

## 先天性振戦（ダンス病）と非定型豚ペスチウイルス

塩川 舞・青木 博史\*

（日本獣医生命科学大学 獣医学部 獣医保健看護学科 微生物・感染症学研究分野

〒180-8602 東京都武蔵野市境南町 1-7-1 Tel: 0422-31-4151

\* e-mail: aokihir@nvl.ac.jp)

Shiokawa, M. and Aoki, H. (2022):

Update on congenital tremor involving atypical swine pestivirus

All about SWINE 61, 12-19

先天性振戦 (congenital tremors : CT) は、新生子豚の頭部、前駆や後駆、ときに全身の震えなどの臨床症状を示す疾病で、骨格筋の間代性収縮を特徴とする。重症例では、全身の震えに伴って起立や歩行が困難になり、その結果として哺乳ができなくなり、成長不良・衰弱して死亡に至る。本病の最初の報告は、1922年に米国の Kinsley らによってなされた (Kinsley, 1922)。生まれたばかりの子豚が震えていたり、飛び跳ねたりする症状を示し、まるで踊っているかのように見えたため、Kinsley は「Dancing Pig Disease」と呼び、和名で「豚のダンス病」と呼称される所以となっている。その後、米国に続いて1934年にフランス、1937年にオーストラリアでも発生が報告され、瞬く間にヨーロッパ各国、ニュージーランド、南北アメリカなどで発生が確認され、現在はアジアにも及んで、全世界に広く分布していると考えられる。これらの間に、さまざま名称で呼ばれ、豚震え病 (shaking pig disease)、豚における振戦、先天性間代性筋痙攣 (myoclonia congenita)、そして先天性振戦などの疾病名で報告されて

いる。日本では「先天性痙攣症」と正書に記載されることが多いが、かつてから局所的に散発しており、発生は全国に及ぶ。しかし、その実態は必ずしも明らかではなかった。

### CT の分類

CTの原因に関しては様々な仮説が立てられたが、時代とともに変化してきた。1955年にスウェーデンでCTが発生し、その疫学的パターンからウイルス原因説が生まれた (Larsson, 1955)。その後も病原体であったり、遺伝性であったり、異なる要因がCTに関連付けられたが、現在では原因因子によってA-I型からA-V型とB型の6つの亜型に分類される (Done, 1968 & 1976) (表1)。まず、中枢神経系における病理組織学的病変に基づいてA型とB型に分けられ、A型はIからVの亜型に細分化されるが、共通して中枢神経系の低髄鞘化と空胞化を特徴としている。一方のB型は、脳にも脊髄にも明らかな病変が認められていない (Done, 1968 & 1976 ; Done ら, 1986)。

表1 CT-A型の分類と特徴

	CT				
	A-I型	A-II型	A-III型	A-IV型	A-V型
病因	CSFV	APPV	X染色体連鎖劣性	常染色体劣性遺伝	メトリフォネート (トリクロルフォン)
豚の品種	すべて	すべて	ランドレース種	サドルバック種	すべて
同腹子への影響	高い	未経産の若い 雌豚で高い	低い	低い	高い
CT発症子豚の死亡率	中～高	低～中	高	高	高

CSFV：豚熱ウイルス APPV：非定型豚ペスチウイルス

CT A-I型は症状に加えて、小脳の低形成、異形成、脊髄の低髄鞘化を特徴とする。妊娠母豚に豚熱ウイルス (classical swine fever virus: CSFV) が感染した場合に胎児に経胎盤感染することによるものとされ、他のCTの型に比べて高度な運動失調を合併するともいわれる (Bradleyら, 1983)。CT A-II型の原因は長い間不明であったが、豚サーコウイルス2型 (PCV2) (Stebensonら, 2001)、アストロウイルス (Blomstromら, 2014)、豚サーコウイルス3型 (Chenら, 2017)、ペスチウイルスの一種のリンダウイルス (Lampら, 2017)、PCV様ウイルスP1 (Wenら, 2018)、テスコウイルスA (Possattiら, 2018)などのウイルスも要因として挙げられていた。その中で、Mokiliのメタゲノム・コッホの原則を満たすことが証明された唯一のウイルスとして、非定型豚ペスチウイルス (atypical porcine pestivirus: APPV) がある。CT A-III型は、ランドレース種に見られる遺伝的疾患に関連しており、オリゴデンドロサイト数の減少とミエリン鞘の欠如を特徴とする (Blakemoreら, 1974)。CT A-IV型は、サドルバック種の劣性遺伝による疾病で、脳と脊髄の低髄鞘化を特徴とする (Pattersonら, 1972

& 1973)。CT A-V型は、抗寄生虫薬のメトリフォネート (トリクロルフォン) の中毒によって引き起こされると考えられ、妊娠中に投与されると小脳低形成を引き起こし、CTの症状を示すとされる (Bolskeら, 1978; Knoxら, 1978)。

#### APPVとCT A-II型

CT A-II型にウイルスの関与が疑われ、先に記載したとおり、さまざまなウイルスがCTから検出されている。その中でも、当時、メタゲノム・コッホの原則を唯一満たすのがAPPVであった。APPVは、2015年に米国で豚血清のハイスループレットシーケンス (次世代シーケンス) により初めて検出され、それまで知られていなかったAPPVが米国の豚群に広く分布していることも判明した (Hauseら, 2015)。当初このウイルスは疾病と関連しないと考えられたが、その後、米国で実施されたAPPVの実験的感染試験により、このウイルスが子豚のCTと関連することが実証され、一気に注目を浴びることとなる (Arrudaら, 2016)。その後、続々とCTを示す新生子豚の中樞神経系にAPPVが存在することが報告されている (de Groofら, 2016; Postelら, 2016;

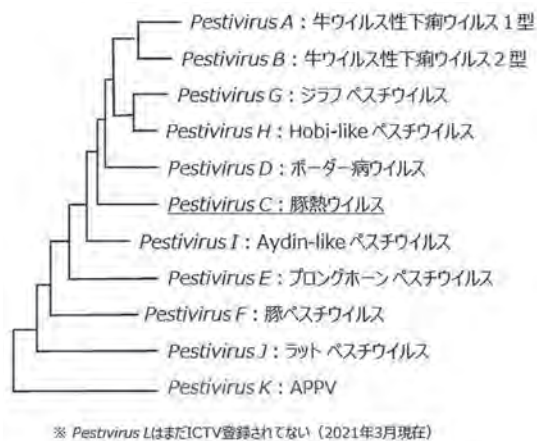


図1 ペスチウイルスの分類

国際ウイルス命名委員会の分子系統樹を参考にしたイメージ図。遺伝的距離等を正確に表すものではない。

参考) ICTV web

[https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_online\\_report/positive-sense-ma-viruses/w/flaviviridae/361/genus-pestivirus](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-ma-viruses/w/flaviviridae/361/genus-pestivirus)

Schwarz ら, 2017 ; Gatto ら, 2018a & 2018b)。また, APPV が検出されている血清を妊娠母豚に接種し, CT を再現することに成功している (Arruda ら, 2016 ; de Groof ら, 2016)。すなわち, その時点ではコッホの原則を満たしていないものの, Mokili のメタゲノミック・コッホの原則を満たすと見なされた (Mokili ら, 2012)。一方, 同じ時期にペスチウイルス属のウイルス種の新分類が提案された (Smith ら, 2017)。古典的ペスチウイルスと呼ばれる4種のウイルスは, ペスチウイルス A (牛ウイルス性下痢ウイルス1型), ペスチウイルス B (牛ウイルス性下痢ウイルス2型), ペスチウイルス C (CSFV), ペスチウイルス D (ボーダー病ウイルス) とされ, その他に続々と報告されたペスチウイルスも分類に組み入れられ (図1), その中のペスチウイルス K が APPV に該当する (Hause ら, 2015)。

ペスチウイルス K の唯一種である APPV は, 直径約 60nm のエンベロープに包まれた球形ウイルスで, 他のペスチウイルス同様, ゲノムは一本鎖ポジティブ鎖 RNA であり, 約 11~11.6 キロベースのゲノムをもつ。ウイルス蛋白質の種類も他のペスチウイルスと同じであり, ウイルス RNA にある1つの読み取り枠の中に4つの構造タンパク質 (C, E<sup>ns</sup>, E1, E2) と8つの非構造タンパク質 (N<sup>pro</sup>, p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) の情報が保持されている (Hause ら, 2015)。しかし, 興味深いことに, APPV のゲノムと既知のペスチウイルスとのゲノム相同性は 25~28% と極めて低く, 一方, 中国に生息するナガキクガシラコウモリから見つかった新しいペスチウイルスのゲノムと 68% の相同性を示す。現在のところ, APPV の自然宿主は豚とイノシシと考えられているが, その他の動物にも分布するかは不明である。

Arruda ら (2016) は, 妊娠 45 日目と 62 日目の母豚に, APPV を静脈内接種, 鼻腔内接種, ならびに羊膜腔内接種している。その結果, 母豚ではいずれも何ら症状を示さず, RT-PCR で検出可能なウイルス血症も認められなかった。しかし, 娩出された子豚は CT の典型的な症状を示し, 子豚の複数の臓器からも RT-PCR により APPV 遺伝子の増幅が確認されている。また, de Groof ら (2016) は, 妊娠 32 日目の母豚に APPV を筋肉内接種し, Arruda と同様に子豚の CT の再現に成功している。なお, CT を示す子豚の同腹内有病率は 57~100% (Arruda ら, 2016) であったり, 0~100% (de Groof ら, 2016) であったり, その報告にはばらつきがみられる。しかし, いずれの感染試験でも子豚の異常開脚 (いわゆる

Splay-leg) が同腹の子豚の 0-40% で確認されている。また、いずれの研究でも、CT を示した子豚が APPV の RT-PCR で陽性を示したが、健康に生まれた子豚の大部分も APPV の RT-PCR 陽性を示している。さらに追加の研究により、生後 8.5 か月で無症候性キャリアが存在し、糞便や唾液などに多量のウイルスを排泄していたり、12 週齢まで APPV 特異抗体が検出されながらも 14 週齢まで CT の兆候を示したりする子豚が確認されている。その他、APPV 特異抗体を持たない 6 か月齢のイノシシが性成熟を迎え、唾液と精液の両方で APPV のウイルス遺伝子が高いレベルで検出されたとの報告もある (Schwarz ら, 2017)。APPV による CT の発症メカニズムや病態、免疫応答、感染経路についてはまだまだ不明な点が多く、各国で調査・研究が遂行されている。徐々にこれらが明らかになり、効果的な CT 対策が展開されることを期待したい。

### 日本における CT と APPV

CT がいつから日本で発生していたのかは明確ではないが、記録を見る限り 1962 年頃から散発的に全国で確認されているようである。それらが CT のどの型であるかも正確には分からないが、1980 年代ぐらいまでの豚熱が流行していた時代なら CT A-I 型の可能性もあれば、1990 年代後半からは CT A-II 型も存在していたのではないかと思われる。そのような中、2017 年に熊本県で CT を発症した新生子豚の検査材料から APPV の遺伝子が検出され、日本では初の検出例となった。2020 年には、CT を発症した子豚の中樞神経系から APPV が検出され、日本で初めて APPV の全ゲノム配列が明らかになり、Anna/2020 と命名さ

れた (Kasahara-Kamiie ら, 2021)。Anna/2020 の全ゲノム塩基配列について、データバンクに登録されている各国で報告された APPV と系統解析したところ、APPV が 3 つの遺伝子型に分けられること、Anna/2020 が遺伝子型 3 に遺伝的に近縁であるものの少し離れていることが分かった。さらに詳しく解析すると、遺伝子型 3 に分類される各ウイルス株間では 94.0 ~ 99.7% の配列相同性があるものの、Anna/2020 では 87.0 ~ 89.3% の相同性に止まっていた。つまり、Anna/2020 が遺伝子型 3 の中でも新しい APPV 系統 (新規遺伝子型 3) であることが判明した。なお、我々のグループは、Anna/2020 の遺伝子が検出されている子豚の検査材料から、感染性のある APPV を分離しており (Shiokawa ら, 投稿準備中)、今後、APPV のウイルス学的あるいは生物学的特徴が明らかになるものと期待される。Kasahara-Kamiie らの論文では、過去に保存された豚由来サンプルも検査しており、CT を発症していない豚から APPV 遺伝子型 1 および新規遺伝子型 3 の 2 株を検出している。興味深いことに、新規遺伝子型 3 の APPV が少なくとも 2007 年から日本国内で流行していることも明らかとなった (Kasahara-Kamiie ら, 2021)。その他、野生イノシシの材料から APPV の遺伝子も検出されており、日本国内に広く分布している可能性が高いと思われる。日本国内の APPV について、その生物性状や疫学的特徴が明らかになるものと期待したい。

### APPV の診断と予防

現在、APPV 感染の診断や病態解明のために、様々な検出技術が利用されている。ただし、実用性、普及度、迅速性、感度と特異度、などの

観点から、APPVの検査は、分子ウイルス学的手法、特にRT-PCRとqRT-PCRが主流である。検査材料についても、CTを発症している子豚に由来するのであればさまざまな検体を用いることができるが、剖検されるのであれば中枢神経系やリンパ系の臓器・組織が検体として望ましく、ウイルス学的検査と病理組織学的検査に展開される。また、2015年に初めてAPPVが報告されてから、次世代シーケンスが診断ツールとして今も採用され、ウイルスゲノム解析の強力なツールとなっている。ただし、次世代シーケンスを用いるAPPV検出は、コストの面からルーチン検査としての採用が難しいであろう。

APPVは培養細胞を用いたウイルス分離が困難であったため、APPVのRT-PCR陽性を示す子豚血清を母豚に接種することで増殖させていた(Arrudaら、2016; de Groofら、2016)。しかし、2017年にSchwarzら(2017)がAPPVを豚腎臓由来PK-15細胞で増殖させることに成功しており、その際は初乳を飲む前のCTの兆候を示す子豚の血清(APPVのRT-PCR陽性)が使用されている。しかしながら、その他の培養細胞を用いたウイルス分離の報告も少なく、Beerら(2017)やPostelら(2017)によるもののほか、近年ではQiaoyaら(2021)が胚性豚腎上皮細胞を用いたウイルス分離報告がある。我々のグループにおいても、CTの症状を示す子豚の扁桃乳剤から様々な培養細胞を用いてウイルス分離を試みており、ある特定の豚腎由来株化細胞を用いた場合でのみAPPVの分離に成功し、日本で初めての野外株を得ることとなった(投稿論文準備中)。

海外では、APPV感染診断の補助的な検査として、さまざまな血清学的検査が開発され、間

接蛍光免疫法(Michelitschら、2019)、ウイルス中和法(Cagatayら、2019)、ELISA(Schwarzら、2017; Postelら、2017; Cagatayら、2018 & 2019)などがある。これらの検査によって、APPVの分布や、宿主の免疫応答などの重要な情報が得られるものと思われる。

今のところ、APPV感染を治療または予防する有効な動物薬やワクチンはない。ワクチン開発の動きも少なからずあるが、有効性を実証するには、まだ多くの試験が必要なようである。また、予防方法として雌豚の馴致なども試されているが、プロトコルは完成していない。APPV対策で考慮すべきもう一つの重要なポイントは、APPV持続感染動物の存在である。特に繁殖を行っている養豚場の場合、検出感度の高いqRT-PCRによるAPPV感染動物の摘発と排除が重要になろう。また、APPVの感染経路と病態の解明がもつぱらの研究優先事項であるが、精液、糞便、唾液による感染動物からのウイルス排泄が確認されているため、APPV感染動物、ましてや持続感染動物が感染拡大を助長する可能性が高い。雄豚とその精液の検査に、APPVの項目を追加することも検討する余地がある。そして、農場バイオセキュリティが重要であることが容易に理解できる。

#### おわりに

長らく原因が不明であったCT A-II型の発症にAPPVの感染が深く関係している可能性が極めて高くなった。また、2015年に新たに発見されたにもかかわらず、既に全国的にまん延しており、豚やイノシシの中で循環している可能性が高いことも明らかになりつつある。高いレベルの農場バイオセキュリティが求められる昨今、養豚産業

において APPV に注目が集まりつつある。一方、ペスチウイルス属に分類された APPV は、同属ウイルスと同様に持続感染性などの特徴を持つようであるが、その性状や感染性、病態、感染経路などについてまだまだ不明な点が多い。これらを明らかにすることは、APPV 対策に重要である。今後、APPV の疫学的状況を明らかにするとともに、宿主の免疫反応、APPV 感染の制御や予防、必要であればワクチン開発など、APPV 感染の制御に向けた研究が必要であり、我々のグループも養豚業界や関係者の協力をいただきながら継続する予定である。

#### 参考文献

- ・ Arruda BL, Arruda PH, Magstadt DR, Schwartz KJ, Dohlman T, Schleining JA, Patterson AR, Visek CA and Victoria JG (2016) Identification of a divergent lineage porcine pestivirus in nursing piglets with congenital tremors and reproduction of disease following experimental inoculation. *PLoS One* 11, e0150104.
- ・ Beer M, Wernike K, Drager C, Hoper D, Pohlmann A, Bergermann C, Schroder C, Klinkhammer S, Blome S and Hoffmann B (2017) High prevalence of highly variable atypical porcine pestiviruses found in Germany. *Transbound. Emerg. Dis* 64, e22-e26.
- ・ Blakemore WF, Harding JD and Done JT (1974) Ultrastructural observations on the spinal cord of a Landrace pig with congenital tremor type AIII. *Res. Vet. Sci.*, 17, 174-178.
- ・ Blomstrom AL, Ley C and Jacobson M (2014) Astrovirus as a possible cause of congenital tremor type AII in piglets? *Acta Vet Scand* 56, 6.
- ・ Bolske G, Kronevi T and Lindgren NO (1978) Congenital tremor in pigs in Sweden. A case report. *Nord. vet.med.* 30, 534-537.
- ・ Bradley R, Done JT, Hebert CN, Overby E, Askaa J, Basse A and Bloch B (1983) Congenital tremor type AI: light and electron microscopical observations on the spinal cords of affected piglets. *J. Comp. Pathol.* 93, 43-59.
- ・ Cagatay GN, Antos A, Meyer D, Maistrelli C, Keuling O, Becher P and Postel A. (2018) Frequent infection of wild boar with atypical porcine pestivirus (APPV). *Transbound. Emerg. Dis.* 65, 1087-1093.
- ・ Cagatay GN, Meyer D, Wendt M, Becher P and Postel A. (2019) Characterization of the humoral immune response induced after infection with Atypical Porcine Pestivirus (APPV). *Viruses* 11, 880.
- ・ Chen GH, Mai KJ, Zhou L, Wu RT, Tang XY, Wu JL, He LL, Lan T, Xie QM, Sun Y, et al. (2017) Detection and genome sequencing of porcine circovirus 3 in neonatal pigs with congenital tremors in South China. *Transbound. Emerg. Dis.*, 64, 1650-1654.
- ・ de Groof A, Deijns M, Guelen L, Van Grinsven L, Van OS-Galdos L, Vogels W, Derks C, Cruijssen T, Geurts V, Vrijenhoek M, Suijskens J, Van Doorn P, Van Leengoed L, Schrier C and Van Der Hoek L (2016) Atypical porcine pestivirus: a possible cause of congenital tremor type A-II in newborn piglets. *Viruses-Basel* 8, 13.
- ・ Done JT (1968) Congenital nervous disease of

- pigs: a review. *Lab. Anim.* 2, 207-217.
- Done JT (1976) The congenital tremor syndrome in piglets. *Vet. annu.* 16, 98-102.
  - Done JT, Woolley J, Upcott DH and Hebert CN (1986) Porcine congenital tremor type AII: spinal cord morphometry. *Br. Vet. J* 142, 145-150.
  - Gatto IRH, Arruda PH, Visek CA, Victoria JG, Patterson AR, Krull AC, Schwartz KJ, de Oliveira LG and Arruda BL (2018a) Detection of atypical porcine pestivirus in semen from commercial boar studs in the United States. *Transbound Emerg Dis* 65, e339-e343.
  - Gatto IRH, Harmon K, Bradner L, Silva P, Linhares DCL, Arruda PH, de Oliveira LG and Arruda BL (2018b) Detection of atypical porcine pestivirus in Brazil in the central nervous system of suckling piglets with congenital tremor. *Transbound Emerg Dis* 65, 375-380.
  - Hause BM, Collin EA, Peddireddi L, Yuan F, Chen Z, Hesse RA, Gauger PC, Clement T, Fang Y and Anderson G (2015) Discovery of a novel putative atypical porcine pestivirus in pigs in the USA. *J. Gen. Virol* 96, 2994-2998.
  - Kasahara-Kamiie M, Kagawa M, Shiokawa M, Sunaga F, Fukase Y, Aihara N, Shiga T, Kamiie J, Aoki H and Nagai M. (2021) Detection and genetic analysis of a novel atypical porcine pestivirus from piglets with congenital tremor in Japan. *Transbound. Emerg. Dis.* 69, 1761-1769.
  - Kinsley AT (1922) Dancing pigs? *Veterinary Medicine* 17, 123.
  - Knox B, Askaa J, Basse A, Bitsch V, Eskildsen M, Mandrup M, Ottosen HE, Overby E, Pedersen KB and Rasmussen F (1978) Congenital ataxia and tremor with cerebellar hypoplasia in piglets borne by sows treated with Neguvon vet. (metrifonate, trichlorfon) during pregnancy. *Nord. Vet. Med.*, 30, 538-545.
  - Lamp B, Schwarz L, Hogler S, Riedel C, Sinn L, Rebel-Bauder B, Weissenböck H, Ladinig A and Rumenauf T (2017) Novel pestivirus species in pigs, Austria, 2015. *Emerging Infect. Dis.* 23, 1176-1179.
  - Larsson L (1955) Om skaksjuka hos smågrisar. *Svenska svinavelsföreningens tidskrift* 9, 149-151.
  - Michelitsch A, Dalmann A, Wernike K, Reimann I and Beer M (2019) Seroprevalences of newly discovered porcine pestiviruses in German pig farms. *Vet. Sci.*, 6, 86.
  - Mokili JL, Rohwer F and Dutilh BE (2012) Metagenomics and future perspectives in virus discovery. *Current Opinion in Virology* 2, 63-77.
  - Patterson DS, Sweasey D and Harding JD (1972) Lipid deficiency in the central nervous system of Landrace piglets affected with congenital tremor A3. A form of cerebrospinal hypomyelogenesis. *J. Neurochem.*, 19, 2791-2799.
  - Patterson DS, Sweasey D, Brush PJ and Harding JD (1973) Neurochemistry of the spinal cord in British Saddleback piglets affected with congenital tremor, type A-IV, a second form of hereditary cerebrospinal hypomyelogenesis. *J. Neurochem.*, 21, 397-406.
  - Possatti F, Headley SA, Leme RA, Dall Agnol AM, Zotti E, de Oliveira TES, Alfieri AF and

- Alfieri AA (2018) Viruses associated with congenital tremor and high lethality in piglets. *Transbound Emerg Dis* 65, 331-337.
- Postel A, Hansmann F, Baechlein C, Fischer N, Alawi M, Grundhoff A, Derking S, Tenhundfeld J, Pfankuche VM, Herder V, Baumgartner W, Wendt M and Becher P (2016) Presence of atypical porcine pestivirus (APPV) genomes in newborn piglets correlates with congenital tremor. *Sci Rep* 6, 9.
  - Postel A, Meyer D, Cagatay GN, Feliziani F, de Mía GM, Fischer N, Grundhoff A, Milicevic V, Deng MC, Chang CY, Qiu HJ, Sun Y, Wendt M and Becher P (2017) High abundance and genetic variability of atypical porcine pestivirus in pigs from Europe and Asia. *Emerging Infect. Dis.* 23, 2104-2107.
  - Qiaoya Z, Ying Yu, Chunhui Song and Zhi Cao (2021) Genetic characterization of atypical porcine pestivirus (APPV) in China and the successful isolation of a novel APPV strain within genotype 2. *Microb. Pathog.* 161, 105282.
  - Schwarz L, Riedel C, Hogler S, Sinn LJ, Voglmayr T, Wochtl B, Dinhopf N, Rebel-Bauder B, Weissenböck H, Ladinig A, Rumenapf T and Lamp B (2017) Congenital infection with atypical porcine pestivirus (APPV) is associated with disease and viral persistence. *Vet Res* 48, 14.
  - Smith DB, Meyers G, Bukh J, Gould EA, Monath T, Scott Muerhoff A, Pletnev A, Rico-Hesse R, Stapleton JT, Simmonds P and Becher P (2017) Proposed revision to the taxonomy of the genus Pestivirus, family Flaviviridae. *J Gen Virol* 98, 2106-2112.
  - Stevenson GW, Kiupel M, Mittal SK, Choi J, Latimer KS and Kanitz CL (2001) Tissue distribution and genetic typing of porcine circoviruses in pigs with naturally occurring congenital tremors. *J Vet Diagn Invest* 13, 57-62.
  - Wen L, Mao A, Jiao F, Zhang D, Xie J and He K (2018) Evidence of porcine circovirus-like virus P1 in piglets with an unusual congenital tremor. *Transbound Emerg Dis* 65, e501-e504.