

【短 報】

検査室より PRRS ウイルスのコントロールにむけて

～豚の異常産事例, 野外株の系統樹解析, PMWS 事業成績等について～

新田芳樹, 丹羽毅, 砂川真紀¹

1) 沖縄県北部家畜保健衛生所(〒 905-0012 沖縄県名護市名護 4606-4)

近年 PCV2 ワクチンの普及により, 豚の離乳後事故率の大幅な改善が認められているが, 豚の異常産と呼吸器病を引き起こす豚繁殖・呼吸器障害症候群ウイルス (PRRSV) 対策は, 養豚場の疾病コントロールにあたり, 今後も引き続き重要とされる。沖縄県は県独自の着地検疫実施により豚の導入が制限されていることから, 疾病についても比較的閉鎖的な状況にあると思われるが, これまで PRRSV に関する詳細な調査は行われておらず, 実態は不明である。今回, 野外の PRRSV について分子系統樹解析を行い, 県内の PRRSV の遺伝子学的特徴を初めて明らかにしたので, 豚流死産の病性鑑定結果ならびに PRRSV 関連事業成績とあわせて報告する。

【材料及び方法】

病性鑑定では PRRS の関与を疑う呼吸器疾患症例 (肺, 血清) や流死産症例 (流産胎子, 血清) について, ウイルス検査, 細菌検査, 病理組織検査を実施した。**系統樹解析**は, 2002 ～ 2008 年に病性鑑定ならびに診断予防技術向上対策事業 (以下 PMWS 事業) により採材・保存されていた PRRSV の RT-PCR 陽性検体 (計 49 検体, 24 戸) について, PRRSV の ORF5 領域についてシーケンスを実施し, 吉井らの報告 (Arch Virol, 2005) に基づき系統樹を作成した。また, **PMWS 事業**は 2007, 2008 年に各 2 農家について, ステージ採血ならびに発病豚の病性鑑定を行い, PRRSV, PCV2 関連検査を実施した。

【成績】

病性鑑定 (豚死流産) では, 発症母豚からは PRRSV の特異遺伝子が検出 (1st PCR) されたが, 流産胎子からは検出されない事例が確認された。病理組織検査では, 胎子に病変を認められなかった (図 1, 図 2)。

PRRSVの関与を疑う豚異常産						PRRSVの関与を疑う豚異常産					
症例1 (2008. 7)						症例2 (2008.10)					
No.	産歴	発生日	胎齢	S/P値 前血清	S/P値 後血清	PCR	No.	産歴	発生日	胎齢	S/P値 前血清
1	6産	7/16	88	4.86	5.15	-	1	1産	10/6	92	NT
2	7産	#	88	∞	4.85	#	2	1産	10/17	106	#
3	7産	7/18	108	5.32	5.06	#	3	2産	10/18	68	#
4	2産	7/20	57	5.39	4.93	#	4	1産	#	105	#
5	5産	#	73	5.40	5.19	#	5	5産	10/19	64	#
6	2産	#	61	5.08	∞	#	6	3産	#	105	#
7	4産	7/23	64	0.92	5.29	+	7	3産	10/23	56	#
8	4産	7/24	80	5.29	NT	-	8	1産	10/24	105	#
							9	7産	10/25	112	#
							10	3産	10/26	104	#
							11	3産	10/29	70	#
							12	5産	11/3	106	4.75
							13	5産	11/6	116	1.72

当該母豚血清 (1st PCR+) 胎盤・脳 (2nd PCR+)、分離陰性胎齢64日 (≠妊娠後期)

2nd PCR (+) 臓器・脳、(3/6胎子不全)、分離陰性、黒子8・白子2、正常3

図1) 病性鑑定1 (症例1, 2)

PRRSVの関与を疑う豚異常産						
症例3 (2009.5)						
No.	産歴	発生日	胎齢	S/P値 前血清	S/P値 後血清	備考
1	3産	5/13		4.80	4.69	流産
2	3産	#		1.90	NT	流産
3	3産	5/19	99	2.96	4.90	PCR (+)
4	7産	#	100	2.80	4.28	PCR (+)
5	4産	#		1.29	4.79	食欲減退
6	2産	#		0.37	4.25	食欲減退
7	1産	同居	同居	1.54	1.08	
8	2産	#		0.52	4.14	
9	3産	#		2.86	5.17	
10	3産	#		2.77	2.41	

【教科書的には】
主に妊娠後期の死流産、稀妊娠前期
診断法の1つ→胎子からの分離

【異常産、疫学的には(本県)】
産歴に関係なく、あらゆる妊娠日齢
特異遺伝子の検出50% ↓ 分離陰性

妊娠後期に偏らない**非典型的流産**を確認

母豚血清 (1st PCR+)、6胎子→陰性PCR
流産母豚の前血清を用いたPCR検査(+) 沖縄県PRRSVの遺伝子学的特徴は? 典型的ウイルス?

図2) 病性鑑定2 (症例3)

系統樹解析の結果, 国内の PRRSV には 4 系統 (I ~ IV) が存在し, うち 63 % が系統 III に属するとされているが, 県内の PRRSV 49 株は 3 つのクラスターに分類され, 系統 I が 1 株 (2007 年宮古島由来), 系統 II が 6 株 (2007 ~ 2008 年沖縄本島由来), 残り 42 株 (2002 ~ 2008 年沖縄本島由来) が系統 III であった。(図 3)。系統 III の沖縄株は, 国内分離株とは大きく異なる独自のサブグループを形成していることが確認された。また, 系統 I は近年国内ではほとんど確認されていないグループで, 沖縄本島においても確認されなかったが, 地理的に離れた宮古島において保存され

ていることが確認された。系統Ⅱの6株はいずれもワクチン由来であると推測された。

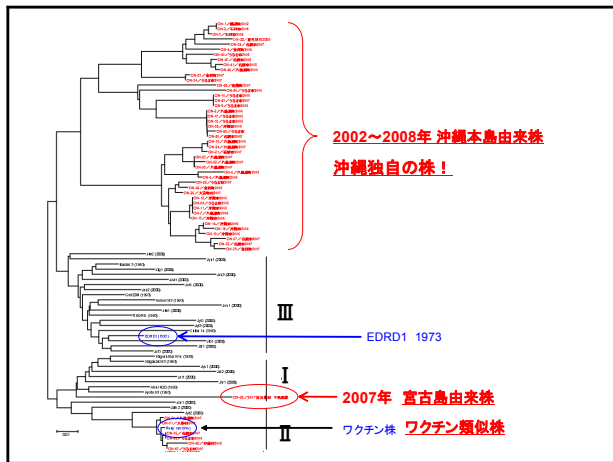


図3) 分子系統樹解析結果

PMWS 事業では PRRSV と PCV2 の陽転時期に PMWS の発症が確認され、検査成績と現場での事故の発生状況がほぼ一致していた(図4)。60日齢等で検出された肺由来の系統樹解析では、ほぼ横並びにプロットされた。2007年6月には、同じ養豚団地内の複数の農家より検査依頼があったが、系統樹解析では、農家間で区別された。

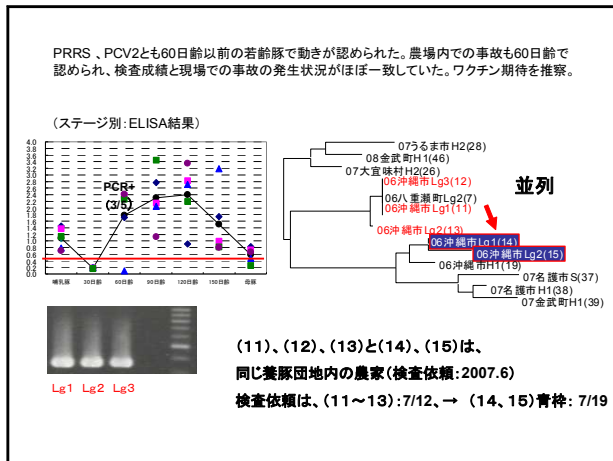


図4) PMWS 事業等における分子系統樹解析結果

また、ステージ別採血において、複数回の PRRSV 浸潤が確認された農場においては、系統樹解析では、まったく異なる分布であったことから、複数のウイルス株の侵入が示唆された(図5)。同時に同一農家においても、経時的なサンプルは、系統樹上で識別可能であった。

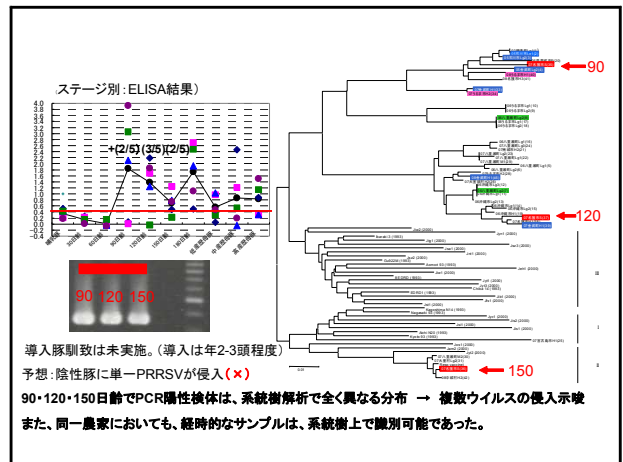


図5) ステージ別採血における分子系統樹解析結果

【まとめ】

PRRSVによる異常産は、妊娠後期の早産が主とされてきたが、妊娠後期に偏らない非典型的流産も確認されていることから、流産母豚の前血清を用いたPCR検査が、迅速診断ならびに今後の検査の方向性に大きい意味合いを持つものと思われた。

分子系統解析の結果、県内の PRRSV は地理的条件を反映してか、独自のサブグループ形成や、2007年離島での系統Ⅰの確認等、国内とはやや異なる様相を呈していることが確認された。一方、県内主流株はワクチン株とは大きく異なるクラスターに分類され、PRRS ワクチン使用時においても十分な衛生対策が重要であることが確認された。今回、本県における PRRSV の遺伝子学的特長が明らかとなり、伝播経路の解明や株の識別のデータベースとして活用可能となったことは、今後の病性鑑定やその後の衛生指導に際し大いに有用であると考えられる。

謝辞: PRRSV 遺伝子のシーケンスの実施及び系統樹作成をして頂いた独立行政法人動物衛生研究所ウイルス病研究チーム高木道浩先生に深謝する。