

愛知県における豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスの遺伝子解析状況

中央家畜保健衛生所 くめ久米 あきら顕、つじ辻 りょうこ遼子

【はじめに】

豚繁殖・呼吸障害症候群（以下、PRRS）は繁殖障害や呼吸器症状、発育不全を引き起こし、養豚場に甚大な損害を起こす疾病である[1]。本疾病の原因となる PRRS ウイルス（以下、PRRSV）はウイルス排出期間が長いため、農場内で常在化しやすく、また遺伝子変異頻度が高いため、再感染が起こりやすいことで知られている[2]。本県では平成 24 年から農場における PRRSV の浸潤状況を検査し、その経済的損失を軽減する取り組みを実施しており、検査の一環として PRRSV が検出された場合、遺伝子解析を実施している。今回、令和元年から令和 5 年 11 月までに実施した遺伝子解析の状況について報告する。

【材料と方法】

令和元年から令和 5 年にかけて採材された県内農場で採材された豚の血清、去勢睾丸滲出液、口腔液等の検体から PRRSV 特異的遺伝子が検出された 329 検体を材料とした。各検体から抽出した RNA を用いて、ORF5 遺伝子領域を RT-PCR により増幅し、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。外部検査機関で遺伝子解析された 790 検体分の塩基配列と併せ、合計 1,119 検体について MEGA7 及び BLAST を用いて、分子系統樹解析及び相同性解析を実施した。分子系統樹解析は既存の PRRSV 各クラスター株と共に近隣接合法により実施し、クラスター分類を行った。また、相同性解析では、検出された株やワクチン株間での比較のほか、農場間での相同性比較を行った。

【結果及び考察】

(1) PRRSV クラスター検出状況

今回検出された PRRSV は全て北米型であり、5 つのクラスターに分類される[3]。各クラスターの検出割合は、クラスターⅡが最多の 545 株（48.7%）、クラスターⅢが 498 株（44.5%）、クラスターⅠが 75 株（6.7%）、クラスターⅣが 1 株（0.1%）で、クラスターⅤは検出されなかった（図 1）。

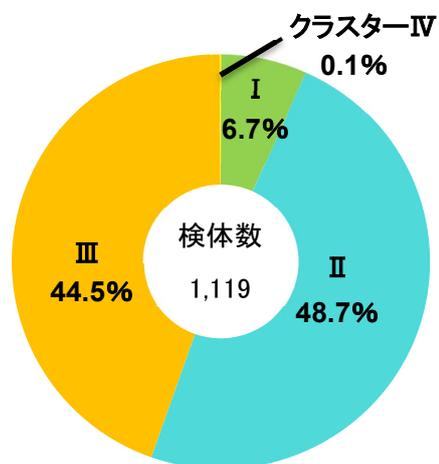


図 1 各クラスターの検出割合

次に年度ごとの各クラスターの検出状況を調査した。令和2年に野外株であるクラスターⅢが侵入する事例が続いたため、野外株が検出された農場が60%を越えた。しかし、令和3年以降、対策としてワクチン接種を開始する農場が増加したことで、農場内に浸潤していた野外株がワクチンと相同性の高いクラスターⅠやⅡの株に置き換わり、感染状況の改善した農場が増えた。

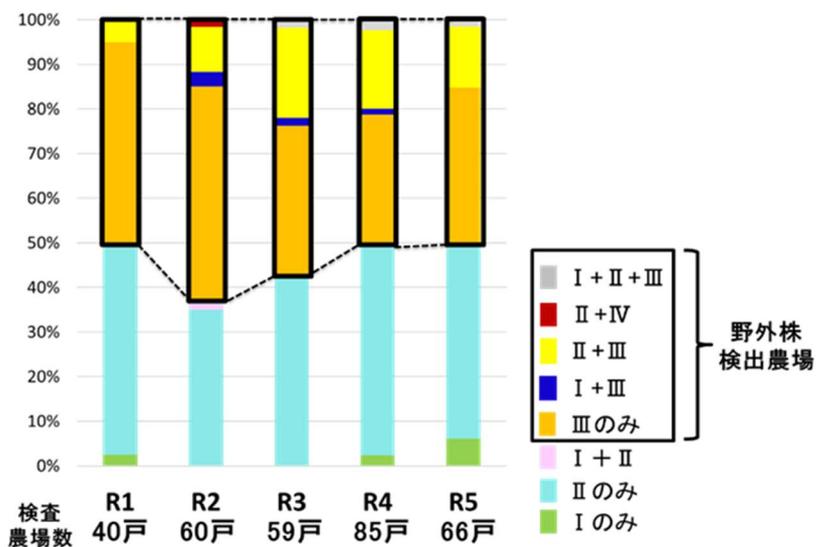


図2 年度ごとの各クラスター検出農場割合

令和5年時点で野外株が検出された農場は全体の50%まで減少した(図2)。

(2) 各クラスターの解析結果

農場ごとに各クラスターの代表的な1~2株を抽出して解析を行い、農場間での比較を行った。PRRSVが検出された農場をそれぞれA~ELまでのアルファベットで表記する。

① クラスターⅠについて

クラスターⅠの株は、8農場で検出された。そのうち6農場では、ワクチン株と相同性が高い株が検出されたが、農場A0及び農場CDでは、ワクチン株との相同性の低い(85.76~88.58%)株が検出された。この2農場については、以前から同様の野外株が複数回検出されていた(図3)。

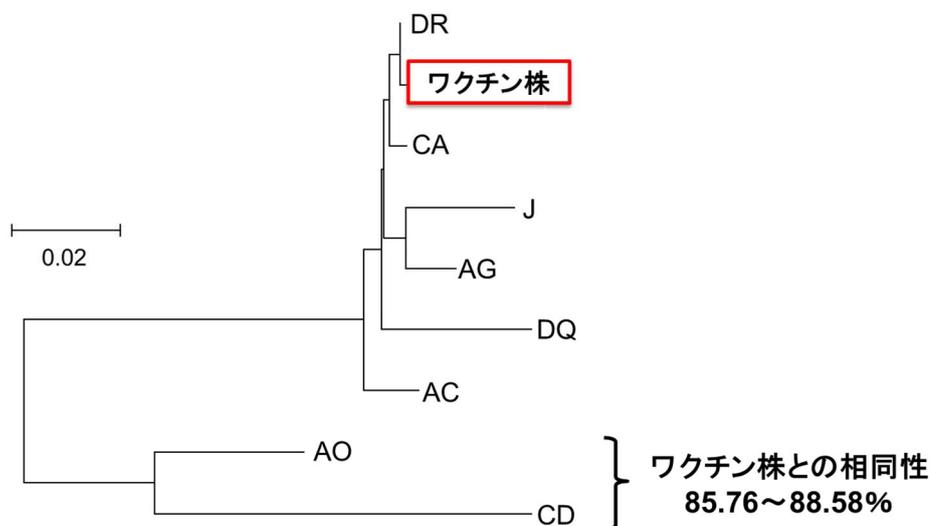


図3 クラスターⅠの系統樹解析結果

② クラスターⅡについて

クラスターⅡの株は、70農場で検出された（図4）。そのうち38農場の株は、ワクチン株との相同性が98%以上のワクチン由来と考えられる株であった。

ORF5 遺伝子領域については、豚間で感染を繰り返すことで1年間に0.5~1%の変異率を示すことが確認されており[4]、2つの異なる株が遺伝的に関係するかどうかの指標は、相同性97~98%に設定されている[5]。そのため、ワクチン株との相同性が98%未満であった農場の株については、ワクチン株との相同性比較だけではワクチン由来株か判断できないため、経時的な変化を確認する必要がある。

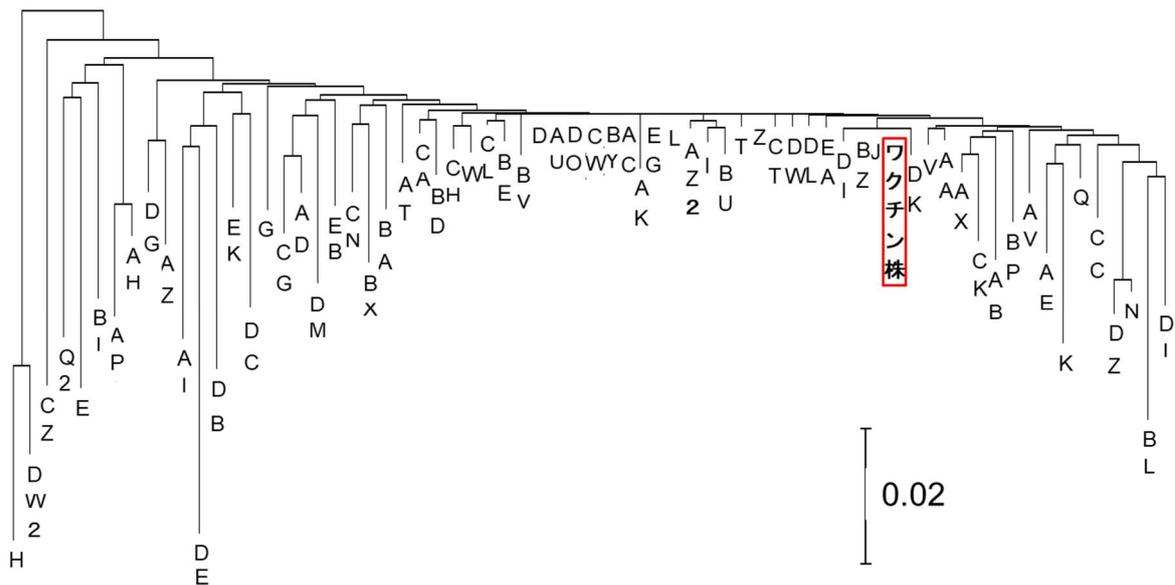


図4 クラスターⅡの系統樹解析結果

直近で検出された株がワクチン株との相同性98%未満であった農場Kでは、平成27年に検出された株はワクチン株との相同性が98.5%であったが、年間0.3~1%の変異を繰り返し、令和5年6月に検出された株は相同性が96%であった。このことから農場Kの株はワクチン由来ではあるものの、変異を繰り返したことで、農場独自のクラスターⅡ株になっているものと推察された（図5）。

直近で検出された株が相同性98%未満であったその他32農場についても、相同性解析の結果、農場K同様、ワクチン由来と推察される株が検出されていた。

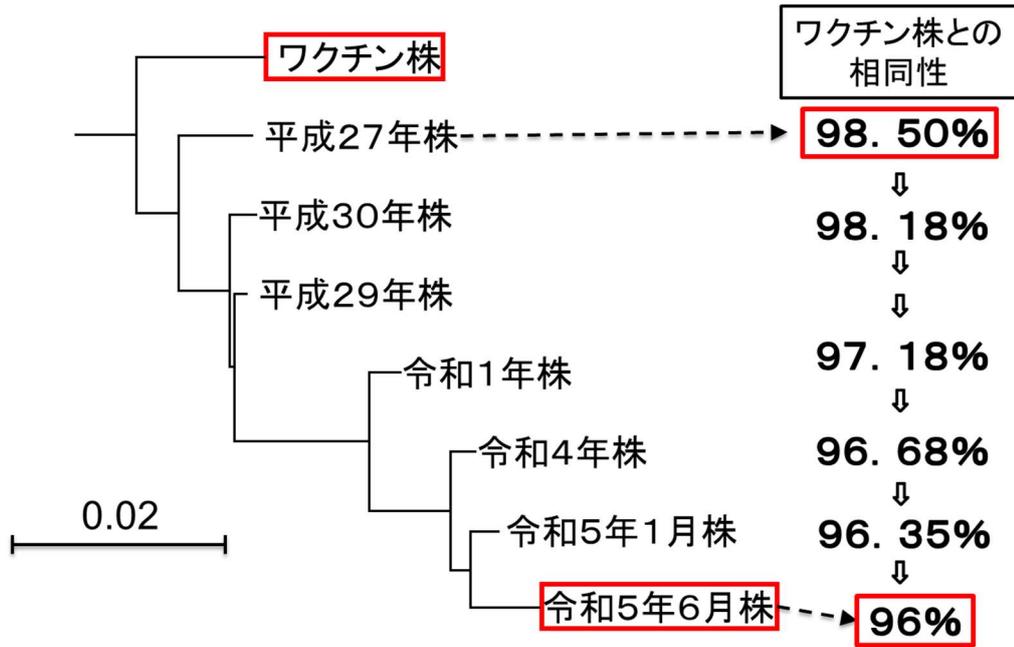


図5 農場Kの株についての系統樹解析結果

③ クラスタIIIについて

クラスタIIIは63農場で検出された(図6)。多くは農場ごとに独自の株が検出されたが、同一の市や町内の農場で株間の相同性が比較的高く、地域性が認められた。特に養豚場が密集している地域では、図6の赤囲みで示したように、相同性98%以上の同一株由来と推察される株が複数の農場で検出された。

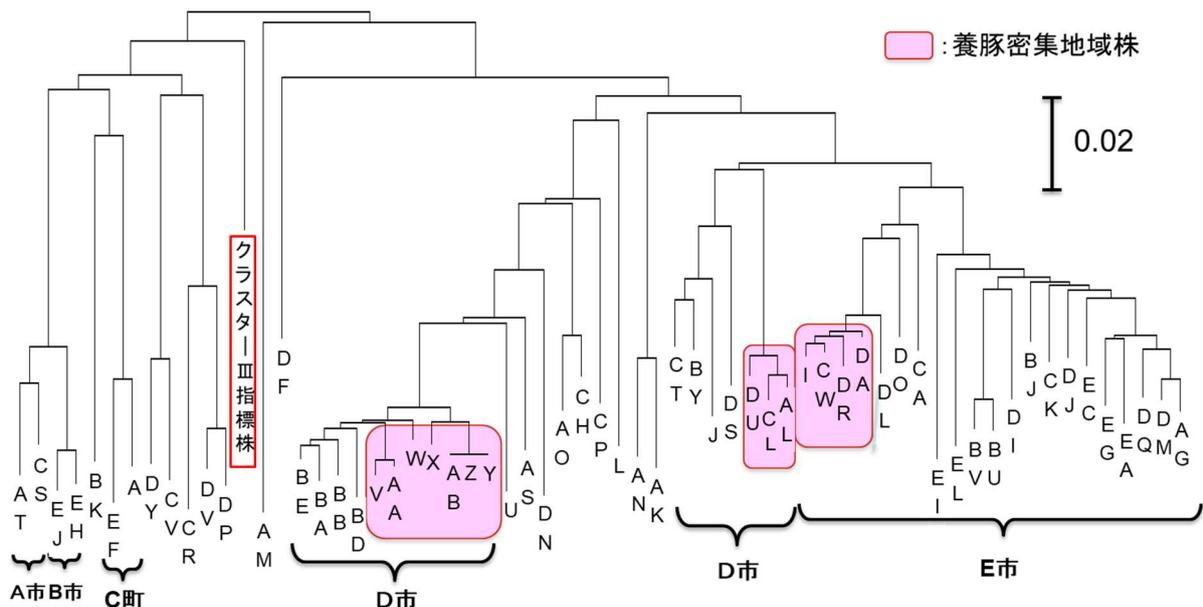


図6 クラスタIIIの系統樹解析結果

(3) 新規野外株侵入事例について

調査期間中にいくつかの農場で新規株の侵入が確認された。そのうち農場 AA では、令和 2 年以降クラスターⅢの株が検出されていたが、令和 3 年 5 月に去勢睾丸滲出液から採材された株と直前の令和 3 年 2 月に検出された株との相同性が低い(88.4%)株を検出された(図 7)。この株について県内農場すべての株と比較したが、最も相同性の高い株で 96%であり、相同性 98%以上の株は見られず、明確な侵入経路の解明はできなかったが、農場 AA では新たな野外株が検出されたため、この段階で対策方法を再検討し、ワクチンプログラムを変更した。

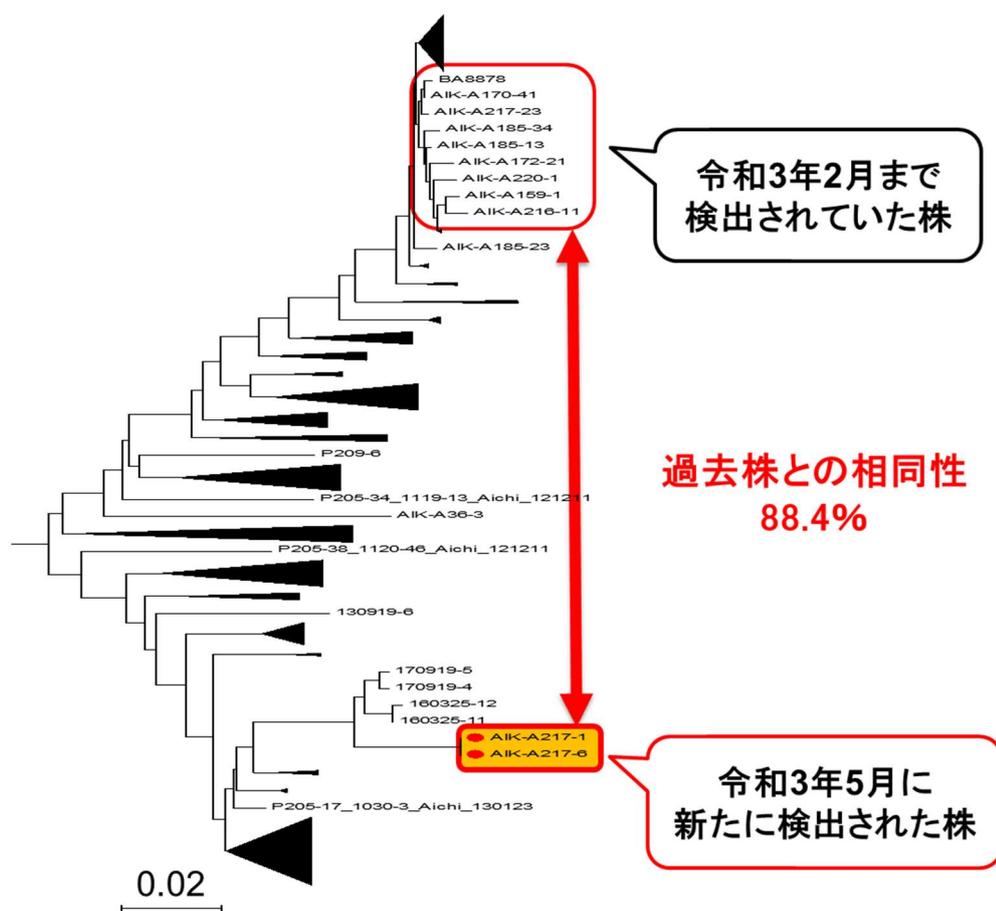


図 7 農場 AA の新規野外株についての系統樹解析結果

【まとめ】

県内に浸潤している株は、クラスターⅡ、Ⅲが中心で平成 27 年の愛知県内の浸潤状況 [6]と同様の傾向を示した。検出されたクラスターⅠ及びⅡの株については、概ねワクチン由来と推察される株であった。塩基配列の相同性を確認することで、ワクチン株及び過去株由来であるかどうかの推察が可能である。しかし、病原性は ORF5 遺伝子領域の情報だけでは判断できない。そのため、病原性の有無については臨床症状を考慮し判断する必要がある。

定期的に遺伝子解析を行うことで、農場の PRRS 対策の効果を確認することができ、実際に感染状況が改善されつつある農場が確認された。新規野外株の侵入を確認した際には、農場のバイオセキュリティ対策の見直しにつながっている。今後もデータを集積しつつ、有効に活用し、適切な現場指導につなげて農場の PRRS 対策に貢献したい。

参考文献

- [1] 山根逸郎ら：PRRS の発生にかかわる呼吸器疾患による経済的な損失調査, 日本豚病研究会報, 8-13 (2009)
- [2] 恒光裕：日本の養豚産業で問題となっている常在性ウイルス感染症, 日本ウイルス学会誌ウイルス第 59 巻 第 2 号, 167-178(2009)
- [3] M.Yoshii, et al: Genetic variation and geographic distribution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Japan, Arch Virol, 150(2005)
- [4] 小野里洋行ら：PRRS 生ワクチン接種農場で検出されるワクチン由来株の遺伝子解析, 令和 2 年度新潟県家畜保健衛生業績発表会集録, 9(2021)
- [5] Michael P. Murtaugh: Use and interpretation of sequencing in PRRSV control program, Allen D. Lemam Swine Conference, 39(2012)
- [6] 奥村貴樹：愛知県で検出された豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスの遺伝子解析状況, 第 56 回愛知県畜産技術業績発表会抄録, 16(2015)