

## 1 8 国内初の豚の悪性カタル熱の疫学的考察

倉吉家畜保健衛生所 ○黒田萌黄 増田恒幸 岡田綾子 柄裕子 中村耕太郎

### 1 はじめに

悪性カタル熱（MCF）はヘルペスウイルスによる感染症で、ウシカモシカ媒介型（WA-MCF）と羊随伴型（SA-MCF）に分類される。前者はウシカモシカを自然宿主とし、後者はめん羊を自然宿主とする。原因病原体はそれぞれ異なり、WA-MCFはウシカモシカヘルペスウイルス1型、SA-MCFはヒツジヘルペスウイルス2型（OvHV-2）を病原体とする。中でもSA-MCFは、牛の他、バイソン、鹿および豚等が感受性動物となる。SA-MCFは世界中で発生報告があり、日本でも牛および鹿での発生報告がある。豚での発生事例は海外のみで(1-5)、めん羊と同居飼育による発生も報告されている(1-4)。SA-MCFの自然宿主であるめん羊は、6~9ヶ月齢でウイルスを排出し、3~6ヶ月齢の子羊にウイルスを伝播すると考えられている(6)。また、めん羊は母乳を介して垂直感染する場合もある(6)。牛などの感受性動物への感染様式は、ウイルスを排出している若齢のめん羊からの水平感染である。感受性動物は、一般的には発熱、鼻汁および神経症状などを呈し、7~18日で死亡する。しかし、甚急性型では発熱や口腔粘膜の炎症を呈し、1~3日で死亡する場合もある。

今回、鳥取県内の一農場で、国内で初となる豚(ミニブタ)のSA-MCFが発生したので、その概要および得られた疫学的な知見を報告する。

### 2 発生概要

平成283月、複数の動物種を飼養する管内の教育農場で4頭飼っていたミニブタのうち1頭が突然死し、同月に更に2頭が死亡した。残る1頭も衰弱し、最終的に5月に鑑定殺を行った(表1)。発生農場では平成27年10月に県外より未經産のメスのめん羊2頭及び若齢のオスのめん羊1頭を導入し、発症したミニブタと同じ畜舎で飼養していた(表1)。

表1. 当該農場での発生概要

| 月日         | 発生状況   |
|------------|--|
| 平成27年10月   | 県外から子ヒツジを3頭導入<br>(平成27年5月生まれのオス1頭、<br>平成27年2月生まれのメス2頭) |
| 平成28年3月初旬  | 4頭飼っていたミニブタのうちの1頭が突然死                                  |
| 平成28年3月7日  | さらに1頭が死亡(ミニブタ①)、病性鑑定実施                                 |
| 平成28年3月10日 | 同居ヤギとミニブタ②が死亡、<br>最後のミニブタ③も衰弱(最終的に5月に淘汰)               |

### 3 材料および方法

(1) 病理解剖および病理組織学的検索

死亡および鑑定殺したミニブタの主要臓器について、病理解剖の後、15%中性緩衝ホルマリンで固定後、定法に従いHE染色を行った。また、豚サーコウイルス否定のため、死亡したミニブタの小腸および腸間膜リンパ節について、抗PCV2兔血清を用いた免疫染色を実施した。

## (2) ウイルス学的検索

死亡または鑑定殺したミニブタおよびミニブタと同居飼養していた3頭のめん羊について、表2に示す材料を用い、0vHV-2のテグメントタンパクを標的としたsemi nested-PCR(7)を行った。このうち、ミニブタ①の回腸およびオスめん羊の血液由来のPCR産物を鋳型に、ダイレクトシーケンス法により部分塩基配列を決定した。また、採材した一部の検体については、豚コレラ否定のため、ペスチウイルス

表2. ウイルス検査に用いた材料および行った検査

| 検体                          | 採材日   | 材料                    | 目的           |
|-----------------------------|-------|-----------------------|--------------|
| ミニブタ①<br>(平成28年<br>3月7日死亡)  | 3月7日  | 回腸                    | 0vHV-2遺伝子の検出 |
|                             |       | パラフィン包埋材料             | 豚コレラ否定       |
| ミニブタ②<br>(平成28年<br>3月10日死亡) | 3月10日 | パラフィン包埋材料<br>(脾・腎・回腸) | 豚コレラ否定       |
| めん羊<br>(3頭)                 | 3月23日 | EDTA血<br>鼻腔スワブ        | 0vHV-2遺伝子の検出 |
| ミニブタ③<br>(平成28年<br>5月2日死亡)  | 3月23日 | 鼻腔スワブ                 | 0vHV-2遺伝子の検出 |
|                             | 5月2日  | 腎臓、脾臓、肝臓、<br>扁桃および回腸  | 0vHV-2遺伝子の検出 |

属に共通の領域を標的としたRT-PCR(8)を行った。さらに、めん羊のウイルス排出状況および血液内のウイルス保有状況を確認するため、3頭のめん羊の鼻腔スワブおよび血液を継続的に約9ヶ月間採材した。採材した鼻腔スワブおよび血液は、0vHV-2のテグメントタンパクを標的としたrealtime PCRによりウイルス量の定量を行った。

## 4 検査成績

### (1) 病理解剖および病理組織学的検索

病理解剖を行った3頭に認められた肉眼所見を表3に示す。ミニブタ①および②では過肥や腸気泡症のほか、MCFに特徴的な回盲腸粘膜の潰瘍が認められた。ミニブタ③では腹膜炎、腎臓の重度腫大、白内障および小脳髄膜炎等が認められた。

表3. 死亡(鑑定殺)したミニブタの病理解剖で認められた肉眼所見

| 個体番号<br>(死亡または鑑定殺した年月日) | 肉眼所見   |
|-------------------------|--|
| ミニブタ①<br>(平成28年3月7日死亡)  | 過肥、肺胸膜炎とうっ血水腫、腸気泡症、胃潰瘍、回腸粘膜肥厚とボタン状潰瘍                         |
| ミニブタ②<br>(平成28年3月10日死亡) | 過肥、肺胸膜炎と出血、右心室拡張、肝うっ血、腸気泡症、回盲部潰瘍、腸間膜リンパ節赤色極小                 |
| ミニブタ③<br>(平成28年5月2日鑑定殺) | 削瘦、白内障、肝癒着・肉づく肝、脾臓萎縮・癒着、腎腫大・点状出血、腸管癒着、消化管漿膜面・大網黄白色顆粒状物、小脳髄膜炎 |

病

理組織学的検索では、単核細胞浸潤を伴う全身性の壊死性血管炎、全身諸臓器における非化膿性炎と浸潤細胞の変性および複数のリンパ系組織における壊死が認められた(図1および図2)。また、偽膜形成を伴う肉芽腫性小腸炎、気腫を伴う壊死性肉芽腫性腸間膜炎、大腸の壊死性炎が認められた。抗PCV2兔血清を用いた免疫染色では、陽性抗原は確認されなかった。

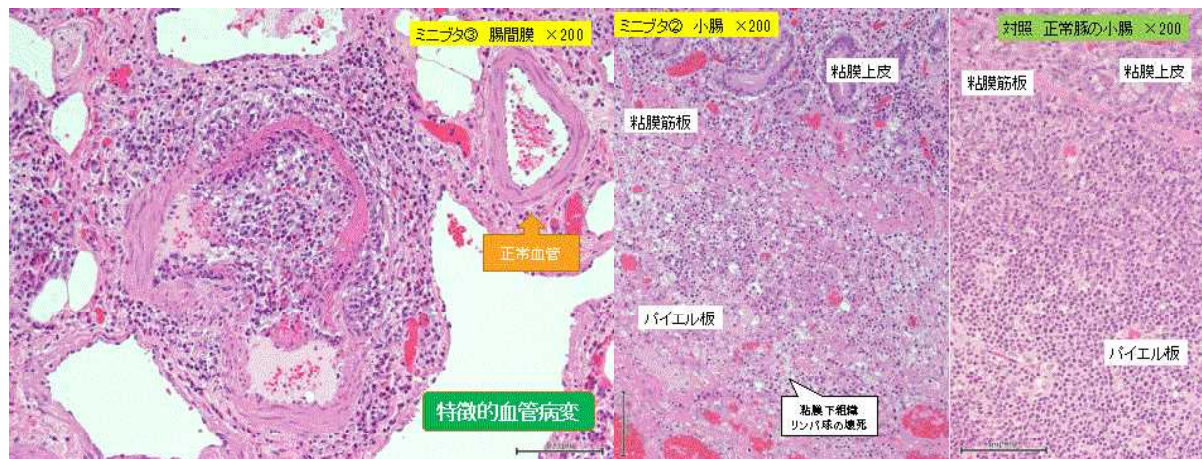


図1. 単核細胞浸潤を伴う壊死性血管炎

図2. 回腸パイエル板における壊死

## (2) ウイルス学的検索

死亡したミニブタおよびめん羊から採材した材料(表2)を用い、0vHV-2を標的としたPCRを行ったところ、死亡または鑑定殺したミニブタの諸臓器から0vHV-2遺伝子が検出された。豚コレラウイルスはいずれの検体からも検出されなかった(表4)。

表4. 0vHV-2および豚コレラウイルス遺伝子検査結果

| 検体                          | 採材日   | 材料                    | 目的           | PCR結果※ |
|-----------------------------|-------|-----------------------|--------------|--------|
| ミニブタ①<br>(平成28年<br>3月7日死亡)  | 3月7日  | 回腸                    | 0vHV-2遺伝子の検出 | +      |
|                             |       | パラフィン包埋材料             | 豚コレラ否定       | -      |
| ミニブタ②<br>(平成28年<br>3月10日死亡) | 3月10日 | パラフィン包埋材料<br>(脾・腎・回腸) | 豚コレラ否定       | -      |
| めん羊<br>(3頭)                 | 3月23日 | EDTA血<br>鼻腔スワブ        | 0vHV-2遺伝子の検出 | +      |
| ミニブタ③<br>(平成28年<br>5月2日死亡)  | 3月23日 | 鼻腔スワブ                 | 0vHV-2遺伝子の検出 | -      |
|                             | 5月2日  | 腎臓、脾臓、肝臓、<br>扁桃および回腸  | 0vHV-2遺伝子の検出 | +      |

※ PCR結果の+はウイルス遺伝子が検出されたことを、  
-はウイルス遺伝子が検出されなかったことを示す。

このうち、ミニブタ①の回腸およびオスめん羊の血液由来のPCR産物を鋳型に、ダイレクトシーケンス法により部分塩基配列を解読したところ、それぞれ231塩基対を解読する

ことができた。両者の塩基配列は完全に一致し、既報の0vHV-2の部分塩基配列と100%の相同性を示した(図3)。

めん羊3頭について、約1ヶ月に1回の頻度で採材を行い、鼻腔からのウイルス排出状況および血液内のウイルス保有状況を確認した。発生当時の3月時点では、3頭のうち2頭からウイルス排出が認められ、その後、6月まで少なくとも1頭からウイルス排出が認められた(図4)。いずれの個体も血中ウイルス量は変動が大きく、ウイルス排出と血中ウイルス量との間の関連性については不明であった。

| 発症豚・ヒツジ由来0vHV-2・既知の0vHV-2比較 |   |       |  |
|-----------------------------|---|-------|--|
| 発症ミニブタ                      | GGG TAT ATG AAT CCA GAT GGC TCT CGG TTA GGG TAT CCG | [ 39] |  |
| 同居羊                         | .....   | [ 39] |  |
| 既知配列                        | .....   | [ 39] |  |
| 発症ミニブタ                      | AAA GCA GCC CCA GTA TCA TGC TGA CCC CTT GCA GAG GAA | [ 78] |  |
| 同居羊                         | .....   | [ 78] |  |
| 既知配列                        | .....   | [ 78] |  |
| 発症ミニブタ                      | TGG TCC TGC CTT GCT GGG TCC AGG GCA CGT ACC TGG GAC | [117] |  |
| 同居羊                         | .....   | [117] |  |
| 既知配列                        | .....   | [117] |  |
| 発症ミニブタ                      | TCT CTT ACA GTG CGG ACG GCG TGG AAG ACA GTT TAT TTC | [156] |  |
| 同居羊                         | .....   | [156] |  |
| 既知配列                        | .....   | [156] |  |
| 発症ミニブタ                      | AGA CAA ACA CGG TAG CCT GCT CCT ACC ACG GTC AGT CCA | [195] |  |
| 同居羊                         | .....   | [195] |  |
| 既知配列                        | .....   | [195] |  |
| 発症ミニブタ                      | AGA CCC CCG AAG COT TCG CTC GCC ACT ACC CCA GAA     | [231] |  |
| 同居羊                         | .....   | [231] |  |
| 既知配列                        | .....   | [231] |  |

・は同じ塩基であることを示す

図3. 発症ミニブタ、めん羊および0vHV-2既知配列の部分塩基配列比較結果

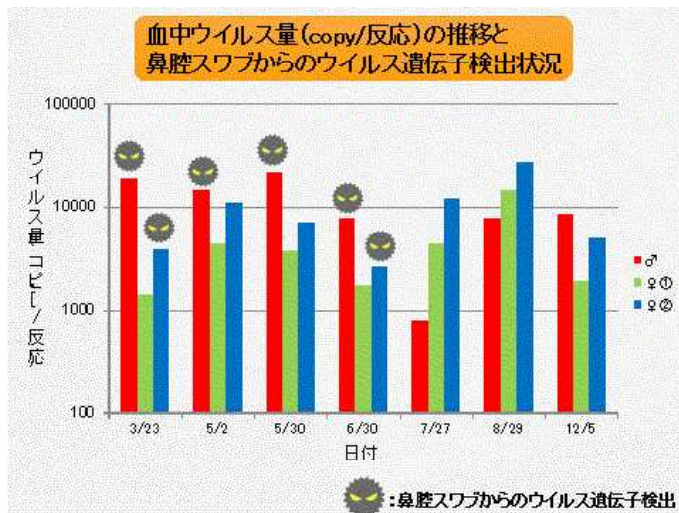


図4. めん羊からのウイルス排出および血中ウイルス量  
縦軸はウイルス量(コピー数/反応)、横軸は採材日を示す。

## 5 考察およびまとめ

ウイルス学的な検査結果および疫学的背景から本事例ではめん羊からミニブタへ0vHV-2が感染し、SA-MCFを発症したと強く疑われた。また病理組織学的検索結果では、SA-MCFに特徴的な壊死性血管炎等が認められた。これらの検査結果を総合して、本事例をSA-MCFと確定診断した。日本におけるSA-MCFは一般的に牛の疾病として認知されているが、本事例により、海外で報告があるようにめん羊から豚への感染も起こりうることを示唆された。また、めん羊への継続的なモニタリング調査の結果、3頭のめん羊は血中にウイルスを継続保有していることが確認された。初乳を介しての垂直感染のリスクも報告されていることから、体内にウイルスを継続保有することによる新生めん羊への垂直感染も注意が必要であると考えられた。さらに、過去の文献ではウイルスを排出する月齢は6~9ヶ月齢とさ

れているが(6)、本事例では13～16ヶ月齢のめん羊でもウイルス排出が確認された。このことから、過去の文献に記載されている月齢よりも高齢でのウイルス排出の可能性が示唆された。産業動物分野では、牛などの感受性動物とめん羊が同時飼養されているケースは多くないが、動物園などの動物集合施設ではめん羊と他の反芻動物が同居する機会が多い。このため、そのような施設でのめん羊と感受性動物の同居飼養について、改めて注意喚起が必要と考えられる。

発生農場ではその後、農場スタッフを交えた勉強会を開催し、めん羊と他の感受性動物が接触しないような飼養管理方法について指導を行った。以降、牛や豚などにおけるMCFの続発はない。めん羊がウイルスを継続保有している状況であることも鑑み、今後も定期的にモニタリングを行いながら、めん羊と他の感受性動物の隔離飼養など、他の動物へウイルスを感染させないような対策を継続していく予定である。

## 6 謝辞

本稿を終えるにあたり、OvHV-2遺伝子の解析を行って頂きました東京農工大学農学部国際家畜感染症防疫研究教育センターの水谷拓也先生、土赤忍先生に深謝いたします。

## 7 参考文献

1. Alcaraz, A et al., Naturally occurring sheep-associated malignant catarrhal fever in North American pigs. *J vet Diagn Invest*, 2009. 21 p. 250-253
2. Lapp, S et al., Malignant catarrhal fever in a Vietnamese pot-bellied pig. *Tierärztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere*, 2015. 43(3) p. 165-8
3. Syrjala, P et al., Malignant catarrhal fever in pigs and a genetic comparison of porcine and ruminant virus isolates in Finland. *Veterinary Record*, 2006. 159 p. 406-409
4. Wessels, M., et al., Malignant catarrhal fever in kune kune pigs in the UK. *Veterinary Record*, 2011. 169 p. 156a
5. Costa E., et al., Transmission of Ovine Herpesvirus 2 from Asymptomatic Boars to Sows. *Emerging Infectious Disease*, 2010. 16(12) p. 2011-2012
6. OIE, Malignant catarrhal fever, [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal\\_Health\\_in\\_the\\_World/docs/pdf/Disease\\_cards/MALIGNANT\\_CATHARRAL\\_FEVER.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Disease_cards/MALIGNANT_CATHARRAL_FEVER.pdf)
7. Baxter SI et al., PCR detection of the sheep-associated agent of malignant catarrhal fever. *Archives of Virology*, 1993. 132(1-2) p. 145-59
8. Vilcek S., et al., Pestivirus isolated from pigs cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis. *Archives of Virology*, 1994. 136 p. 309-323.