

資料

豚インフルエンザウイルスのサーベイランス

竹前喜洋、廣本靖明、内田裕子、林 豪士、西藤岳彦

(農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 ウイルス・疫学研究領域)

Takemae, N., Hiromoto, Y., Uchida, U., Hayashi, T. and Saito, T. (2012). Swine influenza surveillance.

Proc. Jpn. Pig Vet. Soc. 59, 1-5.

キーワード：インフルエンザウイルス、豚、サーベイランス

1. はじめに

豚インフルエンザウイルス (SIV) に感染した豚は、発熱・鼻水・咳等を伴う急性の呼吸器症状を呈することが知られている。死亡率は1%程度と低いが、感染率は100%に達することがある。SIV 感染による食欲不振は、増体量の減少を引き起こし養豚業における経済的損失の一因となっている。また、その他のウイルス・細菌との混合感染による症状の重篤化も知られており、農場内における SIV 感染のコントロールは養豚業にとって重要な課題の一つである。

SIV は、A型インフルエンザウイルスに属し、そのゲノムは8本の RNA 分節からなる。そのため、由来

の異なる2つ以上のウイルスが同一宿主に同時感染すると遺伝子の交雑 (遺伝子再集合:リアソートメント) が起こることがある。SIV には、主に3つの亜型、H1N1 亜型、H1N2 亜型、H3N2 亜型が世界的に流行しているが、リアソートメントによりそれらの遺伝的成り立ちは複雑である (図1)。スペイン風邪に由来する「古典的 H1N1 亜型 SIV」は1918年以降世界中で報告されている。1968年の香港風邪に由来する「ヒト型 H3N2 亜型 SIV」も世界中で報告され、その後、古典的 H1N1 亜型 SIV とのリアソートメントにより H1N2 亜型 SIV として日本や中国等で循環している。ヨーロッパでは、1979年以降、鳥から豚に侵入したトリ型 H1N1 亜型 SIV が豚で循環している。北アメリカの豚では、季節性のヒト H3N2 亜型ウイルスと古典的 H1N1 亜型 SIV と鳥に由来するウイルスが豚の中でリアソ-

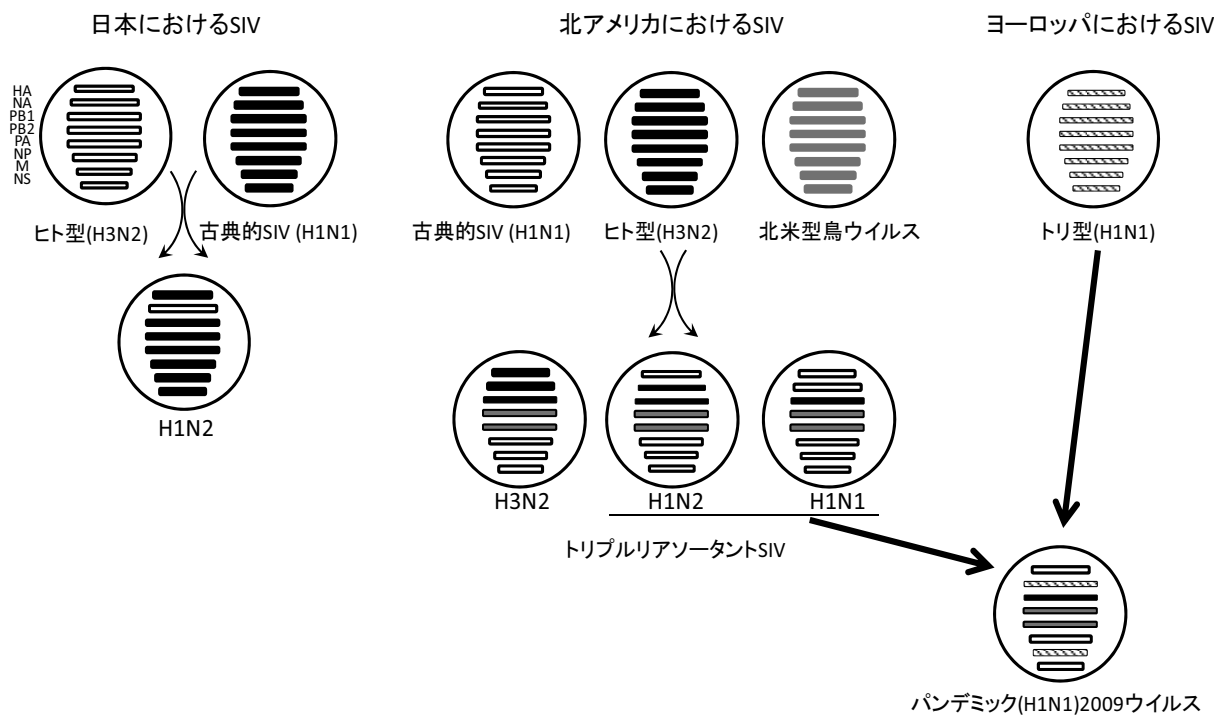


図1 世界で見られる主な SIV の遺伝的起源

トメントした結果、「トリプルリアソータント SIV」が生じ、1998年以降に流行している。このように豚は、人や鳥のウイルスの両方に感受性があり、以前から新型ウイルスを生む中間宿主として注目されてきた。パンデミック (H1N1)2009ウイルスが、トリ型 H1N1 亜型 SIV とトリプルリアソータント SIV との遺伝子再集合体であったことから、公衆衛生面からも SIV サーベイランスの重要性が高まっている。

動物衛生研究所は、2005年から文部科学省の新興・再興感染症研究拠点形成プログラム（現：感染症研究国際ネットワーク推進プログラム）に参画し、タイ国バンコクにあるタイ国立家畜衛生研究所内に研究拠点を設置して、タイ国の SIV の調査・研究を行っている。また、2009年にはベトナム農業農村開発省家畜衛生局との間で「ベトナムにおける豚のインフルエンザサーベイランス」に関する共同研究協定を締結し、ベトナムの北部と南部における SIV サーベイランスを継続中である。

養豚業が世界中で活発になる中で、2009年のアジア地域における豚飼育頭数は世界における飼育頭数の約60%を占めている。ベトナム、タイの2009年の豚飼育頭数は、1970年当時のそれぞれ10、3.6倍に増加し、それぞれアジア地域の第2位と6位の豚肉生産国となっている¹⁾。しかしながら、我々が SIV の調査・研究を

開始した当時の各国における SIV の状況はほとんど分かっていなかった。本稿では、我々がやっているタイとベトナムにおける SIV の研究とサーベイランス活動について報告する。

2. タイ国における SIV と SIV サーベイランス

タイで流行している SIV の遺伝的背景を明らかにするためにタイ国立家畜衛生研究所で2000年から2005年に分離された H1N1 亜型 6 株、H1N2 亜型 1 株、H3N2 亜型 5 株の全遺伝子分節の配列を決定した。得られた遺伝子情報と世界各国で既に報告されている遺伝子情報を用いて、近隣結合法による系統樹解析を行った。タイで流行していた SIV は北アメリカやヨーロッパで見られるように、複数の遺伝的に異なるインフルエンザウイルスの遺伝子再集合体で、各遺伝子の由来の組み合わせから9つの異なる遺伝子型に分類された (図2)⁴⁾。タイ SIV がこうした複雑な遺伝子型をどのように獲得したかを推定するため、各遺伝子の系統樹の作成に用いたウイルスの分離年と塩基置換数をプロットし回帰分析を行った。その結果、2種類の異なった古典的 H1N1 亜型 SIV が1980年代にタイ国に侵入し、その後、ヨーロッパで循環していたトリ型豚ウイルスおよびヒト由来ウイルスがそれぞれ少なくとも2回この地域の豚に侵入したことが示唆された (図3)。また、

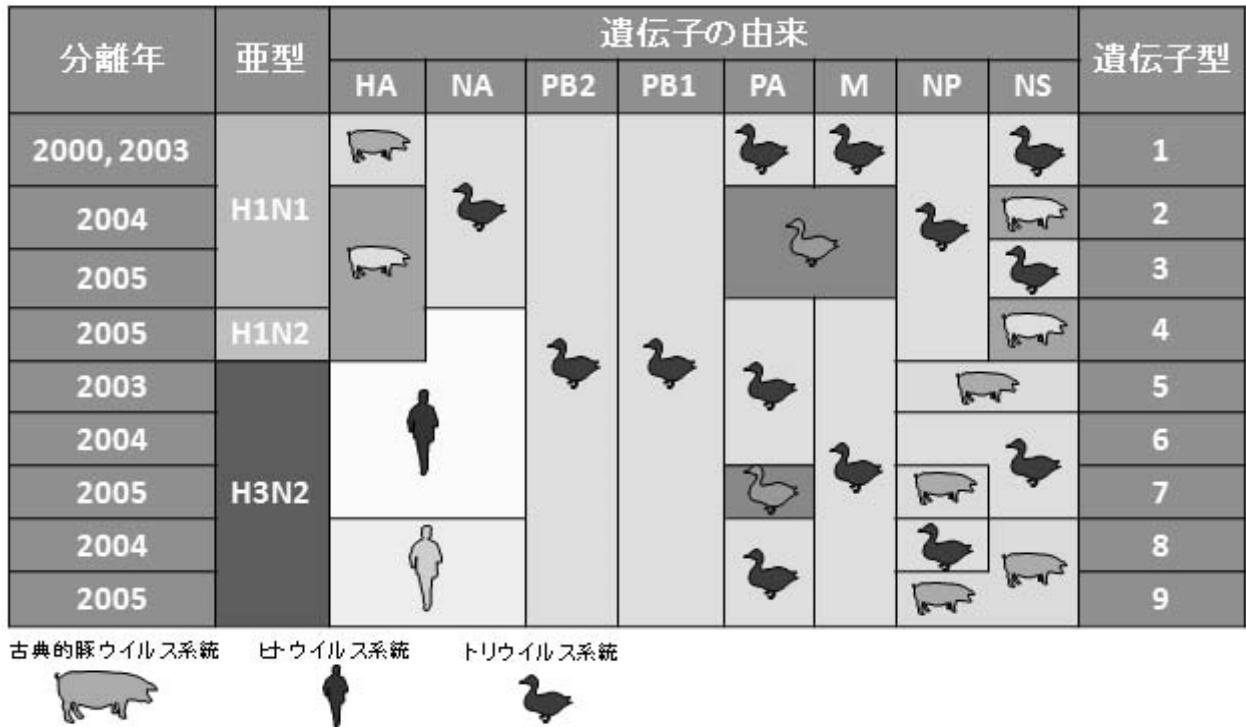


図2 2000年から2005年にタイ国で分離された SIV の各遺伝子の起源

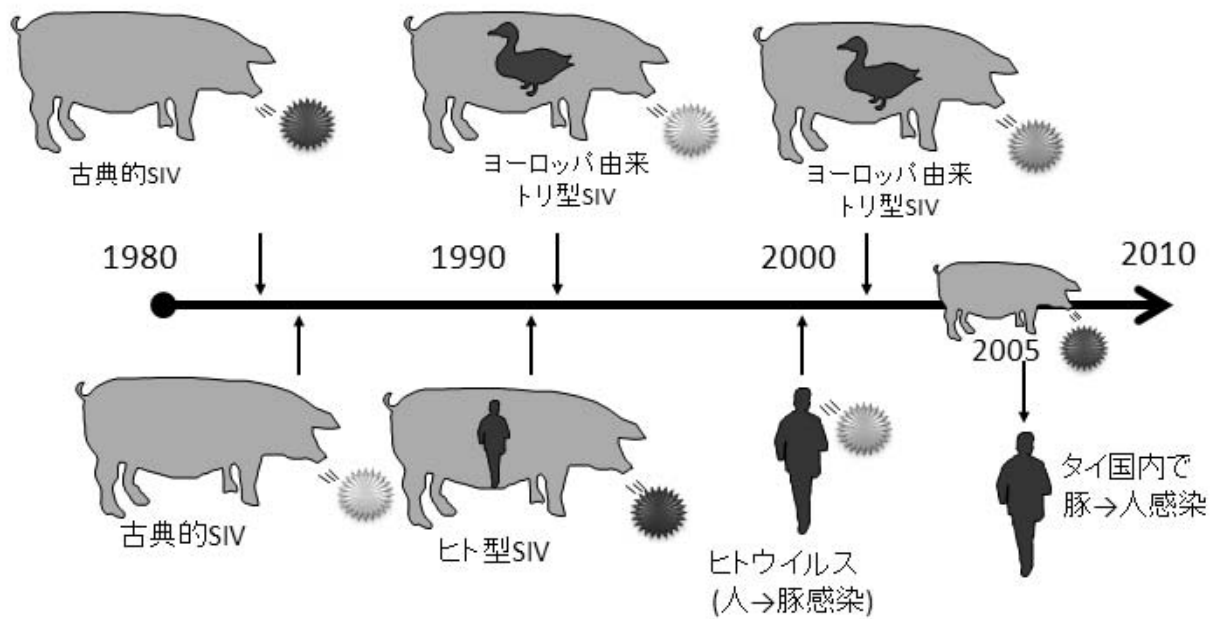


図3 タイ国の豚で見られたSIVの遺伝的多様性の獲得の経緯

本解析によって2005年にタイ国内で豚から人へのSIV感染が起きていたことも明らかになった(図3)。

タイで循環していたSIVの遺伝的多様性を明らかにしたが、農場内・農場間のSIV循環メカニズムはあまり分かっていない。我々は、タイ国国家畜衛生研究所の協力の下、タイ国中央部におけるSIVの浸潤度と循環メカニズムを明らかにすることを目的として、SIVサーベイランスを開始した。2008年1月から2009年11月までに、タイ国中央部に位置するSaraburi県、Singburi県、Ratchaburi県(図4)にある6つの一貫経営農場において、臨床的に健康な豚から鼻腔拭い液731検体と血清641検体を採取した(図5)。6農場の内、5農場では定期的に年3回の採材を行った。採材は、離

乳豚(3-10週令)、肥育豚(12-16週令)、母豚(1歳以上)、他農場からの導入豚(8週令-1歳令)の4群から行った。鼻腔拭い液は、犬腎臓由来(MDCK)細胞に接種しウイルス分離を試みた。SIVが分離された場合は、全分節の塩基配列を決定し、近隣結合法による系統樹解析を行った。血清に対しては、H1又はH3亜型に対する抗体保有率の調査のためにELISA法(IDEXX社)または赤血球凝集阻止(HI)試験を行った。

本サーベイランスにおいては、全12株のSIVが分離され、内11株が4-8週令の豚由来であった。農場A(Saraburi県)においては、離乳豚(4-8週令)から2008年6月にH3N2亜型SIVが1株、2009年1月と

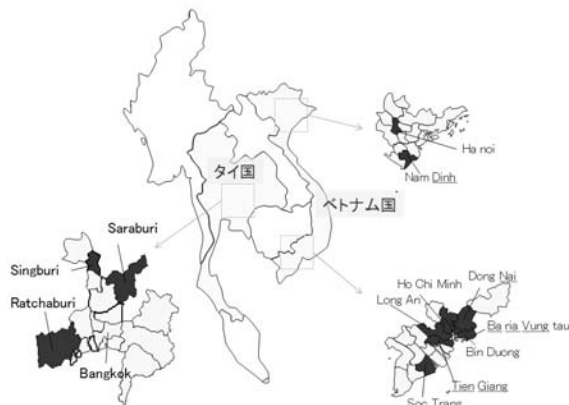


図4 SIVサーベイランス地域。調査を実施した農場・屠場のある県を網掛けした



図5 タイ国の豚農場において肥育豚から血液を採集している様子。(写真左:著者の一人 廣本靖明主任研究員)

11月にH1N1亜型SIVがそれぞれ3株と5株分離された。同じく農場Aで、2009年7月に導入豚(8週令)からH3N2亜型SIVが1株分離された。また、2008年1月に農場B(Ratchaburi県)の肥育豚(12週令)からH1N1亜型SIVが1株分離された。2009年11月に農場C(Saraburi県)の離乳豚(8週令)からパンデミック(H1N1)2009ウイルスが1株分離された。遺伝子解析の結果から、農場AとBで分離されたSIVが2000-2005年にタイで循環していたSIVの子孫株であり、全遺伝子分節で98%以上の相同性を保持していた。農場AとBは100km以上離れた場所にあり、農場間の豚の移動は無い。そのため、分離されたH1N1亜型SIVと同じ遺伝子型のSIVがタイ国内中央部で循環していることと、タイ国内において農場間のSIV感染が起こっていることが示唆された。また、農場AでSIVが分離された導入豚は調査4日前に導入され、隔離された豚舎で検疫中であったことから、SIVの侵入経路における豚の導入の関与が示唆された。一方で、豚の導入の無い農場Cでパンデミック(H1N1)2009ウイルスが分離されたことから、豚の導入を伴わないウイルス侵入経路も示唆された。ウイルスが分離されなかった農場においては、SIV抗体陽性の肥育豚が認められ、SIVの侵入が起こっていたことが明らかになった。以上の結果から、SIVサーベイランスにおいては、離乳豚からの採材はSIV分離の標的に、肥育豚の血清は農場内の直近のSIV感染の指標となりうる事が明らかになった。これらの情報は、最適なSIVサーベイランスの戦略を決める上で重要である。

3. ベトナム国におけるSIVサーベイランス

2010年3月からベトナムの北部と南部においてSIVサーベイランスを実施中である。ベトナム北部の2県と南部7県にある豚農場の哺乳豚・離乳豚・肥育豚・



図6 ベトナム国の豚農場において鼻腔拭い液を採取している様子。(写真左:著者の一人 竹前喜洋 研究員)

母豚・雄豚の各群と屠場の出荷豚から鼻腔拭い液を採取した(図4、6)。採材は、各地域で年間2から3回行い、全部で19株のSIVが分離された。それらは、パンデミック(H1N1)2009ウイルスが12株、H3N2亜型SIVが6株、H1N2亜型SIVが1株であった。全てのSIVは、離乳豚(4-8週令)と肥育豚(8-24週令)より分離された。パンデミック(H1N1)2009ウイルスは北部と南部の両地域の豚から分離され、H3N2とH1N2亜型SIVは、南部の豚から分離された。分離されたH3N2亜型SIVは、他の国のSIVでは見られない遺伝子の組み合わせを持っていた。系統樹解析により、ベトナムH3N2亜型SIVは2004年頃に北アメリカに由来するトリプルリアソータントSIVと季節性のヒトH3N2亜型ウイルスのリアソートメントにより産生されたと考えられた(図7)²⁾。以上、我々のベトナムにおけるSIVサーベイランスにおいては、ベトナムで循環するSIVを世界で初めて報告した。今後も、ベトナム国内のSIVの浸潤状況や循環メカニズムを明らかにしていく予定である。

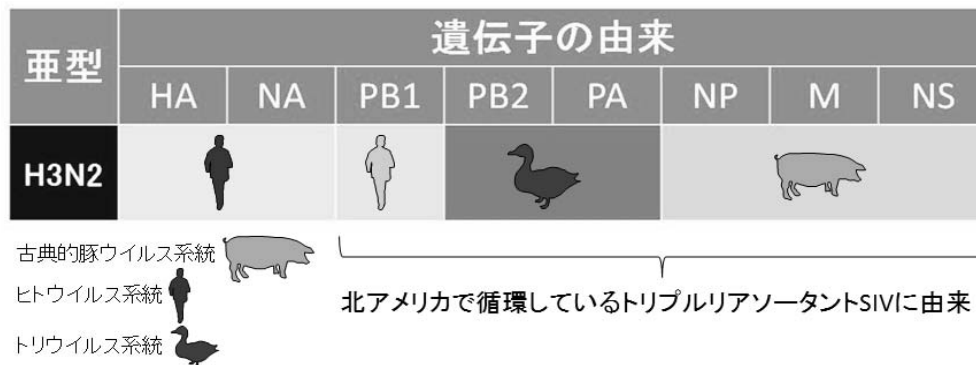


図7 ベトナム国のSIVサーベイランスで分離されたH3N2亜型SIVの各遺伝子の起源

4. おわりに

本稿では、日本と同じくアジア圏に属する主要な養豚国であるタイ、ベトナムでのSIVサーベイランス活動について述べた。日本国内においては、1969年に香港風邪由来するH3N2亜型SIVが、1970年代には古典的H1N1亜型SIVが分離されている。また、これらのウイルスの遺伝子再集合体であるH1N2亜型SIVが1970年代後期に豚で循環し始め、現在の日本の主流SIVウイルスの一つとなっている³⁾。日本でのSIV発生報告件数は少ないものの、全国的な広がりを見せている。2000年以降にはH1N2亜型SIVが青森県、宮城県、栃木県、埼玉県、宮崎県で、H3N2亜型SIVが大阪府、愛媛県、長野県でそれぞれ分離されている。2009年4月にアメリカで初めて分離されたパンデミック(H1N1)2009ウイルスは、翌月には日本国内の人から分離され、同年10月には大阪府の養豚場の豚に侵入、翌年1月には山形の養豚場の豚に侵入したことが確認された。パンデミックウイルスと従来のSIVとの遺伝子再集合体は、既にいくつかの国の豚で報告され、養豚業上と公衆衛生上の両面から懸念されている。我々は、こうした新型ウイルスの早期発見や養豚業上の経済的損失の軽減のためにSIVサーベイランスを継続していく。

謝辞

本研究の一部は、文部科学省「感染症研究国際ネットワーク推進プログラム」によるものである。

引用文献

1. FAO (2011), FAOSTAT data.
2. Ngo LT, et al. (2011). Isolation of novel triple-reassortant swine H3N2 influenza viruses possessing the hemagglutinin and neuraminidase genes of a seasonal influenza virus in Vietnam in 2010. *Influenza Other Respi Viruses*:DOI: 10.1111/j.1750-2659.2011.00267.x.
3. Saito T, et al. (2008). Molecular characterization of an H1N2 swine influenza virus isolated in Miyazaki, Japan, in 2006. *J Vet Med Sci* 70:423-427.
4. Takemae N, et al. (2008). Genetic diversity of swine influenza viruses isolated from pigs during 2000 to 2005 in Thailand. *Influenza Other Respi Viruses* 2:181-189.