

1 はじめに

2018年に国内で26年振りに豚熱が発生し、ワクチン接種推奨地域で飼養豚への豚熱ワクチン接種が開始されて以降、豚熱の発生は減少したが、ワクチン接種農場での散発が続いている。

子豚への予防的ワクチン接種は、農場ごとの母豚の抗体レベルから推定される接種適期判断に基づき実施されているが、その発生の多くは、ワクチンの用法用量に定める接種推奨時期前後にあたる30～60日齢頃で、移行抗体が低下し、ワクチン接種による免疫を獲得するまでのいわゆる免疫空白期間の豚熱ウイルスの侵入が懸念されている¹⁾³⁾。

ワクチン接種適期前に初回接種を実施し、接種適期後にワクチンブレイクした個体に抗体付与することを目的とした2回接種は、免疫空白期間短縮及び免疫付与率向上に有効である可能性があるが、法的規制により接種適期前のワクチン接種はできないことから、その有効性を実証する報告はない。

今回、子豚の豚熱発生予防と免疫付与率向上を目的とした2回接種効果の検証について農場獣医師から要望があり、国の了承を得て、接種適期前後で計2回を接種するワクチン接種試験を実施したところ、免疫空白期間短縮及び免疫付与率向上という期待された想定に反する知見が得られたので、その概要を報告する。

2 材料及び方法

ワクチン接種時期は、1回接種群は40日齢、2回接種群は10日及び40日齢とした。葉h豚の中

和抗体価を測定し、子豚の移行抗体価が16倍未満、64倍、256倍以上となるような母豚を8頭選抜し、その母豚から生まれた子豚を各群36頭選抜した。次に、10日齢時にワクチン接種前に採血した子豚の中和試験を行い、中和試験成績に基づき、各群18頭(16倍未満を6頭、64倍を6頭、256倍以上を6頭)選抜し、単回接種において推定接種適期が、10日齢～40日齢の間になるように設計した。

採血は10、40、100、130日齢で採材し、調査A及びBで行った中和試験は、全日齢をまとめて1回で実施した。

1) 調査A:免疫付与状況の確認

10日齢の中和抗体価に基づき選抜した各群18頭、計36頭について、10、40、100、130日齢で採材した検体を用いて中和試験(指針に基づく方法)、を実施した。中和抗体価1倍以上を抗体陽性とした。

2) 調査B:10日齢時の移行抗体価毎の抗体推移

10日齢の中和抗体価に基づき選抜した各群18頭、計36頭について、10、40、100、130日齢で採材した検体を用い、中和試験を行った。10日齢の移行抗体ごとに4つに区分(8倍、16倍、64倍、128倍から256倍)し、中和抗体価の推移を比較した。

3) 調査C:ELISA S/P値と中和試験の抗体検査の相関を用いた多検体解析

0日齢で、母豚抗体価に基づき選抜した各群36頭、計72頭の検体を用い、ELISA法(豚熱ELISAⅡ、ニッポンジーン)を実施した。

陽性判定は、ELISA 法においては、国の方針³⁾に基づき、疑陽性を示した検体も陽性として計算した。ELISA S/P 値と中和試験の抗体検査の相関調査は、調査 A で得られた中和試験の成績と ELISA S/P 値との相関を調査し、回帰直線を作成した。

①40 ～130 日齢の ELISA S/P 値の比較

各群の ELISA S/P 値の推移を比較し、40 日齢、100 日齢、130 日齢の有意差検定を行った。有意差検定は、マン・ホイットニーの U 検定を用いた。

②10 日齢の ELISA S/P 値区分における推移の比較

10 日齢時の ELISA S/P 値が 0.4 未満(推定中和抗体価中央値 16 倍)の個体と、0.4 以上～0.8 未満(推定中和抗体価中央値 64 倍)の個体に区分して、ELISA S/P 値の推移を比較し、100 日齢、130 日齢の有意差検定を行った。有意差検定は、マン・ホイットニーの U 検定を用いた。

4) 調査 D:130 日齢の中和抗体価分布

0 日齢で、母猪抗体価に基づき選抜した各群 36 頭、計 72 頭の 130 日齢の検体を用い、中和試験により調査した。中和抗体価1倍以上を抗体陽性とした。

3 検査結果

1) 調査 A:免疫付与状況の確認(表1)

1 回接種群の移行抗体価を見ると、10 日齢時の抗体価は 8 倍～256 倍で 1 回ワクチン接種の 40 日齢時には全検体が 32 倍以下に分布しており、このデータから得られた抗体の半減期は 11.5 日であった。

免疫付与率は、1 回接種群では 100 日齢、130 日齢とも 100%であった。一方、2 回接種群の 10 日齢の移行抗体価の分布は 1 回

接種群と同等であったが、10 日齢時の移行抗体価 64 倍の区分の 100 日齢で、6 頭中 3 頭陰性で 50%、130 日齢で 6 頭中 1 頭陰性で 83%、移行抗体 128 倍の区分の 130 日齢で、4 頭中 1 頭陰性で 75%であった。

表1 調査A 免疫付与率

| 移行抗体価分布 | | | | 1回接種群 免疫付与率 | | | | | |
|------------|-------|------|-------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|-----------|
| 抗体価 | 1回接種群 | | 2回接種群 | | 10日齢時の移行抗体価 | 100日齢 | 130日齢 | | |
| | 10日齢 | 40日齢 | 10日齢 | 40日齢 | | | | | |
| 1倍 | | 1 | | | 8倍 (n=3) | 100% | 100% | | |
| 2倍 | | 5 | | 3 | 16倍 (n=3) | | | | |
| 4倍 | | | | 1 | 64倍 (n=6) | | | | |
| 8倍 | 3 | 2 | 3 | 3 | 128倍 (n=3) | | | | |
| 16倍 | 3 | 8 | 3 | 8 | 256倍 (n=3) | | | | |
| 32倍 | | 2 | | 3 | 計 (n=18) | 100% | | | |
| 64倍 | 6 | | 6 | | 2回接種群 免疫付与率 | | | | |
| 128倍 | 3 | | 4 | | 10日齢時の移行抗体価 | 100日齢 | 130日齢 | | |
| 256倍 | 3 | | 2 | | 8倍 (n=3) | 100% | 100% | | |
| 16倍 | 3 | | 2 | | 16倍 (n=3) | 50% (3/6) | 83% (5/6) | | |
| 8倍 | 3 | | 2 | | 64倍 (n=6) | | | | |
| 4倍 | 18 | 18 | 18 | 18 | 128倍 (n=4) | | | 100% | 75% (3/4) |
| 256倍 (n=2) | | | | | 256倍 (n=2) | | | 100% | 100% |
| 頭数計 | 18 | 18 | 18 | 18 | 計 (n=18) | 83% (15/18) | 89% (16/18) | | |

半減期 11.5日

2) 調査 B:10 日齢時の移行抗体価毎の抗体価推移(図1)

1 回接種群は、10 日齢時の移行抗体価が 8 倍、16 倍の個体では、速やかに高い抗体価に上昇していた。64 倍の個体では上昇する個体が多数を占めた。128 倍から 256 倍の個体の抗体価は、全て 1 倍以上であった。一方、2 回接種群では、8 倍、16 倍の個体では、1 回接種群と比べて抗体の上昇が鈍い個体が散見され、64 倍の個体では全体的に下降の傾向が強まり、64 倍及び 128 倍以上の個体では抗体価 1 倍未満になった個体が確認された。

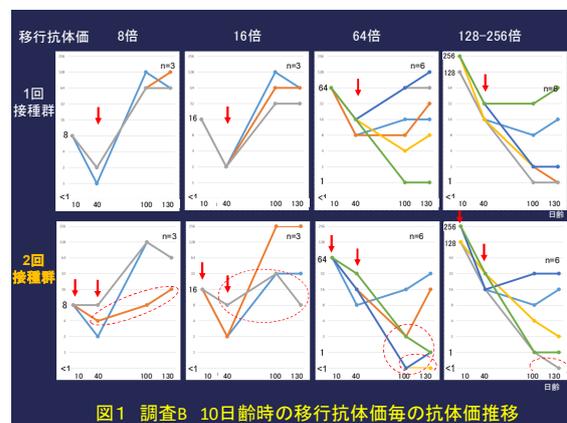


図1 調査B 10日齢時の移行抗体価毎の抗体価推移

3) 調査 C:ELISA S/P 値と中和試験の抗体検査の相関を用いた多検体解析(図2)

抗体検査成績から得られた回帰直線($R^2 = 0.7176$)は、宮城モデル(R3 年度に県内の2,543 頭の中和試験と ELISA の相関調査に基づき作成した回帰直線: $R^2 = 0.7996$)とほぼ同等の成績であった。今回の成績の回帰直線を用いると、ELISA S/P 値 0.3、0.6、0.85 は、中和抗体価成績との相関関係から、推定中和抗体価 16 倍、64 倍、256 倍と読み替えられた。

①40 ~130 日齢の ELISA S/P 値の比較

ELISA S/P 値の推移は、1 回接種群は 40 日齢以降で扇型に広がる広範囲な分布であったが、2 回接種群では、40 日齢以降で上昇傾向が乏しい個体が多く(図中の赤い点線枠)確認された。両群の各日齢の有意差検定では、40 日齢において有意差は認められず、ELISA S/P 値の分布は 0.2 以下に集中しており、0.2 以下すなわち推定中和抗体価 16 倍以下の頭数は、1 回接種群は 36 頭中 35 頭(97%)、2 回接種群は 36 頭中 33 頭(92%)であったが、100 及び 130 日齢のどちらの抗体価分布においても、1 回接種群と比較して 2 回接種群で有意な低下が認められた($p < 0.05$, $p < 0.01$)。

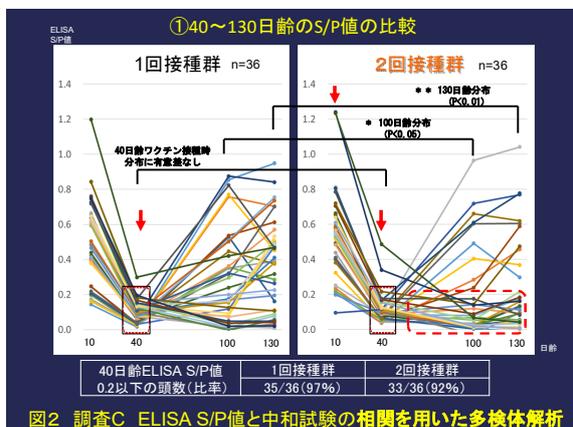


図2 調査C ELISA S/P値と中和試験の相関を用いた多検体解析

②10 日齢の ELISA S/P 値区分における推移の比較(図3)

10 日齢時の抗体価推移の分析は、ELISA S/P 値 0.4 以上~0.8 未満、すなわち推定中和抗体価中央値 64 倍の区分と、0.4 未満、すなわち中央値 16 倍の区分に分けて行った。

40 日齢以降の推移は、1 回接種群において、0.4 未満の個体では上昇傾向、0.4 以上 0.8 未満の個体では扇型に広がる広範囲な推移であった。一方、2 回接種群においては、0.4 未満、すなわち推定中和抗体価中央値 16 倍で初回接種した個体では上昇しない個体が散見され(図中の赤い点線円形枠)された。0.4 以上 0.8 未満の個体、すなわち推定中和抗体価 64 倍で初回接種した個体は、100 日齢以降で ELISA S/P 値が 0.3 以下、すなわち推定中和抗体価 16 倍以下に収束する個体が多数確認された(図中の赤い点線四角枠)。

0.4 以上 0.8 未満、すなわち、推定中和抗体価中央値 64 倍で初回接種し、その一か月後に 2 回目を接種した個体の 100 日齢及び 130 日齢の有意差検定では、どちらにおいても、1 回接種群と比較して 2 回接種群で有意な低下が認められた($p < 0.05$)

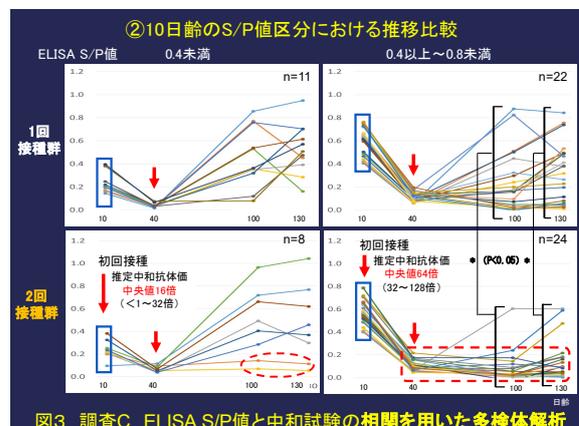
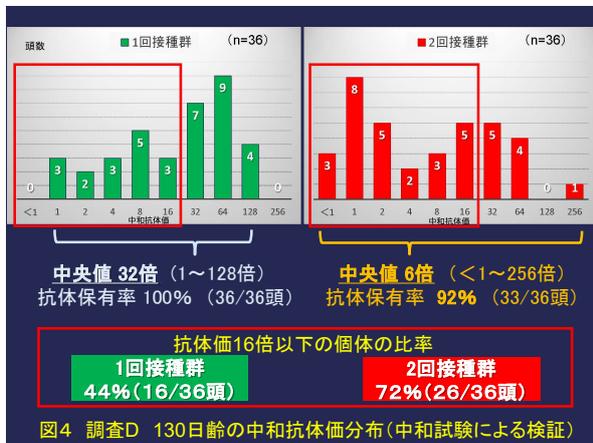


図3 調査C ELISA S/P値と中和試験の相関を用いた多検体解析

4) 調査 D:130 日齢の中和抗体価分布(図4)

ELISA の成績を確認するために、当該豚群の 130 日齢の中和抗体価を測定したところ、1 回接種群の中和抗体価の分布状況は、右寄りの一峰性、中和抗体価中央値は 32 倍、最低値は中和抗体価 1 倍、最大値は 128 倍、抗体保有率は 100%であった。一方、2 回接種群は左偏在の二峰性、中央値 6 倍、1 倍以下から 256 倍と幅広の分布、抗体保有率は 92%であった。中和抗体価 16 倍以下の頭数は、1 回接種群は、44% (16/36 頭)、2 回接種群では 72% (26/36 頭)であった。



4 まとめ及び考察

中和試験 (n=36) による免疫付与率は、2 回接種群の方が低く、初回接種時の移行抗体価 64 倍及び 128 倍の個体で免疫付与率が低下した。また、2 回接種群において、抗体価の上昇が鈍い個体が散見され、抗体価の下降傾向が強まる等、抗体反応の低下が認められた。

ELISA S/P 値と中和試験の抗体検査の相関を用いた多検体解析 (n=72) では、推定中和抗体価中央値 64 倍で初回接種した個体において ELISA S/P 値の上昇が認められない集団が多数を占め、推定中和抗体価 16 倍以下の個体が増加することが示唆された。このことについて、130 日齢の中和試験 (n=72) で検証を行ったところ、中和抗体価 16 倍以下の個体は 72% (26/36 頭) となり、1 回接種群と比較して約 1.6 倍の増加が

確認された。また、2 回接種群では、中和抗体価中央値が低下し、ヒストグラムは左偏在の二峰性となって分布がばらつき、免疫付与率の低下がみられた。

これらの成績から、2 回接種を初めて行った新生豚への影響として、免疫付与率、抗体反応、抗体レベルの低下、抗体反応抑制の可能性が示唆された。また、特に 2 回接種による強い抗体反応抑制は、初回接種時の推定中和抗体価中央値 64 倍と一ヶ月後の接種の組み合わせで起こる可能性が示唆された。抗体反応抑制の要因やメカニズムについては、今後の検証を行い、解明されることが望まれる。

抗体分布がばらつき、移行抗体価が 16 倍以下の個体が増加する 2 回接種新生豚群が母豚になった場合、母豚群の抗体分布のばらつきは追加接種で改善することが難しく¹⁾、生後まもなく移行抗体が消失する子豚の頭数の規模が拡大することから、免疫空白の規模が拡大する可能性がある。その問題解消のための生後間もない接種には事故発生リスクの懸念があり、事故があった場合又は事故が予見される場合には接種時期を遅らせざるを得ない。また、ばらついた抗体分布による接種適期判断では接種時期が後ろ倒しの傾向になり、免疫空白期間が拡大する可能性が高まる。

以上のことから、2 回接種は、農場の防御レベル向上に有益との想定に反すると推察された。

2 回接種により、当該接種豚では、免疫抑制による抗体価レベル低下、免疫付与率低下が認められ、それらから生まれた子豚においては、生後まもなく免疫空白の状態となる哺乳豚の頭数規模の拡大、接種適期判断が難しくなる等の理由から免疫空白期間の拡大の懸念がある。これらのことを踏まえ、2 回接種は、費用対効果を考慮した場合、導入が適当かどうか、慎重に検討

する必要があると思われる。

5 参考文献

- 1) 桑田佳祐, 迫田義博: 岐阜県における豚熱ワクチン免疫状況の解析と現状. 豚病会報. 81, 8~15 (2023).
- 2) 中根崇, 若本裕晶, 芦澤尚義: 新たに開発された ELISA キットと中和試験による豚コレラウイルス抗体の検出の比較. 日獣会誌. 55, 783~788 (2002).
- 3) 農林水産省: 国内における豚熱の発生状況について,
(<https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/csf/domestic.html>)
- 4) 農林水産省 消費・安全局: 豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針 令和 2 年 7 月 1 日農林水産大臣公表(一部変更: 令和 4 年 12 月 23 日), 公益社団法人 中央畜産会, 東京, (2023).
- 5) 農林水産省 消費・安全局: 資料 1-2 飼養豚等への豚熱ワクチン接種後の免疫付与状況等について(案). 食料・農業・農村政策審議会 家畜衛生部会 第 74 回牛豚等疾病小委員会(令和 3 年 3 月 25 日),
https://www.maff.go.jp/j/council/seisaku/eisei/usibuta_sippe/74/attach/pdf/index-17.pdf
- 6) 農林水産省 消費・安全局: 資料 1-1 飼養豚への豚熱ワクチン接種後の免疫付与状況等について(案). 食料・農業・農村政策審議会 家畜衛生部会 第 88 回牛豚等疾病小委員会(令和 4 年 7 月 11 日),
https://www.maff.go.jp/j/council/seisaku/eisei/usibuta_sippe/88/attach/pdf/220712-1.pdf
- 7) 清水実嗣: 豚コレラの診断と防疫. 日本豚病研究会報. 29 号, 2~13, 日本豚病研究会, つくば(1996)
- 8) 清水実嗣: 豚コレラ. 豚病学. 第四版. 205~212, 近代出版, 東京(1999).
- 9) 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. 第 119 号, 1~9(2013).
- 10) 豚コレラ防疫史編集委員会編: 豚コレラ防疫史, 104~105, 社団法人 全国家畜畜産物衛生指導協会, 東京(2009).