

論文の内容の要旨

論文題目 PRRSV が関与する豚肺炎の発病機構に関する研究

氏 名 川 島 健 司

豚繁殖・呼吸障害症候群(porcine reproductive and respiratory syndrome : PRRS)は、アルテリウイルスとして最近分類された小型 RNA ウイルス (PRRSV) による異常産と肥育豚の呼吸障害を主徴とする新しい豚の疾病である。最近の PRRS 汚染農場の特徴として、異常産の発生は少ない一方、若齢豚が重篤な呼吸器症状を示す肺炎に罹患し、その結果、死亡率の上昇と発育率の低下をきたす消耗性疾病が多く認められることがあげられる。これら罹患豚の肺炎病巣からは、様々な病原微生物が検出されている。一方、PRRSV の接種実験によっては野外で認められるような重篤な呼吸器障害は再現されていないことから、PRRSV の関与する豚肺炎の発病には他の病原微生物との相互作用と宿主の防御能の低下が関与していることが推察されている。近年の豚肺炎の多くに病因学的に PRRSV が関連していることが明らかにされ、PRRSV の関与する豚肺炎の発病機構の解明が豚肺炎防除のための大きな課題となっている。そこで、本研究では PRRSV が関与する豚肺炎の発病機構における本ウイルスと他の病原微生物との相互作用ならびに PRRSV 感

染に対する宿主の細胞性免疫能に焦点をあて、それらの病理学的、微生物学のおよび免疫学的な検討を行った。

最初に、PRRSV 感染豚の症状重篤化に関与する微生物因子を検索するために、第 1 章では野外で呼吸器症状を示し発育不良となった豚の病変から病原微生物の検出を行った。まず、重篤な呼吸器症状を示した豚の肺炎病巣において PRRSV および 2 次感染因子とされる細菌の検出を免疫組織学のおよび微生物学に行った。その結果、検査した豚に共通して肺病巣から PRRSV とともに *Mycoplasma hyorhinis* (*M. hyorhinis*) が検出された。また、*M. hyorhinis* 抗原が間質性肺炎および化膿性肺炎の病変内に認められたことから、両型の肺炎形成に関与することが示唆された。一方、豚肺炎の 2 次感染細菌として考えられている細菌はほとんど検出されなかったことから、今回検査された豚肺炎の病変形成には、PRRSV と *M. hyorhinis* の両微生物の関与が大きいことが示唆された。次に、野外の呼吸器症状を示した発育不良豚の肺炎病巣における PRRSV とブタサイトメガロウイルス (PCMV) の検出を行った。その結果、PCMV 抗原は検索した全頭で認められたが、病変の程度により PCMV 抗原の組織内分布が異なり、その分布は PRRSV 抗原検出の有無と関連していた。すなわち、病変の軽度な間質性肺炎では PCMV 抗原は主に細気管支上皮細胞に局在していたのに対し、病変の重篤な間質性肺炎では PCMV 抗原は主に肺泡マクロファージに存在し、同一部位から PRRSV 抗原も同時に検出された。この結果から、PCMV は PRRSV の間質性肺炎の病変重篤化に関連することが示唆された。

第 1 章では PRRSV の発病機構には複数の病原微生物が複雑に関与していることが示された。中でも、*M. hyorhinis* が検査した豚肺炎のほとんどに認められたことから、PRRSV と *M. hyorhinis* との混合感染時の病原性を調べるのが PRRS の発病機構を解析するうえで重要であることが示された。そこで、第 2 章では、PRRSV 単独の感染試験ならびに、PRRSV と *M. hyorhinis* の混合感染試験を行った。PRRSV 単独接種豚は接種 3 日後から PRRSV 抗原陽性の間質性肺炎がみられ、病変は接種 35 日後まで継続した。大部分の豚には重篤な呼吸器症状は認められなかったが、接種豚の 1 頭が重篤な呼吸器症状を呈し、死亡した。この豚の肺から *M. hyorhinis*

が多量に分離され、肺病変内からも PRRSV と *M.hyorhinis* が多量に検出されたことから、PRRSV 感染豚の肺炎発病機構に両微生物の相互作用が強く関連することが示唆された。次いで、無菌豚に PRRSV と *M.hyorhinis* を接種時期を変えて混合感染させた結果、*M.hyorhinis* を接種して 1 週間後に PRRSV を接種した豚群において全頭が重篤な呼吸器症状を示し、瀕死ないし死亡した。これらの豚の肺では PRRSV 前接種 *M.hyorhinis* 接種群や PRRSV 単独接種群と比べて、肺胞性肺炎と細気管支炎の量的な増大に加えて、血栓形成による出血といった質的な病理変化が加わっていた。さらに、これらの豚肺から両微生物が他の群に比べて多量に検出された。以上のことから、*M.hyorhinis* の前感染により両微生物の増殖が促進された結果、重篤な症状を発現する肺炎病変を形成することが明らかになり、豚肺炎の発病に両微生物が相乗作用的に関与している可能性が示唆された。

第 1 章では、PRRSV 感染豚の肺病変内に *M.hyorhinis* が多く検出されることを明らかにした。第 2 章では、ウイルスが基礎疾患となり 2 次感染細菌が増えるという従来想定されてきたような肺炎重篤化機構だけでなく、細菌の前感染が細菌やウイルスの増殖を促進させて重篤化に導くことを明らかにした。PRRSV の主要な受容細胞であるマクロファージが抗原提示細胞のひとつであること、また、PRRSV 感染豚のリンパ組織に病変があることから、PRRSV 感染は、肺局所だけでなく全身性の免疫能に変調を来している可能性がある。そこで、第 3 章では、PRRSV 感染豚の細胞性免疫能を解析するために、PRRSV 感染豚におけるリンパ球サブポピュレーションの変化を調べた。まず、野外 PRRSV 感染豚の末梢血においてリンパ球サブポピュレーションを解析した結果、CD2 陽性細胞および CD8 陽性細胞数が増加して CD4 陽性細胞数が減少しており、このため、 $CD4^+/CD8^+$ 比の減少がみられた。次いで、他の微生物による影響の排除ならびにリンパ球サブポピュレーションの時間的推移を検討するため、PRRSV 接種 SPF 豚および HPCD 豚において同様の解析を行った。PRRSV 接種 3 日後の末梢血では、全リンパ球数、CD2、CD4 および IgM 陽性細胞数が減少していた。CD4 陽性細胞数の減少は接種 14 日後まで続いたが、CD2 陽性細胞数は増加傾向にあった。一方、CD8 陽性細胞数は一過性に接種 3 日後に減少した後、増加に転じ、接種 28 日後および 35 日後には顕著な増加が

認められた。これらの結果、 $CD4^+/CD8^+$ 比の顕著な減少が接種3日後から28日後までみられた。以上のことから、PRRSV感染の末梢血においてリンパ球サブポピュレーションの割合に変化が認められることが明らかになった。次いで、末梢血でのリンパ球サブポピュレーションの変化要因について検討を行った。感染豚と非感染豚間で胸腺におけるリンパ球サブポピュレーションの割合に違いが認められなかったことから、PRRSV感染が胸腺内T細胞分化に影響しないことが明らかになった。また、末梢血単核球培養においてリンパ球サブポピュレーションの変化や細胞増殖が認められなかったことから、PRRSVがCD4陽性細胞に対する壊死作用ならびにCD8陽性細胞に対する細胞増殖活性を持たないことが示唆された。さらに、感染初期のリンパ組織におけるウイルス分布とリンパ球サブポピュレーションを調べた結果、PRRSVはリンパ組織に感染しており、一部のリンパ組織において末梢血の変化と関連した変化が認められたことから、末梢血リンパ球サブポピュレーションの変化はリンパ組織でのウイルス感染による細胞の変動によって起きている可能性が示唆された。以上のことから、PRRSV感染豚は細胞性免疫能に変調をきたしていることが示唆された。

本研究ではPRRSVが関与する豚肺炎の発病機構を調べるために、野外発病豚での微生物因子の検索、混合感染試験による病気の再現および宿主の免疫能の解析を行った。本研究の成果は豚肺炎のみならず、日和見感染症・複合感染症の発病機構の解明に役立つことが期待される。