

## トピックス

## 2. 豚コレラウイルス

迫田 義博<sup>1,2,3)</sup>

1) 北海道大学 大学院獣医学研究院 微生物学教室

2) 北海道大学 国際連携研究教育局

3) 国際獣疫事務局 (OIE) 高病原性鳥インフルエンザ レファレンスラボラトリー

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のウイルスの1つである。このウイルスによるブタとイノシシの感染症である豚コレラは、口蹄疫やアフリカ豚コレラと同様に養豚において最も恐れられているブタの感染症である。2018年9月に国内としては26年ぶりに発生が報告され、56事例の感染が報告されている。感染拡大の要因は野生イノシシにおけるウイルスの蔓延であるが、野生動物における感染症のコントロールには時間がかかる。よって養豚場における衛生対策の徹底を継続することが必要である。本稿では、豚コレラウイルスを含むペスチウイルス属のウイルスに関する最新情報と日本における豚コレラの対策について紹介する。

## 1. ペスチウイルス属の分類と国内でのウイルス分離状況

フラビウイルス科ペスチウイルス属は、豚コレラウイルス、牛ウイルス性下痢 (BVD) ウイルス、羊のボーダー病ウイルスが野外での分離の中心を占める。豚コレラウイルスは現在でもブタとイノシシにおける感染の報告に限られる。一方 BVD ウイルスやボーダー病ウイルスは、ウシ、ブタ、ヒツジなどの家畜やシカなどの野生動物からも分離され、宿主域が広い。これらに加え、近年様々な動物種から新しいペスチウイルスが発見されており、その分類法が見直された<sup>1)</sup>。最新の分類では、ペスチウイルス属はペスチウイルス A からペスチウイルス K までの 11 種に分類され、豚コレラウイルスはペスチウイルス C である (表 1)。なお、ペスチウイルスはこれまで陸生動物からのみ分離されてきたが、水生動物からも新たなウイルス種が同定され、宿主域の多様性に関心が高まっている<sup>2)</sup>。

国内ではペスチウイルス A および B に分類される BVD

ウイルス遺伝子型 1 および遺伝子型 2 がウシから分離されている<sup>3)</sup>。ペスチウイルス C に分類される豚コレラウイルスは、20 世紀には 1986 年に沖縄県でウイルスが分離されたのが最後で 1992 年の熊本県での最終発生以降、国内でウイルスは分離されていない<sup>4)</sup>。ちなみに 1992 年の熊本県での発生では豚コレラウイルスは分離されておらず、組織中のウイルス抗原の検出のみで診断された。後述の通り、2018 年に 26 年ぶりに豚コレラの発生が報告され、ブタとイノシシから多数のウイルスが分離されている<sup>5)</sup>。ペスチウイルス D に分類されるボーダー病ウイルスは、日本では過去にブタから分離されたことがある<sup>6)</sup>。ブタから分離された FNK2012-1 株は、本来の宿主であるヒツジに対する病原性がより高いことがわかっているが<sup>7)</sup>、ヒツジにおける流行状況は不明である。日本ではその他のペスチウイルスの分離報告はないが、近年世界各国で先天性痙攣症 (ダンス病) の原因ウイルスとして非定型豚ペスチウイルスが同定されており<sup>8,9)</sup>、国内でもウイルスの分離およびその性状解析が待たれている。

なお、現在中国を中心としてアジア各国で猛威を振っているアフリカ豚コレラは、その臨床症状が豚コレラと似ているため、混同されることが多い。しかしアフリカ豚コレラウイルスはアスファウイルス科の 2 本鎖 DNA ウイルスであり、遺伝的にも抗原的にも全くの別のウイルスである。

## 2. 豚コレラウイルスの基本性状と感染サイクル

豚コレラウイルスを含むペスチウイルスは、直径 40-

## 連絡先

〒 060-0818

札幌市北区北 18 条西 9 丁目北海道大学

大学院獣医学研究院 微生物学教室

TEL: 011-706-5207

FAX: 011-706-5273

E-mail: sakoda@vetmed.hokudai.ac.jp

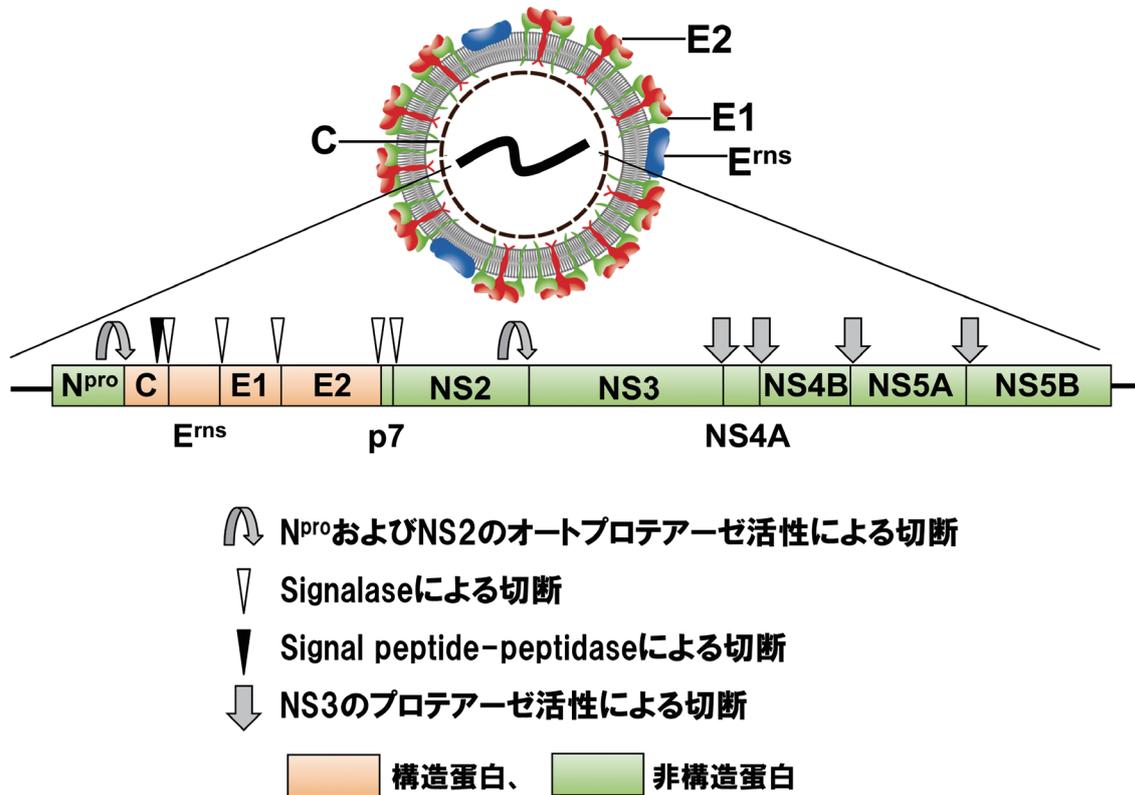


図1 ペスチウイルスのゲノム構造

翻訳されたポリプロテインはウイルス由来のプロテアーゼ、宿主由来の signalase や signal peptide-peptidase によってプロセッシングされる。ウイルス粒子は大阪大学 蛋白質研究所 杉田征彦先生の原因。

60nm でエンベロープを有する<sup>10)</sup>。ウイルスゲノムは約 12.3kb のプラス 1 本鎖 RNA である<sup>11, 12)</sup>。ウイルス遺伝子には 5' 末端のキャップ構造、また 3' 末端の polyA を共に欠く<sup>11-13)</sup>。Internal ribosomal entry site (IRES) を含む約 380bp の 5' 非翻訳領域<sup>14)</sup> と 180-270bp の 3' 非翻訳領域の間に約 4000 のアミノ酸がコードされている<sup>11, 15, 16)</sup>。ウイルス RNA は 1 本のポリプロテインとして翻訳された後、プロテアーゼ活性を有するウイルス蛋白 (N<sup>pro</sup>, NS2, NS3) や宿主の Signalase, Signal peptide-peptidase などによりプロセッシングを受ける。開始コドンの直後は非構造蛋白 N<sup>pro</sup>、その後構造蛋白 (C, E<sup>rns</sup>, E1, E2) をはさんで p7, NS2-3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B の順にコードされている<sup>11, 17-26)</sup> (図 1)。非構造蛋白 N<sup>pro</sup> と構造蛋白 E<sup>rns</sup> はペスチウイルスに特有のウイルス蛋白であり、詳細は後述する。それ以外のウイルス蛋白は、他のフラビウイルス科、特に C 型肝炎ウイルスで明らかにされた機能を同様に有する<sup>27, 28)</sup>。

豚コレラウイルスは、ウイルス糖蛋白 E<sup>rns</sup> がグリコサミノグリカンを含むヘパラン硫酸やラミニンに結合することにより細胞表面への吸着が開始される<sup>29, 30)</sup>。BVD ウイルスの解析結果<sup>31)</sup> から、豚コレラウイルスもクラスリン

依存性のエンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれ脱核すると考えられる。ウイルスゲノムの複製は NS3 以降 NS5B までの非構造蛋白により行われる<sup>32, 33)</sup>。ウイルス蛋白の翻訳は、キャップ非依存的に IRES を用いてリボソーム上で行われる<sup>14)</sup>。翻訳されたポリプロテインは上述の通りプロセッシングを受け、個々のウイルス蛋白に分かれる。陽性の電荷を持ったコア蛋白はウイルス RNA と非特異的に結合し、ウイルスの粒子形成の最初のステップが始まる<sup>34)</sup>。このコア蛋白と RNA の複合体 (ヌクレオプロテイン) は、E<sup>rns</sup>, E1, E2 を含む小胞体の脂質二重膜で覆われる<sup>35)</sup>。ウイルス粒子は最終的にゴルジ体を通じてエキソサイトーシスにより細胞外に放出される<sup>35)</sup>。

### 3. 豚コレラウイルスのブタに対する病原性

豚コレラウイルスは伝播力と病原性が強く、また治療法もないため、農林水産省の家畜伝染病予防法において法定伝染病に指定されている。発生農場のブタはすべて殺処分され、ウイルスの封じ込めが行われる。豚コレラウイルスは口、鼻から体内に侵入し、最初に扁桃で増殖する。その後、リンパ流を介してリンパ組織、骨髄、血管内皮細胞で増殖後、ウイルス血症を起こし、全身臓器で増殖する。ウ

表1 フラビウイルス科ペスチウイルス属の新しい分類 (Smith ら、2017<sup>1)</sup> を改変)

ウイルス種名	ウイルス名	宿主動物	疾病
<i>Pestivirus A</i>	牛ウイルス性下痢ウイルス1型	ウシ、ヒツジ、その他反芻動物、ブタ	牛ウイルス性下痢症、粘膜病
<i>Pestivirus B</i>	牛ウイルス性下痢ウイルス2型	ウシ、ヒツジ、その他反芻動物、ブタ	牛ウイルス性下痢症、粘膜病
<i>Pestivirus C</i>	豚コレラウイルス	ブタ、イノシシ	豚コレラ
<i>Pestivirus D</i>	ボーダー病ウイルス	ヒツジ、トナカイ、シャモア、その他反芻動物、ブタ	ボーダー病
<i>Pestivirus E</i>	Pronghorn ペスチウイルス	アンテロープ	不明
<i>Pestivirus F</i>	ボンゴワナウイルス	ブタ	豚心筋炎症候群
<i>Pestivirus G</i>	Giraffe ペスチウイルス	キリン、ウシ	致死的な粘膜病 (キリン)、不明 (ウシ)
<i>Pestivirus H</i>	Hobi-like ペスチウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス3型	ウシ、バウファロー	牛ウイルス性下痢症、粘膜病
<i>Pestivirus I</i>	Aydin-like ペスチウイルス	ヒツジ、ヤギ	流産、先天性奇形
<i>Pestivirus J</i>	ラットペスチウイルス	ラット	不明
<i>Pestivirus K</i>	非定型豚ペスチウイルス	ブタ	先天性痙攣症 (ダンス病)

ウイルスの病原性の強さやブタの品種・週齢により病型は大きく、急性型、慢性型、不顕性型に分けられる (図2)<sup>36)</sup>。近年野外で流行している豚コレラウイルスは中等度の病原性の株が多く、病型としては「急性型」と「慢性型」の中間程度と考えて良い<sup>37, 38)</sup>。すなわち、今回国内で流行しているウイルスもブタに対する病原性は中程度で、感染後発症するまでの期間 (潜伏期) が長く、感染後死亡までに要する日数も長い。このことが農家での本病発見の遅れの原因であり、かつイノシシでの感染が止まらない要因でもある。

近縁のBVDウイルスでは胎盤をウイルスが通過し、持続感染牛として出生することにより牛群の汚染源になることがよく知られている<sup>39)</sup>。一方、豚コレラウイルスも妊娠豚に感染すると稀に胎盤感染後に持続感染豚が産出されることが考えられてきた。しかし、近年流行している中程度の病原性を持つ豚コレラウイルスは胎盤感染を必要とせず、出生直後の子ブタへの感染により持続感染が成立することが明らかにされた<sup>40, 41)</sup>。すなわち、2018年から発生が報告されている国内におけるウイルス感染においても持続感染ブタもしくは持続感染イノシシが容易に生まれ、感染源になっていると考えられる。

#### 4. 豚コレラウイルスの病原性の分子基盤

フラビウイルス科の他の属のウイルスと比べ、N<sup>pro</sup>とE<sup>rns</sup>がペスチウイルスに特有な蛋白である。これらは豚コレラウイルスの病原性においても大きな役割を果たすことがわかってきた。このN<sup>pro</sup>とE<sup>rns</sup>を中心に豚コレラウイルスの病原性に関与する代表的なウイルス蛋白の機能を以下にまとめる。

##### 1) N<sup>pro</sup>

N<sup>pro</sup>はポリプロテインのN末端にコードされている20kdの蛋白である<sup>42)</sup>。Glu22-His49-Cys69を活性中心とするオートプロテアーゼ活性があり、自身とコア蛋白の間を切断する<sup>25, 43)</sup>。N<sup>pro</sup>を欠損させたウイルスも培養細胞で増殖するのでウイルスの複製には必須ではないが、N<sup>pro</sup>の欠損により感染細胞でのI型IFN産生が増強される<sup>44)</sup>。この報告以降、N<sup>pro</sup>が自然免疫調節因子として機能するメカニズムに関する研究が進み、N<sup>pro</sup>の持つプロテアーゼ活性とは独立してインターフェロン調節因子3 (IRF-3)をプロテアソーム系により分解し、I型IFNの産生を抑制することが明らかになった<sup>45, 46)</sup>。I型IFN産生を誘導するウイルス株と抑制する株のN<sup>pro</sup>のアミノ酸の比較から、40番目、112番目、136番目のアミノ酸がその差に重要であり、細胞内におけるN<sup>pro</sup>のIRF-3との結合やN<sup>pro</sup>自身の細胞内における安定性に関与していることがわかった<sup>47, 48)</sup>。さらに、N<sup>pro</sup>はインターフェロン調節因子7 (IRF-7)を介する形質細胞様樹状細胞を中心とした自然免疫の抑制にも関与していることが明らかになった<sup>49)</sup>。そしてこれらの蛋白機能の差がブタに対する病原性にも関与することもわかった<sup>47, 50)</sup>。以上より、ペスチウイルスの非構造蛋白N<sup>pro</sup>は、宿主の自然免疫を抑制することによりウイルスが増殖しやすい環境を作ることが明らかになった。

##### 2) E<sup>rns</sup>

E<sup>rns</sup>は44-48kdの糖蛋白で、ホモ二量体を形成しウイルス粒子表面に存在する<sup>22, 51)</sup>。膜貫通領域をもたないもので、二量体のまま感染細胞上清中にも分泌される<sup>52)</sup>。またE<sup>rns</sup>に対する抗体は中和能を有する<sup>53)</sup>。E<sup>rns</sup>はT<sub>2</sub>RNaseファミリーのリボヌクレアーゼ活性を有するが、この活性

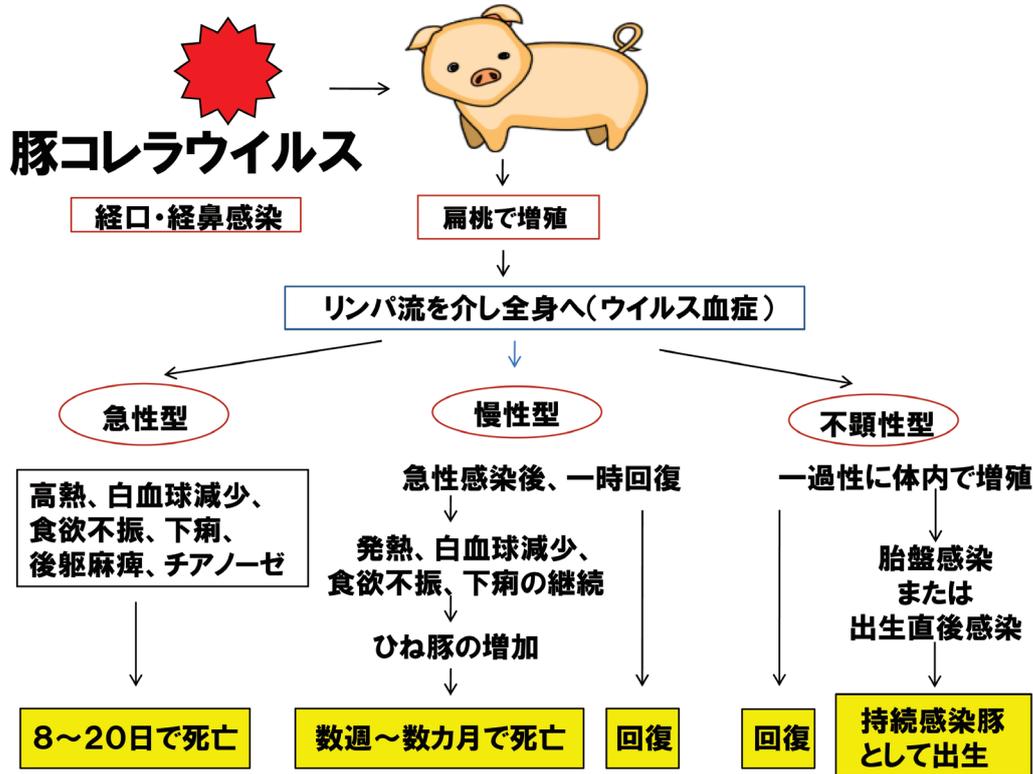


図2 豚コレラウイルスの発病機序

はウイルスの増殖複製には必須ではない<sup>54)</sup>。E<sup>rns</sup>はRNase活性を保持したまま細胞外に分泌されるので、2本鎖RNAによる細胞外からのI型IFN誘導を抑制する<sup>55, 56)</sup>。このようにE<sup>rns</sup>は、N<sup>pro</sup>とは異なる作用機序によりI型IFNの誘導を抑制する。このRNase活性やホモ二量体の形成に重要なアミノ酸を置換した変異体はブタに対する病原性が低下した<sup>57, 58)</sup>。また、形質細胞様樹状細胞がウイルス感染細胞を効率的に検出する生体防御機能をE<sup>rns</sup>が阻害することによりウイルスの持続感染が成立すると考えられる<sup>59)</sup>。以上より、ペスチウイルスの構造蛋白E<sup>rns</sup>も宿主の自然免疫を抑制し、宿主でウイルスが増殖しやすい環境を作ることがわかった。近年、日本脳炎ウイルスのNS1やC型肝炎ウイルス粒子に付着する宿主由来アポリポ蛋白と機能的に類似することが示され<sup>60)</sup>、フラビウイルス科のウイルス属間の共通因子として解明が進むことが望まれる。

3) NS4B

NS4Bは38kdの疎水性蛋白で、ヌクレオチド三リン酸分解酵素(NTPase)活性がある<sup>61, 62)</sup>。他のフラビウイルス科のウイルスと同様に小胞体膜に埋まる形で存在し、ウイルスゲノムの複製に関与すると考えられている<sup>63, 64)</sup>。ペスチウイルスのNS4BにはToll/IL-1 receptor (TIR)様のアミノ酸モチーフが存在し、この配列をアラニンに置き

換えたウイルスは豚に対する病原性が親株より低下した<sup>65)</sup>。これはNS4BのTIR様ドメインが、Toll like receptor 7を介したサイトカインの誘導抑制に働くが、アミノ酸置換によりその機能が失われたためと考えられる<sup>65)</sup>。またNS4Bのアミノ酸変異がウイルス複製効率を上昇させ、これがブタに対する病原性因子になることが明らかになった<sup>50, 66)</sup>。NS4Bを含むウイルスゲノム複製ユニットのポリメラーゼ活性の調節に関する研究も病原性解明の上で今後も必要である。

5. 26年ぶりの国内における豚コレラの発生

2018年9月9日、26年ぶりに岐阜県の養豚場で豚コレラの発生が報告された。2020年2月6日現在、養豚場および飼養イノシシにおける発生は56事例(防疫措置の対象は95農場と4つのと畜場)となり、16万頭を超えるブタや飼養イノシシが淘汰された。初発の岐阜県に加え、愛知県、滋賀県、大阪府、長野県、三重県、福井県、山梨県、埼玉県、沖縄県でも発生が報告されている(https://www.maff.go.jp/j/syuan/douei/csf/) (図3)。発生が続く一番の要因が野生イノシシにおける豚コレラウイルスの感染拡大である。2018年9月13日に岐阜県の野生イノシシからウイルスが検出されて以降、現在までに12県の1800頭以上の陽性イノシシが見つかった(https://www.maff.

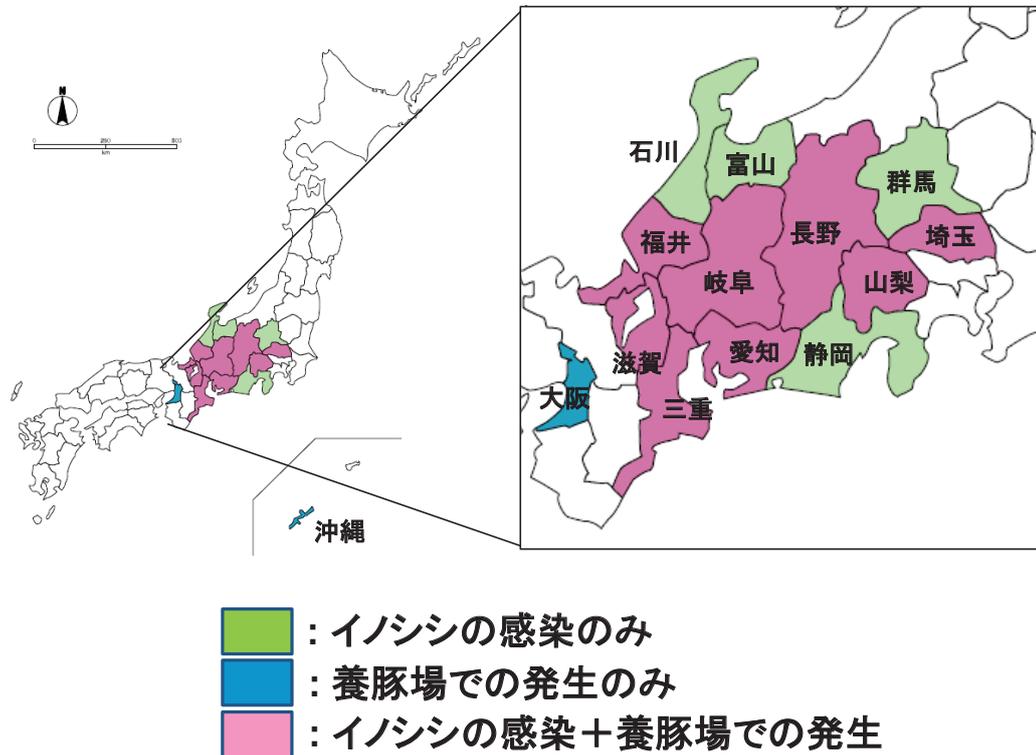


図3 2018年9月以降に豚コレラウイルスの感染が確認された府県  
 農林水産省のデータを基に作成。2020年2月6日現在。

go.jp/j/syouan/douei/csf/).

ウイルスの侵入経路について考察したい。動物衛生研究部門の解析によると、イノシシから分離されたウイルスと養豚場で分離されたウイルスは遺伝的に同一（遺伝子型2）であった<sup>5)</sup>。また分離ウイルスが近年アジア特に中国で流行しているウイルスと遺伝的に似ていること、さらに発生農場での残飯給餌がないことから、ウイルスに汚染した豚肉が海外から違法に持ち込まれ、野生イノシシにおける感染の要因になったと考えられる。日本には豚コレラ汚染国からたくさんの旅行客が毎日訪れている。その結果、法令で持ち込みが禁止されている肉製品の密輸も後を絶たず、その中から感染性のある家畜重要感染症のウイルスも分離されている<sup>67)</sup>。将来の発生防止に備え、空港や港における水際検疫に加え、違法汚染肉が野生動物の口に入らないような「野生動物バイオセキュリティ」の概念の理解と実行が求められる。

感染拡大の要因は、農場における衛生対策すなわち「農場バイオセキュリティ」の不徹底と「イノシシ対策」への初動の遅れである。欧米の家畜衛生先進国同様、豚コレラ清浄国の復帰を目標として衛生対策の徹底を図りたい日本では、飼養衛生管理基準の遵守が不可欠である。発生農場での原因究明に関する国の疫学調査チームの報告では、作業服の着替え、消毒の徹底、野鳥や野生動物の侵入防止

などの不備が指摘されている (<https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/csf/>)。また岐阜県の欧州視察団の報告書では、養豚が盛んかつアフリカ豚コレラの問題にすでに直面している欧州の養豚場は、日本の specific-pathogen-free (SPF) 養豚場並みとの報告もある (<https://www.pref.gifu.lg.jp/event-calendar/11449/CSF-EuropeFieldSurvey.html>)。一朝一夕にならぬとも、養豚場の施設面の大幅な改修と日々の衛生対策のルールの遵守が一層求められている。

## 6. 豚コレラの診断と予防

豚コレラの診断では、体温測定、血液検査の後、扁桃などの臓器や血液を材料としたウイルス抗原の検出が重要である。これまでは扁桃を用いた凍結切片法が迅速診断の基本だったが、時代の流れの中で遺伝子診断、特にリアルタイム PCR の現場での活用が望まれている<sup>68)</sup>。抗体検査はウイルス感染後2週以降に陽性になるので緊急診断には適さないが、過去の感染の有無やワクチンによる免疫状況を把握するために有用である。国内ではスクリーニングとしての ELISA と確定検査としての中和試験が普及している<sup>69,70)</sup>。

日本は2007年に国際獣疫事務局 (OIE) により豚コレラ清浄国と認められた。清浄国として認定されるためにはワクチンを接種することなく、豚コレラの発生がないこと

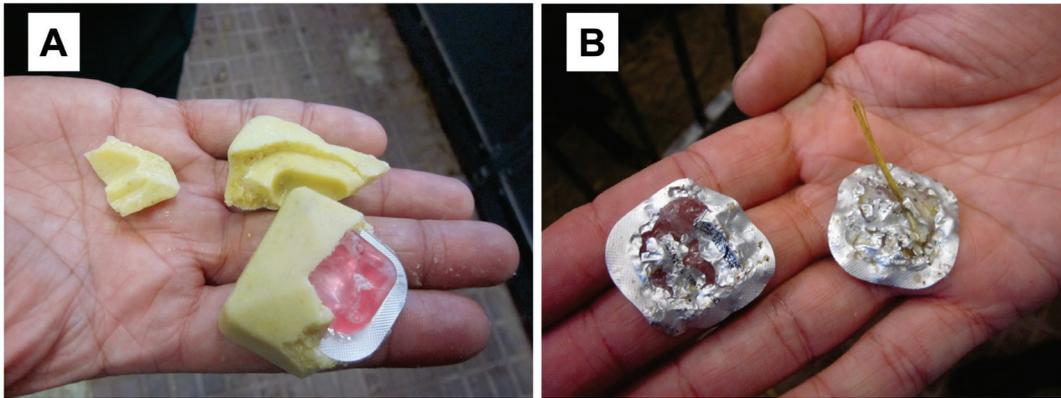


図4 イノシシ用経口餌ワクチン

A: ワクチンは小さなプラスチック容器内に生ワクチンC株が詰められ、その外側をイノシシが食べやすいようにトウモロコシの粉で覆われている。B: イノシシがワクチンを食べた後のプリスターパック。写真はドイツ Friedrich Loeffler Institute の S. Blome 博士より提供。

を確認する必要がある。政府は2018年に国内の養豚場で発生が報告された後も清浄国へ早期に復帰するためにブタへのワクチン接種を認めていなかった。しかし2019年10月、イノシシにおける豚コレラウイルスの封じ込めに相当な時間を要すると判断し、ブタへのワクチン接種を開始した。ワクチン株は1969年から国内で使用されてきたGPE<sup>-</sup>ワクチンである<sup>71)</sup>。有効性と安全性に優れたワクチンではあるが、ワクチン接種による抗体と野外感染による抗体を識別する技術は持ち合わせていない。我が国がワクチン接種を中止し清浄国に復帰する最終段階には、諸外国で利用が検討されているワクチンマーカーワクチン<sup>72, 73)</sup>の実用化が望まれる。

#### 7. イノシシ対策 一問題終結の要一

日本での豚コレラ撲滅の鍵は、ウイルスの元栓であるイノシシにおけるウイルスの感染を抑えることである。すでに2018年9月の初発生から1年が経過している。もしウイルス感染が養豚場のみであったと仮定すると、ウイルスの封じ込めは達成され、清浄国に復帰していただろう。問題が長期化する要因が、イノシシにおけるウイルスの蔓延である。豚コレラウイルスのイノシシにおける感受性は、ブタと同等と考えて良く、野外においても感染して死亡するものや、長期間ウイルスをまき散らしながら野山を走り回るものがある<sup>74)</sup>。国と都道府県はイノシシ対策として以下を進めている。①イノシシの個体数を減らすための積極的な捕獲（罠猟または銃猟）、②野外で発見された死亡イノシシ（次の感染源）の適切な処分、③ヨーロッパで実績のあるイノシシに対する経口餌ワクチン（弱毒生ワクチンC株を含有）の散布（図4）がその柱である。これらの対策は過去にヨーロッパでの経験<sup>75, 76)</sup>を基に立案され、実行されている。しかし相手が野生動物のため、それぞれの対策に100%の効果を期待するのは難しく、効果が見え

るまでに時間を要する。対策の実施にあたっては、費用対効果を検証し、適宜軌道修正することも必要である。

#### 8. おわりに：再び豚コレラを撲滅するために

物流の加速化に伴い、越境性動物感染症のリスクが日々高まっている。この時代に安心して養豚業を続けてもらうためには、国の先回り対策の立案、地方自治体のその実行に加え、養豚施設とそこでの日々の作業手順の抜本的な改善が早急に求められている。同時に、豚コレラウイルスの研究の裾野を広げ、ウイルス増殖や病原性のメカニズムの解明を進める必要がある。このことが新しい診断、予防、治療技術の開発にもつながり、我が国における豚コレラ撲滅に寄与する。そのためにも豚コレラ対策に関わる多方面にわたる人材育成が急務で、国立研究機関や大学さらに地方関係組織が中心となった、教育と啓蒙を目的とする豚コレラ対策コンソーシアムの設立が望まれる。

#### 謝 辞

本稿を準備するにあたり、豚コレラの研究を25年間続けることを支えてくださった、北海道大学名誉教授の清水悠紀臣先生、喜田宏先生、元日本獣医生命科学大学教授の故 福所秋雄先生に深く御礼申し上げます。またウイルス粒子の原図を学生時代に作成してくれた、大阪大学蛋白質研究所 杉田征彦先生に深く御礼申し上げます。最後に、北海道大学大学院獣医学研究院微生物学教室のスタッフ、学生の皆さんにも心より感謝申し上げます。

#### 利益相反開示について

本稿に関し、開示すべき利益相反関係にある企業等はありません。

## 参考文献

- 1) Smith DB, Meyers G, Bukh J, Gould EA, Monath T, Scott Muerhoff A, Pletnev A, Rico-Hesse R, Stapleton JT, Simmonds P, Becher P. Proposed revision to the taxonomy of the genus Pestivirus, family Flaviviridae. *J Gen Virol* 98:2106-2112, 2017.
- 2) Jo WK, van Elk C, van de Bildt M, van Run P, Petry M, Jesse ST, Jung K, Ludlow M, Kuiken T, Osterhaus A. An evolutionary divergent pestivirus lacking the N(pro) gene systemically infects a whale species. *Emerg Microbes Infect* 8:1383-1392, 2019.
- 3) Abe Y, Tamura T, Torii S, Wakamori S, Nagai M, Mitsuhashi K, Mine J, Fujimoto Y, Nagashima N, Yoshino F, Sugita Y, Nomura T, Okamatsu M, Kida H, Sakoda Y. Genetic and antigenic characterization of bovine viral diarrhoea viruses isolated from cattle in Hokkaido, Japan. *J Vet Med Sci* 78:61-70, 2016.
- 4) Sakoda Y, Ozawa S, Damrongwatanapokin S, Sato M, Ishikawa K, Fukusho A. Genetic heterogeneity of porcine and ruminant pestiviruses mainly isolated in Japan. *Vet Microbiol* 65:75-86, 1999.
- 5) Postel A, Nishi T, Kameyama KI, Meyer D, Suckstorff O, Fukai K, Becher P. Reemergence of Classical Swine Fever, Japan, 2018. *Emerg Infect Dis* 25:1228-1231, 2019.
- 6) Nagai M, Aoki H, Sakoda Y, Kozasa T, Tominaga-Teshima K, Mine J, Abe Y, Tamura T, Kobayashi T, Nishine K, Tateishi K, Suzuki Y, Fukuhara M, Ohmori K, Todaka R, Katayama K, Mizutani T, Nakamura S, Kida H, Shirai J. Molecular, biological, and antigenic characterization of a Border disease virus isolated from a pig during classical swine fever surveillance in Japan. *J Vet Diagn Invest* 26:547-552, 2014.
- 7) Tamura T, Mine J, Torii S, Fujimoto Y, Okamatsu M, Sakoda Y. Pathogenicity of border disease virus FNK2012-1 strain isolated from a pig in the natural host, sheep. *J Vet Med Sci* 77:341-3, 2015.
- 8) Postel A, Hansmann F, Baechlein C, Fischer N, Alawi M, Grundhoff A, Derking S, Tenhundfeld J, Pfankuche VM, Herder V, Baumgartner W, Wendt M, Becher P. Presence of atypical porcine pestivirus (APPV) genomes in newborn piglets correlates with congenital tremor. *Sci Rep* 6:27735, 2016.
- 9) Postel A, Meyer D, Cagatay GN, Feliziani F, De Mia GM, Fischer N, Grundhoff A, Milicevic V, Deng MC, Chang CY, Qiu HJ, Sun Y, Wendt M, Becher P. High Abundance and Genetic Variability of Atypical Porcine Pestivirus in Pigs from Europe and Asia. *Emerg Infect Dis* 23:2104-2107, 2017.
- 10) Moennig V, Plagemann PG. The pestiviruses. *Adv Virus Res* 41:53-98, 1992.
- 11) Collett MS, Larson R, Belzer SK, Retzel E. Proteins encoded by bovine viral diarrhoea virus: the genomic organization of a pestivirus. *Virology* 165:200-8, 1988.
- 12) Meyers G, Rumenapf T, Thiel HJ. Molecular cloning and nucleotide sequence of the genome of hog cholera virus. *Virology* 171:555-67, 1989.
- 13) Deng R, Brock KV. 5' and 3' untranslated regions of pestivirus genome: primary and secondary structure analyses. *Nucleic Acids Res* 21:1949-57, 1993.
- 14) Fletcher SP, Jackson RJ. Pestivirus internal ribosome entry site (IRES) structure and function: elements in the 5' untranslated region important for IRES function. *J Virol* 76:5024-33, 2002.
- 15) Collett MS, Wiskerchen M, Welniak E, Belzer SK. Bovine viral diarrhoea virus genomic organization. *Arch Virol Suppl* 3:19-27, 1991.
- 16) Meyers G, Tautz N, Stark R, Brownlie J, Dubovi EJ, Collett MS, Thiel HJ. Rearrangement of viral sequences in cytopathogenic pestiviruses. *Virology* 191:368-86, 1992.
- 17) Collett MS, Moennig V, Horzinek MC. Recent advances in pestivirus research. *J Gen Virol* 70 ( Pt 2):253-66, 1989.
- 18) Elbers K, Tautz N, Becher P, Stoll D, Rumenapf T, Thiel HJ. Processing in the pestivirus E2-NS2 region: identification of proteins p7 and E2p7. *J Virol* 70:4131-5, 1996.
- 19) Harada T, Tautz N, Thiel HJ. E2-p7 region of the bovine viral diarrhoea virus polyprotein: processing and functional studies. *J Virol* 74:9498-506, 2000.
- 20) Heimann M, Roman-Sosa G, Martoglio B, Thiel HJ, Rumenapf T. Core protein of pestiviruses is processed at the C terminus by signal peptide peptidase. *J Virol* 80:1915-21, 2006.
- 21) Lackner T, Muller A, Konig M, Thiel HJ, Tautz N. Persistence of bovine viral diarrhoea virus is determined by a cellular cofactor of a viral autoprotease. *J Virol* 79:9746-55, 2005.
- 22) Rumenapf T, Unger G, Strauss JH, Thiel HJ. Processing of the envelope glycoproteins of pestiviruses. *J Virol* 67:3288-94, 1993.
- 23) Bintintan I, Meyers G. A new type of signal peptidase cleavage site identified in an RNA virus polyprotein. *J Biol Chem* 285:8572-84, 2010.
- 24) Tautz N, Elbers K, Stoll D, Meyers G, Thiel HJ. Serine protease of pestiviruses: determination of cleavage sites. *J Virol* 71:5415-22, 1997.
- 25) Wiskerchen M, Belzer SK, Collett MS. Pestivirus gene expression: the first protein product of the bovine viral diarrhoea virus large open reading frame, p20, possesses proteolytic activity. *J Virol* 65:4508-14, 1991.
- 26) Xu J, Mendez E, Caron PR, Lin C, Murcko MA, Collett MS, Rice CM. Bovine viral diarrhoea virus NS3 serine proteinase: polyprotein cleavage sites, cofactor requirements, and molecular model of an enzyme essential for pestivirus replication. *J Virol* 71:5312-22, 1997.
- 27) Knipe DM, Howley PM. 2013. *Fields virology*, 6th ed. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health, Philadelphia, PA.
- 28) Fields BN, Knipe DM, Howley PM. 2007. *Fields virology*, 5th ed. Wolters Kluwer Health / Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia ; London.
- 29) Chen J, He WR, Shen L, Dong H, Yu J, Wang X, Yu S, Li Y, Li S, Luo Y, Sun Y, Qiu HJ. The laminin receptor is a cellular attachment receptor for classical Swine Fever virus. *J Virol* 89:4894-906, 2015.

- 30) Hulst MM, van Gennip HG, Vlot AC, Schooten E, de Smit AJ, Moormann RJ. Interaction of classical swine fever virus with membrane-associated heparan sulfate: role for virus replication in vivo and virulence. *J Virol* 75:9585-95, 2001.
- 31) Grummer B, Grotha S, Greiser-Wilke I. Bovine viral diarrhoea virus is internalized by clathrin-dependent receptor-mediated endocytosis. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 51:427-32, 2004.
- 32) Behrens SE, Grassmann CW, Thiel HJ, Meyers G, Tautz N. Characterization of an autonomous subgenomic pestivirus RNA replicon. *J Virol* 72:2364-72, 1998.
- 33) Moser C, Stettler P, Tratschin JD, Hofmann MA. Cytopathogenic and noncytopathogenic RNA replicons of classical swine fever virus. *J Virol* 73:7787-94, 1999.
- 34) Murray CL, Marcotrigiano J, Rice CM. Bovine viral diarrhoea virus core is an intrinsically disordered protein that binds RNA. *J Virol* 82:1294-304, 2008.
- 35) Murray CL, Jones CT, Rice CM. Architects of assembly: roles of Flaviviridae non-structural proteins in virion morphogenesis. *Nat Rev Microbiol* 6:699-708, 2008.
- 36) Zimmerman JJ. 2012. *Diseases of swine*, 10th ed. Wiley-Blackwell, Chichester, West Sussex.
- 37) Enkhbold B, Shatar M, Wakamori S, Tamura T, Hiono T, Matsuno K, Okamoto M, Umemura T, Damdinjav B, Sakoda Y. Genetic and virulence characterization of classical swine fever viruses isolated in Mongolia from 2007 to 2015. *Virus Genes* 53:418-425, 2017.
- 38) Kameyama KI, Nishi T, Yamada M, Masujin K, Morioaka K, Kokuho T, Fukai K. Experimental infection of pigs with a classical swine fever virus isolated in Japan for the first time in 26 years. *J Vet Med Sci* 81:1277-1284, 2019.
- 39) Sakoda Y. [Pestivirus]. *Uirusu* 61:239-48, 2011.
- 40) Munoz-Gonzalez S, Ruggli N, Rosell R, Perez LJ, Frias-Leuporeau MT, Fraile L, Montoya M, Cordoba L, Domingo M, Ehrensperger F, Summerfield A, Ganges L. Postnatal persistent infection with classical Swine Fever virus and its immunological implications. *PLoS One* 10:e0125692, 2015.
- 41) Cabezon O, Colom-Cadena A, Munoz-Gonzalez S, Perez-Simo M, Bohorquez JA, Rosell R, Marco I, Domingo M, Lavin S, Ganges L. Post-Natal Persistent Infection With Classical Swine Fever Virus in Wild Boar: A Strategy for Viral Maintenance? *Transbound Emerg Dis* 64:651-655, 2017.
- 42) Gottipati K, Ruggli N, Gerber M, Tratschin JD, Benning M, Bellamy H, Choi KH. The structure of classical swine fever virus N(pro): a novel cysteine Autoprotease and zinc-binding protein involved in subversion of type I interferon induction. *PLoS Pathog* 9:e1003704, 2013.
- 43) Rumenapf T, Stark R, Heimann M, Thiel HJ. N-terminal protease of pestiviruses: identification of putative catalytic residues by site-directed mutagenesis. *J Virol* 72:2544-7, 1998.
- 44) Tratschin JD, Moser C, Ruggli N, Hofmann MA. Classical swine fever virus leader proteinase Npro is not required for viral replication in cell culture. *J Virol* 72:7681-4, 1998.
- 45) Seago J, Goodbourn S, Charleston B. The classical swine fever virus Npro product is degraded by cellular proteasomes in a manner that does not require interaction with interferon regulatory factor 3. *J Gen Virol* 91:721-6, 2010.
- 46) Bauhofer O, Summerfield A, Sakoda Y, Tratschin JD, Hofmann MA, Ruggli N. Classical swine fever virus Npro interacts with interferon regulatory factor 3 and induces its proteasomal degradation. *J Virol* 81:3087-96, 2007.
- 47) Ruggli N, Summerfield A, Fiebach AR, Guzylack-Piriou L, Bauhofer O, Lamm CG, Waltersperger S, Matsuno K, Liu L, Gerber M, Choi KH, Hofmann MA, Sakoda Y, Tratschin JD. Classical swine fever virus can remain virulent after specific elimination of the interferon regulatory factor 3-degrading function of Npro. *J Virol* 83:817-29, 2009.
- 48) Mine J, Tamura T, Mitsuhashi K, Okamoto M, Parchariyanon S, Pinyochon W, Ruggli N, Tratschin JD, Kida H, Sakoda Y. The N-terminal domain of Npro of classical swine fever virus determines its stability and regulates type I IFN production. *J Gen Virol* 96:1746-56, 2015.
- 49) Fiebach AR, Guzylack-Piriou L, Python S, Summerfield A, Ruggli N. Classical swine fever virus N(pro) limits type I interferon induction in plasmacytoid dendritic cells by interacting with interferon regulatory factor 7. *J Virol* 85:8002-11, 2011.
- 50) Tamura T, Nagashima N, Ruggli N, Summerfield A, Kida H, Sakoda Y. Npro of classical swine fever virus contributes to pathogenicity in pigs by preventing type I interferon induction at local replication sites. *Vet Res* 45:47, 2014.
- 51) Thiel HJ, Stark R, Weiland E, Rumenapf T, Meyers G. Hog cholera virus: molecular composition of virions from a pestivirus. *J Virol* 65:4705-12, 1991.
- 52) Weiland F, Weiland E, Unger G, Saalmuller A, Thiel HJ. Localization of pestiviral envelope proteins E(rns) and E2 at the cell surface and on isolated particles. *J Gen Virol* 80 ( Pt 5):1157-65, 1999.
- 53) Weiland E, Ahl R, Stark R, Weiland F, Thiel HJ. A second envelope glycoprotein mediates neutralization of a pestivirus, hog cholera virus. *J Virol* 66:3677-82, 1992.
- 54) Schneider R, Unger G, Stark R, Schneider-Scherzer E, Thiel HJ. Identification of a structural glycoprotein of an RNA virus as a ribonuclease. *Science* 261:1169-71, 1993.
- 55) Magkouras I, Matzener P, Rumenapf T, Peterhans E, Schweizer M. RNase-dependent inhibition of extracellular, but not intracellular, dsRNA-induced interferon synthesis by Erns of pestiviruses. *J Gen Virol* 89:2501-6, 2008.
- 56) Iqbal M, Poole E, Goodbourn S, McCauley JW. Role for bovine viral diarrhoea virus Erns glycoprotein in the control of activation of beta interferon by double-stranded RNA. *J Virol* 78:136-45, 2004.

- 57) Tews BA, Schurmann EM, Meyers G. Mutation of cysteine 171 of pestivirus E rns RNase prevents homodimer formation and leads to attenuation of classical swine fever virus. *J Virol* 83:4823-34, 2009.
- 58) Meyers G, Ege A, Fetzer C, von Freyburg M, Elbers K, Carr V, Prentice H, Charleston B, Schurmann EM. Bovine viral diarrhea virus: prevention of persistent fetal infection by a combination of two mutations affecting Erns RNase and Npro protease. *J Virol* 81:3327-38, 2007.
- 59) Python S, Gerber M, Suter R, Ruggli N, Summerfield A. Efficient sensing of infected cells in absence of virus particles by plasmacytoid dendritic cells is blocked by the viral ribonuclease E(rns). *PLoS Pathog* 9:e1003412, 2013.
- 60) Fukuhara T, Tamura T, Ono C, Shiokawa M, Mori H, Uemura K, Yamamoto S, Kurihara T, Okamoto T, Suzuki R, Yoshii K, Kurosu T, Igarashi M, Aoki H, Sakoda Y, Matsuura Y. Host-derived apolipoproteins play comparable roles with viral secretory proteins Erns and NS1 in the infectious particle formation of Flaviviridae. *PLoS Pathog* 13:e1006475, 2017.
- 61) Lamp B, Riedel C, Roman-Sosa G, Heimann M, Jacobi S, Becher P, Thiel HJ, Rumenapf T. Biosynthesis of classical swine fever virus nonstructural proteins. *J Virol* 85:3607-20, 2011.
- 62) Gladue DP, Gavrillov BK, Holinka LG, Fernandez-Sainz IJ, Vepkhvadze NG, Rogers K, O'Donnell V, Risatti GR, Borca MV. Identification of an NTPase motif in classical swine fever virus NS4B protein. *Virology* 411:41-9, 2011.
- 63) Weiskircher E, Aligo J, Ning G, Konan KV. Bovine viral diarrhea virus NS4B protein is an integral membrane protein associated with Golgi markers and rearranged host membranes. *Virology* 411:185, 2009.
- 64) Qu L, McMullan LK, Rice CM. Isolation and characterization of noncytopathic pestivirus mutants reveals a role for nonstructural protein NS4B in viral cytopathogenicity. *J Virol* 75:10651-62, 2001.
- 65) Fernandez-Sainz I, Gladue DP, Holinka LG, O'Donnell V, Gudmundsdottir I, Prarat MV, Patch JR, Golde WT, Lu Z, Zhu J, Carrillo C, Risatti GR, Borca MV. Mutations in classical swine fever virus NS4B affect virulence in swine. *J Virol* 84:1536-49, 2010.
- 66) Tamura T, Sakoda Y, Yoshino F, Nomura T, Yamamoto N, Sato Y, Okamoto M, Ruggli N, Kida H. Selection of classical swine fever virus with enhanced pathogenicity reveals synergistic virulence determinants in E2 and NS4B. *J Virol* 86:8602-13, 2012.
- 67) Shibata A, Hiono T, Fukuhara H, Sumiyoshi R, Ohkawara A, Matsuno K, Okamoto M, Osaka H, Sakoda Y. Isolation and characterization of avian influenza viruses from raw poultry products illegally imported to Japan by international flight passengers. *Transbound Emerg Dis* 65:465-475, 2018.
- 68) Hoffmann B, Beer M, Schelp C, Schirrmeyer H, Depner K. Validation of a real-time RT-PCR assay for sensitive and specific detection of classical swine fever. *J Virol Methods* 130:36-44, 2005.
- 69) Sakoda Y, Hikawa M, Tamura T, Fukusho A. Establishment of a serum-free culture cell line, CPK-NS, which is useful for assays of classical swine fever virus. *J Virol Methods* 75:59-68, 1998.
- 70) Sakoda Y, Wakamoto H, Tamura T, Nomura T, Naito M, Aoki H, Morita H, Kida H, Fukusho A. Development and evaluation of indirect enzyme-linked immunosorbent assay for a screening test to detect antibodies against classical swine fever virus. *Jpn J Vet Res* 60:85-94, 2012.
- 71) Shimizu Y, Furuuchi S, Kumagai T, Sasahara J. A mutant of hog cholera virus inducing interference in swine testicle cell cultures. *Am J Vet Res* 31:1787-94, 1970.
- 72) Lim SI, Choe S, Kim KS, Jeoung HY, Cha RM, Park GS, Shin J, Park GN, Cho IS, Song JY, Hyun BH, Park BK, An DJ. Assessment of the efficacy of an attenuated live marker classical swine fever vaccine (Flc-LOM-BE(rns)) in pregnant sows. *Vaccine* 37:3598-3604, 2019.
- 73) Blome S, Wernike K, Reimann I, Konig P, Moss C, Beer M. A decade of research into classical swine fever marker vaccine CP7\_E2alf (Suvaxyn((R)) CSF Marker): a review of vaccine properties. *Vet Res* 48:51, 2017.
- 74) Petrov A, Blohm U, Beer M, Pietschmann J, Blome S. Comparative analyses of host responses upon infection with moderately virulent classical swine fever virus in domestic pigs and wild boar. *Virology* 457:113-124, 2014.
- 75) Rossi S, Pol F, Forot B, Masse-Provin N, Rigaux S, Bronner A, Le Potier MF. Preventive vaccination contributes to control classical swine fever in wild boar (*Sus scrofa* sp.). *Vet Microbiol* 142:99-107, 2010.
- 76) Moennig V. The control of classical swine fever in wild boar. *Front Microbiol* 6:1211, 2015.

# Classical swine fever virus

**Yoshihiro SAKODA**

Laboratory of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Hokkaido University

Classical swine fever (CSF) virus belongs to the members of the genus Pestivirus in the *Flaviviridae* family. This virus is a causative agent of economically important diseases for livestock and wild animals that occur worldwide, such as foot-and-mouth disease and African swine fever. In September 2018, CSF outbreaks were reported for the first time in 26 years in Japan, and so far 56 cases were reported. The cause of the virus spread is due to the virus transmissions in wild boars. It is necessary to continue thorough biosecurity in pig farms since it takes more time to eliminate CSF virus from wild boars. This article introduces the latest information on the viruses of the genus Pestivirus including CSF virus and the control measures against CSF in Japan.