

10 豚サーコウイルス 3 型(PCV3)の県内浸潤状況調査と病態関

与への一考察

中央家畜保健衛生所

○曾田 泰史

I はじめに

豚サーコウイルス 3 型 (PCV3) は 2016 年に米国で初めて報告されて以来、世界各国で報告が続き、広く浸潤していることが明らかとなっている^{1, 2, 3)}。また、英国における遡及的調査では、2002 年の検体から PCV3 特異遺伝子が検出されている⁴⁾。国内においても同様に広く浸潤しており、2016～2017 年に実施した豚病性鑑定材料からの検出が報告されている⁵⁾。現在のところ、PCV3 は繁殖障害や豚皮膚炎腎症症候群 (PDNS) への関与が疑われている^{1, 6)} が、農場内や体内におけるウイルス動態、病原性については明らかになっていない。今回、過去の病性鑑定材料を用いて県内の浸潤状況を調査し、ウイルス動態や病態への関与を検討したので、概要を報告する。

II 材料と方法

1 病畜を用いた検査

2013 年 4 月～2018 年 11 月に解剖を実施した豚病性鑑定 127 件、28 農場、258 頭から採取した各種臓器、血清など 1,345 検体を材料とした。検体の内訳は、扁桃 254、肺 255、脾臓 225、腎臓 242、体表リンパ節 (そ径または下顎) 247、脳 44、脊髄 9、肝臓 1、回腸 5、空腸 1、糞便 22、皮膚 2、精巣 1、胎盤 6、羊水 2、血清 25、残血 4 検体であった。臓器は抗生物質添加済みイーグル培地 (日水製薬) に懸濁して 10%臓器乳剤とし、4,000 rpm で 5 分間遠心した上清を検体とした。この臓器乳剤上清及び血清から DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN) を用いて DNA を抽出した。抽出した DNA は個体ごとに全てプールし、Palinski らの方法¹⁾ に従って PCV3 特異遺伝子を検出し、陽性の場合には個別の検体ごとに再度同様の検査を実施した。さらに、陽性検体は塩基配列を決定し、Fux らの方法⁷⁾ に従って ORF2 領域の系統樹解析を実施した。

2 健康豚を用いた検査

PCV3 特異遺伝子が検出された農場を A～J とし、うち 2 農場 (A、B 農場) で健康豚から採取した血清及び口腔液を検体とした。血清は個体ごと、口腔液は豚房ごとに採取した。A 農場では、2016 年 4 月～2018 年 10 月に不定期に 18 回、繁殖候補豚から血清または口腔液 816 検体を採取した。A 農場での採取時期、検体数は表 2 のとおり。B 農場では、

2016 年 4 月～2018 年 4 月に 2～4 か月毎に 11 回、繁殖豚及び 1～6 か月齢の各発育ステージ別に肥育豚から血清または口腔液 303 検体を採取した。B 農場での採取時期は表 3 のとおり。血清は 4～6 検体でプール、口腔液はプールせずに PCV3 特異遺伝子を検出した。A 農場では、陽性の場合には個別の検体ごとに再度同様の検査を実施した。以上から得られた結果を疫学情報、既に実施していた病性鑑定結果と比較、検討した。

III 成績

1 病畜からの検出状況

病性鑑定材料では 19 件 (15.0%)、10 農場 (35.7%)、24 頭 (9.3%) から PCV3 特異遺伝子が検出された。陽性個体では扁桃、肺、脾臓、腎臓、リンパ節、肝臓、腸管、糞便、精巣及び血清から検出され、検体種別の検出割合は表 1 に示した。陽性個体を病性鑑定実施時期順に古いものから No. 1～24 とし、各個体から検出された PCV3 の ORF2 領域系統樹解析の結果は図 1 のとおりで、2 検体 (No. 18、24) は解析ができなかった。PCV3 の ORF2 領域は系統樹解析で a1、a2、b1、b2 の 4 つのクラスターに分類されるが、今回解析した 22 検体は a2 以外に分類され、a1 が 18 検体 (81.8%)、b1 が 1 検体 (4.6%)、b2 が 3 検体 (13.6%) であった。

表 1 PCV3 陽性個体における検体種別の検出状況

| 検体 | 検体数 | 陽性 | 陽性率(%) | 検体 | 検体数 | 陽性 | 陽性率(%) |
|-----------|-----|----|--------|----|-----|----|--------|
| 扁桃 | 24 | 21 | 87.5 | 肝臓 | 1 | 1 | 100.0 |
| 肺 | 24 | 22 | 91.7 | 空腸 | 1 | 0 | 0.0 |
| 脾臓 | 21 | 19 | 90.5 | 回腸 | 2 | 2 | 100.0 |
| 腎臓 | 21 | 7 | 33.3 | 糞便 | 2 | 1 | 50.0 |
| そ径/下顎リンパ節 | 20 | 18 | 90.0 | 皮膚 | 2 | 0 | 0.0 |
| 脳 | 3 | 0 | 0.0 | 精巣 | 1 | 1 | 100.0 |
| 脊髄 | 1 | 0 | 0.0 | 血清 | 4 | 4 | 100.0 |

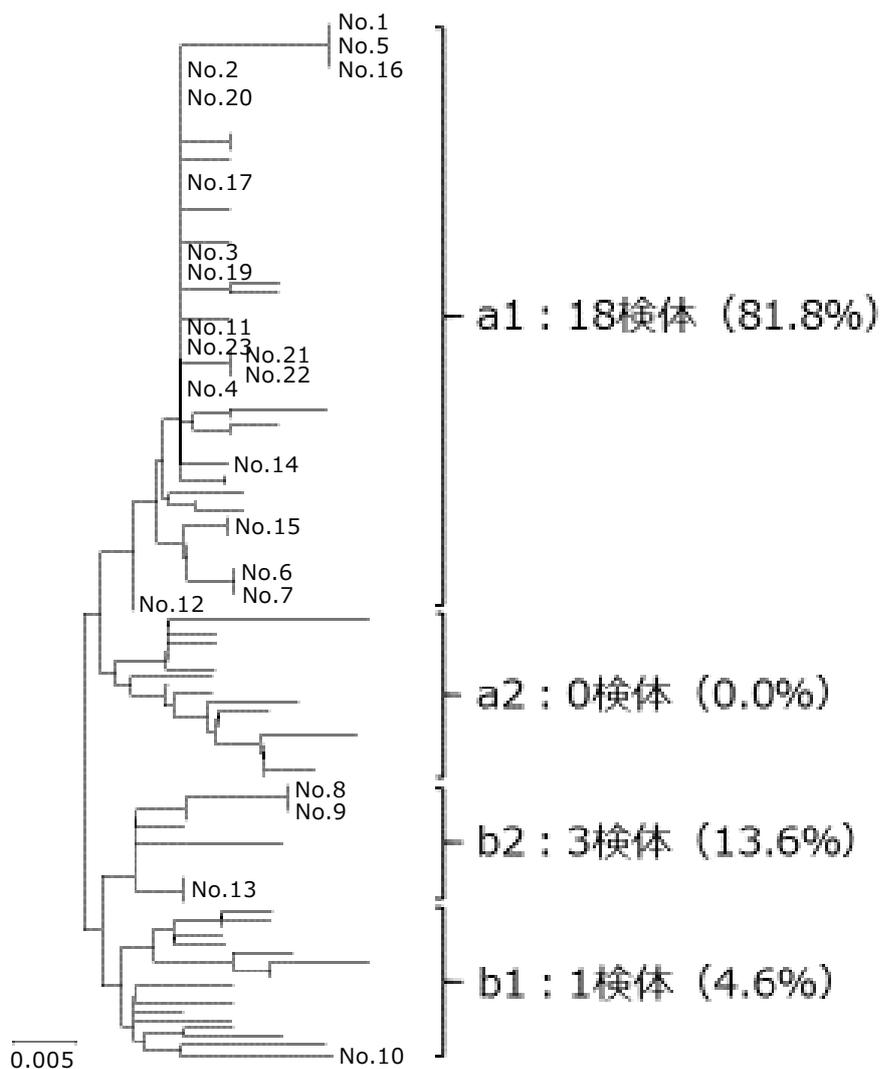


図 1 ORF2 領域の系統樹解析結果

2 健康豚からの検出状況

健康豚からは血清、口腔液両方から PCV3 特異遺伝子が検出された。農場別検出状況を表 2、3 に示した。

表 2 A 農場繁殖候補豚からの PCV3 特異遺伝子検出状況

| | 4月 | 5月 | 6月 | 7月 | 8月 | 9月 | 10月 | 11月 | 12月 | 1月 | 2月 | 3月 |
|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|------|
| 2016 | 1/50 | 2/48 | 2/47 | 2/49 | 2/42 | NT | 0/83 | 1/57 | 2/27 | NT | 0/5 | NT |
| 2017 | NT | NT | NT | 2/48 | 0/20 | 6/43 | 3/48 | 4/43 | NT | 1/55 | NT | 3/51 |
| 2018 | NT | NT | NT | NT | NT | 0/46 | 2/54 | NT | NT | NT | NT | NT |

※陽性検体数/検体数

表 3 B 農場発育ステージ別豚からの PCV3 特異遺伝子検出状況

| 検査時期 | | 発育ステージ (月齢) | | | | | | | |
|------|----|-------------|----|----|----|---|----|----|--|
| 年 | 月 | 繁殖 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
| 2016 | 4 | - | NT | - | - | - | - | NT | |
| | 6 | - | NT | NT | NT | - | - | - | |
| | 8 | NT | NT | NT | NT | - | + | - | |
| | 10 | - | - | - | - | - | + | - | |
| | 12 | NT | NT | NT | NT | + | NT | - | |
| 2017 | 4 | NT | - | - | - | - | - | - | |
| | 6 | - | NT | NT | - | - | - | - | |
| | 9 | - | NT | NT | NT | - | - | - | |
| | 12 | - | - | + | - | + | - | - | |
| 2018 | 2 | - | NT | - | - | + | + | + | |
| | 4 | - | - | + | + | + | NT | - | |

IV 考察

1 本調査の検査結果の考察

今回の調査で、県内において初めて PCV3 特異遺伝子が検出された。病畜からの検出割合は国内外の既報^{1, 2, 3, 5)}と同様であった。過去の報告⁵⁾では臓器による検出率に差はないが、本調査では陽性個体の扁桃、肺、脾臓、リンパ節からの検出率が高く、腎臓からの検出率は低かった(表 1)。

ORF2 領域の分子系統樹解析(図 1)においては、サブクラスターが a1 に分類された株が 8 割以上であった。過去の報告ではサブクラスターの偏りは認められていない⁷⁾が、本調査ではサブクラスターが a1 に偏っていた。a1 に分類された株の中で、No. 2、3、4、11、17、19、20、21、22、23 は 1~2 塩基の相違が認められたのみで、非常に相同性が高い株であった。これらには異なる農場から検出された株が含まれ、Fux らの方法⁷⁾による分類では、ORF2 領域塩基配列の農場間での変異は少なかった。No. 1、5、10、16 は同一農場から検出された株であるが、検出時期はこの順に 2013 年 4 月、2014 年 2 月、2015 年 5 月、2017 年 6 月であり、塩基配列を決定した領域に 4 年間全く変異がない株が検出されている(No. 1、5、16)にも関わらず、その間に別クラスターの株(No. 10)が検出された。また、No. 12、13 も同一農場から検出された株であるが、検出時期はこの順で 2015 年 8 月、同年 9 月であり、検出時期に 1 か月も差がなかった。以上から、農場内で同じ株が常在化しながらも、外部から別株が侵入しているか、農場内に複数株が存在していると考えられた。

健康豚からの検出状況では、A 農場では繁殖候補豚から継続的に検出され、B 農場では幅広い発育ステージの肥育豚から検出された。このことから、陽性農場では PCV3 が常在化し、循環していると考えられた。しかし、A 農場繁殖候補豚では、1 回の検査で 83 頭検査しても全て陰性であった回(2016 年 10 月)があり、最も多く陽性個体が認められた回でも 43 頭中 6 頭(2017 年 9 月)であった。また、B 農場では陽性となる発育ステー

ジが検査ごとに異なることが多かった。以上のことから、PCV3 は豚群内で水平方向に短期間に感染が広がるのではなく、徐々に広がっていくと考えられた。また、陽性頭数が少ないことから、農場内 PCV3 浸潤の有無を調査する際には検体数に注意が必要である。

2 疫学情報との考察

検出農場の所在地は図 2 のとおりであり、県内全域に分布していた。検出農場の飼養形態は、病性鑑定を実施した 28 農場では一貫経営 23 件 (82.1%)、繁殖経営 2 件 (7.1%)、肥育経営 3 件 (10.7%) であり、PCV3 検出 10 農場では同じ順で 9 件 (90.0%)、0 件 (0.0%)、1 件 (10.0%) であった。飼養規模は、病性鑑定を実施した 28 農場では大規模 (3,000 頭以上飼養) が 4 件 (14.3%)、中規模 (6~2,999 頭飼養) が 24 件 (85.7%) であり、PCV3 検出 10 農場では同じ順で 3 件 (30.0%)、7 件 (70.0%) であった。農場内 PCV3 浸潤の有無について、農場の飼養形態や飼養規模による違いは認められなかった。

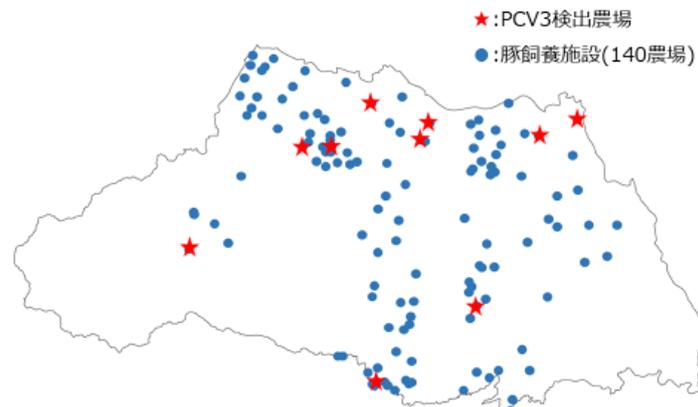


図 2 PCV3 検出農場の所在地

頭数を基にした病畜からの年度別検出割合は、2013 年が 17.1% (6/35)、2014 年が 4.5% (1/22)、2015 年が 22.2% (4/18)、2016 年が 11.8% (2/17)、2017 年が 17.4% (4/23)、2018 年が 16.7% (2/12) であった。2014 年の検出割合が低いのが、豚流行性下痢が国内及び県内で続発したため、下痢症の病性鑑定が増えた影響と考えられた。同様に季節ごとの検出割合は春季 (3~5 月) が 13.3% (4/30)、夏季 (6~8 月) が 20.0% (7/35)、秋季 (9~11 月) が 12.5% (5/40)、冬季 (12~2 月) が 13.6% (3/22) であり、季節による大きな変化は認められなかった。病畜の発育ステージ別陽性割合は、胎子が 0.0% (0/11)、哺乳豚 (0~20 日齢) が 4.9% (2/41)、離乳豚 (21~70 日齢) が 6.1% (7/114)、肥育前期 (71~120 日齢) が 10.8% (7/65)、肥育後期 (121 日齢以上) が 15.8% (3/19)、繁殖豚が 62.5% (5/8) であった。胎子からは検出されず、発育ステージが進むとともに検出率も上昇した。過去の報告では流産事例の胎子から PCV3 特異遺伝子が検出されている¹⁾が、今回の調査では検出されなかった。なお、ORF2 領域のサブクラスター分類と疫学情報の間に相関は認められなかった。

3 その他の病性鑑定成績との考察

検査に供した 258 頭及び PCV3 が検出された 24 頭の臨床症状別の頭数は表 4 のとおりで、それぞれの全頭に対する割合を示した。表中の所見のうち、複数の症状がみられた個体もあった。その中で、皮膚症状または浮腫がみられた個体からの PCV3 陽性割合が他の臨床症状に比べると高かった。前者 2 頭は頭背部及び四肢の皮膚が象皮様であり、病変部から *Staphylococcus hyicus* が分離され、滲出性表皮炎（スス病）と診断されている。後者 3 頭はいずれも眼瞼などに浮腫がみられ、Stx2e 及び F18 を持つ *Escherichia coli* が分離され、浮腫病と診断されている。PCV3 陽性個体においては、過去の報告¹⁾にあるような流産などの周産期疾病はみられず、死亡、発育不良、呼吸器症状が多い傾向であった。

表 4 臨床症状別の PCV3 陽性率

| | 頭数 (X) | 割合(%) (X/全頭) | PCV3 陽性頭数 (Y) | 臨床症状別陽性率(%) | |
|------|-----------|-----------------|---------------------|-------------|------------------|
| | | | | (Y/X) | (Y/PCV3 陽性全頭) |
| 死亡 | 117 | 45.3 | 13 | 11.1 | 54.2 |
| 発育不良 | 126 | 48.8 | 8 | 6.3 | 33.3 |
| 皮膚 | 11 | 4.3 | 2 | 18.2 | 8.3 |
| 呼吸器 | 80 | 31.0 | 9 | 11.2 | 37.5 |
| 消化器 | 48 | 18.6 | 2 | 4.2 | 8.3 |
| 神経 | 26 | 10.1 | 3 | 11.5 | 12.5 |
| 周産期 | 19 | 7.4 | 0 | 0.0 | 0.0 |
| 関節炎 | 6 | 2.3 | 0 | 0.0 | 0.0 |
| 浮腫 | 14 | 5.4 | 3 | 21.4 | 12.5 |

剖検所見は胸腔内臓器の癒着が 6 頭 (25.0%)、胸腔内の線維素析出が 3 頭 (12.5%)、肺の退縮不全が 6 頭 (25.0%)、肺の肝変化が 2 頭 (8.3%)、肺水腫が 3 頭 (12.5%)、肺膿瘍が 1 頭 (4.2%)、脾腫が 3 頭 (12.5%)、腎嚢胞が 2 頭 (8.3%)、腹腔内臓器の癒着が 3 頭 (12.5%)、腹腔内の線維素析出が 3 頭 (12.5%)、腸管の菲薄化が 2 頭 (8.3%)、腸管水腫が 2 頭 (8.3%)、腸間膜リンパ節の腫脹が 12 頭 (50.0%)、体表リンパ節の腫脹が 7 頭 (29.2%)、寄生虫寄生が 2 頭 (8.3%) に認められた。剖検所見には胸腔内の異常所見、いずれかのリンパ節の腫脹が多い傾向にあった。組織所見は表 5 のとおりで表中の所見のうち、複数の症状がみられた個体もあった。1 頭 (No. 24) に PCV に特異的な所見 (ブドウの房状の好塩基性細胞質内封入体) が認められたが、この個体は PCV2 特異遺伝子が検出され、免疫組織化学的検査では上記の所見がみられた部位に一致して PCV2 抗原が検出されたことから豚サーコウイルス関連疾病 (PCVAD) と診断されている。また、12 頭 (50.0%) に間質性肺炎がみられた。PCV3 以外の病検体検出状況は表 6 のとおりである。*Lawsonia intracellularis*、マイコプラズマ、*Pneumocystis jirovecii* は組織所見により診断され、病原体自体は検出されていない。21 頭 (87.5%) が PCV3 以外の病原体と混合感染していた。PCV2、豚繁殖・呼吸障

害症候群 (PRRS) ウイルス、*Haemophilus parasuis*、*Streptococcus suis*、*Pasteurella multocida* は豚呼吸器症状症候群 (PRDC) に関与する病原体であり、16 頭 (66.7%) から検出された。

表 5 PCV3 検出 24 頭の組織所見

| | 頭数 | 陽性率(%) | | 頭数 | 陽性率(%) |
|----------|----|--------|-----------|----|--------|
| PCV様病変 | 1 | 4.2 | 増殖性腸炎 | 1 | 4.2 |
| 間質性肺炎 | 12 | 50.0 | 浮腫病 | 2 | 8.3 |
| カリニ肺炎 | 2 | 8.3 | 化膿性脳炎 | 1 | 4.2 |
| 線維素性胸膜肺炎 | 3 | 12.5 | 化膿性髄膜炎 | 4 | 16.7 |
| 化膿性胸膜肺炎 | 3 | 12.5 | 好酸球性髄膜脳炎 | 1 | 4.2 |
| 肺水腫 | 1 | 4.2 | 化膿性表皮、真皮炎 | 2 | 8.3 |
| マイコプラズマ | 1 | 4.2 | 化膿性リンパ節炎 | 1 | 4.2 |
| 気管支拡張 | 1 | 4.2 | バランチジウム | 1 | 4.2 |
| カタル性腸炎 | 1 | 4.2 | 豚鞭虫 | 2 | 8.3 |

表 6 PCV3 以外の病原体検出状況

| | 頭数 | 陽性率(%) |
|----------------------------------|----|--------|
| PCV2 | 8 | 33.3 |
| PRRSウイルス | 8 | 33.3 |
| <i>Haemophilus parasuis</i> | 1 | 4.2 |
| <i>Streptococcus suis</i> | 3 | 12.5 |
| <i>Pasteurella multocida</i> | 2 | 8.3 |
| <i>Staphylococcus hyicus</i> | 2 | 8.3 |
| <i>Escherichia coli</i> (ST毒素保有) | 3 | 12.5 |
| <i>Lawsonia intracellularis</i> | 1 | 4.2 |
| マイコプラズマ | 1 | 4.2 |
| <i>Pneumocystis jirovecii</i> | 2 | 8.3 |

検査結果のうち、一部を抜粋し表 7 にまとめた。サブクラスター分類とその他の検査結果に相関は認められず、病態との関連は不明であった。本調査では PCV3 が健康豚からも頻りに検出され、病畜においても他病原体と混合感染している場合が多いことから、PCV3 が単独で急性感染症の原因となる可能性は低いと考えられた。その中で、PCV3 が検出された病畜には多様な症状がみられたが、本調査においては呼吸器症状や呼吸器に異常がみられた個体が多く、多くが PRDC 関連病原体と混合感染していた。検査に供した個体には呼吸器症状を呈した個体が多く、発症の主要因とは考えにくい、PCV3 も PRDC に関与している可能性があった。3 頭 (No. 5、12、16) からは、実施した検査では PCV3 以外の病原体が検出されなかった。No. 5 は死後変化により詳細な病理学的検査が実施できなかったが、No. 12 では呼吸器症状などを伴う間質性肺炎、No. 16 では起立不能などの神経症状を伴う好酸球性髄膜脳炎が認められた。症例数が少なく、不明な点が多いが、これらの病態に PCV3 が関与している可能性も考えられた。今後、PCV3 症例を増やし、

知見を蓄積する必要がある。

表 7 検査結果のまとめ

| No. | 農場 | 検査実施 | | ORF2 | 臨床症状 | 組織所見 | | | 混合感染 | | | 診断 |
|-----|----|------|------|------|-------------------|------------|-----------|-----------------------|--------------------------|------|----------------------------|-------------------|
| | | 年 | 月 | | | PCV様 病変 | 間質性 肺炎 | 他 | PCV2 | PRRS | 他病原体 | |
| 1 | B | 2013 | 4 | a1 | 死亡 | - | - | 線維索性胸膜肺炎 | + | - | <i>S. suis</i> | 豚レンサ球菌症 |
| 2 | C | | 7 | a1 | 発育不良 | - | - | マイコプラズマ | + | - | マイコプラズマ 豚鞭虫 | 豚マイコプラズマ 豚鞭虫 |
| 3 | C | | 7 | a1 | 発育不良 | - | - | 気管支拡張 | + | - | 豚鞭虫 | 気管支拡張症 |
| 4 | D | 2014 | 1 | a1 | 死亡 | - | - | 化膿性髄膜炎 | - | - | <i>S. suis</i> | 豚レンサ球菌症 |
| 5 | B | | 2 | a1 | 死亡 | - | - | なし (死後変化) | - | - | なし | 原因不明 |
| 6 | E | | 3 | a1 | 死亡 | - | + | 浮腫病様 | - | + | <i>E. coli</i> (ST毒素保有) | 浮腫病 PRRS |
| 7 | E | | 3 | a1 | 死亡 | - | + | 浮腫病様 | - | + | <i>E. coli</i> (ST毒素保有) | 浮腫病 PRRS |
| 8 | F | | 11 | b2 | 下痢 | - | + | カリニ肺炎 化膿性リンパ節炎 | - | - | <i>P. jirovecii</i> | 鉄欠乏性下痢症 カリニ肺炎 |
| 9 | F | | 11 | b2 | 下痢 | - | + | カリニ肺炎 | - | - | <i>P. jirovecii</i> | 鉄欠乏性下痢症 カリニ肺炎 |
| 10 | B | | 2015 | 5 | b1 | 死亡 | - | - | 細菌の関与を 疑う肺炎 (死後変化) | - | - | 細菌感染 |
| 11 | A | 6 | | a1 | 死亡 呼吸器 神経 | - | + | 線維索性化膿性 胸膜肺炎 | - | - | <i>S. suis</i> | 豚レンサ球菌症 |
| 12 | D | 8 | | a1 | 死亡 呼吸器 浮腫 | - | + | なし | - | - | なし | 原因不明 |
| 13 | D | 9 | | b2 | 死亡 浮腫 | - | - | 化膿性髄膜炎 増殖性腸炎 | - | - | <i>L. intracellularis</i> | 増殖性腸炎 バラランチジウム |
| 14 | G | 2016 | 8 | a1 | 死亡 呼吸器 | - | - | なし | + | - | <i>E. coli</i> (ST毒素保有) | 浮腫病 |
| 15 | H | | 10 | a1 | 死亡 神経 浮腫 | - | - | 肺水腫 化膿性肺炎 化膿性脳炎 | - | - | 細菌感染 | 細菌性脳脊髄炎 細菌性肺炎 |
| 16 | B | 2017 | 6 | a1 | 神経 | - | - | 好酸球形髄膜脳炎 | - | - | なし | 原因不明 |
| 17 | I | | 9 | a1 | 発育不良 呼吸器 | - | - | なし | - | + | なし | PRRS |
| 18 | I | | 9 | 不明 | 発育不良 呼吸器 | - | + | なし | + | + | <i>P. multocida</i> | PRRS |
| 19 | I | | 9 | a1 | 発育不良 呼吸器 | - | + | なし | - | + | <i>P. multocida</i> | PRRS |
| 20 | A | 2018 | 1 | a1 | 死亡 発育不良 呼吸器 | - | - | なし (死後変化) | + | + | なし | 原因不明 |
| 21 | J | | 3 | a1 | 皮膚 | - | + | 化膿性表皮炎 化膿性真皮炎 | - | - | <i>S. hyicus</i> | 滲出性表皮炎 (スス病) |
| 22 | J | | 3 | a1 | 皮膚 | - | + | 化膿性表皮炎 化膿性真皮炎 | - | - | <i>S. hyicus</i> | 滲出性表皮炎 (スス病) |
| 23 | A | | 6 | a1 | 発育不良 呼吸器 | - | + | 化膿性胸膜肺炎 化膿性髄膜脳炎 | + | + | <i>H. parasuis</i> | グレーサー病 PRRS |
| 24 | G | | 11 | 不明 | 死亡 呼吸器 | + | + | なし | + | + | なし | PRRS PCVAD |

V 謝辞

遺伝子解析を実施し、多くのご助言をいただいた農研機構 動物衛生研究部門 生物学的製剤製造グループ 高木道浩 製造科長に深謝します。

VI 引用文献

- 1) Palinski et al. : A novel porcine circovirus distantly related to known circoviruses is associated with porcine dermatitis and nephropathy syndrome and reproductive failure. J Virol. 91:e01879-16. (2016)
- 2) Ku et al. : Identification and genetic characterization of porcine circovirus type 3 in China. Transbound Emerg Dis. 64:703-8. (2017)
- 3) Stadejek et al. : First detection of porcine circovirus type 3 on commercial pig farms in Poland. Transbound Emerg Dis. 64:1350-3. (2017)
- 4) Collins et al. : Porcine circovirus type 3 in the UK. Vet Rec. 181:599. (2017)
- 5) 林ら : 近年の日本国内における豚サーコウイルス 2 型及び 3 型の分子疫学的調査. 日本豚病研究会報. No. 72:16-23. (2018)
- 6) Phan et al. : Detection of a novel circovirus PCV3 in pigs with cardiac and multi-systemic inflammation. Virol J. 13:184. (2016)
- 7) Fux et al. : Full genome characterization of porcine circovirus type 3 isolates reveals the existence of two distinct groups of virus strains. Virol J. 15:25. (2018)