

豚繁殖・呼吸障害症候群：感染とワクチン

高木道浩

(農研機構 動物衛生研究所 ウイルス・疫学研究領域)

〒305-0586 茨城県つくば市観音台3-1-5)

Takagi M. (2015). Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): PRRS virus infection and Vaccine

All about SWINE 47, 2-9

はじめに

豚繁殖・呼吸障害症候群 (porcine reproductive and respiratory syndrome: PRRS) は、PRRS ウイルス感染による育成・肥育豚の呼吸器病や母豚に流産などの繁殖障害を主徴とする伝染性疾病である。国際獣疫事務局 (OIE) のリスト疾病にあげられており、我が国においても家畜伝染病予防法に基づく届出伝染病に指定されている。

PRRS ウイルスは、アルテリウイルス科アルテリウイルス属に属し、エンベロープを有する球形ウイルスである。PRRS ウイルスのゲノムは、約 15 kb のプラス一本鎖 RNA であり、7つのサブジェノミックな mRNAs に翻訳され、8個のオープンリーディングフレーム (open reading frame; ORF) となる。本ウイルスは、遺伝子の相同性がおよそ 60%と遺伝学的に異なる北米型と欧州型の二つに分類され、それぞれの遺伝子型においても多様な系統が存在し、高頻度な遺伝子の変異が特徴の一つである。特に、変異が起りやすい ORF5 は世界的に遺伝子系統解析の指標として用いられている。

PRRS ウイルスは、主に単球由来細胞 (肺胞マ

クロファージ、リンパ組織のマクロファージなど) に感染し、複製する。ウイルスが全身に拡散して、ウイルス血症が長期間持続することが、農場で常在化する要因と考えられている。初発生農場では、はじめに一部の豚に発熱、食欲不振、元気消失、呼吸器症状、耳のチアノーゼなどが認められる。続いて、母豚における流産や死産を主徴とする繁殖障害、新生豚の死亡や呼吸器病が多く見られるようになる。様々な発育段階の豚で呼吸器病が見られるが、子豚では呼吸器病が慢性化することが多い。PRRS ウイルスが常在する農場における疾病の発生規模や症状の程度は農場によって異なり、浸潤するウイルス株、宿主の免疫状態、混合感染、飼養環境や飼育管理、衛生状態などが関連する。特に、呼吸器病の多い農場では、二次感染によって重症化する傾向にあり、豚呼吸器複合感染症 (Porcine respiratory disease complex: PRDC) となる。

PRRS は世界の養豚業に大きな経済被害を与えている疾病であり、PRRS ウイルスが常在化している国々では、60～80%の農場が PRRS ウイルス陽性であると推測される。我が国における

PRRSによる被害額は年間約280億円と試算されている¹⁾。これまでに様々な研究報告や臨床経験などによって衛生対策の一助となる有効な手段も存在している。しかし、PRRSウイルスの変異機構、病態、免疫など未だに不明な点が多く残されているため、発生の制御は極めて困難である。

本稿では国内におけるPRRSウイルス流行株の最新情報、PRRSウイルスに対する免疫反応、ワクチンについて概説する。

国内におけるPRRSウイルス流行株の遺伝学的多様性

PRRSは家畜伝染病予防法により届出伝染病に指定され、届出が義務づけられている。近年の家畜衛生統計によると、PRRSの発生件数は年により差はあるが発生戸数および頭数ともに多くはない。豚呼吸器病において、PRRSウイルスと他の病原体が関与するPRDCの例が多く、PRRSと特定することが難しいためであると考えられる。我が国では1993年に初めて北米型のウイルスが分離され²⁾、1992～1993年および2000～2001年の両期間で全国各地の呼吸器症状を示す病豚から採材された検体より北米型のウイルスのみが分離され、これらは遺伝的に多様であることが示されている³⁾。また、最近のPRRSウイルスの流行株を調査するため、家畜保健衛生所の協力のもと分離あるいは検出されたPRRSウイルスのORF5を解析し、ウイルスの遺伝学的多様性について過去の報告と比較した。

1) 北米型PRRSウイルス

1992～1993年(▲)に分離された11株、2000～2001年(■)に分離された21株、2008～

2012年(●)に得られた陽性検体108株(2008年：17株、2009年：26株、2010年18株、2011年：25株、2012年：22株)、既報の北米型に属する海外の分離株9株および2種のワクチン株のORF5遺伝子を用いてMEGA6により分子系統樹を作成し、以前に報告した³⁾5つのクラスター(I～V)に分類した。2008～2012年に検出されたウイルス遺伝子はすべて北米型に分類され、3検体がクラスターI、15検体がクラスターII、76検体がクラスターIII、12検体がクラスターIV、クラスターVおよび分類されなかった検体がそれぞれ1検体であった⁴⁾(図)。

これまでの調査でクラスターIIIに最も多くのウイルスが分類されている。クラスターIIIは、現在まで我が国のみのグループであり、主流の遺伝子系統として全国的に拡散が見られている。さらに、このクラスターIIIに分類された検体を比較すると、Js2、Js3、Jiw2、Jnt1とJyn1の5検体を除く1992～1993年と2000～2001年の株は全て同じ遺伝子系統であるが、2008年以降に検出された検体はその遺伝子系統とは別の枝に分かれてとなっている。このことから、全国各地で流行株の交代、あるいは多様化が起きていると考えられる。

日本で使用されている弱毒生ワクチンのMLV RespPRRS/Repro ワクチン株を含むクラスターIIに分類された株は、1992～1993年には認められなかったが、1998年にMLV RespPRRS/Repro ワクチンが販売された以降の2000～2001年ではJam2株およびJyt2株、2008年以降では15株が検出された。我が国で確認されたこれらウイルスが野外株由来のものであるか、あるいはワクチン株から派生したものであるかは不明である。しか

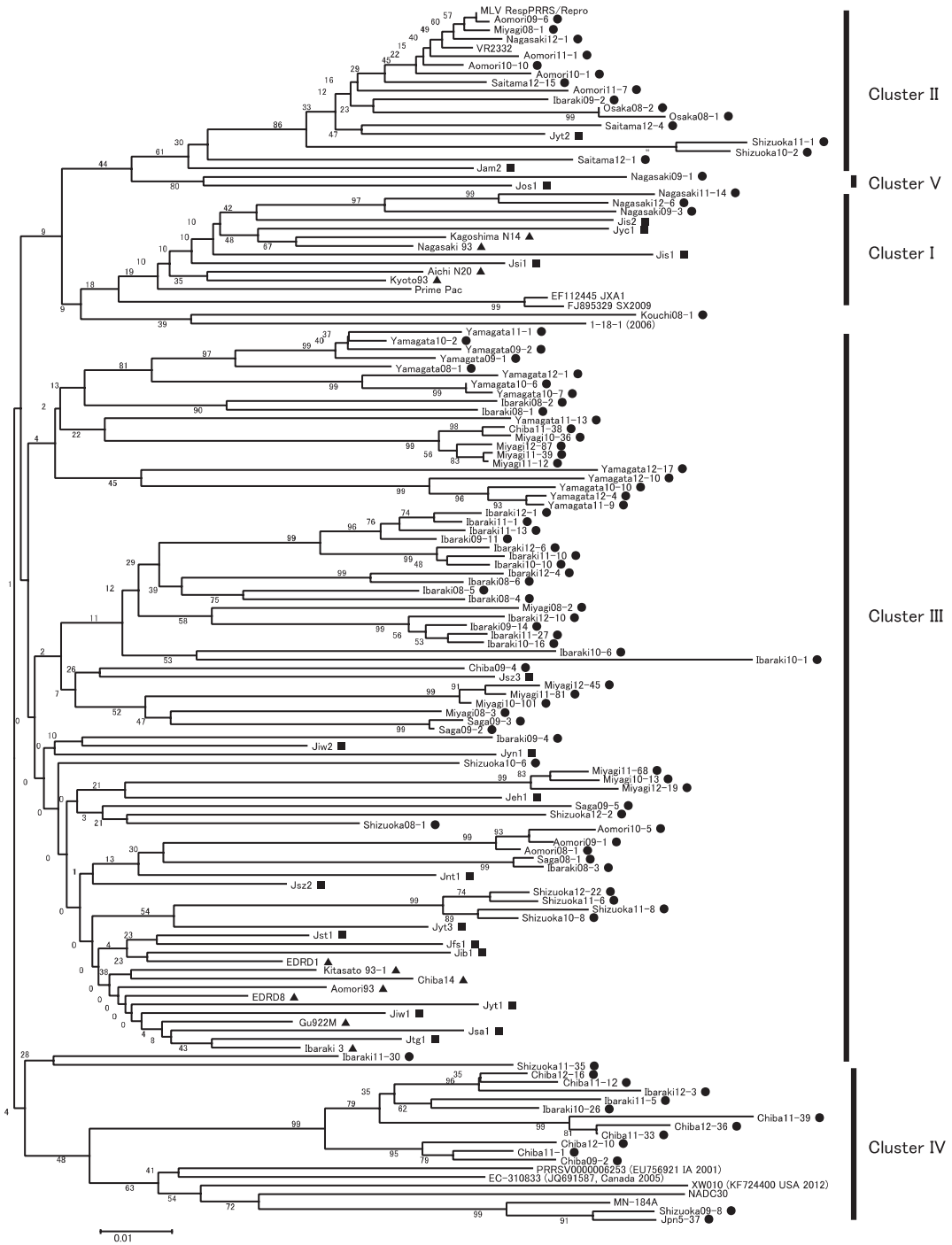


図 国内の北米型 PRRS ウイルス ORF5 遺伝子の基づく分子系統樹
 1992 ~ 1993 年のウイルス株 (▲), 2000 ~ 2001 年のウイルス株 (■), 2008 年以降のウイルス株 (●)

し、これらはワクチン未接種の材料からも検出されていることから病原性を有していると考えられる。このようなワクチン株に類似したウイルスが病豚から分離される事例が諸外国で報告されており⁵⁾、日本でも注視していく必要がある。

クラスター I には 1992～1993 年の Kagoshima N14 株, Nagasaki 93 株, Aichi N20 株, Kyoto 93 株, 2000～2001 年の Jyc1 株 (山口県), Jis1 および Jis2 株 (石川県), Jsi1 株 (滋賀県) が属しており、本クラスターに分類されるウイルスは西日本でのみ確認されている³⁾。2008 年以降では西日本の検体が少なかったが長崎県の検体 (2009, 2011, 2012 年にそれぞれ 1 株) で検出された。

クラスター V に分類される株は Jos1 株 (2000～2001 年) のみであったが、2008 年以降の調査では本クラスターに分類される株が長崎県において 1 株が検出された。本クラスターは我が国においてマイナーなクラスターであると考えられる。また、Kochi08-1 はいずれのクラスターにも分類されなかったが、四国における PRRS ウイルスの遺伝子情報が少ないことから、今後調査を進めていく必要がある。さらに、2008 年の検体より初めてクラスター IV に分類されるウイルス Jpn5-37 株が分離された。北米において、多くの野外分離株がこのクラスター IV に分類されている。この Jpn5-37 株の ORF5 遺伝子は、MN184A 株に対して 97.1% と非常に高い相同性を示した。この MN184A 株は、2001 年にアメリカで猛威を振るった病原性が非常に強い株として知られている。2009 年以降、この Jpn5-37 株が属している遺伝子系統と近縁であるウイルス株が検出されているが、既報の配列と類似しているものはない。今後、北米由来株との関連性や病原性の検討、浸潤

状況の把握が必要である。

2) 欧州型 PRRS ウイルス

2007～2008 年の調査において、Kono ら⁶⁾ の方法により 1 農場から欧州型 PRRS ウイルスを検出し、病豚の肺乳剤よりウイルスを分離した。分離された欧州型 PRRS ウイルスの ORF5 および ORF7 の塩基配列はそれぞれアメリカで 2006～07 年および 2002 年に報告された欧州型 PRRS ウイルスと極めて高い相同性を示した。よって、本ウイルスがアメリカより侵入した可能性が考えられた。また、2008 年以降の調査において国内では欧州型 PRRS ウイルスの浸潤は確認されておらず、検出された農場に限定的なものとなっている。

PRRS ウイルスに対する免疫反応

1) PRRS ウイルスに対する抗体による免疫反応

PRRS ウイルス感染後 7 から 10 日目には抗体が確認される。しかし、感染初期に産出される抗体には PRRS ウイルス感染を防御する役割はない。また、ウイルスに対する中和活性も有していない⁷⁾。中和抗体が出現するのは感染後 28 日目以降である。感染初期に検出される抗体は PRRS ウイルスのヌクレオカプシド (N) タンパク質、続いてメンブレン (M) タンパク質、エンベロープタンパク質 GP5 である。これらの抗体は感染後 1 週間で現れ、数ヶ月間抗体が持続している。しかし、これらの抗体は防御に関与していない⁸⁾。一方、中和抗体は感染防御の役割を保つことが報告されているが、中和抗体の出現が遅いために PRRS ウイルスの防御や排除するための役割がないという考え方もされている。総体的には、血中

の中和抗体価 (1:8 以上) が必要である, 同じ遺伝子系統の PRRS ウイルスに対して産生された中和抗体は同じ遺伝子系統のウイルスに対しては効果が認められるが, 異なる遺伝子系統のウイルスには認められないとされている。

マクロファージに感染するウイルスはウイルス表面抗原と複合する免疫グロブリンの Fc 領域に結合する細胞表面のレセプターを介して細胞に侵入することが知られている。PRRS ウイルスはマクロファージ向性のウイルスであり, PRRS ウイルスにおいても *in vivo* および *in vitro* でウイルスに対する感染力の抗体依存性増大 (antibody-dependent enhancement: ADE) があることが報告された^{9,10)}。これらの報告では, 感染初期で中和活性を有していない PRRS ウイルス抗体が PRRS ウイルスに起因する病気を増悪させることを示唆している。しかし, *in vitro* においては, ウイルス株間やマクロファージの違いによって ADE に違いがあることや *in vivo* においては受身移入による試験であり, 感染初期の血清中には炎症性因子が多く含まれていることから ADE が PRRS ウイルスの病因に強く関与していないと現在では考えられている¹¹⁾。

2) PRRS ウイルスに対する T 細胞の特徴

PRRS ウイルス感染後およそ 3 から 7 日目で血中の CD4+ T 細胞が一過性に減少するが, 7 から 14 日目には普通のレベルに回復する。また, CD8+ T 細胞は感染後 4 から 5 週目に減少する。リンパ系組織においては CD8+ T 細胞および CD4+CD8+ T 細胞が, 肺では CD8+ T 細胞が増加している^{12,13)}。しかし, CD8+ T 細胞はウイルス抗原に対する特異的な反応を有していない。また, 末梢血中には

PRRS ウイルス特異的なインターフェロンガンマ分泌 T 細胞が出現するが, 個体差や時間的な違いがあること, また, リンパ系組織内においてこの T 細胞の頻度とウイルス血症の間には相関性がないことが報告されている¹⁴⁾。

3) PRRS ウイルスに対する自然免疫

PRRS ウイルスは, タイプ 1 インターフェロンや炎症性サイトカインの分泌及び T 細胞への抗原提示によって, 受動免疫反応を効果的に誘導するマクロファージに感染する。その結果, PRRS ウイルス感染によるタイプ 1 インターフェロンや炎症性サイトカインの産生に特徴付けられる自然免疫反応が見られないことが報告されている¹⁵⁾。PRRS ウイルスの非構造タンパク質がタイプ 1 インターフェロンのシグナル経路を干渉して, その産生が抑制されるためである。そのため, タイプ 1 インターフェロンによる抗ウイルス活性が低下し, 感染したマクロファージでウイルスが増殖し, マクロファージの死滅につながる。

ワクチン

世界では北米型および欧州型 PRRS ウイルスに対するワクチンが数多く市販されている。我が国では北米型 PRRS ウイルス弱毒生ワクチンのみが市販されている。このワクチンは弱毒化したウイルスを用いるため生体内での増殖能を有している。一般的には, 免疫の持続期間が長く, 細胞性および液性免疫が誘導されるといった利点がある一方, 受動免疫 (移行抗体) による影響が大きく, 病原性の復帰や病原体の迷入の可能性といった欠点もある。一方, 不活化されたウイルスを用いたものが不活化ワクチンである。不活化処理をした

ウイルスは生体内での増殖能を失っているが、免疫原性は保持している。一般的に不活化ワクチンは免疫の持続期間が短いため繰り返して接種を行う必要がある。また、液性免疫のみが誘導される。さらに、抗原量を多く必要とされることから過敏症を引き起こすこともある。米国においては、ウイルスのエンベロープタンパク質 GP5 および M タンパク質を AAV (アデノ随伴ウイルス) ベクターを用いて発現させたサブユニットワクチン (成分ワクチンなどと言われる) が販売されている。

1) 同じ遺伝子系統のウイルスに対する防御効果

欧州型および北米型 PRRS ウイルスを弱毒化したウイルス株を予防接種あるいは野外病原性株を接種した豚は、同じウイルスあるいは同じ遺伝子系統のウイルスを用いた攻撃試験で感染防御することが数多く報告されている。したがって、市販されている弱毒生ワクチンと同じ遺伝子系統 (クラスター II) のウイルスに対するワクチン効果は期待できる。しかしながら、同じウイルスあるいは同じ遺伝子系統のウイルスに対する感染防御の効果は血中などのウイルス検出により判断されているため、組織内に持続感染している可能性は否定できない。

2) 異なる遺伝子系統のウイルスに対する防御効果

弱毒化した PRRS ウイルスや弱毒生ワクチンで免疫された豚に対して異なる遺伝子系統のウイルスによる攻撃試験を実施した場合、同じ系統による防御効果とは異なり、ウイルス感染や増殖、臨床症状が確認される。しかし、ウイルス増殖は早期に抑制され、臨床症状や病変の度合いが減弱す

るのみである。よって、農場内に弱毒生ワクチン (クラスター II) と異なる遺伝子系統のウイルスが浸潤している場合、農場内のウイルス移動 (豚舎間) などに注意する必要がある。

おわりに

1990 年代より PRRS という新興ウイルス感染症が発生し、現在では日本のほとんどの農場で PRRS ウイルスが浸潤して常在性疾病となり、大きな経済損失を与えている。ウイルスは、年を追うごとに遺伝学的な多様化を続けている。我が国においては、同じ遺伝子系統内での多様化に加えて、これまで国内では確認されなかった遺伝子系統、ワクチン株に類似した病原性を持つ野外株、さらには国内で初めてとなる欧州型 PRRS ウイルスの確認などがあり、PRRS 対策が困難となっている。しかし、農場単位での PRRS 対策は重要であることから農場防疫 (バイオセキュリティ) の強化、複数の遺伝子系統のウイルスを常在化させないことやワクチンを使用する場合は農場内の PRRS ウイルスの遺伝子系統を把握することを実施して行く必要がある。

引用文献

- 1) 山根逸郎, 呉 克昌, 石川弘道, 高木道浩, 宮崎綾子, 鈴木孝子, 芝原友幸, 久保正法, 小林秀樹, 國保健浩, 恒光 裕, 2009, PRRS の発生に関わる呼吸器疾患および繁殖障害などによる経済的な損失調査 (アンケートを用いた疫学調査と全国の被害損額の推定) 日本豚病研究会報 55, 33-37.
- 2) Shimizu, M., Yamada, S., Murakami, Y., Morozumi, T., Kobayashi, M., Mitani, K., Ito, N.,

- Kubo, M., Kimura, K., Kobayashi, M., Yamamoto, K., Miura, Y., Yamamoto, T. Watanabe, K. 1994, Isolation of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus from Heko-Heko disease of pigs. *J Vet Med Sci* 58, 805-807.
- 3) Yoshii, M., Kaku, Y., Murakami, Y., Shimizu, M., Kato, K., Ikeda, H. 2005, Genetic variation and geographic distribution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Japan. *Arch Virol* 150, 2313-2324.
- 4) Iseki, H., Takagi, M., Miyazaki, A., Katsuda, K., Mikami, O., Tsunemitsu, H. 2011, Genetic analysis of ORF5 in porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Japan. *Microbiol Immunol* 55, 211-216.
- 5) Mengeling, W. L., Vorwald, A. C., Lager, K. M., Clouser, D. F., Wesley, R. D. 1999, Identification and clinical assessment of suspected vaccine-related field strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Am J Vet Res* 60, 334-340.
- 6) Kono, Y., Kanno, T., Shimizu, M., Yamada, S., Ohashi, S., Nakamine, M., Shirai, J. 1996, Nested PCR for detection and typing of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in pigs. *J Vet Med Sci* 59, 941-946.
- 7) Yoon, I.J., Joo, H.S., Goyal, S.M., Molitor, T.W. 1994, A modified serum neutralization test for the detection of antibody to porcine reproductive and respiratory syndrome virus in swine sera. *J Vet Diagn Invest* 6, 289-292.
- 8) Lopez, O.J., Osorio, F.A. 2004, Role of neutralizing antibodies in PRRSV protective immunity. *Vet Immunol Immunopathol* 102, 155-163.
- 9) Gu, W., Guo, L., Yu, H., Niu, J., Huang, M., Luo, X., Li, R., Tian, Z., Feng, L., Wang, Y. 2015, Involvement of CD16 in antibody-dependent enhancement of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *J Gen Virol* 96, 1712-1722.
- 10) Yoon, K.J., Wu, L.L., Zimmerman, J.J., Hill, H.T., Platt, K.B. 1996, Antibody-dependent enhancement (ADE) of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection in pigs. *Viral Immunol* 9, 51-63.
- 11) Murtaugh, M.P., Genzow, M. 2011, Immunological solutions for treatment and prevention of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). *Vaccine* 29, 8192-8204.
- 12) Tingstedt, J.E., Nielsen, J. 2004, Cellular immune responses in the lungs of pigs infected in utero with PRRSV: an immunohistochemical study. *Viral Immunol* 17, 558-564.
- 13) Gomez-Laguna, J., Salguero, F.J., De Marco, M.F., Pallares, F.J., Bernabe, A., Carrasco, L. 2009, Changes in lymphocyte subsets and cytokines during European porcine reproductive and respiratory syndrome: increased expression of IL-12 and IL-10 and proliferation of CD4(-)CD8(high). *Viral Immunol* 22, 261-271.
- 14) Xiao, Z., Batista, L., Dee, S., Halbur, P., Murtaugh, M.P. 2004, The level of virus-specific T-cell and macrophage recruitment in porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in pigs is independent of virus load. *J*

- Virology 78, 5923-5933.
- 15) van Reeth K, Labarque G, Nauwynck H, Pensaert M. 1999, Differential production of pro-inflammatory cytokines in the pig lung during different respiratory virus infections: correlations with pathogenicity. Res Vet Sci 67, 47-52.