

【短 報】

哺乳豚における豚熱ワクチン免疫付与に関する野外追跡調査

家畜衛生試験場

○石井 圭子 渡嘉敷美波 ほか

中央家畜保健衛生所

荒木 美穂

畜産課

高木和香子

【背景】

2020年1月、本県で豚熱が発生し、特定家畜伝染病防疫指針に基づき沖縄本島中部地域の10戸12,381頭が防疫措置対象となった。その後、本島全域において豚熱ワクチン(GPE⁻)の接種が承認され、動物衛生課と協議の上、初回に限り移行抗体を保有しないと推察される哺乳豚も接種対象とした。哺乳豚への豚熱ワクチン接種は予防的ワクチンプログラムにおいて本県での実施が国内初である(図1)。

豚熱ワクチンの哺乳豚への安全性・有効性は豚コレラ防疫史等の既報で示されているが、国内の豚熱ワクチン使用は2006年の全面中止以来であり、長らく豚熱清浄化が維持されていたため、近年、豚熱ワクチン免疫に関する野外調査は行われていない。今回、哺乳時に豚熱ワクチンを接種した豚群の免疫付与に関する野外追跡調査を実施したので、その概要を報告する。

【調査内容】

調査対象は本島北部または南部地域の一貫農場5戸(F1~F5)で飼養され、哺乳期に豚熱ワクチン(GPE⁻)を1ml/頭で接種した豚群とした。ワクチン接種時の日齢別に3つの試験群を設定した(①群:1~7日齢、②群:8~14日齢、③群:15~21日齢、F3のみ①群:1~10日齢、②群:11~20日齢、③群:21~30日齢)。各試験群は9~12頭(2~3腹)で、ワクチン接種後30、60、90、120日の抗体価の推移を経時的に追跡した。なお、F2とF3については接種後7、14、21日も追加して調査を行った。また、参考として各試験群の母豚6~11頭の接種前、接種後30日および120日(F3は150日)の検査も実施した(図2)。

【材料と方法】

対象農場5戸の子豚810頭(のべ)と母豚116頭(のべ)の非働化血清を用い、豚コレラエライザキットⅡ(株式会社ニッポンジーン)によるELISA抗体検査と、GPE⁻株およびCPK-NS細胞による中和試験について定法に従って実施した(図3)。

本県の予防的ワクチンプログラム

初回接種に限り、哺乳豚を含めた全頭接種

以後は新しく生まれた子豚に適切な時期に接種

【哺乳豚に接種する根拠】

- ・長期にわたり清浄な状態で、豚熱発生時に摘発・淘汰を行った本県に移行抗体を保有する哺乳豚は存在しない
- ・哺乳豚が移行抗体を獲得するまでには時間が必要で、その間は野外ウイルス感染の危機に晒される
(愛知県においてワクチン接種開始まもなく未接種豚で発生)
- ・哺乳豚へのワクチン接種は安全性・有効性が証明されている
(豚コレラ防疫史P.101)
(原田熊幸, 日獣会誌22, 503-510, 1969)
(笹原二郎, 家畜衛生試験報告, 第70号, 53-55, 1975)

哺乳豚への接種は本県での実施が国内初

ワクチン接種した哺乳豚の免疫付与に関する
近年の詳細なデータはないため追跡調査を実施

図1 本県の予防的ワクチンプログラム

調査内容

【対象農場】本島北部および南部の一貫農場5戸(F1~F5)

【ワクチン】弱毒豚熱ウイルスGPE⁻株
1日齢以上の豚に1ml/頭で接種

【試験群設定】

- ①群: 接種時日齢1~7日(F3は1~10日) 9~12頭(2~3腹)
- ②群: 接種時日齢8~14日(F3は11~20日) "
- ③群: 接種時日齢15~21日(F3は21~30日) "

【追跡期間/経時的採血】

- F1、F4、F5: ワクチン接種後30、60、90、120日
- F2、F3: ワクチン接種後7、14、21、30、60、90、120日

図2 調査内容

材料と方法

【材料】対象農場5戸(F1~F5)の豚非働化血清

・子豚810頭(延べ)

F1、F2は個体追跡、F3、F4、F5は豚群追跡
品種: F1はL、W、LWD、F2はLA、F3はLWA、F4とF5はLWD
(L:ランドレース W:大ヨークシャー D:デュロック A:アグー)

・母豚116頭(延べ)

追跡対象子豚の母豚についてワクチン接種前の豚熱抗体陰性の確認と参考検査のため実施

【方法】・ELISA抗体検査

豚コレラエライザキットⅡ(株)ニッポンジーン)を用いてキットのプロトコールに従い実施

・中和試験

GPE⁻株およびCPK-NS細胞を用いて定法に従い実施

図3 材料と方法

ELISA抗体検査結果

農場	接種後日数	検体数	ELISA検査結果 (陽性率%)			平均 S/P値
			陽性	陰性	陽性	
F2	7	35	0	0	35[100.0]	0.001
	14	34	0	0	34[100.0]	0.011
	21	33	25[75.8]	8[24.2]	4[12.1]	0.225
	30	33	33[100.0]	0	0	0.539
	60	32	32[100.0]	0	0	0.564
	90	30	30[100.0]	0	0	0.759
F3	120	30	30[100.0]	0	0	0.778
	7	29	0	0	29[100.0]	0.003
	14	30	0	0	26[86.7]	0.017
	21	30	29[96.7]	1[3.3]	1[3.3]	0.375
	30	30	30[100.0]	0	0	0.598
	60	30	30[100.0]	0	0	0.912
F4	90	30	30[100.0]	0	0	0.903
	120	30	30[100.0]	0	0	1.023

- ・ ELISA抗体はワクチン接種後21日で陽性が確認 (付与率: F2で75.8%、F3で96.7%)
- ・ 接種後30日にはすべての農場で抗体陽性 (付与率: 100%)

図4 ELISA抗体検査結果(1)

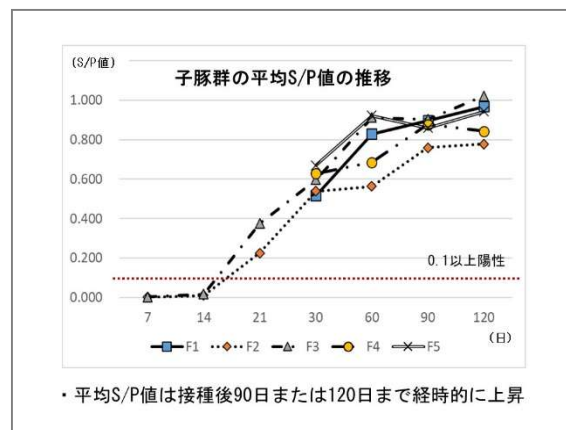


図5 ELISA抗体検査結果(2)

中和試験結果

F2、F3: 接種後7, 14, 21, 30, 60, 90, 120日の抗体価 (GM値)

F2	7日	14日	21日	30日	60日	90日	120日
①群(1~7日齢接種)	陰性	1.3	13.2	28.2	128.0	168.9	207.9
②群(8~14日齢接種)	陰性	3.1	8.0	21.9	68.2	168.9	256.0
③群(15~21日齢接種)	陰性	3.4	5.1	17.0	73.5	137.2	128.0
子豚群全体	陰性	2.4	8.2	21.9	86.7	157.6	189.6
母豚群(接種前抗体価<2)	NT	NT	NT	17.1	NT	NT	186.8

- ・ 全試験群で中和抗体は14日で確認、GM値は2.4→120日で189.6
- ・ 母豚群は30日で17.1→120日で186.8

F3	7日	14日	21日	30日	60日	90日	120日	150日
①群(1~10日齢接種)	陰性	3.7	42.2	90.5	238.9	362.0	891.4	NT
②群(11~20日齢接種)	陰性	3.5	24.3	59.7	294.1	362.0	776.0	NT
③群(21~30日齢接種)	陰性	7.5	29.9	90.5	388.0	588.1	675.6	NT
子豚群全体	陰性	4.6	31.3	78.8	300.9	425.6	776.0	NT
母豚群(接種前抗体価<2)	NT	NT	NT	NT	NT	NT	348.4	NT

- ・ 全試験群で中和抗体は14日で確認、GM値は4.6→120日で776.0
- ・ 母豚群は150日で348.4

図6 中和試験結果(F2、F3)

F1、F4、F5: 接種後30, 60, 90, 120日の抗体価 (GM値)

F1	30日	60日	90日	120日
①群(1~7日齢接種)	33.6	344.6	540.0	724.1
②群(8~14日齢接種)	80.6	322.5	438.9	645.1
③群(15~21日齢接種)	36.3	240.4	256.0	329.4
子豚群全体	43.4	301.3	397.9	534.7
母豚群(接種前抗体価<2)	32.0	NT	NT	128.0

- ・ 子豚群は30日で43.4→120日で534.7
- ・ 母豚群は30日で32.0→120日で128.0

F4	30日	60日	90日	120日
①群(1~7日齢接種)	55.7	111.4	445.7	362.0
②群(8~14日齢接種)	90.5	194.0	415.9	337.8
③群(15~21日齢接種)	68.6	274.4	274.4	222.9
子豚群全体	70.2	181.0	370.5	300.9
母豚群(接種前抗体価<2)	19.0	NT	NT	117.4

- ・ 子豚群は30日で70.2→120日で300.9
- ・ 母豚群は30日で19.0→120日で117.4

F5	30日	60日	90日	120日
①群(1~7日齢接種)	90.5	294.1	294.1	445.7
②群(8~14日齢接種)	84.4	337.8	548.7	388.0
③群(15~21日齢接種)	39.4	238.9	294.1	388.0
子豚群全体	67.0	287.4	362.0	406.4
母豚群(接種前抗体価<2)	32.0	NT	NT	166.0

- ・ 子豚群は30日で67.0→120日で406.4
- ・ 母豚群は30日で32.0→120日で166.0

図7 中和試験結果(F1、F4、F5)

【結果】

ELISA抗体は、F2およびF3において接種後21日に全試験群で確認され、付与率はF2で75.8%、F3で96.7%であった。接種後30日にはすべての農場で付与率100%となり、ELISA抗体は調査終了時まで維持された。子豚群全体の接種後日数別の平均S/P値は図に示す通りで、接種後90日または120日まで経時的に上昇した(図4、図5)。中和抗体は、F2およびF3において接種後14日に全試験群で確認され、子豚群全体のGM値はF2で2.4、F3で4.6となり、接種後30日にはすべての農場で付与率100%となった。子豚群全体のGM値の接種後30日から120日までの推移は、F1で43.4→534.7、F2で21.9→189.6、F3で78.8→776.0、F4で70.2→300.9、F5で67.0→406.4となった。また母豚群も接種後30日にはすべての農場で付与率100%となり、接種後30日、120日のGM値はF1で32.0、128.0、F2で17.1、186.8、F4で19.0、117.4、F5で32.0、166.0、F3は150日で348.4となった(図6、図7)。

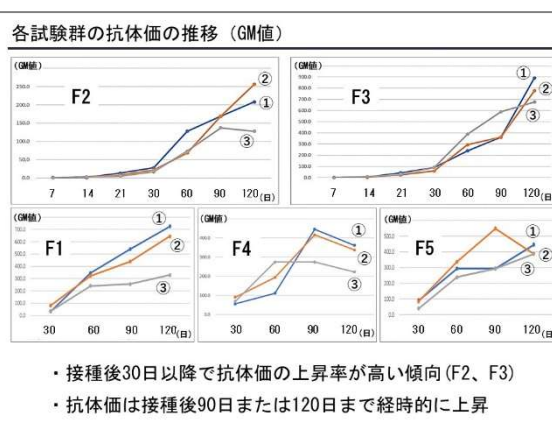


図8 中和試験結果: 各試験群の抗体価の推移

次に、各試験群の中和抗体価の推移を図8に示す。中和抗体はF2およびF3において接種後14日で確認され、抗体価は30日まで緩やかに上昇し、その後の上昇率が高い傾向が確認された。また、全試験群で抗体価は接種後90日または120日まで経時的に上昇した。

調査終了時の各試験群と母豚群の抗体価(GM値)



- ・接種時の日齢が早い試験群ほど抗体価が高い傾向
- ・F1,3,4,5では子豚群のほうが母豚群よりも高い抗体価
- ・子豚群の抗体価は農場間で差がみられたが、中和抗体は調査終了時まで維持

図 9 中和試験結果:調査終了時の各試験群と母豚群の抗体価

続いて、調査終了時(ワクチン接種後 120 日)の各試験群と母豚群の抗体価を図 9 に示す。5 農場中 4 農場(F1、F3、F4、F5)で接種時の日齢が低い試験群ほど中和抗体価が高く、子豚群のほうが母豚群よりも抗体価が高い結果となった。また、子豚群の中和抗体価は農場によって差がみられたが、調査終了時(ワクチン接種後 120 日)まで中和抗体は維持された。なお、本調査中に哺乳期のワクチン接種によると思われる事故はなかった。

【まとめ】

本島北部または南部地域の一貫農場 5 戸(F1～F5)で飼養され、豚熱ワクチンを 1ml/頭で接種した 1 日齢以上の哺乳豚群を対象として免疫付与に関する野外追跡調査を実施した。その結果、哺乳期にワクチン接種した豚群に接種事故はなく、十分な免疫付与が確認された。ワクチン接種時の日齢ごとに試験群を設定し追跡したところ、全試験群で ELISA 抗体は接種後 21 日、中和抗体は接種後 14 日で確認され、いずれも接種後 30 日で付与率 100%となった。また、中和抗体価は接種後 30 日以降で上昇率が高くなる傾向がみられ、90 日または 120 日まで経時的に上昇した。5 農場中 4 農場でワクチン接種時の日齢が早い試験群ほど抗体価が高い傾向がみられ、子豚群のほうが母豚群よりも高い抗体価を示した。農場によって子豚群の抗体価に差はみられたが、抗体は調査終了時まで維持された(図 10)。

【考察】

豚熱に対して全く免疫を持たない母豚へワクチンを接種した後、母豚のワクチン抗体が上昇し、初乳を介して子豚が移行抗体を保有するようになるまでには、母豚の状態や子豚の初乳摂取状況等のさまざまな影響を受け、一定の時間を必要とする。したがって、清浄な段階

まとめ

- ◆哺乳豚群にワクチン接種事故はなく、豚熱の発生なし
- ◆ワクチン接種時の週齢ごとに試験群を設定し追跡した結果、ELISA抗体は接種後21日、中和抗体は14日で確認、免疫付与率は100%となった
- ◆抗体価は接種後30日以降で上昇率が高い傾向がみられ、90日または120日まで経時的に上昇した
- ◆ワクチン接種時の日齢が早い試験群ほど抗体価が高い傾向がみられ、5農場中4農場で子豚群の方が母豚群より高い抗体価を示した
- ◆農場間で子豚群の抗体価に差がみられたが、中和抗体は調査終了時まで維持された

図 10 まとめ

考 察

- ◆清浄状態から豚熱が発生した際の予防的ワクチンの使用において、豚群の免疫的空白を最小とするために、移行抗体のない哺乳豚へのワクチン接種は有効
- ◆接種時日齢が早い試験群で抗体価が高い傾向については、若齢ほど免疫系の発達が未熟で、ウイルスの排除が遅く、抗原刺激時間が長くなることが一要因と推察
- ◆子豚群の抗体価に農場間で差がみられる原因は不明だが、品種、栄養状態、他の感染症の有無、衛生管理状況などとの関連性についても検討が必要(調査を予定)
- ◆若齢豚の免疫応答に関連する詳細な報告は数少ないため、今後、評価方法の検討やさらなる解析が必要

図 11 考察

から豚熱が発生した際の緊急的・予防的ワクチンの使用においては、豚群の免疫的空白を最小にし、野外ウイルスを初動で防圧することを目的として、移行抗体を保有しない哺乳豚へのワクチン接種は有効と考えられた。接種時の日齢が早い試験群で抗体価が高い傾向については、若齢ほど免疫系の発達が未熟で、ウイルスの排除が遅く、抗原刺激時間が長くなることが一要因と推察された。子豚群の抗体価に農場間で差がみられる原因は不明だが、品種、栄養状態、他の感染症の有無、衛生管理状況などとの関連性についても検討が必要と思われた。若齢豚の免疫応答に関連する詳細な報告は数少ないため、今後、評価方法の検討やさらなる解析が必要と考える(図 11)。

【謝辞】

哺乳豚への豚熱ワクチン接種および今回の発表に際し、ご指導・ご助言を賜りました北海道大学 迫田義博先生、調査・採材にご協力を頂きました現場の生産者の方々ならびに関係諸氏に深謝致します。

【引用文献】

- [1] 迫田義博：豚熱(Classical Swine Fever：CSF)のすべて,北獣会誌 64, 285-293(2020)
- [2] 笹原二郎：豚コレラ生ワクチン,家畜衛試研究報告 70, 53-55(1975)
- [3] 笹原二郎：豚コレラ生ウイルス予防液の野外応用試験,家畜衛試研究報告 65, 88-106(1970)
- [4] 沢田実：動物用ワクチンの概要と正しい使い方(Ⅱ),2.豚コレラワクチン,日獣会誌 32,698-705(1979)
- [5] 清水実嗣：豚コレラの診断と防疫,Proc Jpn Pig Vet Soc 29, 2-13(1996)
- [6] 清水悠紀臣：日本における豚コレラの撲滅,動衛研研究報告 119, 1-9(2013)
- [7] 動物用ワクチン:その理論と実際,動物用ワクチン・バイオ医薬品研究会編
- [8] 豚コレラ防疫史,社団法人全国家畜畜産物衛生指導協会, 社団法人畜産技術協会
- [9] 原田熊幸：豚コレラ生ウイルス予防液,日獣会誌 22, 503-510(1969)
- [10] 本川賢司：ワクチン免疫の基礎と臨床-ワクチン効果を上げるものと下げるもの-,J jpn Soci,Clin infect Dis in farm Anim 4(2),39-47 (2009)