

## 第Ⅱ章 我が国における豚コレラ防疫の歴史

### 〈行政機関の取り組み〉

#### 1 我が国豚コレラ防疫の黎明期（明治期）

##### 1) 我が国における豚コレラの初発生と流行

明治20年（1887）、北海道真駒内種畜場で、米国より輸入した豚にその源を発して伝染病が大流行を来した。この大流行は、同牧場に飼育していた百余頭の豚が伝染病に感染し、その死亡率は甚だ高かったと報じられている。当時、北海道庁第二部においては、豚の伝染性肺腸炎と診断し、次頁のような印刷物を配布して一般養豚家の注意を喚起したが、これがおそらく豚コレラについて我が国における初発生であるとされているものである。

また、翌年1月下旬より沖縄県において、豚に一種の流行病が発生し、漸次まん延して数百頭の病豚を出した。その病状は、最初は発熱して食欲がなく、数日間餌を食べず、沈鬱して平臥することが多く、重い症状を呈した。5日から8日を経過するとほとんど回復したが、数日間餌を食べなかったものは、治癒後に常に全身の被毛が脱落したことなどが記録されている（明治21年官報1405号）。さらに、明治28年（1895）5月には、沖縄県下北谷村に豚の伝染病が流行して広範囲にまん延した。

以上の豚伝染病は何れも「豚<sup>ら</sup>羅斯<sup>す</sup>疫」の病名で報告されていた。なお、本病の統計がとられたのは、明治32年（1899）以降であり、同35年までの発病数は1,562頭であった。発生数は沖縄県がその大部分を占め、兵庫、茨城、徳島に各6、7頭の発生があったにすぎなかった。

当時の豚の伝染病は、総て「豚<sup>ら</sup>羅斯<sup>す</sup>」と称していたが、後年の仁田 直の研究によれば、当時既に豚コレラ、豚疫等の発生はあったとされ、これらが混同されていたようである。

明治 21 年の北海道毎日新聞記事

北海道毎日新聞 第148号 明治21年1月12日 ● 広告  
本部所轄真駒内種畜場ニ於テ客成12月中旬ヨリ畜豚ニ伝染性肺腸炎  
(Pneumonic Contagious) 称スル一種ノ伝染病ヲ発シ爾來死亡スルモノ多シ左  
病兆及ビ予防法ヲ掲ケテ畜豚者ノ注意ニ供ス  
明治21年1月  
北海道庁第二部

(徴候) 病の起りは豚うつとりとして心地あしき様子にて豚小屋に居るものは寝るの隅に頭を入れ運動することを嫌ひ運動場杯に放してある節は友を放れ頭を低れ停みて遠ることなく手を体に触るれば甚の熱氣騰しく鼻尖は乾き目より涙を流し陰の裏は赤く食氣なく飲物を好み糞づまりを常とす発病後七八時間より十二時間位して頸の下より胸腹内股の辺に赤の斑を発す病の劇しくなるに従ひ赤色の斑は其の近辺に段々と蔓延黒みたる赤色となり吐氣を催し鼻の孔は劇しく動き呼吸の行き方は狭くして急迫り顔に咳を發する初めの内の痰詰は今は劇しく下痢を起し黄色の水ばかりの糞を下し耳足共に冷かとなりて疑る

予防法 此病の性質は豚の虎列刺とも称する程なれば恐るべき病症なるは勿論なれば未だ畜家の病発るぬ前第一に豚舎を一層清潔となし朝夕掃除をなし生石灰等の防臭劑を散布し他より大杯の豚舎の内に豚に入らざる様注意し豚には消化し易き佳良食物と清潔なる飲料水を与えるべし若し病の発したる時は徒に治療を施して病毒を蔓延せしめんよりは面に撲殺し之を焼棄 舎内の掃除して消毒薬 (八十倍以下の石炭酸水) を撒布し食槽受器は勿論病豚の触たるものは一切焼棄べし但し焼棄難きものは能く洗浄し消毒して久しく露曬し爾後使用すべし又数多の豚一舎内に同時に発病したる時は健康豚を直ちに隔へたる別舎に移し後疑れたる豚舎を前条の通りにしし後密閉し舎内に消毒薬を灑焼べし

明治二十一年一月十二日  
● 廣告  
本部所轄真駒内種畜場ニ於テ客成十二月月中旬ヨリ畜豚ニ伝染性肺腸炎 (Pneumonic Contagious) 稱スル一種ノ伝染病ヲ発シ爾來死亡スルモノ多シ左病兆及ビ予防法ヲ掲ケテ畜豚者ノ注意ニ供ス  
明治二十一年一月  
北海道庁第二部

(徴候) 病の起りは豚うつとりとして心地あしき様子にて豚小屋に居るものは寝るの隅に頭を入れ運動することを嫌ひ運動場杯に放してある節は友を放れ頭を低れ停みて遠ることなく手を体に触るれば甚の熱氣騰しく鼻尖は乾き目より涙を流し陰の裏は赤く食氣なく飲物を好み糞づまりを常とす発病後七八時間より十二時間位して頸の下より胸腹内股の辺に赤の斑を発す病の劇しくなるに従ひ赤色の斑は其の近辺に段々と蔓延黒みたる赤色となり吐氣を催し鼻の孔は劇しく動き呼吸の行き方は狭くして急迫り顔に咳を發する初めの内の痰詰は今は劇しく下痢を起し黄色の水ばかりの糞を下し耳足共に冷かとなりて疑る

予防法 此病の性質は豚の虎列刺とも称する程なれば恐るべき病症なるは勿論なれば未だ畜家の病発るぬ前第一に豚舎を一層清潔となし朝夕掃除をなし生石灰等の防臭劑を散布し他より大杯の豚舎の内に豚に入らざる様注意し豚には消化し易き佳良食物と清潔なる飲料水を与えるべし若し病の発したる時は徒に治療を施して病毒を蔓延せしめんよりは面に撲殺し之を焼棄 舎内の掃除して消毒薬 (八十倍以下の石炭酸水) を撒布し食槽受器は勿論病豚の触たるものは一切焼棄べし但し焼棄難きものは能く洗浄し消毒して久しく露曬し爾後使用すべし又数多の豚一舎内に同時に発病したる時は健康豚を直ちに隔へたる別舎に移し後疑れたる豚舎を前条の通りにしし後密閉し舎内に消毒薬を灑焼べし

「茨城の豚コレラ防疫史」(1991年12月1日(社)茨城県家畜畜産物衛生指導協会発行)

## 2) 家畜伝染病予防のための法体系の確立

### (1) 獣疫予防法の発布にいたる経緯

当時、毎年のように牛疫の侵入があり、そのほか炭疽、皮疽、鼻疽、豚、犬の伝染病が各地に流行して、我が国畜産の発達を阻害していた。このため、防疫方法の徹底が一日も放置することのできないことは政府においても早くから認識するところであり、その成案を急ぎつつあった。また同時に、民間の声も大きくなってきた。このような中で、政府は第9回帝国議会上、獣疫予防法案を提出し、明治29年(1896)2月17日、貴族院において修正可決され、衆議院を通過して、同年3月29日、同法が発布され、同30年(1897)4月1日より施行されるに至った。なお、本法制定の動機は、我が国畜産界が年々発達の機運に向かいつつある一方、牛疫や豚コレラその他多種の家畜伝染病が流行して被害が多額に達したことに起因していたが、発布時期を特に早めることとなったのは、明治25年の牛疫侵入に端を発したものであった。

すなわち、明治初年以降、我が国の養牛産業の大きな脅威としてその発達を阻害した牛疫は朝鮮半島に端を発し、絶えず侵入の危険をはらみ、政府も従来その侵入に対してたびたび訓令、省令を発して港湾等の警戒を行っていた。しかし、明治25年(1892)8月、同半島より牛疫が侵入し大流行した。そのまん延は広範にわたり、東京府ほか2府16県下を侵し、その被害は極めて膨大であったと記録されている。これを放置すれば、我が国の畜産の根底が破壊されるとの認識のもとに、その制圧に官民協力して対応が図られたが、容易に終息することはなかった。同年の再侵入と大きな被害は、改めて徹底的な防疫方策を講じなければ、牛疫の侵入阻止は難しいと受け止められた。ところが、当時の「獣類伝染病予防規則」は単に内地における疾病の防疫にとどまっていた海外の家畜疾病の予防に対して無力に等しかった。政府は、この年の牛疫の流行に鑑み、速やかに現行規則を改めた新たな法律の制定を急ぐ必要を痛感した。このような背景から、次に述べる「獣疫予防法」が官民の努力によって発布されるに至った。

### (2) 獣疫予防法の制定

明治25年に我が国において2回目の牛疫が侵入して大流行を極め、我が国の養牛が大打撃を蒙るに至ったことは既述のとおりである。さらに、国内には炭疽、気腫疽、皮鼻疽、狂犬病及び豚の伝染病等が各地に発生流行の兆しを示し、我が国畜産界の発達を大きく阻害していた。従って、それらの予防制圧の上で、政府

は予防治制定に力を注ぎ、民間団体の請願や建議もあり、その促進に努めた結果、明治 29 年（1896）3 月 29 日に「獣疫予防治法」が發布され、翌 30 年 4 月 1 日より施行されることとなった。

### （3）獣疫予防治法の内容

獣疫予防治法の主な規定内容は次のとおりであった。

- ア 法定獣疫の種類が増加し、旧「獣類傳染病予防規則」と比較して、豕虎列刺（豚コレラ）の他、氣腫疽、豕羅斯疫（豚丹毒）及び狂犬病の 4 種類が加えられたこと。
- イ 防疫の迅速を期するため、獣疫の届出義務を獣医のほか、畜主及び管理人にも負わせたこと
- ウ 防疫の要は迅速診断にあり、病獣の診断を容易にするため、病性鑑定殺を行うための途を拓いたこと
- エ 防疫上の果斷の処置として殺処分及び物品の焼却、埋却消毒に対し警察官吏及び獣医又は検疫委員において代理執行を行える途を拓いたこと
- オ 病毒の侵入を阻止する目的で、有病地と認める地方より輸入又は移入する獣類及び物品に対して海港検疫を行い、あるいは輸・移入の停止を実施することを可能にしたこと
- カ 殺処分に対する手当金額の交付率は、旧「獣類傳染病予防規則」においては単に評価金額を標準として等級を定めていたが、本法においては、殺処分の性質に応じてその率を定めることとするほか、焼却、埋却した物品においても手当金を交付する途を拓いたこと

獣疫予防治法の条文と細則・心得ほか関連法令等は、次の資料（資料編 4）を参照されたい。

（資料 1）「獣疫予防治法」（第 1 ～ 22 条）

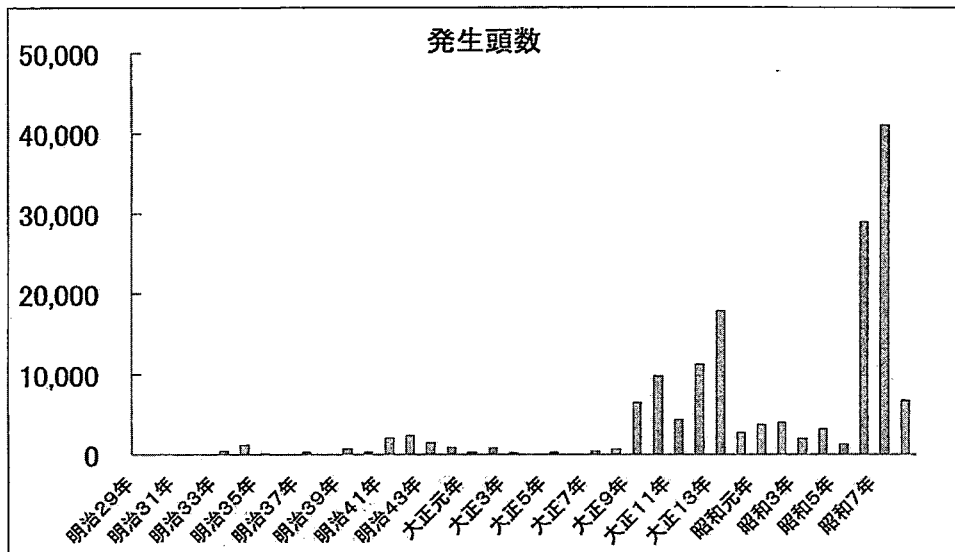
（資料 2）「獣疫予防治法施行細則」（第 1 ～ 24 条）

（資料 3）「獣疫予防心得」（第 1 項～ 36 項）

（資料 4）「獣疫予防に関する費用負担区分の勅令公布」（第 1 条～ 3 条）

（資料 5）「臨時雇入獣医手当支給の件」（農商務省訓令第四号）

（ 以下、番号を付した資料は、資料編 4 に掲げた資料を示す ）



図Ⅱ-1 明治期から昭和初期における豚コレラ発生頭数

## 2 豚コレラの全国的発生とのたたかい（大正・昭和期）

### 1) 豚コレラのまん延と防疫活動

大正9年（1920）頃より昭和年代にわたり、豚コレラは、ほとんど全国的に発生まん延し、その病勢は猛烈で、昭和7年（1932）は一年間に4万頭を超える発生があり、発展の途にあった我が国の養豚界は未曾有の打撃を被るに至った。その間、その後の防疫に参考となる種々の施策が多く講ぜられた。

大正中期より昭和年代にわたり、我が国の家畜伝染病の中で最も猛烈を極めたものは豚コレラであった。明治年代においては、上述のように、沖縄県以外にはほとんど大きな流行はなかった。沖縄県下においては、1850年頃に首里城付近で豚病が大流行したため、その死体が遺棄され、野鳥獣がそれを食べていたとの記録がある。沖縄県の住民は、豚肉を生活必需食品としていたため、我が国における養豚業の最も発達した地方と考えられており、ほとんどすべての世帯で豚が飼養されており、そのため一度本病が発生した場合、容易に終息することができず、明治、大正、昭和各年代を通じてほとんど毎年流行が見られたのは沖縄県であった。獣疫予防法施行以降の発生統計を図Ⅱ-1に示す。

図Ⅱ-1にみられるように、我が国の豚コレラは、明治年代において、沖縄県

表Ⅱ-1 豚コレラ血清応用成績表（明治44年《1911》～大正14年《1925》）

| 区分<br>年次 | 注 射 頭 数 |     |        | 注 射 後 |     |     |     | 重い反応<br>を呈した<br>もの | 実施県   |
|----------|---------|-----|--------|-------|-----|-----|-----|--------------------|-------|
|          | 予 防     | 治 療 | 合 計    | 発病    | へい死 | 殺   | 回 復 |                    |       |
| 明治44年    |         |     | 662    | 30    | —   | —   | —   | —                  | 1県    |
| 大正元年     |         |     | 1,272  | 4     | —   | —   | —   | —                  | 〃     |
| 2年       |         |     | 1,111  | 4     | —   | —   | —   | —                  | 〃     |
| 3年       |         |     | 5,154  | -     | —   | —   | —   | —                  | 〃     |
| 4年       |         |     | 2,509  | -     | —   | —   | —   | —                  | 〃     |
| 5年       |         |     | 1,582  | 22    | —   | —   | —   | —                  | 2県    |
| 6年       | 215     | —   | 215    | -     | —   | —   | —   | —                  | 1県    |
| 7年       | 2,647   | —   | 2,647  | 11    | —   | —   | —   | —                  | 3県    |
| 8年       | 344     | —   | 344    | —     | —   | —   | —   | —                  | 2県    |
| 9年       | 2,915   | 107 | 3,022  | 411   | 409 | —   | 28  | —                  | 7県    |
| 10年      | 4,146   | 46  | 4,192  | 46    | 90  | —   | 9   | —                  | 1府3県  |
| 11年      | 20,253  | 259 | 20,512 | 434   | 460 | —   | 214 | —                  | 1府9県  |
| 12年      | 19,084  | 51  | 19,135 | 473   | 202 | 254 | 67  | —                  | 1府10県 |
| 13年      | 15,181  | 68  | 15,249 | 96    | 18  | 58  | 58  | —                  | 2府6県  |
| 14年      | 14,511  | 370 | 14,881 | 4     | 96  | 17  | 261 | —                  | 10県   |

備考：豚コレラ血清は明治43年に初めて製造され、翌44年より応用された。製造所は全て獣疫調査所。

出典：「日本帝国家畜伝染病予防史」大正・昭和・第二編（828頁）一部改変

表Ⅱ-2 豚コレラワクチン応用成績表（大正9年《1920》～昭和7年《1932》）

| 年次    | 注 射 頭 数 |        |         | 注 射 後 |     |       |     | 重い反応<br>を呈した<br>もの | 実施県   |
|-------|---------|--------|---------|-------|-----|-------|-----|--------------------|-------|
|       | 第 1 回   | 第 2 回  | 合 計     | 発病    | へい死 | 殺     | 回 復 |                    |       |
| 大正9年  | 94      | —      | 94      | 8     | 8   | —     | —   | —                  | 2県    |
| 〃 10年 | 2,381   | —      | 2,381   | 12    | 12  | —     | —   | 60                 | 4県    |
| 〃 11年 | 4,963   | —      | 4,963   | 82    | 60  | —     | 24  | 35                 | 8県    |
| 〃 12年 | 6,677   | —      | 6,677   | 291   | 97  | 194   | —   | —                  | 5県    |
| 〃 13年 | 86,144  | 3,683  | 86,114  | 1,217 | 291 | 921   | 4   | —                  | 3府9県  |
| 〃 14年 | 70,795  | 9,233  | 70,795  | —     | —   | —     | —   | —                  | 9県    |
| 昭和元年  | 63,327  | 3,356  | 63,327  | 314   | 115 | 9     | 190 | 172                | 8県    |
| 〃 2年  | 46,580  | 4,750  | 46,580  | 122   | 99  | 4     | 20  | 13                 | 1府9県  |
| 〃 3年  | 40,887  | 2,555  | 40,887  | 129   | 88  | 28    | 13  | —                  | 1府6県  |
| 〃 4年  | 45,647  | 4,776  | 45,647  | 342   | 174 | 130   | —   | —                  | 1府8県  |
| 〃 5年  | 41,067  | 6,246  | 41,067  | 120   | 94  | 26    | —   | —                  | 1府6県  |
| 〃 6年  | 175,549 | 34,278 | 175,549 | 3,335 | 624 | 2,589 | 115 | —                  | 3府21県 |
| 〃 7年  | 333,458 | 33,842 | 333,458 | 2,946 | 500 | 2,446 | —   | —                  | 2府27県 |

備考：1) 豚コレラワクチンは大正9年に初めて製造され、当年より応用された。2) 大正9年に実施した2県は既発生の豚舎で注射したもののみである。3) 大正14年実施中6,103頭は共同注射。4) 昭和元年（1926）実施のうち群馬県は共同注射。5) 昭和3年（1928）実施のうち埼玉県は「ホルマリンワクチン」。6) 製造所は獣疫調査所。

出典：「日本帝国家畜伝染病予防史」大正・昭和・第二編（829頁）一部改変

注：注射頭数の合計数値は、原典のままで示した。

下を除いてきわめて限局的な小流行に過ぎなかった。しかしながら、大正中期に入り、大流行の兆しを呈し、大正9年及び10年（1921）の両年は、九州一円及び沖縄県下が大流行に見舞われ、続く大正11年より13年（1924）にわたって、関東地方にまでまん延した。その後しばらくの間は、小康状態にあったが、昭和6年及び7年（1932）に至り再び流行が起き、これによってほとんど全国的にまん延するに至った。

この時代の豚コレラ血清及びワクチンの応用成績は、表Ⅱ-1 及び表Ⅱ-2 のとおりである。

豚コレラ免疫血清は、明治42年（1909）10月以降、獣疫調査所の4氏（時重、右田、蠣崎、奥田）が製造研究に従事し、明治43年に実地応用して効果を確かめ、以後製造と配布が行われた。

### （1）大正9年（1920）及び10年（1921）の九州地方における

#### 畜産共進会による豚コレラのまん延

大正9年10月、第3回九州連合畜産共進会が大分県で開催され、各連合県から豚の出品（50点）があった。しかしながら、その閉会后、鹿児島県、宮崎県、福岡県、熊本県及び長崎県から出品された豚の大部分が帰県数日後に一斉に発病し、ウイルスは急速にまん延した。病勢は烈しく、大正10年に至り九州一円及び沖縄県に未曾有の大流行となった。当時、獣疫調査所に常備されていた免疫血清はほとんど使用し尽くされ、その後の供給が意のままにならず、防疫上大きな支障を来し、罹病豚は約16,000頭となった。帰県後の発病ではあったが出品豚の大部分が罹患したことから、大分県でウイルスに感染したとの推定が最も妥当と考えられた。大分県では出品豚で発病したものはなかった。しかし、同県下においても、その後まもなく豚コレラ72頭の発生が報告された。このことから、大分県内でウイルスに感染した豚から輸送貨車中で他の豚に感染が拡大したものと想像されている。なお、九州においては、これ以前にも大正5年に福岡県で250頭の発生があり、大正7年（1918）にも同県下で142頭が発生している。さらに、同年には、佐賀県下においても33頭の発病を見ており、九州の一部には、既にウイルスが絶えず存在していたことは確実で、福岡県由来のウイルスが貨車輸送によって広がったことも推測された。

この時期の九州各地での流行は、豚・牛・馬等においてウイルスが常在する危険性がある地域においては、開催以前に十分な調査を行うとともに出品動物には免疫血清の応用を励行すべきであるなど、中央・地方を通じて畜産当局の重要な

実地教訓となった。なお、大正9年（1920）頃には、免疫血清は製造されている（表Ⅱ-1）。

## （2）大正末期における関東地方の豚コレラの発生と防疫活動

大正9年及び10年の九州地方の豚コレラも、同11年（1922）には沖縄県を除きようやく終息を見ることとなった。一方、同年には関東地方を中心として、突然ほとんど一斉にまん延が見られた。大正14年（1925）には、いったん小康状態となったが終息することなく発生は続き、昭和6年及び7年（1932）の爆発的流行（後述）へとつながっていく。この状況において、農商務省は「豚コレラ防疫に関する通牒」（大正12年11月3日）を發出して、各地方長官あてに警戒情報と防疫の徹底を求めていくこととなった。当時の流行状況は、通牒に添付された参考別冊により確認することができる（資料6）。

大正12年（1923）には、感染頭数は11,241頭に達し、11年の感染頭数4,793頭の2倍を超えることになった。この大正12年は9月1日に関東大震災が発生し、数万人にも及ぶ死者を出し、東京市及び隣接地方の惨状は言語に絶することとなり、そのために多くの県は防疫事務が中断した。獣疫調査所も一部建物の破壊により、血清類の製造に支障をきたし、その配給も意のままにならなかったために本病は一層猛威をふるうこととなった。

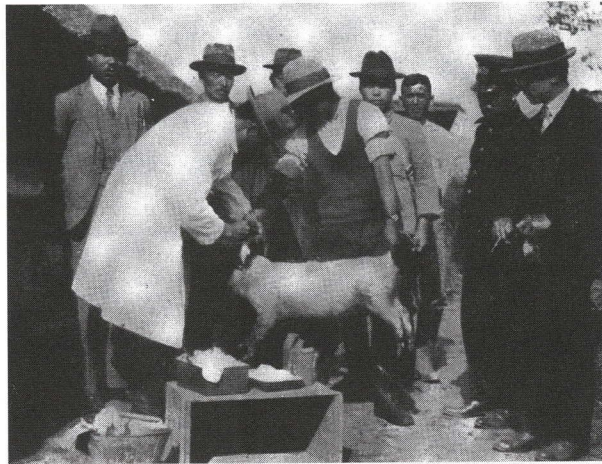
大正12年末より本病はやや小康状態となったが、翌13年の初夏に向かい再び病勢は活発化の兆候を示し、流行区域は前年から更に拡大し、京都、静岡でも新たに発生が見られた。その間、農商務省は絶えず各流行地に技術官を派遣して、防疫上の指導監督を行うとともに、その流行状況を詳しく説明し、防疫の要領を各地方長官に通知した。また、広く新聞に掲載して自警を求めるとともに、血清やワクチンの製造配布に努めた。特に大正13年（1924）に農商務省は、過去2年間における関東地方の大きな被害に鑑み、流行を未然に防止する計画を策定し、関係関東府県家畜衛生主任官協議会を開催し、一致してその防疫計画を実施した（資料7）。

さらに、獣疫調査所における血清類の製造能力を拡張した。これにより、大正13年度においては、豚コレラ血清22万cc、同「予防液」（ワクチン）65万ccを各製造し、各流行府県における危険区域及び養豚地帯に広く「予防注射」を施行し、徹底的に本病の撲滅に努めた。

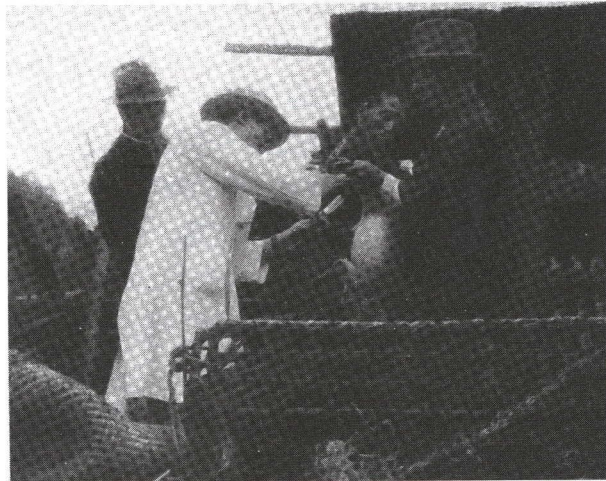
### 3 豚コレラ防疫活動の本格化（昭和期）

#### 1) 防疫活動

官民必死の努力のもとに本病は、ようやく大正 14 年（1925）以降、沖縄県下を除いては漸次沈静し、昭和 5 年にはわずかに発生がみられるところとなった。しかしながらその昭和 6 年（1931）に入ると突然未曾有の大流行状態となり、流



写真Ⅱ-1



写真Ⅱ-2

昭和 7 年の茨城県における豚コレラ予防注射風景  
（上、下）

出典：「日本帝国家畜伝染病予防史」大正・昭和第 2 篇、昭和 11  
年 3 月 31 日、獣疫調査所発行

行地域は3府29県にわたり、発生頭数は28,000頭余りに及んだ。翌7年に入っても病勢は衰えることなく、3府25県下で、発生頭数41,000頭を超える大きな被害を与えるに至った。その間、政府は莫大な予算を支出し、防疫獣医師の増員、免疫血清、「予防液」を増加製造するとともに、通牒を発出して地方を督励した。地方官庁は、関東、関西、近畿、九州において、以下のように各連合防疫会議を開催したほか、予防週間の開催等応急の防疫措置を講じた（写真Ⅱ-1、Ⅱ-2）。

### （1）各地における豚コレラ予防連合協議会の開催

伝染病のまん延の兆しがある場合は、関係隣接府県相互の連携を密にし、その歩調を一つにして敏速に事にあたることが防疫の要であるとして、農林省は豚コレラの流行状況に鑑み、関係隣接府県の連合防疫を計画し、各連合区域を指定して農林省主催及び連合府県主催による防疫協議会の開催を準備した。

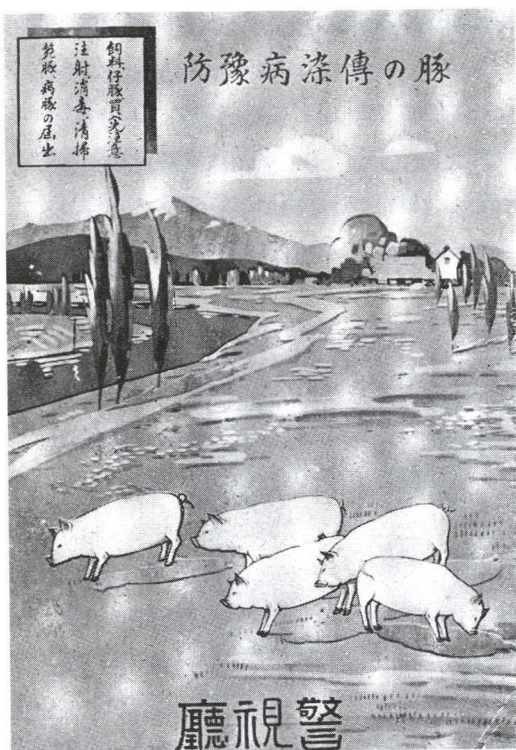
昭和6年の流行は、近畿、中国、関東及び北海道の諸府県で一斉に見られたことから、同年2月23日、大阪府庁において近畿連合府県（京都、大阪、兵庫、奈良、三重、滋賀、和歌山の2府5県）家畜衛生主任官会議を農林省主催で、開催した（資料8）。

次いで、1府9県（東京、神奈川、群馬、千葉、栃木、岐阜、長野、愛知、静岡、山梨）を指定区域とし、まん延状況により更に必要な地方を指定に追加することとした。関東連合府県家畜衛生主任官会議の第1回目の開始は、昭和6年8月10日で、神奈川県主催のもとに開催された（資料9）。第2回目は、昭和7年（1932）2月12～13日、静岡県主催（資料10）により、また第3回目は、昭和8年（1933）2月23～24日、長野県主催によりそれぞれ開催された（資料11）。

昭和7年の流行は、更に九州にも多くの発生を見るところとなり、九州一円を連合区域とし、同年2月24日から28日の間、福岡県で農林省の主催により家畜衛生主任官会議を開催した（資料12）。また、同年には近畿連合区域を拡大し、大阪、京都、兵庫、三重、滋賀、奈良、和歌山に、岡山、香川の2県を加え、2府7県とし、農林省自らの主催により、兵庫県において同年2月27・28日の両日、家畜衛生主任官会議が開催された（資料13）。

さらに、昭和9年（1934）3月11・12日の両日に、第4回関東連合府県衛生主任官会議が茨城県主催のもとに開催された（資料14）。これらの協議会では、各連合府県における本病の発生及び予防状況が報告され、以後取るべき防疫対策及び地方提出議案が慎重に審議された。

この他、農林省は、昭和7年11月14日から16日までの3日間にわたり、流



写真Ⅱ-3 昭和7年(1932)警視庁発行  
ポスター

出典：『日本帝国家畜伝染病予防史』大正・昭和第  
2篇より



写真Ⅱ-4 昭和7年(1932)神奈川県  
衛生課発行ポスター

出典：『日本帝国家畜伝染病予防史』大正・昭和第  
2篇より

行地3府29県の家畜衛生主任官会議を同省会議室において開催した。ここには、本病の流行を見なかった北海道、秋田、山形、島根及び鳥取の1道4県を除く全府県の主任官が出席した。その席上畜産局長からの指示が行われるとともに（資料15）、この協議会中、獣疫調査所において近藤技師による「豚コレラ予防液の応用及び豚丹毒生菌ワクチンについて」の講演が行われた。その会議の決議事項は、翌昭和8年1月に豚の移出入停止区域を明示する様式を添付して各道府県に対して通知された。

以上に加えて、昭和8年2月の獣疫調査所長からの農林大臣あての本病予防計画に関する意見書（資料16）及びこれに基いて農林次官より各流行地、地方長官あてに発出された通牒（資料17）は、農林省担当官はもちろん、獣疫調査所

技術官のほとんどを動員して、各々が防疫監督区域を分担し、各分担区域の防疫方策とその実施に参加し、農林省が農家養豚の状況を憂慮し、本病の撲滅に向けて必死の防疫活動に取り組んだことを示すものであった。幸いに、その防疫対応が功を奏し、昭和8年（1933）の発生数は、同6年及び7年に比べて著しく減少し、同7年の41,000頭から6,700頭余りに激減した。しかし、防疫対策を講じていない未発生地域の間隙があれば、再び大発生が起こる危険性をはらんでおり、その後数年間は瞬時も防疫対策を怠ることのできない状況であった（写真Ⅱ-3、Ⅱ-4）。

以上、昭和7年から8年にかけて行われたさまざまな関係組織の活動状況は以下の文書にみることができる。その内容については、資料編4を参照されたい。

（資料18）「移出豚発着駅当該地方官庁へ通信連絡に対し鉄道省への依頼」

（昭和7年4月1日）

（資料19）「豚コレラ予防警戒方に関する通牒」（昭和7年8月25日）

（資料20）豚コレラ防圧に関する農林次官及び畜産局長の依命通牒

（昭和8年3月28日）

（資料21）「豚コレラ予防週間に関する通牒」（昭和8年3月28日）

（資料22）「家畜防疫と屠畜検査の連絡に関する件通牒」（昭和8年3月31日）

（資料23）「関東区の豚コレラ予防に従事して（主として茨城県下に於ける豚コレラ防疫状況）二村彦治郎」（昭和8年5月25日）

## （2）豚価暴落が豚コレラ防疫上に及ぼした影響

昭和6年及び7年（1932）頃には、豚価が空前の暴落をし、我が国の養豚界はそのために大打撃を被り、養豚業者の失望は大きく、養豚経営に停滞をきたし、飼養管理を怠ったばかりでなく、衛生上の自衛心が忘れられ豚コレラ防疫の上で多大の影響がみられた。“衛生に関する講話会を開いても参集は希であり、強制的に招集を行っても耳を傾ける者もなく、往々にして罹病による殺処分命令による手当金を期待するに至っては、防疫が至難となり、さらにそのまん延につながった”ことが記録されている。昭和7年の大流行は、当時の豚価の暴落に多大の影響を与えた。当時いかに我が国の養豚界が豚価暴落のために打撃を蒙っていたかは中央畜産会の陳情書にみられる（資料24）。

### (3) 国際獣疫事務局 (OIE) における豚コレラ予防に関する決議

当時は、欧州各国の獣医界においても、未だに有効なワクチンが発見されていない中で、昭和6年(1931)のOIE第5回国際委員会において豚コレラの予防に関する決議が行われ、自働免疫法として以下のような厳しい制約のもとでの共同注射の実施が決議された。この時の我が国代表出席者は、豚コレラワクチン創製者として我が国養豚界に大きな貢献をした獣疫調査所技師の二村彦治郎であった。

#### O I E 第 5 回国際委員会における豚コレラ予防に関する決議 (1931 年)

- 1 豚コレラの単に特発的状态で現れるに過ぎない地方においては、同病は罹病動物群の即時又は追次殺ならびに獣医警察的取締により終息させるべきである。
- 1 まん延の甚だしい地方、特に豚の数が多く、殺処分の方法が到底困難と認められる地方においては、獣医警察的取締を他働的免疫法によって補足することが望ましい
- 1 自働免疫法を推奨する場合は、単に危険な流行の中心地において、しかもその地方において採集するウイルスを利用する場合に限り、その結果としてこれらの場合以外には、共同注射は被接種動物の組織中に長期間保持されうる極めて活動的なウイルスの注射であるために、危険がないとはせず、共同注射は獣医警察の嚴重なる監督の下においてのみ許可されるものである。  
罹病豚及び回復豚をある期間危険視することは絶対に必要であり、これらの動物は殺されるまで、獣医の衛生監督の下におかれなければならない。
- 1 固定的毒性を有するワクチンを発見するために、また、ウイルスに対する豚の極めて変化しやすい感受性に影響を及ぼす要約(原因)を決定するために実験的研究を続けることが必要である。

以上

(「日本帝国家畜伝染病予防史」大正昭和第2編より。口語文に改変)

## 2) 明治大正期の薬事行政

### = 豚コレラ血清及びワクチンの製造と応用 =

明治以降、豚コレラの予防治療法として登場するのは、獣疫調査所で製造された豚コレラ血清であり、同血清は豚コレラの予防及び治療に応用され、明治44年（1911）に我が国で初めて応用されたとされている。

その後、石炭酸不活化ワクチンが開発され、大正9年（1920）に農商務省畜産試験場九州支場（大分県別府市）において使用されたのが最初である。このワクチンは、豚コレラ強毒ウイルス株の人工感染により発症した豚の肝臓及び脾臓を材料として、これに石炭酸加グリセリン水を加えて2倍乳剤とし、37℃で5日間放置し不活化したものであった。

しかし、この石炭酸不活化ワクチン（GV）は、製造に35日間を要するものであったため、改良が加えられ、0.2%ホルマリン加食塩水乳剤による不活化ワクチンが製造使用されることとなった。

豚コレラ血清及び豚コレラワクチンは、獣疫調査所（写真Ⅱ-5）で製造されたほか、大正11年（1922）からは沖縄県獣疫（豚伝染病）血清製造所でも製造され、応用された。



写真Ⅱ-5 昭和10年（1935）頃の獣疫調査所

当時の所在地：東京市滝野川区西ヶ原町、敷地坪数：8,337坪（うち建坪1,778坪）、  
「日本帝国家畜伝染病予防史」明治篇より

## 4 不活化ワクチンによる防疫（終戦～昭和 44 年）

### 1) 終戦後の防疫活動

戦後の豚コレラの発生記録は、豚の飼養頭数の回復傾向に伴い顕在化し、昭和 24 年（1949）には、早くも全国年間発生頭数は 1,000 頭台を突破した。これは戦前の昭和年代の発生状況に比べれば遙かに低いものであったが、畜産復興に及ぼした豚コレラの永きにわたった存在は極めて憂慮すべきものであった。当時一般的にみて、豚の疫病の状態を把握することは、小規模飼養が多い上に、低い衛生観念などから極めて困難であった。豚コレラの発生は、市場取引や家畜商の売買の過程で発生した場合が多く、更にこのような場合は多くが取引上利害相反する複数者の経済上の問題として表面化し、それが行政上の発生頭数として記録されていたのである。このような経過で表面化したものについては、防疫当局による感染経路の追跡調査と殺処分実施などの行政措置によりその発生が確認され、一つの流行として記録されていた。一方、このような過程を経ないで発生した豚コレラについては、それがどの程度の規模であったかも含めて不明である。当時の豚コレラの発生頭数はこのような状況のもとで取りまとめられたものであるが、長期的には一定のサイクルが観察されていることは注意すべき現象であった。

戦後の家畜防疫では、戦前に行われた警察的防疫対応は後退し、これに代わって、技術を中心とした防疫の強化へと進むこととなった。これには、技術の手段としてのワクチンの品質向上とその安定供給が不可欠であり、豚コレラ防疫に限らず、家畜防疫行政ではこの面の行政施策が重視された。豚コレラ防疫に使用するワクチンの品質向上は、戦前から使用されてきたホルマリン不活化ワクチン（FV）の力価向上の研究に向けられたが、同時に、米国で開発されたクリスタルバイオレット不活化ワクチン（CVV）の導入が急がれた。米軍関係者からもこのワクチンへの早期切り換えについて熱心に勧告指導されていた。

豚コレラ防疫に使用するワクチンの質的あるいは量的な安定供給は、戦後においても豚コレラ防疫行政の中心的課題であった。豚の臓器を用いて製造するホルマリン不活化ワクチンは、製造ロット毎の品質が不安定であったため、計画的な供給が困難であり、また、1 回当たり使用量、接種回数、免疫期間など使用方法が難しいことから、野外の応用には極めて不都合であった。

昭和 24 年度（1949）の畜産局豚コレラ防疫方針の予防接種実施方法によれば、イ）体重 4kg 毎に 0.5cc（第 1 回）及び 0.7cc（第 2 回）の 2 回を 10～14 日間隔で行う。急速免疫のときには 4kg 毎に 1cc を使用する。

ロ) 免疫有効期間は6ヵ月であるが、常在地においては年3回予防接種を実施する。

とされていた。しかし、この接種量は、その後CVVが出現するまでの間、年々増量されることとなった。すなわち、このホルマリン不活化ワクチンは、その力価向上の研究と製法の改良に努めていたものの、思うように効力が得られなかったため、その対応は増量接種で対処せざるを得なかったのである。このためワクチンの増産計画が進行しても、接種頭数の増大にまでワクチンの供給が追いつかず、当局が予防接種計画として年間100万頭の予防接種計画を打ち出せるようになったのは、豚コレラ感染豚血液を用いてのCVVの量産供給がようやく可能となった昭和28年(1953)であった。それまでの間のワクチンの確保と供給は、豚コレラ防疫行政上の最も重要な課題であった。

## 2) 昭和24年の豚コレラ発生

豚コレラの発生頭数は、戦時中の昭和19年(1944)においても、3,173頭となっているが、戦争が熾烈となった昭和20年(1945)から戦後の昭和23年(1948)の間はほとんど表面的な発生はないに等しく、病豚さえ食用に利用されていたようである。戦後の豚コレラが、再び注目を浴びるようになったのは、昭和24年(1949)に465頭の発生が報告された頃である。これに伴って、昭和24年4月には、農林当局は「豚コレラ防疫方針」を決定し、前述で一部触れたようにその予防標準において、平時の対応や予防接種の実施、発生時の疫学調査、殺処分、往来停止、感染おそれ豚の処置、緊急免疫及び消毒方法等を示し、地方にその実施を指示した(資料25)。

この方針にしたがって豚コレラ防疫が実施されたが、昭和24年度の豚コレラ防疫は芳しくなく、豚コレラの発生は、21都道府県で総数1,653頭を確認し、特に東北、四国ではその被害が著しかった。時期としては、2～3月に四国地方、4月に東京及び近畿地方、5月に山形県、7月～8月に岩手、宮城県に著しい流行をみた。一方、殺処分は初期は68%、その後90～98%に達した。

豚コレラまん延の原因をみると、

- a 発見及び病性鑑定の不十分(香川、山形、静岡、岩手、宮城)
- b 県外移出豚(京都、山形、兵庫、香川、愛媛、高知、秋田、奈良)
- c 都市周辺における食物残さの利用(東京、山形、宮城)
- d と畜肉によるもの(山形、群馬)

などが主なものであった。また、発生に対して発生原因を究明できなかったのは、

北海道、秋田、福島、茨城、埼玉、神奈川、静岡、広島、徳島、福岡の10道県であった。

### 3) 昭和25年以降の豚コレラ発生と防疫活動

昭和25年(1950)2月1日現在の豚の飼養頭数は50万頭を突破し、養豚業の復興は著しかった。これに伴って豚コレラ防疫も年々改善が加えられて強化されたが、必ずしも、発生頭数を減少させるには至らず、昭和28年(1953)には7,197頭の発生が確認された。しかし、この年の発生頭数には、不良豚コレラワクチンによる豚コレラ発症豚が、4,000頭以上含まれ、実質的な野外の豚コレラの発生は下降線をたどっており、次のピークは昭和33年(1958)であった。

昭和25年以降、豚コレラ防疫のための予防接種100万頭実施計画(昭和28年度)に至ることとなる。この間に各県知事等宛に発出された農林省畜産局長通達、畜産局衛生課長通達は、資料編の4に示したとおりである(資料26～33)。

いずれにしても、当時の防疫施策は、不足ぎみであったワクチンの重点使用を前提に、常在地及び流行経歴地に主力を置いた発生予防対策とまん延防止対策であった。

ワクチンの供給は、当時、獣疫調査所と日本獣医師会研究所が製造していたのみで、昭和21年(1946)度の製造量は57万cc(約28,000頭分)に過ぎなかった。その後、日本生物科学研究所が製造することにより、昭和23年(1948)には154万ccを製造し、昭和24年以降になってようやく500万cc(約25万頭分)に達した。この頃からCVVの力価の高さが研究段階で明らかになったことから、FVの応用力価もこれに対応して高めることが必要となった。そこで、その接種量を体重4kg当たり0.5ccから1.0cc、更に1.5ccと順次増量接種して対応する措置が講じられた。これにより、1頭当たりの所要量が更に増大したことから、ワクチンは再び供給不足となり使用ワクチン配布の割当統制が必要となった。このように、豚コレラワクチンの量的不足は、断続的に昭和28年にCVVが、多くの製造所によって製造されるようになるまで続いた。

豚コレラワクチンについては、その販売価格も防疫行政上種々の問題を生じた。豚コレラワクチン(ホルマリン不活化)の販売価格は、昭和23年10月29日物価統制令による統制額が100ccにつき970円と定められていた。豚コレラワクチンの需要者は、すべて家畜伝染病予防法に基づいて行う都道府県に限られていたといえるので、この価格は、国の補助単価(1/2補助)と等しかった。

CVVの開発研究が進み、これが実用化に近づくにつれ、このワクチンと従来

のワクチンとの価格の調整が国の防疫遂行の見地からも必要となった。すなわち、製造原価より流通上の合理性を優先して、1頭あたり平均使用価格が等しくなるような調整が図られた。この結果、CVV 発売価格 2,500 円に対し、FV は 970 円から 700 円（100cc 当たり）に値下げとなり、1頭あたり平均使用量及び効果上の格差を加味した価格が設定された。すなわち CVV は、従来のワクチンに比し、1cc 当たり 3.5 倍以上と評価されたのであるが、これの防御効果については、格段の差があることがその後次々と証明された。このような措置は、使用者側にとっても、製造者側にとっても、円滑かつ迅速に豚コレラワクチンの CVV への全面切換えを促進し、昭和 27 年（1952）度からの全面使用を成功させた。

#### 4) ワクチンの接種事故

戦後の豚コレラの防疫の推進の際には、農場における衛生環境の不良に伴い各種疾病が発生しているにもかかわらず、接種行為が比較的安易に行われたことから、接種行為に起因する事故豚の発生が生じやすい状況にあった。一方、昭和 25 年（1950）から 5 年間に公式に発表された接種反応の報告の中で、昭和 28 年（1953）に発生したものは、明らかにワクチンの不良によるものであった（資料 34, 35）。

#### 5) 豚コレラの病性の変化について

戦後の豚コレラ防疫が進むにつれ、豚コレラ診断についての獣医技術者の関心は高まったが、豚コレラ診断技術は今日のように進歩しておらず、血液学的、免疫学的診断法は確立されていなかった。したがって、野外での診断は、臨床所見や剖検所見、疫学的判断に限られていたので、特に、臨床所見で初発認定をされることが多かった。一方、甚急性の豚コレラ症状を呈さない非定型的症状を示す豚コレラが存在することが次第にわかってきた。このため、農林省では、本病の早期発見を図るため、特にと畜場における検査を重視し、昭和 27 年（1952）9 月にはそのための依頼を行っている（資料 36）。

#### 6) 昭和 30 年代以降の豚コレラ防疫

昭和 30 年代の豚コレラ防疫については、引き続き、予防接種の徹底を基本に防疫対策を実施したが、家畜商による売買や厨芥養豚、一部の養豚場では予防接種の徹底が図られない場合があり、相変わらず本病多発の状態が続いていた。

農林省では、豚コレラの防疫体制の強化を図り、対策の実効性を高めるため、

養豚組合等の育成など地域における防疫機構や機動組織の確立を図るための取組を開始した。

昭和30年代後半からは毎年度初めに当該年度の家畜衛生対策を決定し、この中で、豚コレラの防疫対策については、これまでの予防対策やまん延防止対策を徹底することとするが、多頭飼養者の取扱いや予防接種時の注意事項など細かい実施方針を示しつつ、その対策を進めた（資料37～46及び資料52, 53）。

また、豚コレラの診断法については、この時期、発生状況、症状、解剖所見等の総合判断で行われており、鑑別が困難な場合には、組織学的検査や豚への接種によってウイルスの検出が行われていたが、このウイルスの検出そのものが高コストであり現実的ではなかった。この問題を解決するため、昭和30年代後半になると、END法が開発された。この方法は、試験管内で豚コレラウイルスとその抗体を検出する方法であり、検出率及び特異性が高かった。特に、予防接種をうけた豚が後に感染発病した場合には、非定型的な経過をとるため、症状や病変による診断が難しいことが多いが、抗体の定量により容易に診断が可能であった。また、安価であるばかりでなく、多検体処理の点でも優れていたが、一定の設備、技術、時間を要するといった課題もあった。

## 7) 豚コレラワクチン製造にかかわる材料豚肉の市販事件

昭和42年（1967）2月下旬、東京都内において、豚コレラワクチンの製造に使用した豚の死体が当該製造所から搬出され、化製場に搬入される途中で食用として販売されていた事実が発見され、食品衛生上の大きな問題となり、国民の食肉の購買意欲を減退させ、養豚生産者にも多大な経済的影響を与えることとなった。

当該製造所は、豚コレラワクチンの通常の製造法に従い、ウイルス接種及び採血を行った後に、死体を病理解剖し、その後、死体を化製業者に引き渡したのであったが、当該化製業者は化製場への搬入に当たって、他の者と共謀して化製場以外の場所で死体から肉、内臓、骨等を分離し、これを食品として販売していた。

農林省では緊急措置として、同年3月8日付けで農林事務次官から各都道府県知事あてに、豚コレラワクチン製造豚等の製造所内での焼却等その処理の適正化についての依命通達を発出した。製造業者はこれをうけ、6月末までに自主的に製造所の構内に焼却施設を設置し、焼却を行うとともに、それまでの間は、製造所の構内において消毒し、埋却することとし、一切、化製業者には引き渡さないこととした（資料47）。また、動物用医薬品等取締規則及び動物用生物学的製剤

の取扱いに関する省令の一部改正が行われ、豚コレラワクチンの製造に使用した豚は当該製造所内で焼却処理することを原則とし、そのための焼却施設の設置が義務づけられた（資料 48～51）。

一方、厚生省においても、昭和 42 年 10 月に食品衛生法施行令、同法施行規則及びと畜場法施行規則の一部改正を行い、食肉処理業を新たに許可営業とし、ハム、ソーセージ等を製造する食肉製品製造業に食品衛生管理者を設置させるとともに、食肉及び食肉製品の表示の規制を追加改正した。このほか、と畜場における検印の様式を改正するなど、食肉関係の規制も強化した。

## 5 GP 生ワクチンの開発と豚コレラの激減 （昭和 44 年～平成 5 年）

### 1) 豚コレラ生ワクチン、診断液の応用へ

第二次世界大戦の当時、我が国で使用されていた豚コレラワクチンは、FV であるが、昭和 23 年（1948）の薬事法の施行に伴い、国家検定が実施されるに当たり、当該ワクチンの検定基準が制定された。

ちょうどその頃、連合国軍総司令部（GHQ）のビーチウッド博士らは、1936 年に米国の McBryde と Cole により開発されたクリスタルバイオレット不活化ワクチンが効力、保存性ともに非常に優れており、我が国においても当該ワクチンを使用すべきであると熱心に推奨していた。

CVV は、強毒豚コレラウイルスを豚に接種し、発症極期に採取した血液を脱繊維し、これにクリスタルバイオレット及びグリセリンを加え、温度感作を行って不活化したもので、その優れた効果から、当時すでに世界の各地で広く使用されているといわれていた。

この動きに対し、動物用医薬品業界は、動物用血清類協会に豚コレラクリスタルバイオレットワクチン研究会を設置し、ワクチンの製造方法、検定方法等の技術的検討を行った。この研究会において検討された FV と CVV の比較試験を行ったところ、CVV は、FV の半量の接種によって、FV に勝る免疫力を獲得し、保存性も優れていたため、CVV の採用を有利とする結論が得られた。

このようにして、CVV 製造の気運が急速に盛り上がっていったが、本ワクチンの製造には、技術上かなりの経験を要するため、本ワクチンへの転換は、技術的・経営的に大きな危惧が残された。また、比較試験において、FV もかなり

高度な力価を有することが確認されていたこともあり、家畜防疫当局は、当分 CVV と FV を使用する方針を定めた。しかしながら、当時の FV の力価は低く定められており、その是正を図る必要が生じた。そのため、昭和 26 年（1951）に両ワクチンの検査特殊基準（豚コレラワクチン（ホルマリン不活化）及び同（クリスタルバイオレット不活化）検査特殊基準）の設定に当たり、FV については、CVV 不活化ワクチンの倍量（クリスタルバイオレットでは 5ml、ホルマリンでは 10ml）を接種することを規定し、両ワクチンの標準使用量によって同一基準の品質を確保することとなった。

その後、有効性・保存性の点が優れた CVV の使用が増加し、そのため昭和 27 年（1952）末頃には、FV はほとんど製造されなくなった。

昭和 36 年（1961）に至り、財団法人 日本生物科学研究所は、豚の脾臓の組織培養に豚コレラウイルスを接種した培養組織及びその培養液を乳剤とし、この乳剤にマーニゾンを加えた不活化液 80 に対し、クリスタルバイオレット不活化液 20 を加えた豚コレラ混合ワクチンを申請した。この申請に対し、薬事審議会動物用生物学的製剤調査会は、CVV と同一の基準により検定を行うことを決定し、同年 8 月に豚コレラ不活化ワクチン検定特殊基準が告示された。

CVV は、昭和 43 年（1968）まで使用されたが、接種部位における壊死や疼痛等の副作用やウイルスの不活化が不十分な製品が検出された事例も認められた。また、製造に豚を用いることから製造原価が高くなること、ワクチン接種後、免疫効果が発現するまでに約 3 週間を要するため、その間の野外ウイルスの侵襲を抑えることが困難である等の問題があった。そのため、より安全で有効性が高く、更に安価で製造できる生ワクチンの開発が要望されてきた。

CVV が抱えるこれらの問題を解消するために弱毒生ワクチンの採用が検討された。しかし、当時の弱毒生ワクチンとしては、豚コレラウイルス野外株をウサギに馴化継代することによって弱毒化した家兎化ウイルスを用いたものやウサギで継代したウイルスを更に山羊で継代した山羊化ウイルスを用いたものがあったが、これらのワクチンは安全性に問題があったため、採用されることはなかった。

昭和 32 年、当時一般的に行われるようになった組織培養技術を用いた弱毒生ワクチンの開発が当時の農林省家畜衛生試験場（現独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所）で開始され、その中で、豚精巢細胞及び牛精巢細胞で継代したウイルスをモルモット腎細胞で継代した END 現象を示すクロン（GPE<sup>+</sup>株）及び示さないクロン（GPE<sup>-</sup>）株が作出された。

また、同じ時期に農林省動物医薬品検査所（写真Ⅱ-6）においても豚腎及び牛

腎細胞を用いて弱毒化した LOM 株及び LOA 株が作出され、さらに日本生物科学研究所においても家兎化ウイルスを豚腎継代細胞（PK-2a 細胞）を用いて弱毒化した NIBS 株が作出されている。

これらの株のうち、GPE<sup>+</sup>株、LOM 株及び NIBS 株について、昭和 39 年（1964）から昭和 40 年（1965）に野外試験が行われ、それぞれの安全性及び有効性が確認された。その後、GPE<sup>+</sup>株より更に弱毒化された GPE<sup>-</sup>株が確立され、昭和 42 年から昭和 43 年（1968）に野外試験を行ったところ、3 株と同様に豚での安全性と有効性が確認された。これらの候補株のうち、GPE<sup>-</sup>株が、モルモット腎細胞での増殖性、培養温度による増殖性及び END 現象を示さず野外株との識別が可能となる性状を有していたことから、最終的に本株が弱毒生ワクチンの製造用株として選定された。

昭和 43 年には、畜産局、家畜衛生試験場（当時）、動物医薬品検査所、33 都府県及び 3 民間研究所の協力のもとに、GPE<sup>-</sup>株ワクチンの全国規模の野外試験が実施され、有効性及び安全性が再確認された。それらの結果を踏まえて、昭和 44 年（1969）に承認を受け、製造及び一般での使用が開始された。

本ワクチンは安全性とともに免疫効果が接種後 3 日目から成立する有効性に優れたワクチンであり、野外ウイルスとの識別が可能なマーカーを有していた。また製造に継代数の制限を設けるとともに原種ウイルスを家畜衛生試験場で一元管理することで品質の均一化を図ったシードロットシステムの導入による最初のワクチンであり、極めて画期的なワクチンであった。

昭和 47 年 2 月に動物用生物学的製剤基準が制定され、本ワクチンは「豚コレラ生ウイルス予防液」として収載された。

豚コレラの診断液としては、昭和 44 年に豚コレラウイルス抗原検出用診断液



写真Ⅱ-6 農林水産省動物医薬品検査所の本館全景（昭和 34 年）

として、豚コレラ診断用蛍光抗体が承認された。

本診断液は、豚コレラワクチンを接種して基礎免疫を行った後、強毒ウイルス株を追加接種することで高い抗体価を得た豚から採血し、その免疫抗体を蛍光標識したものである。本診断液は、感染豚の扁桃等の凍結切片の他、組織の塗抹材料や感染細胞においても豚コレラウイルスの検出が可能であることから、家畜保健衛生所等における豚コレラの診断に大きく貢献した。

## 2) 自衛防疫体制の整備と家畜伝染病予防法の改正

### (1) 自衛防疫の変遷

我が国における家畜の伝染性疾病の防疫は、明治初頭の太政官布告に始まる各種の法規により行政措置がなされてきたが、その多くの疾病は法規に規定された法定伝染病に限られ、また発生時のまん延防止を目的とするものであったことから、国と都道府県による国家防疫として実施されてきた。

これは、我が国の過去の畜産が農耕用ないし自家消費のための家畜の飼養、庭先養豚・養鶏に象徴される小規模・副業的経営であり、また畜産物そのものも米食中心の我が国消費者からすれば身近なものではなく、家畜衛生にしてもあまり関心を持たれることもなかったからである。しかしながら、昭和 30 年代から、経済成長に伴う所得倍増政策の推進等により食生活の改善が進展する中で動物性たん白質の需要が増大し始め、我が国の畜産は、貴重なたん白資源の供給の一役を担う事となった。これに対応して畜産農家の専門化と多頭化の傾向が見られるようになり、畜産団地の造成等、畜産の近代化が全国的に広がり始めたが、家畜の飼養衛生管理技術の改善・向上が必ずしも伴わなかったため、昭和 40 年代になるとニューカッスル病、豚コレラ等の急性伝染病が全国的に発生するようになった。

このような各種伝染病の全国的大発生への防疫対応において、

- イ) 国家防疫たる家畜伝染病予防事業による予防接種、殺処分等のまん延防止措置による防疫対策では、予算、防疫要員等の上で制約があったこと、
  - ロ) 家畜衛生試験場において、豚コレラワクチン等の実用化が進展しつつあったこと、
  - ハ) 獣医療サービスを治療主体からワクチン接種等発生予防対策の実施指導を含む広範なものとし、時代のニーズに応える必要があったこと、
- などから、我が国の畜産振興を目的とした家畜衛生の推進は公権力による国家防

疫と家畜の所有者自らの自衛防疫を車の両輪として推進していくことが、より効果的・効率的であるとされ、地域ぐるみで自衛防疫を推進するため、昭和42年度から「自衛防疫促進事業」により家畜の所有者が自らの家畜に行う豚コレラとニューカッスル病の予防接種に対し費用の一部（ワクチン購入費の3分の1）を補助することとされた。

自衛防疫は家畜の所有者が自らの家畜を疾病から守り、家畜の健康を保持することによって、その能力を十分発揮させて生産性を高めて収益を上げ、健全な畜産物を消費者に提供しようとするものであった。しかし、疾病の予防対策を家畜の所有者が個々の考えで勝手に実施しても効果はあまり上がらないことから、社会的な連携の中で自衛防疫を実施するため、昭和44年度から46年度まで「自衛防疫維持強化事業」により自衛防疫対策の維持強化を目的として、特に地域で共同使用する機器の購入に対する補助を行い、共同作業を通じた組織の強化を図ることとなった。

## （2）家畜伝染病予防法の改正による自衛防疫思想の明文化

昭和46年（1971）に家畜伝染病予防法の一部改正が行われ、家畜伝染病の範囲の変更や動物の輸入に関する事前届出制、患畜のと殺処分に伴う手当金の限度引き上げと伴わせ、豚コレラや鶏のニューカッスル病の防疫を念頭においての自衛防疫思想の導入が行われた。

昭和40年から昭和43年（1968）にかけて、豚コレラとニューカッスル病の大発生があり、特に昭和41年（1966）に豚コレラで約2万5千頭が死亡又は殺処分された。この大発生では、家畜伝染病予防費に不足を生じたため、昭和40年から昭和42年にかけて予備費での防疫対応を行った。豚コレラについては、それまでCVV等のワクチンを使用していたが、前述のように昭和44年（1969）に家畜衛生試験場において、我が国で最初のシードロット方式の製造による最も有効なワクチンの一つと評価された現行の生ワクチンが開発され、これを用いた予防接種の取り組みにより、発生は激減してきた。昭和46年（1971）には、畜産経営の大型化、主産地化、国際貿易の進展に伴う家畜、畜産物の輸入量の増大、獣医技術の進歩、家畜価格の高騰等、家畜衛生を取り巻く諸情勢の変化に対処し、自衛防疫思想の位置づけの明確化を含め、より強力な防疫体制の整備を図ることとして、上述のように「家畜伝染病予防法」が一部改正された。

その要点は次のとおりであった。

- ・家畜防疫事務を重点主義によって実施するため、家畜伝染病の範囲を合理化し、

トリパノゾーマ病、トリコモナス病、馬パラチフス、仮性皮疽、羊痘及びかいせんを家畜伝染病から削除し、ヨーネ病及びアフリカ豚コレラを新たに加え、家畜伝染病の種類 24 種類とするとともに、家きんの家畜伝染病の対象家畜として、七面鳥及びうずらを加え、アフリカ豚コレラについては、患畜及びその類似患畜のと殺を義務化

- ・死亡家畜の届出制度を廃止し、家畜の主要な伝染性疾病に関する情報を収集し、初期防疫の徹底に資するため、獣医師による家畜の伝染性疾病についての届出制度を新設（届出を要する伝染性疾病として、破傷風等 13 種類の疾病を指定）
- ・殺処分命令の対象となる疑似患畜として新たに出血性敗血症、豚コレラ、家きんコレラ、家きんペスト及びニューカッスル病を追加
- ・動物の輸入についての事前届出及び都道府県相互間における家畜防疫員の応援派遣の制度を新設
- ・殺処分手当金の算出基礎となる家畜の評価額を政令で規定
- ・家畜所有者自らが行うべき予防のための自主的措置を明文化（第 62 条の 2）

### 3）自衛防疫の推進と社団法人家畜畜産物衛生指導協会の設立

昭和 44 年度から昭和 46 年度までの「自衛防疫維持強化事業」により自衛防疫体制の維持強化のための地域共同使用機器の購入に対する補助を通じ、共同防疫作業の推進、組織の強化が図られたものの、さらなる推進を図る上で、

- ・自衛防疫は国家防疫を補完するもので、最大の実施効果を確保するためには、一定の方策のもとに全国的に一律の実施方法で進める必要があること、
- ・しかしながら、「家畜伝染病予防法」には当時全国一律実施を担保し得る自衛防疫の根拠規定がないこと、

といった問題があったことから、自衛防疫制度の着実な定着を図るため、既述のとおり昭和 46 年（1971）の「家畜伝染病予防法」の一部改正において、新たな規定として第 62 条の 2 の「予防のための自主的措置」が追加された。同条第 1 項は、「家畜の所有者は、家畜の伝染性疾病の予防のための、必要な消毒その他の措置を適切に実施するよう努めなければならない。」として、家畜の所有者に自主的努力を求め、さらに第 2 項では「国及び地方公共団体は、家畜の所有者又はその組織する団体が行う家畜の伝染性疾病の予防のための自主的措置を助長するため、これらのものに対し、必要な助言及び指導を行うよう努めるものとする。」として、国と都道府県が指導等を行うことを明確に示すこととなった。こ

れにより家畜の飼養者による自主的防疫が法的に認知され、以後家畜防疫は国家防疫と自衛防疫の車のいわゆる「車の両輪」により実施されることとなった。このように、明治以来、国の事務としての国家防疫のみで実施してきた我が国の家畜衛生行政は、一大転機を迎えることとなった。

この法改正を契機として、全国一斉に計画的かつ継続的に自衛防疫を実施し、国や都道府県の家畜防疫計画と調和を確保すべく、「家畜畜産物衛生指導協会整備事業」により、都道府県単位に公益法人としての家畜畜産物衛生指導協会を整備することとし、畜産振興事業団から当該協会の基金に対して出資額の3分の1以内を助成して、その推進を図った。その結果、昭和47年（1972）から昭和50年（1975）にかけて和歌山県、沖縄県を除く45都道府県に社団法人家畜畜産物衛生指導協会が整備された。さらにその後、出資額の2分の1以内まで助成が拡大され、各県協会の運営基盤の強化が図られた（次頁ボックス）。

昭和54年（1979）3月から昭和56年（1981）9月にかけて開催された家畜衛生制度（総合）検討会において、家畜保健衛生所とならび家畜衛生を推進する上で重要な組織である都道府県家畜畜産物衛生指導協会の今後の発展方向の検討が行われ、同指導協会が地域の自衛防疫の推進母体として、ますます重要な役割を果たしていくためには、畜産農家の自衛防疫に対する意識の向上と協会の組織強化を図り、家畜保健衛生所の指導のもとに家畜伝染病の発生予防のための組織的な予防接種、家畜飼育環境整備のための畜舎等の消毒と衛生害虫の駆除、畜産物の品質確保のための異常乳の発生防止等の事業を積極的かつ効果的に推進していく必要があるとされた。

また、各都道府県の家畜畜産物衛生指導協会相互の円滑な事務調整を確保するため、全国組織として、全国家畜畜産物衛生指導協会協議会が設けられたが、我が国の経済発展に伴う畜産物の需要の増大に対応し、我が国農業の基幹部門として安定的発展が期待される畜産の健全な振興を図る諸施策の一環としても、家畜の所有者が行う自主的防疫措置の励行はますます重要となってきた。そこで45都道府県の家畜畜産物衛生指導協会が一体となって、全国的な同一歩調でさらに効果的な防疫措置を推進するため、都道府県家畜畜産物衛生指導協会で開催し、昭和50年から活動していたこれまでの協議会を発展させ全国公益団体として昭和56年（1981）に「社団法人全国家畜畜産物衛生指導協会」（全国衛指協）が新たに設立された。これ以後、全国衛指協を中心とした自衛防疫体制が構築され、各種活動の展開が図られ現在に至っている。

○ 家畜畜産物衛生指導協会整備事業の推進について ○

(昭和 47 年 6 月 20 日付け 47 畜 A 第 2381 号都道府県知事あて農林省畜産局長)  
昭和 47 年 5 月 31 日付けで制定された家畜畜産物衛生指導協会整備事業実施要領(47 畜 A 第 2384 号農林事務次官依命通知)及び家畜畜産物衛生指導協会整備事業(47 畜 A 第 2383 号農林事務次官依命通知)により、昭和 47 年度から自衛防疫組織の全県的な組織化を推進するための家畜畜産物衛生指導委員会整備事業が実施されることとなったが、この事業の実施に当たっては、特に下記の事項に留意し事業の適切、かつ、早期の実施につき指導願いたい。

記

別紙のとおり

(別紙)

1 家畜畜産物衛生指導協会の設立について(略)

2 協会の運営及び事業の推進について

(1)(2)(略)

(3) 特定疾病自衛防疫推進事業

家畜飼養者が組織化する自衛防疫体制の定着化と業務の慣行化を図るため、昭和 42 年(1967)以降実施してきた豚コレラ、ニューカッスル病の予防措置にマレック病の予防措置を加え、一層の強化を図るとともに、これら以外の疾病及び日常の飼養管理の失宜による経済的な損失の防止についても、協会を通じて自主的な防疫措置及び巡回指導が円滑に実施できるよう配慮すること。

ア 豚コレラ

(ア) 協会は、県が実施する総合的な豚コレラ防疫計画と調整を図りながら、区域内における豚の飼養、子豚の生産見込み及び区域外からの子豚の導入見込み等から年間における豚コレラ予防注射計画を立案すること。

(イ) 協会は、豚コレラ予防接種を円滑に実施するため各地域における獣医師の分担区分を明確にする等獣医師の動員計画について、あらかじめ獣医師会と必要な打合せを行うものとする。また、この際に予防液の送達方法及び予防液接種済み耳票の取扱要領等についても協議すること。

(ウ) 獣医師は、協会の計画に従って、加入農家を巡回し、予防接種を実施するとともに、その事業内容を支部を経由して協会長に報告すること。

(エ) 協会は、各支部からの事業報告書を毎月集計し、その進捗状況を把握するとともに予防接種を実施した獣医師に対し、接種技術料を支払うこと(なお、この場合は獣医師会を経由して技術料を支払っても差し支えない。)

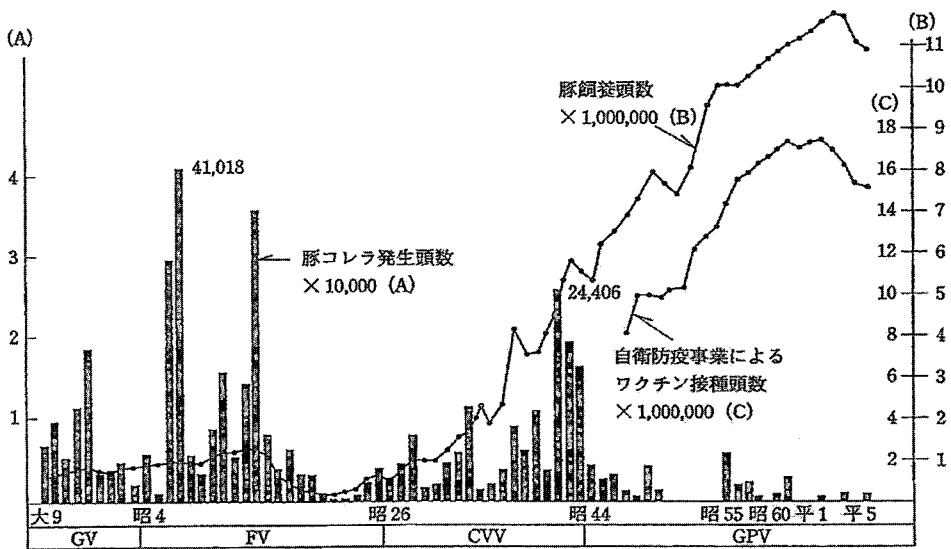
イ、ウ(略)

3 (略)

#### 4) 自衛防疫体制強化のもとでの豚コレラ発生の減少

昭和41年(1966)に豚コレラの大発生で約2万5千頭の豚が死亡または殺処分されたが、昭和44年(1969)に現行の豚コレラGP生ワクチンが実用化されて以来、豚コレラの野外発生は著しく減少した。それまでほとんど毎年見られた夏期の多発もなく、昭和44年1月～12月の発生の合計は、66戸及び3,062頭と、前年に比べ戸数で1/12、頭数でも1/4以下に減少し、それまで毎日みられた発生も昭和45年(1970)1月にはついに1件の発生も記録されないまでになった。これは昭和34年(1959)12月以来10年ぶりのことであった。

昭和45年から本病の発生は激減し、昭和51年(1976)から昭和54年(1979)までの4年間、本病の発生報告は見られなかった。しかし、昭和55年(1980)から再び関東地方を中心に流行がみられた。この再流行は、ワクチン接種率の低下が原因とみられ、その後のワクチン接種率の向上により、その発生数は激減した(図Ⅱ-2)。



図Ⅱ-2 豚コレラ発生頭数、豚飼養頭数、ワクチン注射頭数、使用ワクチンの種類(大正9年～平成5年、農林水産省統計による)

このような情勢のもと、農林水産省畜産局では全国家畜衛生主任者会議における家畜衛生に関する諸対策の実施方針についての協議をうけ、各都道府県知事あてに通達した家畜防疫対策(後の家畜防疫対策要綱)の中で、昭和44年の豚コレラ弱毒生ワクチン(GPE<sup>-</sup>株)の実用化により豚コレラの清浄化達成のため予

防接種を強化して発病豚をなくし、豚コレラウイルスを豚群から一掃する措置等を明示した（資料54）。昭和47年（1972）から我が国での最終発生となった平成4年（1992）までの間に取り組まれた豚コレラ防疫対策（資料55～65）は、家畜防疫対策要綱の改正という形でその策が講じられてきたところである。

## 6 豚コレラ清浄化の取り組み（平成6年～平成19年）

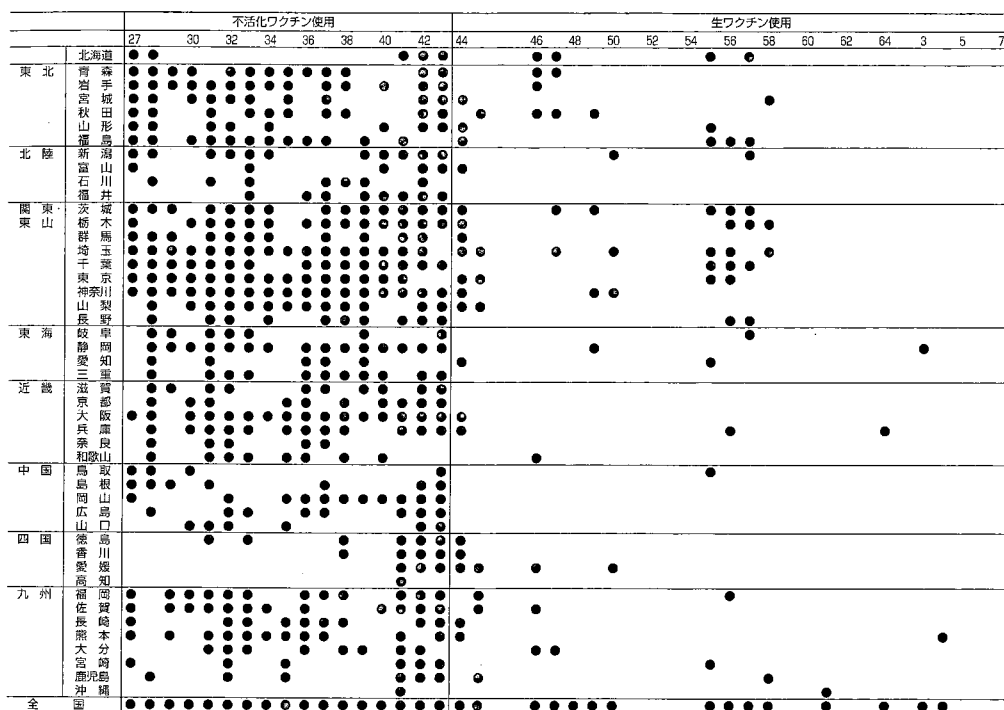
### 1）生産者からのワクチンの自主接種の要望と対応

#### = ワクチン中止に向けて =

すでに述べたように、昭和44年（1969）に豚コレラ弱毒生ワクチン（GPE株）が実用化されて以後、我が国における豚コレラの発生は激減し、昭和51年（1976）から昭和54年（1979）まで発生はみられなかった。しかし、昭和55年（1980）に11都道府県での発生があり、昭和58年（1983）まで発生報告があった。その後、昭和60年（1985）、及び昭和61年（1986）、平成元年（1989）、平成3年（1991）及び平成4年（1992）に散発的な発生が報告されたが、平成4年（1992）の熊本県における発生を最後に、野外ウイルスによる発生は報告されない状況となった（図Ⅱ-3）。

この間、各都道府県に設立された家畜畜産物衛生指導協会を中核として、地域的な予防接種の徹底が図られた。そうした中、平成6年（1994）になって、養豚生産者が組織している全国養豚経営者会議等から、衛生コスト低減のため、豚コレラワクチン接種を実質衛指協が独占的に実施しているが、清浄化を目的としないのであれば、各個人が自己責任で接種することを認めるべきであるとの要望が出された。当時は、豚価の低迷や養豚農家の急減、ガットウルグアイラウンドでの輸入自由化議論など養豚経営をめぐる情勢は厳しく、養豚のコスト低減方策として各種の規制緩和を要望する中で出されたものであった。この要望については、農林水産省衛生課内で検討されたが、当時の都道府県衛指協によるワクチン接種頭数は1,600万頭に上り、組織的な自衛防疫活動の中核である協会の基幹事業となっていたことから、自衛防疫のあり方そのものも含めて対応を検討することになった。これをうけて、全国衛指協に検討会が立ち上げられた。この中で、家畜伝染病、届出伝染病について、発生予防か清浄化か疾病ごとの防疫目的を明らかにして対応すべきとの視点から議論が行われた。豚コレラについてはすでに海外での撲滅事例もあり、清浄化を行うことなく発生予防のみを目的とすれば、個人接種

を容認せざるを得ず、将来にわたって豚コレラとの共存を余儀なくされることから、清浄化を目指すことを明示すべきであるとされた。これを受け、清浄化に向けた手順等について本格的な内部検討が開始された。一方、民間サイドでは、養豚関係



図Ⅱ-3 豚コレラ発生県の年次分布（昭和27年～平成6年、農林水産省作成）

業界誌の記者会主催で豚コレラの勉強会が開催されるなどの活動が活発化し、後に養豚生産者を発起人とする豚コレラ清浄化実行委員会も立ち上げられた。

清浄化に向けた技術的検討では、清浄化は技術的には可能とされていたものの、昭和55年（1980）に過去4年間発生がなかった中で、ワクチンの接種率の低下を背景に異なる感染源による11都道府県50戸で合計5,920頭という全国的な発生がみられたことについて、どのように考えるかが重要な検討の視点となった。これについての専門家の見解は、野外でのウイルスの存続様式として、海外での撲滅の取り組みの経験などから、i) 妊娠中に感染した母豚から生まれた子豚の健康キャリア化、ii) ほとんどの豚がワクチンで免疫される中で非常に小規模な発生、iii) ワクチン接種豚間での感染の連続、iv) ウイルスの病原性の多様化による慢性の豚コレラの存在が考えられるが、いのしし以外にウイルスを保有

していると思われるものはないことから、ワクチンの適期接種の徹底によりウイルスの存在の可能性は最小限にできる。ただし、ワクチンを接種している中での抗体検査では清浄性を確認することは困難であり、やはりワクチンを中止しなければ清浄化は確認できないというものであった。

清浄化に向けた手順としては、清浄化に向けた技術的検討、清浄化プログラムの作成と経済的評価、清浄化についての生産者の合意作りを行っていくこととし、その留意点として、生産者の組織化と合意作り、届出・診断・防疫措置の迅速化についての体制整備、防疫措置の迅速化を担保するための補償措置の充実、動物検疫措置との整合が必要であると整理された。

## 2) 豚コレラ撲滅計画の立案

豚コレラの清浄化に関する生産者サイドの要請は、平成6年（1994）度末の畜産物価格関連対策の議論の中でも行われ、この頃から養豚関係の専門誌などで豚コレラの撲滅の話題を盛んに取り上げるようになっていた（資料66）。このような中、畜産局衛生課では清浄化の方針を明示せずに豚コレラのワクチン接種補助を継続することは困難との判断から、平成7年（1995）夏の平成8年度予算概算要求の取りまとめに向け、豚コレラの防疫推進の基本方針として、生産者等の衛生管理水準の向上を図り、豚コレラワクチンの徹底により、国内の豚コレラを撲滅し、最終的にワクチンを使用しない防疫体制の確立を図ることとした。具体的には、全国検討委員会、都道府県レベルでの地方検討委員会を設け、第1段階としてワクチンの組織的接種を通じた地域防疫体制の強化と全頭接種による野外ウイルスの撲滅、第2段階として一部地域での予防接種の中止と発生時の迅速な防疫措置の徹底、第3段階として予防接種の全面中止とするとの段階的取組みにより進めることを案とした。8月22日には、都道府県関係者、学識経験者、家畜衛生専門家などを集めて豚コレラ撲滅技術検討会（資料67）が開催された。その検討会では、国内でのワクチン接種の現状や清浄性の評価が議論され、①豚コレラの清浄化は技術的に可能であること、②清浄化達成は生産者の取り組み次第であるが、少なくとも5年程度の年限をかけて段階的かつ慎重に実施すること、③獣医師の関与による農家の家畜衛生管理体制の充実整備、家畜衛生関係者の家畜衛生技術の向上及び監視体制の充実整備が重要であること、④異常豚の発生の迅速な通報等、農家への充実整備が重要との意見が取りまとめられた。

8月末には平成8年（1996）度予算の概算要求として、予防接種推進計画の策定、清浄度の分析確認、予防接種状況等分析検討、予防接種率向上促進、及

び清浄地域維持対策推進を内容とする「豚コレラ撲滅体制確立対策」（組替新規 687 百万円）が公表され、9 月以降、養豚関係団体、ワクチン製造業者、獣医師会、都道府県への説明会、打合せ会議が相次いで開催された（次頁パンフレット参照）。

その後、畜産局衛生課では、平成 8 年度からの事業開始に備え、ワクチン接種の徹底のためのワクチンの安定供給や接種徹底の方策の検討、ワクチン価格引き下げの働きかけを行うとともに、豚コレラの防疫要領の検討を進め、平成 8 年 5 月にはワクチンを使用しない防疫体制の確立を図り、本病の清浄化を達成することを目標とし、清浄化を達成するまでの手順、ワクチン接種の徹底や抗体調査など方法、発生時の防疫対応などを明記した「豚コレラ防疫対策要領」を制定し、撲滅対策のスタートを切った（資料 68）。

### 3) 豚コレラ撲滅対策の推進

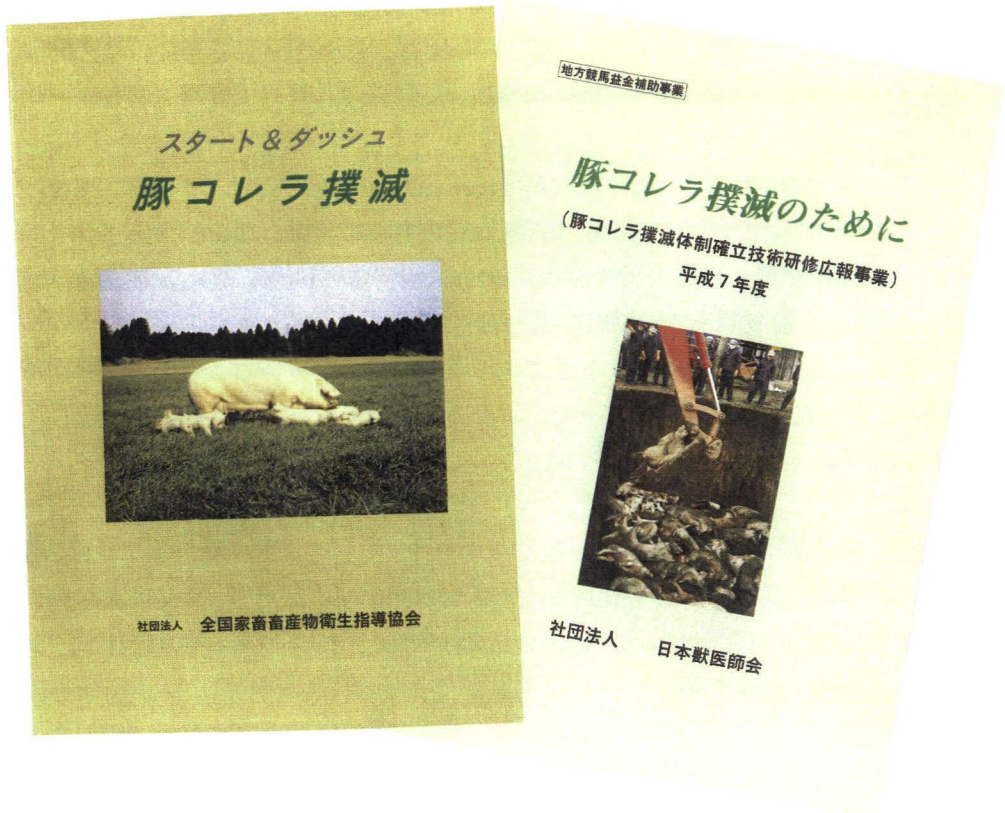
平成 8 年度から開始された撲滅対策では、まず豚コレラの抗体保有状況調査、病性鑑定の実施推進とワクチン接種の徹底が図られた。ワクチンの推定接種率は、平成 7 年（1995）度の 77.6% から、平成 8 年度には 82.8% に上昇、平成 9 年度、平成 10 年度もそれぞれ 84.5%、83.0% と高い水準が維持された（資料 75 表）。また、抗体保有状況の調査も平成 8 年度から 10 年度の 3 ヶ年で、いのしし約 1,500 頭を含め豚 244,621 頭が実施され、病性鑑定も 1,073 件 2,539 頭が実施されたが、豚コレラウイルスの存在を疑わせるような成績は得られなかった（資料 75 表）。

このような状況を受け、平成 10 年（1988）2 月に開催された第 2 回豚コレラ撲滅全国検討委員会では、これまでの事業の推進状況からみて、今後第 2 段階に移行し、基準を満たす地域にあってはワクチン接種を中止できる環境が整ったとの判断が示され、ワクチン中止地域の指定基準も了承され、平成 12 年（2000）度には第 3 段階に移行し全国的にワクチンを中止することとされた（資料 69）。

これを受けて、国では平成 10 年 4 月 6 日付けで豚コレラ防疫対策要領を改正し、ワクチン接種を中止する場合の具体的手順やワクチン接種中止地域での清浄性監視や発生時の防疫対応の具体的方法などを通知した。

### 4) 豚コレラワクチン接種の継続を求める運動と対応

一部には、豚コレラの撲滅により当時日本が豚肉輸入量の 4 割を輸入していた台湾からの豚肉輸入を制限できるというメリットが言われていたが、平成 9 年（1997）3 月に台湾で口蹄疫が発生し同国からの豚肉の輸入は禁止された。一方



- 〔 左：平成 8 年度からの豚コレラ撲滅体制確立対策事業のスタートを知らせるパンフレット（全 14 頁）  
右：豚コレラ撲滅体制確立に向けた技術研修パンフレット（全 16 頁） 〕

で、隣国韓国では、日本向け輸出が急増していたが、更なる日本向け輸出の継続も意図して平成 8 年（1996）7 月から日本と同じく平成 12 年（2000）のワクチン接種全面中止を目指した撲滅対策を展開し、平成 10 年 7 月からは第 2 段階としてワクチン接種 100%接種を行うとして抗体検査によるワクチン未接種農場の摘発を開始していた。

平成 10 年 2 月に第 2 段階への移行が決定され、同年 4 月に豚コレラ防疫対策要領も改正されて各都道府県がワクチン接種中止の検討を始めた。しかし、平成 10 年度から立ち上げられた家畜防疫互助基金の加入促進が本格化した同年秋になると全国各地でワクチン接種の継続を求める声上がりはじめた。個々の生産農家への加入の働きかけを通じて、ワクチン接種の中止が現実味を帯びるとも

に、改正された防疫対策要領で発生農場から半径 3km 以内の農場に対し自主的な飼養豚の淘汰を指導することや、家畜防疫互助基金でもこれらの農場を対象として 100 億円を造成するとの目標が示されたこと、万が一発生があった場合には、大規模な防疫対応が行われることが再認識されることとなった。また、折からワクチン接種を中止していたオランダで平成 9 年に 429 戸の大規模発生があったことも生産者の不安を掻き立てる要因になった。茨城県下の養豚生産者からの要請を皮切りに、関東各県や東海、九州地区の生産者にも同様の動きがみられ、衛生課では各県の家畜衛生担当と連携し生産者への現地説明を行ったが、地元の市町村、都道府県議会や地元選出の国会議員への働きかけも行われるなどワクチン接種の中止に反対する動きは活発化した。

その一方で、ワクチン接種率は平成 10 年度には 83% となり、また 10 年度までに実施された 24 万頭の豚や 1,500 頭のいのししの抗体検査、2,500 頭の病性鑑定で野外ウイルスの存在をうかがわせるような知見もなく、平成 11 年（1999）4 月には全国に先駆けて鳥取県、岡山県、香川県がワクチン接種を中止し、これらの県では撲滅対策は第 2 段階に移行した（資料編 5）。

しかしながら、接種継続を求める生産者の活動は、全国各地で同様の運動を行う生産者が連携した日本養豚経営者連絡協議会も組織されるなど、さらに活発化し、19,000 名の署名や地方議会からの接種継続を求める意見書の提出なども相次いで行われた。接種継続を求める生産者の主張は、ワクチン接種中止後は豚コレラが発生する可能性が高く、発生した場合の死体処理等防疫体制が未整備である、発生すれば風評被害もあり経営継続は不可能であり、撲滅対策そのものが一部生産者の意見のみを聞き、十分な説明がないまま進めてきたもので、接種中止を強制するのであれば発生時の責任は全て国が取るべきとするものであった（資料 70）。科学的には中止後に発生がないとは断定はできず、また、発生時にすべて国が責任を取るという考え方は、本来、防疫が第一に生産者の発生予防の取り組みを前提としたものであることを考えれば、受け入れることのできる考え方ではなかった。このため、あくまでも生産者の理解の下でのワクチン接種中止を目指すこととし、専門家もまじえた生産者への説明・意見交換を畜産部内の関係課職員の協力も得て各地域で実施するとともに、生産者の懸念・要望を踏まえたさまざまな取り組みを行った。

ワクチン接種中止後に豚コレラが発生する可能性が高いとの懸念に対しては、各都道府県に異常豚の早期の届出と病性鑑定の徹底を依頼した結果、平成 11 年度の病性鑑定頭数は前年度比べ 800 頭増の 2,075 頭となった。また、万一発生し

た場合には被害が拡大し、死亡豚処理も困難化するとの指摘に対しては、緊急ワクチンの実施体制の構築を決定するとともに、死亡豚の迅速処理に向け、環境省から「廃棄物の処理及び清掃に関する法律」（廃掃法）の適用除外の確認を取る一方、レンダリングの業界団体に出向き発生時の死亡豚処理への協力を要請した。さらに、発生地域への飼料の安定供給について、飼料業界から確認を得た。また、加入が伸び悩んでいた家畜防疫互助基金については、生産者からの要望を踏まえ、互助金の交付対象農家に発生農家を加える（制度開始時、発生農家は家畜伝染病予防法に基づく手当金で対応することとし、互助金は周辺農場の自主淘汰へ対応するものとなっていた）とともに、生産者積立金についての国税庁長官の損金算入可能な資金への指定、事業終了時の納付割合に応じた残金の返戻規定の明文化などの改善を行った。また、仮に国内が清浄化していたとしても、再度海外から侵入するのではないかと懸念に対しては、豚肉、豚の輸入条件を国内と同等に強化することとし、海外において発生農場から半径10km以内に位置しない農場からのみとした。さらに、平成12年度の農畜産業振興機構の畜産振興事業として、従来からの家畜防疫互助基金の造成支援や死亡家畜の一時保管施設、運搬車両等の整備に加え、緊急ワクチン100万頭分の備蓄や豚コレラの組織的ワクチン接種中止後の養豚衛生の維持・向上を図るための獣医師向け研修会の実施や、豚丹毒ワクチン接種経費の助成も決定された（次頁のパンフレット）。

ワクチン接種中止地域の指定は、さらに平成11年（1999）10月に3県、同12年4月に26都道府県で行われ、計32道府県となり、清浄性確認のための調査も平成11年度までに抗体検査31万5千頭、異常豚の病性鑑定4,600頭が実施され、ワクチン未接種と一部接種の農場の9割（2,300戸）の検査でも異常がないことが確認されていたが、ワクチン接種継続を求める生産者の動きは続いた。

対策の第3段階となるワクチンの全面中止の予定を半年後に控えた平成12年3月には、宮崎で92年ぶりとなる口蹄疫の発生が確認され、その後の北海道での発生とあわせ、広範囲での牛や豚の移動制限が実施されるとともに、発生農家4戸、計718頭の家畜の処分、延べ24万戸の臨床検査や5万頭を超える抗体検査など関係者一体となった大規模な防疫対策が実施された。同年の9月にはOIEによる口蹄疫清浄国の認定を受け、迅速な防疫対応や緊急的に実施されたきめ細かな経営支援対策を評価する声がある一方で、畜産経営への大きな影響を眼のあたりにし、豚コレラのワクチンの全面中止については時期尚早とする声もあった。

## 5) ワクチン接種の原則中止へ

ワクチン接種の全面中止は、家畜伝染病予防法に基づき、使用に当たって都道府県知事の許可を要する製剤として指定し、発生があった場合を除き許可を行わない方法で行うこととしていた。全面中止予定の平成12年10月が間近に迫り、この規則改正の手続きがタイムリミットを迎える7月下旬になって、国は規則改



### 互助金の種類は?

#### (1) とう汰互助金

家畜防疫員等の指導によりとう汰された豚に対して交付される互助金です。

|                  |                |
|------------------|----------------|
| 繁殖用種豚（雌）         | 1頭当たり 81,000円  |
| 繁殖用種豚（雄）         | 1頭当たり 140,000円 |
| 肥育豚（概ね3カ月齢以上のもの） | 1頭当たり 22,000円  |
| 肥育豚（概ね3カ月齢未満のもの） | 1頭当たり 11,000円  |

#### (2) 導入互助金

法律に基づく殺処分が行われた農場又はとう汰互助金が交付された農場に経営再開を図るため導入した豚に対して交付される互助金です。ただし、その豚、園等の補助事業によって導入した豚は除かれます。

|       |               |
|-------|---------------|
| 繁殖用種豚 | 1頭当たり 28,000円 |
| 肥育豚   | 1頭当たり 4,000円  |

#### (3) 焼却・埋却等互助金

とう汰互助金の対象となった豚の焼却・埋却等に要した費用として交付される互助金です。

|           |              |
|-----------|--------------|
| 焼却・埋却等互助金 | 1頭当たり 4,000円 |
|-----------|--------------|

〈豚コレラ撲滅に向けた互助事業開始のパンフレット〉

正やワクチン接種中止後の防疫要領の改正の手続きを始める一方で、予防的な接種の場合も含め許可の枠組みは残し、実質全面中止を求める努力を続けるとの方針を示した。これは、ワクチン接種を原則中止し清浄国並みの輸入検疫の強化は行うものの、実質的に10月のワクチンの全面中止を断念するものであった。これは、ワクチン接種継続を求める生産者への説明や指摘を踏まえたさまざまな対策を打ち出してきたにもかかわらず、その理解を得ることができず、このような状況で全面中止を強行し大きな混乱を招き、行政と生産者、就中全面中止に賛否が分かれる生産者の間にしこりを残すよりも、過渡的な措置として、輸入検疫を強化して防疫上の後退を招かないよう措置した上で、防疫上の混乱を招かない範囲でその接種を容認しつつ、ワクチン接種中止後も発生がないことを示し、接種継続を求める生産者の理解を得ていくことが、将来の生産者・行政が一体となった防疫を考える上でも得策との判断によるものであった（資料編5、462頁パンフレット参照）。

この原則中止案については、国家防疫の観点から国が主導して進めてきた撲滅対策の方針転換を行うものとして、清浄化推進を訴えてきた生産者や生産者の説得に当たってきた都道府県から厳しい批判もあったが、ワクチン接種継続を求める生産者も含め豚コレラ清浄化を目標として、生産者の理解の下で早期のワクチン全面中止を導き、豚コレラの撲滅を達成していくこととなった。

これを受け、平成12年9月28日に家畜伝染病予防法の施行規則が改正され、10月1日から、ワクチン接種の推進は全国的に中止され、豚コレラのワクチン接種は都道府県知事の許可を要することとされた。この許可に当たっては、一部農場でワクチン接種が行われることによる防疫上の混乱を回避するため、接種状況の報告、接種豚の標識、立入検査の実施、ワクチン接種許可情報の開示を条件として付すこととされた（資料71, 72）。

また、これに伴う輸入検疫の強化の中で、かつての日本向けの主要輸出国であった台湾、韓国については口蹄疫の発生により豚肉等の輸入はすでに禁止されていたが、一部の州で発生がありワクチン接種が実施されていたメキシコからの豚肉輸入について、清浄州3州以外からの輸入は停止されることとなった。

## 6) ワクチン原則中止後の対応

都道府県知事のワクチン接種の許可件数は平成13年度第1四半期で19都府県、647戸となったが、以降、各都府県で生産者への働きかけが継続的に行われるとともに、国においても接種継続を求めてきた生産者と断続的に意見交換を行った。

許可件数は、このような取り組みと大部分の農家がワクチン接種を中止しながら発生が見られないことで、平成14年度第1四半期17都府県592戸、同15年度第1四半期16都府県515戸と漸減していたが（表Ⅱ-3）、一部には全面中止への目標が明示されないことでワクチン接種の再開を行う農家も出始め、ワクチン接種の全面中止に向け国のリーダーシップを求める声が強まってきた。

一方で、平成16年（2004）1月から3月にかけて、79年ぶりとなる高病原性鳥インフルエンザの発生が3府県4戸で確認され、計41万羽が処分され、通報が行われなかった京都府の事例では、自衛隊の支援も受けるなど大規模な対応が行われた。

このような中、平成16年3月から9月にかけて、鹿児島県において国内承認ワクチン株と近縁の豚コレラウイルスの感染事例が5例確認（家畜伝染病予防法上は野外ウイルスによるものでないとして疑似患者扱い）され、5農場計3,588頭の飼養豚の殺処分や周辺農場延べ299農場の移動自粛が行われた。鹿児島県では、その原因究明と防疫措置の検証を行った17年（2005）3月の報告書の中で、ワ

表Ⅱ-3 県別ワクチン接種許可戸数の推移

|      | 平成12年度 | 13年度 | 14年度 | 15年度 | 16年度 | 17年度 |
|------|--------|------|------|------|------|------|
| 茨城県  | 163    | 179  | 200  | 166  | 171  | 111  |
| 栃木県  | 9      | 9    | 9    | 8    | 3    | 2    |
| 埼玉県  | 45     | 55   | 52   | 45   | 40   | 30   |
| 千葉県  | 87     | 109  | 95   | 90   | 85   | 26   |
| 東京都  | 7      | 7    | 6    | 6    | 5    | 4    |
| 神奈川県 | 34     | 32   | 28   | 28   | 23   | 7    |
| 長野県  | 19     | 23   | 23   | 18   | 4    | 2    |
| 静岡県  | 78     | 64   | 59   | 65   | 55   | 6    |
| 愛知県  | 2      | 2    | 15   | 14   | 13   | 3    |
| 大阪府  | 1      | 1    | 1    | 1    | 0    | 0    |
| 鳥取県  | 4      | 5    | 5    | 4    | 0    | 0    |
| 山口県  | 0      | 1    | 0    | 0    | 0    | 0    |
| 福岡県  | 1      | 1    | 1    | 1    | 1    | 1    |
| 佐賀県  | 14     | 8    | 9    | 11   | 10   | 3    |
| 長崎県  | 6      | 1    | 0    | 0    | 0    | 0    |
| 熊本県  | 12     | 7    | 7    | 4    | 3    | 1    |
| 大分県  | 8      | 5    | 1    | 0    | 0    | 0    |
| 宮崎県  | 25     | 33   | 25   | 12   | 7    | 1    |
| 鹿児島県 | 103    | 107  | 55   | 45   | 31   | 6    |
| 合計   | 618    | 647  | 592  | 515  | 451  | 203  |

注：平成12年度は第3四半期（調査開始時）、13年度～16年度は第1四半期、17年度は第4四半期（平成18年1月）における戸数である。

クチンの一部接種は発生の際の周辺、関連農場の清浄性確認に大きな支障を来た  
すとし、早期の全面中止を提言した（資料73）。

## 7) ワクチンの全面中止に向けた検討

国ではこのような情勢を受け、平成17年（2005）3月の食料・農業・農村政策審議会消費・安全分科会家畜衛生部会で、平成14年（2002）の家畜伝染病予防法改正により主要な家畜伝染病について定めることとなった特定家畜伝染病防疫指針として、豚コレラの防疫指針を策定することを提案して了承を得、4月以降、同部会の牛・豚疾病小委員会と豚コレラ撲滅技術検討会で防疫指針の検討が開始された（資料74）。平成17年6月には、学識経験者、都道府県、関係団体を広くメンバーとする豚コレラ撲滅全国検討会が3年ぶりに開催され意見交換が行われた。専門家からは、これまでの調査成績から我が国に野外ウイルスは存在しないと考えられるため、一部でのワクチン接種継続は防疫上最も好ましくないとの意見が出され、都道府県からは国がリーダーシップを発揮すべきとの意見が出された。生産者からも早期にワクチン接種を全面中止し、生産者が一体となって他の疾病対策を進めるべきとの意見があったが、豚の密集地域での発生や被害の拡大を懸念する意見もあった（資料75）。

この平成17年6月には、不法ワクチンの使用が原因と思われる弱毒タイプの高病原性鳥インフルエンザの発生が養豚の密集地域でもある茨城県で確認され、翌年の1月にかけて埼玉県の一部の1農場を含め計41農場、約578万羽が処分、淘汰されたが、防疫指針の取りまとめや接種継続を求める生産者との意見交換はこれと平行して進められた。

防疫指針は、平成8年（1996）に策定され順次改正を重ねてきた豚コレラ防疫対策要領を基本として、豚コレラワクチンの全面中止を前提に、専門家や生産者などからの意見、海外における防疫措置の状況、豚コレラをはじめとする口蹄疫や高病原性鳥インフルエンザなどの防疫経験も踏まえ検討された。その防疫指針の案では、万一発生した場合でもより円滑に防疫措置を実施し速やかな経営再開が行えるよう、同一の農場であっても飼養管理形態などから豚舎が区分され、防疫上問題ないと判断された場合は、同一農場の豚であっても必ずしも殺処分の対象とする必要はないこと、緊急ワクチンは発生農場においても迅速な殺処分が困難な場合は使用できること、発生農場が円滑に経営を再開できるよう関係機関が連携して支援することなどを明確化し、移動制限期間も従来の防疫要領に比べ合理的な期間に短縮された。このワクチン接種の全面中止を前提とした防疫指針の

案については、平成 17 年 9 月から 10 月にかけてパブリックコメントが実施されたが、ワクチン接種全面中止を支持する意見、反対する意見とさまざまであった（資料 76）。

## 8) ワクチンの全面中止と清浄国入り

接種継続を求める生産者との意見交換は平成 18 年（2006）の 3 月まで続けられたが、大方の生産者の理解は得られたと判断し、「国内に野外ウイルスは存在しないと考えられる」との専門家の評価の下で、ワクチン接種を全面中止することにより、ワクチン接種国又は地域からの豚肉等の輸入停止措置を維持するとともに、接種経費の節減や万一の発生時の防疫対応の混乱の回避、輸出環境の整備をすることが、我が国全体としての豚コレラの発生予防や養豚の振興を図る上で得策との考えから、平成 18 年 3 月 31 日に防疫指針を公表、4 月 1 日以降ワクチン接種を全面中止することとした（資料 77）。

これを受け、同年 4 月以降予防的なワクチン接種の実施はできないこととなったが、ワクチンメーカーサイドでの販売店の在庫の積極的返品対応や、検定済みのワクチンの輸出用への切り替えなどの対応もあり大きな混乱もなく行われ、ワクチンは全面中止された。

平成 19 年（2007）4 月 1 日には、ワクチン接種中止後 1 年が経過し、我が国は、国際獣疫事務局（OIE）の規約に従い豚コレラの清浄国となったことから、同日、OIE に対し、2007 年 4 月 1 日から豚及び野生いのししについて豚コレラ清浄国としての要件を満たしたことを宣言すると最終報告を行い、この最終報告書は OIE の季報に掲載され、国際的に清浄国として認められることになった（次頁）。

これをうけ、平成 19 年 9 月 11 日には、都道府県、自衛防疫団体、養豚生産者等が一体となった長年にわたる取り組みにより豚コレラが清浄化されたことを記念して、農林水産省、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所及び独立行政法人農畜産業振興機構の後援と養豚衛生関係団体の協賛のもとに、社団法人全国家畜産物衛生指導協会、社団法人日本獣医師会、社団法人日本動物用医薬品協会及び社団法人日本養豚協会の共催により「豚コレラ清浄化記念大会」が開催され、農林水産省 町田勝弘 消費・安全局長をはじめとして都道府県、関係団体等から約 265 名の関係者が出席する中、記念式典、養豚衛生シンポジウム及び祝賀会が挙行された（資料編 6 参照）。

〈OIE 誌に掲載された宣言文の内容〉

日本の豚コレラについて

最終報告

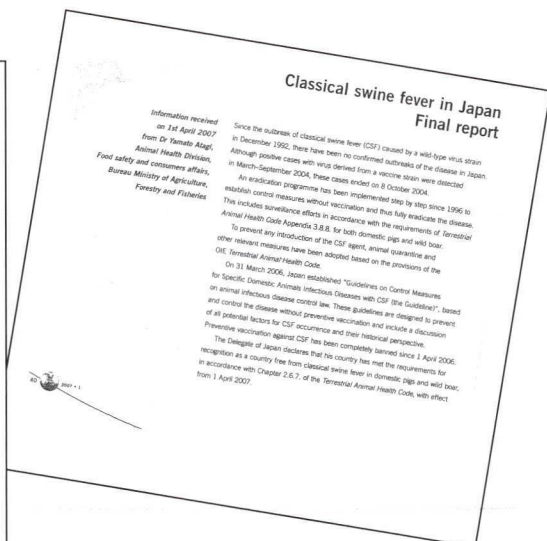
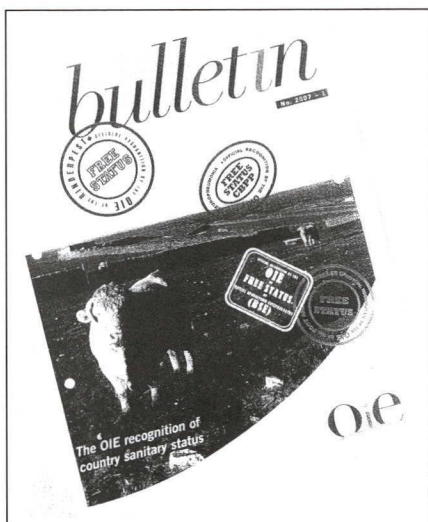
日本では 1992 年 12 月の野外株による発生以来、豚コレラの発生は確認されていません。2004 年 3 月から 9 月にかけて、ワクチン株から派生したウイルスによる陽性例が発見されましたが、これらの事例は 2004 年 10 月 8 日に終了しています。

1996 年以降、ワクチンを使用しない防疫体制を確立し、完全な清浄化を達成するために、段階的な撲滅対策が導入されてきました。この中で、附則 3.8.8 章の要件に基づく血清学的サーベイランスの努力が飼育豚及び野生いのししにおいて行われております。

また、海外からの豚コレラ病原体の侵入の可能性を排除するため、OIE が定める陸生動物衛生規約に基づき、動物検疫をはじめとする侵入防止措置がとられています。

2006 年 3 月 31 日、我々は豚コレラ発生の全ての潜在的要因及び歴史的展望について議論し、家畜伝染病予防法に基づき、予防のためのワクチン接種を行わずに本病の予防と管理を行うための「豚コレラに関する特定家畜防疫指針（防疫指針）」を作成しました。2006 年 4 月 1 日以降、予防のためのワクチン接種を全面的に中止しています。

日本代表は 2007 年 4 月 1 日より、陸生動物衛生規約の第 2.6.7 章に基づき、豚及び野生いのししについて豚コレラ清浄国としての要件を満たしたことを宣言します。



〈OIE による我が国の豚コレラフリーステータスに関する告知〉

—Bulletin OIE No.2007-1, Classical swine fever in Japan, Final report—

## ★豚コレラ生ワクチン株の取り扱いと診断薬の改良進歩

### 1) 豚コレラ GP 生ワクチンの原種ウイルス (GPE<sup>+</sup>株) の維持

平成5年(1993)に、ワクチン開発以来原種ウイルスの製造管理を行ってきた家畜衛生試験場から、社団法人 動物用生物学的製剤協会に GP 生ワクチン原種ウイルス (GPE<sup>+</sup>株) の管理が移管された。

豚コレラ GP 生ワクチン及びその原種ウイルス等の製造方法や品質管理のための試験法については、動物用生物学的製剤基準に規定されており、その中でワクチン(原種ウイルスを除く)の力価試験法として、ワクチン接種豚を強毒豚コレラウイルス ALD 株で攻撃する方法が採用されていた。しかしながら、当該ワクチンはシードロットシステムが採用されていること、かつこれまでの多大な検査成績に基づき、ウイルス含有量の規格を満たすものであれば十分な有効性を担保できるという考えから、昭和56年(1981)に当該ワクチンの力価試験が廃止された。

また、ウイルス含有量試験法として、人獣共通感染症である西部馬脳炎ウイルス(WEEV)を用いた干渉法を採用していたが、平成7年(1995)に動物医薬品検査所において開発されたモノクローナル抗体を用いた間接免疫ペルオキシダーゼ(IIP)法によるウイルス含有量試験法が採用されている。この試験法は、豚コレラウイルスを特異的に認識するモノクローナル抗体を使用していること、干渉法に比べて、WEEVを使用しないことからより安全であること及び判定を客観的に行うことができること等の利点があるため、従来の同定試験及びウイルス含有量試験が廃止され、IIP法による新たな同定及びウイルス含有量試験が規定された。

更に、平成12年(2000)10月のワクチンの全国的な接種中止に対応するため、平成13年(2001)3月に原種ウイルス及びワクチンの試験に強毒豚コレラウイルス ALD 株を使用する項目が削除された。また、原種ウイルスについては、原種ウイルス野外検定用豚コレラ生ワクチンの調整及びこれにかかわる試験が削除されるとともに、力価試験法について、従来の ALD 株を使用した攻撃試験法から、無血清培養液で増殖可能な CPK-NS 細胞を用いた中和抗体価測定試験法(以下「中和試験法」という)に変更された。

### 2) 豚コレラ診断薬の改良進歩

平成14年(2002)10月に施行された動物用生物学的製剤基準の全面改正において、豚コレラ診断用蛍光抗体の特異性試験に豚サイトメガロウイルス、豚流行性下痢ウイ

ルス、豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス、豚サーコウイルス及び豚ロタウイルスが否定すべき病原体として新たに加えられた。平成 15 年、動物医薬品検査所における当該診断液の検定において、当該診断液が豚サイトメガロウイルスにも反応することが確認された。

これは、当該診断液の製造に市販の肥育豚の血清が使用されていたため、野外の豚に広く浸潤している豚サイトメガロウイルスに対する抗体を所有していたことが原因であろうと考えられた。そのため、当該診断液の製造に SPF 豚を使用することで、豚サイトメガロウイルスに対する非特異反応の改善が図られた。

豚コレラウイルスの抗体検査は、主に中和試験法（END 中和試験法）により行われてきた。中和試験法は、生きた強毒豚コレラウイルスや強毒ニューカッスル病ウイルスを使用する必要があること、多検体を処理するには不向きであること、判定までに時間を要すること、また豚コレラウイルスは、牛において広範に浸潤している牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）と共通の抗原性を有しているため、BVDV 抗体が存在していない牛血清を細胞培養のために使用する必要があるが、そのような血清の確保が非常に困難であることが問題であった。豚コレラ撲滅体制確立対策事業においては、ワクチン接種による抗体保有率の調査や清浄度確認調査のために全国的な抗体サーベイランスを実施する必要があったため、より簡易な試験方法が求められていた。そのため、無血清培地で増殖が可能であり、弱毒 GPE 一株の感染により CPE を示す FS-L3 細胞や CPK-NS 細胞を使用した中和試験法が導入された。この試験法により中和抗体の測定が簡素化されたが、更なる簡便化、多検体処理が可能であり、測定時間が短い試験法の導入が要望された。

平成 13 年 3 月に豚コレラウイルスのエンベロップを構成し、中和抗体の主要なエピトープとなる E2 蛋白を抗原としたエライザキットが承認された。本診断液により、豚コレラウイルス抗体検査の多検体測定が可能となった。

## ★豚コレラに対する輸出入検疫

### 1) 戦後の輸出入検疫

動物検疫所では、家畜伝染病予防法に基づき輸出入される動物及び畜産物等に対する検査と検査に基づく処置を主な業務としてきており、その時代のニーズに応じた動物の輸出入動向に合わせた検疫が行われてきた。

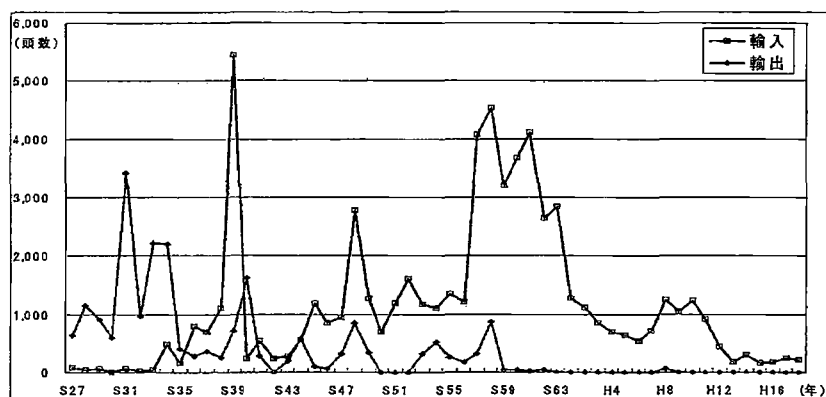
豚については、昭和 28 年（1953）から昭和 33 年（1958）までは数十頭の輸入に過

ぎなかったが、昭和 34 年（1959）から、加工に適したランドレース種を主体とする種豚の輸入が急増し、昭和 44 年（1969）まで毎年 200 ～ 300 頭が輸入された。また、昭和 38 年（1963）及び昭和 39 年（1964）には、韓国から約 6,000 頭のと畜場直行豚が輸入された。昭和 40 年代後半には、国内における交雑種生産が普及し、これが輸入にも波及した結果、ヨークシャー、ハンプシャー、ランドレース、デュロック等が輸入され、それ以降ヨーロッパ、米国等から種豚が輸入されている。

また、平成 8 年（1996）から平成 10 年（1998）をピークとして、ハイブリッド豚を主とした繁殖用が輸入されたが、主たる輸出国である英国に豚コレラが発生し、平成 12 年には激減した。

豚の輸出では、昭和 27 年（1952）から昭和 38 年（1963）にかけて主に東南アジア向けに行われ、輸入頭数より多くが輸出されていた（図Ⅱ-4）。

この輸出入検疫により、さまざまな豚の伝染病を摘発し、国内への侵入防止等を図ってきた。豚コレラについては、過去に表Ⅱ-4 のとおり摘発をしてきたところである。特に今では実施されていないが、昭和 27 年 11 月に英国から種豚が輸入され、豚コレラが発生したが、斃死豚以外に血清療法による治療を試み、数ヵ月後に回復豚を解放していた事例もあった。



図Ⅱ-4 豚の輸出入頭数の推移

表Ⅱ-4 動物検疫所における豚コレラの摘発事例（動物検疫所調べ） \*：抗体陽性

| 年次      | 輸出入別 | 国名   | 発生  | 死亡  | 殺処分 | 回復 | 備考    |
|---------|------|------|-----|-----|-----|----|-------|
| 昭和 28 年 | 入    | 英国   | 16  |     | 6   | 10 | 神戸支所  |
| 昭和 31 年 | 出    | ベトナム | 118 | 28  | 90  |    | 神戸支所  |
| 昭和 33 年 | 出    | —    | 4   | 2   | 2   |    | 神戸支所  |
| 昭和 46 年 | 入    | 英国   | 17  | 1   | 16  |    | 大阪出張所 |
| 昭和 47 年 | 入    | 韓国   | 300 | 133 | 167 |    | 博多出張所 |

## 2) 豚コレラ発生国への主な対応

- (1) 昭和 61 年 (1986) 3 月 30 日、英国 (シュロップシャイア地方 (ウェールズ)) における豚コレラの発生に伴い、同国産輸出豚の家畜衛生条件について、「同国における無病証明」から「生産農場における過去 12 ヶ月間の無発生証明」に改正した。
- (2) 平成 8 年 4 月から、国内において豚コレラ撲滅体制確立対策事業が開始され、平成 12 年 10 月から、全国的なワクチン接種の中止を行う当該事業の第 3 段階に入ることになったことに合わせて、輸入検疫の強化を図った。具体的には、平成 12 年 9 月 29 日付けで「偶蹄類動物の肉・臓器、ソーセージ・ハム・ベーコン」について家畜衛生条件を締結している国と豚コレラに関して以下の条件を追加した。

### —豚肉等の家畜衛生条件への豚コレラに関する追加条件—

1. 日本向けに輸出される豚肉及び臓器並びにそれらを原料とする肉加工品（以下、「日本向け豚肉等」という）については、以下の追加条件が適用される。
  - (1) 輸出国においては、豚コレラの発生がないこと。
  - (2) 輸出国においては、豚コレラのワクチン接種が禁止されていること。
  - (3) 輸出国においては、豚コレラのワクチンが接種された豚の輸入が禁止されていること。
2. 第三清浄国から輸入された豚又は豚の肉及び臓器並びにそれらを原料とする肉加工品（以下「豚肉等」という）が日本向け豚肉等の生産に使われる場合は、輸出国政府機関は、第三清浄国から輸入された豚又は豚肉等について
  - (1)、(2) 及び (3) 又は (4) を充足するものであることを証明すること。
  - (1) 第三清浄国（地域）においては、豚コレラの発生がないこと。
  - (2) 第三清浄国（地域）においては、豚コレラのワクチン接種が禁止されていること。
  - (3) 第三清浄国（地域）においては、豚コレラのワクチンが接種された豚の輸入が禁止されていること。又は、
  - (4) 日本向け輸出豚肉等の生産に使われる豚肉は、生前生後の検査の結果、豚コレラの疑いがなく、かつ、豚コレラワクチンの接種がされていない豚由来のものであり、第三清浄国において加熱処理等豚コレラのウイルスを殺滅する方法で処理が行われていること。

(注) 地域とは清浄国のうち豚コレラの発生が未だある／若しくは豚コレラワクチン接種を継続している国の一部のワクチン不接種清浄地域をいう。第三清浄国内における地域の認定は、日本家畜衛生当局が現地調査の上、実施する。

3. 輸出国において、豚コレラの発生があった場合、直ちに日本国家畜衛生当局に発生状況を通報すること。また、最終発生における必要な措置が完了し、終息後6ヶ月以上たった場合には、日本あて通知すること。

(3) 平成13年には、欧州の広い地域で散発的な発生が確認された。平成13年6月、スペイン及びドイツにおいて豚コレラが発生し、同国から輸入される豚及び豚肉・臓器等について輸入一時停止措置を講じた。また、平成14年5月にフランス、6月にコスタリカ、11月にベルギーにおいても豚コレラが発生し、同国から輸入される豚及び豚肉・臓器等について輸入一時停止措置を講じた。その後、ドイツについては平成15年(2003)3月、ベルギーについては同年12月にそれぞれ豚肉等の家畜衛生条件が取り決められ、加熱処理された豚肉等の輸入が再開された。

(4) 平成15年、韓国における豚コレラの発生拡大に対応し、動物検疫所において平成15年3月から約1ヵ月間、韓国からの全ての旅行者の靴底及び車輛消毒を実施した。

(5) メキシコについては、同国における豚コレラの発生に鑑み、平成16年9月、同国における豚コレラの清浄州(ソノラ州、チワワ州及びユカタン州)にシナロア州及びバハ・カリフォルニア州が加わり、これを踏まえて日本向けに輸出される豚肉等の家畜衛生条件が一部改正された。

韓国については、平成16年11月29日に済州島の養豚農家において豚コレラ抗体陽性事例が確認されたため、同日付けで韓国からの豚肉等について輸入一時停止措置を講じた。

また、韓国については、平成17年8月に加熱処理された豚肉等に係る家畜衛生条件が取り決められ、輸入が可能となっているが、現在のところ、当該家畜衛生条件に基づく加熱処理施設が指定されていないことから実質的に輸入は行われていない。

(6) ドイツについては、我が国と同国との間で取り決められた家畜衛生条件に基づき、加熱処理された豚肉等畜産物の輸入が可能となっているが、動物検疫所における輸入検査において加熱不十分な豚由来の加工品が確認されたことに伴い、平成17年7月15日以降当該肉を処理した施設からの豚肉等畜産物の輸入が停止された。

(7) ハンガリーについては、平成 19 年 1 月に野生豚で豚コレラが確認されたことにより、豚及び豚肉等の輸入について一時輸入停止措置を講じた。同年 3 月には家畜衛生条件が改正され、清浄地域由来の豚肉等についての輸入停止措置が解除された。

## 〈研究開発の歴史〉

### 1 総論\*

#### はじめに

我が国ではじめて豚コレラが発生してから撲滅が完了するまで、120年間の研究開発の歴史は、その高い致死性と伝播性の故に疾病対策を目的とした診断や予防治療等の実用的技術開発が主流であったことには必然性がある。

豚コレラがはじめて米国で発見されたのは、1800年代のことであるから狂犬病や牛疫のように古い歴史はない。我が国では明治21年(1888)発行の北海道毎日新聞に「真駒内ノ種畜場ニ於テ客歳十二月中旬ヨリ畜豚ニ傳染性肺腸炎(*Pneumo Enteritis Contagiosa*) ト稱スル一種ノ傳染病ヲ發シ」と報じられており、これが豚コレラの最初の発生と考えられている。我が国の豚コレラの研究史は、最初の発生以来米国に追隨するものであったが、組織培養による生ワクチンの開発がはじまってからは独自の道を歩むようになった。結果として、撲滅の達成まで米国に約30年の遅れをとったが、米国の撲滅計画は多数の豚を淘汰する苦渋の戦いであったのに比し、我が国のそれはワクチンの接種率の向上によって坦々と撲滅を完成させ、彼我の差が歴然となった。

#### 1) 米国での発生と研究の概要

豚コレラは米国で初めて発生したこともあって我が国の初期の研究は米国の研究に先導されていたことから、最初に米国の発生と研究を俯瞰する。

##### (1) 病気の発見

豚コレラは当初他の伝染病と混同され、最初の発生は明らかでないが、1729年オーストリアとハンガリーで観察されていた疾病が症状から見て明らかに豚コレラであるとの記載がある。しかし、最初の科学的な記録は米国畜産局刊行の報告中にある1833年オハイオ州での発生である。米国ではそれより前、テネシー州(1810年)とインディアナ州(1830年)で発生したことが記録されている。1845年までに10州で10例の発生が報告されたが、その後10年間に13州で95例、続く5年間には22州で173例と急速に拡大し、米国全土ばかりでなく全世

\* 清水悠紀臣(北海道大学名誉教授)

界にまん延した。1887年には35州に拡大し、米国畜産局は1886年豚の13%以上が豚コレラで死亡したと報告している。

このように、豚コレラの被害は拡大し続けたが、診断法も確かな方法がなくならんら対策もないまま経緯した。最初に系統的研究を行ったのはロンドンのアルバート獣医学校にいた医師 George Sutton である。彼は臨床症状、剖検所見ばかりでなく、接触伝染性、潜伏期のほか、回復豚が攻撃に対して抵抗すること、人に伝播しないこと等病気の実態をはじめて明らかにし、1858年に報告した。

一方、英国で発生した折、John Gamgee は人のチフスとコレラの研究者であるブリストルの William Budd に材料を送付し検査を依頼したところ、彼は腸特に結腸に潰瘍群があることから1865年豚チフスとして発表した。John Gamgee の弟子 James Law は感染豚の少量の血液で実験感染に成功し豚熱 (hog fever) として他の類似疾病と異なることを明らかにした。

## (2) 病因の解明

James Law は1868年にコーネル大学の獣医学の最初の教授となり、そこで Daniel E. Salmon と Theobald Smith の2人の優秀な学生を指導することになった。Salmon は Law のもとで獣医学を履修したが、当時コーネル大学では臨床施設が整備されていなかったため、パリのアルフォール大学で臨床を研修した後帰国し、臨床経験を重ねコーネル大学から米国で最初の DVM, Doctor of Veterinary Medicine を授与された。彼の豚コレラの研究は1878年から始まった。

農務長官 George B. Loring は動物の疾病による甚大な被害を除くために国の機関として畜産局の設立が必要であると考え、1883年農務省の中に畜産局を設立し、Salmon を局長にそして Smith を補佐に任命した。彼らはまず豚丹毒ワクチンで免疫した豚を豚コレラ罹患豚の血液で攻撃したが効果がなかったことから、豚丹毒と豚コレラは別の病気であると結論した。

1885年、彼らは *Bacillus suispestifer* (後の *Salmonella Choleraesuis*) と名づけた細菌を純粋培養し、豚コレラ症例に常に存在することを明らかにした。この菌の加熱死菌を用い鳩を免疫し攻撃による免疫効果を確認めた。この実験はワクチンとして死菌 (バクテリアン) を使う考えを最初に提案したもので広く他の疾病にも応用されることになるが、豚コレラでは成功しなかった。

その後、原因が明確にされないまま米畜産局の苦闘は続くが、欧州で細菌培養から得た毒性のあるプトメインとアルブミノイドの報告が動機となって畜産局に

Emil Alexander de Schweinitz を長とする化学部が設立された。*B. suipestifer* 培養から同様の物質の分離を試みたが不成功に終わった。たまたま同時期 1890 年 Emil von Behring と北里柴三郎によってジフテリアと破傷風の毒素と抗毒素が発見され、抗毒素による治療が微生物界に大きな波紋を投げかけた。1892 年 Schweinitz は豚コレラ感染血液で免疫したモルモット血清に豚コレラの防御効果があることを明らかにした。

化学と医学を学んだ後、血清療法を研究していた Morison Dorset が Schweinitz の部下となつてから、抗血清の効果について精力的に研究を行ったが、その成果は思わしくなく、細菌ではない感染因子が感染血液の中に存在するようになるようになった。この背景には 1898 年 Löffler と Frosch が濾過性の動物ウイルス（口蹄疫ウイルス）を発見をしたことがある。Dorset は、当時次々と発見されたウイルスを証明するための必須の器具であった細菌を除く濾過器を用い、1903 年（明治 36 年）に豚コレラの病因がウイルスであることを明らかにした。これによって長く豚コレラの原因が豚コレラ菌（*Bacillus choleraesuis*）であるとする考えが否定された。彼の良き理解者であり師であった Schweinitz はこの発見の一年後チフスに罹患し 40 才の若さで死去した。

### （3）共同注射法

米国畜産局では豚コレラウイルスの発見が動機となってワクチンの開発研究が開始された。種々の試みの結果は思わしくなく、南アフリカで Wilhelm Kolle と George Turner が発表した牛疫の高度免疫血清と少量の感染血液を同時に注射すると長期の免疫を与えることができるという報告に基づいた方法を応用することになった。1904 年から 1906 年にかけて米国畜産局の研究チーム（Dorset, Niles, William McBryde）は高度免疫血清の作製法を開発し、血清のみの投与では 3 週間しか効果がないが感染血液との共同注射法によると長期の免疫効果があることを確認した。Dorset はこの方法の特許を取得したがそれを誰もが自由に使用できるようにした。1907 年には米国畜産局によって野外応用試験が行われ免疫血清は発生後できるだけ早く、かつ発症前に投与すると効果が高いことが明らかになった。1910 年には 21 州で免疫血清を製造することになり、年間 26 万用量が使用された。

1913 年「ウイルス－血清－毒素法」が議会を通過し、ウイルス、血清、毒素及び類似品を家畜の州間移動、輸入前に治療目的で使用することに制限が加えられることとなった。しかし、それ以後も共同注射法が行われた。免疫血清単独投

与とウイルスとの共同注射法の比較試験が行われ、死亡率は前者が0.4%、後者が0.2%であった。1918年までに50万mlの免疫血清が製造された。この方法によって、豚コレラの被害を大きく軽減することができたが、ウイルスを排除することはできなかった。

#### (4) ワクチン

1930年までは共同注射法に依存していたため、ワクチンの開発は行われなかったが、強毒ウイルスの使用の可否が論争となってその開発がはじめられた。不活化ワクチンの研究を行っていたDorsetは1934年クリスタルバイオレット色素がウイルスを不活化することを明らかにし、期待される結果を得たが、実用化を見ずして同年死去した。McBrydeとColeがDorsetの遺志を継いで不活化ワクチンの研究を続けクリスタルバイオレット不活化ワクチンを完成させた。このワクチンは不活化ワクチンとしては優れていたが、免疫期間が短く2回の接種が必要等の短所があり、生ワクチンの開発へと移行した。

1948年Hilary Koprowskiはレダリー研究所でⅠ型とⅡ型のポリオウイルスをハツカネズミとワタオウサギの脳で継代して弱毒化し、1950年最初の人体実験を子供に行った。彼はこの経験に基づいて豚コレラウイルスの家兎継代による弱毒化を試みた。同時期にBakerも同様の試みを行い1951年に生ワクチンが発売された。共同注射法によって変異株が出現しはじめそれによる被害が問題となってきた時期であったことから、生ワクチンに対する関心が急速に高まり90%の普及率となった。しかし、弱毒化が十分でなかったため生ワクチンの病原性は一律でなく、免疫血清と同時注射が行われた。1959年には多くの州で強毒ウイルスの使用が禁止されることとなった。

1961年国家規模の撲滅計画のためケネディ大統領は法律第87-209号に署名し、翌1962年から開始された。米国では1976年の発生が最後となり、1978年撲滅を宣言し、米国の獣医史の大きな一里塚となった。

## 2) 我が国の初期の研究

### (1) 疾病の認識

前述したように、明治21年(1888)1月11日の北海道毎日新聞に北海道庁第二部の広告として掲載されている記事が我が国ではじめての発生の記録と考えられている。それによると明治20年(1887)12月中旬から伝染性肺腸炎と呼ぶ伝

染病が真駒内種畜場に発生している。元気食欲不振、豚房の寝藁の隅に頭を入れる等のほか高致死率、高熱、眼結膜の出血、便秘後下痢、皮膚特に内股部の紫斑等が挙げられ、予防法として、消毒、人と動物の立入制限、淘汰、隔離等現在でも十分適用できる防疫の原則を示している。病名は、その病性から「豚ノ虎列刺ト稱スル程ナレハ」としており、新聞記事ではあるが豚コレラの最初の報告として評価できるものであろう。この新聞記事に基づいて、同年勝島仙之助は中央獣医学会雑誌に北海道と沖縄で豚の疾病が「流行猖けつ」していることから豚病研究の必要性を説いており、沖縄にも豚コレラが存在していたことが示唆される。

我が国では、米国と同様に豚コレラ、豚疫（豚パスツレラ症）、豚丹毒は混同され3者はすべて豚丹毒として報告されていたが、これらの疾病のなかで最も早く病因が確立されたのは豚丹毒（1878年 Koch が分離、1886年 Loeffler が病因を確立）であったことから、明治29年（1896）獣疫予防法と獣疫予防法施行細則が制定された折に、豚虎列刺（豚コレラ）と豚羅斯疫（豚丹毒）は別の獣疫として法律に指定（法定伝染病）された。しかし、豚コレラウイルスが米国で Dorset により発見されたのは明治36年（1903）であり、それまではこれらの疾病が独立した疾病であるとの認識はうすく、明治30年（1897）の農務省告示獣疫予防心得では豚コレラは豚腸症菌また豚肺症菌によって起こると記載されている。

豚疫の原因は明治18年（1885）Kitt が家禽コレラ、牛の出血性敗血症、豚の敗血症由来菌が同一性状を示すことから *Bacterium bipolarmultocidum* と呼んだが、その後由来動物に菌種名が使われるようになり、*Bac. suispesticum* と呼ばれた。大正12年（1923）に制定された家畜伝染病予防法で、病名が豚コレラ、豚疫、豚丹毒となって別々に指定された。因みに我が国ではじめて豚丹毒菌が分離されたのは明治39年（1906）、豚疫菌が分離されたのは大正4年（1915）である。

明治36年、米国で豚コレラウイルスが発見されてからも病因について混沌とした時期を過ごしたが、明治40年（1907）福島県岩瀬郡須賀川町に発生した豚丹毒が疑われる症例について、仁田直（後の獣疫調査所長）、奥田金松は病性鑑定を行い、感染豚血液を細菌濾過器を通し、濾液を豚に接種して豚コレラであることを明らかにし、明治42年（1909）に「明治四十年福島縣下ニ流行セル豚病調査報告」として第三次獣疫調査報告書に発表した。我が国において最初に病因が裏づけられた豚コレラの報告である。

## (2) 免疫血清と初期の不活化ワクチン

明治41年(1908)には沖縄と関東で罹患豚20,914頭という大発生があったため、農商務省仮農事試験場獣疫研究室では右田百太郎、蠣崎千春、奥田金松が免疫血清の製造の研究を開始し、明治43年(1910)から豚虎列刺血清として配布をはじめた。大正元年(1912)には台湾の台北市樺山町に臺灣總督府獣疫血清製造室が設立され、豚コレラ免疫血清の製造配布を開始した。この血清は豚の体重1貫(3.759kg)あたり1.0ml皮下注射することによって30日間自然感染を防衛することができるというものであった。第二次大戦前までは我が国の豚コレラワクチンの研究の大半は獣疫調査所(後に家畜衛生試験場から動物衛生研究所)で行われた。明治45年(1912)に右田、蠣崎、奥田は豚コレラ感染豚の脾臓の乳剤にトルオールを加えて室温に放置した後、トルオールを除いてワクチンとし、5頭に注射し2頭が自然感染に耐過したことを報告したが実用に至らなかった。大正10年(1921)、二村彦次郎は感染豚の脾臓と肝臓を60%グリセリン食塩水で50%乳剤とし、石炭酸を0.5%加えた後37℃で5日間加温した石炭酸グリセリンワクチンを開発し、翌年(1922)発表した。このワクチンは大正9年「豚虎列刺予防液」として獣疫調査所の製造品目に挙げられ、大正11年(1922)より実際に使用された。大正12年には沖縄県獣疫血清製造所も製造の認可を受けた。たまたま、大正13年(1924)には18,000頭の発生があり、獣疫調査所では免疫血清22万ccとワクチン65万ccを配布した。

昭和3年(1928)には大塚一矩と寺門 賀によってホルマリン不活化ワクチンが開発され、「豚コレラ予防液」として獣疫調査所が製造配布を開始した。このワクチンは感染豚の臓器の4倍乳剤に0.2%にホルマリンを加え、37℃48時間加温した不活化ワクチンで、注射量は体重1貫につき1cc 価格は6銭であった。効果出現までに注射後2週間を必要とし、6ヵ月で効果が消失した。昭和10年(1935)国際家畜防疫会議で報告され、各国で追試されたがその効果については賛否両論であった。我が国では23年間にわたって使用されたが、昭和7年(1932)49,000頭、昭和14年(1939)36,000頭の大発生がありその効果には大きな疑問が残った。

昭和8年(1933)二村彦次郎は関東地域で大流行した折、豚コレラの病原体について従来豚コレラ菌(*Bac. suispestifer*)が病原体と考えられていたが、近年に至り豚コレラ菌は真の病原体ではなく、一種の濾過性ウイルスが真の病原体であることが証明されたと述べている。また、朝鮮総督府獣疫血清製造所にいた越智勇一、宮入一雄、小島朝夫、緒方成人は、昭和12年(1937)朝鮮半島の咸鏡北道一円

に発生した豚の伝染病について調査し、豚コレラと診断し報告した。同報告によると朝鮮には豚コレラの報告はあったが、豚疫と豚コレラを同一視して報告されており、朝鮮における実験的根拠のある最初の発生報告だとしている。このように、ホルマリン不活化ワクチンが使われはじめた昭和初期には病原について未だ広く知られていなかったのであろう。昭和13年（1938）には日本獣医師会もこのワクチンを製造した。

### 3) 第二次大戦後の研究

#### (1) クリスタルバイオレット不活化ワクチン

第二次大戦後、連合国軍総司令部（GHQ）の主導によってクリスタルバイオレット不活化ワクチンが導入され、昭和26年（1951）「豚コレラ予防液」として家畜衛生試験場で製造配布され引き続き民間製造所でも製造販売された。このワクチンは既に述べたように、1934年 Dorset が着手し、彼の遺志を継いだ McBryde と Cole によって1936年に完成し、米国ばかりでなく、ソビエト、西独、ハンガリー、オランダ、チェコスロバキア、ブラジル等で広く使われ、その効果はワクチン接種3週後から現われ、約6ヵ月は続くことが確かめられていた。我が国では旧農林省家畜衛生試験場と日本生物科学研究所で評価が行われ、ワクチン接種3～4週後に10,000致死量の強毒ウイルスの攻撃に耐過する。その免疫は6～7ヵ月は継続するなど評判どおりの優れたワクチンであることが明らかになった。

製造用ウイルス株として1950年FAOの獣医官 Kesteven, K.V.L 博士から家畜衛生試験場が分与を受け、豚で継代保存していたALD株が使われることとなった。ALD株の由来について昭和34年（1959）、北里研究所獣疫部長の添川正夫博士は米国農務省農業センターのウイルス病・リケッチャ病部長 O. Mott 博士に問い合わせ、「このウイルスは昭和18年（1943）アメリカの1民間研究所から入手し、爾来米国畜産局で製造用株とせられてきたもので、ALDというのはこのウイルスの入手した研究所を示す符号である。ALD株は過去15年間諸外国に出している唯一の種ウイルス株であり、日本には昭和21年（1946）10月15日第7183号豚から採血し、凍結しておいたものを乾燥したもので、豚通過29代にあたる。豚通過4代の本ウイルスの成績は Dale, C.N. らの豚コレラウイルスの変異に関する研究報告、J. Am. Vet. Med. Ass., 118, 279-285（1951）の281ページにあるので参照されたい。」という返信を得ている（『動物用ワクチン—その研究と

発展-』118頁、添川正夫、文永堂、昭和54年)。

上記の経緯とその他の関連資料からみて、我が国で豚コレラウイルスの標準株として長く使われたALD株は米国畜産局が共同注射用として民間が販売していたウイルスを豚で29代継代し、感染豚血液として凍結乾燥保存していたウイルスが英国の農漁省獣医学研究所に渡り第二次大戦後、FAO所属の連合軍獣医官によって家畜衛生試験場に譲渡されたものであろう。ALD株は豚に感染させると血中に高いウイルス価が持続し、容易に高濃度のウイルスを得られることが、従来よりも優れたワクチンが作成できた一要因と考えられる。

ワクチンの製造は、豚コレラワクチン接種歴のない豚の皮下にALD株感染豚血液を接種し、発病極期に頸動脈から全採血し、脱線維素血液として、クリスタルバイオレット加グリセリン溶液(再溜グリセリン400ccにデュボン社製クリスタルバイオレット1gを溶解、100℃30分間加温)を1/4量加え37.5℃で20日間加温し、その間時々振とうして不活化した。

このワクチンは昭和26年から昭和43年(1968)まで17年間にわたって使用され豚コレラの防圧に貢献したが、免疫発現まで約3週間を要すること、効果の持続期間が約6ヵ月と短いこと、移行抗体によって効果が影響を受けやすいこと、集団免疫の形成が困難なこと、また、感染豚血液を原材料とするため製造原価が高く、豚の体重によって注射量が異なり、ワクチンの注射が容易でないこと等から改良が望まれ、我が国における生ワクチンの開発がはじまった。

## (2) 生ワクチン

昭和21年(1946)Koprowski, James, Coxが開発した家兎化ワクチン(ROVAC)の追試が昭和27年(1952)から家畜衛生試験場で行われた。これが我が国における生ワクチン開発のはじまりである。家兎継代、家兎豚交互継代、家兎山羊継代、山羊継代等のウイルスが作られ、一部に実験室内試験で満足できる弱毒化ウイルスも見られたが、野外試験では安全性に問題が残されたため実用化されなかった。このようにKoprowskiらが作った家兎化ウイルスは日本では使われなかったが、昭和27年台湾の中国農村復興連合委員会(Joint Commission on Rural Reconstruction: JCRR)の李崇道がフィリピンのColonel A.B.を通じてROVACを導入し、台湾省政府農林廳獣疫血清製造所の林再春らによって家兎で800代以上継代されLPC株と名づけられ、台湾ばかりでなく、沖縄、タイ、ベトナム、パラグアイで使われた。現在世界で豚コレラ生ワクチンのウイルス株として最も広く使われているChinese株の由来は明確でないが、LPC株が完成

する前にルーマニアに導入され家兎で500代以上継代後、ハンガリー、ポーランド、チェコスロバキア等東欧諸国で1963年から1967年にかけて安全性と有効性について広範な試験が行われ、その品質が確認されて以降世界各地で使用されるようになった。家兎継代による弱毒化は外国の研究室でも試みられ、IFFA（フランス）、ASV（ロシア）、Suiferin（ドイツ）、SFA（英国）等の株が作られた。

#### 4) GP 生ワクチンの開発

##### (1) ウイルスの組織培養

昭和24年(1949) John F. Enders, Frederick C. Robbins, Thomas H. Weller は、ポリオウイルスがヒト胎児の細胞培養で増殖することを発見し、その後のウイルス研究に大きな影響を与え、豚コレラワクチンの開発にも組織培養が導入されることになった。

豚コレラウイルスの組織培養は、Hecke が昭和7年 Maitland のプラスマクロット法で豚の側脳室脈絡膜叢を培養しウイルスの培養を試みて以来、Bonyton が昭和21年に豚骨赤髄細胞を、Frenkel らが昭和30年(1955)に、Dale らが昭和34年に豚脾臓を用いて培養を行った。我が国でも昭和29年(1954)に中村稔治と林昇、昭和32年(1957)に市原強、昭和35年(1960)に添川正夫らが豚の培養細胞でウイルスの増殖を確認している。しかし、これらが試験的に終わったのは、豚コレラウイルスがポリオウイルスのように細胞変性効果(CPE)を示さないため、ウイルスや抗体の定量に使えないことであった。

この障碍を打破したのは熊谷哲夫が昭和33年(1958)サイエンス誌上に発表したEND法である。熊谷は当初ウイルスの干渉現象を利用して豚コレラウイルスの検出ができないかと考え、豚コレラウイルスを感染させた豚精巣培養細胞にCPEを示す種々のウイルスを重感染させ、CPEを示さなくなることを期待して実験を続けていた。ところが全く逆の現象に遭遇した。ニューカッスル病ウイルス(NDV)を重感染させると強いCPEが観察された。NDVの単独感染ではきわめて弱いCPEしか観察されなかった。これによって豚コレラウイルスの試験管内定量法(END法: Exaltation of Newcastle Disease Virus)が確立され、同時に中和抗体価の測定も可能となった。

この方法の応用によって家畜衛生試験場で生ワクチンの開発がはじまった。クリスタルバイオレット不活化ワクチンの製造用株として使われていたALD株を親株とし、組織培養継代による弱毒化が試みられた。豚精巣培養細胞で142

代、牛精巢細胞培養で36代、モルモット腎細胞培養で32代継代がくり返された。その間、各細胞での継代後に限界希釈法によってクローン化が行われ、それぞれS株、B株と名づけられた。モルモット腎細胞で30台継代後異常が認められ、END法によってウイルスの測定が不可能となった。この現象が豚コレラウイルスの変異によるものでNDVに対する増強作用を失い、かえってその増殖を干渉することが明らかとなった。この干渉作用は西部馬脳炎ウイルス、豚エンテロウイルスにも及ぶことが明らかとなったため、西部馬脳炎ウイルスが豚コレラウイルスの弱毒変異ウイルスの定量に用いられることとなった。モルモット腎細胞継代32代のウイルスストック中にはEND現象を示すクローン（E<sup>+</sup>）と示さないクローン（E<sup>-</sup>）が混在していることが明らかとなったことから、両者をクローニングによって分離し、それぞれGPE<sup>+</sup>株、GPE<sup>-</sup>株と命名した。

## （2）製造用株の確立

生ワクチンの開発にあたっては、致死性、症状、発熱、白血球減少、ウイルス血症を指標として弱毒化の程度を評価した。この評価法によると、ALD株は5項目全ての性質を持つが、S株、B株、GPE<sup>+</sup>株と順次にそれらの性質を喪失し、GPE<sup>-</sup>株は全てが陰性となり、弱毒化が最も進んでいることが明らかとなったことから、生ワクチン株として採用した。GPE<sup>-</sup>株の生ワクチンウイルスとしての適格性についての広範な研究が行われた。総括すると次のようになる。

試験管内性状として、① END現象を示さない、② 30℃でよく増殖する、③ モルモット腎細胞でよく増殖する、の3項目が挙げられ、それぞれEマーカー、Tマーカー、Gマーカーとしてワクチンウイルスの特性を規定する検定項目とした。安全性は、① 豚体内での増殖は扁桃とリンパ節で増殖する、その他の臓器では耳下腺、脾、肺等でごく限局的・一時的に増殖する、② ウイレミーを起こさない。従って胎児感染しない、③ 同居感染を起こさない。④ 免疫抑制剤投与下でウイルスの体内分布は変化しない、等が明らかとなった。有効性についての試験ではワクチン接種3日後から感染防御が成立し、約3年間抗体価が低下することなく持続して攻撃に耐過した。緊急予防効果は豚コレラ生ワクチン研究協議会によって昭和41年（1966）高知県（約19,500頭に使用）、昭和42年（1967）和歌山県（約2,800頭に使用）での発生時に抑圧効果が調べられ、ワクチン接種後2週間後から発生は急激に減少し、約1ヵ月で終息させることができた（写真Ⅱ-7）。



写真Ⅱ-7 昭和42年(1967)和歌山県での発現場

### (3) 野外試験

昭和42年から翌年にかけて全国各県と製造メーカー7社の協力を得て64,374頭(うち妊娠豚50頭)、昭和43年には332,332頭(うち妊娠豚749頭)の野外試験を実施し、安全性と有効性を確認した。ほぼ同時期に動物医薬品検査所の佐藤卯三郎らが豚腎培養細胞と牛腎培養細胞の持続感染系で長期間培養して作ったLOM株、日本生物科学研究所の川窪淳らがHudsonの家兎化ウイルスSFA株をPK2a細胞の持続感染系で作ったNIBS株さらに、化学療法血清研究所(豚脾、精巢、牛精巢、豚腎で弱毒化)、北里研究所(豚腎細胞の持続感染系で弱毒化)でも弱毒株が作られ生ワクチンウイルス候補株として公表されたが、実用化には至らなかった。LOM株とNIBS株については、昭和39年(1964)日本獣医学会豚コレラ生ワクチン協議会によって同年12月からGPE<sup>-</sup>株を含め3者の比較野外試験が行われた。同協議会ではワクチン接種豚には ① 発熱、食欲不振などの臨床症状が認められないこと、② 白血球数の減少が非常に軽微であるか認められないこと、③ ウイルス血症が認められないか認められても短時間であること、④ 豚の糞や尿にウイルスが排泄されないこと、が生ワクチン候補株の必要条件として既に申し合わされており、3者ともその条件を満たしていた。

野外試験の結果、3者間で安全性、抗体産生能に差がないことが昭和41年林

重美ら同協議会によって報告された。GPE<sup>-</sup>株は試験管内性状が明確であり、遺伝的性状も安定で、安全性、有効性について最も研究資料が多いことから日本獣医学会生ウイルスワクチン研究委員会は、GPE<sup>-</sup>株を豚コレラ生ワクチン（以下 GP 生ワクチン）の製造株として一元的に使用することを決定した。昭和 43 年 LOM 株は性状の異なる 2 種のクローンを含み、翌年 PK2a 細胞はもともと弱毒豚コレラウイルスの持続感染系であることが明らかとなった。

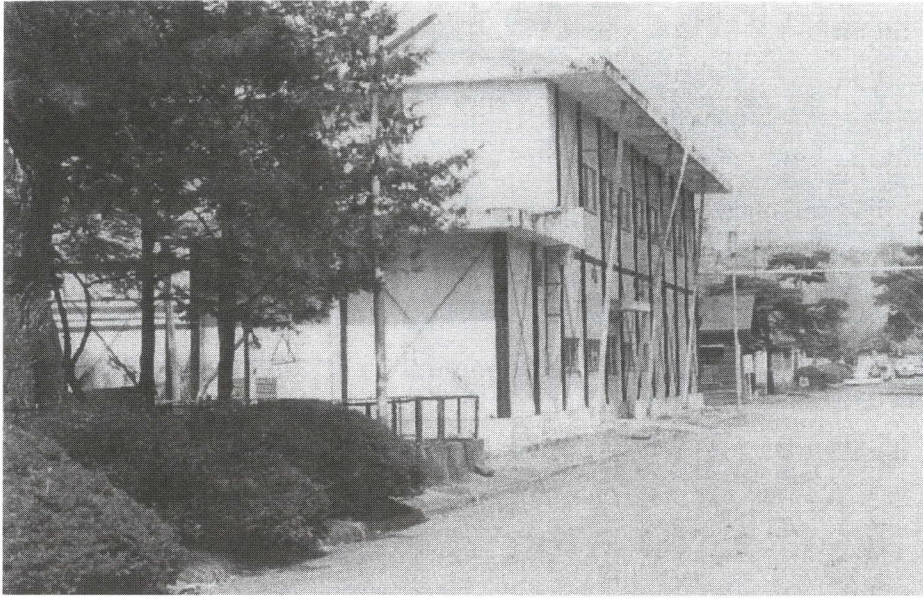
#### （４）製造

GP 生ワクチンの生産方式として採用したのは当時 WHO が勧告したシードロットシステムである。ワクチンの品質管理は昭和 25 年代、WHO の生物製剤課によって体系づけられ、それを参考とした。品質管理にあたって最終製品よりも製造工程の管理と工程中の検査に配慮した。製造に使用するウイルスを原株、原種、製造用株に分け、研究によって性状が明らかになったウイルスを原株として凍結乾燥保存し、原株から 5 年間分のワクチン生産に必要なウイルスを家畜衛生試験場で製造保存した。原種ウイルスを用い試験用ワクチンを製造し、野外検定を行った。2,500 頭について安全性を調べるとともにうち 250 頭については対照群と抗体価を比較し、有効性を確認した。5 年ごとに更新される原種ウイルスは野外検定によって前回の成績と比較し性状に変化がないことを確認した。製造メーカーは、家畜衛生試験場から製造ロットに応じた本数の原種ウイルスの配布を受け 1 ロット 60 万用量を単位として製造することとした。

製造所の構造と設備についても WHO の製造関係の規定があったが、イメージが湧かなかった。幸いポリオワクチンの製造がはじまっており、日本ポリオワクチン研究所を見学し、設計建築されたのが、写真Ⅱ-8 に示した施設である。外観は貧弱であったが製造、検定施設としての構造は満足のいくものであった。平行して民間製造所でも施設の整備が行われた。

#### （５）普及法の開発

ワクチンの応用にあたっては、接種経路、接種器具、ワクチン接種プログラムの検討が行われた。接種経路は皮下、筋肉内、鼻腔内の各経路でワクチンを接種し、抗体価の推移を観察した。皮下と筋肉内接種群では差がなかったが、鼻腔内接種群では抗体産生にバラつきが大きく、かつワクチンのテーク率も低かった。従って散・噴霧接種等の省力化ができないため、注射法の改良を行った。当時実験室で使用されていた連続分注器を模した連続注射器を考案し、ワクチン嚙を注



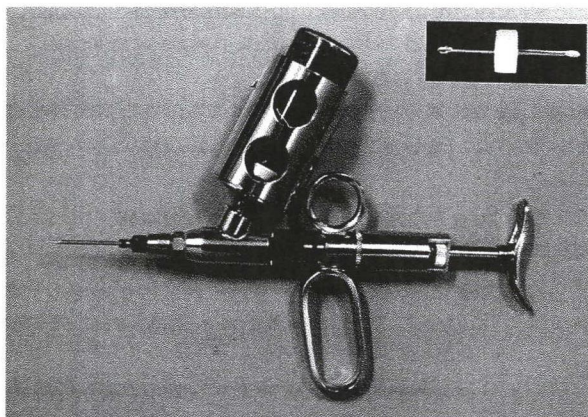
写真Ⅱ-8 豚コレラ GP 生ワクチン製造用施設（旧家畜衛生試験場）

射器に装着できるようにした。また、このワクチンは凍結乾燥ワクチンであることから、溶解の手間を省くため、注射針の両端を切っ先とし、溶解液に一方を突きさした後、もう一方を乾燥ワクチンに突きさすと、ワクチン瓶内が真空になっているため、溶解液が自然にワクチン瓶内に流入し、乾燥ワクチンの溶解が容易となった。前者はピスター、後者はクイッカーの商品名で発売され、ワクチンの普及に貢献した（写真Ⅱ-9）。

#### （6）ワクチネーションプログラム

ワクチンの効果は種々の因子によって影響を受けるが動物用ワクチンの場合、その最大の因子は移行抗体である。移行抗体価とワクチンの効果を調べ、おおよそ次のような結論に達した。移行抗体価1～4倍の豚にワクチンを接種した場合、抗体価は上昇し続ける。8～32倍の豚では一部は上昇し続け、移行抗体価の減衰とともに一旦下降するがその後上昇する。また64～512倍の豚では半数が上昇しないという結果を得た。以上の成績から移行抗体価が32倍以下の場合100%ワクチンがテーク、64～512倍では50%、そして1024倍以上ではワクチンがテークしないという前提のもとにワクチネーションプログラムを設定した。

ワクチネーションプログラムの設定にあたって考慮したことは、すべての豚



写真Ⅱ-9 GP生ワクチン接種の効率化を目的に開発されたピスターとクイッカー

の移行抗体の消失を待ってワクチンを接種することにより100%の豚に免疫を賦与することが可能ではあるが、移行抗体価が低い豚ではその間に移行抗体が消失してしまうため自然感染の危険にさらされることになる。従って生後可能な限り早い時期にワクチン接種することが条件となる。もう一つの条件としてワクチネーションプログラムは集団免疫の形成による流行阻止と

いう観点から設定しなければならない。昭和39年春日斉は流行が起こるために必要な感受性個体の割合の最小値を流行限界密度とし、ワクチンは免疫個体の割合を高め感受性個体を流行限界密度以下に保つために用いられると解説しており(小児科臨床17, 87, 1964)、これをプログラム設定の根拠とした。最近ではオックスフォード大学のRobert M. Mayはこの考えは生態学の基礎増殖率 $R_0$ に基づくもので、「ワクチン接種で $R_0 < 1$ となるよう調整すれば感染流行の永続は阻止できる。痘瘡を例にとるなら集団の全員でなくとも、大体80%の人間にワクチンを接種しておけば、その集団での感染流行の持続は不可能になる。実際、こうした戦略で痘瘡の根絶が見事に成功した」と述べている(Emerging Viruses 1993, 60頁 Oxford Univ. Press)。GP生ワクチンのワクチネーションプログラムは、ワクチンによる集団免疫の形成によって撲滅を図ることを意図して設定されたものであった(著者：畜産の研究 22, 1315, 昭和43年)。

接種時の移行抗体価とワクチンテーク率の関係から生後最も早い時期に豚の80%以上に免疫を与えることを目的として次のようにワクチン接種プログラムを設定した。肥育豚は30～40日で1回、繁殖豚は長期間飼育するため100%免疫を与えることが望ましいことから、その後6か月さらに1年後追加接種する。このプログラムを検証するため、野外飼育豚にワクチンを注射し、抗体価の分布を調べた結果128倍をピークとする分布を示し、免疫賦与率は87.5%でプログラムの正当性が確かめられた。良質なワクチンが開発され、接種率を上げることによって撲滅が可能という条件が整い豚コレラの撲滅を目的とした技術開発はすべ

て完了し、接種率の向上という行政上の問題に移行することとなった。

## (7) 実用化後

昭和 44 年 (1969) GP 生ワクチンが実用化されてから発生は激減し、昭和 51 年 (1976) から昭和 54 年 (1979) まで 4 年間発生が報告されなくなったが、昭和 55 年 (1980) 5 月千葉県佐原市の 1 養豚場で突然発生し、その後全国的にまん延、死亡豚 547 頭、殺処分豚 5,373 頭に達した。翌年になっても終息することなく昭和 56 年 (1981) の発生は 1,807 頭に及んだ。変異株の出現が疑われたため、家畜衛生試験場と関連ワクチンメーカーによって生ワクチンの効果について検討されたが、この発生から分離されたウイルスに対してもワクチンは十分効果があった。この成績は昭和 59 年 (1984) 鮫島都郷らによって報告された。しかし、米国では昭和 40 年 (1965) 前後から非定型豚コレラの問題が浮上してきており、我が国でも研究の必要がせまられた。一方で昭和 45 年 (1970) から豚コレラと豚丹毒の混合生ワクチンの報告が出されるようになり、平成 4 年 (1992) に実用化された。

## (8) 非定型豚コレラ

非定型豚コレラは我が国では既に林重美ら、佐藤卯三郎ら、佐々木昇らが昭和 36 年 (1961) に相次いで報告しているが、系統的な研究は昭和 49 年 (1974) になって家畜衛生試験場で行われた。保存ウイルス株の抗原性と病原性を調べた結果、豚コレラウイルス株は牛ウイルス性下痢ウイルス十勝株の抗血清によって中和され難い H 亜群と中和され易い B 亜群の 2 亜群に分けることができ、昭和 49 年神奈川県で分離された神奈川 /74 株は B 亜群に属し、豚に対する病原性が多様であることが明らかになった。このウイルス株を接種した豚は、急性、慢性 (一部回復)、不顕性等多様な病型を示した。家畜衛生試験場の清水実嗣らが中心になって行った昭和 55 年から 56 年にかけて流行したウイルス株の抗原性と病原性についての検討の結果、抗原性は H 亜群、B 亜群、さらにその中間の HB 亜群に分けられ、昭和 45 年 (1970) 以前は H 亜群が多く、それ以降は B 亜群が多いことが明らかになった。家畜衛生試験場と動物医薬品検査所で行われた豚接種試験では B 亜群のウイルスは非定型的な経過を示す傾向がみられたことが昭和 56 年 (1981) 清水実嗣ら、中川秀次らによって第 91 回日本獣医学会で報告された。その後平成 11 年 (1999) 迫田義博らによって遺伝子型が調べられ、H 亜群は遺伝子型 1 群、B 亜群は遺伝子型 2、3 群で抗原型と遺伝子型に相関が認めら

れた。

平成4年12月の熊本県球磨郡の発生を最後として豚コレラの発生がなかったが、平成16年(2004)3月から9月にかけて鹿児島県で計15例の豚コレラを疑う疾病が突然発生した。分離されたウイルスは動物衛生研究所での検査の結果遺伝子型が1群で、遺伝子配列から生ワクチンウイルス GPE<sup>-</sup>株ときわめて類似したが、GPE<sup>-</sup>株に特異的な単クローン抗体とは反応しなかった。鹿児島県が3月22日に行った1例目の抗体調査では128倍をピークとする分布であったが、7月22日の2例目のそれは2,048倍がピークであった。以上のことから、この事例は GPE<sup>-</sup>株に類似のウイルスが豚に接種され、病原性が変化し、豚コレラ疑似患畜として摘発されたものと推論された。

## 5) 診断法の研究

### (1) 米国の診断法

昭和37年(1962)10月ワシントンで開催された獣医実験室診断技術者と家畜衛生協会の会議で豚コレラ撲滅に使用する診断法について協議が行われた。診断には緊急を要することから一週間以内で判断できる項目として稟告、臨床症状、病変のほか実験室検査として白血球減少症、脳の血管病変の二つがあげられ、陽性とするには実験室検査のどちらかが陽性であることが要求された。昭和40年になって迅速特異的な方法として蛍光抗体法が開発され診断が強化された。1960年代のはじめネブラスカ大学ではじめてこの方法が研究に使用できることが明らかとなり、農務省動物病センターの研究者によって野外で応用可能な方法に改良された。ウイルスが最も早く検出できる臓器として扁桃が選択された。

以上が米国で行われた診断の流れであり、我が国でも扁桃凍結切片から蛍光抗体法によって抗原を検出する方法が最終的に使われた。しかし、それに到達するまでには紆余曲折があった。

豚コレラが発見された当初は臨床症状による診断が主であったが、次第に血液学的検査、病理学的検査が行われるようになった。

### (2) 血液学的診断

昭和10年から石井進、渡辺昇蔵、三浦勇治がシリーズで報告しているように、白血球減少、核の左転(骨髓球と後骨髓球の出現、桿状核球の増加)、網状赤血球の消失等の特徴が病原学的診断として確立されるまで診断の一つの指針となっ

た。

### (3) 病理学的診断

大正 14 年 (1925) の報告では久保久雄、福谷温、山極三郎は血鉄症、脂肪血症について注目している。昭和 11 年 (1936) 小倉喜佐次郎らは台湾で実験及び自然感染例について検索し、リンパ節の出血、腸のボタン状結節またはジフテリー性偽膜、肝、脾、リンパ節の壊疽性結節、肝、腎の間質及び毛細血管内のリンパ様細胞の集積、腎皮質の出血、肺、脾の出血性梗塞のほか肺の漿液浸潤巣を挙げ、このうち肺病変が細菌の二次感染を容易にしているとしている。昭和 12 年加納玄一郎、渡瀬利夫は脳炎性変化について言及している。昭和 27 年大林正士らは、豚コレラの病変を体系化し、1) 非化膿性脳膜脳炎、2) 血管病変、3) 実質変性、4) リンパ網状織活性化、の 4 病変が主役だとしている。岡庭梓と石谷類造は実験感染例と自然感染例について一連の病理組織学的研究を行い、1) 実質変性と血管病変 2) 網内系細胞の活性化 3) 血管間質結合組織増殖に集約し、これらが関連して豚コレラ病変を形成していることが多いことを昭和 34 年から昭和 37 年にかけて報告している。昭和 44 年にはワクチン接種豚の病変についても調べ、ほとんど病変が認められないが、豚継代すると限局的壊死病変が腸管下部、そけい、下顎等のリンパ節に認められると述べている。

### (4) 外国で開発された方法の追試

病原診断が確立されるまでは諸外国でも多種多様な方法が試みられ、そのうちいくつかについては我が国でも追試された。英国で開発されたゲル沈降反応は鴻池博見らが検討し、特異性は高かったが、感度が低かったと昭和 39 年 (1964) に報告している。Taylor が昭和 36 年に開発したテーラーアミラーゼテストは感染豚では脾臓アミラーゼの産生が低下することに基づくもので、佐々木文存らが検討し、補助診断に使えることを昭和 40 年に報告した。これらの方法は外国で一時用いられたこともあったが、我が国ではいずれも実用に供されなかった。

### (5) CPE を示さないウイルスの検出

豚コレラウイルスの培養組織による検出法の開発には、前述のようにウイルスが多様な生物活性を示すため種々の方法が考案された。この活性は培養細胞に対する CPE の出現の有無によって 2 大別されるが、多くのウイルス株は CPE を示

さないため、検出が容易でなく種々の工夫が試みられた。豚精巢細胞に感染した CPE を示さないウイルスは ① NDV の増殖と CPE を増強する（野外ウイルス、前述）② 西部馬脳炎ウイルス、水疱性口炎ウイルス、豚エンテロウイルスを干渉する（GP 生ワクチンウイルス、前述）③ 豚コレラウイルスのほかの株を干渉する（家兎化ウイルス、劉永和ら、昭和 53 年（1978））に分けられる。これらの活性は抗血清によって中和されるため、それを指標とした中和試験が開発された。END 法は豚精巢細胞でのみ成立する方法であったが、昭和 56 年駒庭英夫らは豚腎株化細胞（CPK 細胞）が代替使用できることを、古内進らは豚扁桃継代細胞で干渉法により E<sup>-</sup>ウイルスを定量できることを昭和 45 年報告した。

福所秋雄らは生ワクチンウイルス株の水疱性口炎ウイルスに対する干渉作用を利用した逆ブラック法を報告し、この方法を使って小川信雄は昭和 57 年（1982）豚コレラウイルスのストックが E<sup>+</sup> と E<sup>-</sup> が混合していることを示した。

昭和 38 年（1963）西村豊らは初代豚腎細胞に豚コレラウイルスを感染させた後 NDV を接種すると CPE は阻止されるが鶏赤血球凝集性は増強される現象を見出し HEIC 法と名づけた。また、昭和 44 年佐藤卯三郎らは彼らが開発した前記 LOM 株感染豚精巢細胞は NDV の増殖を干渉することを見出し INC 法と名づけた。

## （6）CPE を示すウイルスの検出

昭和 35 年 Gillespie らが CPE を示す豚コレラウイルスがあることを報告してから同様な報告が公表され、我が国でも昭和 49 年（1974）吉木研一らが PK-15 細胞で前記 E<sup>-</sup>ウイルスがブラックを形成することを報告した。平成 7 年（1995）には清水実嗣らは豚骨髓支質細胞から派生した顆粒球系細胞に対し、豚コレラウイルスが CPE を示すことを明らかにした。

昭和 57 年筑波山麓で斃死したいのししから分離され保存されていた豚コレラウイルス WB82 株を平成 10 年（1998）になって青木博史らが調べ、E<sup>+</sup> の完全ウイルスと構造蛋白を欠損する不完全干渉ウイルスが混合しており、前者がヘルパーとなって細胞変性効果を示すことを報告した。

## （7）病原診断

米国では感染豚の扁桃の凍結切片から蛍光抗体法で抗原を検出する方法が昭和 38 年ネブラスカ大学の Stair らによって開発され、我が国でも昭和 44 年沢田実らにより追試が行われ、翌年生検のための扁桃採取器具（豚ドリル）について

信藤謙蔵らが報告した。一方、昭和 37 年豚腎株化培養細胞にウイルスを接種し蛍光抗体によってウイルスを検出する方法がペンシルバニア大学の Solorzano によって開発され、研究に広く使われた。我が国でも昭和 42 年家畜衛生試験場によって導入されたが、我が国では END 法が研究に広く使われており、かつ診断には利便性から凍結切片法が普及したこともあって、確認診断に使われたに過ぎなかった。

扁桃が診断のための被検材料としての適格性は、昭和 44 年台湾省家畜衛生試験所の林再春が家畜衛生試験場で研修中に豚コレラウイルス強毒株と弱毒株を接種した豚の体内ウイルスの動態を詳細に調べ増殖の過程を 3 期（リンパ組織、血液、全身臓器）に分け、感染後ウイルスは扁桃に最も早く出現し、長く存続することを明らかにした。

#### （8）血清診断

平成 10 年迫田義博と福所秋雄は無血清培養が可能な豚腎株化細胞（CPK-NS, FS-L3）を樹立し、GP 生ワクチンウイルス株がこれらの細胞に CPE を示すことを明らかにし、その応用による中和試験を確立した。この方法と OIE の標準法である NPLA 法（ペルオキシダーゼ中和試験）、FAVN 法（蛍光抗体中和試験）と比較した結果、よく相関した。平成 13 年（2001）家畜衛生試験場とチッソ株式会社によって E2 蛋白を抗原とする抗体検出のための ELISA キットが開発された。これらの方法は抗体検査法として豚コレラ診断マニュアルに採用された。

#### （9）単クローン抗体とその応用

平成 8 年（1996）西森知子らは ALD 株と GPE<sup>-</sup>株に対する単クローン抗体を作り、それを用いることによって豚コレラウイルスと牛ウイルス性下痢ウイルスを分けることができるばかりでなく、豚コレラウイルス野外株と生ワクチンウイルス GPE<sup>-</sup>株を分けることも可能なことからこれら単クローン抗体は診断と研究に有用であることを報告した。この単クローン抗体は前記平成 15 年（2003）鹿児島県下での疑似患畜事例のウイルス性状解析に有効に使われた。山田俊治はこのウイルスが GPE<sup>-</sup>株のみに反応する単クローン抗体と反応しないが、それはワクチン GPE<sup>-</sup>株と野外ウイルスを識別するペプチド領域が変異したことに由来のもので、遺伝子系統樹では GPE<sup>-</sup>株と類似していることを示した。

## おわりに

豚コレラは明治 20 年 12 月北海道真駒内種畜場での初発生から平成 4 年 12 月熊本県球磨郡錦町の一農場での最終発生まで 106 年間我が国に存在していたことになる。この間の研究は常に疾病の防圧を意識し目的が明確であったからこそその成果が撲滅という伝染病の究極の対策を支えた。

当然ではあるが、これらの研究は時代時代の微生物学領域の重要な発見に動機づけられて発展してきた。明治 23 年 (1890) のエミールベーリングと北里柴三郎の抗毒素の発見の影響を受けて免疫血清や共同注射法が長く使われた。また、昭和 24 年 (1949) のジョンエンダースらのポリオウイルスの組織培養の発見に触発されて生ワクチンの研究が大きく進展した。我が国の豚コレラの研究の方向を大きく転換発展させた END 法の発見の背景には昭和 15 年 (1940) ウエルナーヘンレらが発見した干渉現象があり、そして豚コレラワクチンの応用面で大きな示唆となったのは昭和 27 年提唱されたリードフロストモデルの集団免疫理論である。約 100 年間の研究は糸を紡ぎ織り成すようにして創られ、ある時期からきわめて現実に即した形となってその役割を終えた。

豚コレラは致死率の高い伝染病であったが故にその研究には国立の研究機関である旧家畜衛生試験場が主役を果たす結果となったが、ワクチン、診断液等の開発は民間研究所の研究成果なしに達成され得たものでなく、治験段階の試験は都道府県の家畜保健衛生所の協力なしに成立するものではなかった。これからの豚コレラの研究は撲滅の達成によりバイオセキュリティの完備した施設できわめて限局した形で行われることになる。

## 参考資料

1. Blancou J (2003) History of the Surveillance and Control of Transmissible Animal Diseases, OIE, Paris, 251-252.
2. Dunlop RH, Williams DJ (1996) Veterinary Medicine : An Illustrated History, Mosby-Year Book, St. Louis, 417-423.
3. Dunne HW (1975) Hog Cholera in Diseases of Swine, ed. H. W. Dunne and A. D. Leman, The Iowa State Univ. Press, Ames, 189-225.
4. 畠山英夫 (1995) 日本家畜衛生小史, 農林水産省家畜衛生試験場研究報告, 101 号, 59-73
5. Karasszon D (1988) A Concise History of Veterinary Medicine, Akadémiai Kiadó, Budapest, 408-410.

6. Lin TTC, Lee RCT (1981) An Overall Repeat on the Development of a Highly Safe and Potent Lapinized Hog Cholera Virus Strain for Hog Cholera Control in Taiwan, National Science Council, Taipei, 44pp.
7. 清水悠紀臣 (1995) 養豚の育成, 豚コレラの制圧—理想のワクチン誕生—, 農林水産省農林水産技術会議事務局昭和農業技術発達史編纂委員会編, 昭和農業技術発達史第4巻 畜産編蚕糸編, 農林水産技術情報協会刊, 農山漁村文化協会, 東京, 309-316
8. 添川正夫 (1979) 動物用ワクチン—その研究と発展, 文永堂, 東京, 102-103.
9. United State Department of Agriculture (1981) Hog Cholera and Its Eradication—A Review of U. S. Experience, 65pp

**農林省家畜衛生試験場で行われた豚コレラ GP 生ワクチン開発の記録**

1. 熊谷哲夫 (1964) 豚コレラ, 農林省家畜衛生試験場年報 IV, 昭和 36・37 年度, 25-36.
2. 熊谷哲夫 (1965) 豚コレラ, 豚コレラ生ワクチン, 同上 V, 昭和 38 年度, 28-33.
3. 林重美 (1966) 豚コレラ (予防液の改良), 同上 VI, 昭和 39 年度, 57-59.
4. 清水悠紀臣 (1967) 豚コレラ, 生ウイルスの予防液の改良開発, 同上 VII, 昭和 40 年度, 75-85.
5. 清水悠紀臣 (1968) 豚コレラ, 予防液の改良, 同上 VIII, 昭和 41 年度, 65-72.
6. 清水悠紀臣 (1969) 豚コレラ生ウイルス予防液, 同上 IX, 昭和 42 年度, 170-183.
7. 古内進 (1970) 豚コレラ, 豚コレラ生ウイルス予防液, 同上 X, 昭和 43 年度, 109-114.

## 2 豚コレラワクチンの開発\*

### はじめに

世界における豚コレラの初発生は1810年の米国で、その後はヨーロッパ諸国へ広がり、1822年にはフランス、1833年にはドイツ、1862年には英国で発生し、1899年には南米にまん延している。我が国でも明治21年(1888)、米国から輸入した種豚に初めて豚コレラが発生し(表II-5)、大正9年(1920)頃から少しずつ発生地は広がり、大正年代には九州から関東地方まで発生し、昭和7年(1932)頃にはほぼ全国的にまん延した。

発生当時、豚コレラの免疫法としては高度免疫血清による受動免疫法と強毒ウイルスまたは弱毒ワクチンによる能動免疫法があった。能動免疫法としては3通りの方法が考えられていた。強毒ウイルスと高度免疫血清の同時接種、弱毒生ワクチンと高度免疫血清との同時接種、不活化ワクチンの接種である<sup>1), 2)</sup>。

米国では発生後、安全な生ワクチンの開発が思うように進まず、養豚産業の発展のためにワクチンウイルスの病原性を軽減する目的で、高度免疫血清が半世紀以上も使用されてきた。日本でも高度免疫血清は、発病初期の治療目的で、石炭

表II-5 日本における豚コレラの歴史・変遷

|       |                         |
|-------|-------------------------|
| 1810  | 豚コレラの初発生、米国             |
| 1822  | ヨーロッパでの初発生              |
| 1888  | 日本で初めての発生               |
| 1903  | ウイルス病因学の確立              |
| 1906  | 高度免疫血清ーウイルスワクチン         |
| 1920  | 石炭酸不活化ワクチン～1928         |
| 1928  | ホルマリン不活化ワクチン～1951       |
| 1951  | クリスタルバイオレット不活化ワクチン～1968 |
| 1946  | 家兎化・Chinese弱毒生ワクチン      |
| 1961  | END法の確立 試験管内での定性、定量法    |
| 1960s | 豚コレラのウイルス学的、免疫学的性状解析の推進 |
| 1969  | GPEー弱毒生ワクチンの実用化         |
| 1993  | 日本での豚コレラの最終発生           |
| 1996  | 豚コレラ清浄化5か年計画の推進         |
| 2006  | 豚コレラワクチンの全面的使用禁止        |

\* 古内進(元農林水産省家畜衛生試験場)

酸不活化ワクチン使用当初の1920年からクリスタルバイオレット不活化ワクチン(CVV)が使用されてから3年後の昭和28年(1953)まで、33年間も不活化ワクチンとともに使用されてきた(表Ⅱ-5)。

豚コレラワクチンとしては不活化ワクチン、動物継代弱毒生ワクチン、組織培養細胞継代弱毒生ワクチンが開発されてきた(表Ⅱ-6)。畜産大国の米国では1950年代に種々の家兎化弱毒生ワクチンが開発されてきたが安全性が低く<sup>1), 2)</sup>、1962年にはワクチンによる豚コレラの撲滅を断念し、1969年にはワクチンの使用を禁止して殺処分方式による清浄化を目指し、1978年に清浄化を達成した<sup>3)</sup>。

現在、世界の豚コレラの撲滅・清浄化方式は、大きくワクチンを使用せず徹底したスタンピングアウト(摘発・淘汰)方式の国と、ワクチンによる発生防止と発生時に殺処分とを併用している国、の2通りに大別される。我が国は生ワクチンにより清浄化を達成できた世界で唯一の国であるが、それは島国と言う恵まれた自然環境条件を背景に、優秀なワクチン開発の成功と、家畜衛生行政・防疫技術と養豚現場が一丸となって進めてきた防疫活動に依るところが大きい。ここでは、日本における豚コレラワクチン開発の歴史と研究の歩みについて紹介する。

表Ⅱ-6 日本で開発または使用されてきた豚コレラワクチン

不活化ワクチン:

石炭酸不活化ワクチン(1920～1927)

ホルマリン不活化ワクチン(1928～1950)

クリスタルバイオレット不活化ワクチン(1951～1968)

初期の家兎化生ワクチン(1946～):

ROVAC、SWIVAC、Truevac、M.L.C. Jen-Sal株など

\*病原性があり、高度免疫血清と併用接種

家兎化生ワクチン(1946～):

Chinese(C株)、LPC、Thiveral株など

日本での生ワクチンの開発

家兎化、山羊化ワクチン(1951～)

細胞培養ワクチン:END法発見(1961)以降

生ワクチン:

生ワクチン(GPE株)(1969～2006)

\*清浄化により使用中止

生ワクチン(LOM株)(1966～2007)

生ワクチン(NIBS株)(1969)

## 1) 豚コレラワクチンの種類

豚コレラワクチンとしては、大きく分けて不活化ワクチン、動物継代弱毒生ワクチン、培養細胞継代弱毒生ワクチンがある（表Ⅱ-6）。生ワクチンにとっては安全性が最も大事な要件であるが、弱毒化が不十分な生ワクチンによる事故や副作用の高い生ワクチンが現在でも使用されており、これが低病原性、慢性型や持続感染型豚コレラの発生の原因とも言われている<sup>3), 4)</sup>。このような生ワクチンでは、ウイルスは血液を介して実質臓器にも広がり、妊娠豚では胎児に感染を起こし、異常産子や感染子豚の産生、免疫寛容（生後ウイルスを排泄し続ける）子豚の産生をおこし、免疫寛容状態で生まれた新生豚は感染源となり、豚コレラ常在化の原因を作っていると言われている<sup>4)</sup>。

安全性の高い優れた豚コレラ生ワクチンは、ワクチンウイルスの病原性の復帰（Back mutation）がなく、ワクチンとして接種した場合、そのウイルスの生体内での増殖能は、図Ⅱ-5に示したように、扁桃と体表リンパ節等に限局した性状のものでなければならない。日本で開発された GPE 株、LOM 株、NIBS 株や、台湾の LPC 株などは、全てこの範疇に入る安全性の優れた生ワクチンと言えよう（表Ⅱ-7）。

### （1）不活化ワクチン

豚コレラの不活化ワクチンには石炭酸グリセリン不活化ワクチン（GV）、ホルマリン不活化ワクチン（FV）、CVV などがあり、日本では大正 9 年～昭和 44 年（1920～1969）まで約 49 年間、この 3 種類の不活化ワクチンを開発・使用してきた（表Ⅱ-8）。このうち GV と FV は当時の獣疫調査所（旧農林省家畜衛生試験場）が開発した日本独自のワクチンである<sup>5), 6)</sup>。

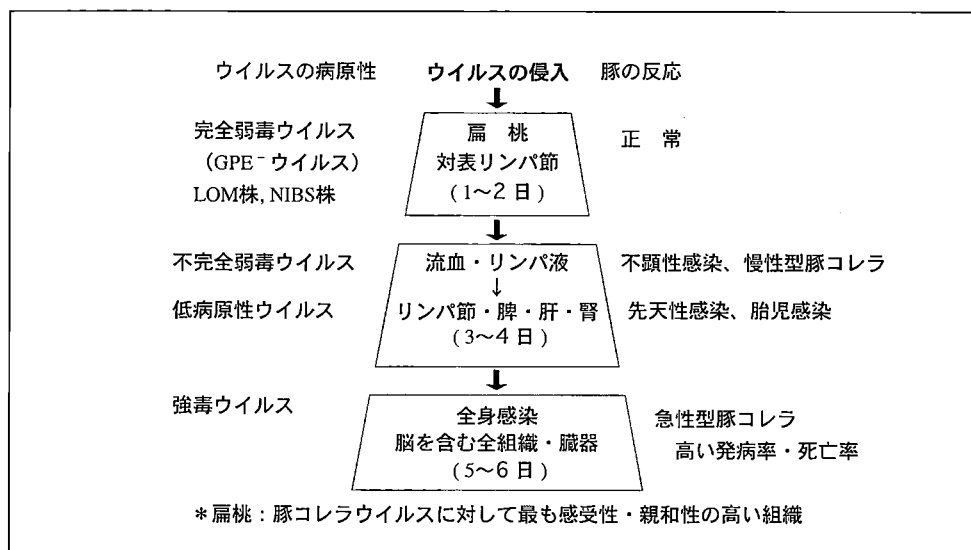
### （2）動物継代弱毒生ワクチン

ワクチンの開発が未だ進んでいなかった豚コレラ発生当初には、米国を含む発生源国では豚コレラの予防に、やむを得ず強毒ウイルスが用いられた。豚コレラ感染豚の血液を豚の 1 頸側に、高度免疫血清を同時に他側に接種する共同接種法である。この方法は、免疫血清で強毒ウイルスの病原性を減じ、その間に免疫を付与させようとする方法であるが、接種事故は少なくなく、強毒ウイルスの持続感染豚を生む結果となった。

米国やヨーロッパの畜産国では、豚コレラワクチンは生産コスト、生産量、利便性から主として生ワクチンが開発された。しかし組織培養技術が確立していな

表Ⅱ-7 日本での組織培養による弱毒豚コレラ生ウイルスワクチンの開発

- LOM株：豚コレラウイルス宮城株 ⇒ 豚腎培養細胞 (45代) ⇒  
豚腎培養細胞持続継代 (310日) ⇒ 牛培養腎細胞持続継代 (159日)  
\* CCVP法：Continuous Cell-Virus Propagation Method
- NIBS株：豚コレラ家兎化ウイルス (SFA株) ⇒ 豚腎株化細胞 (325日) ⇒  
クローニング (325日継代：PSC<sub>1</sub>) ⇒ クローニング (506日継代：PSC<sub>2</sub>) ⇒  
555日持続継代 = MIDS (PSC<sub>2</sub>株)
- Pq株：豚コレラ強毒ウイルス (ALD株) ⇒ 豚精巣培養細胞 (142代) ⇒  
牛精巣培養細胞 (36代) ⇒ モルモット腎培養細胞 (20代)
- GPE<sup>-</sup>株：豚コレラ強毒ウイルス (ALD株) ⇒ 豚精巣培養細胞 (142代) ⇒  
牛精巣培養細胞 (36代) ⇒ モルモット腎培養細胞 (39代)



図Ⅱ-5 豚コレラウイルスの病原性と体内での広がり

い当時は、ウイルスの減毒・弱毒化には種々の動物を継代する方法が試みられ、特に家兎が用いられてきた<sup>7)</sup>。羊による継代、山羊での継代、家兎での継代、羊と豚との交互の継代、あるいは家兎と豚との交互の継代、アヒルの発育卵と豚との交互継代などが試みられた。そのほか哺乳マウスやラット、発育鶏卵など多種

の中家畜や小動物など種々の方法が試みられてきた。しかしウイルスは思うように増殖しなかったり、接種豚が発病して病原性が期待通り低下せず、減毒・弱毒化は思うように進まなかった<sup>1), 2), 8)</sup>。

この中で、主に家兎での継代 (Lapine タイプ：家兎継代が 100 代～200 代以上のもの) と、家兎と豚との交互継代 (Porcine タイプ：家兎継代が比較的短く、ワクチンが豚の組織で作られたもの) により弱毒化が進められた。家兎化弱毒生ワクチンとして、1946 年、Koprowski らは ROVAC 株の開発を<sup>9)</sup>、Baker らは SWAIVAC 株の開発に成功した<sup>10)</sup>。そのほかに多くの国で、Chines 株、IFFA 株、ASV 株、CL 株、Hudson 株、Sueferin-C 株と呼ばれる種々の Lapine タイプと Porcine タイプの家兎化生ワクチンが開発されてきた。しかし初期の家兎化生ワクチンは継代が 100 代～200 代と短く弱毒化が不十分で、特に Porcine タイプの家兎化生ワクチンは減毒が不十分で、接種豚に病原性が認められるものが多かった。そこで、高度免疫血清を家兎化生ワクチンと同時に接種し、ワクチンの病原性を弱める同時接種法がおこなわれ、米国では半世紀以上も続いた<sup>1), 2)</sup>。

しかし豚コレラワクチンとしては、家兎化弱毒生ワクチンが世界で最も広く普及して、それぞれの国が独自に弱毒化を重ねており、台湾の LPC 株のように優れたワクチンも多く、現在でもヨーロッパ諸国をはじめ、中南米、東南アジアなど世界で広く使用されている。台湾の LPC 株は、フィリピン国立獣医学研究所で 250 代家兎継代した ROVAC ウイルスで、分与を受けた後、台湾で更に 800 代以上家兎で継代したものである。

家兎化弱毒生ワクチンウイルスの弱点としては、他の豚コレラウイルスのように、他種ウイルスを増強する END 効果や干渉作用を示さないために、組織培養による検出・定量ができず、その検出・定量には家兎や豚が用いられており、豚体内でのウイルスの増殖や抗体の産生と動態などワクチンとしての正確な安全性や効力解明されていないものが多いことである。

畜産大国の米国・英国・カナダやヨーロッパ諸国の中では、家兎化弱毒生ワクチンの安全性が低いために、ワクチンによる撲滅を早期に断念し、徹底した殺処分方式により清浄化を達成した国も多い。

### (3) 組織培養継代弱毒生ワクチン

主に豚及び牛由来の腎及び精巢の初代培養細胞や株化細胞を用いて弱毒化した生ワクチンが最も多いが、日本ではモルモット腎培養細胞も用いられた。日本

は1950年代から1960年代にかけて世界の中で最も活発に組織培養を用いた豚コレラ生ワクチンの研究・開発を行ってきて、LOM株、NIBS株、GPE<sup>-</sup>株など、優れた生ワクチンを開発してきた（表Ⅱ-7）。

## 2) 日本における豚コレラワクチンの開発

### (1) 不活化ワクチン

我が国での豚コレラの初発生は明治20年（1887）であるが、獣疫調査所では明治43年（1910）から高度免疫血清の製造を始め、使用してきた。しかし大正年間には発生地は拡大し、発生頭数も増加して、単に免疫血清だけの使用では豚コレラの防圧は困難であるとの判断から、当時の農林省は獣疫調査所の二村彦治郎技師に豚コレラワクチンの開発を命じた<sup>5), 11), 12)</sup>。豚コレラのワクチンとして先ず不活化ワクチンの開発が進められ、大正9年（1920）に二村らによってGVが初めて開発され、以後長期間にわたり不活化ワクチンの開発・改良に多くの努力が払われてきた<sup>5), 6), 11), 12)</sup>（表Ⅱ-8, Ⅱ-9）。我が国で豚コレラの発生予防及びまん延防止にワクチンが実際に応用されるようになったのは、大正11年（1922）以降のGVからであり、昭和年代に入ってからFVがこれに代わり、第二次世界大戦後の昭和25年（1950）まで使用された。

第二次世界大戦後の家畜防疫は、警察的防疫から技術を中心とした防疫の強化へと進むこととなり、豚コレラにおいても技術的手段としてのワクチンの品質向上、質的量的供給と安定供給が不可欠となった。しかし、豚の臓器を用いて製造するFVは、製造ごとの品質が不安定で、製造量も十分でないために、米国で開発されたCVVの導入が急がれた<sup>13)</sup>。

#### ① 石炭酸不活化ワクチン

強毒ウイルス感染豚の肝臓及び脾臓に60%グリセリン食塩水を等量加えて2倍（50%）乳剤とし、石炭酸を0.5%に加えて37℃で5日間不活化したものである。GVは、年間、約7千～10万ドース（大正13年、1924）が製造・使用された<sup>14)</sup>（表Ⅱ-9）。

#### ② ホルマリン不活化ワクチン

その後、寺門技師を中心に近藤技師、大塚技師らはFVの開発に成功し<sup>6)</sup>、昭和3年（1928）以降はGVを止め、0.2%ホルマリン加食塩水乳剤不活化ワクチン

表Ⅱ-8 日本で使用された豚コレラ不活化ワクチン

|                                                     |
|-----------------------------------------------------|
| 石炭酸不活化ワクチン (1920 ~ 1927)                            |
| 強毒感染豚の脾および肝を採集、脾 肝と同じ重さの                            |
| 石炭酸加グリセリン水を加えて 2 倍乳剤を作製し                            |
| 37℃で5日間不活化                                          |
| ホルマリン不活化ワクチン (1928 ~ 1950)                          |
| 石炭酸加グリセリン水に変えて、0.2%ホルマリン加食塩水を加えて 2 倍乳剤を作製し、37℃で5日   |
| 間不活化                                                |
| * 二村、近藤、大塚、寺門技師                                     |
| クリスタルバイオレット不活化ワクチン (1951 ~ 1968)                    |
| 強毒豚コレラウイルスを接種 ⇒ 感染 4 ~ 6 日後に放血殺し、感染血液 脱繊維血)を回収し、クリス |
| タルバイオレットを 0.05% 加えたグリセリンを 20%の割合で加え、37℃で21日間不活化     |

に切り換えた。このワクチン開発の成功は製造期間の短縮と製造費の低減に大きく貢献した。昭和 10 年 (1935) 5 月 21 日 ~ 25 日まで、パリで開催された国際家畜防疫会議で、二村らはこれら不活化ワクチンの自動免疫の成果について発表し称賛された。FV は昭和 25 年まで使用された。FV については力価向上の研究と製造法の改良に努め、開発当初は約 31 万ドースの製造量であったが、その後急速に生産量は増加し、昭和 14 年 (1939) には約 487 万ドースに達している (表Ⅱ-9)。しかし効力が十分に得られず、ワクチンの増量と頻回 (2 ~ 3 回 / 年) 接種で対応し、接種頭数の増大にまでワクチンの供給が追いつかず、本格的なワクチン接種計画が打ち出せるようになったのは、CVV の量産供給が可能となった昭和 26 年 (1951) の時点からである (表Ⅱ-9)。

### ③ クリスタルバイオレット不活化ワクチン

McBryde ら (1936) が CVV を開発し<sup>13)</sup>、西ドイツ、ソビエトや東欧など世界的に広く使用されてきた。感染豚の臓器を用いて製造するホルマリン不活化ワクチンは製造ごとの品質が不安定で、供給量を計画的に確保することが困難であったので、笹原らが昭和 26 年 (1951) に CVV の製造技術を導入し検討した。その結果、CVV は FV より感染耐過率が良く、免疫の持続期間も長く、長期保存性も良いことから、同年以後 CVV に切り替え、弱毒豚コレラ生ワクチン (GPE 株) が開発される昭和 44 年 (1969) まで使用された<sup>14)</sup> (表Ⅱ-9)。CVV は、FAO の Kezteen 博士から分与を受けた豚継代強毒豚コレラウイルス (ALD 株) を感受性豚の皮下に接種し、6 ~ 8 日後の発病極期に全血液を放血して集めながら、脱線血液とし、それにクリスタルバイオレットを 0.05%、グリセリンを 20%の割合に加え、37℃で 21 日間感作したものである (表Ⅱ-8)。

表Ⅱ-9 日本における豚コレラワクチンの種類と使用量

| 西暦(年)                     | 年号   | ワクチン<br>接種頭数(dose) | 参考：高度免疫<br>血清接種頭数 | 西暦(年)            | 年号    | ワクチン<br>接種頭数(dose) |
|---------------------------|------|--------------------|-------------------|------------------|-------|--------------------|
| (石炭酸不活化ワクチン：8年間)          |      |                    |                   | (GPE 生ワクチン：32年間) |       |                    |
| 1920                      | 大正9年 | 94                 | 3,022             | 1969             | 昭和44年 | 5,378,351          |
| 1921                      | 10   | 2,381              | 4,192             | 1970             | 45    | 4,675,022          |
| 1922                      | 11   | 4,963              | 20,512            | 1971             | 46    | 3,064,892          |
| 1923                      | 12   | 6,677              | 19,135            | 1972             | 47    | 9,815,717          |
| 1924                      | 13   | 86,144             | 15,249            | 1973             | 48    | 11,162,593         |
| 1925                      | 14   | 70,795             | 14,881            | 1974             | 49    | 10,951,404         |
| 1926                      | 昭和元年 | 63,327             | 17,536            | 1975             | 50    | 10,513,109         |
| 1927                      | 2    | 46,580             | 10,221            | 1976             | 51    | 11,411,883         |
| (ホルマリン不活化ワクチン：23年間)       |      |                    |                   | 1977             | 52    | 11,690,425         |
| 1928                      | 3    | 40,887             | 10,422            | 1978             | 53    | 12,872,533         |
| 1929                      | 4    | 45,647             | 13,626            | 1979             | 54    | 13,447,135         |
| 1930                      | 5    | 41,067             | 8,710             | 1980             | 55    | 14,600,696         |
| 1931                      | 6    | 140,996            | 30,286            | 1981             | 56    | 15,054,078         |
| 1932                      | 7    | 333,458            | 24,788            | 1982             | 57    | 16,690,563         |
| 1933                      | 8    | 492,925            | 5,869             | 1983             | 58    | 16,843,228         |
| 1934                      | 9    | 353,681            | 6,637             | 1984             | 59    | 17,166,687         |
| 1935                      | 10   | 325,541            | 6,330             | 1985             | 60    | 18,657,387         |
| 1936                      | 11   | 396,099            | 5,527             | 1986             | 61    | 17,806,251         |
| 1937                      | 12   | 265,849            | 2,884             | 1987             | 62    | 17,929,296         |
| 1938                      | 13   | 289,995            | 5,350             | 1988             | 63    | 17,917,668         |
| 1939                      | 14   | 486,732            | 12,767            | 1989             | 平成元年  | 17,406,521         |
| 1940                      | 15   | 395,608            | 6,154             | 1990             | 2     | 16,598,827         |
| 1941                      | 16   | 223,822            | 4,132             | 1991             | 3     | 16,094,829         |
| 1942                      | 17   | 310,623            | 10,400            | 1992             | 4     | 16,116,874         |
| 1943                      | 18   | 332,401            | 332,401           | 1993             | 5     | 15,886,003         |
| 1944                      | 19   | 105,792            | 733               | 1994             | 6     | 14,839,512         |
| 1945                      | 20   | 10,549             | 1,154             | 1995             | 7     | 13,642,933         |
| 1946                      | 21   | 29,619             | 448               | 1996             | 8     | 14,542,647         |
| 1947                      | 22   | 45,693             | 712               | 1997             | 9     | 16,050,991         |
| 1948                      | 23   | 121,173            | 2,720             | 1998             | 10    | 14,565,872         |
| 1949                      | 24   | 228,164            | 3,573             | 1999             | 11    | 13,466,529         |
| 1950                      | 25   | 310,376            | 1,758             | 2000             | 12    | 4,365,385          |
| (クリスタルバイオレット不活化ワクチン：18年間) |      |                    |                   | 2001             | 13    | 0                  |
| 1951                      | 26   | 369,385            | 3,026             | 2002             | 14    | 以降原則中止             |
| 1952                      | 27   | 595,350            | 2,377             | 2003             | 15    |                    |
| 1953                      | 28   | 700,169            | 685               | 2004             | 16    |                    |
| 1954                      | 29   | 669,644            | 以降中止              | 2005             | 17    |                    |
| 1955                      | 30   | 721,617            |                   | 2006             | 18    |                    |
| 1956                      | 31   | 1,152,078          |                   |                  |       |                    |
| 1957                      | 32   | 1,426,853          |                   |                  |       |                    |
| 1958                      | 33   | 1,937,319          |                   |                  |       |                    |
| 1959                      | 34   | 1,875,773          |                   |                  |       |                    |
| 1960                      | 35   | 2,168,738          |                   |                  |       |                    |
| 1961                      | 36   | 3,598,062          |                   |                  |       |                    |
| 1962                      | 37   | 4,100,960          |                   |                  |       |                    |
| 1963                      | 38   | 3,937,746          |                   |                  |       |                    |
| 1964                      | 39   | 5,250,023          |                   |                  |       |                    |
| 1965                      | 40   | 6,400,544          |                   |                  |       |                    |
| 1966                      | 41   | 8,613,198          |                   |                  |       |                    |
| 1967                      | 42   | 7,573,674          |                   |                  |       |                    |
| 1968                      | 43   | 6,377,451          |                   |                  |       |                    |

出典：大正9年から同11年の数値は、表Ⅱ-1及び表Ⅱ-2による。それ以外は、「家畜衛生統計」（農林省及び農林水産省）による。

注：昭和47年から平成12年までのワクチン接種頭数は、国家防疫によるものと自衛防疫によるものを合計した頭数である。

表Ⅱ-10 日本で開発された動物継代弱毒豚コレラ生ワクチン

## 豚コレラ家兎化弱毒生ワクチン

家兎化継代弱毒ウイルス : ROVAC株 (Koprowski, Baker : 1946)  
: SFA株 (Hudson : 1953)



家兎化継代 (200 ~ 400代 : NIAH)

## 豚コレラ山羊化弱毒生ワクチン

RC株 : 家兎化弱毒ウイルス (ROVAC株) ⇒ 家兎化継代 (NIAH)  
⇒ 山羊で150代継代 (NIAH)  
SC株 : ALD株 ⇒ 家兎化継代 (NIAH) ⇒ 山羊化継代 (NIAH)

CVV は使用開始後、年々製造量は急速に増加し、使用当初の約 37 万ドースから 15 年後の昭和 41 年 (1966) には年間約 860 万ドースが生産された (表Ⅱ-9)。CVV は 7 社と家畜衛生試験場で製造され、CVV の製造とその検定のために年間約 10,000 頭の豚が使用された。

## ④ 免疫血清の使用

日本でも不活化ワクチン開発以前の明治 43 年 (1910) には既に免疫血清の製造が行われていた。我が国では高度免疫血清は通常、緊急予防的に使用された。この場合は家兎化弱毒生ワクチンと異なり、不活化ワクチンの効力発現は接種後抗体が産生される 2 ~ 3 週間後なので、その間、高度免疫血清で豚コレラ発病を遅延させ、感染ウイルスの病原性を弱め症状を緩和させるなど、移行抗体と同様の作用を期待したものであった。しかし免疫血清の使用は最も多い年の昭和 6 年 (1931) でも約 3 万頭分程度と少なく、CVV 使用開始 3 年後の昭和 29 年 (1954) には、使用を中止した<sup>14)</sup> (表Ⅱ-9)。

## (2) 家兎化弱毒生ワクチン

我が国でも ROVAC や SFA 株の分与を受け、その効力と安全性について検討された。しかし接種豚に発熱、食欲不振などの豚コレラの症状、時には神経症状もみられ、このままワクチンとして使用した場合、ワクチン事故の発生が考えられ、実用化には至らなかった。しかし、より減毒した安全性の高いワクチンを作成するために、その後も弱毒化が進められた。笹原らは ROVAC をさらに家兎で 239 代、山羊で 163 代継代して弱毒株を作出した。この家兎・山羊化ワクチ

ンは実験室内での接種試験では良好な成績が得られ、野外試験が行われた。その結果、免疫効力は認められたが、十分な安全性が得られず、ワクチン化に至らなかった<sup>8)</sup>。また独自に強毒 ALD 株による家兎継代、山羊継代で弱毒化が進められたが、病原性の大きな低下は見られず（表Ⅱ-10）、日本で家兎化弱毒生ワクチンは実用化されなかった<sup>15), 16)</sup>。

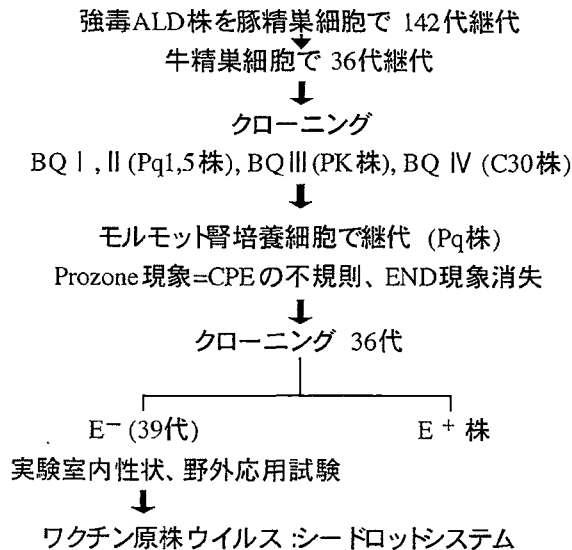
### （3）組織培養弱毒化生ワクチン

豚コレラウイルスが培養組織で良く増殖することは早くから知られ、1930 年代～1940 年代から既に多くの研究者によって試みられてきた。培養には豚の骨髄、脾臓、リンパ節、精巣、豚胎児腎臓などの培養組織や豚の白血球培養が用いられ、ウイルスの増殖には成功したが、低継代のせい、豚コレラウイルスの減毒・病原性の低下には至らなかった。

1960 年代に至り、各種組織培養での継代が進み、豚コレラウイルスの減毒や弱毒化に成功したと言う報告も見られるようになってきた。しかしこれら家兎化弱毒生ワクチンや組織培養弱毒生ワクチンは、安全性の点で必ずしも安定しておらず、同居感染や発病豚が見られたり、免疫血清との共同接種法が奨励される製剤が多く、安全性の高いワクチンと言えるものは見られなかった。

しかし、日本では組織培養細胞を用いた弱毒生ワクチンの開発は、1950 年代から組織的に活発に進められ、優れた多くの生ワクチンが実用化されてきた。ウイルスの弱毒化には主に豚と牛の精巣（ST: Swine testicle）や腎臓（SK: Swine kidney）の初代培養細胞、株化細胞や持続感染細胞が用いられてきたが、弱毒豚コレラ生ウイルスワクチン（GPE<sup>-</sup>株）にはモルモット腎臓培養細胞（GPK: Guinea pig kidney）が用いられた。日本では動物医薬品検査所の佐藤ら（1964）が開発した LOM 株<sup>17), 18)</sup>、日本生物科学研究所の鮫島ら（1968）が開発した NIBS 株<sup>19), 20)</sup>、家畜衛生試験場の熊谷ら（1969）が開発した GPE<sup>-</sup>株<sup>21), 22), 23), 24), 25)</sup> などである。LOM 株と NIBS 株は主に豚コレラウイルス持続感染細胞の継代法: CCVP 法（Continuous Cell-Virus Propagation Method）でウイルスの弱毒化を図り、この手法で弱毒化に成功している<sup>17), 18), 19), 20)</sup>。1950 年代までは豚コレラウイルスのウイルス学的・免疫学的定量法や定性法はなかったので、組織培養細胞でのウイルスの弱毒化や生ワクチンの開発は、世界的にほとんど試みられてこなかった。日本で組織培養生ワクチンの開発が始められたのは 1950 年代前半である。しかし、熊谷らによって END 法が開発される<sup>26)</sup> 昭和 33 年（1958）までは、豚コレラウイルスの試験管内での定量及び定性の手段が全くな

表Ⅱ-11 豚コレラ GP 生ワクチンの作出



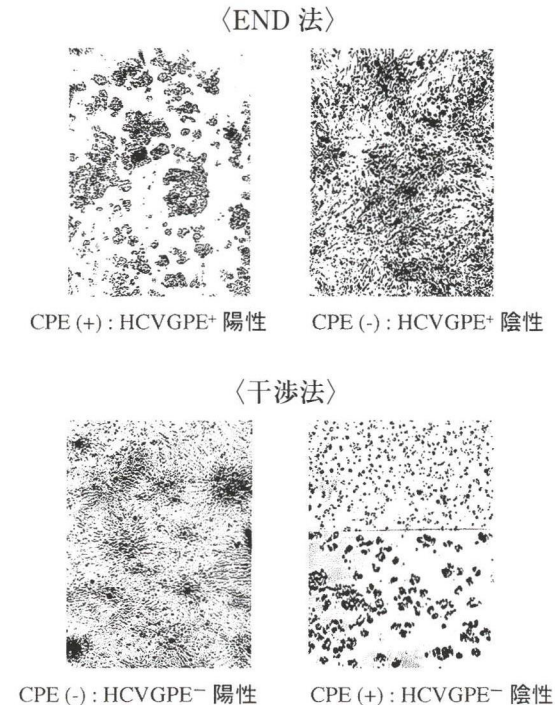
かったので、豚生コレラワクチンの安全性や効力は、家兎化弱毒生ワクチンや不活化ワクチンと同様に全て豚での接種試験や強毒ウイルスによる攻撃試験で判定してきた。しかし、END 法が開発された昭和 38 年（1963）以降、豚コレラウイルスと中和抗体の定量法が確立し、生ワクチンの開発は急速に進展した。

LOM 株、NIBS 株、GPE<sup>-</sup>株の作出過程の概要は次のようである。

① LOM 株：LOM 株は動物医薬品検査所の佐藤卯三郎、西村豊、花木琢磨、信藤謙藏氏らによって開発された。先ず豚コレラウイルス宮城株を豚腎培養細胞で 45 代継代し、それを感染させた豚腎培養細胞を 310 日間持続継代（持続感染細胞として）し、更に感染させた牛腎培養細胞を 159 日間持続継代（持続感染細胞として）で弱毒 LOM 株を作出した<sup>17), 18), 27)</sup>（表Ⅱ-7）。

② NIBS 株：NIBS 株は日本生物科学研究所の鮫島都郷、川窪淳、桑原博義、倉田功、林昇氏らによって開発された。豚コレラウイルスの強毒株を家兎で 500 代以上継代した豚コレラ家兎化ウイルス（SFA 株）を感染させた豚腎株化細胞（PS 細胞）で 325 日間持続継代（持続感染細胞として）した後、クローニングで得たクローン PSC<sub>1</sub> を更に感染させた豚腎株化細胞で 506 日まで持続継代（持続感染細胞として）した後クローン PSC<sub>2</sub> 株を得、555 日まで持続継代（持続感染細胞として）を続けてワクチン株（PSC<sub>2</sub> 株）を作出した<sup>19), 20), 27)</sup>（表Ⅱ-7）。

③ GPE<sup>-</sup>株：GPE<sup>-</sup>株は家畜衛生試験場の熊谷哲夫、清水悠紀臣、古内進、林重



図Ⅱ-6 豚コレラウイルスの性状と検出法

美、清水実嗣、笹原二郎氏らによって開発された（表Ⅱ-7、表Ⅱ-11）。

この他にも、北里研究所の伊沢久夫、松本邦人、佐川茂蔵、岩淵秀夫、添川正夫氏は、豚腎株化細胞や牛腎培養細胞で持続感染細胞として持続継代し、豚コレラウイルスの弱毒株の作出に成功した<sup>28), 29)</sup>。

### 3) 弱毒豚コレラ生ウイルスワクチン（GPE<sup>-</sup>株）の開発

#### （1）弱毒豚コレラ生ウイルスワクチン（GPE<sup>-</sup>株）の作出過程

表Ⅱ-11 に示したように、強毒ウイルスの ALD 株を先ず豚の精巢培養細胞（ST 細胞）で 142 代継代し、END 法による限界希釈法でクローニングし、そのクローン（S 株）を牛の精巢培養細胞（BT 細胞）で 36 代継代した後、同様にクローニングし、クローン（B 株）を得た<sup>30), 31)</sup>。この B 株を 3 通りの方法で

表Ⅱ-12 豚コレラ GP 生ワクチンの安全性

1. 接種豚にほとんど病原性を示さない
2. 接種豚は臨床症状を全く示さない
3. 接種豚は白血球減少を示さない
4. 幼齢豚以外ではウイルス血症を示さない
5. 接種豚から感受性豚への同居感染は起こらない
6. 接種豚から接触・水平感染は起こらない
7. 接種妊娠豚で垂直（胎児）感染は起こらない
8. ウイルスの病原性復帰は起こらない
9. 1969 年～2000 年までの 31 年間で、約 4 億頭の豚に使用したが、接種事故やクレームは全くない
10. GP 生ワクチン（GPE<sup>-</sup>株）は安全性の指標である 3 つのマーカー：E、G、T マーカーを持っている

表Ⅱ-13 豚コレラ GP 生ワクチンの免疫効果と免疫の持続性

1. GP 生ワクチン： $10^{3.0}$ TCID<sub>50</sub> / ml 接種 3 日後から強毒ウイルスの攻撃に耐過・生存する
2. 中和抗体はワクチン接種後 10 ～ 14 日後に産生する
3. 感受性豚では、1 回の接種で中和抗体は 2 年以上持続する
4. ワクチンのテーク率は、ワクチン接種時の移行抗体価に左右される
5. ワクチン接種時：64 倍の移行抗体以下の豚はワクチンをテークする

更に弱毒化を進めた。一つは B 株ウイルスを 30℃ で培養継代した C 30 株、二つ目は豚腎株化細胞による持続感染系の Pg 株である。三つ目は B 株をさらにモルモット腎培養細胞（GPK 細胞）で継代し弱毒化を進めたもので、この系から GPE<sup>-</sup>株が作出された。B 株を GPK 細胞で継代を進めたところ、20 代後半から END 法で CPE の出現が不規則（Prozone 現象）となり、ついに END 法で全く検出できなくなった。しかし、この継代した溶液を接種した豚では強固な免疫が獲得されたこと、及びこの溶液の低希釈液を接種した豚の ST 細胞で、END 法で攻撃に用いたニューカッスル病ウイルス（NDV）の CPE が強く抑制される現象が見られた。これは B 株を GPK 細胞で継代したことにより、ワクチンウイルスが END 法で攻撃に用いた NDV の増殖を増強し得ないウイルスに変異したのではないかと考えられた。そこで他のウイルスの干渉を受けやすい西部馬脳炎（WEE）ウイルスを用いて、その現象を解析した。その結果、これは END 法で

検出できる従来の（END 法陽性：E<sup>+</sup>ウイルス）から、END 法で検出できない変異ウイルス（END 法陰性：E<sup>-</sup>ウイルス）が出現、増殖してきたことが明らかとなった（図Ⅱ-6）。このE<sup>-</sup>ウイルスは干渉を受ける WEE ウイルスを用いた干渉作用で検出・定量できることが確認され（図Ⅱ-6）、GPK 細胞で35代継代したB株から干渉作用でST細胞におけるNDVのCPEを完全に阻止するクローン（E<sup>-</sup>ウイルス）が分離（クローニング）された<sup>31), 32)</sup>。またEND法で、同様にこのB株をクローニングし、ST細胞でNDVのCPEを増強するクローン（E<sup>+</sup>ウイルス）がクローニングされた（図Ⅱ-6, 表Ⅱ-11）。

このE<sup>-</sup>ウイルスとE<sup>+</sup>ウイルスのST細胞における量差が $10^{20}$  TCID<sub>50</sub>/ml以上ある場合、E<sup>-</sup>、E<sup>+</sup>いずれかの形質のみが発現された。すなわちE<sup>+</sup>ウイルスが $10^{20}$  TCID<sub>50</sub>/ml以上多い場合は、END効果が規則的に認められ、E<sup>-</sup>ウイルスが $10^{20}$  TCID<sub>50</sub>/ml以上多い場合はEND効果が阻止され、両ウイルス量がほぼ同じ場合はProzone現象として発現し、この現象が人為的に作出可能であることが確認された。

このE<sup>-</sup>ウイルスとE<sup>+</sup>ウイルスの安全性を比較した結果、E<sup>-</sup>ウイルスはE<sup>+</sup>ウイルスよりさらに安全性の高いことが実験室内及び野外試験で確認され、E<sup>-</sup>ウイルスを豚コレラGP生ウイルスワクチンの原株（GPE<sup>-</sup>株）とした<sup>3), 8)</sup>（表Ⅱ-12、表Ⅱ-13）。

豚コレラウイルスの継代弱毒化は、農林省家畜衛生試験場の熊谷らによって昭和31年（1956）から開始されたが、作出には3回のクローニングも加えて220代以上の継代を要し、昭和40年（1965）にGPE<sup>-</sup>株を作出した。その後各種の*in vitro*及び*in vivo*試験、野外応用試験、ワクチンウイルスとしての増殖試験、安定性試験や各種試験、製造法の検討、シードロットシステムによるワクチンウイルス原株の製造及び供給法などが検討され、昭和44年（1969）の実用化までに14年以上の年月を要した。

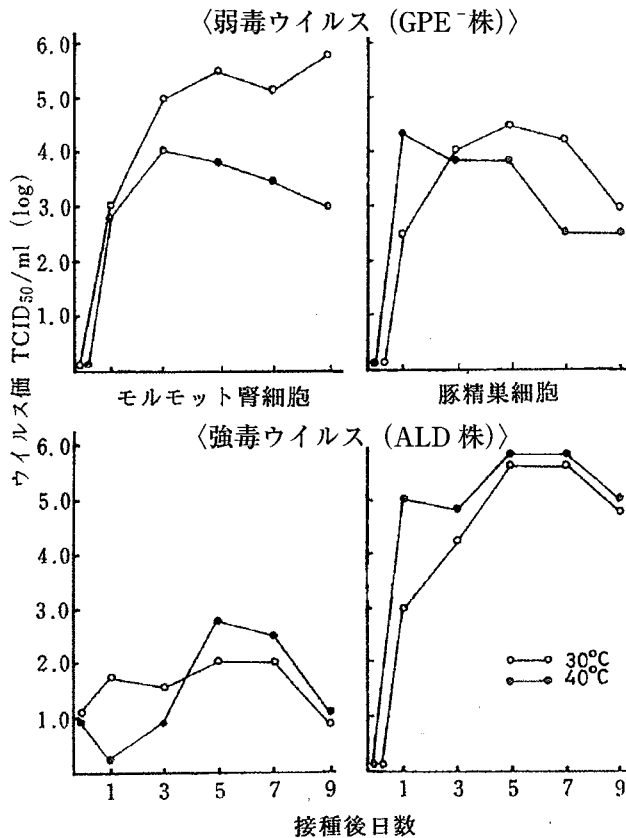
## （2）GP生ワクチンの安全性

豚コレラGP生ウイルスワクチン（GPE<sup>-</sup>株：以下GP生ワクチン）に見られた臨床及びウイルスとしての安全性は、初乳を与えた生後1日齢の豚でも接種豚では臨床症状を全く示さないこと、新生豚以外ではウイルス血症を示さないこと、同居感染など水平感染も起こさないことであった。また野外試験で多くの妊娠豚に接種したが胎児への垂直感染も起こさなかった。生ウイルスワクチンで最も心配されることは、病原性の復帰（Back mutation）である。そこでGP生ワ

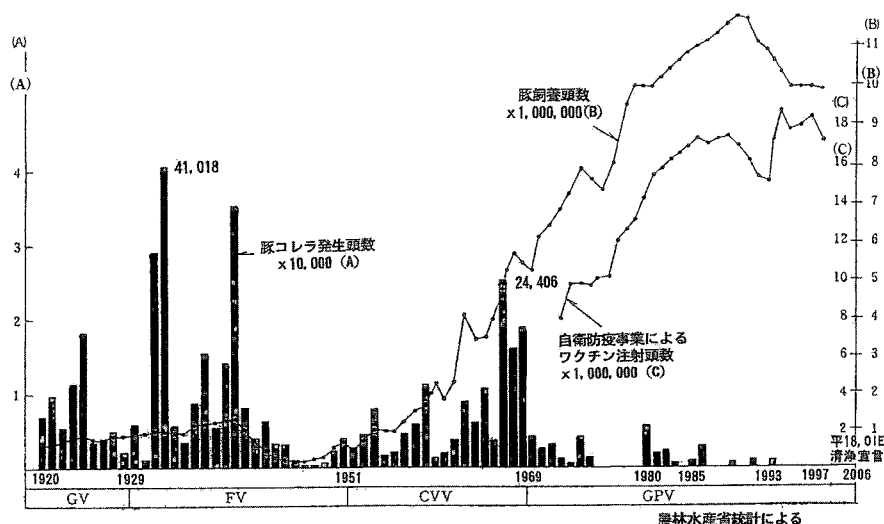
クチンを豚で10代継代して病原性の復帰を調べたが、病原性の復帰・増強はほとんど見られず、その安全性が立証された<sup>33)</sup>(表Ⅱ-12)。

さらに GP 生ワクチンは、他の株や強毒ウイルスと区別できる安全性の指標となる次のような三つの遺伝的指標 (E, G, T マーカー) を持っていることであった。

- ① E (END) マーカー：強毒ウイルスが NDV の重感染を増強する作用 (END 効果陽性 = END positive: E<sup>+</sup>) を有するのに対し、GPE<sup>-</sup>株は逆に NDV の重感染を全く阻止する干渉作用 (END 効果陰性 = END negative: E<sup>-</sup>) を有し、強毒ウイルスと区別できる性状をもつこと (図Ⅱ-6)。
- ② G (Growth) マーカー：GPE<sup>-</sup>株はモルモット腎細胞 (GPK 細胞) で馴化継代して作出したので、ワクチン株は ST 細胞より GPK 細胞で良く増殖するのに



図Ⅱ-7 30℃及び40℃におけるモルモット腎及び豚精巣細胞での豚コレラウイルス弱毒 GPE<sup>-</sup>株と強毒 ALD 株の増殖能



図Ⅱ-8 豚コレラの発生と GP 生ワクチン使用量の推移

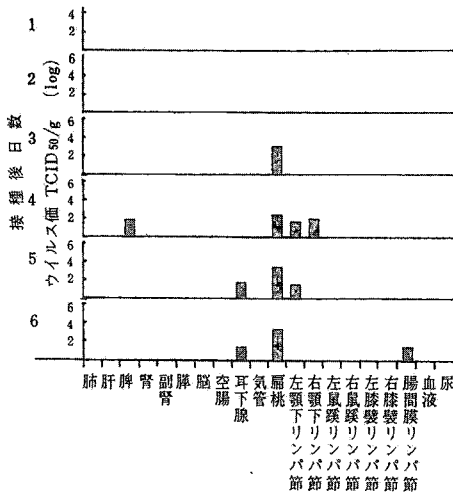
反し、強毒ウイルスの GPK 細胞での増殖能は極めて低いこと（図Ⅱ-7）。

③ T（Temperature）マーカー：GPE<sup>-</sup>株は 30℃ の低温で馴化継代した温度感受性株なので、GPK の 30℃ で良く増殖する。しかし強毒ウイルスは豚由来の細胞では、30℃～40℃ と培養温度に関係なく増殖するが、GPK 細胞の 30℃ での増殖能は極めて低いこと（図Ⅱ-7）、の三つである。G マーカーの基準としては、GPK 細胞で GP 生ワクチンウイルスと強毒ウイルスの 30℃ での増殖性を比較した場合、GP 生ワクチンのウイルス価は強毒ウイルスより  $10^{20}$  TCID<sub>50</sub>/ml 以上高いこと、T マーカーとしての基準としては、GP 生ワクチンウイルスの GPK 細胞と ST 細胞での増殖性は 30℃ のほうが 40℃ より良いこと（図Ⅱ-7）、と規定されており、その安全性は極めて高かった<sup>31)</sup>。

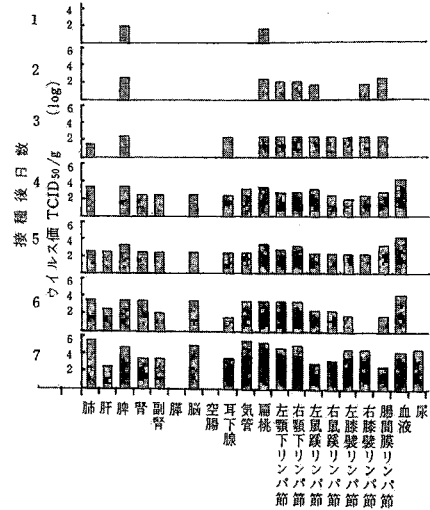
また生 GP ワクチンは、実用化された昭和 44 年からワクチンの接種が中止された平成 12 年（2000）までの 32 年間に、年平均 1,300 万ドース、昭和 60 年（1985）から昭和 63 年（1998）には約 1,700 万ドース以上が使用され、その間、合計約 4 億 1 千 6 百万ドース以上の GP 生ワクチンが使用されてきたが（表Ⅱ-9、図Ⅱ-8）、接種事故や安全性に関するクレームは全くなかった。

### （3）GP 生ワクチンの効力

GP 生ワクチンの免疫効果は、接種後ワクチンウイルスの体内での増殖能、中



図Ⅱ-9 弱毒豚コレラウイルス (GPE<sup>-</sup>株) を接種した豚の体内でのウイルス増殖



図Ⅱ-10 強毒豚コレラウイルス (ALD株) を接種した豚の体内でのウイルス増殖

和抗体の産生と持続性、ワクチン接種時の移行抗体価に左右される (表Ⅱ-13)。

GP 生ワクチン接種豚では、ワクチンウイルスは接種3日後から扁桃及び2～3の体表リンパ節等に局限して増殖・検出される (図Ⅱ-9)。一方、強毒ウイルスは接種1日後から扁桃、脾臓で、2日目には扁桃、脾臓のほか体表リンパ節でも増殖し、3日目からはほとんどの造血組織や臓器で増殖・検出されている<sup>31)</sup> (図Ⅱ-9)。GP 生ワクチン接種豚を接種後、毎日、強毒ウイルスで攻撃すると、ワクチン接種3日後から強毒ウイルスの攻撃に耐過生残している (図Ⅱ-11、表Ⅱ-13)。これは、GP 生ワクチンウイルスが生体内で増殖する組織の限局性、増殖スピードと強毒ウイルスの増殖スピード、増殖能と良く一致しており (図Ⅱ-9、図Ⅱ-10)、GP 生ワクチンウイルスが接種3日後に扁桃で増殖していることと良く一致する。弱毒ウイルス、強毒ウイルスにとって、共に扁桃が最も親和性が高く、豚コレラの初期感染防御能を司る重要な組織であることが理解できる。

GP 生ワクチンを  $10^{3.0}$  TCID<sub>50</sub>/ml 以上接種した感受性豚では、多くは中和抗体が接種10日後までに産生され、1回のワクチン接種で中和抗体価は2年以上持続する (図Ⅱ-12)。

生ワクチンは移行抗体の影響を受けるが、接種時に移行抗体価が4倍以下の豚では、ワクチンテークに移行抗体の影響はほとんど見られない。8倍～16倍の

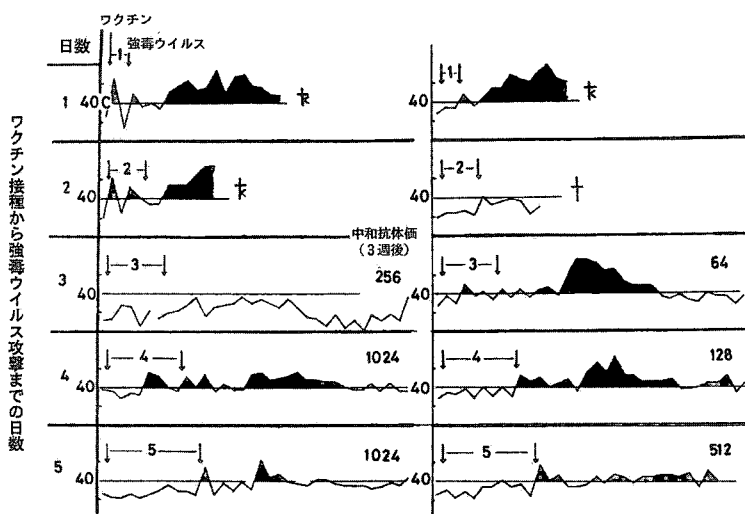


図 II-11 豚コレラ GP 生ワクチンによる感染防御のスピード

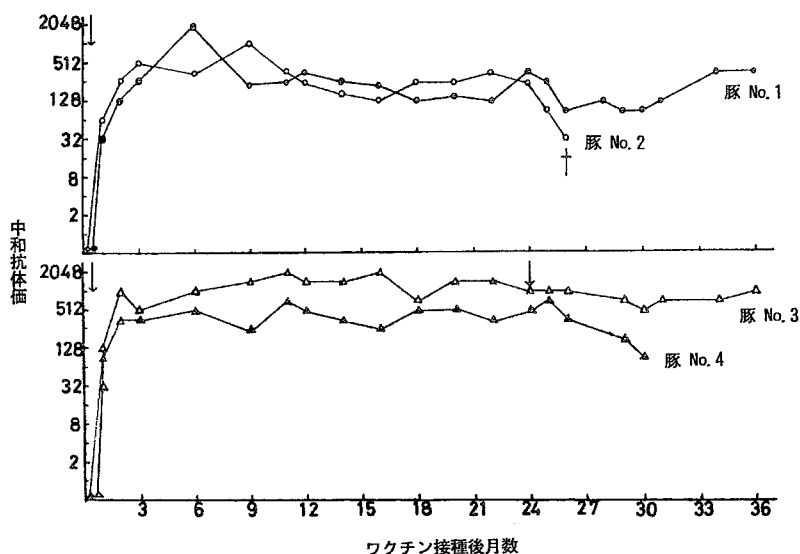
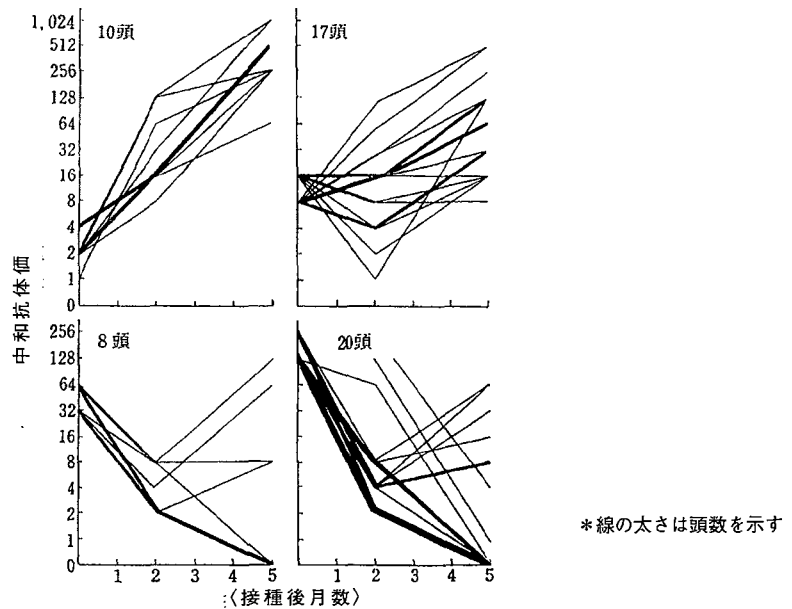


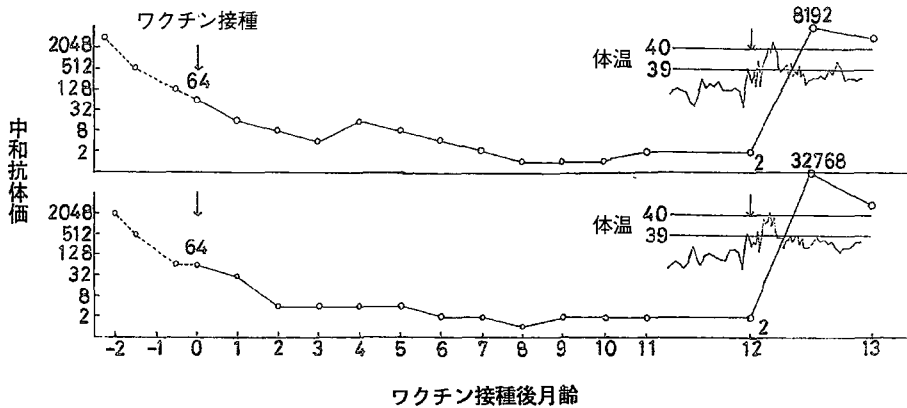
図 II-12 豚コレラ GP 生ワクチン接種豚の中和抗体の推移

移行抗体価では接種後、抗体価は一過性に低下する豚もあるが、全てワクチンをテークしている。32 倍～64 倍の豚では接種後抗体価は低下し、半数はワクチンをテークしていない。128 倍以上の豚では、約 2/3 がワクチンをテーク出来ない (図 II-13)。

しかし 1969 年に、全国 33 都府県で実施した野外応用試験で、生後 20 日齢以



図II-13 GP生ワクチン接種時における移行抗体価とワクチンテークとの関係



図II-14 GP生ワクチン接種時の移行抗体価がワクチン接種後の抗体推移に及ぼす影響と強毒攻撃後の反応

上の875頭についてGP生ワクチン接種時の移行抗体価とワクチンのテーク率を調査した結果では、ワクチン接種時の移行抗体価が128倍以下の豚では、96%

表Ⅱ-14 豚コレラ GP 生ワクチン接種時の移行抗体価とワクチンのテーク率の関係

|       | 移行抗体価 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |       |       |       | 頭数 (%)      |
|-------|-------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|-------|-------|-------------|
|       | 0     | 1   | 2   | 4   | 8   | 16  | 32  | 64  | 128 | 256 | 512 | 1,024 | 2,048 | 4,096 |             |
| 2,048 | 5     |     |     | 1   |     | 1   |     |     | 2   |     |     |       |       |       | 7 (0.8)     |
| 1,024 | 9     | 4   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |       |       |       | 13 (1.5)    |
| 512   | 59    | 9   | 10  | 7   | 2   | 1   | 1   |     |     |     | 1   |       |       |       | 90 (10.3)   |
| 256   | 69    | 11  | 19  | 9   | 11  | 7   | 1   | 6   | 1   | 1   | 1   |       |       |       | 136 (15.5)  |
| 128   | 69    | 11  | 14  | 14  | 12  | 7   | 4   | 2   | 2   |     |     |       |       |       | 135 (15.4)  |
| 64    | 48    | 14  | 20  | 13  | 15  | 6   | 6   | 11  | 2   |     | 1   |       |       |       | 136 (15.5)  |
| 32    | 16    | 9   | 17  | 14  | 18  | 10  | 7   | 6   | 1   |     | 1   |       |       |       | 99 (11.3)   |
| 16    | 20    | 6   | 8   | 17  | 13  | 8   | 9   | 11  | 1   | 2   | 1   |       |       |       | 96 (11.0)   |
| 8     | 15    | 5   | 9   | 23  | 11  | 13  | 5   | 6   | 6   | 1   |     | (1)   |       |       | 95 (10.9)   |
| 4     | 4     | 3   | 3   | 7   | 2   | 4   | 2   | 4   | 2   |     | (1) |       |       |       | 32 (3.6)    |
| 2     | 3     | 1   |     |     | 1   | 1   |     | 3   | 6   |     | (1) | (2)   |       |       | 18 (2.1)    |
| 1     |       |     |     | 2   |     |     |     | (1) | (1) | (1) |     |       | (1)   |       | 6 (0.7)     |
| 0     | (4)   | (1) |     |     | (2) | (2) | (1) |     |     |     | (1) |       |       | (1)   | 12 (1.4)    |
| 頭数    | 312   | 74  | 100 | 107 | 87  | 60  | 36  | 50  | 22  | 5   | 8   | 3     | 1     | 1     | 875 (100.0) |
| テーク率  | 98    | 99  | 100 | 100 | 98  | 97  | 97  | 100 | 96  | 80  | 63  | 0     | 0     | 0     | 98          |

\* ( ) 内の数字は、移行抗体の半数日後から勘案してワクチンをテークしなかったと考えられる頭数を示す

以上の豚がワクチンをテークしていた<sup>22)</sup> (表Ⅱ-14)。このように実際的には、移行抗体価が16倍～128倍の豚では高率にワクチンをテークすると考えられる。またワクチン接種時に16倍の移行抗体価を保有する豚でも、ワクチン抗体は低いながら長期間持続し、ワクチン接種1年後に強毒ウイルスで攻撃しても一過性の熱反応を示すが、臨床症状は全く示さないほどの免疫効果を示している<sup>31)</sup> (図Ⅱ-14)。

GP生ワクチンは、その速効性によって豚コレラ発生時のまん延防止にも高い効果が期待され、1967年度には青森、和歌山、群馬、新潟各県の発生養豚場で34,972頭について、GP生ワクチンによるまん延防止効果を調べた。その結果、ワクチン最終接種日から11日～29日(平均:20.4日)で豚コレラが終息しており、発生頭数2,499頭中、ワクチン接種後に発生した頭数は831頭(約33%)であった。これらは、ワクチン接種時に既に感染していた豚及びワクチン接種後、ワクチン効果が発現するまでに感染した豚が潜伏感染を経て発病したものと考えられ、その数は約33%であると言える<sup>34)</sup> (表Ⅱ-15)。この事実は、豚コレラが発生した場合、豚コレラの浸潤度合いにもよるが、GP生ワクチンを迅速に徹底して接種することにより、3～4週間で豚コレラを終息させ得ること

表Ⅱ-15 豚コレラ GP 生ワクチンのまん延防止効果 (1967 年)

| 県名  | 豚コレラ     |          | 生ワクチン  |                  | 生ワクチン接種後 |                |
|-----|----------|----------|--------|------------------|----------|----------------|
|     | 発生<br>月日 | 発生<br>頭数 | 接種頭数   | 試用期間<br>(日数)     | 発生<br>頭数 | 発生終息<br>月日( )* |
| 青森  | 07.31    | 691      | 9,157  | 08.04～09.20 (48) | 188      | 10.17 (28)     |
| 青森  | 08.30    | 98       | 641    | 08.31～09.11 (12) | 23       | 09.31 (20)     |
| 和歌山 | 08.18    | 573      | 11,600 | 08.16～08.18 (03) | 277      | 09.15 (29)     |
| 群馬  | 08.18    | 280      | 7,856  | 08.26～09.01 (07) | 98       | 09.11 (11)     |
| 新潟  | 11.27    | 857      | 5,718  | 12.10～12.14 (05) | 245      | 12.27 (14)     |
| 計   |          | 2,499    | 34,972 |                  | 831      | 平均 (20.4)      |

\*：生ワクチン最終接種日からの日数

表Ⅱ-16 日本で開発された弱毒豚コレラ GP 生ワクチンの野外応用試験 (豚コレラ生ワクチン研究協議会)

| 試験        | 接種頭数 |     |       |       | 死亡頭数 |    |     |          |
|-----------|------|-----|-------|-------|------|----|-----|----------|
|           | I    | II  | III   | 計     | I    | II | III | 計        |
| Pq, GPE株  | 170  | 111 | 1,384 | 1,665 | 4    | 3  | 7   | 14       |
| L O M 株   | 168  | —   | 1,394 | 1,561 | 3    |    | 2   | 5        |
| N I B S 株 | 169  | —   | 1,348 | 1,517 | 0    |    | 3   | 3        |
|           | 507  | 111 | 4,126 | 4,744 | 7    | 3  | 12  | 22(0.46) |
| CVV不活化    | 169  | 100 | 1,347 | 1,616 | 4    | 2  | 0   | 6(0.33)  |

豚：生後約2ヵ月齢

実施地：栃木、千葉、東京、神奈川、山梨、滋賀、長崎

を示している。

豚コレラが発生した場合、GP 生ワクチンと厳密な殺処分方式を併用することにより、まん延防止効果はより高くなり、終息までの日数も短くなるので、将来、万が一豚コレラが再発生した場合、早期に発生地と広範囲に渡るリングワクチネーションと、徹底的な摘発・淘汰を行うことにより、豚コレラを短期間に終息させることが可能であることを示している。

表Ⅱ-17 日本で開発された弱毒豚コレラ生ウイルスワクチンの病原性

| ウイルス株              | 発熱の有無 | 白血球減少の程度 | 血中ウイルス出現の有無 | 同居感染の有無 |
|--------------------|-------|----------|-------------|---------|
| 家兎化 (R, S株)        | あり    | 強い       | 出現する        | あり      |
| 山羊化 (SC株)          | あり    | 強い       | 出現する        | あり      |
| LOM株               | なし    | なし～軽い    | まれに出現       | なし      |
| NIBS株              | なし    | なし～軽い    | まれに出現       | なし      |
| Pq株                | なし    | なし～軽い    | まれに出現       | なし      |
| GPE <sup>-</sup> 株 | なし    | なし～極軽い   | 殆ど出現なし      | なし      |

#### (4) GP 生ワクチンの野外応用試験

GPE<sup>-</sup>株が作出された昭和40年(1965)からGP生ワクチン実用化前年の昭和43年(1968)まで、LOM株、NIBS株を含め、都府県の協力で関東地域や多くの県で野外試験が実施された。

(1) 先ず豚コレラの発生防止を目的に、昭和41年(1966)には栃木、埼玉、茨城の各県で、計769頭について野外試験が行われ、昭和42年(1967)には青森、茨城、大分各県で計47,568頭について行われた。両年度の合計で、野外試験での事故率は0.07%と、昭和39年(1964)度から野外試験で対照として用いたCVV接種豚の事故率0.66%に比較して低く、その安全性も立証された<sup>31)</sup>。

(2) 昭和43年には、豚コレラ生ワクチン研究協議会が設立され、LOM株、NIBS株、Pq株(モルモット腎培養細胞継代株)、GPE<sup>-</sup>株について、の野外試験が栃木、千葉、東京、神奈川、山梨、滋賀、長崎の各県で、2ヵ月間に渡り実施された(表Ⅱ-16)。その結果、LOM株、NIBS株、Pq株、3株の優劣のない安全性と効力が実証され、その中でGPE<sup>-</sup>株が最も安全性の高いことが確認された<sup>27)</sup>(表Ⅱ-16、表Ⅱ-17)。

(3) GP生ワクチンの選択：豚コレラの防疫上、ワクチンの使用は一種類が望ましく、これまでの野外試験の結果と、次のような理由から、日本で使用する豚コレラ生ワクチンとして、最終的にGP生ワクチンが選択された。

- ① GP生ワクチンは製造用の培養細胞として豚由来の細胞を使用していないこと、
- ② 実験室内、野外応用試験の結果、最も安全性の高いことが証明されたこと、
- ③ ワクチンウイルスとして強毒株と識別できる三つの遺伝的指標(マーカー)を

表Ⅱ-18 豚コレラ GP 生ワクチンの野外応用試験参加機関と参加者一覧

| 参加機関と参加者一覧                 |                                                                                                                          |                                                  | おもな分担実施項目 |                                    |
|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------|------------------------------------|
| 農<br>林<br>省                | 家畜衛生試験場                                                                                                                  | 笹原二郎、熊谷哲夫<br>清水悠紀臣、古内進                           | }         | 会議運営、予防液製造、現地指導<br>抗体調査、集計         |
|                            | 畜産局衛生課                                                                                                                   | 信藤謙蔵、緒方宗雄、岡崎和夫<br>今井正夫、長友士郎                      |           | 全体計画、会議運営、現地指導                     |
|                            | 動物医薬品検査所                                                                                                                 | 佐藤卯三郎、沢田実<br>西村豊、花木琢磨                            |           | 予防液検定、現地指導                         |
| 実<br>施<br>都<br>道<br>府<br>県 | 青森、岩手、宮城、秋田、山形、福島、<br>茨城、栃木、群馬、埼玉、東京、神奈川、<br>新潟、富山、石川、長野、岐阜、静岡、<br>愛知、三重、大阪、兵庫、和歌山、鳥取、<br>岡山、広島、香川、愛媛、福岡、長崎、<br>熊本、大分、宮崎 | 畜産課<br>家畜保健衛生所<br>市町村農協<br>管轄開業獣医師               | }         | 全体計画<br>予防液接種<br>現地調査（カード記入）<br>採血 |
| 民<br>間<br>研<br>究<br>所      | 化学及血清療法研究所<br>日本生物科学研究所<br>北 里 研 究 所                                                                                     | 市原強、江藤正信、種子野啓、<br>林昇、川窪淳、鯨島都郷、<br>添川正夫、伊沢久夫、松本邦人 |           | 予防液製造<br>現地指導<br>抗体調査              |

表Ⅱ-19 豚コレラ GP 生ワクチンの野外応用試験 1969 年 9 月～12 月  
(豚コレラ生ワクチン研究協議会)

| 野外試験実施規模 |         |       |         |
|----------|---------|-------|---------|
| 都道府県数    | 33      |       |         |
| 家畜保健所数   | 91      |       |         |
| 市町村数     | 366     |       |         |
| 実施養豚場数   | 26,118  |       |         |
| 実施頭数     | 332,332 |       |         |
|          | ワクチン群   | 対照群   | 総数      |
| 一般観察     | 320,124 |       | 320,124 |
| (中和試験)   | (1,145) |       |         |
| 安全試験     |         |       |         |
| 妊娠豚      | 749     | 103   | 852     |
| 同腹子豚比較試験 | 5,968   | 5,388 | 11,356  |
| 合計       | 326,841 | 5,491 | 332,332 |

持っていること、④ GP 生ワクチンの安全・安定的製造システムを保証するシードロットシステムの採用により、長期間、ワクチンウイルスの安定性・安全性が確保されていること、⑤大量生産が安定的に可能な製造システムとなっている、などである。

(4) GP 生ワクチンの原種ウイルスについての野外試験：1969 年度から実用化される GP 生ワクチンの製造に用いる原種ウイルス（シードロット）について、安全性と効力を確認するために野外試験が行われた。原種ウイルスとして約 8,000ml のウイルス液を家畜衛生試験場が作製し、約 5,000ml を家畜衛生試験場、

表Ⅱ-20 豚コレラ GP 生ワクチンの野外応用試験

| 妊娠豚および娩出子豚における安全試験 |               |               |        |
|--------------------|---------------|---------------|--------|
|                    | 接種群           | 対照群           | 計      |
| 妊娠豚                | 749           | 103           | 852    |
| 娩出子豚               | 7,792 (10.4頭) | 1,137 (11.0頭) | 8,922  |
| 死産                 | 152 (1.95%)   | 28 (2.46%)    | 180    |
| 黒子                 | 102 (1.30%)   | 6 (0.53%)     | 108    |
| 生産子数               | 7,538         | 1,103         | 8,641  |
| 死亡                 | 68 (0.90%)    | 9 (0.91%)     | 77     |
| 異常                 | 141 (1.87%)   | 15 (1.36%)    | 156    |
| その他                | 75 (1.00%)    | 27 (2.45%)    | 102    |
| 圧死                 | 269 (3.57%)   | 62 (5.62%)    | 331    |
| 同腹子豚               | 5,968         | 5,388         | 11,356 |
| 異常頭数               | 331 (5.55%)   | 253 (4.50%)   | 584    |
| 死亡頭数               | 10 (0.17%)    | 9 (0.18%)     | 19     |

化学及び血清療法研究所、日本生物科学研究所、北里研究所が凍結乾燥して試作ワクチン約 39 万ドースを作製し、野外試験に用いた。残り約 3,000ml は 5 年間の原種ウイルス（シード）として使用することになっており、 $-80^{\circ}\text{C}$  で凍結保存された。

野外試験は昭和 43 年 9 月～12 月に実施された。野外試験には農林省の畜産局衛生課（現：消費・安全局動物衛生課）、家畜衛生試験場（現：動物衛生研究所）、動物医薬品検査所と民間の研究所である化学及び血清療法研究所、日本生物科学研究所、北里研究所が参画し、全国 33 都道府県の家畜保健衛生所、市町村の協力の下に（表Ⅱ-18）、全国規模で行われ、26,118 養豚場、332,332 頭で実施された<sup>22)</sup>（表Ⅱ-19）。

野外試験では主として GP 生ワクチン原種ウイルスの安全性と免疫効果として移行抗体価とワクチンのテーク率との関係が調査された。妊娠豚の安全試験では、ワクチン接種群と対照群を設け、生産子豚の産子数と異常産子数の割合、子豚の安全試験では同腹子豚をワクチン接種群と対照群に分け、生後の異常豚の発生率について比較試験が行われた。その結果、GP 生ワクチン原種ウイルスの安全性が実証された<sup>22)</sup>（表Ⅱ-20）。

表II-21 豚コレラ GP 生ワクチン：シードロットシステムの採用

1. シードロットシステムは同じ性状のワクチンを安定的に製造・提供する上で、重要である
2. シードロットシステムは、長期間、同じ継代歴・同じ性状の原種ウイルスを用いて、安定的な製造を可能とする
3. 豚コレラGPE<sup>™</sup>生ワクチン製造用原種ウイルスの半分を用い、安全性試験と効力試験をおこなう
4. 原種ウイルスが invitro、invivo の試験で、安全で効力のあることを証明する
5. シードウイルスは製造において、3代 $\leq$ 継代しないことにしている
6. シードロットは8年間の製造に供給できるシードウイルスを確保している

### (5) GP 生ワクチンの安全性とシードロットシステムの採用

ワクチンウイルスは、製造環境（ウイルスの継代歴、使用細胞、培養条件など）によって常に変異する可能性を有している。そのため、検定によって安全性と効力が厳しく検査されており、動物用ワクチンも国が定めた製造基準で製造され、国の定めた検定基準で自家検定と国家検定を受けることになっている。GP 生ワクチンが開発された当時から、製造の材料から製造の全行程までを点検管理して、ワクチンについて一定の品質を確保するという考え方で、GP 生ワクチンについても製造用種ウイルスとワクチン両方について国家検定基準があった。しかし、検定量は製造量から比較すると極微量であり、検定では外来ウイルスの迷入防止に重点がおかれてきた。

GP 生ワクチンについては、ポリオ生ウイルスワクチンをモデルとして開発を進めてきたが、GP 生ワクチンの弱毒化は、ポリオ生ワクチンのような質的 (qualitative) 変異と異なり、量的 (quantitative) な変異なので、常にワクチンの安全性を維持する製造上の技術的な管理とその安全性の指標は重要である。そこで、GP 生ワクチンの製造や検定では、ワクチン株の変異を技術的に可能な限り防止するために、迷入ウイルスの否定試験やワクチンウイルスの安全性マーカーのチェックの他に、シードロットシステムの導入が必要と考え<sup>31), 35), 36)</sup>、大量のワクチン原種についての安全性と原種ウイルスの長期的な安定性確保のために、動物用ワクチンとして世界で初めてシードロットシステムが採用された<sup>31), 35)</sup> (表II-21)。

シードロットとは、種ウイルスのロットを意味し、同一・均一な種ウイルスロットとしてワクチンウイルスの原種を作製し、実験室内と野外試験で、その安全性と効力を確認するものである。シードロットシステム採用の意義は、ワクチンが同じ原種ウイルスを用いて、同じ品質のワクチンを製造し続けることを可能

表Ⅱ-22 繁殖豚における GP 生ワクチンの接種回数と中和抗体価

|       | ワクチンの接種回数 |     |     |     |     |     |     |
|-------|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|       | 1         | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   |
| 使用頭数  | 02        | 34  | 31  | 09  | 04  | 02  | 03  |
| 中和抗体価 | 22        | 313 | 320 | 110 | 256 | 256 | 512 |

表Ⅱ-23 生後日齢と豚コレラの移行抗体価（生後 31 ～ 50 日齢）

| 調査年<br>調査地<br>移行抗体価 | 1971～1972年 |       | 1976～1977年 |       |
|---------------------|------------|-------|------------|-------|
|                     | 全国         |       | 神奈川・茨城・福島  |       |
|                     | 頭数         | %     | 頭数         | %     |
| <01                 | 171        | 17.4  | 136        | 27.4  |
| 01                  | 58         | 5.9   | 59         | 11.9  |
| 02                  | 55         | 5.6   | 75         | 15.1  |
| 04                  | 75         | 7.6   | 51         | 10.3  |
| 08                  | 124        | 12.6  | 79         | 15.9  |
| 16                  | 99         | 10.1  | 54         | 10.9  |
| 小計                  | 582        | 59.2  | 454        | 91.4  |
| 32                  | 233        | 23.7  | 14         | 2.8   |
| 64                  | 95         | 9.7   | 14         | 2.8   |
| 128                 | 46         | 4.7   | 7          | 1.4   |
| 256                 | 23         | 2.3   | 2          | 0.4   |
| 512                 | 4          | 0.4   | 4          | 0.8   |
| 1,024               | 1          | 0.1   | 2          | 0.4   |
| 小計                  | 402        | 40.9  | 43         | 8.7   |
| 合計                  | 984        | 100.0 | 497        | 100.0 |

にしているところにある。GP 生ワクチンの製造については、動物医薬品協会所属の 7 所社が行ってきたが、32 年にわたり、このシードロットシステムを遵守し、同じ原種ウイルスを用い、同じ品質のワクチンを製造・提供してきた。

このほか GP 生ワクチンの安全性のマーカー（指標）は、ワクチンウイルスと強毒ウイルスの区別を可能とする指標であり、ワクチンウイルスに特有で強毒ウイルスにない性質でなければならない。E、G、T、三つのマーカーは GP 生ワクチン特有の遺伝的指標であり、GPE<sup>-</sup>株が作出の過程で備えたものである<sup>35)</sup>。

また GP 生ワクチンの製造には SPF モルモットを使用しているが、モルモット腎培養細胞からモルモット由来のウイルスがワクチンに紛れ込む恐れは否定できない。そこで迷入ウイルス否定試験が採用された<sup>31), 35), 36)</sup>。

#### (6) GP 生ワクチン接種プログラムの設定

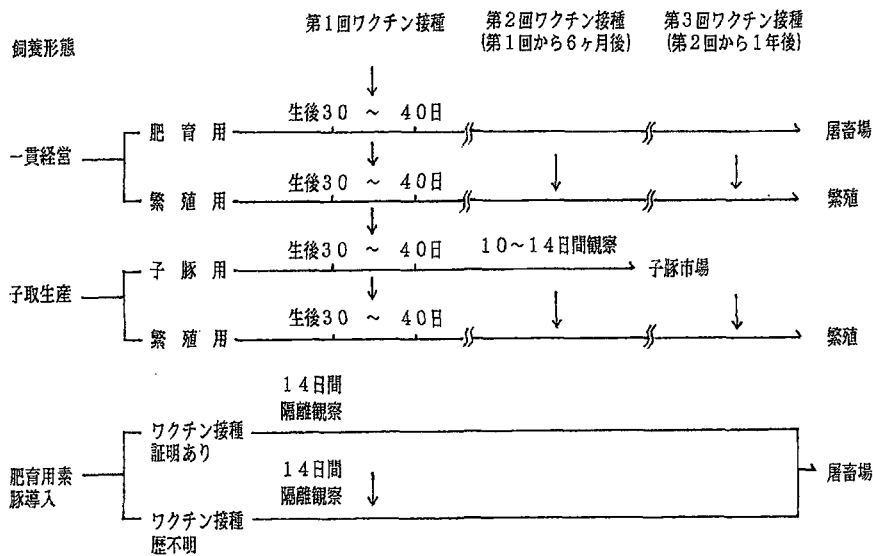
ワクチン接種による中和抗体の産生・持続性、移行抗体価の影響などについて数多くの調査結果を行い、GP 生ワクチンの接種プログラムが決められた。

GP 生ワクチン接種による中和抗体価はワクチンの接種回数でほとんど変動せず、接種歴が2回以上の繁殖母豚の中和抗体価は、いずれも 110 倍～ 512 倍で接種回数と中和抗体価の間に相関関係はなく、同一個体に対しては2～3回の接種でほぼ完全な免疫（終生免疫）を賦与できることが分かった（表Ⅱ-22）。そこで、ワクチン実用化後、早期に GP 生ワクチンの接種プログラムの設定が望まれた。

しかしワクチンのテーク率はワクチン接種時の移行抗体価に左右されるので、GP 生ワクチンの有効利用のため、CVV 不活化ワクチンから GP 生ワクチンに切り変わった当初の昭和 46 年～昭和 47 年（1972）にかけて、豚の日齢と移行抗体価との関係が調査された。その結果、子豚の移行抗体価は個体により大きく異なり、移行抗体価が 32 倍以上の豚が 40.9% と一般的に高い傾向が認められた（表Ⅱ-23）。この抗体価の大きな個体差は、ワクチンが CVV から生ワクチンに変更された当初の母豚の抗体価が、感染抗体、GP 生ワクチン接種による抗体、CVV 接種による抗体が、未だ混在しているためと判断された。そこで GP 生ワクチン使用の5年後の昭和 51～昭和 52 年（1977）に再度、移行抗体価を調査した。その結果、ワクチンによる免疫獲得（テーク）に全く影響を与えない移行抗体価（16 倍以下）の豚は 90% 以上おり（表Ⅱ-23）、その頭数は年によってほとんど変動していなかった。この移行抗体価の調査結果と移行抗体価の半減期（11 日～13 日）から、肥育豚に対する GP 生ワクチンの接種時期は生後 5～6 週（生後 35 日～42 日齢）、移行抗体価は 32 倍以下を理想とし、繁殖候補豚については、1 回目接種の 6 ヶ月後に 2 回目を接種するワクチネーションプログラムが設定された<sup>34)</sup>（図Ⅱ-15）。

#### 4) GP 生ワクチンの製造法

製造には SPF モルモットを用い、GP 生ワクチンはシードロットシステムによる原株ウイルスで製造を行っている。製造工程は大きく、原株ウイルス～製造用



図II-15 豚コレラ GP 生ワクチンの接種プログラム

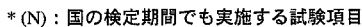
原種ウイルスの作製と検定、製造用原種ウイルス～バルクまでの製造と検定、バルク～凍結乾燥製品（最終製品）までの製造と検定、の三つに分けられる<sup>35), 36)</sup>（図II-16）。

ワクチンウイルスの培養にはGPK細胞が使用されている。腎臓細胞の消化酵素には、開発当初はトリプシンが使用されていたが、ロット間の品質性状が不安定なため、現在はディスパーゼが使用されている。細胞の消化は細切したモルモット腎の皮質細胞をディスパーゼ：500単位に溶解したイーグル溶液で、一晚6～8℃の低温度で行っており、細胞の増殖性は均一で向上した。

ワクチンは原種ウイルスをGPK細胞に接種後、30℃で振盪培養し、7日後に回収し種々の試験を行う。培養したGPK細胞の対照細胞の1%について迷入ウイルス否定試験を行っている。また製造の過程で原種ウイルスの段階、ワクチンウイルス（バルク）の段階、凍結乾燥した最終製品の段階で、迷入ウイルス否定試験が実施されている。ワクチンウイルス（バルク）についてはマーカー試験を行っている<sup>35), 36)</sup>（図II-16）。

GP生ワクチンの凍結乾燥製品には、ウイルスの安定剤としてポリビニルピロリドン（PVP）を最終濃度0.15%、乳糖（ラクトース）を5%に加えている。

検定は製造所が行う自家検定の後、国の機関が行う国家検定を受けることになっている<sup>35)</sup>。



表Ⅱ-24 豚コレラ GPE<sup>-</sup>生ワクチンの製造・検定・規定・基準等の変更

|            | 1969～2000年      | 2000年以降     |
|------------|-----------------|-------------|
| 原株ウイルス     | 動物衛生研究所 (1990年) | 動物用医薬品協会    |
| シードロットシステム | 採用              | 堅持          |
| 原種保存期限     | 5年              | 10年         |
| 製造所社数      | 8社              | 7社          |
| 製造量        | 1,500-1,800万ドース | 備蓄用：100万ドース |
| 検定：迷入否定    | —               | サーコウイルス     |
| 有効期間       | 1年⇒1年半          | 1年半⇒(2年)    |
| 海外輸出       | なし              | 数社          |
| 輸出規格       | —               | 製品、バルク      |

開発当初の昭和 44 年から使用中止の平成 12 年 (2000) までの期間に、製造上で大きく変わった事項は、原株ウイルスが動物衛生研究所から動物用医薬品協会に委譲されたこと、原種ウイルスの保存期間が 5 年から 10 年に延長されたこと、ワクチンの有効期間が 1 年から 1 年半 (現在、2 年間にに向けて試験が実施されている) に延びたこと、検定 (迷入ウイルス否定試験項目) にサーコウイルスが加えられたこと、などである (表Ⅱ-24)。

## 5) 豚コレラ生ワクチン接種の省力化と混合ワクチンの開発

豚コレラ生ワクチン GPE<sup>-</sup>株は、我が国の豚コレラの防圧に大きな役割を果たしたが、ワクチン接種の省力化の観点から、我が国で開発され昭和 58 年 (1983) 以降シードロットシステムによる製造管理が行われていた豚丹毒生ワクチン (アクリフラビン耐性弱毒豚丹毒菌小金井 65-0.15 株) との混合化が生産現場等から強く求められた。

農林水産省は、養豚経営の安定化のための生産コストの低減化、接種の省力化及び効率的な予防接種の推進を目的として、平成元年 (1989) から 3 年間にわたり、国の補助事業として「コンバインワクチン開発対策事業」を行い、社団法人動物用生物学的製剤協会 (現：社団法人日本動物用医薬品協会) の会員で、両ワクチンの製造承認を有している 8 社 (財団法人化学及血清療法研究所、株式会社

科学飼料研究所、社団法人北里研究所、共立商事株式会社、千葉県血清研究所、日生研株式会社、株式会社微生物化学研究所、松研薬品工業株式会社）を対象に豚コレラ・豚丹毒混合生ワクチンの開発を行った。当該事業により行われた試験成績に基づき、この混合生ワクチンの安全性・有効性が確認されたことから、平成4年（1992）11月に8社のワクチンが同時に承認された。

その後、豚コレラ防疫の主流は、豚コレラ・豚丹毒混合生ワクチンとなり、平成8年（1996）4月以降の豚コレラ撲滅体制確立対策事業においても、当初、ワクチン接種の徹底による清浄化が図られたことから、本ワクチンの接種が積極的に行われていた。しかしながら、平成12年10月にワクチン接種を全国的に原則中止したことから、豚コレラ・豚丹毒混合生ワクチンはその役割を終え、以降、豚コレラ GP 生ワクチンが、家畜伝染病予防法第50条の規定に基づき都道府県知事の許可の下で平成18年（2006）3月まで使用され、4月1日以降ワクチン接種は全面的に中止された。

## 6) 生ワクチン利用による清浄化の達成要因

米国や欧州連合（EU）諸国はワクチンを使用せず、発生時に広域な感染区域を設定し、感染源を即時に徹底的に排除してゆく厳密な摘発・淘汰方式で清浄化を達成した。我が国は GP 生ワクチンを実用化後、32年で豚コレラの清浄化を達成できたが、これは世界において現時点でワクチンにより豚コレラを清浄化できた唯一の国であると言ってよい。これには日本の地理的要因を背景として、豚コレラウイルスの性状、GP 生ワクチンの安全性と免疫原性における優れた特性、国及び地域の完璧に近い家畜防疫体制と養豚農家の協力に拠るところが大きい。

まず豚コレラウイルスは強毒ウイルス・弱毒ウイルスともに、感染経路と感染性は変わらず、両ウイルスともに扁桃に最も親和性が高く、初期感染臓器なので、ワクチンの早い（時期の）接種によって強毒ウイルスの感染を完全にブロック・防除できることである。GP 生ワクチンを接種後3日で感染防御が成立し（図Ⅱ-12）、発生養豚場でワクチン使用後、11日～29日で発生が終息している（表Ⅱ-15）事実からも分かる<sup>34)</sup>。

また GP 生ワクチンについては、先ずシードロットシステム下でワクチンの安全性が規制できていること、ワクチンは安全性の極めて高い GP 生ワクチン一種類に絞って使用され、動物用医薬品協会（旧：動物用生物学的製剤協会）に属している7社で適正量のワクチンが毎年生産されてきたこと、そのためワクチンの接種と移行抗体との関係が明確に把握でき、有効なワクチネーションプログラム

が設定できたことなどである。

日本では豚コレラ生ワクチンの接種は自衛防疫として行われてきた。しかし養豚家のワクチンに対する信頼は厚く、大規模化と専門化による一貫経営でワクチン接種への意識感は高くなってきた。また都道府県の持続的な指導及び全国衛生指導協会の支援で GP 生ワクチンの接種率は年々高まり、接種率は昭和 60 年～昭和 63 年（1988）には 80～85%に達した（表Ⅱ-9、図Ⅱ-8）。昭和 61 年（1986）以降は発生も散発的となり、平成 5 年（1993）以降の発生はなくなったが、これは養豚場の専門化による防疫意識の向上と、ワクチンの高い接種率が維持されて養豚場及び地域の群（ハード）免疫が有効に働いてきた結果と言えよう<sup>3), 37)</sup>。

さらに清浄化達成ができた要因を大きな観点から見ると、GP 生ワクチンが実用化される前後から東南アジア諸国を主体とした国々への豚コレラの診断・防疫技術とワクチンの製造技術に関する指導と啓蒙・普及活動があろう。プロジェクト方式でメキシコ、インドネシア及びタイへ、個別にはマレーシア、ミャンマー、シンガポール、タイ、台湾から技術者を受け入れ、指導を行ってきた。また、動物用医薬品検査所が開発した豚コレラ生ワクチン（LOM 株）の製造技術の指導も韓国、台湾へ行われてきた。

## おわりに

日本動物用医薬品協会（旧動物用生物学的製剤協会）所属の 7 社：化学及血清療法研究所、科学飼料研究所、北里研究所、共立製薬株式会社、日生研株式会社、微生物化学研究所、松研薬品工業株式会社は、動物衛生研究所で開発された GP 生ワクチン原株の譲渡を平成 2 年（1990）に動物衛生研究所から受けた後も、シードロットシステムを堅持し、GP 生ワクチンを製造・販売してきた。

しかし、豚コレラ最終発生の平成 4 年から 3 年後の平成 8 年に豚コレラ清浄化 5 ヶ年計画のプロジェクトが開始されて、豚コレラワクチンの接種は段階的に中止され、平成 18 年には全面中止となった。そして我が国は平成 19 年（2007）4 月に国際獣疫事務局（OIE）へ豚コレラ清浄化宣言を行い、名実ともに清浄国となった。

GP 生ワクチンは平成 12 年から毎年、備蓄用として 100 万ドースが生産・備蓄されている。また将来、GP 生ワクチンの海外市場確保のために、平成 9 年（1997）には東南アジア諸国における豚コレラワクチンの使用状況について海外調査が行われ<sup>38)</sup>、東南アジアを中心とした海外への販路を目指している。

## 参考文献

1. Dunne HW (1958) Hog Cholera, Disease of Swine: Second edition, Iowa State Univ. Press, Ames Iowa, USA. 140-186.
2. Dunne HW (1975) Hog Cholera, Disease of Swine: Fourth edition, Iowa State Univ. Press, Ames Iowa, USA. 189-255.
3. 熊谷哲夫 (1995) 豚コ撲滅への道 (序) 養豚界 7 月号, 49-55, 同 (二) 養豚界 8 月号, 69-74. 同 (三) 養豚界 9 月号, 49-55 頁, 同 (四) 養豚界 10 月号, 56-64, 熊谷哲夫 (1996) 豚コ撲滅への道 (五) 養豚界 2 月号, 39-44.
4. Dunne HW, Clark CD. (1968) Embryonic death, fetal mummification, stillbirth, and neonatal death in pigs of gilts vaccinated with attenuated live-virus Hog Cholera vaccine. *Am. J. Vet. Res.* 29, (4) , 787-796.
5. Futamura H (1922) Experimental studies on hog cholera vaccine. *Jueki Chosasho Kenkyu Hokoku* [Present title: *Bull Nat. Inst. Anim. Hlth*] , No. 5, 1-30.
6. Terakado Y (1949) Experiments on the hog cholera formalized vaccine. (In Japanese) *Exp. Rep. Gov. Exp. Sta/ Anim. Hyg.* [Present title: *Bull. Nat. Inst. Anim. Hlth*] No. 20, 111-156.
7. 林昇 (1963) 諸種の動物及び組織培養による豚コレラウイルスの継代試験. 日生研だより, 日本生物科学研究所, 537-540.
8. 原田熊幸 (1969) 総説: 豚コレラ生ウイルス予防液. *日本獣医師会雑誌* 第 22 卷, 503-510.
9. Koprowski H, James TR, Cox HR (1946) Propagation of hog cholera virus in rabbits, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 63, 173-183.
10. Baker JA (1946) Serial passage of Hog Cholera virus in rabbits. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 63, 183-187.
11. 日本帝国家畜伝染病予防史: 大正・昭和第二編 (1936), 獣疫調査所, 931-932.
12. 家畜衛生史: (1982) 日本獣医師会.
13. McBryde CN, Cole CG (1936) Crystal-violet vaccine for the prevention of Hog Cholera: Progress Report. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 89, 652.
14. 家畜衛生統計: 大正 14 年 (1923) [農林省・畜産局] ~平成 14 年度 (2000) [農林水産省・消費安全局].
15. Sasahara J Hayashi S, Konoike H, Okaniwa A, Takahashi Y, Takei I, K, Yanagisawa K, Yoda K (1964) Potency and safety of living hog cholera vaccine

- prepared from caprinized virus. Nat. Inst. Anim. Hlth Quart. 4, (1), 1-9.
16. 笹原二郎 (1977) 豚コレラ：豚病学 (第一版), 近代出版, 206-217.
  17. Sato U, Nishimura Y, Hanaki T, Nobuto K (1964) Attenuation of Hog Cholera virus by means of continuous cell-virus propagation (CCVP) method. Arch ges Virusforsch. 14, 394-403.
  18. Sato U, Nishimura Y, Hanaki T, Nobuto K (1964) Attenuation of hog cholera virus by means of continuous cell-virus propagation (CCVP) method II, Preparatory experiments on the attenuated strain as a live vaccine. Arch. ges Virusforsch. 15, 113-121.
  19. 鮫島都郷, 川窪淳, 桑原博義, 倉田功, 林昇 (1977) 豚コレラ生ウイルスワクチン株作出に関する研究, II PS細胞継続培養ウイルスのクローニングと追加継続細胞培養. 日本生物科学研究所報告 9, 17-33.
  20. 鮫島都郷, 川窪淳, 桑原博義, 倉田功, 林昇 (1977) 豚コレラ生ウイルスワクチン株作出に関する研究. III PSC2株ウイルスでの生ワクチン試作とその野外応用試験, 日本生物科学研究所報告 9, 34-52.
  21. Sasahara J, Kumagai T, Shimizu Y, Furuuchi S (1969) Field experiments of hog cholera live vaccine prepared in guinea-pig kidney cell culture, Nat. Inst. Anim. Hlth Quart. 9, 83-91.
  22. 笹原二郎, (1970) 豚コレラ生ウイルス予防液の野外応用試験. 家畜衛生試験場研究報告 別冊, 61, 88-106.
  23. 笹原二郎 (1974) 資料：豚コレラ生ワクチン. 家畜衛生試験場研究報告 別冊, 70, 53-55.
  24. Shimizu Y, Kumagai T, Sasahara J (1976) GP vaccine, controls Hog Cholera in Japan. Modern News Feb/1976, 11.
  25. Shimizu Y (1980) GP vaccine for control of Hog Cholera in Japan, International Symposium on Infectious diseases of Livestock. Tropical Agri. Res.. Series B. 167-171.
  26. Kumagai T, Shimizu T, Ikeda S, Matsumoto M (1961) A new in vitro method (END) for Detection and measurement of hog cholera virus and its antibody by means of effect of HC virus on Newcastle Disease Virus in swine tissue culture I. establishment of standard procedure. J. Immunol. 87, 245-256.
  27. 川窪淳 (1969) 豚コレラ生ウイルスワクチン, 家畜衛生指導事業研修用テキスト III-2-11, 日本獣医師会.

28. Izawa H, Soekawa M (1967) Attenuation of hog cholera virus in the carrier cell strains established from kidneys of pigs experomentially infected with the vilurent virus. Am. J. Vet. Res. 28, 1661-1669.
29. Izawa H, Matsumoto K, Sagawa M, Iwabuchi H, Soekawa M (1969), Attenuation of Hog Cholera virus carried by a pig kidney cell line: Further comparison of vilurence of the virus obtained at different stages of cell cultivation. Am J Vet Res. 30, 1155 -1160.
30. 熊谷哲夫他 (1962) ブタとウシのこう丸細胞通過による豚コレラウイルスの弱毒化. 第53回日本獣医学会記事 24, 373.
31. 家畜衛生試験場年報 (1963) - (1972) 家畜衛生試験場.
32. Shimizu Y, Furuchi S, Kumagai T, Sasahara J (1970) A mutant of hog cholera virus inducing interference in swine testicle cell culture. Am. J. Vet. Res. 31 (10) 1787-1794.
33. Okaniwa A, Nakagawa M, Shimizu Y, Furuuchi S (1969) Lesion in swine inoculated with attenuated Hog Cholera viruses. Nat. Inst. Anim. Hlth Quart. 9, 92-103.
34. 古内進 (1969) 豚コレラ生ワクチンの使用にあたって. 養豚の友 No.16, 21-24 頁。
35. 古内進 (1989) 豚コレラワクチン. 特集: 豚用ワクチンの使い方を巡って, 獣医畜産新報 820 (11), 10-13.
36. 古内進 (1970) 豚コレラ生ワクチンの製造の巻, 養豚の友 20, 3-6.
37. 熊谷哲夫 (2004) 昭和農業技術史への証言, 第四集, 第3話: 豚コレラのワクチン開発とその撲滅 昭和農業技術研究会編, 農山漁村文化協会, 87-142.
38. 吉田勲 (1998) 海外情報: 希少重要医薬品安定供給体制確立調査事業による海外調査について. 動物用生物学的協会, 32, 56-70.

### 3 豚コレラ診断技術の開発\*

#### 1) 診断技術開発の道程

豚コレラは多様な病状を示す伝染力の強いウイルス病で、一度発生すると養豚業に甚大な経済的損失をもたらすため、その診断は迅速かつ的確に行う必要がある。ウイルス学的技術が確立される以前には、豚コレラの診断は臨床症状（熱発、肉眼病変、白血球数減少等）、病理組織学的検査及び豚接種試験等を参考にして行われていたが、組織培養技術や蛍光抗体染色技術が日本に導入されて以来、豚コレラウイルスの培養細胞による検出・定量法の開発研究が積極的に行われ、下記に示すような世界に類を見ない数々の新しい技術が開発され、今回の豚コレラ撲滅達成に大きく貢献した。

#### (1) *In vitro* におけるウイルスの検出・定量法の開発

##### ① END 現象の発見

豚コレラウイルスは培養細胞で効率的に増殖するが、細胞変性効果（CPE）を示さないために *in vitro* におけるウイルスの検出・定量が不可能であった。これ

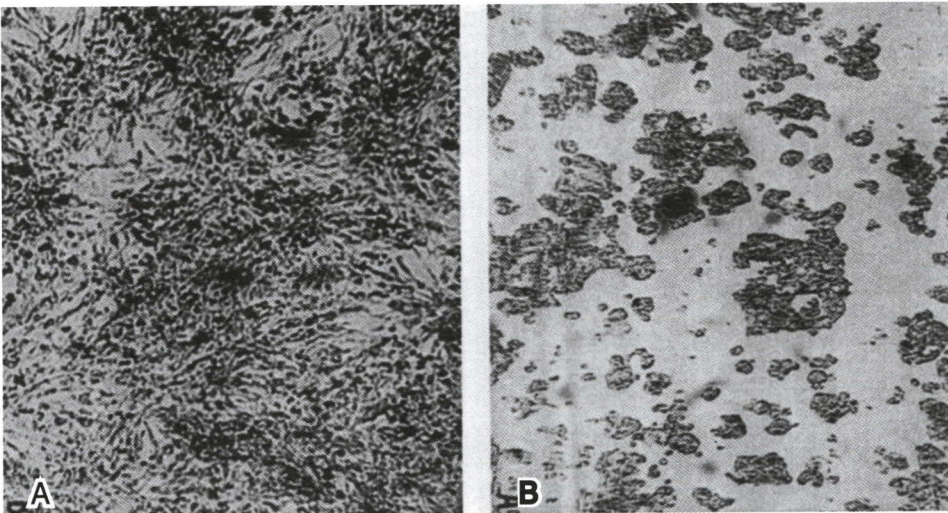


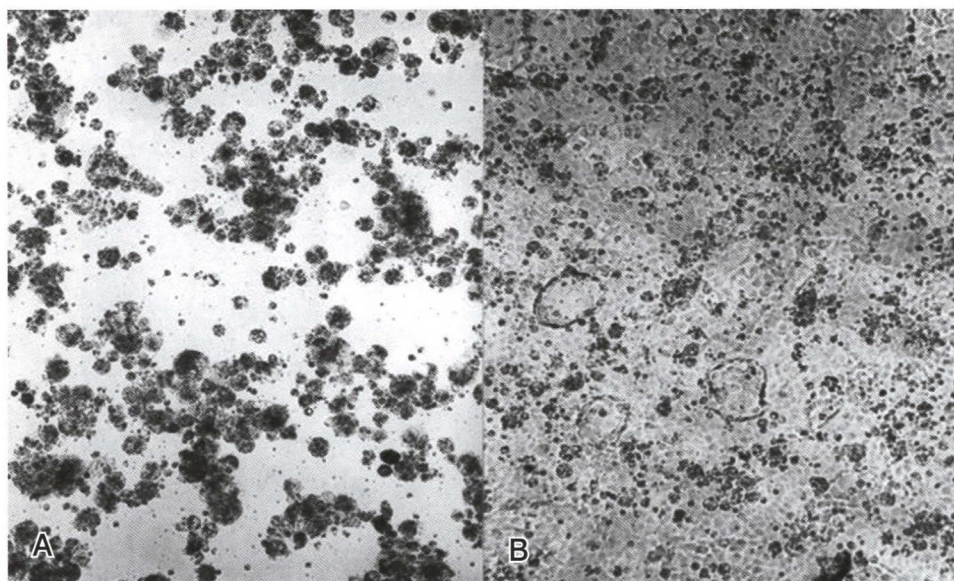
図 II - 17 豚精巣初代培養細胞（ST）における END 現象（熊谷ら：J. Immunol. 87, 245-256, 1961）

A：END 現象（-）：豚コレラウイルス陰性

B：END 現象（+）：豚コレラウイルス陽性

\* 福所秋雄（日本獣医生命科学大学獣医学部教授）

を可能ならしめたのが農林省家畜衛生試験場（家衛試：現独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所）の熊谷ら<sup>1)</sup>による画期的な END 現象の発見である（図Ⅱ-17）。END は Exaltation of Newcastle Disease Virus の頭文字に由来する造語で、この現象を基盤として、豚コレラウイルスの検出・定量法である END 法<sup>2), 3), 4)</sup>、並びに抗体定量法である END 中和法<sup>5)</sup>が開発され、診断・予防技術の開発の突破口を開いた。当時、ウイルス干渉の概念は既にあったが、ウイルスによる増強の概念はなかった。当初、熊谷らは、豚コレラウイルスは培養細胞で増殖はするが CPE を示さないことから、CPE をおこす種々のウイルスを攻撃ウイルスとして干渉現象の有無を調べていたが、その過程で豚コレラウイルス感染細胞（豚精巢初代培養細胞：ST 初代培養細胞）に Newcastle Disease Virus (NDV) 宮寺株を重複感染させると、NDV の増殖・CPE の出現が強く増強されることを発見した。この現象を利用して豚コレラウイルスや中和抗体の検出・定量のための END 法や END 中和法が開発されたわけである。END 現象の発現機構については東大医科研の鳥羽ら<sup>6), 7)</sup>によって豚コレラ感染



図Ⅱ-18 CPK 細胞における END 現象（駒庭ら：Nat. Inst. Anim. Hlth Quart. 21, 153-158, 1981）

A：END 現象（+）：豚コレラウイルス陽性

B：END 現象（-）：豚コレラウイルス陰性

細胞におけるインターフェロンの産生の抑制が NDV の増強に参与していることが報告された。

後に、当時、家衛試に栃木県から研修にきていた駒庭ら<sup>8)</sup>により、ST 細胞に替わって豚腎由来株化細胞である CPK 細胞を用いての END 法や END 中和法が開発された (図 II-18)。これにより、ST 初代培養細胞の調製が不要となり、術式が簡易化、安定化された。当該手法は各都道府県の家畜保健衛生所病性鑑定施設で汎用された。CPK 細胞は、昭和 43 年頃に農林水産省動物医薬品検査所 (動薬検) の貝塚によって豚腎初代培養細胞から株化細胞として樹立され、同所の東根によって継代維持されていた細胞 (SK-H 細胞<sup>9)</sup>) から福所によってクローニングして作出された数種の細胞の一つで、家衛試で改良 END 法・END 中和法<sup>8)</sup>に最初に使用され、CPK 細胞 (Cloned Porcine Kidney Cell) と命名された。当該細胞は、TGE ウイルスやオースキー病ウイルス等が高い感受性を示し、家畜疾病診断分野で汎用されている。

## ② 干渉現象の発見

家衛試の清水ら<sup>10)</sup>は、END 現象を示す豚コレラウイルス ALD 株 (END 現象陽性) から豚コレラワクチンの製造用株である GPE<sup>-</sup>株 (END 現象陰性) を作出する過程 (種々の細胞を継代) において、END 現象を示すウイルスのポピュ

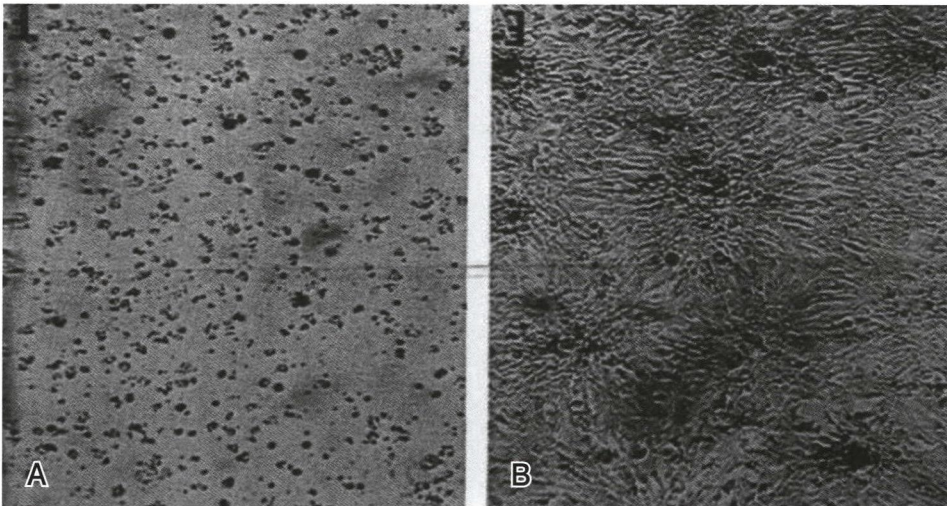


図 II-19 豚精巣初代培養細胞 (ST) における干渉現象 (清水ら: Am. J. Vet. Res. 31, 1787-1794)

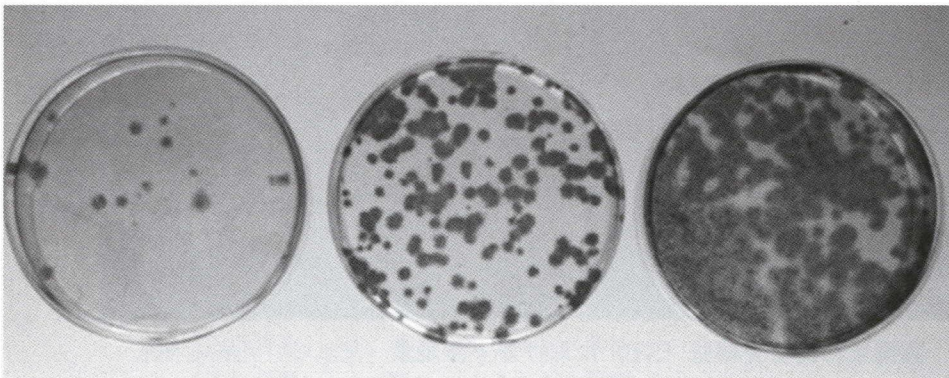
A: 干渉現象 (-): 豚コレラウイルス GPE<sup>-</sup>株陰性

B: 干渉現象 (+): 豚コレラウイルス GPE<sup>-</sup>株陽性

レーションがEND現象を示さず、逆に干渉現象を示すウイルスに変化したことを発見し、これをマーカー（指標）とする弱毒生ワクチン株（GPE<sup>-</sup>株）の作出に成功した。当該ワクチン株の定量には豚腎初代培養細胞と西部馬脳炎ウイルス（WEEV）を攻撃ウイルスとする干渉法が用いられた（図Ⅱ-19）。WEEVは人獣共通感染症の病原体であり、人に対して感染の危険性を含んでおり、北里研究所家畜衛生研究所の伊沢ら<sup>11)</sup>は当時、インターフェロンの生物学的アッセイに使用されていた水疱性口炎ウイルス（VSV）を攻撃ウイルスに用いる干渉法を開発した。さらに、動薬検の福所ら<sup>12)</sup>は豚コレラウイルス GPE<sup>-</sup>株のVSVに対する干渉は攻撃ウイルスの Multiplicity of Infection (MOI, 感染量) に依存せず、長期間存続することを証明した。これらの方法は Intrinsic Interference（感染細胞固有の干渉現象）を示す豚コレラウイルスや牛ウイルス性下痢ウイルスにのみ適用される。また、家衛試の劉・清水悠紀臣ら<sup>13)</sup>、家衛試の土屋ら<sup>14)</sup>により、豚コレラウイルス株間のホモログス干渉現象を利用し、GPE<sup>-</sup>株を一次干渉ウイルスとして用いる2段干渉法による野外豚コレラウイルス（END現象陽性ウイルス）の定量法が開発された。しかしながら、当該2段干渉法は汎用されなかった。

### ③ 逆ブラック法

豚コレラ GPE<sup>-</sup>株感染細胞がVSVに対してMOIに依存することなく長期間干渉することに着目した動薬検の福所ら<sup>9)</sup>は、当該干渉現象（Intrinsic Interference）を利用し、豚コレラ感染細胞集団をブラックとして出現させる逆ブラック法（Reverse Plaque Formation Method）を考案した（図Ⅱ-20）。原理

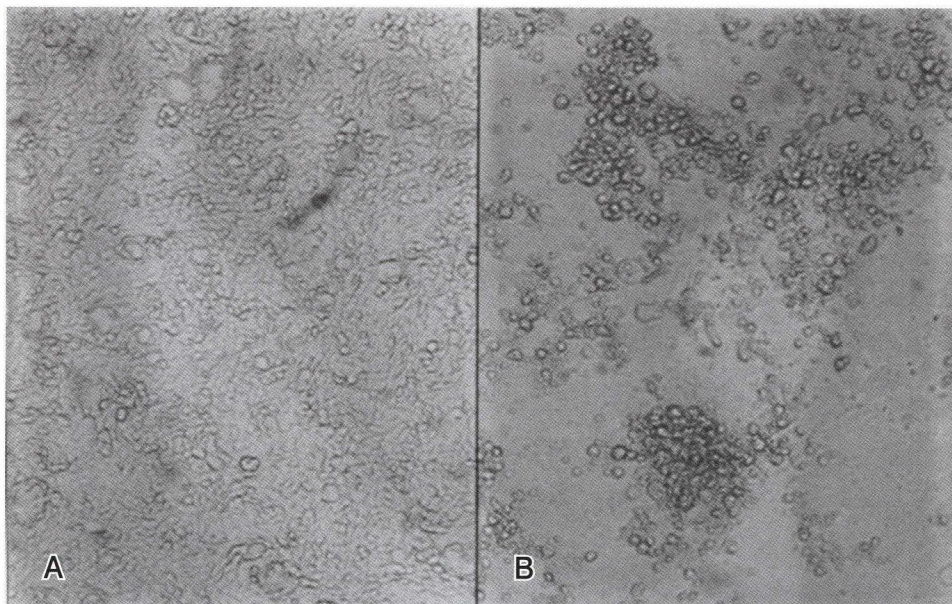


図Ⅱ-20 豚コレラ GPE<sup>-</sup>株の逆ブラック（Reverse Plaques）

（福所ら：Infection and Immunity 14, 332-336, 1976）

は通常のブラック法と同一であるが、干渉現象を利用している点でブラックが逆の形で出現するので「逆ブラック」と命名された。フランスの Loude ら<sup>15)</sup> によって当該手法の追試が行われ、豚コレラウイルスのアッセイに十分に実用可能であることが報告された。それによると、ヨーロッパにおける豚コレラ野外株の多くを定量できると報告している。このことからヨーロッパの野外株には 50% 以上の割合で干渉現象を示すウイルス (END 現象陰性のウイルス粒子) が含まれるものと思われる。これが事実であれば、END 現象が成立しないことになり、END 法がヨーロッパ等の先進国で普及しなかった理由が理解できる。

当該手法を用いることにより GPE<sup>-</sup>株の正確な定量・クローニング並びにブラック減少法による正確な中和抗体価の測定はもちろんのこと、野外ウイルス株 (一般的に END 現象陽性ウイルスがメジャー) に含まれる END 現象陰性ウイルスの検出 (約 1000 個中に 1 個以上含まれれば検出可能) が可能となった。動薬検の小川<sup>16)</sup> は当該手法を用い、豚コレラウイルス ALD 株等 (END 現象陽性ウイルス) のストック中に、数%の割合で干渉現象を示すウイルス (END 現象陰性ウイルス) が混在していることを証明し、その単離に成功した。これにより、豚コレラウイルスは「Quasispecies」であることが証明された。



図Ⅱ-21 豚コレラウイルス GPE<sup>-</sup>株の細胞変性効果 (CPE)

(迫田ら: J. Virol. Methods. 75 (1), 59-68, 1998)

A: CPE 陰性、B: CPE 陽性

動薬検の伊藤ら<sup>18)</sup>、動薬検の中村ら<sup>19)</sup>は、当該逆ブラック法を用いて、同じペスチウイルス属の牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV) から END (BEND) 現象を示さない BVDV ウイルスを初めて検出・分離し、BVDV においても「Quasispecies」が認められることを証明した。

#### ④ HEIC 法及び INC 法

動薬検の西村ら<sup>20), 21), 22)</sup>は豚コレラウイルスの検出・定量法として HEIC (Hemagglutination Exaltation and Inhibition of Cytopathogenic Effect) 法を開発した。これは、豚コレラウイルス感染豚腎初代培養細胞に NDV 佐藤株を重複感染させると CPE の出現が抑制され、逆に NDV の赤血球凝集価 (HA) が増強する現象に基づいている。また、動薬検の佐藤ら<sup>23)</sup>は、弱毒ウイルス LOM 株の検出・定量法として INC (Interference of Newcastle Disease virus in Cell culture) 法を開発した、これは、豚コレラウイルス弱毒 LOM 株感染豚精巣初代培養細胞に NDV を重複感染させると NDV の増殖が抑制される現象に基づいている。しかしながら、これらの方法は汎用されることはなかった。

#### ⑤ 蛍光抗体法 (FACCT : Fluorescent Antibody Cell Culture Technique)

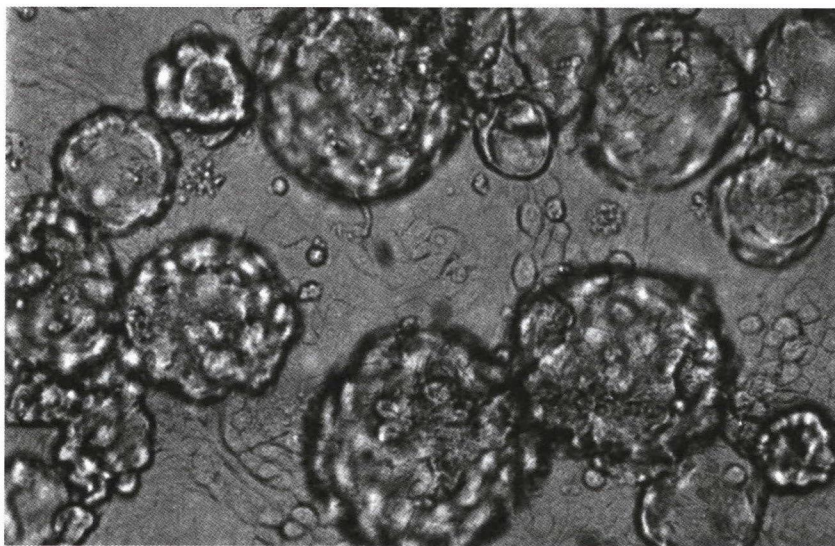
アメリカの Mengeling ら<sup>24), 25), 26)</sup>によって、ウイルスの検出・定量に培養細胞 (PK-15 細胞) を用いた蛍光抗体法が確立され、さらに Mengeling<sup>27)</sup>は蛍光抗体マイクロブラック法 (Fluorescent micro-plaque assay) を考案し、これらの手法は広く世界中で汎用された。我が国にもその技術が導入され、ウイルス分離・同定の迅速確認診断に広く用いられている。日本では数社の動物用生物学的製剤製造メーカーで「豚コレラ診断用蛍光標識抗体」が製造販売されていたが、現在では京都微研のみが製造販売している。諸外国では PK-15 細胞が汎用されているが、当該細胞はウイルスの増殖 (細胞間での拡がり) が緩慢で、蛍光抗体マイクロブラック法に適している。日本ではもっぱら CPK 細胞が汎用された。

#### ⑥ 豚コレラウイルス GPE<sup>-</sup>株による細胞変性効果 (CPE) を指標とする手法の開発

豚コレラウイルスは培養細胞で良く増殖するが、一般的に CPE を示さないことは前項でも述べたが、豚コレラ GP 生ワクチンの製造用株である GPE<sup>-</sup>株が無血清培養液で培養可能な FSL3 細胞や CPK-NS 細胞のような特定の培養株化細胞で明確な CPE を伴って増殖することが家衛試の迫田・福所ら<sup>28), 29), 30)</sup>によ

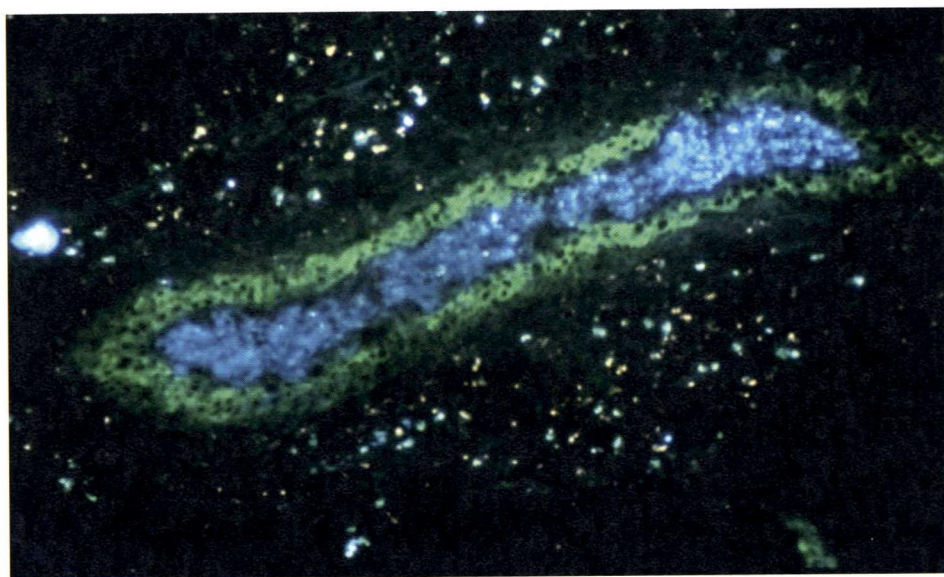
て確認され、GPE<sup>-</sup>株の定量や END 法に替わる中和試験に用いられるようになった（図Ⅱ-21）。この方法は、特に中和試験では END 中和法に必要な強毒豚コレラウイルスや強毒の NDV を用いず、指示ウイルスとして豚コレラウイルス GPE<sup>-</sup>株（ワクチン株）のみを用いるため、安全な中和抗体測定法として、撲滅事業の開始された平成 8 年（1996）以降、各都道府県の家畜保健衛生所病性鑑定施設で汎用されるに至った。

FS-L3 細胞（図Ⅱ-22）及び CPK-NS 細胞は単純な培養液（Eagle's MEM に TPB とバクトペプトンのみを添加）で増殖・継代維持が可能となった豚腎株化細胞で、FS-L3 細胞は SK-L 細胞（福所により動薬検で株化細胞として樹立された細胞）、CPK-NS 細胞は前述の CPK 細胞に由来する。豚コレラウイルス GPE<sup>-</sup>株は豚精巢初代培養細胞に感染させた場合には全く CPE を示さない（むしろ活性が高まる）が、特定の細胞に弱い CPE を示すことは 1970 年代に気づかれていた。しかし、当時、当該 CPE を指標としてウイルスを定量することは不可能であった。無血清培養液に馴化した細胞を作出することにより、END 現象を示さない豚コレラウイルス（GPE<sup>-</sup>株等）が明確な CPE を示すようになり、それらのウイルスの定量並びにそれを用いた中和試験が可能になった訳である。一方、1970 年代に京都微研の吉木ら<sup>31), 32)</sup>は豚コレラウイルス GPE<sup>-</sup>株が通常のブラックを形成し、ウイルスの定量に応用できることを報告したが、汎用はされなかった。他方、END 現象を示す豚コレラウイルス（END<sup>+</sup>ウイルス）

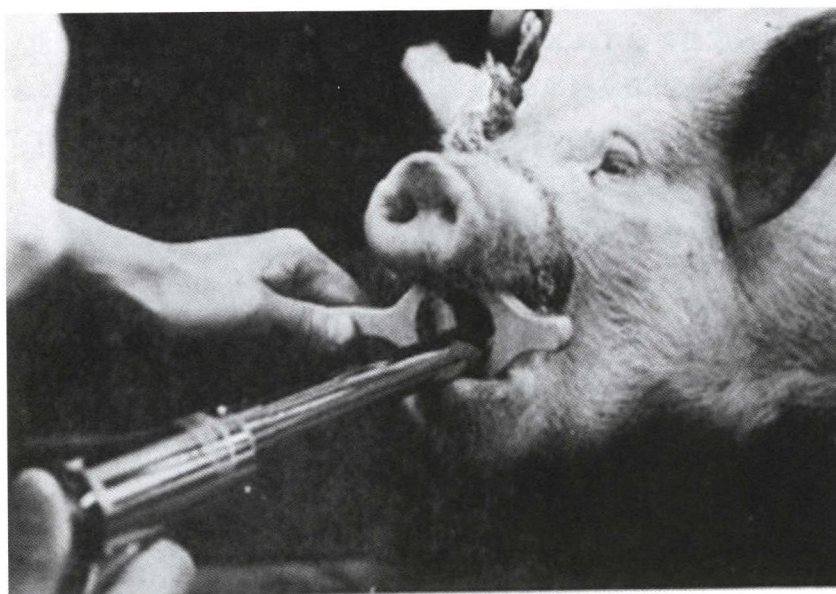


図Ⅱ-22 FS-L3 細胞（ドーム形成）

（迫田・福所：In Vitro Cell Dev. Biol. Anim. 34 (1), 53-57, 1998）



図Ⅱ-23 蛍光抗体染色：扁桃の陰窩上皮細胞における特異蛍光



図Ⅱ-24 豚ドリルによる扁桃片の採取

(信籐ら：Nat Inst Anim Hlth Quart 10, 94-95, 1970)

は、通常診断等に用いられる細胞に CPE を示さない。諸外国で豚コレラウイルスの検出・定量に蛍光抗体法や酵素抗体法が使用される所以である。

## (2) *In vivo* におけるウイルス抗原の検出

### ① 臓器凍結切片を用いた蛍光抗体染色による豚コレラウイルス抗原の検出

Stair ら<sup>33)</sup> によって感染豚の臓器（扁桃等）の凍結切片を用いた蛍光抗体法（FATST：Fluorescent Antibody Tissue Section Technique）による豚コレラウイルス抗原の検出法が報告され、日本では、動薬検の沢田<sup>34)</sup> らが、豚コレラ感染豚体内の経時的ウイルス分布を詳細に検討した結果、豚コレラウイルス抗原が感染の初期から後期にわたり特に扁桃に存在することを突き止め、FATST による抗原検出の最適組織は扁桃であることを証明した。以後、日本での診断の要として、扁桃組織の凍結切片による蛍光抗体染色が汎用された。（図Ⅱ-23）また、動薬検の信藤<sup>35)</sup> は、豚コレラ疑似豚（生体）から扁桃組織を採取し、蛍光抗体染色を行う方法を開発し、扁桃組織を生きた豚から採取するために扁桃採取機（豚ドリル：図Ⅱ-24）を考案した。

## (3) 抗体測定法

### ① END 中和試験法（END 現象を指標とする方法）

当該方法は豚コレラウイルス ALD 株を指示ウイルスとする END 中和法を用いて中和試験を行う方法<sup>5)</sup> であり、豚コレラ GP 生ワクチンの開発時の野外調査、効果判定等に汎用された。

### ② GPE<sup>-</sup>株を指示ウイルスとする中和試験法（CPE を指標とする方法）

過去に、日本では豚コレラウイルスの中和抗体測定のために END 法による中和試験（END 中和試験法）が用いられてきた。当該方法は、強毒の豚コレラウイルスや NDV の使用が必須であり、これらの強毒ウイルスを漏洩汚染する危険性を伴っていた。また、細胞の培養には、5～10%の血清の添加された培養液が必要であるが、細胞培養に通常使用される牛胎児血清、子牛血清や成牛血清中に、牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV；豚コレラウイルスと同属のペスチウイルス属に分類され、血清学的に共通抗原性を示す）に対する抗体が高頻度に検出される。このため、豚コレラウイルスの中和試験には、BVDV 抗体陰性の血清を使用することが必要であった。しかしながら、このような BVDV 抗体陰性の血清の入手は容易ではなく、問題が残されていた。このような問題点を解決するため

に、無血清培養液で培養可能で、かつ、日本で使用されている豚コレラのワクチン株である GPE<sup>-</sup>株が細胞変性効果（CPE）を起こす CPK-NS 細胞及び FS-L3 細胞が作出され、当該細胞を用いた CPE を指標とする中和試験法<sup>28), 29), 30)</sup>が確立された。現在、日本で抗体の検出や定量に用いられている。当該手法による抗体価は、END 中和法や OIE の診断マニュアルの NPLA や FAVN 法とほぼ同等の値を示す。

### ③ NPLA (Neutralizing Peroxidase-Linked Assay)

Terpstra ら<sup>36)</sup>によって確立された方法で、ペルオキシダーゼ標識抗体を用いる間接法で、OIE の標準法の一つとして採用されている。

### ④ FAVN 法 (Fluorescent Antibody Virus Neutralization test)

Liess ら<sup>37)</sup>によって確立された方法で、蛍光標識抗体を用いる間接法で、OIE の標準法の一つとして採用されている。

### ⑤ ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

日本では、家衛試とチッソ株式会社横浜研究所と共同開発した ELISA（豚コレラウイルス ALD 株 E2 蛋白の精製抗原を用いた間接法）が平成 14 年（2002）以降実用化された。豚コレラウイルスの全粒子を抗原として用いると非特異反応が高く、実用化が困難であったが、精製 E2 抗原を用いることによりこの問題が解決された。豚コレラウイルス感染細胞を用いた E2 抗原の精製には、豚コレラウイルス E2 抗原に対するモノクローナル抗体（家衛試の西森らによって作出）を用いたアフィニティークロマトグラフが用いられている。

当該 ELISA は、ELISA の宿命と考えられるが検出限界が中和試験より低く、中和抗体価が 8～16 倍以上が陽性と判断されるので、多検体処理が必要な豚の集団レベルでの抗体サーベイランスに適している。陽性例が検出された場合には中和試験で確認することが必要である。

## （４）遺伝子学的診断

遺伝子工学的技術の劇的な進歩により、豚コレラの予備診断に RT-PCR によるウイルス遺伝子の検出、ウイルスの分子生物学的性状解析にウイルス遺伝子の構造・蛋白質の機能解析が進み、次世代診断技術の開発に拍車がかかっている。特に、ウイルス遺伝子の分子系統樹解析による分子疫学に関する世界的なデータ

の蓄積が重要である。豚コレラウイルスと BVDV の識別にはモノクローナル抗体が使用されるが、栃木県から家衛試に研修にきていた山口ら<sup>38)</sup>は、5' 非翻訳領域の RT-PCR 産物を特定の制限酵素で切断することにより、豚コレラウイルスと BVDV1 型及び 2 型と識別可能であることを報告した。また、家衛試の迫田ら<sup>39)</sup>は、豚コレラウイルスと BVDV の日本分離株を用いて分子系統樹解析を行い、ペスチウイルス日本分離株の遺伝子型の分布を解析した。

## 2) 豚コレラウイルスの既知の性状

### (1) ウイルスの分類

本病の原因ウイルスである豚コレラウイルスは、フラビウイルス科ペスチウイルス属に分類される + 鎖の 1 本鎖 RNA ウイルスである。ペスチウイルス属には、豚コレラウイルスの他に牛ウイルス性下痢・粘膜病の原因ウイルスである牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV) 及び緬羊のボーダー病の原因ウイルスであるボーダー病ウイルス (BDV) がある。

### (2) ウイルスの性状

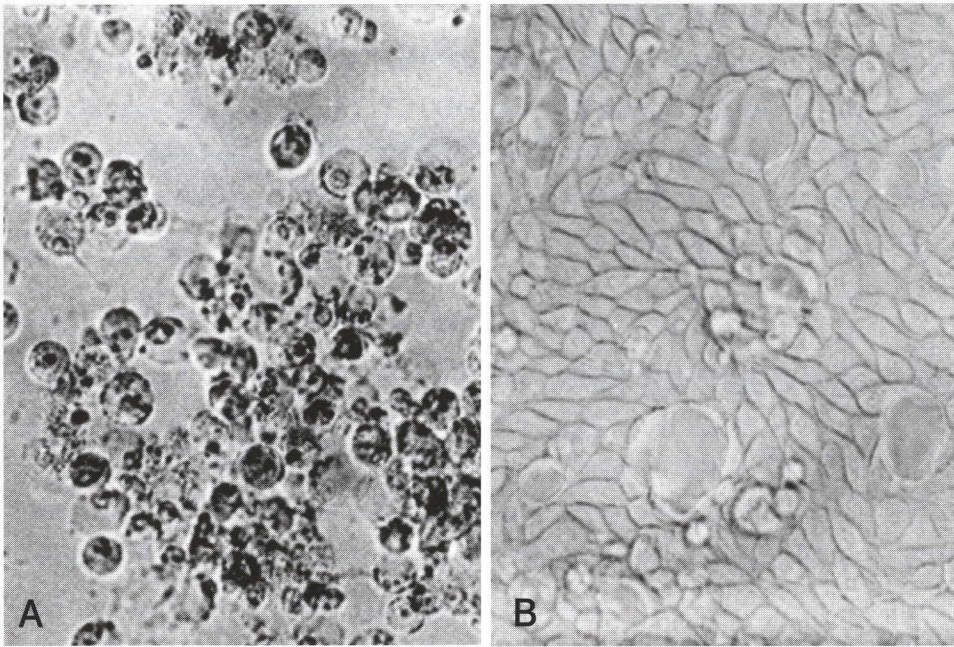
#### ① 生物型

従来、豚コレラウイルスは細胞変性効果 (CPE) を示さず、END 現象を示すウイルス (END<sup>+</sup>ウイルス) や END 現象を示さないウイルス (END<sup>-</sup>ウイルス) の存在が知られていたが、最近、CPE を示すウイルスの存在も確認されている。

#### i 非細胞病原性ウイルス (培養細胞に CPE を示さないウイルス)

##### i) END<sup>+</sup>ウイルス

培養細胞に CPE を示さず、END 現象<sup>1)</sup>を示すウイルスで、一般の野外ウイルスはこれに該当する。END 現象とは、豚コレラウイルスの感染した豚精巢初代培養細胞又は CPK 細胞において NDV を重感染させた場合に NDV による CPE が増強される現象をいい、その増強された CPE を指標に豚コレラウイルスのアッセイが可能となった。これを END 法<sup>1), 2)</sup>という。また、END<sup>+</sup>ウイルスは、ペスチウイルスに対するホモ干渉を示すが、他のウイルスに対するヘテロ干



図Ⅱ-25 豚コレラウイルスWB 82株の細胞変性効果 (CPE)

(青木ら：J. Vet. Med. Sci. 63 (7), 751-758, 2001)

A：CPE 陽性、 B：CPE 陰性

渉を示さない現象を有している。すなわち、豚コレラウイルスに対して干渉現象を示すが、西部馬脳炎ウイルス (WEEV)、水疱性口炎ウイルス (VSV)、NDV 等に対して干渉現象を示さない。

## ii) END<sup>-</sup>ウイルス

培養細胞に CPE を示さず、かつ、END 現象を示さないウイルスで、日本の豚コレラワクチンの製造用株である GPE<sup>-</sup>株がこれに該当する。GPE<sup>-</sup>株は、END<sup>+</sup>ウイルスである強毒 ALD 株から弱毒化されたウイルスで、END<sup>+</sup> から END<sup>-</sup>の表現型に変異したものである。END<sup>-</sup>ウイルスは、END<sup>+</sup>ウイルスと異なり、ペスチウイルスに対するホモ干渉及び他のウイルスに対するヘテロ干渉の両方を示す現象を有している。すなわち、豚コレラウイルス、NDV、WEEV、VSV 等の増殖を干渉する。この干渉現象の主体は、インターフェロンによる干渉とは異なり、Intrinsic Interference によるものと考えられている。END<sup>-</sup>ウイルスのアクセシには干渉現象を利用した干渉法が用いられている。最近、当該 END<sup>-</sup>ウイルスが特定の培養細胞で CPE を示すことが明らかになった。当該ウ

ウイルスは、豚精巢、豚腎臓、モルモット腎臓の初代培養細胞には CPE を示さないが、無血清培養液に馴化した豚腎由来の株化細胞（FS-L3 細胞や CPK-NS 細胞）<sup>28), 29), 30)</sup> に明らかな CPE を起こす。この現象については、現在解析中である。

### iii) 上記の i) 及び ii) に該当しないウイルス

当該ウイルスは、END<sup>+</sup> ウイルスと END<sup>-</sup> ウイルスが均等に混在したウイルスであると考えられる。このウイルスとしては、動物医薬品検査所で開発されたワクチン株である LOM 株等があるが、さらに詳細なウイルス性状の検討が必要である。これらのウイルスは、ペスチウイルスに対するホモ干渉を示すものと考えられる。

## ii 細胞病原性ウイルス（培養細胞に CPE を示すウイルス）

### i) 不完全干渉ウイルス粒子を含むウイルス

海外で数株が知られているが、日本では昭和 57 年（1982）にイノシシから分離された WB82 株<sup>40), 41), 42)</sup>のみである。ウイルスストック中に END<sup>+</sup> の完全ウイルス粒子と「不完全干渉ウイルス粒子（DI Particle : Defective Interfering Particle）」が含まれているウイルスであり、完全ウイルス粒子のウイルス遺伝子がヘルパーとなって DI 遺伝子（構造蛋白質をコードしているウイルス遺伝子が欠損している）の複製がなされ、その結果、細胞変性効果を示す（図Ⅱ-25）。非構造蛋白質（NS3：蛋白分解酵素）が感染細胞内で大量産生されることにより細胞を破壊するものと考えられる。当該ウイルスは、茨城県筑波山の山麓で発見された瀕死状態のイノシシ（豚コレラと確定診断）から家衛試の児玉ら（私信、1982）によって分離されたウイルスで、当時、培養細胞に CPE を起こすことが知られていたが、その理由は不明であった。それから 14 年経過した平成 8 年（1996）に超低温槽で眠っていた材料を出発材料として青木ら<sup>40), 41), 42)</sup>が種々の解析を実施した結果、DI 粒子が関与するウイルスであることが解明された。当該ウイルスによる豚実験感染では、急性豚コレラとほとんど同様の症状を示すので、従来の診断法を用いることで特段の問題はない。

### ii) 上記の i) に該当しないもので、END 現象を示さないウイルス。

従来は非細胞病原性ウイルスと考えられていたが、特定の培養細胞（CPK-NS 細胞及び FS-L3 細胞等）<sup>28), 29), 30)</sup> に CPE を示すウイルスで、GPE<sup>-</sup>株を代表とする END<sup>-</sup>ウイルスが該当する。

## ② 遺伝子型

豚コレラウイルスのウイルス RNA の特定領域（5' 非翻訳領域、E2 糖蛋白質領域、NS5B ポリメラーゼ領域）の塩基配列の分子系統樹解析により、3～4 のサブグループからなる三つの遺伝子型に分けられている。1974 年に日本で慢性型豚コレラから分離された神奈川 74 株は遺伝子型グループ 3 の中に分類されているが、グループ 3 の中でも分子系統樹において離れた位置にある。イギリスやドイツでは世界の豚コレラウイルス分子系統樹のデータベースが構築されており、分子疫学による感染経路等の解明が容易となっている。日本分離株の遺伝子型については、家衛試の迫田ら<sup>39)</sup>が報告している。

## ③ 抗原性

血清型は単一型であるが、中和抗体の反応性によってウイルス株間に若干の差異が認められる。同じペスチウイルス属に分類される牛ウイルス性下痢ウイルス及び緬羊のボーダー病ウイルスと血清学的に部分交差する。日本で慢性型豚コレラから分離された神奈川 74 株は、BVDV 十勝株との中和交差の程度が大きい。モノクローナル抗体を用いたウイルス株間の分類も試みられている。上条ら<sup>43)</sup>豚コレラウイルスと牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）との抗原交差性を調べ、慢性型を示す豚コレラウイルスは BVDV（特に十勝株（T20-5））と強く反応することを発見し、急性型の豚コレラウイルスを H 亜群、慢性型の豚コレラウイルスを B 亜群とすることを提唱した。さらに、家衛試の清水ら<sup>44), 45), 46)</sup>は、1980 年代に再流行から分離された豚コレラウイルスの血清学的性状について詳細に解説しているので参照されたい。

## ④ 病原性

豚コレラウイルスの病原性は多様性を示し、野外には、甚急性型の症状を示す強毒ウイルスから慢性型の症状を示す病原性の若干弱いウイルスの存在が知られている。慢性型の豚コレラの我が国における発生は、昭和 31 年（1956）に佐藤ら<sup>47)</sup>によって宮城県で認められて以来、昭和 32 年（1957）に宗像ら<sup>48)</sup>により福岡県で、昭和 34 年（1959）に佐々木ら<sup>49)</sup>により青森県で認められて以来、最近では、昭和 49 年（1974）の神奈川県、昭和 55 年（1980）から昭和 57 年の関東地方を中心とした豚コレラの再流行時に認められている<sup>44), 45), 46)</sup>。最近、ヨーロッパやアジア地域で慢性型の豚コレラの発生が多く認められ、国際的にも問題視されている。豚コレラウイルスの病原性と抗原性は関連性が高く、牛ウイルス

性下痢ウイルスに抗原性が近いほど病原性が弱く、慢性型の症状を示す傾向にある。実験感染では、一般的に慢性型の症状を示す病原性の弱いウイルスであっても、豚の個体によっては、急性の症状を示す場合もあり、発病には、宿主の品種や日齢等の要因も関与しているものと考えられる。

### ⑤ ウイルスの変異

一本鎖 RNA ウイルスは、*in vivo* や *in vitro* の環境下で容易に変異が起るとされている。それ故、分離ウイルス（クローニングしたウイルスまたはしていないウイルス）のストック中に単一のウイルスのみではなく、異なる性状を有するウイルスが混在している場合が多い。このようなウイルスの状態を Quasispecies という。豚コレラウイルスの場合には遺伝的に安定しているという報告もあるが、そうではない場合も多く認められる。例えば、逆ブラック法<sup>9)</sup>により、END<sup>+</sup>ウイルスのストック中に微量ではあるが END<sup>-</sup>ウイルスが混在しているウイルス株が発見されている<sup>16)</sup>。逆ブラック法は、Intrinsic Interference に基づく干渉現象を応用したブラック法で、多数の END<sup>+</sup> ウイルスの中から少数の END<sup>-</sup> ウイルスを検出（クローニング）可能ならしめた方法である。現在までに日本で分離された野外ウイルスは、全てが END<sup>+</sup> ウイルスであるが、ヨーロッパで分離された野外ウイルス中には END<sup>-</sup> ウイルスが多数混在している場合が多い。タイ国において、豚コレラの野外発症豚から直接 END<sup>-</sup> ウイルスが分離された例も認められている。それ故、外国では豚コレラのウイルスや中和抗体のアッセイに END 法が普及しなかったものと思われる。日本のワクチン株である GPE<sup>-</sup>株は、強毒 ALD 株（END<sup>+</sup> ウイルス）から培養細胞で累代継代して弱毒化したウイルスであるが、生物型も END<sup>-</sup> ウイルスに変異しているウイルスである。DI ウイルス粒子や END<sup>-</sup> ウイルスの存在等、豚コレラウイルスを扱う上で、生物型、病原性等に関し、分離ウイルス中のマイナーなポピュレーションを占める豚コレラウイルスの存在にも注意する必要があると思われる。

## 3) 現在実施されている診断法

これらの開発された技術ならびに疾病及びウイルスの知見を基に、初期診断は各都道府県の病性鑑定施設で行われ、分離ウイルス等の解析等は東京都小平市にある動物衛生研究所海外病研究施設で行われることとなっており、国及び都道府

県を挙げての万全の診断体制が構築されている。

### (1) 臨床的診断

一般的には、死亡率が高く、伝染力が強い急性で熱性の全身感染症で、豚疾病の中でも畜産の経営上最も経済的損失の高い疾病である。しかしながら、野外では、典型的な急性型の発生以外に慢性型の発生が見られ、外国では遅発型、不顕性感染型等の発生報告もある。

#### ① 急性型

2～6日の潜伏期の後、高熱（41 から 42℃）、元気消失、食欲不振、結膜炎による目やに、鼻漏、便秘に続く下痢、歩行困難、横臥、神経症状、紫斑等を呈し、10～20日以内に死亡する例が多い。ワクチン未接種の農場では、死亡率が90%を越えることが多い。

初期症状は、元気消失、食欲不振、発熱、白血球数の減少等を示し、後期症状として紫斑、後躯麻痺、犬座姿勢、横臥等を呈する。

#### ② 慢性型～不顕性型

症状は多様である。一般的に経過が長く急性型と同様に死亡する例から軽症で回復する例もみられる。食欲不振、発熱、下痢を繰り返し、発育が著しく遅延し、皮膚炎等をおこし、背わん姿勢を示す。いわゆるヒネ豚の様相を呈する。一部に回復する豚や不顕性感染で終わる豚の存在する可能性がある。ヨーロッパでは豚皮膚炎腎症症候群（PDNS）等の複合感染症候群を示す豚から豚コレラウイルスが分離された例も報告されている。

#### ③ 遅発型

強毒ウイルスの感染では、妊娠豚は死亡するが、病原性の弱い株の感染では、感染時の胎齢によって異なるが、流産、胎児のミイラ化を伴う死産、奇形胎児の分娩となることが多い。正常豚出産の場合もあるが、生後、ヒネ豚となる例も多くみられる。これらの豚は、免疫寛容となっている場合があり、豚コレラウイルスが持続感染状態となっており、感染源として問題となる。これまでに当該病型の日本での正式な発生報告は認められない。

## (2) 病理学的診断

- \* 剖検所見：膀胱粘膜の点状出血、リンパ節の出血腫脹、腎臓皮質の点状出血、脾臓の出血性梗塞等
- \* 組織所見：小脳の血管性細胞浸潤等
- \* 血液所見：白血球の減少、好中球核型の左方移動

## (3) ウイルス学的診断

- \* 抗原検出：扁桃（脾臓、腎臓、回腸末端部等）の凍結切片を用いた蛍光抗体法
- \* ウイルス分離・同定：CPK 細胞や PK-15 細胞等の培養細胞を用いたウイルス分離・同定
- \* ウイルス遺伝子検出：RT-PCR：BVDV との識別
- \* 分子系統樹解析：塩基配列の決定（5'NCR、E2、NS5 領域）分子疫学的手法による侵入経路の調査

## (4) 血清学的診断（抗体サーベイランス等）

- \* 抗体検出：中和試験（CPK-NS 細胞等を用いた直接法、NPLA）、ELISA 等、BVDV 抗体との識別

## (5) 類症鑑別

アフリカ豚コレラ、豚丹毒、トキソプラズマ症、PDNS、BVDV の感染（抗体検出）等

## (6) ペスチウイルスの宿主相互感染

豚コレラウイルスの宿主域は豚及びイノシシに限定されているが、同じペスチウイルス属のウイルスである BVDV 及び BDV は豚に感染することが明らかになっている。これらのウイルスは、間接接触感染等により豚に感染し抗体を産生するが、豚に明確な臨床症状を示したり、豚群の中でウイルスが広汎に拡散することはほとんどない。しかしながら、豚コレラ撲滅後の抗体サーベイランスで、抗体陽性豚として検出される可能性もあるので注意を要する。日本においては、ワクチン中止後、BVDV の豚への感染例（抗体の検出のみ）が認められている<sup>50), 51)</sup>。

### (7) ワクチンの検定法

日本で開発され、豚コレラ撲滅に大きく貢献した豚コレラ GP 生ワクチンの国家及び自家検定における豚コレラウイルス GPE<sup>-</sup>株のウイルス力価（ウイルス量）の測定に、従来、西部馬脳炎ウイルスを用いた干渉法（WEEV 干渉法）が用いられていたが、動薬検の筒井ら<sup>52)</sup>により GPE<sup>-</sup>株特異的モノクローナル抗体を用いた酵素抗体法によるウイルスの定量法が採用され、動物用生物学的製剤基準の改正が行われ、現在に至っている。また、動薬検の青木ら<sup>53)</sup>により動物用生物学的製剤、特に牛、豚用生ワクチンのペスチウイルスの迷入否定試験の方法として、細胞内で合成されるペスチウイルスのマイナス鎖の RNA の RT-PCR による高感度検出法が開発された。当該手法によると、感染性のないペスチウイルスが混入していた場合には陰性となり、感染性のウイルスが迷入していた場合のみ陽性となる。

### 4) おわりに

豚コレラは、豚疾病の中でも伝染性が強く、死亡率の高い国際重要疾病であり、過去に我が国において大きな経済的被害をもたらした。日本では、昭和 30 年代後半から、農林水産省家畜衛生試験場、動物医薬品検査所、財団法人日本生物科学研究所等で豚コレラの診断・予防技術の開発研究が実施され、新しい診断技術（蛍光抗体法やウイルス定量技術）及び画期的な予防技術（生ワクチンの開発）が実用化された。特にこれらの基盤的技術を用いて農林水産省家畜衛生試験場で開発された GPE<sup>-</sup>株を製造用株とする生ワクチン（GP 生ワクチン）が国指導型で衛指協を中心とする自衛防疫事業により昭和 44 年（1969）から野外で全面的に使用されて以来、豚コレラの野外発生は激減し、平成 5 年（1993）以降豚コレラの発生はなくなり、日本の養豚産業の発展に大きく寄与した。

伝染病の防疫には、ワクチン使用による発症防止と撲滅〔病原体（ワクチンウイルスを含む）の駆逐〕がある。豚コレラの場合は、人の天然痘と同様に、①病原体の抗原性が単一である。②宿主域（豚、いのしし）が狭い。③不顕性感染がほとんどない。④有効な診断法がある。⑤有効かつ安全性の高いワクチンがある。等により、多くの疾病の中でも撲滅が容易な疾病である。

平成 8 年度から豚コレラの撲滅事業が開始され、平成 12 年（2000）10 月でワクチンの原則的に全国的中止がなされ、平成 18 年（2006）4 月に家畜伝染病予防法第 3 条に基づく「豚コレラに関する特定家畜伝染病防疫指針」（農林水産大

臣公表) が施行され、豚コレラワクチンの全面中止が遂行された。豚コレラの撲滅に当たっては、先進国ではワクチンを使用しない摘発淘汰方式をとっている。我が国も摘発淘汰方式をとっているが、万が一の大規模発生（摘発淘汰では防疫が困難な場合）に備え、ワクチンの使用を考慮してワクチンの備蓄（100万頭分）がされている。豚コレラの発生時の殺処分、淘汰等による経済的損失が大きいことから、患畜や疑似患畜の法的殺処分に対して国が補償費を、自主的な淘汰に対しては互助基金（家畜防疫互助基金造成等支援事業）で助成する制度が確立している。豚コレラの撲滅達成は、日本の家畜衛生の歴史に残る大事業であり、先の口蹄疫の防圧と同様に日本の家畜衛生技術・防疫システムが世界的に高く評価されることになる。

豚コレラ清浄国の防疫に関し最も重要なことは検疫等の侵入防止であるが、万が一侵入を許した場合、早期発見、早期確定診断、摘発淘汰・疫学調査によるまん延防止が的確に実施されることが重要となる。

最後に、豚コレラ診断等に関連する文献を以下に示すので参考にされたい。鴻池ら<sup>54)</sup>、清水悠紀臣ら<sup>55)</sup>、笹原の総説<sup>56)</sup>、清水実嗣<sup>57)</sup>、清水と古内<sup>58)</sup>、中川ら<sup>59)</sup>、Nakamuraら<sup>60)</sup>、小河ら<sup>61)</sup>、清水、福所、鮫島、清水<sup>62)</sup>、西口ら<sup>63)</sup>、その他、各都道府県の家畜保健衛生所等から数多くの抗体調査等の報告がなされている。

## 参考文献

1. Kumagai T, Shimizu T, Matumoto M (1958) Detection of hog cholera virus by its effect on Newcastle disease virus in swine tissue culture. *Science*, 128 (3320), 366.
2. Kumagai T, Shimizu T, Ikeda S, Matumoto M (1961) A new in vitro method (END) for detection and measurement of hog cholera virus and its antibody by means of effect of HC virus on Newcastle disease virus in swine tissue culture. I. Establishment of standard procedure. *J. Immunol.* 87, 245-256.
3. Matumoto M, Kumagai T, Shimizu T, Ikeda S (1961) A new in vitro method (END) for detection and measurement of hog cholera virus and its antibody by means of effect of HC virus on Newcastle disease virus in swine tissue culture. II. Some characteristics of END method. *J. Immunol.* 87, 257-268.
4. Kumagai T, Shimizu T, Ikeda S, Matumoto M (1964) Technical Improvement of the END method *Arch. Gesamte Virusforsch.* 14, 697-699.

5. Shimizu T, Kumagai T, Ikeda S, Matumoto M (1964) A New in vitro method (END) for detection and measurement of hog cholera virus and its antibody by means of effect of HC virus on Newcastle disease virus in swine tissue culture. III END neutralization test Arch. Gesamte Virusforsch. 14, 215-14226.
6. Toba M, Matumoto M (1969) Role of interferon in enhanced replication of Newcastle disease virus in swine cells infected with hog cholera virus. Jpn J. Microbiol. 13 (3), 303-5.
7. Toba M, Matumoto M (1971) Mechanism of enhancement of Newcastle disease virus growth in cultured cells by co-infecting hog cholera virus. Arch. Gesamte Virusforsch. 34 (4), 310-322.
8. Komamiwa H, Fukuhso A and Shimizu Y (1981) Micro methods for performing titration and neutralization test of hog chorela virus using established porcine kidney cell stain. Nat. Inst. Anim. Hlth Quart. 21, 153-158
9. Fukuhso A, Ogawa N, Yamamoto H, Sawada M and Sazawa H (1976) Reverse plaque formation by hog chorela virus of GPE<sup>-</sup> strain inducing heterologous interference. Infect. Imm. 14, 332-336
10. Shimizu Y, Furuuchi S, Kumagai T, Sasahara J (1970) A mutant of hog cholera virus inducing interference in swine testicle cell cultures. Am. J. Vet. Res. Oct;31 (10) 1787-94.
11. Izawa H, Nagabayashi T, Soekawa M (1971) A mutant of hog cholera virus in the virus-carrier cell cultivated at a lower temperature. Zentralbl Veterinarmed B. 18 (3), 197-204.
12. 福所秋雄、小川信雄、山本富史、岩田 嘩、沢田 實、佐沢弘士 (1975) 豚コレラウイルス GPE<sup>-</sup> 株の水胞性口炎ウイルスによる干渉法. 動物医薬品検査所年報 12, 9-14.
13. 劉ら (1978) 日本獣医学会, 講演要旨.
14. Tsuchiya Y, Uchimura A, Tajika H, Sakamoto K, Furuya T, Sato K, Nanba K, Miura Y (1993) Reverse interference method for measurement of hog cholera virus (HCV) and anti-HCV antibody. J. Vet. Med. Sci. 55 (2), 233-6.
15. Laude H (1978) Reverse plaque formation by hog cholera virus inducing interference with VSV. Arch. Virol. 56 (3), 273-7
16. 小川信雄 (1981) 豚コレラウイルス変異株に関する研究. 学位 (博士) 論文 (東京大学).

17. Ito O, Sasaki H, Hanaki T (1983) Reverse plaque formation method for titration of non-cytopathogenic bovine viral diarrhea-mucosal disease virus. *Nat. Inst. Anim. Hlth Quart.* 23 (1), 27-31.
18. Ito O, Sasaki H, Hanaki T (1983) A study of serologic relationships among non-cytopathogenic strains of bovine viral diarrhea-mucosal disease virus by reverse plaque technique. *Nippon Juigaku Zasshi.* 46 (5), 669-75.
19. Nakamura S, Sakamoto K, Sakoda Y, Shimazaki T, Inoue Y, Ogawa N and Fukusho A (1997) Variation from cytopathogenic biotype to non-cytopathogenic biotype is correlated with the deletion of cellular sequence from bovine viral diarrhea viruses. *J Vet Med Sci.* 59 (5), 361-370
20. 西村 豊、佐藤卯三郎、花木琢磨、信簾謙蔵 (1963) 豚コレラウイルスの組織培養に関する研究Ⅱ. 豚コレラウイルスとニューカッスル病ウイルスとの相互作用 (HEIC 法) を利用した豚コレラウイルスの中和試験について. *動薬検年報*, 3, 57 ~ 61
21. Korm G, Nishimura Y (1963) Zum Nachweis unterschiedlich viruenter schweinepestiruss tamme mit der END unt der HEIC methode. *Monatshefte fuer Tierheilkunde* 15, 328-334,
22. Nishimura Y, Sato U, Hanaki T, Nobuto K (1964) Studies on the tissue culture of hog cholera virus. II. Neutralization test by means of the influence of hog cholera virus infection on newcastle disease virus infection (HEIC method). *Nippon Juigaku Zasshi.* 26 (3), 133-40.
23. Sato U, Hanaki T, Nobuto K (1969) Attenuation of the hog cholera virus by continuous cell-virus propagation. III . Growth interference of Newcastle disease virus by attenuated hog cholera virus and its application to virus titration and the neutralization test. *Arch Gesamte Virusforsch.* 26 (1), 1-10.
24. Mengeling WL, Pirtle EC, Torrev JP (1963) Identification of Hog Cholera Viral Antigen by Immunofluorescence. Application as a Diagnostic and Assay Method. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 27 (10), 249-52.
25. Mengeling WL, Gutekunst DE, Fernelius AL, Pirtle EC (1963) Demonstration of an Antigenic Relationship Between Hog Cholera and Bovine Viral Diarrhea Viruses by Immunofluorescence. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 27 (7), 162-4.
26. Mengeling WL, Torrev JP (1967) Evaluation of the fluorescent antibody-cell culture test for hog cholera diagnosis. *Am. J. Vet. Res.* 28 (127), 1653-9.

27. Mengeling WL (1968) A fluorescent micro-plaque assay for hog cholera virus. Localization of infection with homologous antiserum. Arch. Gesamte Virusforsch. 23 (1), 27-39.
28. Sakoda Y and Fukusho A (1998) Establishment and characterization of a porcine kidney cell line, FS-L3, which forms unique multicellular domes in serum-free culture. In Vitro Cell Dev. Biol. Anim. 34 (1), 53-57
29. Sakoda Y, Yamaguchi Y and Fukusho A (1998) A new assay for classical swine fever virus based on cytopathogenicity in porcine kidney cell line FS-L3. J. Virol. Method. 70 (1), 93-101
30. Sakoda Y, Hikawa M, Tamura T and Fukusho A (1998) Establishment of a serum-free culture cell line, CPK-NS, which is useful for assays of classical swine fever virus. J. Virol. Methods. 75 (1), 59-68
31. 吉木研一、平原 正、佐々木文存 (1974) 豚コレラウイルスのブラック形成に関する研究, 1. 弱毒ウイルス GP 系 E<sup>-</sup> 株のブラック形成について. 第 78 回日本獣医学会抄録, 73.
32. 吉木研一、平原 正、佐々木文存 (1975) 豚コレラウイルスのブラック形成に関する研究 2. ブラック法による弱毒ウイルス GP 系 E<sup>-</sup> 株のウイルス価測定について. 第 79 回日本獣医学会抄録, 76.
33. Stair EL, Rhodes MB, Aiken JM, Underdahl NR, Young GA (1963) A hog cholera virus-fluorescent antibody system. Its potential use in study of embryonic infection. Proc Soc Exp Biol Med. 113, 656-60.
34. 沢田 実、佐藤卯三郎、花木琢磨、松野恵治、信藤謙蔵 (1969) 蛍光抗体を応用した扁桃直接塗抹による豚コレラの迅速診断法 (FAST 法) に関する研究. 動薬検年報, 6, 80 ~ 90.
35. Nobuto K, Sato U, Sawada M (1970) An instrument for harvesting tonsillar material for diagnosis of hog cholera. Natl Inst Anim Health Q 10 (2), 94-5.
36. Terpstra C, Bloemraad M, Gielkens AL (1984) The neutralizing peroxidase-linked assay for detection of antibody against swine fever virus. Vet. Microbiol. 9 (2), 113-20.
37. Liess B and Prager D (1976) Detection of neutralizing antibody (NIF) test: Use of new technical equipment for laboratory swine fever diagnosis. In: CEC Seminar on diagnosis and epidemiology of classical swine fever. EUR5486, 187-197.

38. 山口 修、迫田義博、佐藤満雄、中村成幸、福所秋雄 (1997) RT-PCR によるベ  
スチウイルスの検出と制限酵素切断パターンによる識別. 日本獣医師会雑誌, 50,  
(11) 639-644.
39. Sakoda Y, Ozawa S, Damrongwatanapokin S, Sato M, Ishikawa K and Fukusho A  
(1999) Genetic heterogeneity of porcine and ruminant pestivirus mainly isolated  
in Japan. *Vet. Microbiol.* 65 (1) , 75-86.
40. Aoki H, Ishikawa K, Sakoda S, Sekiguchi H, Kodama M, Suzuki S and Fukusho A  
(2001) Characterization of classical swine fever virus associated with defective  
interfering particles containing a cytopathogenic subgenomic RNA isolated from  
wild boar. *J. Vet. Med. Sci.* 63 (7), 751-758.
41. Aoki H, Ishikawa K, Sekiguchi H, Suzuki S. and Fukusho A (2003) Pathogenicity  
and kinetics of virus propagation in swine infected with the cytopathogenic  
classical swine fever virus containing defective interfering particles. *Arch. Virol.*  
148, 297-310.
42. Aoki H, Sakoda Y, Nakamura S, Suzuki S, Fukusho A. (2004) Cytopathogenicity  
of classical swine fever viruses that do not show the exaltation of Newcastle  
disease virus is associated with accumulation of NS3 in serum-free cultured cell  
lines. *J. Vet. Med. Sci.* 66 (2), 161-7.
43. Kamijo Y, Ohkuma SI, Shimizu M, Shimizu Y (1977) Differences in pathogenicity  
and antigenicity among hog cholera virus strains. *Nat. Inst. Anim. Hlth Quart.* 17  
(4), 133-40.
44. 清水実嗣 (1981) 豚コレラ：最近の発生をめぐる問題点と診断・予防 (1) 畜産の  
研究, 35 巻, 7 号, 67～71.
45. 清水実嗣 (1981) 豚コレラ：最近の発生をめぐる問題点と診断・予防 (2) 畜産の  
研究, 35 巻, 8 号, 64～68.
46. Shimizu M, Shimizu Y (1983) Properties of hog cholera viruses recently  
isolated in Japan. *Nat. Inst. Anim. Hlth Quart.* 23 (3), 103-4.
47. 佐藤卯三郎、花木琢磨、西村 豊、川島秀雄、渡辺守松 (1957) 1956 年宮城県下  
に発生した豚コレラウイルスの性状について. 日本獣医学雑誌 19, 学会号 31.
48. 宗形光蔵、野村 歩、清水文康 (1962) 非定形的な発生状況を示した豚コレラに  
ついて. 家衛試研究報告, 44 号, 1～7.
49. 佐々木 昇、海老洋一、田辺福治、横田一郎、中村真平 (1962) 病原性の弱い豚  
コレラウイルスについて. 家衛試研究報告, 45 号, 1～6.

50. 高久英徳、五十嵐康博、清原博光、大山和幸、黒澤 篤、齋藤真理子、宮根和弘、平松美裕子 (2007) 野外豚からの牛ウイルス性下痢ウイルス抗体の検出. 日本獣医師会雑誌, 60, 125 ~ 130.
51. 石橋拓英、加藤里子、伊藤 敦、竹田百合子 (2007) 豚における牛ウイルス性下痢ウイルス中和抗体保有状況調査. 獣医畜産新報, 60, 843 ~ 846.
52. 筒井真理子、石川清康、齋藤明人、村松昌武、杉山 誠、伊藤 治、井上剛光、田口邦史 (1994) 豚コレラウイルスに対する単クローン抗体の作成と PK-15 細胞を用いた定量への応用. 動薬検年報, 31, 37 ~ 39.
53. Aoki H, Shimazaki T, Takahashi C, Sasaki Y, Suzuki S and Fukusho A (2002) Method for detection of extraneous active bovine viral diarrhea virus and classical swine fever virus in animal viral vaccines by RT-PCR, which amplify negative-strand RNA in infected cells. *Biologicals* 30 (1), 27-35.
54. 鴻池博見、原田熊幸、熊谷哲夫、笹原二郎 (1964) 豚コレラのゲル沈降反応. 家衛試研究報告, 48 号, 1 ~ 4.
55. Shimizu Y, Furuuchi S, Hayashi S, Kumagai T, Sasahara J (1969) Porcine kidney cell line persistently contaminated with avirulent swine fever virus. *J. Gen. Virol.* 4 (4), 625-8.
56. Sasahara J (1970) Hog cholera: Diagnosis and Prophylaxis. *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.* 10, Suppl. 57-81.
57. 清水実嗣 (1976) 豚コレラウイルスの山羊に対する実験的感染. 家衛試研究報告 72 号, 11 ~ 16.
58. 清水実嗣、古内 進 (1976) 山羊血清中の豚コレラウイルスと牛ウイルス性下痢症ウイルスに対する中和抗体. 家衛試研究報告, 72 号, 7 ~ 10.
59. 中川秀次、鈴木祥子、中村成幸、梶 隆、沢田 實 (1982) 茨城県で流行した豚コレラウイルスの病原性と蛍光抗原分布. 動薬検年報, 19, 3 ~ 10.
60. Nakamura S, Sasahara J, Shimizu M, Shimizu Y (1983) Replication of hog cholera virus in porcine alveolar macrophage cultures. *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.* 23 (3), 101-2.
61. 小河 孝、畠山英夫、内村昭彦、川村 斉、福所秋雄、清水悠紀臣 (1984) 我国の豚における豚コレラ抗体分布の解析. 家畜衛生試験場研究報告, 86, 1 ~ 7.
62. 清水悠紀行臣、福所秋雄、鮫島都郷、清水実嗣 (1984) 最近流行した豚コレラウイルスと原稿ワクチンの効果. 動生協会誌 17 (1), 3 ~ 16.
63. 西口明子、西田岳史、青木博史、嶋崎智章、蒲生恒一郎、関口秀人、鈴木祥子、

高橋周子、衛藤真理子、中村成幸、福所秋雄（2002）牛ウイルス性下痢・粘膜病ウイルスの豚に対する感染試験．農林水産省動物医薬品検査所年報，39，21-23.