

豚繁殖・呼吸障害症候群（PRRS）生ワクチンの豚熱（CSF） 生ワクチンの有効性に及ぼす影響の検討

木田萌子¹，落合絢子¹，曳地七星²，榎 基²，細田裕子¹，森崎一葉¹，一戸夏美¹，
山崎雅人¹，長坂孝雄¹，大出水幹男¹，山下麻依子¹，迫田義博³，山本欣也¹

¹ 農林水産省 動物医薬品検査所 〒185-8511 東京都国分寺市戸倉 1-15-1)

² 農林水産省 消費・安全局 〒100-8950 東京都千代田区霞が関 1-2-1)

³ 北海道大学大学院獣医学研究院 〒060-0818 北海道札幌市北区北 18 条西 9 丁目)

Kida, M., Ochiai, M., Hikichi, N., Sakaki, H., Hosoda, Y., Morisaki, K., Ichinohe, N.,
Yamazaki, M., Nagasaka, T., Oidemizu, M., Yamashita, M., Sakoda, Y., Yamamoto, K.
(2024): Impact of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS)
live-vaccine on Classical Swine Fever (CSF) live-vaccine

All about SWINE 64, 31-36

【背景・目的】

2018年9月に我が国では26年ぶりに豚熱が発生し、2019年10月から豚熱生ワクチンの接種が開始され、現在では、豚熱生ワクチン接種豚から生まれた豚における移行抗体によるワクチンブレイクを考慮した接種適期の検討が進められています。

海外では、母豚からの移行抗体のみならず、豚繁殖・呼吸障害症候群（PRRS）ウイルス（PRRSV）の感染及びPRRS生ワクチン接種等の要因により、豚熱生ワクチンの免疫反応が抑制されることが報告されています¹⁴⁾。PRRSの流行が国内で問題となり始めたのは1980年代後半であり、我が国で使用されている豚熱生ワクチンが承認された1969年には知られていなかったため、PRRS生ワクチンが日本国内で使用されている豚熱生ワクチンに及ぼす影響は検討されていません。

そこで、適切かつ効果的な豚熱生ワクチンの使用のため、我が国で使用されているPRRS生ワクチンの豚熱生ワクチンの有効性に及ぼす影響を検討しました。

【試験方法】

試験スケジュールを図1に示しました。豚熱ウイルス（CSFV）及びPRRSVに対する移行抗体を持たない豚を使用し、試験①では、3週齢時に試験群2群にそれぞれ異なるPRRS生ワクチンを接種し、その1週間後に試験群及び対照群に豚熱生ワクチンを接種しました。試験②では、同じく3週齢時に試験群2群にそれぞれ異なるPRRS生ワクチンを接種し、その2週間後に試験群及び対照群に豚熱生ワクチンを接種しました。接種間隔が1週間の試験①は、豚熱生ワクチン接種後9週間、2週間の試験②は豚熱生ワクチン接

種後8週間観察及び採材を行いました。試験期間中は、臨床観察及び体温測定を毎日実施し、1週間に1回体重測定及び血球数測定を実施しました。また、採取した血清を使用して、豚熱中和抗体価、PRRSVのELISA抗体価、IFN- α 及びIL-10濃度の測定を実施しました。豚熱中和抗体価はTetsuoら⁵⁾によるCSFV vGPE-/HiBiT株を中和ウイルスとする中和試験方法を使用して測定しました。PRRSVのELISA抗体価は、PRRS X3 ELISAキット (IDEXX Laboratories) を使用して測定し、S/P値0.4以上を陽性と判定しました。血清中のIFN- α 及びIL-10濃度は、それぞれIFN-alpha1 (pig) ELISA kit (funakoshi) 及びIL-10 (pig) ELISA kit (funakoshi) を使用して測定しました。

豚熱生ワクチンはスワイバックC (共立製薬株式会社) を、PRRS生ワクチンはインゲルバック

PRRS生ワクチン (ベーリンガーインゲルハイム アニマルヘルスジャパン株式会社) 及びフォステラ PRRS (ゾエティスジャパン株式会社) を使用し、試験群Aにインゲルバック PRRS生ワクチンを、試験群Bにフォステラ PRRSをそれぞれ用法・用量に従い、それぞれ2 mL/頭を右耳根部に筋肉内注射しました。スワイバックCも用法・用量に従い、1 mL/頭を左耳根部に筋肉内注射しました。

【結果・考察】

体温、体重及び白血球数は、観察期間を通して異常値は認められませんでした。

試験①及び試験②の群ごとの豚熱中和抗体価の推移を図2に示しました。個体ごとのデータは

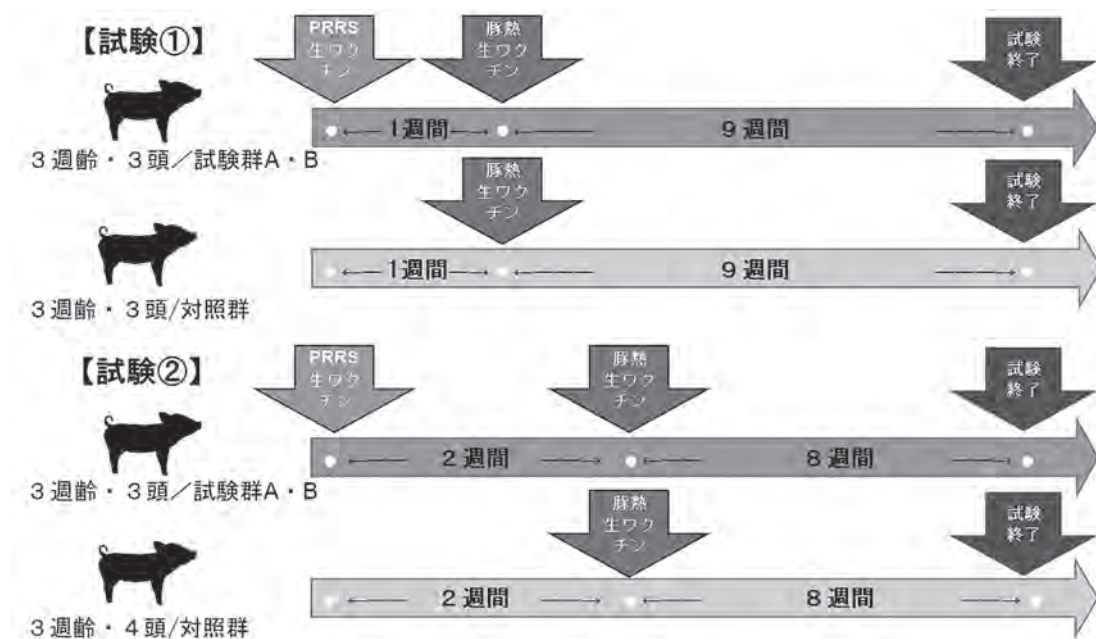


図1 試験スケジュール

省略しますが、全ての豚で豚熱生ワクチン接種後 35 日目に中和抗体価が 2 倍以上となり、ワクチンによる豚熱中和抗体価の上昇が確認できました。また、試験①及び試験②の両試験群ともに、対照群と同様に、試験終了時まで全頭が豚熱中和抗体価 32 倍（ 2^5 倍）以上となり、全期間を通して群間検定で対照群と試験群で有意差が認められなかったことから、PRRS 生ワクチンの接種は、豚熱生ワクチンによる免疫付与に影響を及ぼすものではないと考えられました。一方、試験①及び試験②の両試験群は、対照群と比較して豚熱中和抗体価の上昇が遅れが認められ、この上昇遅延は 2 週間間隔で接種した試験②においてより強く認められました。

PRRS の ELISA 抗体価は、試験②の試験群 B の 1 頭を除く試験群の全頭で陽性となり、対照

群は観察期間中常に陰性でした。なお、試験②の豚熱生ワクチン接種日（PRRS 生ワクチン接種後 14 日目）に採取した血清から RNA を抽出し、PRRSV の遺伝子を検出する qPCR⁶⁾ を実施したところ、試験群の両群で全頭陽性であったことから、PRRS 生ワクチンは ELISA が陰性であった 1 頭を含め、試験群のすべての豚に適切に接種されていたことが確認できました。試験①でも豚熱生ワクチン接種日（PRRS 生ワクチン接種後 7 日目）に採取した血清から抽出した RNA を使用して同じ qPCR を実施したところ、両試験群で全頭陽性となりました。

血清中 IFN- α 濃度は、試験①では、対照群の IFN- α 濃度が豚熱生ワクチン接種後 42 日目以降に低下したことにより、両試験群で、豚熱生ワク

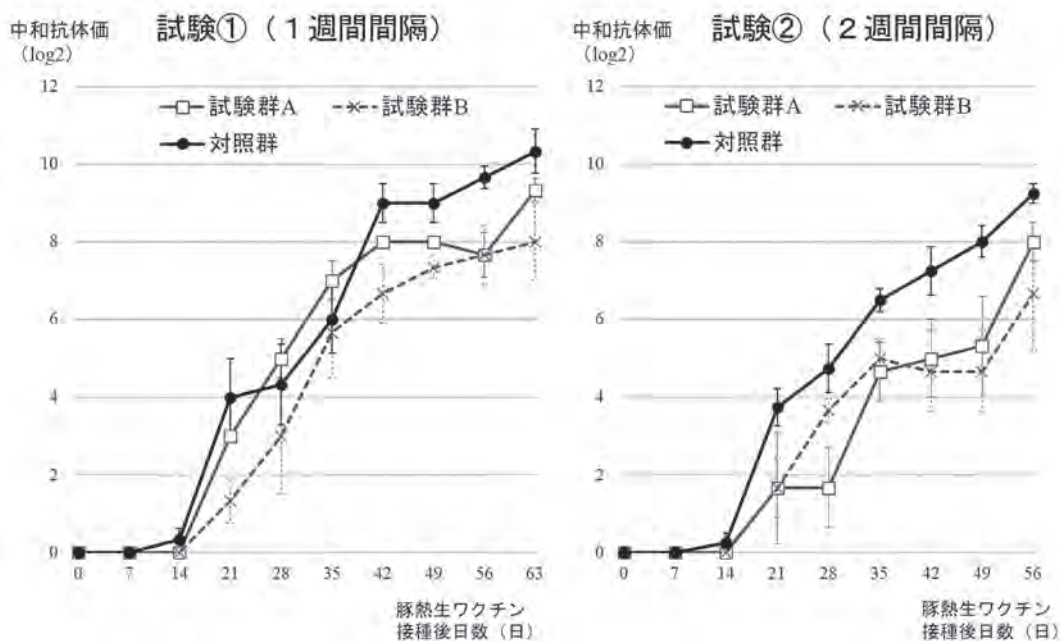


図2 試験①及び試験②の豚熱中和抗体価の推移（群間比較）

チン接種後 42～56 日目に対照群と比較して高い値となりましたが、対照群ともに観察期間中に大きな変動は認められませんでした。一方、試験②では、両試験群で豚熱生ワクチン接種後 7 日目に顕著に上昇し、その後緩やかな低下が認められましたが、対照群では観察期間中に大きな変化は認められませんでした。

IFN- α は I 型インターフェロンの一種で、ウイルス感染細胞に作用し、ウイルスの増殖を抑制する抗ウイルス作用をもつ炎症性サイトカインです。PRRSV 感染により IFN- α の誘導が遅れることや十分に産生されないことが報告されており、一方、豚熱生ワクチンの GPE⁻ 株では、IFN- α の産生を抑制しないことが報告されています⁸⁾¹⁰⁾。PRRS 生ワクチンを接種した両試験群において IFN- α の顕著な上昇が認められた試験②では、PRRS 生ワクチン接種 2 週間後の PRRS 生ワクチンによる IFN- α の産生抑制が緩和した時期に豚熱生ワクチンが接種されたために、GPE⁻ 株による IFN- α の誘導が亢進され、それにより豚熱生ワクチンの GPE⁻ 株の増殖が抑制された結果、豚熱中和抗体価の上昇遅延が強く認められた可能性が考えられました。

血清中 IL-10 濃度は、試験①では、試験群 A は豚熱生ワクチン接種後 42 日目から、試験群 B では 28 日目から徐々に上昇し、ともに 42 日目にピークが認められました。試験②では、接種後 14 日目に両試験群で対照群と比較して高い値が認められ、そのピークは試験①の両試験群のものよりも顕著に高く、その後緩やかに下降しました。なお、両試験の対照群は観察期間中に大きな変動は認められませんでした。

IL-10 は抗炎症性サイトカインと呼ばれ、中和抗体の産生に関わる IFN- γ の産生を抑制することで免疫を抑制します⁴⁾。試験①の両試験群では、IL-10 の上昇が認められた豚熱生ワクチン接種後 42 日目以降から豚熱中和抗体価の上昇が対照群と比較して鈍くなりました。同様に、試験②の両試験群では、IL-10 の上昇が認められた豚熱生ワクチン接種後 14 日目以降から豚熱中和抗体価の上昇が対照群と比較して鈍くなっており、IL-10 濃度の下降に伴い豚熱中和抗体価が対照群と同等に上昇していることが確認できました。このことから、IL-10 の免疫抑制機能が豚熱中和抗体の産生に影響を与えた可能性があると考えました⁴⁾。

また、PRRSV の感染や PRRS 生ワクチンの接種により IL-10 が誘導されることは複数の論文で報告されており^{3) 4)}、試験群における IL-10 の濃度の上昇は PRRS 生ワクチンによるものと考えられました。試験①及び試験②の両試験群では IL-10 濃度が上昇する時期が異なりましたが、PRRS 生ワクチン接種後 1 週間では IL-10 の誘導が十分にされないことが報告されています³⁾。試験群①の両試験群では、PRRS 生ワクチンが IL-10 を十分に誘導できない PRRS 生ワクチン接種 1 週間後に豚熱生ワクチンが接種されたことにより、PRRS 生ワクチンによる IL-10 の誘導が抑制され、IL-10 濃度が上昇する時期が遅れたと考えられました。一方、試験②の両試験群は、PRRS 生ワクチンが十分に IL-10 を誘導することができる PRRS 生ワクチン接種 2 週間後に豚熱生ワクチンが接種されたため、豚熱生ワクチンの影響は弱く、IFN- α の濃度が低下し、免疫の活性化が緩み始めた豚熱生ワクチン接種後 14 日目に高い値を

示したと推察されました。

これらの結果から、血清中の IFN- α 及び IL-10 の濃度変化が豚熱生ワクチンの中和抗体価の上昇に影響を及ぼした可能性があると考えられました。

【まとめ】

豚熱生ワクチン接種後 35 日目で豚熱中和抗体価が全頭 2 倍以上となり、試験終了時には全頭が中和抗体価 32 倍（2⁵ 倍）以上まで上昇したことから、PRRS 生ワクチンの接種は豚熱生ワクチンによる免疫付与に影響を及ぼすものではないと考えられました。しかし、PRRS 生ワクチンを接種した試験群では、対照群と比較して豚熱中和抗体価の上昇が遅れる傾向が認められました。

PRRS 生ワクチン接種後に、海外で広く使用されている C 株を使用した豚熱生ワクチンを接種し、豚熱に対する抗体価を測定した試験では、今回の試験と同様に、PRRS 生ワクチン接種群では豚熱生ワクチンのみを接種した対照群と比較して豚熱抗体価の上昇が抑制されることが報告されています⁴⁾。また、今回の試験では、豚熱中和抗体価の上昇遅延は 2 週間間隔でより強く認められました。

今回の検討において、PRRS 生ワクチンの接種は豚熱生ワクチンの免疫付与状況確認検査に影響を及ぼすものではありませんが、PRRS 生ワクチンを接種した豚では豚熱生ワクチンがテイクしているにもかかわらず、豚熱中和抗体の産生が抑制されている場合があるため、PRRS 生ワクチンを接種した豚の豚熱生ワクチン接種後の中和抗体価を評価する際は、豚熱生ワクチンの中和抗体価の

上昇遅延について留意することが必要であると考えられました。

【参考文献】

1. Suradhat S, Damrongwatanapokin S. The influence of maternal immunity on the efficacy of a classical swine fever vaccine against classical swine fever virus, genogroup 2.2, infection. *Vet Microbiol.* 92(1-2): 187-94, 2003.
2. Li H, Yang H. Infection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus suppresses the antibody response to classical swine fever virus vaccination. *Vet Microbiol.* 95(4):295-301, 2003.
3. Suradhat S, Kerdangsakonwut S, Sada W, Buranapraditkun S, Wongsawang S, Thanawongnuwech R. Negative impact of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection on the efficacy of classical swine fever vaccine. *Vaccine.* 24(14): 2634-42, 2006.
4. Wang X, Mu G, Dang R, Yang Z. Up-regulation of IL-10 upon PRRSV vaccination impacts on the immune response against CSFV. *Vet Microbiol.* 197: 68-71, 2016.
5. Tetsuo M, Matsuno K, Tamura T, Fukuhara T, Kim T, Okamatsu M, Tautz N, Matsuura Y, Sakoda Y. Development of a High-Throughput Serum Neutralization Test Using Recombinant Pestiviruses Possessing a Small Reporter Tag. *Pathogens.* 9(3): 188, 2020.
6. Revilla-Fernández S, Wallner B, Truschner K, Benczak A, Brem G, Schmoll F, Mueller

- M, Steinborn R. The use of endogenous and exogenous reference RNAs for qualitative and quantitative detection of PRRSV in porcine semen. *J Virol Methods*. 126(1-2): 21-30, 2005.
7. Raymond CR, Wilkie BN. Th-1/Th-2 type cytokine profiles of pig T-cells cultured with antigen-treated monocyte-derived dendritic cells. *Vaccine*. 22(8): 1016-23, 2004.
 8. Wang R, Zhang YJ. Antagonizing interferon-mediated immune response by porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Biomed Res Int*. 2014: 315470, 2014.
 9. Sun Y, Han M, Kim C, Calvert JG, Yoo D. Interplay between interferon-mediated innate immunity and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Viruses*. 4(4): 424-46, 2012.
 10. Tamura T, Nagashima N, Ruggli N, Summerfield A, Kida H, Sakoda Y. Npro of classical swine fever virus contributes to pathogenicity in pigs by preventing type I interferon induction at local replication sites. *Vet Res*. 45(1): 47, 2014.