

豚の浮腫病 —古くて新しい病気—

動物衛生研究所 小林 秀 樹

はじめに

—浮腫病の最少定義—

豚の浮腫病 (ED) は主に志賀毒素 2e 型 (Stx2e) を産生する志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) が種々の定着因子により小腸, 特に回腸に定着増殖し, 産生された Stx2e が腸管から吸収され全身性の血栓形成を伴う微小血管およびリンパ管の循環障害をおこしたものである。

豚の ED としき最初の報告は 1938 年アイルランドの Shanks らによるものであろう。第二次世界大戦直後から ED はヨーロッパ各国, アメリカで流行し, 1950 年代にはわが国でも多発するようになった。これを契機に ED の研究がはじまった。初期の研究成果は次のようなものである。

- ① 病豚の腸管内容物遠心上清を豚に静注すると ED が再現される。
- ② 病豚の腸管から溶血性大腸菌が高頻度に分離される。
- ③ 溶血性大腸菌の凍結融解物を静注すると ED が再現される。
- ④ 分離した溶血性大腸菌株を経口投与しても必ずしも ED をおこさない。

以後 1980 年代まで原因毒素や定着因子等に関しては不明のままであった。1983 年に Konowalchuk らが人由来大腸菌株から Vero 細胞に毒性を示す毒素を発見し, Vero 毒素 (VT) と命名した。同時に, この VT と類似する ED の毒素が同一のも

のであることを明らかにした。これ以降, 毒素の精製, 蛋白や遺伝子解析などの研究が急速に進展した。現在, VT は免疫学的あるいは構成蛋白の違い等により約 10 種類のサブタイプに分類されている。また, VT は志賀赤痢菌の産生する志賀毒素 (Stx) と高い相同性を示すことから, VT を Stx であるとし, VT とはいわず Stx と呼ぶことが国際的に決められた。

ED 起因大腸菌の腸管内定着因子に関しては 1968 年に Smith & Halls が豚の個体により ED に感受性と抵抗性があることを報告したが, 1990 年の Bertschinger らによる線毛性定着因子の発見まで進展はなかった。2003 年にはフィンランドの Smeds らが ED の定着因子としてその定着機構が最後まで未解明であった F18 線毛によるそれを解析した。このことにより ED 起因大腸菌の定着機構の全容が解明された。また, Stx2e の構造や生理活性は解明されているので ED の発生に関してはほぼ全てが解明されたといってもよいだろう。唯一未解明の部分は, 腸管内に放出された Stx2e が如何にして腸管の小血管まで移行するかということである。

浮腫病を惹起する毒素

病豚の小腸粘膜から分離される ED 起病性大腸菌株のほとんどが Stx2e を産生する。まれに Stx2 を産生する株もあるが, ED の原因毒素は Stx2e といえる。一方, Stx2e 産生の大腸菌株の多くが

α -ヘモリシンを産生し、血液寒天培地上に明瞭な溶血環（いわゆる β 溶血環）をつくる（図1）。しかしながら α -ヘモリシンを産生しない株も同様にEDを起こすこと等から、 α -ヘモリシンはEDに関与しないと考えられている。Stx2e、 α -ヘモリシンならびに後述するF18線毛をコードする各遺伝子は染色体あるいはプラスミド上の比較的近い位置に存在することが多く、これらはセットで発現するようである。

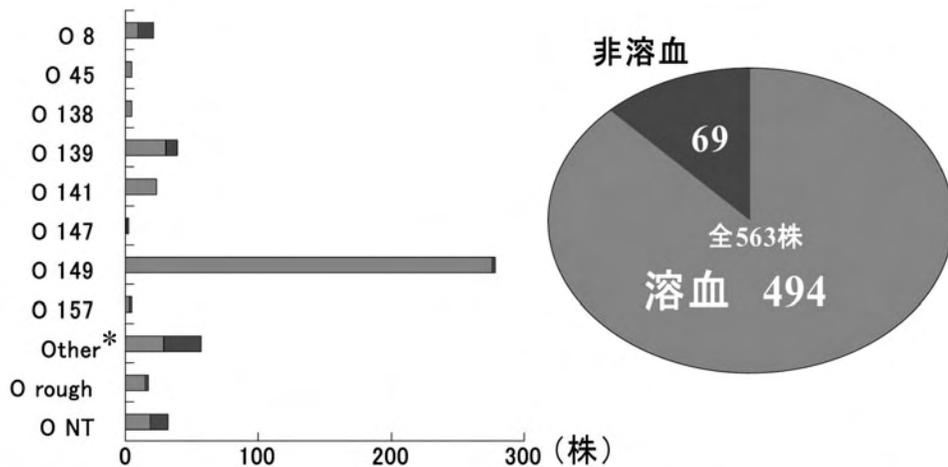
Stx2eとEDの因果関係を明確にしたのはMacLeodら(1991)で、離乳豚にStx2eを6 ng/kg静注したところED症状は15時間で発現し、34時間後に全頭死亡した。病理組織像も自然発生のもとの同一の所見を呈し、全身の浮腫や消化管及び小脳の出血もみられた。症状の発現までの時間はStx2eの投与量に比例して短くなることも証明した。また、ED発現初期に抗毒素血清を静注す

ると毒素が中和されて病気が回復することも知られている。しかし、この毒素を腸管内に大量に投与してもEDは再現できないことから、Stx2eが腸管の小血管に吸収されるには他に何らかの因子が必要であり、このことがED全容解明の最後の研究課題となっている。

小腸に定着する因子

大腸菌は名前の由来のとおり大腸（結腸）に定着して叢を成している。腸管への定着は大腸菌の周囲にある普通線毛により結腸の粘膜上皮細胞と結着している。最近の研究により、この線毛は画一的なものではなく幾つもの系統に分かれ、大半のものは宿主特異性があることが示唆されている。

一方、病原性大腸菌は大腸菌が定着しない小腸に付着することができる。主に回腸に定着することが多く、消化吸収の阻害や毒素を産生して回腸



*Other: 3,4,6,16,18,29,51,59,66,77,79,83,99,101,116,117,128,142,158,174, 175(各1株)、15,20,21,26,78,88,115(各2株)、7,32,98(各3株)、121(4株)、2(2株)

図1 PWDおよびED由来大腸菌株検査（溶血性とO群血清型）

(Kai et al. WHO, *E. coli* Center, 2002)

や結腸からその毒素を吸収させる。これらの病原性大腸菌が小腸に定着するための因子として主要なものにF線毛とインチミンがある。ED起因大腸菌株の多くはF線毛で小腸粘膜上皮の刷子縁に付着する。カナダでの調査によると、ED起因大腸菌分離株のほとんどがF線毛によるものであり、インチミンによるものは3%であった。デンマークでの分離株のそれも同様であった。

F線毛は各動物で複数種類知られている。一般的にF線毛は宿主特異性が強いがF4線毛(かつてK88と呼ばれていたもの)のように豚や牛など複数種の動物に付着可能なものもある。豚の病原性大腸菌株が保有するF線毛のうち主なものはF4(K88), F5(K99), F6(987P), F18, F41などがあり、国内のED大腸菌株のほとんどがF18を保有している。

F18はF18abとF18acの2つのサブタイプがある。いずれも互いに高い遺伝子相同性と同様の抗原性状を有する。F18abはかつてF107と呼ばれた線毛で、O139の大腸菌株が保有している場合が多く、一方、F18acはかつて8813あるいは2134Pと呼ばれた線毛でO138, O141あるいはO157(いわゆる人の腸管出血性大腸菌O157ではない)などが保有している場合が多い。これらのサブタイプ間の特性や診断法に大きな差異はないと考えられるので、本稿ではこれらをまとめてF18として述べる。

F18は通常線毛の数倍の長さを保有し、その先端抗原は小腸粘膜上皮にあるマルトースバイディングプロテイン受容体(MBPR)と結合する。主に回腸部に最も多く付着する。MBPRは小腸のいたる箇所にあるが、食餌中に含まれるマルトースの量が少なくなる小腸の下部、つまり回腸部に

はレセプターの空きが多いためF18保有大腸菌が付着しやすいのかもしれない。したがって、ED大腸菌の検査はこの部の粘膜搔爬材料を用いることが望ましい。新生豚および哺乳豚でF18線毛保有大腸菌によるEDの発生がないのは、MBPRが小腸粘膜上皮に存在しないからである。粘膜上皮は皮膚と同様、成長とともに外側から剥がれ、MBPRを発現した粘膜上皮は3~4週齢で出現する。また、豚の品種によっては生涯MBPRを発現しないものがあり、その豚はF18保有大腸菌によるEDが起こらない。一方、高栄養飼料を多く給餌する農場は粗飼料を多めに与えるそれよりもEDの発生率が高いとか、発育良好な子豚ほどEDになりやすいといった経験則があるが、その理由は解明されていない。発育良好な豚は餌の摂取も多く、しかも飼料が高栄養であれば定着した大腸菌にとっても「良いエサ」となっているのかもしれない。

(インチミンによる定着については割愛)

○ 群血清型

大腸菌のO群血清型はO1~O181(O31, O47, O67, O72, O93, O94およびO122の7血清型は欠落)まで174種類が認定されている。これらの血清型は菌体抗原と呼ばれ、構成するリポポリサッカライド(リポ多糖体:LPS)によって区別されている。LPSの毒性はどの血清型のものでもほぼ同様であり、O26やO157のものが特別強いわけではない。これらの血清型のうちED起因大腸菌株はO2, O8, O20, O26, O45, O75, O78, O86, O111, O115, O121, O138, O139, O141, O145, O147等が多く、現在わが国ではO139が最も多く、次いでO141, O20やO26およびO138が分

離されている。世界的にみると O138, O139 および O141 が多く分離されている。血清型を決定することの重要性は各種病原遺伝子の診断技術の進歩によって薄らいではきているものの、ED 起因大腸菌の疫学情報として必要な項目であろう。

免疫とワクチン

経口的に子豚に摂取された ED 起因大腸菌は F18 線毛により回腸に付着する。付着した大腸菌株は増殖する際に毒素 Stx2e を産生し、この毒素は腸管から吸収され血流を介し全身に移行し浮腫を起こす。したがって、ED から免れるためには F18 線毛の付着を阻止するか、毒素を中和する必要がある。線毛による付着の阻止は線毛先端抗原を特異抗体で中和することにより粘膜上皮細胞の MBPR と結合できなくなることで可能である。哺乳期にみられる F4 や F6 線毛等保有大腸菌症では、母豚の免疫により初乳を介してこれらの線毛先端抗原を中和する移行抗体の供与が可能である。しかし、F18 線毛が付着する日齢において、抗 F18 移行抗体は先端抗原を中和できるレベルにはない。ED 危険期において人工的に F18 中和抗体を経口投与するワクチンがあるが、卵黄抗体を利用したコストのかかるもので一般的な養豚農家が利用するのは簡単ではないだろう。豚がこの抗原に対する抗体を腸管粘膜から能動的に産生、分泌できるようなワクチンの開発が望まれている。このような粘膜免疫の研究は獣医学に限らず他分野でも盛んに行われており、呼吸器系の感染症は研究レベルで良好な成績が多数報告されている。一方、腸管感染症のそれは呼吸器系のそれようにはいかない傾向にあるように思われる。腸管内は大量の水分と有機物が絶えず流動しているこ

と、腸内細菌叢の存在や消化吸收のための生理的環境変化が顕著であるからである。

腸管粘膜上皮への付着は阻止できなくとも毒素を中和すれば ED の発症が阻止できることは冒頭に述べたとおりである。Stx2e を精製しグルタルアルデヒドでトキシド化した 5mg の抗原で豚を免疫すると ED の防御効果があったというものや、精製 Stx2e で高度免疫した動物の血清 20ml を静脈内投与するという血清療法などの研究報告がある。前者は 1 頭あたり 5 mg という大量のトキシド、後者は免疫血清 20 ml が必要であることからいずれも農場での使用は経済的に不可能である。しかしながら、これらの知見を生かし、有効なワクチン抗原の開発に向けた研究が遂行されている。自家免疫行為は法律上禁止されているが、農場内で発生した ED 耐過豚の血清を大量に備蓄しておく、研究および臨床面に役立つかもしれない。

診断と治療

ED の診断は肉眼所見で十分であるが、大腸菌性かどうかは菌分離と分離菌株の特異性状を明らかにする必要がある。毒素である Stx2e 抗原検査を、市販の志賀毒素検出用逆受け身ラテックス凝集反応キットで実施するのは誤りである。このキットはヒトの志賀毒素産生性大腸菌の Stx1 と Stx2 を検査するもので、Stx2e は反応しない場合が多い。従来から豚の培養細胞を用いて Stx2e の産生を調べていたが、PCR により Stx2e の遺伝子を検出するのが迅速で費用もかからない。Stx2e 遺伝子保有株のほぼ全てが Stx2e を産生することから、PCR は ED 診断ツールとして非常に有効である。また、付着因子である F18 線毛遺伝子も PCR

で簡単に検出できる。これらの PCR を組み合わせたマルチプレックス PCR も可能である。

採材は剖検時に小腸（十二指腸，空腸，回腸の3カ所）粘膜の搔爬スワブとするのが望ましいが，回盲口から小腸側に20cm位の所を5cm切り出したものだけでもかまわない。また，この部位に近縁の腸管膜リンパ節も有望である。これらのスワブについて血液寒天培地およびマッコンキー寒天培地に塗抹，37℃で一夜培養する。血液寒天培地上で溶血環を示した大腸菌様菌株を釣菌し，マッコンキー寒天培地に継代し大腸菌を簡易確認後PCR等でED起因性大腸菌の性状を確認する。血液寒天培地に溶血環が確認されなかった場合は，マッコンキー寒天培地の密集落をPCRテンプレートとして同様にPCRでスクリーニングする。ED起因大腸菌株は血清型や薬剤感受性試験に供試するとともに保存する。

死亡豚からの採材では腸内細菌の遊走がおこり，当該病原体の分離が困難になることが多い。また，ED発症時点で剖検，採材しても当該病原体が必ずしも分離されるわけではない。このことは，付着大腸菌が産生したStx2eが腸管から吸収され，発病に至るまで1週間から10日を要するため，この間に回腸付着した大腸菌が粘膜上皮と一緒に剥がれたり，能動免疫によって排除されたりするからである。ED発症の7～10日前位にその個体が水様下痢をすることがある。このケースではED起因大腸菌が同時にエンテロトキシンも産生している可能性が高い。エンテロトキシンによる下痢の誘発はすぐに起こるのでStx2eによる浮腫病との時間差が生じるわけである。世界的にみると，F18線毛保有大腸菌のうち，Stx2eのみを産生する株とStx2eおよびエンテロトキシンの両方

を産生する株の割合はほぼ半々となっている。しかしながら，この割合は地域によって偏りもみられ，例えばベトナム南部では両方の毒素を産生する株が圧倒的に多い。短期的にみれば流行もある可能性もある。わが国ではO138によるEDがよくみられたが，ここ数年O139によるものが多く，O138はそれほど多くはない。ちなみに最近多く分離されるO139の多くがF18線毛保有大腸菌でStx2eおよびエンテロトキシンの両方を産生する株である。

ED発症豚の治療は困難である。経過も甚急性であり，上述した抗毒素血清療法でも応用しない限り治療策はない。毒素の組織への移行後であるので，腸管内の原因菌を退治する抗菌剤の投与は既に手遅れである。また，同群あるいは近傍の未発症豚への抗菌剤投与で注意する点は投与薬剤の性質を十分に考慮することである。殺菌効果の高い薬剤は細菌の菌体を破壊することが多く，菌体内に貯留していた各種毒素を一過性に放出する恐れがある。したがって，腸管吸収性の低い静菌作用のある薬剤を選択する必要がある。また，多剤耐性菌も増えているので分離株の薬剤感受性試験は必ず行う必要がある。

腸内細菌叢と競合排除

ED起因大腸菌は豚の腸内細菌叢のひとつとして母豚の結腸にいるものと考えられる。結腸内にいる場合は，おそらく他の腸内細菌と競合かつ調和しながら通常線毛による定着で細々暮らしているのだろう。母豚の結腸の中では少数派で存在するわけであるが，分娩直前の大きなストレスで免疫機能に異常が生じることにより，回腸にも付着可能なこの大腸菌は優位となる。分娩時の排便と

ともに ED 起因大腸菌の排出量も増加するだろう。この糞便を体表につけたまま子豚はやがて離乳し、やがて粘膜上皮に MBPR が発現され、移行抗体も無くなる頃に定着、増殖を開始する。したがって、糞便検査による母豚の ED 起因大腸菌のスクリーニング適期は分娩時であろう。それでも、結腸を通過した糞便に含まれる大腸菌の大部分は腸内細菌叢大腸菌株であるので、ED 起因大腸菌を検出するのは容易でない。

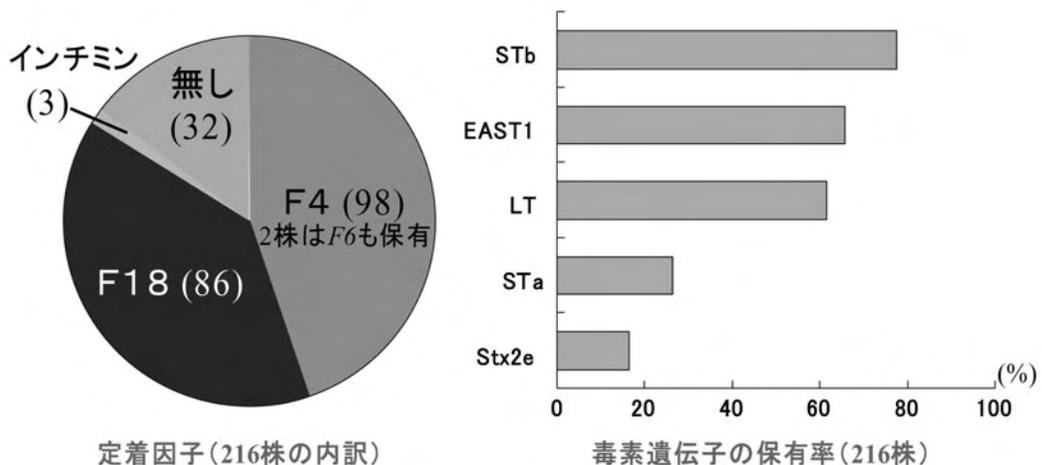
母豚の結腸の中において少数派で存在する時期あるいは MBPR が発現される前までに多量の無害な腸内細菌を経口投与して悪玉菌の割合を低減化させる方法が近年用いられている。いわゆる生菌製剤投与による悪玉菌の競合排除である。この方法は ED 起因大腸菌を排除する目的としても理に適っている。問題は、相手が通性嫌気性腸内細菌として最も一般的な細菌だけに根気強く投与を続ける必要がある。しかも、投与する生菌剤の種

類や給餌の栄養条件、豚の健康状態などを考えなければならぬ。即効性は無いので投与の是非の評価は農場ごと、しかも幾つかの生菌剤について長期間観察しなければならないのが難点である。

補説) 豚の大腸菌性 (離乳後) 下痢について

豚の大腸菌性下痢は新生時から哺乳期にみられる早発性大腸菌下痢と、離乳後2週間以内あるいは肥育豚舎に移動した直後にみられる大腸菌性離乳後下痢 (PWD) に分けることができる。早発性下痢の起因大腸菌も F 線毛で小腸に付着し、LT や ST 等のエンテロトキシンを産生する (図2)。哺乳豚は抵抗力が低いので致死率が高い。初乳免疫が可能なので分娩 1~2ヶ月前の母豚を免疫することにより子豚の発症を防ぐことが可能である。本菌の F 線毛は F4, F5, F6 (以前は 987P と呼ばれていた) および F41 のいずれかである。

一方、PWD の起因大腸菌は F4 もしくは F18 保



*定着因子と毒素遺伝子何れも陰性 28株(12.8%)

図2 PWD および ED 由来大腸菌株検査 (定着因子 & 毒素遺伝子)

(Kai et al. WHO, E. coli Center, 2002)

表1 PWD および ED 由来大腸菌株 O 群と病原遺伝子の組み合わせ

(Kai et al. WHO, *E. coli* Center, 2002)

① O149 : F4 : EAST1, STb, LT	(30.6%)
② O149 : F4 : EAST1, STa, STb, LT	(12.3%)
③ O149 : F18 : EAST1, STb, LT	(4.6%)
④ O138 : F18 : STa, STb	(5.9%)
⑤ O138 : F18 : Stx2e, EAST1, STb, LT	(5.9%)
⑥ O139 : F18 : Stx2e	(6.4%)
	(65.7%)

F18 : O32, O59, O121, O175 でも確認

Stx2e : O121, O138, O139, O141, O147, O-rough で確認

*O8 : F4 の組み合わせは東アジア (日本, 韓国等) には比較的多い (5%前後)

有大腸菌でエンテロトキシン産生性のものがほとんどである。前者の F4 線毛を保有する大腸菌株は O149 であることが多く (図 1, 表 1), 小腸への付着も十二指腸から結腸までの広範囲に及ぶこと

が多い。早発性大腸菌下痢の起因菌にもなりうる。一方, 後者のうち Stx2e 産生性のものは離乳後下痢の後に ED が惹起される可能性が高い。