



豚流行性下痢ウイルス(PEDV)感染とワクチン効果

はじめに

米国の発生を受けてか、国内でもPEDVの感染拡大が止まらない状況です。急激な感染拡大でワクチン不足が続いていることに対して、まずは心よりお詫び申し上げます。ワクチンによる予防も重要な対策の一つですが、清浄農場ではまずは「持ち込まない」防疫対策が必要で、農林水産省もHP上で「豚流行性下痢の対策の徹底について」「車両消毒に有効な消毒薬について」として情報提供・注意喚起されています。これらに基づいて防疫管理の強化が図られているにも関わらず、発生が止まらないのはそれなりの理由があると思われまます。本稿では、生産現場における発生要因を整理し提供したかったのですが、残念ながら十分にできていませんので、情報が古くならないうちにPEDV及びPEDV感染について再度整理するとともに、PEDワクチンの効果発揮に関する周辺情報を考察してみたいと思います。

PEDVの特徴

PEDVは、コロナウイルス科アルファコロナウイルス属に分類されています。アルファコロナウイルス属には、豚伝染性胃腸炎ウイルス(TGEV)や猫伝染性腹膜炎ウイルス(FIPV)、犬コロナウイルス(CCV)、ヒトコロナウイルス229Eなどがあります。コウモリ由来も名を連ねています⁽¹⁾。PEDV以外のウイルス(TGEV、HEV;後述)との交差性はないことがわかっています⁽²⁾。(TGEVはFIPV、CCVと交差性あり⁽³⁾。)

蛇足ながら、ベータコロナウイルス属には、牛コロナウイルス(BCV)、馬コロナウイルス(ECV)のほか、人の流行で話題になった(なっている)重症急性呼吸器症候群(SARS)コロナウイルス、中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルスがあり、元はコウモリ由来とされています。豚血球凝集性脳脊髄炎ウイルス(PHEV;BCV・ECVと近縁⁽¹⁾、国内では蔓延しているが発生はない)もこれに属します。ガンマコロナウイルス属には鶏伝染性気管支炎ウイルス(IBV)、デルタコロナウイルス属には、鳥類由来以外に、豚デルタコロナウイルスなどがあります⁽¹⁾。豚デルタコロナウイルスは、つい最近米国の下痢発症豚から分離されたと発表されており、PEDVほど病原性は強くないようです⁽⁴⁾。「TGEV、PEDVと交差性はない」とのことなので、検査体制を整えておくべき相手かもしれません。

PEDV感染の影響

話をPEDに戻します。「PEDV感染の影響」を一言でいえば「哺乳豚の嘔吐・下痢による死亡損失」です。生き残っても

腸管絨毛の萎縮が著しく、消化吸収に支障をきたすため増体に大きく影響します。哺乳豚以外では、死亡は少ないものの下痢を発症し、ウイルスの汚染源になるので「防疫」を考慮するとより厄介であることや、繁殖雌豚が感染すると、分娩舎の汚染源になります。また、分娩舎内で母豚が下痢したり食欲に影響して、脱水状態になったり泌乳に影響し、また、哺乳子豚が下痢をして子豚による乳房刺激が少なくなり、結果として「泌乳停止・減少」が起こると、十分な乳汁(または初乳)を飲めないことで哺乳子豚は栄養面で不利になるばかりか免疫も十分に得られないことが考えられます。特に母豚の「泌乳停止」が起これば哺乳豚の生命維持の破たんを意味するので(泌乳停止が分娩当日なら移行抗体付与にも影響するので)、事は重大です。

PEDVの感染閾値・排泄量

「感染閾値」については、昨年来の米国の大発生を受けてPEDVの基礎試験が実施されており、探す限りその成績が唯一のデータです⁽⁵⁾。PED発症子豚の腸管乳剤を10倍階段希釈して一定量を子豚に接種し、2日後に下痢発症とPEDV感染の有無(腸管粘膜の遺伝子検査)が確認されています。結論から言えば、「10⁸倍希釈液接種まで下痢発症」とのことです。これは「1億頭分の感染力をもつ」ということとなります。下痢便中のウイルス量は粘膜組織中の量より薄まるにしても、100万頭分は堅いかもかもしれません(報告ではPEDV遺伝子は10⁹倍希釈液接種まで検出されて(感染してい)そうなデータですが発症はなし)。この報告の遺伝子検出感度は不明ですが、一番感度の高い報告で「10¹TCID₅₀/mL」⁽⁶⁾といえますから、同じ感度としてウイルス感染価に単純換算すると10⁹⁻¹⁰TCID₅₀/mL相当の感染がありうるようになります。細胞馴化株では10⁹⁻¹⁰まで増殖することはありませんが、子豚の腸管内では激烈に増殖していそうだとのことです。同じ換算値で表すと、感染閾値は「10¹⁻²TCID₅₀/mL相当量」ということとなります。

一方、ウイルス排泄については、実験感染後、「初乳無摂取の初生子豚では10⁶コピー程度、14日齢子豚でも10^{5.5}コピー程度の排泄があり(いずれも感染2日目;最高値)、その後減少」⁽⁷⁾とのこと。「検体量は200 μL」なのでミリリットルに換算するとそれぞれ、10^{6.7}、10^{6.2}コピーとなります。この実験では、別にPEDV培養液(10^{3.0}TCID₅₀/0.1mL) 200 μLの遺伝子量が検査されており、その結果は10^{4.65}コピーだったそうです。この結果で感染価に換算すると(10^{4.0}TCID₅₀/mL = 10^{5.35}コピー/mLゆえ)、それぞれ10^{5.45}、10^{4.85}TCID₅₀/mL相

当量となります。測定の誤差・不確かさがありそうで「換算」そのものに意味はなさそうにも思えますが、このデータを測定の振れ幅の下限として位置づけても1mLあたり1万頭以上の感染力を有する意味にもなり、PEDV感染下痢便の感染力の強さには変わりはないと言えそうです。

PEDワクチン

まず、流行しているPEDVとワクチン株は、間接蛍光抗体法により血清学的に同一であることが確認されています⁽⁸⁾ (表1)。従って、ワクチン効果は期待できると思います。実際は分離株に対する攻撃試験で最終判断すべきですが、現在確認中であり、後日、ご紹介ができると思います。

ワクチンは母豚に免疫して、免疫母豚の乳汁を常時哺乳することで効果を発揮する乳汁免疫を応用した予防薬です。実験室内試験における免疫効果は、免疫母豚の産子が哺乳開始してから2日目に攻撃試験を実施して確認されています。その効果は、ワクチン接種群も下痢を100%発症するものの1日遅く、7日目には回復し死亡率を優位に軽減することが確認されています(ワクチン接種群3.6%、対照群70%)⁽⁹⁾。乳汁免疫は「受動免疫」であり一種の「血清療法」のようなものですが、感染・発症後の哺乳豚に対する「治療効果」は確認されていません。おそらく、ひとたび感染・発症してしまうと、前述のとおり莫大な感染量になってしまい、発病したら免疫抗体を含む乳汁を哺乳しなく(できなく)になってしまうこともあるので、「治療効果」までは期待できないかもしれない、ということが危惧されます。その結果、ワクチンが効かないように見えることがあるかもしれません。現場では、ワクチンの限界点を意識しつつ、衛生管理のクリティカルポイントも合わせて考慮した方がよさそうに思います。

蛇足ですが、牛や鶏にPEDV抗原を注射して得られた高度免疫抗体を応用した試験がありますので、その内容を紹介します。これも「受動免疫」の一種です。

- (1)牛免疫初乳⁽¹⁰⁾;牛免疫初乳は1日4時間ごとに2mLを3回、試験終了まで(10日間)投与。抗体投与開始3時間後にPEDV(10LD₅₀)を接種。牛免疫初乳投与群では下痢は見られたものの経過は短く、死亡はなかったが、抗PEDV抗体を含まない初乳投与群では4頭中3頭が下痢死亡。
- (2)鶏免疫卵黄抗体⁽¹¹⁾; (室内試験;牛乳飼育)3日齢から1週間、鶏免疫卵黄抗体2-3mLを毎日3回投与。抗体投与開始1日後にPEDV(5LD₅₀)を接種し、生残を2週間観察。対照群は17頭中10頭死亡(生残率41.2%)したのに対し、投与群は19頭中5頭の死亡(生残率73.7%)。(野外試験)PED発生農場で卵黄抗体2-4mLを1日2回投与。1週間生残頭数を確認。対照群は49頭中35頭死亡(生残率28.6%)、投与群は43頭中18頭死亡(生残率58.1%)。ということで、いずれも実験は「予防効果」を想定されているようです。実験室内試験の生残率で比較すると、高度免疫抗体を応用した試験は対照群の死亡率が100%でない条件でもあり、条件設定、試験結果を含めワクチンに軍配が上がるようです。

ワクチン効果を引き出すポイント

生産現場におけるPED発生要因をつぶさに把握できていないので、確実なことが説明できませんが、上述した事実をもとに想像できることを整理しておきたいとします。

まず、分娩舎内を清浄に保つことです。PEDVに最も感受性が高いのは生まれたばかりの哺乳豚です。分娩舎内がPEDVに汚染している状況は、初乳・乳汁を飲む前に感染してしまうリスクが高い、何らかの原因で飲めない・飲まない子豚が汚染源になってしまうリスクが高い、と考えるべきだと思います。“耳なし芳一”は耳だけで済みましたが、伝染病はそこから悪そうな(感染しそうな=免疫乳汁の哺乳量が少ない)子豚を次々に蝕んでしまうリスクがあると思います。分娩舎内を清浄に保つためには、入ってくる母豚がPEDVを持っていないこと(下痢発病歴がないこと;下痢発症豚のマーキングが必要かもしれない)、その通路が清浄であること、管理者の靴・服・手指が清浄であること(下痢発生区域やその管理者と交流がないこと)、など、有事の衛生管理を徹底できるかにかかっています。特に、分娩前の発症母豚を分娩舎に移動させなければならぬ場合が思案のしどころで、そのまま移動させてしまったら、おそらく分娩舎内で汚染が広まること必定。できれば別管理できるような体制を工夫することが被害を最小限に止めるポイントでしょう。そのためには分娩舎内に短期で余裕をもたせ、小単位で衛生管理できるよう(交差汚染が最小限になるよう)にした方がいいかもしれません。「仕切り」は動線管理を含め、ある程度有効と思われる。

二つ目が、ワクチンを用法に沿って正しく注射することです。1回では十分な免疫は得られません。2回注射して初めて免疫が成立すると思っておいてよいと思います。それでも母豚が若干下痢することがあるとも聞いていますが、ワクチンを正しく接種しておけば軽度で済み、経過も短いという話も聞いています(臨床効果を表す具体的な生産成績は未入手)。TGEの場合、1970年代の大流行時、「臨床効果は、用法の2回注射より、試行された3回注射の方がよかった」という経験に基づき、「汚染地域でのプログラム」として紹介されています⁽¹²⁾。実際、3回注射された事例の報告もあります⁽¹³⁾。PEDではその経験はありませんが、投与経路を含めワクチンネーションの改良の余地はあるのかもしれません。

最後に、ワクチンを正しく注射しても、分娩舎内で下痢が発生し(母豚の)泌乳・(子豚の)哺乳が正常でなければ十分な効果は期待できません。子豚に直接接種するワクチンではないので、PEDが発生した分娩豚房では泌乳・哺乳の問題でさらに被害を大きくしてしまいます。はじめに戻りますが、だから分娩舎内の清浄性を保つことが重要なのです。

最後に

今回の発生には学ぶべき点が山ほどありそうであり、(侵入経路を含め)今後の教訓として活かせるよう、確かな“情報”として整理しておくのが当面の課題です。防疫上の観点から訪問を自粛させて頂いている時期ではありますが、生産農場における発生の鎮静化はもとより、家畜保健衛生所や獣医師の先生方の防疫活動にわずかなりとも寄与できるよう努めて参りますので、弊所の検査担当、学術担当ともども、今後ともよろしくお願ひ致します。

表1 IFA試験による抗原性比較試験成績(単位:倍)

供試血清		供試ウイルス	
		96-P4株 ⁽¹⁾	Okinawa2013株 ⁽²⁾
No.1	Okinawa2013株感染豚1	640	640
No.2	Okinawa2013株感染豚2	640	640
No.3	96-P4株免疫豚	2560	2560
No.4	陰性対照	<20	<20

注:値は供試血清を2倍階段希釈し、特異蛍光が確認された最高希釈倍数

(1) 化血研ワクチン株の親株

(2) 沖縄県分離株

参考文献

- (1) Wooら, J. Virol., 86(7), 3995-4008, 2012
- (2) Kusanagiら, J. Vet. Med. Sci., 54(2), 313-8, 1992
- (3) Horzinekら, Infect. Immun., 37(3), 1148-55, 1982
- (4) Zhang, Virus Research, 226, 71-84, 2016
- (5) https://www.aasv.org/pedv/research/13_215.pdf
- (6) Kimら, J. Vet. Diagn. Invest., 13, 516-20, 2001
- (7) Songら, J. Virol. Methods, 133, 27-33, 2006
- (8) 農林水産省消費・安全局動物衛生課課長補佐事務連絡(平成25年12月26日)
- (9) スイムジェンTGE/PED製造販売承認申請書
- (10) Shibataら, J. Vet. Med. Sci., 63(6), 655-8, 2001
- (11) Kweonら, J. Vet. Med. Sci., 62(9), 961-4, 2000
- (12) 井上, 獣医畜産新報, No.820, 687-90, 1989
- (13) 坂中ら, 臨床獣医, 17(3), 56-8, 1999