

PCV2d不顕性感染及び流行性肺炎を有する豚群における、 豚サーコウイルス2型(PCV2)及び *Mycoplasma hyopneumoniae* (マイコプラズマ・ハイオ ニューモニエ) 二価ワクチンと三価ワクチンの成長成績比較

Hyungmin Um^{1,†}, Siyeon Yang^{1,†}, Taehwan Oh¹, Keehwan Park¹, Hyejean Cho¹, Jeongmin Suh¹,
Kyung-Duk Min² and Chanhee Chae^{1*}

1 Department of Veterinary Pathology, College of Veterinary Medicine, Seoul National University

2 Institute of Health and Environment, Seoul National University

* Correspondence: swine@snu.ac.kr

† These authors contributed equally to this article.

出典 : Vaccines 2021, 9, 450.

抄録

今回の野外試験では、豚サーコウイルス2型(PCV2)および*Mycoplasma hyopneumoniae* (マイコプラズマ・ハイオニューモニエ。以下、Mhp)を含む2種類の混合ワクチンをPCV2d不顕性感染と流行性肺炎を有する豚群に投与して比較を行った。ワクチンの一つはPCV2aとMhpを含む二価ワクチンで、もう一つはPCV2aおよび2b(PCV2a/b)ならびにMhpを含む三価ワクチンであった。これら二つのワクチンの決定的な違いはPCV2b抗原を含有するか否かであった。合計360頭の21日齢の豚を3群に無作為に割り付けた(各群120頭、雄=60頭、雌=60頭)。これら3群は、三価ワクチン1回投与群、二価ワクチン1回投与群およびワクチン非投与群であった。三価ワクチンを1回投与された豚は、二価ワクチンを投与された豚と比較して有意に優れた成長成績を呈した。また、三価ワクチンを1回投与された豚は二価ワクチンを1回投与された豚と比較して血液中および糞便中のPCV2d量を低減させ、喉頭におけるMhp量も減少させた。本研究結果は、豚を診療する獣医師や生産者に対し、PCV2d不顕性感染と流行性肺炎に罹患した豚群に対する適切なワクチンおよびワクチン投与プログラムを選択するための比較臨床野外データとなるだろう。

キーワード : *Mycoplasma hyopneumoniae*; *porcine circovirus type 2*; *trivalent vaccine*

1. 緒言

豚サーコウイルス2型(PCV2)はサーコウイルス科に属する一般的な豚のウイルスの一種で、世界中でみられ、世界の豚産業にとって最も経済的に脅威となる病原体の一つと認識されている(1)。PCV2は新たなウイルスではないかもしれないが、それが引き起こす多様な症候群と疾患から依然として課題の一つとなっている。離乳後多臓器性発育不良症候群(PMWS)、豚皮膚炎腎症症候群(PDNS)、豚呼吸器複合病(PRDC)、繁殖障害および腸症状はすべて豚サーコウイルス関連疾患(PCVAD)の一例である。ワクチンが広く利用されるようになったことから、2018年以降PCV2は良好に制御されている病原体の一つとされているものの、ほとんどの農場は依然としてPCV2の不顕性感染を経験している(2)。現在、PCV2は少なくとも8種類の遺伝子型に分類されており、最初に同定された時期に基づいて「aからhまで」のアルファベットの小文字がそれぞれに付されている(3)。遺伝子型d(PCV2d)は現在アジアと北米に最も多く優勢となっている遺伝子型と考えられている(4-6)。

Mhpは世界の豚産業の至る所で大部分の豚群に蔓延しており伝染性が高い。Mhpは、慢性の非湿性咳嗽を特徴とし、罹患率が高く死亡率は低いマイコプラズマ肺炎を引き起こす。Mhpがパスツレラ・マルトシダ(*Pasteurella multocida*)などの日和見菌と複合感染した場合に引き起こされる流行性肺炎は依然として重要な慢性呼吸器病の一つである(7)。流行性肺炎は1日平均増体量の低下ひいては出荷体重到達日数の増加の原因となるが、これらはいずれも著しい経済的損失をもたらす(7)。

PCV2とMhpは経済的に重要な病原体であり、世界中の養豚システムにおいて見られるPRDC主要病原体である。PCV2およびMhpに対するワクチン投与は、特にアジアの養豚業において、これらの病原体のコントロールに極めて有効な戦略の一つである(8)。韓国の養豚場は現在50%を超える豚に対してPCV2とMhpを含む混合ワクチンを使用している(<http://www.kahpha.or.kr> (2021年4月29日アクセス))。その結果として混合ワクチン投与は日常的な管理慣行の一部とみなされている。

最近になってPCV2aおよび2b(PCV2a/b)ならびにMhpを含有する新たな三価ワクチン(フォステラ® ゴールド PCV MH、ゾエティス社製)が世界市場に導入された(<http://www.zoetisus.com> (2021年4月29日アクセス))。この三価ワクチンのPCV2b抗原は、PCV2d(これまで「PCV2b変異株」と称されていたもの)と遺伝的に密接に関連しており、このPCV2dはアジアの豚集団において現在優勢なPCV2遺伝子型であることから特に興味深い(4-6)。PCV2aをベースとしたワクチンは実験条件下でPCV2dに対して交差防御を提供できるものの(9-12)、PCV2dの出現はこれらのPCV2aワクチンを投与された群内のPCVADアウトブレイクと依然として関連付けられている(13-15)。追加的な比較実験研究では、PCV2bをベースとしたワクチンはPCV2d遺伝子型に対する防御に関してPCV2aをベースとしたワクチンよりも有効性が低いかもしれない(16)。しかし、PCV2aとMhpを含む二価ワクチンとPCV2a/bおよびMhpを含む三価ワクチンを比較した野外試験はまだ着手されていない。本研究の目的は、PCV2d不顕性感染と流行性肺炎の存在下での豚群の成長成績の評価に重点を置いて二価ワクチンと三価ワクチンを比較することであった。

2. 材料および方法

2.1. 農場履歴

オールイン・オールアウト生産方式が実施されている、母豚1,200頭を飼育する分娩から肥育までの一貫生産農場において臨床野外試験を実施した。PCV2d不顕性感染と流行性肺炎の履歴に基づいて本農場を選択した。本農場の豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス(PRRSV)の状態は安定しており、活動性のPRRSV流行はなかった(高産歴母豚が豚群内の唯一の血清陽性豚であった)。母豚および子豚へのPRRSウイルス弱毒生ワクチン投与は1年以上行われていなかった。子豚に対し3週齢時点でPCV2ワクチンAおよびMhpワクチンA(どちらもX社製)に対するワクチンを投与した。確認された症例は、明らかな臨床徴候を伴わない1日平均増体量の

減少、鼠径リンパ節の病理組織学的病変の不在または軽微な病変の存在、感染が疑われる豚5頭中3頭において免疫組織化学的検査で鼠径リンパ節中に存在するPCV2量が少ないことに基づき、PCV2不顕性感染の定義(17)を満たすと判断した。さらに、68日齢の3頭すべてにおいて、重度の乾性咳嗽、病理組織学的な細気管支周囲リンパ組織過形成およびリアルタイムPCRによる肺試料中のMhp検出によってMhp感染が確定した(18)。群中のPCV2およびMhpの流行を評価するために事前調査を実施した。試験前の調査から、7週齢前後から抗体価の上昇が開始するというPCV2の血清学的プロファイルが確認された。7～15週齢の豚がPCR法によって血中PCV2陽性と判定された。

Mhpの血清学的検査では、7週齢の豚は一部が、10週齢の豚は全頭が陽性であった。総合すると、これらの結果は早期および長期的なPCV2およびMhp感染が群内で流行していたことを示している。

2.2. 実験デザイン

母豚のばらつきを最小化するために、各母豚から乱数生成機能(Excel, Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA)を用いて21日齢の豚6頭を無作為に選択し、3群のそれぞれに均等(母豚1頭あたり2頭)に割り付けた。同一のソフトウェアと機能を利用して合計360頭の豚を3群に無作為に分割した(各群120頭、雄=60頭、雌=60頭)(表1)。VacA群の豚には2.0mLの三価ワクチン(フォステラ® ゴールド PCV MH、ゾエティス社製)を21日齢で筋肉内投与した。VacB群の豚には2.0mLの二価ワクチン(PCV・Mhp混合ワクチンB、Y社製)を21日齢で筋肉内投与した。UnVac(ワクチン非投与)群の豚には2.0mLのリン酸緩衝生理食塩水(PBS、0.01M、pH7.4)を21日齢で筋肉内注射した。豚を同居させ、同一建物内の36の豚房に無作為に割り付けた。各豚房には10頭の豚を収容し、各治療群が同等の割合で含まれた。豚房の設計と設備は同一とし、設備には自由摂食と自由飲水が可能な給餌施設が含まれた。

表1 野外実験デザイン

群	豚数	ワクチン	用量	日齢
VacA	120	フォステラ® ゴールド PCV MH	1回投与(2.0 mL)	21
VacB	120	PCV・Mhp混合ワクチンB	1回投与(2.0 mL)	21
UnVac	120	リン酸緩衝生理食塩水	1回投与(2.0 mL)	21

全血、糞便および喉頭スワブを、ワクチン投与後(dpv)0日(21日齢)、28日(49日齢)、49日(70日齢)、91日(112日齢)時点でそれぞれ採取した。

豚に保定器をかけて開口器で拘束した状態で喉頭スワブを採取した。喉頭鏡に沿ってスワブを喉頭に挿入した。喉頭が視認でき、喉頭蓋が下がったら、喉頭軟骨内壁をスワブで1回拭った(19)。

2.3. 臨床観察

異常な臨床徴候について豚を毎日観察し、0(正常)から6(死亡)までのスコアを用いて毎週評価を行った(20)。観察者はワクチン投与およびワクチンの種類の状態について盲検化されていた。死亡した豚の頭数をバッチ内の当該豚群に当初割り付けられた頭数で除して死亡率を算出した。研究期間中に死亡したまたは淘汰された豚は剖検に付した。触診を含む注射部位反応の評価はワクチン投与後24時間時点で実施した。

2.4. 1日平均増体量

各豚の生体重量を、ワクチン投与後0日(21日齢)、49日(70日齢)および154日(175日齢)時点でそれぞれ測定した。1日平均増体量(ADWG、グラム/頭/日)を、(i)21日齢から70日齢と(ii)70日齢から175日齢の二つの期

間で分析した。各生産段階のADWGは当初体重と最終体重の差を当該段階の期間中の日数で除して算出した。算出には死亡豚のデータを含めた。

2.5. T細胞エピトープコンテンツ比較解析

PCV2d株(SNUVR202002、GenBank番号MW821481)を提出した診断症例の68日齢の豚の鼠径リンパ節から分離した。ワクチン配列と野外株との近縁性をBandrickらが先に記述したT細胞エピトープコンテンツ比較(EpiCC)解析によって解析した(21)。ワクチンのT細胞エピトープカバー率を定量するために、各ワクチンと野外株の比較における共通EpiCCスコアを野外株のベースラインEpiCCで除して百分率で表した。

2.6. 血中および糞便中のPCV2d DNA定量

市販のキット(QIAamp DNA Mini Kit, QIAGEN, Valencia, CA, USA)を用いて血清および糞便試料からDNAを抽出し、リアルタイムPCRによってPCV2dのゲノムDNAコピー数を定量した(22)。

2.7. 喉頭スワブ中のMhp DNA定量

市販のキット(QIAamp DNA Mini Kit, QIAGEN)を用いて喉頭スワブからDNAを抽出し、リアルタイムPCRによってMhpのゲノムDNAコピー数を定量した(18)。

2.8. 血清学的検査

市販のMhp用の酵素結合免疫吸着検査法(ELISA)キット(M. hyo. Ab test, IDEXX Laboratories Inc. Inc., Westbrook, ME, USA)およびPCV2(SERELISA PCV2 Ab Mono Blocking, Synbiotics, Lyon, France)検査キットを用いて血清試料を検査した。各キットの製造者の説明書にしたがい、Mhp抗体についてはS/P比が ≥ 0.4 の場合を陽性とみなし、抗PCV2抗体についてはELISA価の逆数が > 350 の場合を陽性とみなした。

2.9. 病理学的検査

肉眼的肺病変の重症度を採点し、肺炎によって肺が影響を受けた割合を推定した。採点は2人の病理学者(著者のChaeと1人の大学院生)がソウル大学で実施した。肺全体を100点とし、右前葉、右中葉、左前葉および左中葉に対してそれぞれ10点、右後葉および左後葉に対してそれぞれ27.5点、副葉に対して5点を配点した(20)。続いて、盲検化された2人の獣医病理学者が採取された肺およびリンパ組織の切片を検査し、マイコプラズマ肺炎病変による細気管支周囲のリンパ組織過形成の重症度を採点(0~6)した(23)。リンパ組織病変の重症度はリンパ球枯渇および肉芽腫性炎症に基づいて採点(0~5)した(24)。

2.10. 統計解析

統計解析の前にリアルタイムPCRのデータを \log_{10} 値に変換した。統計解析はIBM SPSS Statistics for Windows version 23.0(IBM Corp., Armonk, NY, USA)を用いて実施した。Shapiro-Wilk検定を用いて収集されたデータの正規分布を検定した。一元配置分散分析(ANOVA)を用いて群内の各時点での統計的有意差の有無を調べた。統計的有意差のある一元配置ANOVAの結果については、Tukeyの補正法を用いた一対比較のための事後検定を実施してさらに評価した。正規性の仮定が成立しなかった場合はKruskal-Wallis検定を実施した。統計的有意性を示したKruskal-Wallis検定の結果は、Tukeyの補正を含めて群間差を比較するためにMann-Whitney検定でさらに評価した。結果は p 値で報告し、 $p < 0.05$ の値を有意とみなした。

3. 結果

3.1. 臨床徴候

21dpvから126dpvでは呼吸器徴候(呼吸困難や頻呼吸など)はワクチン投与群(VacA群およびVacB群)が非ワクチン投与群(UnVac群)よりも有意に低かった($p<0.05$)。ワクチン投与群間で比較すると、63dpvおよび98dpvではVacA群の呼吸器徴候(呼吸困難や頻呼吸など)がVacB群の呼吸器徴候よりも有意に低かった($p<0.05$)ことが判明した。

3.2. 1日平均増体量

試験開始時点(21日齢)ではワクチン投与群(VacA群およびVacB群)とワクチン非投与群(UnVac群)間に平均体重の違いは観察されなかった。肥育期(70日齢から175日齢)および試験期間全体(21日齢から175日齢)では、ワクチン投与群(VacA群およびVacB群)のADWGはワクチン非投与群(UnVac群)のADWGよりも有意に高かった($p<0.05$)。肥育期(70日齢から175日齢)のワクチン投与群間の比較では、VacA群のADWGはVacB群のADWGよりも有意に高かった($p<0.05$)。試験期間全体(21日齢から175日齢)の比較では、VacA群のADWGはVacB群のADWGよりも有意に高かった($p<0.05$) (表2)。

表2 ワクチン投与豚とワクチン非投与豚の発育成績(1日平均増体量 [ADWG] と共に示す)および病理学的検査結果

	日齢	群		
		VacA	VacB	UnVac
ADWG(g/頭/日)	21-70	399.90 ± 25.44	395.51 ± 24.20	393.57 ± 31.13
	70-175	775.65 ± 20.65 ^a	765.23 ± 22.73 ^b	715.74 ± 26.26 ^c
	21-175	656.06 ± 11.85 ^a	647.65 ± 14.17 ^b	613.46 ± 14.33 ^c
体重(kg)	21	5.57 ± 0.32	5.51 ± 0.35	5.50 ± 0.36
	175	106.60 ± 1.82 ^a	105.25 ± 2.15 ^b	99.96 ± 2.19 ^c
肺病変率(肉眼)	175	17.82 ± 6.90 ^a	19.70 ± 8.21 ^a	28.60 ± 10.67 ^b
肺病変率(顕微鏡)	175	0.73 ± 0.56 ^a	0.88 ± 0.65 ^a	2.04 ± 0.93 ^b
リンパ性病変(顕微鏡)	175	0.69 ± 0.59	0.86 ± 0.58	1.07 ± 0.37

^{a,b,c} 異なる上付き文字は3群間の有意差を示す($p<0.05$)。

3.3. 死亡

診断結果はワクチン非投与群では死亡が主にPCV2とMhpの同時感染と関連していたことを示した。VacA群では1頭が原因不明の血性下痢により63日齢で死亡した。VacA群ではさらに2頭がPCRで検出されたMhpと肺から分離された*P. multocida*との同時感染によるものと判定された気管支肺炎により72日齢および75日齢で死亡した。VacB群では3頭がPCRで検出されたMhpと肺から分離された*Trueperella pyogenes*の同時感染によるものと判定された気管支肺炎により60日齢、80日齢および82日齢で死亡した。VacB群ではさらに2頭がPCRで検出されたPCV2dと肺から分離された*P. multocida*の同時感染によるものと判定された気管支肺炎により72日齢で死亡した。UnVac群では1頭が大腸から分離された*Salmonella typhimurium*によるものと判定されたサルモネラ症により52日齢で死亡した。UnVac群では4頭がPCRで検出されたPCV2dおよびMhpと肺から分離された*Glaesserella parasuis*の同時感染によるものと判定された気管支肺炎により64日齢、75日齢、88日齢および110日齢で死亡した。UnVac群ではさらに3頭がPCRで検出されたMhpと肺から分離された*P. multocida*および*T. pyogenes*の同時感染によるものと判定された気管支肺炎により72日齢(2頭)および80日齢で死亡した。

3.4. T細胞エピトープコンテンツ比較解析

共通EpiCCスコアは二価ワクチンに比較して三価ワクチンの方がより高かった。PCV2d野外株(SNUVR

202002)に対する二価ワクチンのT細胞エピープカバー率は62%で、同一の野外PCV2d株に対する三価ワクチンのT細胞エピープカバー率は83%である。これはエピープカバー率の33%改善を示している(表3)。

表3 豚サーコウイルス2型(PCV2)ワクチンと野外株間のT細胞エピープコンテンツ比較(EpiCC)スコア

	PCV2ワクチンのORF2		
	一価ワクチン ^a	二価ワクチン ^b	三価ワクチン ^c
ワクチンベースライン ^d	6.83	6.50	8.66
平均ベースライン(sd) ^e		10.49 (0.16)	
EpiCC ^f	6.83	6.50	8.66
範囲 ^g	65.36%	62.22%	82.82%

^a 農場で使用した一価ワクチン(PCVワクチンA)。^b 本試験で使用した二価ワクチン(PCV・Mhp混合ワクチンB)。^c 本試験で使用した三価ワクチン(フォステラ[®] ゴールドPCV MH)。^d ワクチン自体と比較して計算したEpiCCスコア。^e 野外株の全長の平均ベースラインEpiCCスコア(標準偏差)。^f 野外株の全長と比較したワクチンのEpiCCスコア。^g パーセンテージで表された各野外株のベースラインEpiCCスコアのカバー率。

3.5. 血中および糞便中のPCV2d DNA定量

28、49および91dpvではワクチン投与群(VacA群およびVacB群)の血中PCV2d DNA量はワクチン非投与群(UnVac群)よりも有意に少なかった($p < 0.05$)。49dpvではVacA群の血中PCV2d DNA量はVacB群よりも有意に少なかった($p < 0.05$) (図1A)。

28、49および91dpvではワクチン投与群(VacA群およびVacB群)の糞便中PCV2d DNA量はワクチン非投与群(UnVac群)よりも有意に少なかった($p < 0.05$) (図1B)。

3.6. 喉頭スワブ中のMhp DNA定量

28、49および91dpvではワクチン投与群(VacA群およびVacB群)の喉頭スワブ中Mhp DNA量はワクチン非投与群(UnVac群)よりも有意に少なかった($p < 0.05$)。ワクチン投与群間の比較では、49dpvでVacA群の喉頭スワブ中Mhp DNA量はVacB群よりも有意に少なかった($p < 0.05$) (図2)。

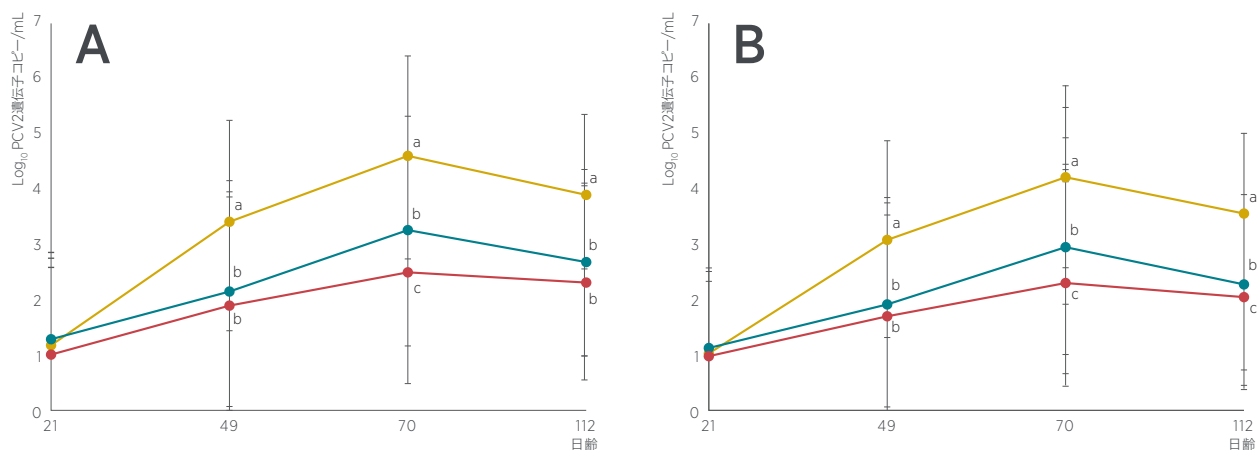


図1 VacA (●)、VacB (●)、UnVac (●)から採取した血清(A)および糞便(B)中PCV2d DNAの遺伝子コピー数の平均値。ばらつきは標準偏差として表している。異なる上付き文字(a, bおよびc)は3群間の有意差を示す($p < 0.05$)。

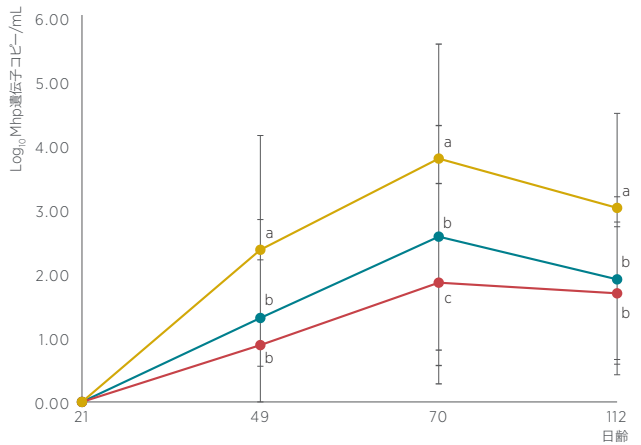


図2 VacA (●)、VacB (●)、UnVac (●)から採取した喉頭スワブ中Mhp DNAの遺伝子コピー数の平均値。ばらつきは標準偏差として表している。異なる上付き文字(a, bおよびc)は3群間の有意差を示す(p<0.05)

3.7. PCV2に対する免疫応答

ワクチン投与群(VacA群およびVacB群)の28、49および91dpvのPCV2 ELISA値はワクチン非投与群(UnVac群)よりも有意に高かった(p<0.05)。ワクチン投与群間の比較では、49dpvおよび91dpvでVacA群のPCV2 ELISA値はVacB群よりも有意に高かった(p<0.05)(図3A)。

3.8. Mhpに対する免疫応答

ワクチン投与群(VacA群およびVacB群)の28、49および91dpvのMhp ELISA S/P比はワクチン非投与群(UnVac群)よりも有意に高かった(p<0.05)。

ワクチン投与群間の比較では、91dpvでVacA群のMhp ELISA S/P比はVacB群よりも有意に高かった(p<0.05)(図3B)。

3.9. 病理学的検査

ワクチン投与群(VacA群およびVacB群)の154dpvの肉眼的および顕微鏡的肺病変スコアはワクチン非投与群(UnVac群)よりも有意に低かった(p<0.05)(表2)。

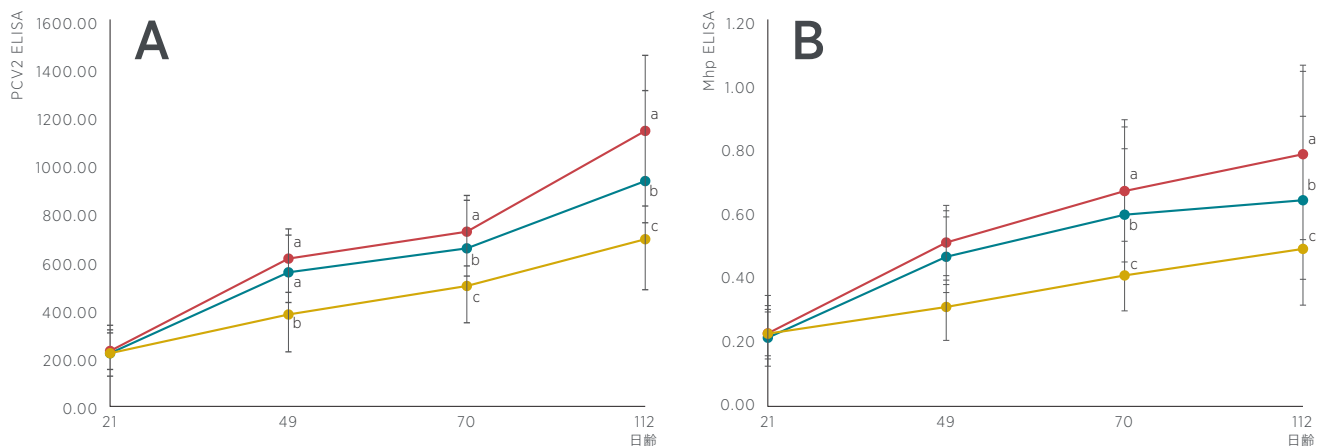


図3 VacA (●)、VacB (●)、UnVac (●)から採取した抗PCV2抗体(A)および抗Mhp抗体(B)の平均値。ばらつきは標準偏差として表している。異なる上付き文字(a, bおよびc)は3群間の有意差を示す(p<0.05)。

4. 考察

今回の野外試験は、PCV2aとMhpを含む二価ワクチンとPCV2a/bおよびMhpを含む三価ワクチンの2種類の混合ワクチンを比較するために用いられた。本研究の野外条件下、すなわち、PCV2dの不顕性感染と流行性肺炎が農場内で流行している条件下では、三価ワクチンを投与された豚は二価ワクチンを投与された豚と比較して有意に優れた成長成績を示した。三価ワクチン投与群を二価ワクチン投与群と比較した場合の経済的ベネフィットを屠殺時の市場出荷時体重の差によって評価した。三価ワクチン投与群は体重を有意に改善し(1.245kg/頭、 $p < 0.05$) (三価ワクチン投与群では106.495kgに対し、二価ワクチン投与/ワクチン非投与群では105.25kg)、1頭あたり2.98米ドル (換算レート:1.00米ドル=1,169.40韓国ウォン)の収益増加につながった。

三価ワクチン投与群で二価ワクチン投与群に比べて成長成績が改善したことは、PCV2dのワクチン株と野外株の間でエピトープ決定基が異なることに起因するのかもしれない。野外PCV2d株に対する二価ワクチンのT細胞エピトープカバー率は62%で、同一の野外PCV2d株に対する三価ワクチンのT細胞エピトープカバー率は83%である。このように、PCV2a/bおよびMhpワクチン株を含む三価ワクチンは、PCV2aワクチン株のみを含む二価ワクチンと比較して野外PCV2d株に対する良好な防御を提供する。これらの結果は、PCV2aとPCV2bの混合ワクチンがPCV2aの一価ワクチンと比較して、さまざまな遺伝子型株のすべてと平均してより多くのT細胞エピトープコンテンツを共有しているという結果を得たEpiCCの先行解析の結果と一致している(21)。PCV2aをベースとしたワクチンは実験条件下でのみPCV2dに対して部分的な交差防御を提供する(9-12)。研究におけるこのような実験的チャレンジ感染条件とコマーシャル農場の感染条件の間にはいくつかの違いが存在する。コマーシャル農場の豚は水平感染によって流行している野外PCV2dウイルスに対して継続的に曝露したり再曝露したりしている。感染制御が十分でないコマーシャル農場では自然な同時感染だけでなくその他の内因的および外因的因子も疾患を増悪させる。野外条件下では、PCV2aワクチンを投与された群にPCV2dの同定が報告されていることからPCV2aをベースとしたワクチンによって提供されるPCV2dに対する交差防御のレベルは疑問視されている(13-15)。今回の野外比較試験では、三価ワクチンの投与が二価ワクチンの投与と比較して血中および糞便中のPCV2d量を減少させた。PCV2ウイルス血症の低減はPCV2感染に対する防御とよく相関している(25-27)。本研究結果は、野外条件下のPCV2d不顕性感染に対し、三価ワクチンの投与が二価ワクチンの投与と比較してPCV2dに対する優れた防御を提供したことを示唆している。

Mhp抗原およびアジュバントは2種類の混合ワクチン間で異なっていた。特に、アジュバントは、不活化された全細胞Mhpバクテリアの免疫原性と保護効果に影響を与えることが知られている(28)。三価ワクチン投与は二価ワクチン投与と比較して喉頭のMhp量を減少させた。喉頭のMhp量の減少とワクチンによる防御の相関には十分な知見がないが、喉頭のMhp量を減少させることは周囲の豚への水平感染の低減に繋がる可能性が高い。

ワクチンの種類を問わず、ワクチン投与群はワクチン非投与群と比較してマイコプラズマによる肺病変の低減が有意に大きかった。これらの結果は野外試験においてMhpに対するワクチン投与が肺炎による肺病変を低減させるとした先行研究の結果と一致している(29-31)。ワクチン投与群とワクチン非投与群間にリンパ組織病変の有意差は認めなかった。PCV2関連リンパ組織病変はPCV2に不顕性感染した豚では軽度であることが典型的であるため、この結果は今回の野外試験が実施された農場のPCV2感染が不顕性であったことに起因するのかもしれない(17)。

本研究はPCV2aとMhpを含む二価ワクチンとPCV2a/bとMhpを含む三価ワクチンの違いを評価した臨床比較野外試験である。PCV2ワクチンの2つの遺伝子型によってカバー範囲が広がることにより野外で進化するPCV2ウイルスに対する備えが広がっている。農場での不顕性のPCV2d感染および流行性肺炎の比較野外臨床試験を実施することは臨床的に意義がある。

5. 結論

本研究はPCV2aとMhpを含む二価ワクチンとPCV2a/bとMhpを含む三価ワクチンの違いを評価した最初の比較野外試験である。三価ワクチンを投与された豚は、二価ワクチンを投与された豚と比較して有意に優れた成長成績を示した。三価ワクチン投与群で二価ワクチン投与群に比べて成長成績が改善したことは、PCV2dのワクチン株と野外株の間でエピトープ決定基が異なることに起因するのかもしれない。野外PCV2d株に対する二価ワクチンのT細胞エピトープカバー率は62%で、同一の野外PCV2d株に対する三価ワクチンのT細胞エピトープカバー率は83%である。農場でのPCV2d不顕性感染および流行性肺炎の比較野外臨床試験を実施することは臨床的に意義がある。

参考文献

1. Chae, C. A review of porcine circovirus 2-associated syndromes and diseases. *Vet. J.* 2005, 169, 326–336.
2. Dvorak, C.M.; Yang, Y.; Haley, C.; Sharma, N.; Murtaugh, M.P. National reduction in porcine circovirus type 2 prevalence following introduction of vaccination. *Vet. Microbiol.* 2016, 189, 86–90.
3. Franzo, G.; Segales, J. Porcine circovirus 2 (PCV-2) genotype update and proposal of a new genotyping methodology. *PLoS ONE* 2018, 13, e0208585.
4. Xiao, C.T.; Halbur, P.G.; Opriessnig, T. Global molecular genetic analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) sequences confirms the presence of four main PCV2 genotypes and reveals a rapid increase of PCV2d. *J. Gen. Virol.* 2015, 96, 1830–1841.
5. Franzo, G.; Cortey, M.; Segalés, J.; Hughes, J.; Drigo, M. Phylodynamic analysis of porcine circovirus type 2 reveals global waves of emerging genotypes and the circulation of recombinant forms. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2016, 100, 269–280.
6. Kwon, T.; Lee, D.-U.; Yoo, S.J.; Je, S.H.; Shin, J.Y.; Lyoo, Y.S. Genotypic diversity of porcine circovirus type 2 (PCV2) and genotype shift to PCV2d in Korean pig population. *Virus Res.* 2017, 228, 24–29.
7. Maes, D.; Sibila, M.; Kuhnert, P.; Segalés, J.; Haesebrouck, F.; Pieters, M. Update on *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs: Knowledge gaps for improved disease control. *Transbound. Emerg. Dis.* 2018, 65, 110–124.
8. Chae, C. Porcine respiratory disease complex: Interaction of vaccination and porcine circovirus type 2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus, and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet. J.* 2016, 212, 1–6.
9. Opriessnig, T.; Gerber, P.F.; Xiao, C.-T.; Halbur, P.G.; Matzinger, S.R.; Meng, X.-J. Commercial PCV2a-based vaccines are effective in protecting naturally PCV2b-infected finisher pigs against experimental challenge with a 2012 mutant PCV2. *Vaccine* 2014, 32, 4342–4348.
10. Opriessnig, T.; Gerber, P.F.; Xiao, C.-T.; Mogler, M.; Halbur, P.G. A commercial vaccine based on PCV2a and an experimental vaccine based on a variant mPCV2b are both effective in protecting pigs against challenge with a 2013 U.S. variant mPCV2b strain. *Vaccine* 2014, 32, 230–237.
11. Opriessnig, T.; Xiao, C.-T.; Halbur, P.G.; Gerber, P.F.; Matzinger, S.R.; Meng, X.-J. A commercial porcine circovirus (PCV) type 2a-based vaccine reduces PCV2d viremia and shedding and prevents PCV2d transmission to naïve pigs under experimental conditions. *Vaccine* 2017, 35, 248–254.
12. Park, K.H.; Oh, T.; Yang, S.; Cho, H.; Kang, I.; Chae, C. Evaluation of a porcine circovirus type 2a (PCV2a) vaccine efficacy against experimental PCV2a, PCV2b, and PCV2d challenge. *Vet. Microbiol.* 2019, 231, 87–92.
13. Opriessnig, T.; Xiao, C.-T.; Gerber, P.F.; Halbur, P.G. Emergence of a novel mutant PCV2b variant associated with clinical PCVAD in two vaccinated pig farms in the US concurrently infected with PPV2. *Vet. Microbiol.* 2013, 163, 177–183.
14. Ramos, N.; Mirazo, S.; Castro, G.; Arbiza, J. First identification of porcine circovirus type 2b mutant in pigs from Uruguay. *Infect. Genet. Evol.* 2015, 33, 320–323.
15. Seo, H.W.; Park, C.; Kang, I.; Choi, K.; Jeong, J.; Park, S.J.; Chae, C. Genetic and antigenic characterization of a newly emerging porcine circovirus type 2b mutant first isolated in cases of vaccine failure in Korea. *Arch. Virol.* 2014, 159, 3107–3111.
16. Huan, C.; Fan, M.; Cheng, Q.; Wang, X.; Gao, Q.; Wang, W.; Gao, S.; Liu, X. Evaluation of the efficacy and cross-protective immunity of live-attenuated chimeric PCV1-2b vaccine against PCV2b and PCV2d subtype challenge in pigs. *Front. Microbiol.* 2018, 9, 455.
17. Segalés, J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: Clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. *Virus Res.* 2012, 164, 10–19.
18. Dubosson, C.R.; Conzelmann, C.; Miserez, R.; Boerlin, P.; Frey, J.; Zimmermann, W.; Häni, H.; Kuhnert, P. Development of two real-time PCR assays for the detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in clinical samples. *Vet. Microbiol.* 2004, 102, 55–65.
19. Pieters, M.; Daniels, J.; Rovira, A. Comparison of sample types and diagnostic methods for in vivo detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* during early stages of infection. *Vet. Microbiol.* 2017, 203, 103–109.
20. Halbur, P.G.; Paul, P.S.; Frey, M.L.; Landgraf, J.; Eernisse, K.; Meng, X.J.; Lum, M.A.; Andrews, J.J.; Rathje, J.A. Comparison of the pathogenicity of two US porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates with

that of the Lelystad virus. *Vet. Pathol.* 1995, 32, 648–660.

21. Bandrick, M.; Gutierrez, A.H.; Desai, P.; Rincon, G.; Martin, W.D.; Terry, F.; De Groot, A.S.; Foss, D.L. T cell epitope content comparison (EpiCC) analysis demonstrates a bivalent PCV2 vaccine has greater T cell epitope overlap with field strains than monovalent PCV2 vaccines. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2020, 223, 110034.
22. Jeong, J.; Park, C.; Choi, K.; Chae, C. Comparison of three commercial one-dose porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccines in a herd with concurrent circulation of PCV2b and mutant PCV2b. *Vet. Microbiol.* 2015, 177, 43–52.
23. Opriessnig, T.; Thacker, E.L.; Yu, S.; Fenaux, M.; Meng, X.-J.; Halbur, P.G. Experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs by dual infection with *Mycoplasma hyopneumoniae* and porcine circovirus type 2. *Vet. Pathol.* 2004, 41, 624–640.
24. Kim, J.; Chae, C. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 and macrophage inflammatory protein-1 in porcine circovirus 2-induced granulomatous inflammation. *J. Comp. Pathol.* 2004, 131, 121–126.
25. Seo, H.W.; Han, K.; Oh, Y.; Park, C.; Chae, C. Efficacy of a reformulated inactivated chimeric PCV1-2 vaccine based on clinical, virological, pathological and immunological examination under field conditions. *Vaccine* 2012, 30, 6671–6677.
26. Fort, M.; Sibila, M.; Perez-Martin, E.; Nofrarias, M.; Mateu, E.; Segalés, J. One dose of a porcine circovirus 2 (PCV2) sub-unit vaccine administered to 3-week-old conventional piglets elicit cell-mediated immunity and significantly reduced PCV2 viremia in an experimental model. *Vaccine* 2009, 27, 4031–4037.
27. Martelli, P.; Ferrari, L.; Morganti, M.; Angelis, D.E.; Bonilauri, P.; Guazzetti, S.; Caleffi, A.; Borghetti, P. One dose of a porcine circovirus 2 subunit vaccine induces humoral and cell-mediated immunity and protects against porcine circovirus-associated disease under field conditions. *Vet. Microbiol.* 2011, 149, 339–351.
28. Galliher-Beckley, A.; Pappan, L.K.; Madera, R.; Burakova, Y.; Waters, A.; Nickles, M.; Li, X.; Nietfeld, J.; Schlup, J.R.; Zhong, A.; et al. Characterization of a novel oil-in-water emulsion adjuvant for swine influenza virus and *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccines. *Vaccine* 2015, 33, 2903–2908.
29. Jensen, C.S.; Ersboll, A.K.; Nielsen, J.P. A meta-analysis comparing the effect of vaccines against *Mycoplasma hyopneumoniae* on daily weight gain in pigs. *Prev. Vet. Med.* 2002, 54, 265–278.
30. Maes, D.; Deluyker, H.; Verdonck, M.; Castryck, F.; Miry, C.; Vrijens, B.; Verbeke, W.; Viaene, J.; de Kruif, A. Effect of vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* in pig herds with an all-in/all-out production system. *Vaccine* 1999, 17, 1024–1034.
31. Wilson, S.; Van Brussel, L.; Saunders, G.; Taylor, L.; Zimmermann, L.; Heinritzi, K.; Ritzmann, M.; Banholzer, E.; Eddicks, M. Vaccination of piglets at 1 week of age with an inactivated *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine reduces lung lesions and improves average daily gain in body weight. *Vaccine* 2012, 30, 7625–7629.

zoetis[®]

FOR ANIMALS. FOR HEALTH. FOR YOU.