

原著論文

繁殖豚における経穴（GV1、GV14）ワクチン注射法の検討

蓮田安信^{1†} 高橋勇治² 江川紗智子¹ 瀧下梨英³ 平山祐理¹

¹ 独立行政法人 家畜改良センター 企画調整部管理課 福島県西白河郡西郷村大字小田倉字小田倉原1番地

² 独立行政法人 家畜改良センター 茨城牧場 茨城県筑西市藤ヶ谷2330

³ 独立行政法人 家畜改良センター 宮崎牧場 宮崎県小林市細野5157-29

連絡担当者：蓮田 安信

独立行政法人 家畜改良センター 企画調整部管理課

住所：福島県西白河郡西郷村大字小田倉字小田倉原1番地

電話：0248-25-2231 FAX：0248-25-3990

E-mail：y0hasuta@nlbc.go.jp

【要約】

繁殖豚を対象に経穴GV1、GV14および耳根部をワクチンの注射部位として選択し、部位別にワクチン抗体価とその変化率、投与時の回避行動の有無を比較した。豚パルボウイルス不活化ワクチンはGV1 (n=10)、GV14 (n=10)、耳根部 (n=24) の皮下に豚パルボウイルス・日本脳炎ウイルス・ゲタウイルス混合生ワクチン注射35日後に追加注射する部位として選択した。日本脳炎不活化ワクチンはGV1 (n=10)、GV14 (n=8)、耳根部 (n=21) の皮下に豚パルボウイルス・日本脳炎ウイルス・ゲタウイルス混合生ワクチン注射45日後に追加注射する部位に選択した。また豚熱生ワクチンはGV1 (n=16) の皮下、耳根部 (n=16) の筋肉内に投与し、1回目の豚熱生ワクチン注射後6か月後の補強注射部位として選択した。それぞれ注射部位別に注射後の抗体価（豚パルボウイルス不活化ワクチンおよび日本脳炎不活化ワクチンは赤血球凝集抑制抗体価の対数変換値、豚熱生ワクチンはELISA-S/P値）を比較し、初回注射時と2回目の注射後の抗体価の変化率も比較した。結果、注射部位別の抗体価およびその変化率に有意差はなかった ($P>0.05$)。ワクチン注射と同様の方法で生理食塩水を用いGV1、GV14（豚熱生ワクチンでは除外）、耳根部へ注射し回避行動について比較した。その結果GV1は回避行動をとる個体が有意に少なかった ($P<0.05$)。GV1、GV14は耳根部に比べて抗体獲得に差がない可能性がある注射部位であり、GV1はほかの部位に比べストレスレベルの低いアニマルウェルフェア上有用なワクチン注射部位であると考えられた。

キーワード：経穴、回避行動、繁殖豚ワクチン

【緒論】

豚のワクチンは多数あり、発育ステージ、飼養目的および感染症の浸潤状況に応じて、予防

や発症抑制・軽減を目的に、獣医師もしくは獣医師の指示のもとワクチンの注射が行われている。投与経路は皮下および筋肉内が多く、注射部位については、豚の性格や注射時の体勢および飼養形態に応じて耳根部、腰部および臀部など、注射作業者がその都度注射部位を選択・判断した上で実施されている [1, 12]。

受付：2022年5月31日

受理：2022年9月16日

実際に皮膚の厚い繁殖豚の耳根部や臀部への刺入では個体によっては時間を要して豚に与える苦痛の時間が長くなることもあり、アニマルウェルフェア上問題となる場合もある。作業側からみると連続した多頭注射での労力で危険を伴うことも多く、豚が大きく動くことによる注射針の破損が生じる危険性がある。破損による針の残留は農場やと畜場の HACCP の重要管理点として掲げられる項目であり、食品衛生上の問題も起こり得る可能性も想定される [2, 4]。これらのことから、円滑なワクチン投与を行うための注射部位の選択と実行は養豚場において重要な課題の一つである。

一方、免疫獲得のために犬、ラットにおいて督脈 (Governor Vessel:GV) の背側正中を流れる経絡の経穴 (ツボ) GV1、GV14 を注射部位として選定し実施した場合 GV1 がほかの注射部位に比べ免疫応答が良好であったという報告がなされている [5]。今回我々は、繁殖豚を対象に皮下投与が用法である豚パルボウイルス不活化ワクチンと日本脳炎不活化ワクチンの注射部位を GV1、GV14 または耳根部に選定し、皮下投与および筋肉内投与が用法である豚熱生ワクチンについては GV1 または耳根部を注射部位として選定してそれぞれについて注射部位別に抗体価とその変化率を比較し免疫反応を評

価した。また、アニマルウェルフェア上豚にとって GV1、GV14 が有効な注射部位になり得る可能性についても注射時の回避行動の観察から検討してみたので報告する。

【材料と方法】

(1) 対象動物

本試験は「実験動物の飼養および保管並びに苦痛の軽減に関する基準 (平成 18 年度環境省告示第 88 号、最終改正：平成 25 年環境省告示第 84 号)」に従い実施し、独立行政法人家畜改良センターにおいて飼養された健康な繁殖豚を対象とした。

調査期間中、食欲低下など、なんらかの臨床症状を呈したものは免疫獲得への影響を考慮し調査対象から除外した。

(2) 注射部位 GV1、GV14、耳根部の位置 (図 1)

督脈 GV は動物の体の正中背側を流れ、肛門から上唇に向かって流れている。その 1 番目の経穴が GV1 で尾根と肛門の間の窪み中央に位置する。14 番目が GV14 である。GV14 は背側正中線と交差する胸部と頸部の境界に位置する。耳根部は耳介基部およびその近辺の頸背部領域とした。

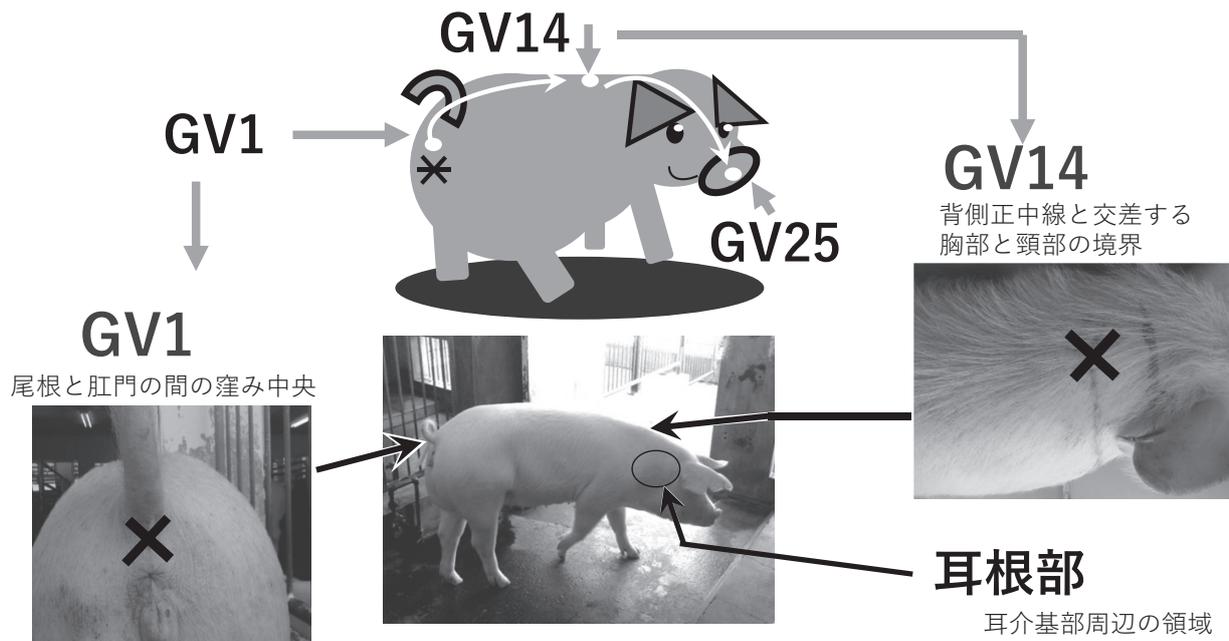


図1 督脈の流れと経穴GV1、GV14、耳根部の位置

(3) ワクチンの種類と注射方法

1) 豚パルボウイルス不活化ワクチンおよび日本脳炎不活化ワクチン

使用したワクチンは豚パルボウイルス不活化ワクチン(“京都微研”, 豚パルボワクチン・K (株式会社微生物化学研究所))、日本脳炎不活化ワクチン(“京都微研”, 日本脳炎ワクチン・K (株式会社微生物化学研究所))で、開封後1時間以内に豚に注射した。GV1、GV14、耳根部すべて皮下に注射した(図2)。刺入角度は皮膚に対し15から30度、シリンジはディスポーザブルの2.5ml(テルモシリンジ中口)を用いた。注射針はGV1および耳根部に対してディスポーザブルの20G×1/2R.B(ニプロ フローマックス)を使用し、GV14に対してはディスポーザブルの22G×1R.B(テルモ注射針)を使用した。

2) 豚熱生ワクチン

使用ワクチンはスワイバックC(共立製薬株式会社)で、乾燥ワクチンに溶解液を加え十分に溶解した後、直射日光を避け1時間以内に注射した。GV1は皮下に、耳根部は筋肉内に注射した(図2)。刺入角度は皮膚に対し垂直としシリンジはディスポーザブルの2.5ml(テルモシリンジ中口)、注射針はディスポーザブル

の19G1・1/2R.B(テルモ注射針)を使用した。

(4) 注射部位別ワクチン抗体価比較のデザイン

1) 豚パルボウイルス不活化ワクチンおよび日本脳炎不活化ワクチン

5か月齢以上の繁殖豚に“京都微研”, 豚死産3種混合生ワクチン(日本脳炎・豚パルボウイルス感染症・豚ゲタウイルス感染症生ワクチン(株式会社微生物化学研究所))を1ml皮下注射した日を0日とし、28から29日目に採血し血清(プレ血清)を分離し-20℃で保存した。35日目に豚パルボウイルス不活化ワクチンを追加注射し、43日目に日本脳炎不活化ワクチンを追加注射した。74日目に採血し、血清(ポスト血清)を分離し-20℃で保存した。

豚パルボウイルス不活化ワクチンの追加注射部位別の頭数は、経穴GV1が10頭、GV14が10頭、耳根部が24頭であった。日本脳炎不活化ワクチンの追加注射部位別の頭数は、経穴GV1が10頭、GV14が8頭、耳根部が21頭であった(表1)。

抗体検査は株式会社微生物化学研究所の“京都微研”, 微生物病検査所にプレ血清およびポスト血清を冷凍で送付し、検査バイアスを避けるため検査依頼名簿に注射部位を記載せず盲検化して赤血球凝集抑制(HI)試験を依頼した。

1) 豚パルボウイルス不活化ワクチン、日本脳炎不活化ワクチン



2) 豚熱生ワクチン

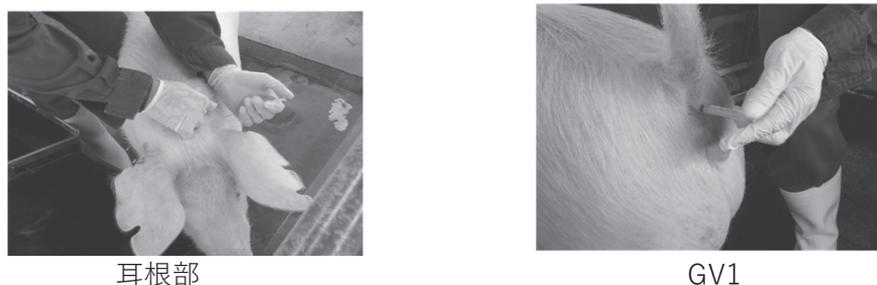


図2 ワクチン注射方法

表1 抗体調査対象豚の概要

ワクチン	豚パルボウイルス不活化			日本脳炎不活化			豚熱生 マッチングによる比較		豚熱生 変化率		
	注射部位	GV1	GV14	耳根部	GV1	GV14	耳根部	GV1	耳根部	GV1	耳根部
サンプル数 (頭)	n	10	10	24	10	8	21	16	16	7	9
最終注射日齢 ±SD (日)		221.1 ±12.1	237.5 ±45.3	227.8 ±28.8	219.9 ±23.7	253.6 ±44.4	239.1 ±25.1	354.2 ±129.8	353.7 ±124.6	330.9 ±144.4	413.4 ±265.1
性別 (頭)	♂	10	10	24	10	8	21	2	2	2	3
	♀	0	0	0	0	0	0	14	14	5	6
品種 (頭) ^a	D	2	4	10	2	4	9	4	5	1	2
	W	5	6	11	5	4	11	8	8	2	5
	DW	3	0	3	3	0	1	2	1	2	0
	WL	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2

a) D: デュロック, DW: デュロック×大ヨークシャー、
W: 大ヨークシャー、WL: 大ヨークシャー×ランドレース

ポスト血清について HI 価を対数に変換した値 (以下 HI 価対数変換値) を注射部位別に比較した。また追加注射前後のプレ血清とポスト血清の HI 価対数変換値の変化率について注射部位別に比較した。なお HI 価 10 倍未満は 5 倍とみなし対数変換した。

免疫反応の評価は既報 [6] の犬ジステンパーウイルスの中和抗体価の注射時と 14 日後の変化率 (14 日目 - 0 日目) / 0 日目を参考にし、注射後 30 日前後の HI 抗体価 (対数変換値) および S/P 値の変化率で評価した。増減や変化率を比較するための抗体価のベースラインは、豚死産 3 種混合生ワクチンを皮下注射した日とした。

2) 豚熱生ワクチン

①補強注射後の ELISA-S/P 値の注射部位別の比較

豚熱生ワクチン注射推奨地域に指定され全頭一斉注射となった日を 0 日とし約 180 日後に無作為に GV1 および耳根部に補強注射した。補強注射した豚 47 頭について福島県中央家畜保健衛生所に ELISA 検査を依頼した。比較する豚群における性別および日齢によるバイアスが生じないように 47 頭のプロペンシティスコアを算出し、GV1 注射の 16 頭と耳根部注射の 16 頭ずつをペアマッチングさせ、中和抗体価と相関がある ELISA-S/P 値 (以下 S/P 値) [10] を注射部位別に比較した (プロペンシティスコア・マッチング解析)。

補強注射後 29 から 34 日目に採血し、血清分離後に福島県中央家畜保健衛生所へ冷蔵で送付し、CSF-ELISA 検査を依頼し S/P 値を部位別

に比較した。

② S/P 値の変化率比較

初回注射後 28 から 31 日目に福島県中央家畜保健衛生所が「豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針 (令和 2 年 7 月 1 日農林水産大臣公表) に基づき行った ELISA による免疫付与状況等確認検査 (サンプリングが農場ごと 30 頭と規定されている) で対象となった豚が補強注射時にセンター内に 16 頭残留していた。その 16 頭の内訳は補強注射の部位 GV1 が 7 頭、耳根部が 9 頭であった (表 1)。この 16 頭の免疫付与状況等確認検査時の S/P 値 (初回注射 31 日後) と補強注射 34 日後の S/P 値の変化率を部位別に比較した。

(5) 注射方法の違いによる回避行動の観察

1) 回避行動の観察方法

①豚パルボウイルス不活化ワクチンおよび日本脳炎不活化ワクチン注射と同様注射方法の観察

豚パルボウイルス不活化ワクチンおよび日本脳炎不活化ワクチンは 2ml/頭が注射量である。それと同じ量の生理食塩水 2ml (日本薬局方生理食塩水 大塚生食注) を用い 22 頭 (表 2) に対して GV1、GV14、耳根部それぞれに皮下注射し回避行動の有無を観察した。使用した注射器、注射針はワクチン注射時と同様のものを用いた。

②豚熱ワクチン注射と同様の注射方法の観察

豚熱ワクチンは 1ml/頭で筋肉または皮下注射可能なワクチンのため、生理食塩水 1ml (日

表2 回避行動の観察

ワクチン注射法 ^a	PPV・JEV ^b 不活化	CSF ^c 生	
サンプル数 (頭)	22	23	
調査日齢 (日)	476.6 ± 105.4	411.0 ± 130.8	
性別 (頭)	♂	4	1
	♀	18	22
品種 (頭) ^d	D	8	6
	W	11	10
	DW	3	1
	WL	-	6

- a) 用法を同一としたワクチンによるグルーピング名
 b) PPV・JE : 豚パルボウイルス・日本脳炎ウイルス
 c) CSF : 豚熱
 d) D : デュロック、W : 大ヨークシャー、DW : デュロック×大ヨークシャー
 WL : 大ヨークシャー×ランドレース

本薬局方生理食塩水 大塚生食注) を使い 23 頭 (表 2) に対して GV1、耳根部それぞれについて皮膚に対し垂直に刺入し回避行動の有無を観察した。GV1 の皮膚に垂直に刺入した場合、尾筋と肛門括約筋の間の結合組織に針が入り皮下注射となることを事前に確認してからこの注射方法を採用した。使用した注射器、注射針はワクチン注射時と同様のものを用いた。

③豚房の構造

豚パルボウイルス不活化ワクチンおよび日本脳炎不活化ワクチン注射と同様の注射法の観察では 22 頭すべて単飼で 11 頭がストール (約 1.2m²/頭)、11 頭がコンクリート床の四方が壁もしくは柵に囲まれた単房 (約 6 ~ 8m²/頭) であった。豚熱生ワクチン注射と同様の注射法の観察では 15 頭が単飼で内ストール (約 1.2m²/頭) が 10 頭、5 頭がコンクリート床の四方が壁もしくは柵に囲まれた単房 (約 8m²/頭) で、残り 8 頭は 2 頭飼いでコンクリート床の四方が壁もしくは柵に囲まれた単房 (約 4m²/頭) であった。

④回避行動の観察

注射実施者は声掛けなどによる心理的保定などいかなる保定も全く行わず、無保定で注射シリンジを保持し、豚の約 1 m 近くに立ち注射針

のキャップを外すことを観察の起点とした。その後注射針を刺入し液注入の完了と抜針をもって観察の終点とした。起点から終点までの豚の様子を注射者と別の記録者 1 名が注射者から 2 ~ 3 m 離れて観察した。観察時に頸振り、前進、後退、噛みつくなど刺入を回避する身体の動きを注射実施者と観察者のどちらか一方が確認した場合を回避行動「あり」とし、身体の動きがなく緊張・硬直が観察されなかった場合を回避行動「なし」と評価した (図 3)。②についてはさらに起点と終点間の時間を部位別に計測した。

(6) 統計処理

すべての統計分析は、R (The R Foundation for Statistics Computing) のグラフィカルユーザーインターフェイスである EZR (自治医科大学付属さいたま医療センター) [7] を使用して、プロペンシティスコア・マッチング解析を実施し、検定方法として HI 価対数変換値およびその増減と変化率の比較は Kruskal-Wallis 検定、豚熱 ELISA の S/P 値比較は Mann-Whitney の U 検定、回避行動の比較は Fisher の正確検定および holm 法による多重比較・Mann-Whitney の U 検定を実行した。P<0.05 を有意差ありとした。

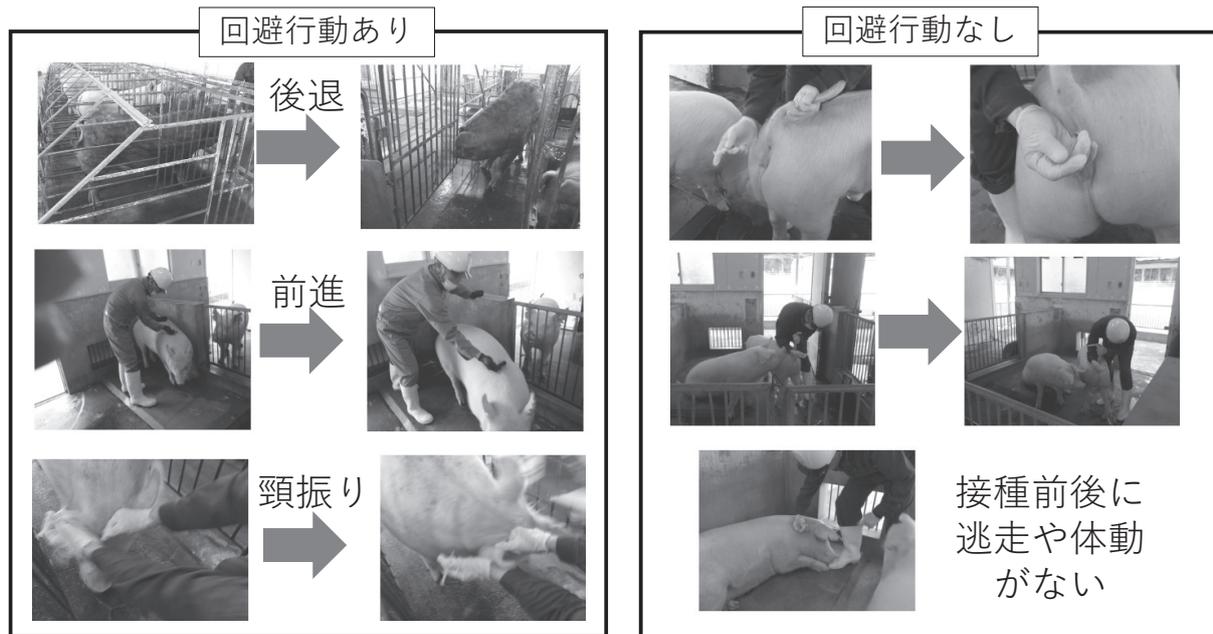


図3 回避行動の観察

表3 抗体価分布

1) 豚パルポウイルスHI価

			<10	10	20	40	80	160	320	640 ≧	幾何平均値
GV1	n=10	プレ	6	1	2	1	0	0	0	0	8.71
		ポスト	1	0	2	1	1	3	2	0	69.6
GV14	n=10	プレ	5	2	2	1	0	0	0	0	9.3
		ポスト	0	0	1	0	4	4	1	0	105.6
耳根部	n=24	プレ	7	11	4	2	0	0	0	0	10.3
		ポスト	0	1	0	4	10	6	2	1	95.1

2) 日本脳炎HI価

			<10	10	20	40	80	160	320	640 ≧	幾何平均値
GV1	n=10	プレ	5	3	2	0	0	0	0	0	8.1
		ポスト	1	0	0	0	2	4	3	0	121.3
GV14	n=8	プレ	6	2	0	0	0	0	0	0	5.9
		ポスト	0	0	0	2	2	4	0	0	95.1
耳根部	n=21	プレ	17	3	1	0	0	0	0	0	5.9
		ポスト	0	0	1	5	8	5	2	0	85.5

3) 豚熱ELISA S/P値 (プロペンシティ・スコアマッチング)

部位	最小	25%	中央値	75%	最大
GV1 n=16 補強注射後	0.532	0.855	1.042	1.171	1.408
耳根部 n=16 補強注射後	0.925	1.024	1.099	1.188	1.451

4) 豚熱ELISA S/P値 (変化率比較)

部位	最小	25%	中央値	75%	最大	
GV1 n=7	プレ	0.27	0.32	0.40	0.52	0.67
	ポスト	0.86	0.97	1.15	1.24	1.41
耳根部 n=9	プレ	0.23	0.37	0.50	0.79	0.76
	ポスト	0.38	0.92	1.04	1.12	1.19

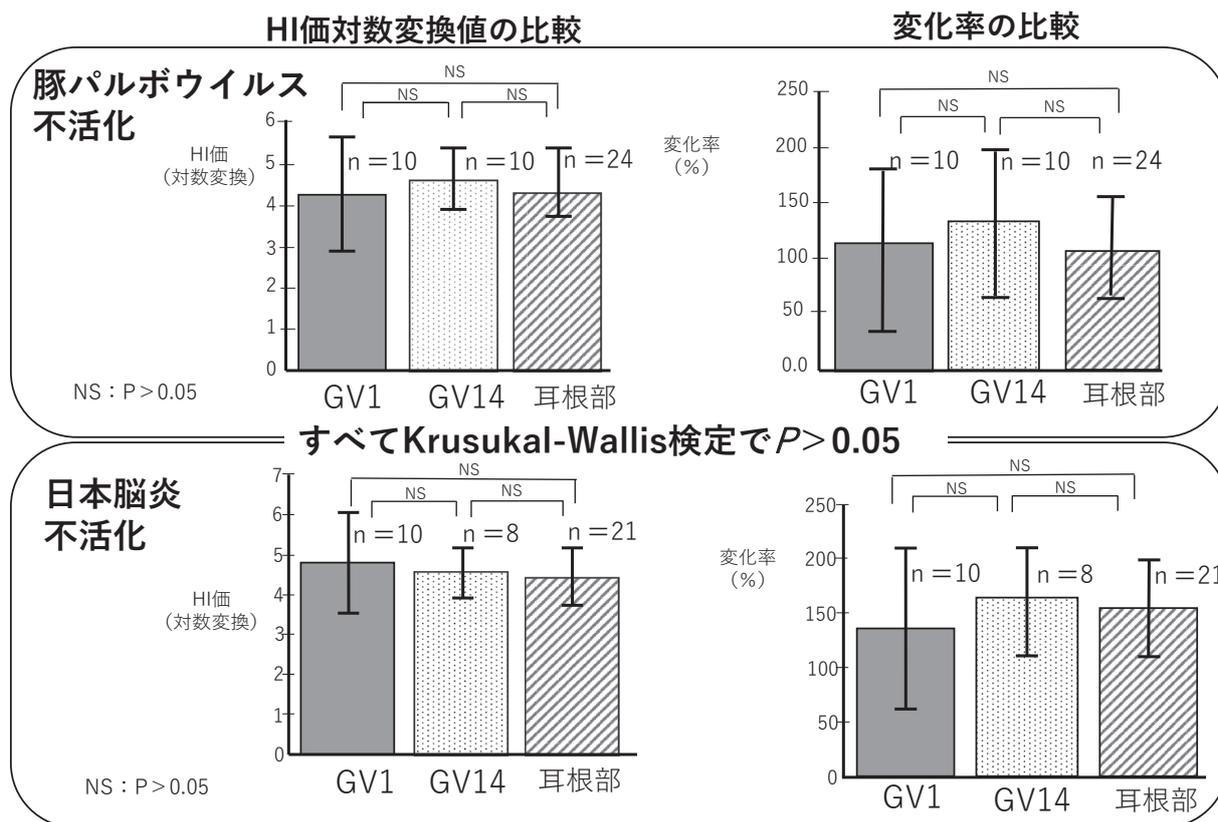


図4 HI価対数変換値の比較

【結果】

(1) ワクチン抗体価の比較

1) 豚パルボウイルス不活化ワクチンおよび日本脳炎不活化ワクチン

GV1、GV14、耳根部のそれぞれにおける豚パルボウイルス不活化ワクチン注射後のHI価の対数変換値はGV1 (n=10) が 4.2 ± 1.4 、GV14 (n=10) が 4.7 ± 0.7 、耳根部 (n=24) が 4.6 ± 0.8 であった (図4、対数変換前のHI価は表3)。日本脳炎不活化ワクチン注射後のHI価の対数変換値はGV1 (n=10) が 4.8 ± 1.2 、GV14 (n=8) が 4.6 ± 0.6 、耳根部 (n=21) が 4.5 ± 0.7 であった (図4、対数変換前のHI価は表3)。また、追加注射前後の豚パルボウイルス不活化ワクチンのHI価対数変換値の変化率は、GV1 (n=10) が $107.0 \pm 74.7\%$ 、GV14 (n=10) が $126.1 \pm 67.1\%$ 、耳根部 (n=24) で $155.2 \pm 43.7\%$ 、豚パルボウイルス不活化ワクチンのHI価対数変換値の変化率は、GV1 (n=10) が $137.2 \pm 74.1\%$ 、GV14 (n=8) が $161.0 \pm 50.2\%$ 、耳根部 (n=21) が $155.2 \pm 43.7\%$ であっ

た。Kruskal-Wallis 検定によるHI 価対数変換値およびその増減と変化率の比較において有意差 ($P>0.05$) はなかった (図4、図5、表3)。

2) 豚熱ワクチン

GV1、耳根部のそれぞれにおける豚熱ワクチン注射後のS/P値は、GV1 (n=16) が 1.00 ± 0.24 、耳根部 (n=16) が 1.12 ± 0.13 で、Mann-Whitney のU検定による有意差はなかった ($P>0.05$) (図6、表3)。また一斉注射後のS/P値と補強注射後のS/P値の変化率はGV1 (n=16) が $188.8 \pm 115.1\%$ 、耳根部 (n=16) が $121.0 \pm 113.2\%$ で、Mann-Whitney のU検定による有意差は認められなかった ($P>0.05$) (図7、表3)。

(2) 回避行動

1) 豚パルボウイルス不活化ワクチンおよび日本脳炎不活化ワクチン注射と同様の注射方法の観察

回避行動が認められなかったのはGV1 (n=22) で 81.8% 、GV14 (n=22) で 9.1% 、耳

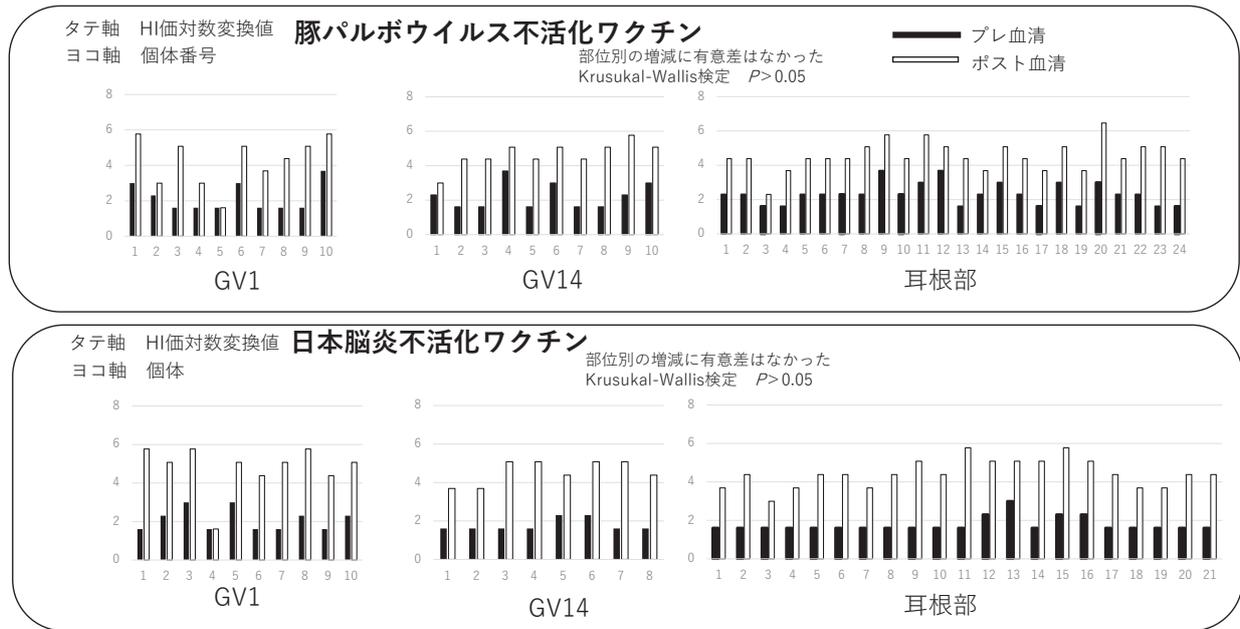


図5 HI価対数変換値の増減

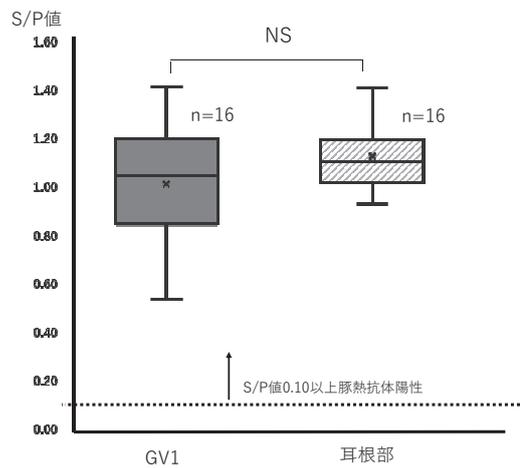


図6 補強注射後の豚熱ELISA-S/P値比較

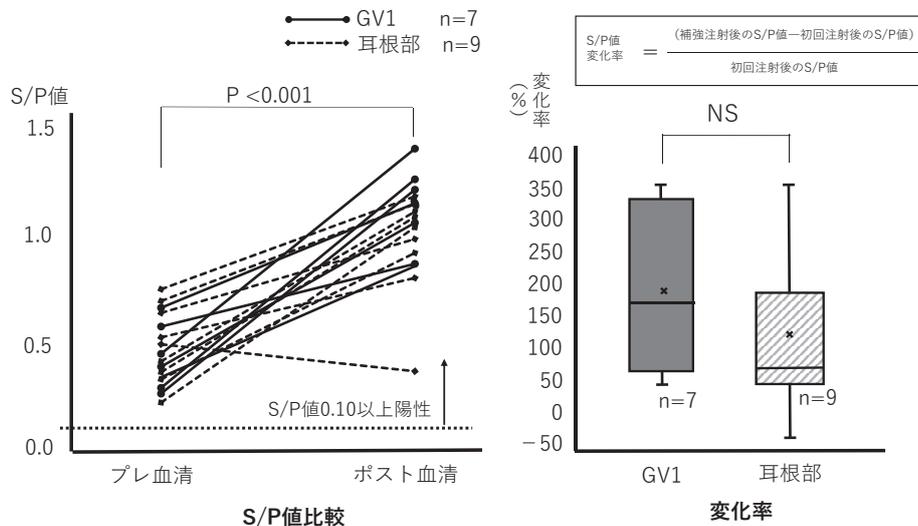


図7 初回注射後と補強注射後のS/P値の変化

根部 (=22) で45.6%であった (表4)。部位別の回避行動の「なし」と「あり」において Fisher の正確検定により有意差が認められ ($P<0.05$)、holm 法により多重比較したところ、それぞれに有意差 ($P<0.01$) があった (表4)。

2) 豚熱ワクチン注射と同様の注射方法の観察

回避行動が認められなかったのは GV1 (n=23) が69.6%、耳根部 (n=23) が30.4%で、部位別の回避行動の「なし」と「あり」で有意差 ($P<0.05$) があった (表4)。注射時間の比較では GV1 (n=23) は中央値9秒、耳根部 (n=23) が中央値14秒で、注射に要した時間は Mann-Whitney の *U* 検定により有意差 ($P<0.05$) が認められた (表4)。

[考察]

中 (漢方) 獣医学では生物の体内には気・血・津液が流れているとされ、その通り道を経絡といい、経絡と体表面の接点を経穴 (ツボ) という。経絡は正径十二経脈と奇形八脈などに大別され、奇形八脈の一つに督脈 Governor Vessel がある [13]。督脈経穴は WHO 表記で GV と略される [15]。GV は動物の体の正中背側を流れ、肛門から上唇に向かって流れている。その1番目の経穴を GV1、14番目は GV14 と呼ぶ。この GV1 から背側を流れ GV14 を経由し、左右鼻孔の正中に向かって督脈は流れている [14, 15]。GV1 は「後海」、「長強」、「交巢」とも呼称され、子宮疾患・下痢・便秘などに有効とさ

れる経穴である。GV1 の他にワクチン注射部位に選定した GV14 は「大椎」と呼ばれ熱性病・感冒・咳嗽に有効とされる経穴である [14]。

現在まで経穴の活用は疾病治療としての鍼灸療法であり、家畜や家庭動物を対象に国内でいくつか報告されている [8, 9]。

最近では、鍼灸を治療に施すのではなく、GV に直接ワクチンを注射する方法すなわち経穴ワクチン注射が海外において報告されている [5, 6]。豚においては豚流行性下痢ウイルス (PEDV) ワクチンの GV1 への注射の研究がレビューされている。この研究における調査対照 (コントロール) は示されていないが良好な免疫獲得を示したという [3]。

産業動物以外の報告では犬やラットに対し多価弱毒化ワクチンを経穴 GV1、GV14 および他の部位に注射し、6週間血清学的に追跡し、GV1、GV14 は他の部位に比較し良好な抗体応答が認められたという報告 [5]、また犬ジステンパーウイルスワクチンを GV14 に注射した50頭と経穴以外の部位に注射した50頭について比較した調査では血清学的反応について GV14 注射の方が有意に高かったことを報告している [6]。

我々はこれらの報告に基づき、経穴部位へのワクチン注射が豚において免疫反応を増強する可能性があるかどうかを抗体価から評価し、豚の回避行動の少ない注射法になるのかを確認するために調査を行った。

今回、豚パルボウイルス不活化ワクチン並び

表4 回避行動の観察結果

ワクチン注射法 ^a	注射部位			検定方法
	GV1	GV14	耳根部	
回避行動なし				
PPV・JEV ^b 不活化	18/22頭* (81.8%)	2/22頭*** (9.1%)	10/22頭*** (45.5%)	フィッシャーの正確検定後、holm法による多重比較
CSF ^c 生	16/23頭* (69.6%)	-	7/23頭** (30.4%)	フィッシャーの正確検定
注射に要した時間 CSF ^c 生	中央値9秒* (最大16秒、最小4秒)	-	中央値14秒*** (最大44秒、最小5秒)	マン・ホイットニーの <i>U</i> 検定

a) 用法を同一としたワクチンによるグルーピング名 *、***: $P<0.01$

b) PPV・JEV : 豚パルボウイルス・日本脳炎ウイルス *、** : $P<0.05$

c) CSF : 豚熱

に日本脳炎不活化ワクチンにおいて経穴部位 GV1、GV14 の注射が耳根部注射と比較し、抗体価やその変化率に有意差は認められず、経穴部位 GV1、GV14 注射が抗体反応を増強するという既報とは異なる結果であった。豚熱生ワクチンにおいても GV1 と耳根部では有意差がなかった。GV1 は耳根部に比べ、リンパ節が近い位置に多数あり抗体応答が良いという研究が報告されている [5] が、本研究ではそういった結果は得られなかった。今回の成績で差がなかったのは、サンプル数が少ないこと、HI 価や S/P 値のみを免疫応答の比較の対象にしたこと、そして経時的な抗体価を調査できなかったことに要因がある可能性もある。また GV1 の注射は Th1 型と Th2 型の両方の免疫が良好であったとの報告 [5] があり、ワクチン注射後の Th1 型と Th2 型の免疫系の測定も必要であると考えられ、差が「ある」「ない」について、今後さらに検討が必要と考えられた。結局のところ豚パルボウイルス不活化ワクチンと日本脳炎不活化ワクチンの部位別の抗体価やその変化率に統計学的な有意差がなかったという成績は GV1、GV14、耳根部のいずれの部位を選んでも、期待される抗体価の獲得は可能であると解釈できる。

豚熱生ワクチンの補強注射後の S/P 値についても部位による注射に有意差がなかったことから、豚熱生ワクチンの補強注射の注射部位として GV1 は有効な部位である可能性が示された。しかし豚熱生ワクチンの補強注射におけるブースター効果は生ワクチンであるがゆえに期待できない。1 回目のワクチン注射の効果が今回の成績に反映されている可能性は否定できない [17]。しかし 2 回目以降の豚熱生ワクチンの補強注射の目的が十分な免疫が付与されていない個体の漏れをなくすことにあるため、今回の S/P 値の変化率の成績から判断すると、GV1 および耳根部のどちらでも補強注射の部位として選択することに問題はないものと考えられる。

抗体価の評価にあたっては野外感染の影響がバイアスになる可能性がある。今回、豚パルボウイルス不活化ワクチンおよび日本脳炎不活化ワクチンの HI 試験の測定上限値が 640 倍だったため 640 倍以上が野外感染の可能性がある

HI 価と考えられる。豚パルボウイルス不活化ワクチン注射後のポスト血清で 640 倍以上が 1 頭いるが野外感染なのかワクチン抗体なのかは不明である。今回はその個体を含めて評価したが有意差は認められなかった。豚熱の S/P 値については発症豚がないことから野外感染の影響はないものと考えられる。注射時の回避行動の成績では耳根部や GV14 に比べ GV1 への皮下注射は、豚が回避行動をとることが少ないことが判明した。今回の注射は無保定であったため、豚への声かけなどの心理的保定や、飼料給仕や精液採取など繁殖豚を夢中にさせることによる保定、いわゆる行動的保定などを組み合わせながら GV1 に注射すれば、より回避行動をとらせることなく安心、安全に注射が可能になるものと考えられる。

最近家畜のアニマルウェルフェアの考え方による家畜の取り扱いについて、バランスポイントやフライトゾーンを意識した取り扱いの考え方が示されている [11, 16]。フライトゾーンとは人が一定の距離を越えて近づくと逃げようとする境界線をいい、バランスポイントは無理なく家畜をコントロールするための立ち位置（豚の肩の真横）のことをいう。この考え方を今回の回避行動に照らし合わせてみると、ワクチン注射にあたり GV1 はバランスポイントより後方で、豚の片眼で見られる位置から死角に向かって人が移動し、フライトゾーン内に入って注射したことにより、豚がフライトゾーン内侵入にしたことに気づかないことがあり回避行動をとらない傾向となった可能性がある。逆に耳根部の注射は豚のバランスポイントの前面に立った人が豚のフライトゾーン内に侵入するのを両眼で目視されたため豚が回避行動をとる傾向があったものと考えられる。

さらに今後ワクチン製剤以外のホルモン剤や一般医薬品などの薬剤を GV1 で注射した場合の効果や回避行動を調査し、良好な結果が得られれば、GV1 は様々な注射作業の安全性や効率化に貢献できる注射部位であると考えられる。

一方で今回の成績から GV1 注射においても回避行動をとる個体が 2 から 3 割ほどいたというのも事実である。実際の GV1 注射に際しては、農場により飼養されている豚の個性や品種

も異なることから、当該農場の豚にとってGV1注射が適正かどうかを慎重に判断し、GV1を嫌がる個体にはGV1以外の注射部位も念頭に置き、シリンジサイズや注射針規格など注射デバイスの適否や保定の要否を考慮しつつワクチン注射を実施することが望まれる。

【利益相反】

本調査において利益相反はない。

【謝辞】

本調査において抗体検査にご協力いただきました株式会社微生物化学研究所の“京都微研”、微生物病検査所、福島県中央家畜保健衛生所防疫課の皆様には深謝します。また調査にご協力いただきました本センター管理課の技術専門職員の皆様には深謝いたします。

引用文献

- [1] 新山雅美. 1982. 臨床検査法および臨床病理：豚病学第二版. 熊谷哲夫, 波岡茂郎, 丹羽太左衛門, 笹原二郎編). 近代出版, 東京, pp890-891.
- [2] 朝倉宏. 2021. 食肉・食鳥肉製品のハザードとその管理. 保健医療科学. 70 : 100-106.
- [3] Dongbo, S., Xinyu, W., Shan, W., Jianfei, C., Li, F. 2016. Epidemiology and vaccine of porcine epidemic diarrhea virus in China: a mini-review. J. Vet. Med. Sci. 78 : 355-363.
- [4] Graham, R. D. 2013. Veterinary Treatment of Pigs, CABI, London, pp 1-25.
- [5] Haibo, J., Ye, X., Fushan, S., Songhua, H. 2019. Vaccination at different anatomic sites induces different levels of the immune responses. Res. Vet. Sci. 122 : 50-55.
- [6] John, A. P., Deng-Shan, S., Huisheng, X. 2019. The serological response in dogs inoculated with canine distemper virus vaccine at the acupuncture point governing vessel-14: A randomized controlled trial. Vaccine. 37 : 1889-1896.
- [7] Kanda, Y. 2013. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. Bone Marrow Transplant. 48 : 452-458.
- [8] 川口博明, 笹竹洋, 野口倫子, 秋岡幸兵, 三浦直樹, 武石嘉一郎, 堀内正久, 谷本昭英. 2016. 犬の輸送ストレス軽減のための新規鍼治療の試み. 日獣会誌. 69 : 143-146.
- [9] 川井田博. 2003. 豚の繁殖障害への灸療法について (農家実証試験). 日豚会誌. 40 : 77-85.
- [10] 中根崇, 岩本裕晶, 芦澤尚義. 2002. 新たに開発されたELISAキットと中和試験による豚コレラウイルス抗体検出の比較. 日獣会誌. 55 : 783-788.
- [11] National Farm Animal Care Council. 2014. Code of practice for the care and handling of pigs. Ottawa.
- [12] 大竹俊男, 大西彰, 大和田一雄, 堤秀樹. 2017. ブタ・ミニブタ実験マニュアル (ブタ・ミニブタ実験マニュアル編集委員会編), アドスリー, 東京, pp46-50.
- [13] 李世駿, 鄭経農, 趙海澐. 1995. 中 (漢方) 獣医学マニュアル (細見教訳編), インターズー, 東京, pp46-50.
- [14] 李長卿. 1998. 中国獣医鍼灸図譜 (中国農業科学院蘭州獣医研究所編著, 鄭経農, 細見教共訳), インターズー, 東京, pp139-157.
- [15] World Health Organization. 1993. Standard acupuncture nomenclature. WHO Regional Office for the Western Pacific. Manila.
- [16] World Organization for Animal Health (OIE). 2021. Transport of Animals by Land. Terrestrial Animal Health Code.
- [17] 山田進二. 1993. 総論：豚のワクチン. 木香書房, 東京, pp1-36.

A study of vaccination at acupuncture points (GV1, GV14) in breeding pigs

Yasunobu Hasuta^{1)†} Yuji Takahashi²⁾ Sachiko Egawa¹⁾ Rie Takishita³⁾ Yuri Hirayama¹⁾

1) Department of Planning and Coordination, National Livestock Breeding Center, 1 Odakurahara, Nishigo, Fukushima

2) National Livestock Breeding Center Ibaraki Station, 2330 Fujigaya, Chikusei, Ibaraki

3) National Livestock Breeding Center Miyazaki Station, 5157-29 Hosono, Kobayashi, Miyazaki

Corresponding Yasunobu Hasuta

Department of Planning and Coordination, National Livestock Breeding Center, 1 Odakurahara, Nishigo, Fukushima

Tel +81-248-25-2231 Fax +81-248-25-3990

Email y0hasuta@nlbc.go.jp

[Abstract]

Use of the GV1 and GV14 acupuncture points and the auricle base area (as commonly employed on farms) as vaccine injection sites was examined in breeding pigs. Vaccine antibody titers and their percentage differences among the sites were examined, as well as the presence of injection avoidance behavior. Inactivated porcine parvovirus vaccine was administered subcutaneously at GV1 (n=10), GV14 (n=10), and the auricle base (n=24) as additional injection sites 35 days after injection of live porcine parvovirus-Japanese encephalitis virus-getah virus combination vaccine. Inactivated Japanese encephalitis vaccine was then administered subcutaneously as the site for additional injection 45 days after injection of porcine parvovirus-Japanese encephalitis virus-getah virus combination live vaccine at GV1 (n=10), GV14 (n=8), and the auricle base area (n=21). Classical swine fever live vaccine was also administered subcutaneously at GV1 (n=16) and intramuscularly in the auricle base area (n=16), and was selected as a reinforcing injection site 6 months after the first injection of classical swine fever live vaccine. The post-injection antibody values (log-transformed hemagglutination-inhibition antibody titer for swine parvovirus inactivated vaccine and Japanese encephalitis inactivated vaccine, and ELISA-S/P values for classical swine fever live vaccine) were compared for each injection site, and the percentage change in antibody titer between the first injection and the second injection was also compared. No significant differences in antibody titers and their percentage changes among injection sites were observed ($P>0.05$). Physiological saline was also injected at GV1, GV14 (excluding live classical swine fever vaccine), and the auricle base area using the same method as that for the vaccines, and avoidance behavior was compared. Significantly fewer animals showed avoidance behavior for GV1 injection ($P<0.05$), and the GV1 and GV14 injection sites may show no difference in antibody acquisition relative to auricle base injection, suggesting that GV1 is a useful vaccine injection site for animal welfare, being associated with lower stress levels than other sites.

Keywords: acupuncture point, avoidance action, breeding pig vaccine