非定型豚ペスチウイルス(APPV)感染豚でみられた血液生化学的性状

仙台家畜保健衛生所
塩原綾早、大関貴大

1. はじめに

非定型豚ペスチウイルス(以下 APPV)はフラビウイルス科ペスチウイルス属の一本鎖プラス鎖RNAウイルスであり、近年、先天性振戦を引き起こす要因の一つであることが明らかとなっている。本ウイルスは妊娠中の母豚に感染し、新生子豚のうち 57~100%と高い割合で先天性振戦を発症する。発症すると新生子豚の頭部・前駆・後躯・全身の震えなどを示し、重症例においては起立・歩行困難や哺乳不全になることで成長不良や衰弱し、死亡に至る[1)]。

APPV に関する報告は複数あるものの、現状、APPV 感染豚の血液生化学的性状に関する知見は少ない。今回、県内の一養豚場にてAPPV感染による振戦を呈する個体を確認し、当該症例を用いて、本ウイルス感染及び振戦が血液生化学的性状に及ぼす影響を検討したところ、一定の知見を得たので報告する。

2. 農場概要と経緯

当該農場は繁殖豚を90頭飼養する800頭規模の一貫経営農場であった。分娩舎3棟のうち1棟の分娩舎Aにて、令和7年4月から6月の間に分娩した13腹中4腹において離乳豚の振戦が認められた。

発症群の多くは成長に伴い自然治癒したものの、一部の虚弱個体は生後数日で死亡した。また、振戦を示さないものの、起立不能や発育不良を示す個体も見られた(表 1)ことから、原因究明のため病性鑑定を実施した。

表 1 発生状況

分娩日	頭数	症状
R7.4.10	8頭	哺乳時:複数頭振戦
R7.5.3	9頭	哺乳時:複数頭振戦
R7.5.14	10頭	出生時:2頭虚弱、数日後死亡 23日齢:6頭振戦、1頭起立不能、1頭発育不良 No.3
R7.5.28	11頭	出生時:3頭虚弱、数日後死亡 12日齢:8頭振戦 No.1、2

3. 材料及び方法

振戦豚3頭(No.1~3)を剖検に供した。また、同一豚舎の同居豚 11 頭(No.4~6:振戦豚とは別の豚房、No.7~14:振戦豚と同じ豚房)の血液を検査に供した。

病理学的検査では、定法に従いホルマリン固定後、パラフィン包埋を行い、ヘマトキシリン・エオジン染色及びクリューバー・バレラ染色を実施した。

細菌学的検査では、一般細菌検査として肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、大脳及び胸水の好気及び嫌気培養を実施した。

ウイルス学的検査では、No.1~3 の血清及び扁桃、脾臓、腎臓を用いた豚熱及びアフリカ豚熱の遺伝子検査、血清及び肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、扁桃、大脳、脊髄を用いた豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス(PRRSV)、豚サーコウイルス 2 型(PCV2)、3型(PCV3)、APPVの遺伝子検査、No.4~14 の血清を用いた APPV の遺伝子検査を実施した。

生化学的検査では No.1~3 の血液を用いて全自動血球計数器(日本光電、MEK-6550)による血球計算、血液塗抹、ドライケミストリー法(富士フィルムメディカル、富士ドライケム NX500V)による血液生化学的検査(TP、Alb、A/G 比、BUN、Cre、Ca、IP)を実施した。

4. 結果

本症例では剖検した No.1～3 はいずれも振戦があり、うち No.3 は更に起立不能と発育不良も認められた。同居豚については振戦豚と同じ豚房から採材した豚のうち No.7、8、10、11 で振戦が認められた。そのほかの同居豚において肉眼的異常は認められなかった。

病理組織学的検査では、3 頭全てにおいて、小脳髄質や大脳髄質で脱髄や空胞、腎臓では軽度から中等度の充うっ血、脾臓では髄外造血とリンパ球の減少が認められた。

細菌学的検査では、有意な菌は分離されなかった。

ウイルス学的検査では、No.1 と 2 の全臓器及び血清、No.3 の血清、脾臓、腎臓、肺及び扁桃から APPV 遺伝子が検出された。他のウイルスについては、PCV2 が No.3 の肝臓から検出された。また、振戦豚がいない豚房から採材した No.4～6 の血清は APPV 陰性、振戦豚がいる豚房から採材した No.7～14 の血清は APPV 陽性であった（表 2）。

生化学的検査では、No.1～3 を同居の健康豚と比較したところ、赤血球数の減少、後骨髄球や桿状核球といった幼弱な好中球比率の増加、リンパ球比率の低下、Alb、A/G 比、Ca の低下がみられた。また、No.1 では TP の低下、No.3 では BUN の増加、CRE と IP の低下も見られた（表 3）。

剖検した No.1～3 全頭で振戦が認められたことに加えて、小脳髄質における脱髄、複数の臓器での APPV 陽性、好中球の核の左方移動とリンパ球の減少がみられたことから、APPV による先天性振戦と診断した。

表 2 ウイルス学的検査結果

• APPV遺伝子

解剖豚 No.	血清	肝臓	脾臓	腎臓	心臓	肺	扁桃	大脳	脊髄
1	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋
2	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋
3	＋	－	＋	＋	－	＋	＋	－	－

※No.3の肝臓のみPCV2＋

同居豚 No.	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
豚房	振戦豚なし			振戦豚あり							
APPV 遺伝子	－	－	－	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋
症状	－	－	－	振戦	振戦	－	振戦	振戦	－	－	－

表 3 生化学的検査結果

項目	単位	（参考）同居 健康豚	解剖豚No. 1	解剖豚No. 2	解剖豚No. 3
RBC	×10^4/μl	648±33	575 ↓	530 ↓	541 ↓
WBC	×10^2/μl	302±77	344	159 ↓	529 ↑
好塩基球	%	0.0±0.0	0.0	0.0	0.0
好酸球	%	1.7±1.8	0.5	0.0	0.0
後骨髄球	%	0.0±0.0	1.0 ↑	0.0	1.0 ↑
桿状核球	%	2.5±1.8	12.5 ↑	11.0 ↑	17.0 ↑
分葉核球	%	16.2±6.0	61.0 ↑	62.0 ↑	73.0 ↑
リンパ球	%	77.7±6.9	22.5 ↓	27.0 ↓	7.5 ↓
単球	%	2.0±1.8	2.5	0.0	1.5
TP	g/dl	5.6±0.1	5.3 ↓	5.7	5.5
Alb	g/dl	4.1±0.2	3.4 ↓	3.2 ↓	2.7 ↓
A/G	－	2.68±0.4	1.79 ↓	1.28 ↓	0.96 ↓
BUN	mg/dl	8.7±1.1	6.0	8.3	31.6 ↑
CRE	mg/dl	0.87±0.16	0.80	0.61	0.48 ↓
Ca	mg/dl	11.1±0.2	9.9 ↓	10.3 ↓	8.3 ↓
IP	mg/dl	12.7±0.6	13.1	11.8	9.1 ↓

5. 診断及び追加調査の実施

APPV 感染や振戦の有無による全身への影響については不明な点が多いことから、病態の解明のため同豚舎の 10～60 日齢の APPV 遺伝子陽性群（n=11）と陰性群（n=3）、遺伝子陽性の発症群（n=7）と無症状群（n=4）を用いて追加調査と比較を行った。

1） APPV 感染による影響

(1)材料及び方法

APPV 遺伝子陽性の 11 頭（振戦あり:7 頭、振戦なし:4 頭）と APPV 遺伝子陰性の 3 頭（全頭振戦なし）の血液を用いて、全自動血球計数器による血球計算、ドライケミストリー法による血液生化学的検査（TP、Alb、BUN、CRE、GLU、Ca、Mg、IP、Na、K、Cl、AST、ALT、γ-GTP、CK、LDH、T-Bil）、アガロースゲル電気泳動法（株式会社ヘレナ、クイックジェル SP）による血清蛋白分画（TP、Alb、α1-Glb、α2-Glb、β-Glb、γ-Glb）の測定

を行い、陽性群と陰性群をMann-WhitneyのU検定で比較し、$p<0.05$を有意差ありとした。データ解析には統計ソフトEZRを用いた(以下の解析も同じ)。

(2)結果

血球数において、APPV陽性群で赤血球数が有意に低値であった。ただし、網状赤血球の有意な増加は見られず、また陽性群のうち3頭は網状赤血球が1%未満で、非常に低値であった。

白血球百分比においては、陽性群にて後骨髄球、桿状核球といった幼弱な好中球が有意に高値であり、好中球の核の再生性左方移動が認められた。また、リンパ球数は有意に低値であった。

血液生化学的検査項目においては、陽性群にてCaが有意に低値であった(図1)。

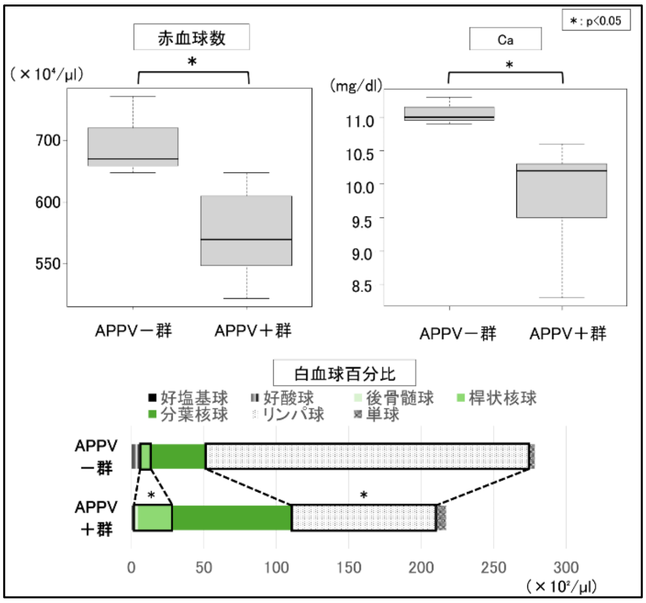

図1 APPV陽性群と陰性群の比較結果

2) 振戦の有無による影響

(1)材料及び方法

APPV遺伝子陽性群11頭のうち、発症群7頭と無症状群4頭を用いて全自動血球計数器による血球計算、ドライケミストリー法による血液生化学的検査、アガロースゲル電気泳動法による血清蛋白分画測定を行い、振戦群と無症状群をMann-WhitneyのU検定で比較した。

(2)結果

発症群においてTPとAlbが有意に低値、α1-Glb分画は有意に高値であった(図2)。

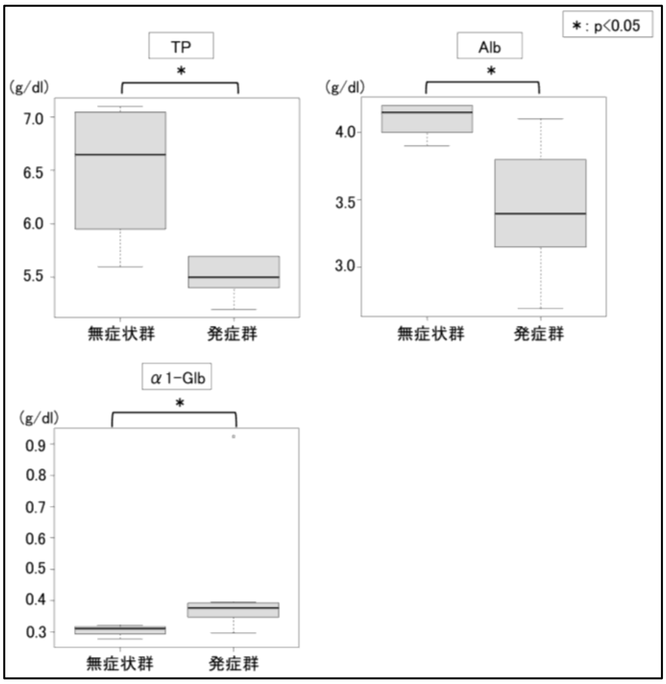

図2 無症状群と発症群の比較結果

6. まとめ及び考察

APPV陽性群において赤血球数の減少、一部で網状赤血球の減少、リンパ球数の減少が認められた。白血球数と血小板数の減少は見られなかったものの、赤血球とリンパ球の減少は同じペスチウイルス属である豚熱感染豚でも見られる特徴である[2)]。また、解剖豚3頭においては脾臓において髄外造血とリンパ球の減少が認められた。よって、APPV感染豚においては豚熱と同様に赤芽球系とリンパ球系への障害があった可能性が示唆された。

更に、APPV陽性群ではCaの低下が認められ、解剖豚No. 3ではBUNの増加、解剖豚3頭全頭では腎臓の充うっ血がみられ、腎臓からはAPPV遺伝子が検出された。腎不全により、血中Ca濃度は低下する[3)]とされていることから、陽性群では腎機能障害が起きていた可能性が示唆された。

また、発症群と無症状群を比較した結果、発症群ではTPとAlbの低下がみられ、振戦による哺乳困難があったと考えられた。また、α1-Glbの増加も見られたものの、他の蛋白分画の増加は見られなかった。炎症時に豚のα1-Glbを構成するAGPやα1-抗トリプシンは変動せず [4]、またAGPはグルココルチコイドにより増加するとされている [5]。これらのことから、α1-Glb 分画の増加の主な要因は炎症ではなく、ストレスによるAGP増加である可能性が高いと考えられた。更に、AGPは 4〜6ヶ月齢の豚において増体及び免疫状態と負の相関にあるとされている [6]。したがって、胎子の免疫発達前にAPPVに感染することで子豚は出生後振戦を呈し、哺乳困難となって増体不良となるが、この振戦のストレスにより免疫が悪化し、更に病態を悪化させることで、増体不良を増悪させている可能性が考えられた。

APPVは免疫発達前の胎子に感染するも、一部は症状を示さないとされる [1]が、本症例では症状の有無に限らず APPV 感染により造血系と腎機能の障害が起きている可能性が示唆された。したがって、APPV 感染豚では症状がなくとも全身状態の悪化が生じていた可能性も考えられ、妊娠母豚の感染予防の重要性が改めて示唆された。更に、振戦を示す個体については二次的なストレスによる免疫悪化が起きている可能性が考えられ、初乳の確実な摂取など、飼養管理に特に留意する必要があると考えられた。得られた知見は今後の APPV の病性鑑定や、農家への衛生指導に活用していきたい。

7. 引用文献

1)Arruda B. L., Arruda P. H., Magstadt D. R., Schwartz K. J., Dohlman T., Schleining J. A., Patterson A. R., Visek C. A., Victoria J. G.: Identification of a Divergent Lineage Porcine Pestivirus in Nursing Piglets with Congenital Tremors and Reproduction of Disease following Experimental Inoculation. PLoS ONE. 11(2), (2016)

2）杉村克治, 佐藤卯三郎, 成田亮一：豚コレラ人工感染豚における血液変化. 日獣会誌, 6 (1953)

3)小野憲一朗, 太田亨二, 鈴木直義：獣医臨床病理学. 近代出版, 東京(1998)

4)Alava M.A., González-Ramón N., Heegaard P., Guzylack S., Toussaint M. J. M., Lipperheide C., Madec F., Gruys E., Eckersall P. D., Lampreave F., Piñeiro A.: Pig-MAP, porcine acute phase proteins and standardisation of assays in Europe. Comparative Haematology International. 7 (1997)

5）Vannice J. L., Taylor J. M., Ringold G. M., Glucocorticoid-mediated induction of a,-acid glycolprotein: Evidence for hormone-regulated RNA processing. Proc Natl Acad Sci USA. 81(14). (1984)

6)Clapperton M., Diack A. B., Matika O., Glass E. J., Gladney C.D., Mellencamp M. A., Hoste A., Bishop S.: Traits associated with innate and adaptive immunity in pigs: heritability and associations with performance under different health status conditions. Genet Sel Evol. 41(1). (2009)