



## PRRSVとPCV2の混合感染で何が起こるか？

### はじめに

豚サーコウイルス2型(PCV2)感染の特徴は、本誌第4・15・16・26・32号でご紹介したとおりです。簡単におさらいすると、①単独では不顕性感染が多い(感染しても病気になる)、②豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス(PRRSV)、豚パルボウイルス(PPV)、マイコプラズマ・ハイオニューモニエ(Mhp)など混合感染させると高率に離乳後多臓器性発育不良症候群(PMWS)を再現できる、③(若齢での)PCV2感染に特定の免疫刺激を加えると感染が重度となる、④不顕性感染では感染抗体がよく上がるがPMWSを発症すると抗体応答は高くない(免疫抑制)、などです。PCV2感染は、不顕性で終わってくれれば、ワクチン代わりにするし悪いことだけではないのですが、どれかのリスク要因の“地雷”を踏めばたちまちPMWSの急な坂を転げ落ちてしまう(発病し劇的な被害につながる)、という、片側が絶壁の細い稜線を歩くようなものに見えてしまいます。

一方、PRRSVの単独感染でも、発熱は再現されるものの急性の呼吸器症状はほとんど起こりません(高病原性株を除く)。ところが、PRRSVは、マクロファージ系の白血球で増殖するため、その後の免疫調節がおかしくなることがわかっています。PMWS発症豚から分離される病原体として、PRRSVとPCV2が圧倒的に多いのはその作用がPMWS発病に至らしめていることが疑われます。

今はPCV2ワクチンが市販され、PRRSV感染が確認されているにもかかわらず離乳舎におけるPMWSは大きく改善した状態にあると思われます。それは、PCV2ワクチン免疫によってPRRSVの感染時期からPCV2の感染時期を後ろにずらした効果と言ってもいいかもしれません。検査してみると、ワクチン免疫低下とともに肥育期のどこかで感染しているのが伺えます。その多くは“不顕性感染”と思われるのですが、個体レベルではときに大量に検出される場合があり、離乳舎におけるPRRSVのような“地雷”が肥育舎にも別にあるかもしれないし、PRRSVが肥育舎で動くこともあるかもしれません。

前置きが大変長くなってしまいましたが、本号ではどういう場合にPCV2が“地雷”を踏むことになるのか(臨床現場に何がリスクとして残っているのか)、PRRSVとの混合感染の研究報告から参考になりそうな事例を取り上げて整理してみたいと思います。

### PRRSV感染の特徴

「混合感染」の前に、それぞれの病原体のどういう部分が“地雷”になりうるのか、整理しておく必要がありそうなので、

PRRSV・PCV2それぞれの感染の特徴をまとめておきます。ややこしい部分は小文字にしておきますので、飛ばして読んで構いません。

一般的に活性化したマクロファージは、増殖した病原体をアメーバ状に飲み込んで貪食するだけでなく、腫瘍壊死因子(TNF) $\alpha$ 、インターロイキン(IL)1、インターフェロン(IFN) $\alpha$ などのサイトカイン(白血球を働くように仕向ける物質)を分泌して免疫反応をプラスに誘導し、リンパ球に抗原提示して特異免疫獲得に寄与します。例えて言えばマクロファージは、戦場で自ら敵をやっつける(貪食)だけでなく、別部隊の味方を励まし(サイトカイン放出)、本部に敵の情報を報告する(抗原提示)八面六臂の活躍をする白血球です。ところがPRRSVに感染した豚では、ウイルスが全身のリンパ組織のマクロファージで増殖し(特に肺における増殖量が最も多い)<sup>(1)</sup>、マクロファージの機能が低下<sup>(2)</sup>、具体的には①貪食能低下、②細胞内殺菌活性低下、③マクロファージの死滅が起こります。免疫系への影響について目立つものをいくつか紹介すると、サイトカイン変動の特徴<sup>(3)</sup>として、①IFN $\gamma$ 産生がない・遅い(Th1\*誘導抑制)<sup>(4)(5)(6)</sup>、②IL10産生増加(Th1\*を抑制=Th2\*優位になる)<sup>(7)</sup>、③マクロファージなどの活性化に働くTNF $\alpha$ の産生抑制<sup>(8)</sup>、④抗ウイルス活性・Th1を刺激するIFN $\alpha$ の産生抑制<sup>(9)</sup>などがあります。その結果かどうかはわかりませんが、ポリクローナルなB細胞の活性化(高 $\gamma$ グロブリン血症;感染3週後から2か月後まで通常の5倍)<sup>(10)</sup>もPRRSV感染の特徴のようです。

一言でいえば、他の病原体では炎症性サイトカインで一気呵成に免疫獲得に向かうのが、PRRSVの場合、感染の“火事場”になるはずが炎症が促進されず(火事場がチョロ火になり)、自然免疫応答は低レベル、特異的な細胞性免疫もできにくい、ということでしょうか。

余談ですが、PRRSV以外のウイルス感染ではIFN $\alpha$ やIFN $\gamma$ はよく産生されます。例えば、呼吸器コロナウイルス(PCV)感染後はIFN $\alpha$ が産生され、その抗ウイルス作用によりその後PRRSVを暴露させても感染量は低レベルになるそうです(IFN $\alpha$ 投与豚でも同様)<sup>(9)(11)</sup>。ところが先にPRRSV感染させた場合、IFN $\alpha$ の産生量はPCV感染に比べ1/159だったそうです。IFN $\alpha$ は抗ウイルス作用だけでなく、組織細胞に対しIL12産生を促しTh1細胞を誘導する免疫のアクセラレーターでもありますので、PRRSV感染では、免疫応答のアクセラレーターがあまり踏まれないことを意味します。PRRSV感染後(直後)が要注意、というわけです。

※Th1・Th2;ヘルパーTリンパ球の種類。Th1はIL2、IFN $\gamma$ などを産生し細胞性免疫や自己免疫疾患に関与、Th2はIL4、IL5、IL10などを産生し抗体産生やアレルギーに関与。

## PCV2感染の特徴

PCV2の特徴は、増殖に自前のシステムで遺伝子複製ができないとされています<sup>(12)</sup>。宿主の細胞の増殖過程でDNA合成が盛んに行われている時期に間借りして自分の遺伝子も複製され増殖します。これで、分裂・増殖のさかんな免疫細胞で増殖が起こりやすいことは合点がいきます。

PCV2を暴露させた豚で経時的に部位別にウイルス検出を試みると、呼吸器・腸管でまず検出され(上皮細胞で一次増殖?)、全身の血管、主要臓器、リンパ組織などから検出されるようになります(二次増殖)。特に、リンパ組織の病変が特徴的で、検出される量が最も多く、PMWS発症豚ではリンパ球が激減、逆にマクロファージが増加して生き残って細胞内にたらくPCV2を食べた状態が観察されます<sup>(13)</sup>。しかも消化不良で満腹状態のものばかり。おそらく免疫の司令塔であるリンパ球が死滅するため、マクロファージも活性化されず意気消沈して途方に暮れているのでしょう(「マクロファージ系では持続感染しているが増殖はほとんど起こっていない」<sup>(14)</sup>との報告からそう考察しました)。

これらのことから、PCV2は全身の細胞で増殖しますが特にリンパ組織、それもリンパ球がお好みと推察されます。

不顕性感染(ワクチン注射後PCV2暴露を含む)では、健全な免疫応答を示します。すなわち、TNF $\alpha$ (マクロファージ・顆粒球の活性化)、IL1 $\beta$ (リンパ球・マクロファージ活性化)、IL8(顆粒球などの刺激)はいずれも感染直後に高値を示すようです<sup>(15)</sup>。実際、PCV2b不顕性感染豚では、オーエスキー病生ワクチンに対して免疫抑制を起こすようなことはなかったと報告されています<sup>(16)</sup>。

ところが、PMWS発症豚では全く異なる免疫応答を示します。TNF $\alpha$ 、IL1 $\beta$ 、IL8に加えIFN $\gamma$ も(ひっくるめて炎症性サイトカイン)、産生量は不顕性豚に較べると低レベルであり、細胞性免疫抑制に働くIL10が高値を示したそうです<sup>(15)</sup>。

簡単に言うと、PCV2感染が不顕性なら免疫応答は正常で、PMWSを発病した豚では免疫抑制が起こる、とっておけばいいと思います。不顕性感染ならそこそこの中和抗体応答がある(ワクチンより低い意)<sup>(17)</sup>がPMWS発症豚では低い<sup>(18)</sup>という報告もあり、これと一致します。

少し脱線しますが、PMWSの診断は、①発育不良の有無、②リンパ組織のリンパ球減少の程度、③病変部位におけるPCV2検出の有無及び量の3つを確認して行われます。3番目の「量」の目安ですが、血液検査はよく行われており、血清1mLあたりの遺伝子検出量の豚群の平均値で「 $10^7$ コピー以上」<sup>(19)</sup>が発症の目安となっています。そのほか気管 $10^7$ 以上、扁桃 $10^6$ 以上、糞便 $10^5$ 以上が検査結果に基づいて提案されています<sup>(20)</sup>。これらの目安は研究機関で微妙に異なるようで、血中で $10^{5.5}$ コピー以上を発症の目安とする報告もあります<sup>(21)</sup>なので検査結果の管理は低めで評価しておいた方がよいかもしれません。

## PRRSV・PCV2混合感染

さて本題の混合感染です。PRRSVとの混合感染の実験はたくさん報告されています。その多くが同時感染ですが、PCV2単独感染と較べPRRSV混合感染では「PCV2感染量が多くなる」「期間も長期化する」<sup>(22)</sup><sup>(23)</sup><sup>(24)</sup>という報告と、「PCV2感染量は変わらない」<sup>(25)</sup><sup>(26)</sup>という報告があり、混乱してしまいます。

感染時期を少しずらした実験では、「PRRSVを先に感染さ

せるとPCV2感染量が多くなる」<sup>(27)</sup>が、「PCV2を先に感染させた場合はPRRSV感染が軽減された」<sup>(2)</sup>だそうです。同時感染でPCV2増殖を促進する・しない両方の結果があるのは、もしかしたらPRRSV・PCV2のどちらが先に増えるかで差が出るのかもしれませんが。PMWSを発病しないPCV2単独感染では「健全な免疫応答を示し」(上述)、PCV2先行感染で活性化された自然免疫によりPRRSV感染が軽減された例がその根拠です。これにはIFN $\alpha$ の産生増加が関与しているようであり<sup>(25)</sup>、IFN $\alpha$ を投与した試験でもPRRSV感染・増殖は軽減される<sup>(9)</sup><sup>(11)</sup>ので間違いのないでしょう。

一方、PRRSV感染では、自然免疫応答(炎症性サイトカイン産生)が低レベルであり<sup>(3)</sup>、IFN $\alpha$ 産生量も他のウイルス感染と較べ極端に少ない<sup>(9)</sup>ため、PCV2感染初期段階で抑え込められず、増殖が結果的に促進され発病に至りやすいのかもしれない。

## その他混合感染

MhpとPCV2混合感染(Mhp感染14日後にPCV2暴露)でも、PCV2感染が重度となり長期化して、PCV2による肺病変、リンパ組織病変もPCV2単独感染に較べ重度となることが報告されています<sup>(28)</sup>。Mhpの場合、感染順の情報はありませんが、肥育期でMhp感染が起こり、ちょうどその頃、PCV2ワクチン免疫が切れてきてPCV2感染が起こるというタイミングがあるとすれば、PCV2感染増悪にMhpだつて無視できない存在、ということになります。かつ、報告のデータでは全肺病変(マイコプラズマ性もその他の病変も合計したスコア)が重篤化していますので、肥育期のPRDCにPCV2が関与するリスクも否定できない、という意味でもあります。

そのほか、豚パルボウイルス(PPV)でもPMWSが再現された<sup>(29)</sup>、との報告がありますので、おそらくPCV2増殖を促進しているのでしょう。

## 最後に

PCV2、PRRSVの研究報告は山ほどあり、現場で有用な情報はまだまだ眠っているかもしれません。今回、お伝えしたかったのは、PCV2ワクチン注射豚群でPCV2がどういふときにリスクとなりうるか、ということだったので、ヒントはお伝えできたと思います。「PCV2は他の病原体感染などで異常増殖するときに悪さをする可能性が高い」ことは間違いなさそうなので、PCV2感染状態を検査しておけば予備軍を含め“リスク”を把握することになるかもしれません。

PCV2ワクチンは、「PCV2・PRRSV・PPV三点盛りの混合感染に対して発症抑制効果を発揮する」<sup>(30)</sup>ので、ワクチンさえ使用すれば臨床効果は期待できると思います。ただし、PCV2感染防御能は完全ではなく、ワクチンによっても差がありそうで、実際、ワクチン免疫が低下してくるとされる肥育期でウイルス血症が確認されている例が散見されます。だから即だめということではありませんが、ワクチン免疫レベルが低下してPCV2感染準備状態のときにPRRSV、Mhp、PPVなどに感染し、そこにPCV2が存在するならば、それが臨床リスクになりうることは銘記しておくべきでしょう。その意味でも、PCV2のウイルス血症の程度だけでなく、PRDCの原因病原体を探るための検査も有用かもしれません。

---

## 参考文献

- (1) Diseases of Swine 第10版
- (2) Tsai ら, BMC Vet. Res., 8, 174, 2012
- (3) Gomez-Laguna ら, Vet. J., 195, 148-55, 2013
- (4) Dotti ら, Res. Vet. Sci., 90, 218-25, 2011
- (5) Diaz ら, J. Gen. Virol., 86, 1943-51, 2005
- (6) Meier ら, Virology, 309, 18-31, 2003
- (7) Flores-Mendoza ら, Clin. Vac. Immunol., 15(4), 720-5, 2008
- (8) Subramaniam ら, Virology, 432, 241-9, 2012
- (9) Buddaert ら, Adv. Exp. Med. Biol., 440, 461-7, 1998
- (10) Plagemann ら, Viral. Immunol., 18(1), 138-47, 2005
- (11) Albina ら, J. Interferon Cytokine Res., 18(7), 485-90, 1998
- (12) Tischer ら, Arch Virol., 96(1-2), 39-57, 1987
- (13) Segales ら, Vet. Microbiol., 98, 151-8, 2004
- (14) Gilpin ら, Vet. Immunol. Immunopathol., 94, 149-61, 2003
- (15) Borghetti ら, Vet. Microbiol., 163, 42-53, 2013
- (16) Diaz ら, Vet. J., 194, 84-8, 2012
- (17) Tribble ら, Vaccine, 30, 4079-85, 2012
- (18) Meerts ら, BMC Vet. Res., 2(6), 1-11, 2006
- (19) Olvera ら, J. Virol. Methods, 117, 75-80, 2004
- (20) Segales ら, Vet. Microbiol., 111, 223-9, 2005
- (21) Chae ら私信
- (22) Shi ら, Vet. Microbiol., 129, 367-77, 2008
- (23) Allan ら, Arch. Virol., 145(11), 2421-9, 2000
- (24) Sinha ら, Vet. Microbiol., 152, 235-46, 2011
- (25) Chang ら, Vet. Microbiol., 108, 167-77, 2005
- (26) Opriessnig ら, Vet. Microbiol., 131, 103-14, 2008
- (27) Rovira ら, J. Virol., 76(7), 3232-9, 2002
- (28) Opriessnig ら, Vet. Pathol., 41, 624-40, 2004
- (29) Allan ら, J. Comp. Path. 121, 1-11, 1999
- (30) Shen ら, Vaccine, 28, 5960-6, 2010