

資料

広島県におけるブタのA型インフルエンザウイルスに対する抗体保有状況調査

高尾 信一 豊田 安基江 福田 伸治 野田 雅博 徳本 静代

Prevalence of Antibody to Type A Influenza Viruses in Swine Sera in Hiroshima Prefecture.

SHIN-ICHI TAKAO, AKIE TOYOTA, SHINJI FUKUDA, MASAHIRO NODA AND SHIZUYO TOKUMOTO
(Received Oct.30, 1998)

広島県内において1998年1月から3月にかけて産出された、6ヶ月齢の肥育豚70頭について、ブタ由来、ヒト由来及びトリ由来のA型インフルエンザウイルス9株に対する赤血球凝集抑制(HI)抗体の保有状況を調査した。その結果、H1N1ウイルスのうち、A/swine/HongKong/68/98(H1N1)株及びA/Beijing/262/95(H1N1)株に対しては、70頭全例が抗体を保有していなかったが、A/New Jersey/1/76(H1N1)株に対しては、32/70例(45.7%)が抗体価20~320倍のHI抗体を保有していた。H3N2ウイルスについては、A/Aichi/2/68(H3N2)株に対しては、10/70例(14.3%)が抗体価20~80倍の、また、A/Wuhan/359/95(H3N2)株に対しては70頭全例(100%)が抗体価160~1280倍以上の高い価の抗体を保有していた。しかし、A/Hiroshima/1/98(H3N2)株に対しては、いずれのブタも全く抗体を保有していなかった。トリ由来株である、A/duck/Singapore/3/97(H5N3)、A/turkey/England/63(H7N3)及びA/turkey/Wisconsin/66(H9N2)の両株については、70頭全例が抗体を保有していなかった。

キーワード：インフルエンザ、ブタ、赤血球凝集抑制試験、抗体保有状況、広島県

緒言

ヒトの世界でのインフルエンザに関しては、在流行しているAソ連(H1N1)型及びA香港(H3N2)型ウイルスとは全く異なる新型のA型インフルエンザウイルスがここ数年のうちに出現し、世界的規模での大流行(pandemic)が起こる可能性が指摘されている[1]。この予測を裏付けるべく、昨年(1997年)には、これまでヒトの世界では見つかったことのないH5N1型ウイルスが香港で出現し[2]、世界的な流行につながる可能性が危惧された。幸いにも、本型ウイルスによる感染者は同年6月から12月の間の18名だけに止まり(ただし内6名は死亡)、その後は新たな感染者は確認されていないことから、一応の終息をみたと考えられている[3]。しかし、本型ウイルスを含め新型インフルエンザウイルスの出現の可能性と、出現した際の危険性については依然として減少した訳ではない。

我が国における新型インフルエンザ対策については、昨年10月に厚生省において『新型インフルエンザ対策報告書』[4]がまとめられ、現在はそれに基づい

て対応が進められている。この報告書では、新型インフルエンザの出現に対する事前の準備として、感染症情報の収集、分析と解析の重要性が指摘されており、従来から実施しているヒトの病原体及び患者発生動向調査の充実と強化の必要性に加え、トリやブタ等の動物でインフルエンザウイルスの動向を把握することの必要性が強調されている。さらに、従来から厚生省と各都道府県が実施しているヒトの伝染病流行予測調査においても、本年度(平成10年度)から、ブタにおけるA型インフルエンザウイルスに対する感受性調査(抗体保有状況調査)が追加される[5]など、ブタを対象としたインフルエンザ調査が重要視されている。この理由としては、新型インフルエンザの出現の機構として、トリとヒトのインフルエンザウイルスがブタに同時に感染することで、ブタ体内で遺伝子交雑が生じ、その結果、新しい亜型のウイルスがブタを経由して出現すると推定されており[1, 6]、そのため、ブタでのインフルエンザウイルスの動向を把握することが疫学的に重要だと考えられている[7]ためである。

今回我々は、広島県内において肥育されていたブタについて、トリ由来、ブタ由来及びヒト由来のA型イ

インフルエンザウイルスに対する赤血球凝集抑制 (HI) 抗体の保有状況について調査する機会を得たので、その成績について報告する。

材料と方法

1. 対象：広島県大和町のA農場で肥育されていたブタ (いずれも採血時は6ヶ月齢) について、1998年6月から9月にかけて採取した血清70検体を用いた。
2. HI試験：インフルエンザウイルスHI試験の方法はWHOインフルエンザ・呼吸器ウイルス協力センター (国立感染症研究所内) より示された術式に従った。

① ブタ血清処理方法

血清0.1mlに0.8% Trypsin (Sigma TypeII T-7409)-PBS(-) 0.05mlを加えて56℃30分加温後、1/90M KIO_4 0.3ml加え室温で60分清置した。その後、1%グリセロール食塩水0.3mlと生理食塩水0.25mlを加えて全量を1mlとし、これにPBS(-)で洗浄したニワトリ赤血球 (100%) を0.25ml加え、室温60分清置後、2000rpm 15分遠心した上清をHI試験に用いた。

② HI試験

HI試験は96穴マイクロプレートを用い、上記の方法で処理した血清をPBS(-)を用いて25 μ l系列で階段希釈した後、4HA units/25 μ lのインフルエンザウイルス抗原を等量加え、室温60分清置後、0.5% ニワトリ赤血球液を50 μ l加えた。室温60分静置後、凝集を抑制した血清の最高希釈倍数をHI抗体価とした。なお、HI抗体価20倍以上を抗体陽性と判定した。

③ インフルエンザウイルス抗原

ウイルス抗原は、ブタ由来株としてA/New Jersey/1/76 (H1N1) 及びA/swine/Hong-Kong/168/98 (H1N1) を、ヒト由来株としてA/Beijing/262/95 (H1N1), A/Aichi/2/68 (H3N2), A/Wuhan/359/98 (H3N2) 及びA/Hiroshima/1/98 (H3N2) を、また、トリ由来株としてA/duck/Singapore/3/97 (H5N3), A/turkey/England/63 (H7N3) 及びA/turkey/Wisconsin/66 (H9N2) の合計9種類を用いた。なお、A/Hiroshima/1/98 (H3N2) は1998年1月に広島県内で分離された株で、これをMDCK細胞で増殖させた培養上清をHI抗原として用いた。それ以外はWHOインフルエンザ・呼吸器ウイルス協力センターより分与された、ホルマリン不活化HI抗原を用いた。

結果および考察

広島県内のA農場において1998年1月から3月にかけて産出された肥育豚70頭について、6ヶ月齢の屠殺時に採血した血液を用いて、ブタ由来、ヒト由来及びトリ由来のA型インフルエンザウイルス9株に対するHI抗体価を測定した (表1)。

H1N1ウイルスについては、A/swine/Hong-Kong/168/98 (H1N1) 株及びA/Beijing/262/95 (H1N1) 株に対して、70頭全例がHI抗体価10倍以下を示し、それらの株に対する抗体保有は認められなかった。しかし、A/New Jersey/1/76 (H1N1) 株に対しては、32/70例 (45.7%) が抗体価20~320倍のHI抗体を保有していた。

H3N2ウイルスについては、A/Aichi/2/68

表1 A型インフルエンザウイルスに対するブタ血清中のHI抗体保有状況

	HI 抗体価の分布 (頭数 n=70)							
	≤10	20	40	80	160	320	640	≥1280
A/swine/HongKong/168/98 (H1N1)	70							
A/New Jersey/1/76 (H1N1)	38	13	10	7	1	1		
A/Beijing/262/95 (H1N1) ¹⁾	70							
A/Aichi/2/68 (H3N2)	60	6	3	1				
A/Wuhan/359/95 (H3N2)					2	23	40	5
A/Hiroshima/1/98 (H3N2) ²⁾	70							
A/duck/Singapore/3/97 (H5N3)	70							
A/turkey/England/63 (H7N3)	70							
A/turkey/Wisconsin/66 (H9N2)	70							

1) 1997/1998年シーズンのヒトインフルエンザウイルスワクチン株

2) 広島県内において1998年1月にヒトから分離された分離株

(H3N2) 株に対しては、10/70例 (14.3%) が抗体価 20~80倍の、また、A/Wuhan/359/95 (H3N2) 株に対しては70頭全例 (100%) が抗体価160~1280倍以上の高い価の抗体を保有していた。しかし、A/Hiroshima/1/98 (H3N2) 株に対しては、いずれのブタも全く抗体を保有していなかった。

トリ由来株である、A/duck/Singapore/3/97 (H5N3), A/turkey/England/63 (H7N3) 及び A/turkey/Wisconsin/66 (H9N2) の各株については、70頭全例がHI抗体価10倍以下を示し、これらの株に対しては抗体は保有していなかった。

ブタは本来のブタ由来のH1N1ウイルスの他に、ヒト由来のH1N1及びH3N2ウイルスにも感染することが知られている[7]。また、これまでも、今回の調査と同様の肥育豚を対象とした調査で、ブタがヒト由来のH1N1ウイルスあるいはH3N2ウイルスにする抗体を保有する場合のあることが報告されている[8-10]。我々が実施したHI抗体の測定結果から、今回対象となったブタについて、過去 (本年1月から9月の間) におけるインフルエンザウイルスに対する感染の既往を推察するならば、それらのブタの半数近くにおいて、ヒト由来のH1N1ウイルスよりも、むしろ A/New Jersey/1/67 (H1N1) 株に抗原的に類似したブタ由来のインフルエンザウイルス株に感染していた可能性が考えられる。加えてそれらのブタはいずれも1997/1998年シーズンのヒトでのワクチン株である、A/Wuhan/359/95 (H3N2) 株に抗原的に近似したH3N2ウイルスにも併せて感染していた可能性も推察された。しかし、仮にH3N2ウイルスに感染していたとするならば、少なくともHI試験を指標とした分離ウイルスの抗原分析の結果では、A/Wuhan/359/95 (H3N2) 株と抗原的には大差のないA/Hiroshima/1/98 (H3N2) 株に対して、全く抗体を保有していなかったのは如何なる理由によるものであろうか? この点については不明であるが、中山ら[11]が、今回我々が実施したのと同様の肥育豚の血清を用いたHI試験において、H1N1ウイルス株及びH2N2ウイルス株を抗原に用いた場合、高いHI抗体が認められる一方で、中和抗体が全く認められない場合のあることを報告し、ブタ血清を用いたHI試験の信頼性について、疑問を投げかけているように、今回実施したHI抗体価が、インフルエンザ感染の既往を示す抗体応答を正しく反映していない可能性も考えられる。今回対象としたブタで認められたHI抗体が、真に過去のインフルエンザウイルス感染の既往を反映した抗体であるのかについては、今後中和試験等の別

な方法で、確認する必要があると考えている。

ヒトの世界に新型インフルエンザウイルスが出現するのは、そう遠くない将来であると考えられている。それに対しては、ヒトを対象としてウイルスの動向を監視していくことが重要であるのはもちろんであるが、それ以外にも、ブタをはじめとする動物を対象とした監視も欠かせないと思われる。その際には、動物での抗体保有を確認する方法として、HI試験が適当かどうかという点も含めて、再度検討する必要があると考えられる。

文 献

- [1] Webster, R.G. (1997) : Predictions for future human influenza pandemics. *J.Infect.Dis.*, 176, suppl. 1, s14-s19.
- [2] Subbarao, K. et al. (1998) : Characterization of avian Influenza A (H5N1) virus isolated from a child with a fatal respiratory illness. *Science*, 279, 393-396.
- [3] 南谷幹夫 (1998) : インフルエンザ 1997/1998年の流行と新型香港インフルエンザ, *臨床と微生物*, 25 (2), 202-203.
- [4] 新型インフルエンザ対策検討会 (1997) : 新型インフルエンザ対策報告書. *臨床とウイルス*, 25 (5), 351-371.
- [5] 厚生省保健医療局結核感染症課 (1998) : 平成10年度伝染病流行予測調査実施要領. 9-12.
- [6] 喜田 宏 (1997) : 新型インフルエンザの出現に備える. *臨床獣医*, 15 (9), 41-46.
- [7] 喜田 宏 (1997) : インフルエンザウイルスの生態-新型ウイルスの出現に備えて. *蛋白質 核酸 酵素*, 42 (2), 145-153.
- [8] Katsuda K. et al (1995) : Prevalence of antibodies to type A influenza viruses in swine sera 1990-1994. *J.Vet.Med.Sci.*, 57 (4), 773-775.
- [9] 佐藤新一ら (1981) : ブタのインフルエンザに関する研究 静岡県西部地域における抗体調査. *日大農獣医研究報告*, 38, 213-219.
- [10] 杉村崇明 (1997) : ウイルス性疾病 インフルエンザ. *臨床獣医*, 15 (11), 44-46.
- [11] 山中隆成ら (1998) : ブタ血清中のHI抗体価とNT抗体価の比較. *日本ウイルス学会 第46回学術集会抄録集*, 300.

