLAST検索により鹿児島県で報告があった、Kagoshima11株²⁾の塩基配列(AB793292)と完全に一致していた。

考察

本症例は外貌所見、病理組織学的検査、ウイルス学

的検査の結果から、豚痘と診断した。本症例の外貌所見では、8~15mmの黒褐色痂皮が多数見られ、病理組織学的検査所見では、表皮で無構造となった細胞退廃物を含む痂皮形成が確認され、ポックスウイルスの病変経過の末期にみられる所見と一致したことから感染末期と考えられた⁶⁾。今回、Tokushima14株のp42遺伝子領域は国内で発生が報告されている豚痘ウイルスと塩基配列が完全に一致した。このことから、PCRのターゲットとしたp42遺伝子領域は国内で発生が報告されている豚痘ウイルスでは高度に保存されていることが示唆された。

国内では豚痘は散発的に発生しているが、皮膚病変が主で病勢が弱いため、ほとんどの豚は自然治癒し、重要視されていないことなどから、文献上の報告例が少ない。しかし、罹患すると成長が遅れ経済的な被害を受けたり、病変部に細菌の二次感染を受けた場合に病状が悪化することがある⁹⁾。また、一度発生した農場では常在化して再発することがあり、出荷による他農場への感染拡大が危惧される¹⁾。当該農場においても、育成豚や母豚など日齢に関係なく軽度の発症と治癒が長期間繰り返されており、ウイルスが常在している可能性が考えられた。現在豚痘に対する治療薬はないが、発症豚は健康豚から隔離し、伝播動物の駆除と併せて豚舎消毒を行い、豚舎の換気改善・密飼いを避けるなどの飼養管理改善の指導を行うことが重要である¹⁾。当該農場においては、発症豚の患部消毒、豚舎の消毒による伝播動物の駆除と発症豚の隔離飼育の指導を行ったところ、現在までに再発は認められていない。感染経路や感染時期など、未だ不明な点が多い疾病だが、経済的な損害が見逃すことのできない伝染病の一つである。引き続き豚痘の病態解明のための情報の蓄積と農場内での飼養衛生管理指導の徹底、感染拡大防止と再発阻止を行う必要がある。

謝辞

本症例の、ウイルス学的検査にご協力いただいた宮崎県宮崎家畜保健衛生所、堀内早苗先生に深謝いたします。

引用文献

- 1) 界外昇(1985)豚痘. 石井泰明ら編 豚病臨床図説 第1版, p46-52, 日本畜産振興会, 東京.
- 2) 是枝輝紀ら(2013)先天性豚痘の病理学的及びウイルス学的解析. 日獣会誌, 66:468-473.

- 3) 久保正法ら (2009) 豚痘. 豚病診断カラーアトラス－同一症例に迫る臨床と病理－, p150-151, ベネット, 東京.
- 4) 丸田哲也 (2014) 新生子豚の豚痘性皮膚炎. 日獣会誌, 67: 759-760.
- 5) 森田千春 (1999) 豚痘. 柏崎守ら編 豚病学 第4版, p213-214, 近代出版, 東京.
- 6) 大内紀章ら (1988) 岡山県下の一地区における豚痘の集団発生. 日獣会誌, 41:870-874.
- 7) Terakado Y. (1953) Studies on swine-pox, 農林省家畜衛生試験場研究報告, 26:91-93.
- 8) Thibault S, et al. (1998) Congenital swine pox: A sporadic skin disorder in nursing piglets. Swine Health Prod, 6:276-278.
- 9) 吉田勲 (1971) 豚の衛生 (12) 豚痘. 日獣会誌, 24:31-33.