

豚の肺炎ワクチンについて

農林水産省家畜衛生試験場 山本孝史

最近マイコプラズマ性肺炎に対するワクチンが相次いで市販され、また胸膜肺炎に対するワクチンもより有効なものを求めて研究開発が加速されているので、これらについて概説する。

マイコプラズマ性肺炎に対するワクチン

本病に対するワクチン開発の試みは、1970年代初めよりなされ、実験的には有効との報告もなされていたが、実用化されるには至らなかった。しかしここ数年研究開発は急ピッチで進み、1996年に「レスピシユア」が、1997年には「マイコバスター」が市販されるに至った。「レスピシユア」の効果として内田ら(1997)により興味深い成績が報告されている(表1, 2)。すなわち、4農場230頭の豚を用いてワクチン投与群と非投与群を比較したところ、各群とも病変の保有率に差は認められなかったが、肉眼病変の程度は軽減化されており、対照群を100とすると30~62(平均39)であったという。また、生産成績では、出荷日齢が4.0~18.8日(平均9.3日)短縮され、日枝肉重量で10.9~21.2g/頭(平均15.3g/頭)多かった。さらに胸膜肺炎病変の保有率が、4農場中2農場において低下した成績が得られている。このことは、*M. hyopneumoniae* 感染を防ぐことにより、不顕性感染した *A. pleuropneumoniae* の発症を阻止できる可能性を示唆するものと考えことができ、きわめて興味深い。同様の成績は、本ワクチンを評価したカナダの報告においても記載され

ている。すなわち、Dohooら(1996)は、同一豚群の390頭についてワクチン投与群と非投与群を比較したところ、ワクチン非接種群の胸膜炎保有率は20%であったが、ワクチン接種群では13%であり、この差は有意水準を7%として有意となる差であったという。さらに、内田らの成績と異なり、マイコプラズマ性肺炎病巣の保有率は、ワクチン非接種群で69%であったが、ワクチン接種群では36%であり、中等度から重度の病変保有率は、前者の21%に対し後者は7%であった。これらの差はいずれも有意水準0.1%で有意であった。このように市販されているマイコプラズマワクチンの効果は、マイコプラズマ病変保有率では報告によりまちまちであるが、病変の軽減化という点ではほぼ一致した成績が得られている。また、胸膜肺炎の保有率が低下するとの報告がみられることは注目に値する。

岡田ら(1997)は、*M. hyopneumoniae* を液体培養し、培養液、遠心上清、培養濾液、全菌体等から試作ワクチンを作製し、その効果を調べて次の成績を得ている。すなわち、剖検時における肺病変の程度は、遠心上清および培養濾液ワクチン接種群では非接種対照群よりも明らかに軽度であり、培養液群でも軽減される傾向が認められたが、全菌体群ではかえって重度であったとし、培養上清中には可溶性の感染防御抗原が、菌体中には病変を増強させる物質が存在するのではないかと推察している。一方、攻撃後の血中CF抗体価

豚の肺炎ワクチンについて

表1 マイコプラズマ性肺炎ワクチンレスピシュアの評価 -病変-
(内田ら, 1997)

農場	豚 群	剖検頭数	MPS 病変		App 病変 保有率
			保有率	面積率(指数)	
A	投与群	18	78	2.1 (30)	67
	対照群	15	80	7.0 (100)	67
B	投与群	40	70	2.4 (62)	75
	対照群	29	83	3.9 (100)	90
C	投与群	54	67	8.7 (48)	4
	対照群	54	96	18.2 (100)	39
D	投与群	10	100	8.0 (31)	30
	対照群	10	100	25.5 (100)	100
平均	投与群	122	79	5.3 (39)	44
	対照群	108	90	13.7 (100)	74

表2 マイコプラズマ性肺炎ワクチンレスピシュアの評価 -生産成績-
(内田ら, 1997)

農場	豚 群	供試 頭数	出荷時枝肉重量		出荷日齢		日増体(枝肉)量	
			Kg/頭	(差)	日齢	(差)	g/頭	(差)
A	投与群	18	74.5		184.4		404.0	
	対照群	15	75.0	(-0.5)	192.5	(- 8.1)	389.6	(14.4)
B	投与群	40	74.2		194.6		381.3	
	対照群	29	73.2	(1.0)	199.6	(- 5.0)	366.7	(14.6)
C	投与群	54	68.5		202.4		338.4	
	対照群	54	67.6	(0.9)	206.4	(- 4.0)	327.5	(10.9)
D	投与群	10	67.9		221.2		307.0	
	対照群	10	68.6	(-0.7)	240.0	(-18.8)	285.8	(21.2)
平均	投与群	122	71.3		200.7		357.7	
	対照群	108	71.1	(0.2)	210.0	(- 9.3)	342.4	(15.3)

は、防禦効果とは逆に全菌体ワクチンで最も高く、次いで培養液、遠心上清と培養濾液の順であり、攻撃後それぞれさらに上昇したが、血中抗体価と病変の程度には相関関係は認められなかった。しかし、気管洗浄液中の抗体価は、遠心上清および培養濾液ワクチン接種群において攻撃後急速に上昇し、この局所抗体価と病変形成抑制能とはよく対応していたという。この培養濾液ワクチンがマイコバスターである(表3)。

ところで、*P. multocida*は豚の呼吸器における代表的な日和見菌であり、あらゆる呼吸器病を増悪する。実際、マイコプラズマ性肺炎、胸膜肺炎のいずれにおいても重篤例には本菌が関与している割合が最も高い。しかし本菌は、先行する何らかの微生物感染が、本菌の増殖に好適な環境(病変)を作った場合のみ定着・増殖し、病変を進行させるのであり、単独では定着すらできない。この点に関し、Amassら(1994)は、興味ある

表3 実験感染に対するマイコバスターの有効性 (岡田ら, 1997)

試験区	攻撃菌*	肺病変	
		保有率	病変値 (%)
ワクチン	<i>Mhp</i> + <i>Pm</i>	2/4	0.95
	<i>Mhp</i> alone	2/4	1.24
対 照	<i>Mhp</i> + <i>Pm</i>	4/4	10.02
	<i>Mhp</i> alone	4/4	9.64
	<i>Pm</i> alone	0/6	0

*: *Mhp*; *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pm*; *Pasteurella multocida*

表4 *Mycoplasma hyopneumoniae* 感染と *Pasteurella multocida* 感染の関係 (Amass et al. 1994)

試験区*	病変部の割合 (%)	細気管支周囲の リンパ濾胞の肥大	肺肺炎
A	0.05 ^{a**}	7.00 ^a	4.38 ^{a,b,c}
B	0.16 ^a	6.75 ^a	2.88 ^{a,c}
C	14.49 ^b	10.50 ^a	7.63 ^b
D	0.27 ^a	3.50 ^b	2.75 ^c

*: A; 3週齢時に *M. hyopneumoniae* を感染させた。
 B; 3, 8週齢時にマイコプラズマワクチンを接種し, 12週齢時に *M. hyopneumoniae* を感染させた。
 C; 12週齢時に *M. hyopneumoniae* を感染させた。
 D; 無処置。各群とも16週齢時に *P. multocida* で攻撃した。
 **: 異なった文字間で有意差あり (p < 0.05)。

報告をしている(表4)。すなわち, *M. hyopneumoniae* 感染後回復した豚(試験区A), マイコプラズマワクチンを接種した後 *M. hyopneumoniae* で攻撃した豚(試験区B), *M. hyopneumoniae* で攻撃した豚(試験区C)等を *P. multocida* で攻撃したところ, *P. multocida* が定着し病変が増悪されたのは, *M. hyopneumoniae* で攻撃したあと *P. multocida* で攻撃された群のみであったという。このことは, *M. hyopneumoniae* が感染したあと回復した豚や, *M. hyopneumoniae* で攻撃される前にワクチンで免疫された豚は, マイ

コプラズマ性肺炎に特徴的な組織病変が認められるにもかかわらず, この程度の病変では *P. multocida* の定着には不十分であることを意味している。以上の成績は, マイコプラズマワクチンにより, 病変が軽減化する理由の一端を説明しているものと考えられる。

胸膜肺炎に対するワクチン

胸膜肺炎の予防には, 各種のワクチンが試みられている。わが国で現在市販されているのは全菌体不活化ワクチンであるが, 欧州では後述のサブ

豚の肺炎ワクチンについて

ユニットワクチンも市販されている。また本菌の各血清型間の交差免疫に関しこれまで調べられた範囲では、概ね各血清型に特異的であり交差免疫は成立していない。例外的に3, 6, 8型間には共通抗原性が認められており、特に8型で免疫した場合にはホモ以外に3, 6型菌の攻撃に対しても耐過したことが報告されている。一方最近血清型の多様性に対応する必要上、菌の産生する溶血素等の細胞毒や菌の外膜蛋白の病原因子としての解析やその感染防御抗原としての役割に興味を持たれている。現在細胞毒としては3種類が同定されており、細胞毒1および2は、溶血毒であり、1は血清型1, 5, 9, 11型菌により、2は10型を除くすべての血清型菌により産生される。また細胞毒3は、溶血性を示さずマクロファージに対し毒性を示し、血清型2, 3, 4, 6, 8型菌により産生される [Boschら (1992)]。これらの細胞毒は、培養上清中に含まれることから、培養上清を濃縮したワクチンが試みられている。すなわち、Kampら (1992) は、血清型3および9型菌の培養上清を混合したワクチンを試作し、1, 3, 5, 7, 8, 9型菌で攻撃したところ、すべての血清型において病変の軽減化がみとめられたが、特に3型菌の攻撃に対しては全く病変は認められなかったことを報告している。また、Boschら (1992) は、精製した細胞毒と外膜蛋白を様々な組み合わせでワクチンとし、血清型1および2で攻撃し、防御には外膜蛋白が重要であるとしている。一方Thackerら (1992) は、5型菌の超音波処理菌体と培養上清を混合したワクチンは、ホモである5型菌の攻撃はきわめてよく防御したが、1型菌の攻撃に対しては十分な防御効果の得られなかったことを報告している。しかしながら

超音波処理菌体単味でも、ホモの攻撃に対しては、市販ワクチンよりはるかに優れた防御効果が得られたことを記載している。わが国においてもOishiら (1995) は、1, 2, 5型の液体培養上清の限外濾過20倍濃縮液を混合し、オイルアジュバントを添加した試作ワクチンは、各型の攻撃に対し臨床症状を示さず、肺病変の形成もほとんど阻止したことを報告している。さらに、Hagaら (1997) は、モノクローナル抗体を用いた免疫アフィニティークロマトグラフィーにより精製した1型菌の細胞毒1および2をリン酸アルミニウムゲルに吸着させた試作ワクチンは、1型菌の攻撃にきわめて有効であったことを報告している。このように胸膜肺炎のワクチン開発は、細胞毒を多量に含む培養上清を用いたサブユニット化を目指しているのが現在の開発方向であり、わが国においても培養上清中の細胞毒を部分精製した全血清型あるいは1, 2, 5型対応の新しいワクチンが許可申請されている。

さらに次世代ワクチンとして無莢膜変異株を用いた生ワクチンが研究されている。本菌の莢膜は、細胞毒や内毒素のようにそれ自身が病原性を示すものではないが、生体の喰作用やオプソニン化に抵抗して定着・増殖を促す働きをする。したがって無莢膜変異株は肺に定着・増殖できず結果的に病原性を発揮することができない。そこでInzanaら (1993) は、エチルメタンスルホン酸処理により莢膜のみを脱落させた1および5型の変異株を作出してその防御能について検討した。この変異株は鼻腔内に接種しても定着できず、肺病変もほとんど作らないが、皮下に接種すると1週間以上生存可能で細胞毒1および2に対する抗体も上昇させる。そこで、これらの無莢膜

変異株を皮下に2から3週間隔で2回接種後、2週後に50%致死量の10倍の菌量で攻撃したところ、対照豚は市販ワクチン接種豚も含め全頭死亡したが、免疫豚は全頭生残し、肺病変の程度も軽微であったという。また、1, 5型間で交叉防御も認められている。このように無莢膜変異株は、安全で防御効果も高く、また莢膜に対する抗体ができないことから感染抗体との識別も可能であり、さらにサブユニットワクチンよりもはるかに安価であるとしている。

豚の肺炎対策は、近代養豚における最も困難な問題であり、画一的にマニュアル化することはできない。豚群ごとに問題点を摘出し、ワクチンや薬剤投与プログラムの策定のみならず、一般衛生管理も含めて総合的に対処することが要求されるが、マイコプラズマ性肺炎に対するワクチンが市販され、対応策の幅が広がったことは喜ばしい。

参考文献

- [1] Amass, S. F., Clark, L. k., Alstine, W. G. et al. (1994). Interaction of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Pasteurella multocida* infections in swine. JAVMA., 204, 102-107.
- [2] Bosch, J. F., Jongenelen, I. M. C. A. Pubben, A. N. B., Vugt, F. G. A., & Segers, R. P. A. M. (1992): Protection induced by a trivalent *A. pleuropneumoniae* subunit vaccine. Proc. 12th IPVS Congr. Hague, 194.
- [3] Dohoo, I. R. and Montgomery, M. E. (1996). A field trial to evaluate a *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine: Effects on lung lesions and growth rates in swine. Can. Vet. J., 37, 299-302.
- [4] Haga, Y., Ogino, S., Ohashi, S., et al. (1997). Protective efficacy of an affinity-purified hemolysin vaccine against experimental swine pleuropneumonia. J. Vet. Med. Sci., 59, 115-120.
- [5] Inzana, T. J., Todd, J. and Veit, H. P. (1993). Safety, stability, and efficacy of non-capsulated mutants of *Actinobacillus pleuropneumoniae* for use in live vaccines. Infec. Immun., 61, 1682-1686. 4
- [6] Kamp, E. M. et al. (1992): *Actinobacillus pleuropneumoniae* cytolysins: Cross protective effect of a crude cytolysin vaccine. Proc. 12th IPVS Congr. Hague, 209.
- [7] Oisi, E., Kitajima, T., Koyama, Y. et al. Protective effect of the combined vaccine prepared from cell-free-antigen of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 1, 2 and 5 in pigs. J. Vet. Med. Sci., 57, 1125-1128.
- [8] 岡田宗典, 阪野哲也, 佐藤静夫 (1997)。培養上清を利用した *Mycoplasma hyopneumoniae* 不活化ワクチンの開発。日本マイコプラズマ学会第24回講演要旨集, 28.
- [9] Thacker, B. J., Mulks, M. H., & Jolie, R. A. V. (1992): Development of improved *Actinobacillus pleuropneumoniae* vaccines. Proc. 12th IPVS Congr. Hague, 193.
- [10] 内田幸治, 福井真夫, 三高 正, 塚口 誠 (1997)。レスピシユア (*Mycoplasma hyopneumoniae* 不活化ワクチン) の野外応用。日本マイコプラズマ学会第24回講演要旨集, 27.