

静岡県、香川県および沖縄県のブタにおける インフルエンザウイルスの浸淫調査

大野惇・山西重機*・丸尾聡志**・佐原啓二***・大城哲也****
糸数清正・大城直雅・久高潤・安里龍二・徳村勝昌・福村圭介・根路銘国昭*****

Isolation and Serological Survey of Influenza Viruses in the Pig Population in Shizuoka, Kagawa and Okinawa Prefecture, Japan

Atsushi OHNO, Shigeki YAMANISHI, Satoshi MARUYAMA, Keiji SAHARA, Tetsuya OSHIRO, Kiyomasa ITOKAZU, Naomasa OSHIRO, Jun KUDAKA, Ryuji ASATO, Katsumasa TOKUMURA, Keisuke FUKUMURA and Kuniaki NEROME

要旨：ブタにおけるインフルエンザウイルスの浸淫を明らかにするため、静岡県、香川県および沖縄県のブタについて、ウイルス分離および血清学的調査を実施した。ウイルス分離では静岡県で1997年1月に4株、香川県で1995年2月に7株のウイルスが分離されたが、沖縄県では分離されなかった。分離ウイルス株は抗原分析結果、静岡県および香川県のいずれの株もA型H3亜型ウイルスと同定された。血清学的調査については、静岡県ではブタ由来のAH1型は17.9%、ヒト由来のAH2型は2.5%の抗体保有が確認され、トリ由来のAH4型およびAH7型の抗体は確認されなかった。香川県ではブタ由来2種類のAH1(N1)型は6.1%と16.7%、ブタ由来のH1(N2)型は6.7%、ヒト由来のAH2型およびAH3型は82.1%と62.8%、トリ由来のAH4型およびAH7型は0.3%と18.9%であった。沖縄県ではブタ由来のAH1型は70.8%、ヒト由来のAH2型およびAH3型は5.8%と93.3%の抗体保有が確認され、トリ由来のAH7型の抗体は確認されなかった。香川県においてAH2型の抗体保有率が極めて高率で、静岡県や沖縄県からも低率であるが確認された。さらに、香川県においてトリ由来のAH4型およびAH7型の抗体も低率ではあるが確認され今後の動向が注目される。

Key words : Shizuoka Prefecture, Kagawa Prefecture, Okinawa Prefecture, Influenza virus, Isolation, Antibody, Swine

I はじめに

毎年のように冬になると流行するインフルエンザウイルスは、最近、新型ウイルスによる大流行の可能性が予想され危惧されている。一方、ブタはヒト型およびトリ型インフルエンザウイルスの双方に感受性を示し、トリから供給されたウイルスはブタを経由してヒトへ感染する^{1) 2)}と想定されており、トリ、ブタ、ヒトの間でのウイルス遺伝子分節の交雑(再集合)によって新型ウイルスが出現すると考えられている^{10) 11) 12) 13) 14)}。このことから、最近、ウイルスの保存、誕生場所としてブタの存在が一層注目されるようになった^{15) 16)}。近い将来、香港型、ソ連型に代わり、不連続的抗原変異 (antigen shift)

による新しいA型インフルエンザウイルスの出現が云われとおり、この新型ウイルスの動向を知るうえで、ブタにおけるウイルスの継続的な監視が必要となっている。

そこで、今回、ブタに潜んでいるインフルエンザウイルス^{7) 8) 9)}の分布およびトリ型やヒト型インフルエンザウイルスのブタにおける浸淫状況を調査し、新型インフルエンザ流行予測の一環として、静岡県、香川県および沖縄県のブタにおけるインフルエンザウイルスの分離を試みるとともに、血清学的調査を実施した。

II 材料および方法

1. 材 料

(1) 静岡県の材料

静岡県におけるウイルス分離用の検体は、1996年12月～1997年1月の期間に、静岡県内のAと畜場に搬入された肥育豚合計365頭(6カ月齢、静岡県産、1農場あたり8～10頭)の鼻腔内を滅菌綿棒で拭い、1%ウシ胎児

*香川県衛生研究所

**静岡県西部食肉衛生検査所

***静岡県衛生環境研究センター

****沖縄県中央食肉衛生検査所

*****国立感染症研究所

血清加Eagle's MEM培地 (ペニシリン500単位, ストレプトマイシン500 $\mu\text{g}/\text{ml}$, ファンギゾン25 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 2 mlに浸した鼻腔拭い液を用いた。抗体測定用の血清は, 1996年4月~1997年3月の期間に, Aと畜場に搬入されたB農場の飼育豚 (6カ月齢) を毎月20頭, 合計240頭から採血し, 得られた血清を用いた。

(2) 香川県の材料

香川県におけるウイルス分離用の検体は1995年1月~3月の期間に, と畜場に搬入された肥育豚合計500頭 (6~7カ月齢) から採取した鼻咽腔拭い液からのMDCCK細胞によるウイルス分離とPCR法によるゲノム検出を行った。抗体測定用の血清は, 1993年6月~1996年3月の期間に, と畜場に搬入された肥育豚合計687頭 (6~7カ月齢) から採血し, 得られた血清を用いた。

(3) 沖縄県の材料

沖縄県におけるウイルス分離用のブタ鼻腔拭い液の採取は1995年10月~1997年1月の期間に合計475頭行い, 抗体測定用血清の血液採取は1997年1月~3月の期間に合計120頭行った。それぞれ沖縄本島南部のと畜場に搬入された県内産の肥育豚 (6~7カ月齢) を用いた。地域的分布を比較するために沖縄本島を北部地域と南部地域に分けて実施した。

2. 方法

(1) ウイルス分離方法

ブタの鼻腔拭い液を3000rpmで20分遠心し, その上清100 μl を24ウェル組織培養フラスコに単層培養したMDCCK細胞上に接種し, 室温および37°C, 40分間吸着させ, アセチルトリプシン10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 加Eagle's MEM培地 (牛血清アルブミン2 mg/ml , ペニシリン100単位, ストレプトマイシン100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, ファンギゾン25 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 1 mlを各ウェルに添加し, 34~36°C, 5日間~1週間培養した。さらに, 初代培養上清100 μl を同様の条件で盲継代した。CPE(細胞変性効果)が認められたものあるいは培養が終了した培養上清については, 0.5%モルモット赤血球および0.5%ニワトリ赤血球または0.3%ガチョウ赤血球を用いて, 赤血球凝集(HA)活性を確認した。HA活性の認められた検体については, 1996/1997インフルエンザシーズンのワクチン株であるA/Yamagata/32/89(H1N1) およびA/Wuhan/32/95(H3N2)の2種類のフェレット感染抗血清を用いて赤血球凝集抑制(HI)試験により抗原分析を行った。

(2) 血清学的調査(抗体の測定)方法

ブタ血清中のインヒビターの除去はJensen (1961)^{m)}のアラバマ法に準じ, 被検血清0.1mlに0.05mlの0.8%トリ

プシン溶液を加え, 56°C, 30分間加温し, これに, 0.3 mlの1/90モルKIO₄試薬を加えた混合液を室温で60分間以上反応させ, 次いで, 0.3mlの1%グリセリン含食塩水を加えてKIO₄の反応を停止させた。さらに, 非特異的赤血球凝集物質を除くために, 0.25mlの100%ニワトリ赤血球を加え全量を1 mlにし, 室温で60分間放置した。その後, ニワトリ赤血球を2,000rpm15分で遠心分離して上清をHI試験に供した。HI試験は4 HA単位の抗原および0.5%ニワトリ赤血球を用いてマイクロタイター法により実施した。HI価は抗原および赤血球液を加えた最終濃度で示し, 1:80以上を陽性とした。

なお, HI試験に使用したインフルエンザウイルス抗原は, 静岡県ではブタ由来ウイルスとしてA/Sw/Shizuoka/1/78 (H1N1), ヒト由来ウイルスとしてA/アジア型 (H2N2) を代表するA/Japan/307/57 (H2N2), トリ由来ウイルスとしてA/Duck/CZ/1/56 (H4N6) およびA/Turkey/England/1/63 (H7N3) の4種類, 香川県ではブタ由来ウイルスとしてA/Sw/Shizuoka/1/78 (H1N1), A/Sw/Hokkaido/2/81 (H1N1), A/Sw/Nagasaki/1/90 (H1N2) およびA/Sw/Obihiro/10/85(H3N2), ヒト由来ウイルスとしてA/アジア型 (H2N2) を代表するA/Japan/307/57 (H2N2), トリ由来ウイルスとしてA/Duck/CZ/1/56 (H4N6) およびA/Turkey/England/1/63 (H7N3) の7種類, 沖縄県では日本インフルエンザセンターより分与されたブタ由来ウイルスとしてA/Sw/Shizuoka/1/78 (H1N1), ヒト由来ウイルスとしてA/アジア型 (H2N2) を代表するA/Japan/307/57 (H2N2) およびA/ホンコン型 (H3N2) を代表するA/Wuhan/359/95 (H3N2), トリ由来ウイルスとしてA/Turkey/England/1/63 (H7N3) の4種類を使用した。これらのウイルス抗原はすべて10日齢の発育鶏卵に接種し増殖させ, ホルマリンで不活化したものをHI試験に供した。

III 結 果

1. ウイルス分離

静岡県においては, 1997年1月14日に採取した90検体中4検体から接種したMDCCK細胞にCPEが認められた(表1), その培養上清はいずれもモルモット赤血球に対してHA活性を示した。ニワトリ赤血球に対しては, 1検体のみがHA活性を示した。フェレット感染抗血清を用いたHI試験では, A/Wuhan/359/95 (H3N2) (ホモ価1:1024) の抗血清に対して1:128から1:256, A/Yamagata

／32／89 (H1N1) (ホモ価1:8192) の抗血清に対して 1:16以下のHI価を示した (表2)。なお、ウイルスの分離されたブタ4頭のうち3頭は同一農場由来であり、各農場内には繁殖豚も飼育されていた。香川県においては、1995年1月～3月の流行期に500検体のブタの鼻咽腔拭い液のうち2月に同一農場由来の50検体中7検体 (7株) からインフルエンザウイルスが分離された (表3)。静岡県および香川県で分離されたウイルスはHI試験による抗原分析の結果AH3N2型ウイルスと同定された。沖縄県においてもブタ475検体についてウイルス分離を試みたが、ウイルスは分離されなかった (表4)。

2. 血清学的調査 (抗体保有状況)

静岡県において1:80以上のHI抗体保有陽性が認められた抗原は、A/Sw/Shizuoka/1/78 (H1N1) およびA/Japan/307/57 (H2N2) で、HI抗体陽性率はそれぞれ、17.9% (43/240)、2.5% (6/240) であった (表5)。A/Sw/Shizuoka/1/78 (H1N1) に対するHI抗体保有は、1996年10月から11月にピークを認めたが、A/Japan/307/57 (H2N2) では時期的に偏りはみられなかった。これら2抗原に対するHI抗体価の分布は、A/SW/Shizuoka/1/78 (H1N1) では1:640から1:1280までに8頭検出され極めて高いHI抗体価の分布がみられ、A/Japan/307/57 (H2N2) では1:160から1:640の間に陽性豚6頭が集中した比較的高いHI抗体価の分布が確

認された (表6)。トリ由来のA/Duck/CZ/1/56 (H4N6) およびA/Turkey/England/1/63 (H7N3) のHI抗体保有豚は、確認されなかった (表5)。

香川県におけるHI抗体保有状況は、A/Sw/Hokkaido/2/81 (H1N1) およびA/Sw/Shizuoka/1/78 (H1N1) のH1N1型のHI抗体陽性率は、前者では0%～72.4%にあり平均6.1%で、後者では0%～79.5%にあり平均16.7%で、両方とも期間によって大きくバラツキがみられ、陽性率は低率であった (表7、8)。長崎県でブタから分離された遺伝子集合型のH1N2型のA/Sw/Nagasaki/1/90 (H1N2) のHI抗体陽性率も0%～55.1%にあり平均6.7%で期間によってバラツキがみられ、陽性率も低率であった (表9)。ヒト由来のA/アジア型 (H2N2) を代表するA/Japan/307/57 (H2N2) ではHI抗体陽性率が44%～100%で平均82.1

表3. 香川県のブタからのウイルス分離状況.

検体採取 年月	グループ	検査 頭数	ウイルス 分離株数	分離ウイルス 型別
95. 1	1	50	0	
	2	50	0	
	3	37	0	
	4	13	0	
95. 2	1	50	0	
	2	50	7	A/H3N2型
	3	13	0	
	4	37	0	
95. 3	1	40	0	
	2	10	0	
	3	50	0	
	6	35	0	
計		500	7	

表1. 静岡県のブタからのウイルス分離状況.

検体採取 年月日	検査 頭数	ウイルス 分離株数	分離ウイルス 型別
96.12.13	95	0	
97.1.14	90	4	A/H3N2型
97.2.19	90	0	
97.3.4	90	0	
計	365	4	

表2. 静岡県のブタからの分離株の抗原分析.

ウイルス抗原	フェレット感染免疫血清のHI抗体価	
	A/Yamagata/32/89	A/Wuhan/359/95
A/Yamagata/32/89 (H1N1)	8,192	-
A/Wuhan/359/95 (H3N2)	-	1,024
分離株 No.110	<16	128
分離株 No.115*	<16	128
分離株 No.119*	<16	128
分離株 No.120*	<16	128

* : 同一農場を示す

%と極めて高いHI抗体の保有が確認された(表10)。ブタ由来のA/Sw/Obihiro/10/85(H3N2)ではHI抗体陽性率が6.2%~100%で平均62.8%と比較的高いHI抗体の保有が確認された(表11)。トリ由来のA/Duck/CZ/1/56(H4N6)およびA/Turkey/England/1/63(H7N3)のうちH4型は抗体が2頭(1:80, 1:320)から確認されH

I抗体陽性率が0.3%と極めて低率であった(表12)が、H7型ではHI抗体陽性率が0%~82.4%で平均18.9%の比較的低いHI抗体陽性率ではあるが抗体の保有が確認され、極めて注目される価であった(表13)。

沖縄県におけるHI抗体保有状況は120検体中ヒト由来ウイルス2株のうち、A/Japan/307/57(H2N2)に対しては7検体でHI抗体陽性率5.8%(表14)、A/Wuhan/32/95(H3N2)に対しては118検体でHI抗体陽性率が98.3%であり(表15)、後者の方が極めて抗体陽性率が高かった。また、A/Japan/307/57(H2N2)のHI抗体価はほとんど1:80に集中しており、全体的に免疫応答も低い傾向を示した。これに比べA/Wuhan/32/95(H3N2)のHI抗体価は大半が1:320から1:2560にあり免疫応答も非常に強い傾向を示した。これらのことから、ブタにおけるウイルスの保存の程度もA/ホンコン型に顕著であることが示唆された。ブタ型ウイルスを代表するA/Sw/Shizuoka/1/78(H1N1)に対しては70.8%と比較的高いHI抗体陽性率を示した(表16)。また、HI抗体価は半数以上が1:80から1:320を保有しており、免疫応答も比較的強い傾向を示した。トリ由来のA/Turkey/England/1/63(H7N3)に対するHI抗体は、今回も調査したブタからは検出されず(表17)、調査したいずれのブタもトリ由来ウイルスの侵入を受けていないことが明らかとなった。

IV 考 察

今回の調査で、ウイルス分離において、静岡県と香川県のブタから分離されたインフルエンザウイルス4株と

表4. 沖縄県のブタからのウイルス分離状況.

検体採取年月日	検査頭数		ウイルス分離株数	
	北部	南部		
95.10.3	10	5	15	0
10.17	10	10	20	0
10.31	10	10	20	0
11.14	10	10	20	0
11.28	10	10	20	0
12.12	10	10	20	0
12.19	10	10	20	0
96.1.16	10	10	20	0
1.30	10	10	20	0
2.13	10	10	20	0
2.27	10	10	20	0
3.12	10	10	20	0
3.26	10	10	20	0
4.9	10	10	20	0
4.23	10	10	20	0
97.1.14	20	10	30	0
1.28	20	10	30	0
2.12	20	10	30	0
2.25	20	10	30	0
3.11	20	10	30	0
3.25	20	10	30	0
計	270	205	475	0

表5. 静岡県におけるインフルエンザウイルス抗体保有状況.

血清採取月	検体数	インフルエンザウイルス抗原に対する抗体保有数(%)			
		A/Sw/Shizuoka/1/78(H1N1)	A/Japan/307/57(H2N2)	A/Duck/CZ/1/56(H4N6)	A/Turkey/England/1/63(H7N3)
1996年4月	20	8	0	0	0
5月	20	2	2	0	0
6月	20	1	0	0	0
7月	20	5	0	0	0
8月	20	3	1	0	0
9月	20	5	1	0	0
10月	20	9	0	0	0
11月	20	13	0	0	0
12月	20	2	0	0	0
1997年1月	20	3	0	0	0
2月	20	0	0	0	0
3月	20	0	2	0	0
計	240	43 (17.9%)	6 (2.5%)	0	0

陽性: 80 < HI抗体価

7株の合計11株は、いずれもA型H3亜型であることが明らかとなった。ウイルスが分離された1994/95シーズンおよび1996/97シーズンのヒト流行型はAホンコン型(H3N2)であり、流行株や分離時期などを考慮すると、農場内に入出入りするヒトからブタへの感染が考えられ、ヒト型ウイルスの一過性の感染も否定できない。しかし、ブタからの分離株ウイルスは、今シーズンのワクチン製造株であるA/Wuhan/32/95(H3N2)に対するHI抗体価が今シーズン分離されたヒト流行株と比べ低いことから、HA抗原が変異している可能性も考えられる。今後、さらにこれらのブタからの分離株ウイルスの詳細な抗原分析と遺伝子解析等を含め、綿密に分析検討する必要があると思われる。

血清学的調査において、トリ由来の抗原に対する血清

HI抗体を保有するブタは、静岡県と沖縄県では確認されなかったが、香川県においてトリ由来のA/Duck/cz/1/56(H4N6)およびA/Turkey/England/1/63(H7N3)に対するHI抗体が、パターンが不明瞭で判定が困難であったが若干認められた。最近、イタリア地方のブタにトリ型インフルエンザウイルスの拡大が確認され、新型ウイルスの登場に関しても高い注目を集めている¹⁸⁾。これを裏付けるかのように、オランダの子供で発見されたホンコン型ウイルスの中にトリ型ウイルスの遺伝子が確認されている¹⁹⁾。さらに、中国南部のブタやヒトにはトリ由来のH1、H2、H4、H7等に対する抗体が検出されており、これは新型ウイルスの出現を示唆するものではないかと云う報告²⁰⁾もある。また、すべてのヒトはH4～H15に対する免疫を持っていない。

表6. 静岡県におけるA/Sw/Shizuoka/1/78(H1N1)及びA/Japan/307/57(H2N2)に対するHI抗体価の分布。

ウイルス抗原	検体数	HI抗体価						
		<1:40	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1,280
A/Sw/Shizuoka/1/78(H1N1)	240	190	7	18	8	9	6	2
A/Japan/307/57(H2N2)	240	234			1	3	2	

表7. 香川県におけるA/Sw/Hokkaido/2/81(H1N1)のHI抗体価の分布。

Antigen	A/Sw/Hokkaido/2/81(H1N1)								
	HI titer								positive total (%)
Date	<80	80	160	320	640	1280	2560	5120	
1993, 6	30								0/30 (0)
7	20								0/20 (0)
8	15	1	3				1		5/20 (25.0)
9	20								0/20 (0)
10	20								0/20 (0)
11	20								0/20 (0)
12	8								0/8 (0)
1994, 4	6								0/6 (0)
7	21								0/21 (0)
10	6								0/6 (0)
1995, 4	48	1	1						2/50 (4.0)
5	8	3	4	8	1	1	3	1	21/29 (72.4)
6	30								0/30 (0)
7	25								0/25 (0)
9	15								0/15 (0)
10	32								0/32 (0)
11	10								0/10 (0)
12	25								0/25 (0)
1996, 1	50								0/50 (0)
2	33								0/33 (0)
3	53	1	2	1					4/57 (7.0)
Total	496	6	10	9	1	1	4	1	32/528(6.1)

Positive:HI titer 80<

表8. 香川県におけるA/Sw/Shizuoka/1/78 (H1N1) のHI抗体価の分布.

Antigen	A/Sw/Shizuoka/1/78 (H1N1)								positive		
	Date	<80	80	160	320	640	1280	2560	5120	total	(%)
1993, 6		30								0/30	(0)
7		20								0/20	(0)
8		6	11	2	1					14/20	(70.0)
9		20								0/20	(0)
10		19	1							1/20	(5.0)
11		20								0/20	(0)
12		8	1							1/ 8	(12.5)
1994, 4		6	1	1						2/ 6	(33.3)
7		32	1							2/32	(6.2)
8		16	4							4/20	(20.0)
9		13	5	1						6/19	(31.5)
10		18	1		1					2/20	(10.0)
1995, 4		49		1						1/50	(2.0)
5		10	5	9	7	7	2	4	5	39/49	(79.5)
6		50								0/50	(0)
7		43	1	1						2/45	(4.4)
9		14	1							1/15	(6.6)
10		52								0/52	(0)
11		14	7	1	3	1				12/26	(46.1)
12		24	1							1/25	(4.0)
1996, 1		47	2	1						3/50	(6.0)
2		32	1							1/33	(3.0)
3		34	14	5	2	2				23/57	(40.3)
Total		572	57	23	14	10	2	4	5	115/687	(16.7)

Positive: HI titer 80<

表9. 香川県におけるA/Sw/Nagasaki/1/90 (H1N2) のHI抗体価の分布.

Antigen	A/Sw/Nagasaki/1/90 (H1N2)								positive		
	Date	<80	80	160	320	640	1280	2560	5120	total	(%)
1993, 6		30								0/30	(0)
7		20								0/20	(0)
8		6	3	1					1	4/20	(25.0)
9		20								0/20	(0)
10		19								0/20	(0)
11		20								0/20	(0)
12		8								0/ 8	(0)
1994, 4		6								0/ 6	(0)
7		27	1	1						2/29	(6.8)
8		19	1							1/20	(5.0)
9		19								0/19	(0)
10		19	1							1/20	(5.0)
1995, 4		50								0/50	(0)
5		22	5	10	4	1	4	1	2	27/49	(55.1)
6		50								0/50	(0)
7		45								0/45	(0)
9		15								0/15	(0)
10		52								0/52	(0)
11		22	3	1						4/26	(15.3)
12		25								0/25	(0)
1996, 1		50								0/50	(0)
2		31		2						2/33	(6.0)
3		53	2	1	1					4/57	(7.0)
Total		602	17	15	5	1	4	1	3	46/684	(6.7)

Positive: HI titer 80<

表10. 香川県におけるA/Japan/307/57(H2N2)のHI抗体価の分布.

Antigen	A/Japan/307/57 (H2N2)								positive total (%)	
	Date	<80	80	160	320	640	1280	2560		5120
1993, 6		1		8	13	6	1	1		29/30 (96.6)
7		20					15	5		20/20 (100)
8		0	10	2	2	6				20/20 (100)
9		0	8	8	2	2				20/20 (100)
10		0	1	7	3					20/20 (100)
11		0	4	7	2	3		4		20/20 (100)
12		0	5	7	1					8/ 8 (100)
1994, 4		0			5	1				6/ 6 (100)
7		5	13	13	1					27/32 (83.4)
8		3	10	5	2					17/20 (85.0)
9		3	6	10						16/19 (84.2)
10		3	6	7	4					17/20 (85.0)
1995, 4		5	7	18	15	5				45/50 (90.0)
5		2	8	18	15	6				47/49 (95.9)
6		7	6	15	13	9				43/50 (86.0)
7		11	6	12	15	1				34/45 (75.5)
9		4		4	7					11/15 (73.3)
10		24	6	7	13	2				28/52 (53.8)
11			1	3	16	6				26/26 (100)
12		13		2	5	4		1		12/25 (48.0)
1996, 1		23	4	7	8	2	1	5		27/50 (54.0)
2		5	3	7	10	2	1	3	2	28/33 (84.8)
3		14	5	11	15	10	1	1		43/57 (75.4)
Total		123	109	173	167	80	10	23	2	564/687 (82.1)

Positive:HI titer 80<

表11. 香川県におけるA/Sw/Obihiro/10/85(H3N2)のHI抗体価の分布.

Antigen	A/Sw/Obihiro/10/85 (H3N2)								positive total (%)	
	Date	<80	80	160	320	640	1280	2560		5120
1993, 6		6	7	7	1	3	3	2	1	24/30 (80.0)
7		4	6	3	4	2	1			16/20 (80.0)
8		14		2	2	2				6/15 (30.0)
9		2	3	7	3	4	1			18/20 (90.0)
10		3	6	3	2	4	2			17/20 (85.0)
11		2	4	7	5	2				18/20 (90.0)
12		1	1	3	2	1				7/ 8 (87.5)
1994, 4					2	2	2			6/ 6 (100)
7		2	2	2	11	4				19/21 (90.4)
10		1	2	2	1	1				6/ 6 (85.7)
1995, 4		1	3	4	17	16	6	3		49/50 (98.0)
5		5	8	10	4	1	1			24/29 (82.7)
6		9	8	7	6					21/30 (70.0)
7		13	1	6	3	2				12/25 (48.0)
9			2	5	6	1	1			15/15 (100)
10		30	1	1						2/32 (.6.2)
11		4	5	1						6/10 (60.0)
12		14	7	3	1					11/25 (44.0)
1996, 1		34	10	3	2			1		16/50 (32.0)
2		22	7	4						11/33 (33.3)
3		29	12	14	2					28/57 (49.1)
Total		528	196	95	74	45	17	6	1	332/528 (62.9)

Positive:HI titer 80<

表12. 香川県におけるA/Duck/Czeck/1/56(H4N6)のHI抗体価の分布.

Antigen	A/Duck/Czeck/1/56 (H4N6)								positive total (%)	
	HI titer									
Date	<80	80	160	320	640	1280	2560	5120		
1993, 6	30								0/30	(0)
7	20								0/20	(0)
8	20								0/20	(0)
9	20								0/20	(0)
10	20								0/20	(0)
11	20								0/20	(0)
12	8								0/ 8	(0)
1994, 4	6								0/ 6	(0)
7	32								0/32	(0)
8	20								0/20	(0)
9	19								0/19	(0)
10	20								0/20	(0)
1995, 4	50								0/50	(0)
5	49								0/49	(0)
6	50								0/50	(0)
7	45								0/45	(0)
9	15								0/15	(0)
10	52								0/52	(0)
11	26								0/26	(0)
12	25								0/25	(0)
1996, 1	50								0/50	(0)
2	33								0/33	(0)
3	55	1		1					2/57	(3.5)
Total	685	1		1					2/687	(0.3)

Positive:HI titer 80<

表13. 香川県におけるA/Turkey/England/1/63(H7N3)のHI抗体価の分布.

Antigen	A/Turkey/England/1/63 (H7N3)								positive total (%)	
	HI titer									
Date	<80	80	160	320	640	1280	2560	5120		
1993, 6	30								0/30	(0)
7	20								0/20	(0)
8	20								0/20	(0)
9	20								0/20	(0)
10	20								0/20	(0)
11	20								0/20	(0)
12	8								0/ 8	(0)
1994, 4	5	1							1/ 6	(16.6)
7	23	2	1	4	2				9/32	(28.1)
8	19		1						1/20	(5.0)
9	16	1	2						3/19	(15.7)
10	19		1						1/20	(5.0)
1995, 4	49		1						1/50	(2.0)
5	33	2	6	7	1				16/49	(32.6)
6	29	2	6	10	3				21/50	(42.0)
7	37	1	2	2	3				8/45	(17.7)
9	15								0/15	(0)
10	42	2	4	2	2				10/52	(19.2)
11	19				5	2			7/26	(26.9)
12	25								0/25	(0)
1996, 1	48	1	1						2/50	(4.0)
2	28	5							5/33	(15.1)
3	10			14	22	11			47/57	(82.4)
Total	555	17	25	39	38	13			132/687	(19.2)

Positive:HI titer 80<

これらのことから、この結果は極めて注目されることであり、今後トリ由来株ウイルスを含めたより多くのウイルス抗原とブタの調査頭数を増やすことにより、継続した調査が必要であると考えられる。ブタ由来のA/Sw/H1N1型、ヒト由来のA/H2N2型およびA/H3N2型に対するHI抗体を保有しているブタが、前回の調査か

ら引き続き確認された^{3) 4) 5) 6)}。このことから、これら3抗原に類似したウイルス株による流行がブタの間で継続的に起こっていることが示唆された。A/Japan/307/57 (H2N2) に対するHI抗体価は、過去数年来の調査報告^{12) 20) 21)}では見られなかったが、我々が昨シーズンまで行った調査において、高い分布が確認されている^{4) 6)}。

表14. 沖縄県におけるA/Japan/307/57(H2N2)のHI抗体価の分布.

Antigen		A/Japan/307/57 (H2N2)				
Date	Area	HI titer				positive total (%)
		<80	80	160	320	
14,Janu	North	10				0/10 (0)
	South	9	1			1/10 (10)
	P.Sum	19	1			1/20 (5)
28,Janu	North	10				0/10 (0)
	South	10				0/10 (0)
	P.Sum	10				0/20 (0)
12,Feb	North	10				0/10 (0)
	South	9	1			1/10 (10)
	P.Sum	19	1			1/20 (5)
25,Feb	North	10				0/10 (0)
	South	7	3			3/10 (30)
	P.Sum	17	3			3/20 (15)
11,March	North	10				0/10 (0)
	South	10				0/10 (0)
	P.Sum	20				0/20 (0)
25,March	North	10				0/10 (0)
	South	8	2			2/10 (0)
	P.Sum	18				2/20 (0)
Total		113	7			7/120 (5.8)

Positive:HI titer 80<

表15. 沖縄県におけるA/Wuhan/359/95 (H3N2) のHI抗体価の分布.

Antigen		A/Wuhan/359/95 (H3N2)							positive total (%)	
Date	Area	HI titer								
		<80	80	160	320	640	1280	2560	5120<	
14,Janu	North			1	4	4		1		10/10 (100)
	South					3		6	1	10/10 (100)
	P.Sum			1	4	7		1	6	20/20 (100)
28,Janu	North			1	2	2	4			10/10 (100)
	South	1			1	3	3	2		9/10 (90)
	P.Sum	1		1	3	5	7	2	1	19/20 (95)
12,Feb	North			1	1	4	3	1		10/10 (100)
	South			1		1	8			10/10 (100)
	P.Sum			2	1	5	11	1		20/20 (100)
25,Feb	North	1		1	2	2	2	1	1	9/10 (90)
	South				5			5		10/10 (100)
	P.Sum	1		1	2	7	2	6	1	19/20 (95)
11,March	North				5	3	2			10/10 (100)
	South		1		2	5	2			10/10 (100)
	P.Sum		1		7	8	4			20/20 (100)
25,March	North					1	6	3		10/10 (100)
	South				1			9		10/10 (100)
	P.Sum				1	1	6	12		20/20 (100)
Total		2	1	5	18	33	31	27	3	118/120 (98.3)

Positive:HI titer 80<

しかし、この高いHI抗体価はインヒビターやノイラミニダーゼによる交叉反応やも考えられ、この可能性を否定するために、今後中和抗体、ELISA等により検討する必要も考えられる。このインフルエンザウイルスは、数十年前に消えて無くなったアジア型ウイルスであり、30歳未満のヒトはこのウイルスに対して非免疫であり、抗体を保有していないと思われる。近い将来の新型ウ

イルスの流行ということからも、今後、このウイルスの動向が極めて注目される。このアジア型インフルエンザウイルスは、近年、ヒトの間では感染報告のないウイルス型であり、ヒトへ感染が波及することも考慮して、今後も引き続き継続的に調査を行い、検査体制を強化して行く必要があると思われた。さらに、今後継続的な調査の中でウイルスの存在を証明するためにヒトのみならずブ

表16. 沖縄県におけるA/Sw/Shizuoka/1/78(H1N1)のHI抗体価の分布。

Antigen		A/Sw/Shizuoka/1/78(H1N1)							
Date	Area	HI titer						positive total (%)	
		<80	80	160	320	640	1280	2560<	
14,Janu	North		3	2	4		1	10/10 (100)	
	South	3	1	1	2	2	1	7/10 (70)	
	P.Sum	3	4	3	6	2	2	17/20 (85)	
28,Janu	North	6	3	1				4/10 (40)	
	South	5	3	2				5/10 (50)	
	P.Sum	11	6	3				9/20 (45)	
12,Feb	North	1	2	6	1			9/10 (90)	
	South	1	2	3	2	1		9/10 (90)	
	P.Sum	2	4	9	3	1	1	18/20 (90)	
25,Feb	North	0	0	2	6	2		10/10 (100)	
	South	2	2	2	2	2		8/10 (80)	
	P.Sum	2	2	4	8	4		18/20 (90)	
11,March	North	3	4		1	2		7/10 (70)	
	South	4	2	1	3			6/10 (60)	
	P.Sum	7	6	1	4	2		13/20 (65)	
25,March	North	7	3					3/10 (30)	
	South	3	6	1				7/10 (70)	
	P.Sum	10	9	1				10/20 (50)	
Total		35	31	21	21	9	2	1	85/120 (70.8)

Positive:HI titer 80<

表17. 沖縄県におけるA/Turkey/England/1/63(H7N3)のHI抗体価の分布。

Antigen		A/Turkey/England/1/63(H7N3)				
Date	Area	HI titer			positive total (%)	
		<80	80	160	320	
14,Janu	North	10				0/10 (0)
	South	10				0/10 (0)
	P.Sum	20				0/20 (0)
28,Janu	North	10				0/10 (0)
	South	10				0/10 (0)
	P.Sum	20				0/20 (0)
12,Feb	North	10				0/10 (0)
	South	10				0/10 (0)
	P.Sum	20				0/20 (0)
25,Feb	North	10				0/10 (0)
	South	10				0/10 (0)
	P.Sum	20				0/20 (0)
11,March	North	10				0/10 (0)
	South	10				0/10 (0)
	P.Sum	20				0/20 (0)
25,March	North	10				0/10 (0)
	South	10				0/10 (0)
	P.Sum	20				0/20 (0)
Total		120				0/120 (0)

Positive:HI titer 80<

タやトリ等の動物からのウイルス分離が不可欠であると
考えられる。

<謝 辞>

稿を終えるにあたり、本研究を行なう際に検体採取にご協力いただきました静岡県、香川県および沖縄県の各食肉衛生検査所の所長および諸先生方に深謝いたします。

なお、本研究は平成8年度厚生省科学研究費補助金によるワクチン予防接種対策総合研究事業「インフルエンザワクチンの予測に関する研究」分担研究課題名：流行期と非流行期におけるヒト及び動物ウイルスの観測の調査研究、班長（主任研究者）：国立感染症研究所室長根路銘国昭、班員（分担研究者）：沖縄県衛生環境研究所長福村圭介により行った。

V ま と め

1. 静岡県および香川県のブタからそれぞれ4株と7株のインフルエンザウイルス分離され、いずれもA型H3亜型であることが明らかとなった。沖縄県のブタからは分離されなかった。これらの分離ウイルス株の詳細な抗原分析を検討する必要がある。
2. PCR法によるゲノムの検出を試みたが検出されなかった。さらに、ウイルスの存在を証明するために積極的なブタからのウイルス分離が不可欠である。
3. トリ由来の2抗原H4, H7に対する抗体は静岡県と沖縄県では検出されなかったが、香川県においてA/Duck/CZ/1/56 (H4N6) およびA/Turkey/England/1/63 (H7N3) に対するHI抗体が若干認められた。今後も、トリ由来ウイルスに注目し調査をする必要がある。
4. A/Sw/H1N1型, A/H2N2型およびA/H3N2型に対する抗体保有豚が確認された。
5. 特に, A/Japan/307/57 (H2N2) に対するHI抗体陽性率は香川県において82.1%と極めて高率であり、さらに、静岡県や沖縄県でも低率ではあるが抗体の保有が確認され、今後の動向が極めて注目される。
6. 以上ことから、これらのウイルスがヒトへ感染が波及することも考慮して、今後も引き続き、本研究における継続的な調査が必要である。

VI 参 考 文 献

- 1) Palese, P. and Schulman, J. L. (1976) RNA pattern of swine influenza virus isolated from man is similar to those swine influenza viruses. *Nature*, 256:528.
- 2) Goldfield, M., Bartley, J. D., Pizzuti, W., Bluck, H. C., Altman, R. and Halperin, W.E. (1977) Influenza in New Jersey in 1976: isolation of influenza A/New Jersey/76 virus at Fort Dix. *J. Infect. Dis.*, supplemental issue, 136:s347.
- 3) 山西重機 (1996) 香川県のブタにおけるサーベイランス. 衛生微生物技術協議会第17回研究会, 京都, pp. 54.
- 4) 大野惇 (1996) 沖縄県のブタにおけるサーベイランス. 衛生微生物技術協議会第17回研究会, 京都, pp. 55.
- 5) 高重宏一・山西重機 (1997) 豚間におけるインフルエンザウイルスの動向. 平成8年度獣医公衆衛生学会年次大会, 仙台, pp. 450-451.
- 6) 大野惇・糸数清正・大城直雅・久高潤・安里龍二・徳村勝昌・石田正年・根路銘国昭 (1995) ブタにおけるトリ, ブタ, およびヒトインフルエンザウイルスの伝播についての調査. 沖縄県衛生環境研究所報, 29:47-52.
- 7) 芝田充男・篠川至・庭山清八郎・岩瀬勇雄 (1978) Aブタ1型インフルエンザウイルスの分離と疫学調査. *日本医事新報*, 2841:43-49.
- 8) Sugimura, T., Ogawa, T. and Tanaka, Y. (1980) *Res. Vet.Sci.*, 31:345.
- 9) Nerome, K., Ishida, M., Oya, A. and Oda, K. (1982) The possible origin H1N1 (H1swN1) virus in the population of Japan and antigenic analysis of the isolates. *J. gen. Virol.*, 62:171.
- 10) Sugimura, T., Yonemochi, H., Ogawa, T. and Tanaka, Y. (1980) *Arch. Virol.*, 66:271-274.
- 11) Yasuhara, H., Hirahara, T. and Nakai, M. (1983) *Microbiol. Immunol.*, 27:43-50.
- 12) 林和彦・橋本哲二・向原要一・久住呂毅・毛利卓 (1993) 長崎県におけるH1N2型ウイルスによる豚インフルエンザの流行. *日獣会誌*, 46:459-462.
- 13) Nerome, K., Sakamoto, S., Yano, N., Yamamoto, T., Koba yashi, S., Webster, R. G. and Oya, A. (1983) Antigenic characteristics and genome composition of a naturally occurring recombinant influenza virus isolated from pig in Japan. *J. gen. Virol.*, 64:171.
- 14) Nerome, K., Yoshioka, Y., Sakamoto, S., Yasuhara, H. and Oya, A. (1985) Characteristics of a swine recombinant influenza virus isolated in 1980: recombination between swine and

- the earliest Hong Kong (H3N2) viruses. *Vaccine* 3, supplement:267.
- 15) Nerome, K., Kanegae, Y., Yoshioka, Y. and Oya, A. (1991) Evolutionary pathways of N2 neuraminidases of swine and human influenza A viruses: origin of the neuraminidase genes of two reassortants (H1N2) isolated from pigs. *J. gen. Virol.*, 72:693-698.
- 16) Kanegae, Y., Sugita, S., Shortridge, K. F., Yoshioka, Y. and Nerome, K. (1994) Origin and evolutionary pathways of the H1 hemagglutinin gene of avian, swine and human influenza viruses: cocirculation of two distinct lineages of swine virus. *Arch. Virol.*, 134:17-28.
- 17) Jensen, K.E. (1961) Diagnosis of influenza by Serologic methods. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 83 :120-124.
- 18) Castrucci, M. R., Donatelli, I., Sidoli, L., Barigazzi, G., Kawaoka, Y. & Webster, R. G. (1993) Genetic reassortant between avian and human influenza A viruses in Italian pigs. *Virol.*, 193 : 503-506.
- 19) Claas, E. C., Kawaoka, Y., de-Jong, J. C., Masarel, N. & Webster, R. G. (1994) Infection of children with avian-human reassort influenza viruses from pigs Europe. *Virol.*, 204 : 453-457.
- 20) 石田正年・根路銘国昭・中山幹男・大谷明・須田光男・三島洋・古橋圭介・小林一郎・小田和正 (1979) 日本におけるブタ型インフルエンザの浸淫. *臨床とウイルス*, 7:189-194.
- 21) 森田盛大・庄司キク・原田盛三郎・鈴木正則・斉藤志保子・石田名香雄 (1980) 秋田県内の豚におけるA型インフルエンザウイルスの感染状況. *秋田県衛生科学研究所報*, 24:105-109.
- 22) 田代真人 (1996) 新型インフルエンザウイルス出現と大流行に対する国際会議の報告: 急がれるサーベイランス体制の確立. *衛生微生物技術協議会第17回研究会*, 京都, pp. 53.
- 23) 田代真人 (1997) インフルエンザ (教育講演). *衛生微生物技術協議会第18回研究会*, 大分 (別府), pp. 36.