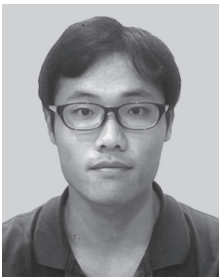


日本の豚インフルエンザの現況と課題

峯 淳貴[†] (国研農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門 人獣共通感染症研究領域 新興ウイルスグループ)



1 はじめに

豚インフルエンザはA型インフルエンザウイルスが感染して起こる豚の急性呼吸器感染症で、感染した豚では発熱、せき、くしゃみ、食欲不振など人のインフルエンザに似た症状を示し、多くの場合一週間程度で回復する。豚インフルエンザウイルス (IAV-S) は感染力が高く、一つの豚群の中での罹患率が100%に達することもある。このウイルスに感染した豚の致命率は低いものの、増体率の減少などにより経済的損失が増大し、さらにIAV-Sは豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスや豚サーコウイルス2型、マイコプラズマなどと共感染することで呼吸器複合病を引き起こし、症状を重篤化させる [1]。

新型インフルエンザウイルスの出現に、豚並びにIAV-Sは大きく関与している。インフルエンザウイルスは宿主の細胞表面にあるレセプターを認識して感染する。人にはシアル酸とガラクトースが $\alpha 2,6$ 結合しているもの (ヒト型レセプター) が、鳥には $\alpha 2,3$ 結合しているもの (鳥型レセプター) が多く存在している。ヒト由来のインフルエンザウイルスがヒト型レセプターを、鳥インフルエンザウイルスが鳥型レセプターをそれぞれ認識することが、A型インフルエンザウイルスの宿主特異性に大きく関与している。豚の気管上皮細胞には鳥型とヒト型のレセプターが両方発現しているために、豚は両宿主由来のウイルスに感染することができる [2]。この性質のため、豚の中で複数のA型インフルエンザウイルスが感染した際にその遺伝子が混合 (遺伝子再集合) し、新たな遺伝子組成を持ったウイルスが出現することがある。実際に、2009年にパンデミックを起こしたH1N1亜型インフルエンザウイルスは、豚、鳥、人のA型インフルエンザウイルス由来の遺伝子が混在し

ており、その出現に豚が重要な役割を担っていたと考えられている [3]。IAV-Sの遺伝学的背景や新型インフルエンザウイルスの出現機構についての詳細については、農研機構HP (https://www.naro.go.jp/laboratory/niah/disease/swine_flu/index.html) を参照。

農場で豚インフルエンザを制御するための手段の一つにワクチンがある。IAV-Sのワクチンは、ウイルスの表面抗原であるヘマグルチニン (HA) タンパク質並びにノイラミニダーゼ (NA) タンパク質により示される抗原性が流行株と交差している場合に高い感染防御やウイルス排泄抑制能が期待される。現在国内で入手できるワクチンとして、40年以上前に国内で流行していたIAV-S (H1亜型が1979年、H3亜型が1969年分離株) がワクチン株として使用されているものと、アメリカで2000年代に流行した株をワクチン株として用いたものがある。

以上から、IAV-Sは養豚産業への経済被害の原因となることに加え、新たなパンデミックウイルスの出現に重要な役割を持っていることが明らかになっている。しかしながら、IAV-S単独感染での豚の症状は軽度であり、症状を全く示さない (不顕性感染) こともある上に致命率も低いことから、豚インフルエンザは監視伝染病に指定されていない。そのため、国内での豚インフルエンザに関する報告は少なく、近年日本で流行しているIAV-Sの特徴は明らかになっていない。またそのために、近年流行しているIAV-Sが遺伝的、抗原的に既存のワクチンと合致しているかは不明である。

本研究では、2015年以降われわれのグループで行っている豚インフルエンザサーベイランス並びに病性鑑定で得たIAV-Sについて系統的な解析を行った結果を示すとともに、既存の国内株を使用したワクチンの近年流行株に対する効果について情報を提供する。

[†] 連絡責任者：峯 淳貴 (国研農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門 人獣共通感染症研究領域 新興ウイルスグループ)
〒305-0856 つくば市観音台3-1-5 ☎029-838-8333 FAX 029-838-7758
E-mail : minejun84032@affrc.go.jp

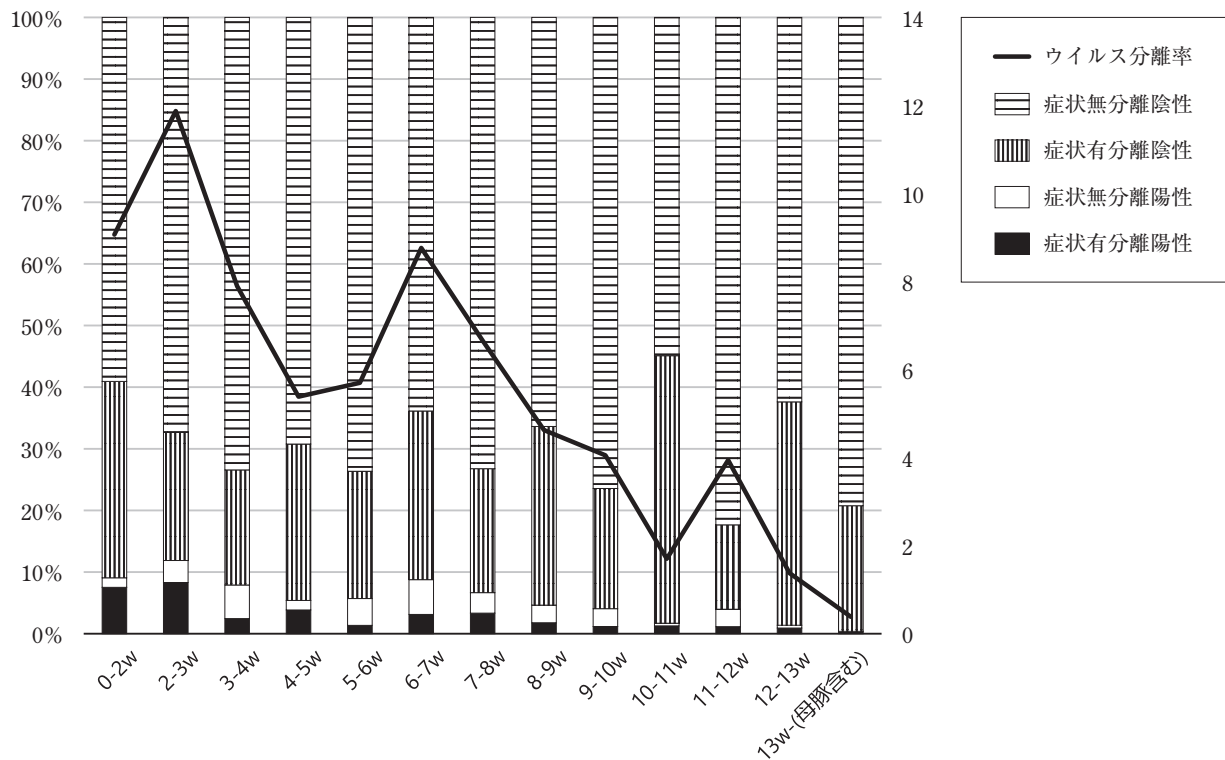


図1 サーベイランスでのウイルス分離率と臨床症状の有無

2 調査方法

2015年以降、豚インフルエンザサーベイランス並びに病性鑑定業務を通して国内の21都道府県の養豚場の豚から臨床症状の有無を問わず無作為に鼻腔拭い液を採取し、リアルタイムPCR法によりA型インフルエンザウイルスのM遺伝子を検出した。A型インフルエンザウイルス陽性と判定された検体については、MDCK細胞並びに鶏卵によるウイルス分離を試みた。分離されたIAV-Sの全遺伝子配列を解読し、系統解析を行った。サーベイランスを通じ得られたIAV-Sの内、H1N1亜型のIAV-S (A/swine/Gunma/8-2986/2016: 群馬株) 及びH3N2亜型のIAV-S (A/swine/Chiba/1-5640/2018: 千葉株) について、豚インフルエンザワクチン (一社京都微研, 京都) の効果を検討した。ワクチンにはH1N1亜型の豚インフルエンザウイルス (A/swine/Kyoto/3/79: 京都株) 並びにH3N2亜型の豚インフルエンザウイルス (A/swine/Wadayama/5/69: 和田山株) が含まれる。それぞれの攻撃株についてワクチン接種群を4頭、非接種群を4頭使用した。ワクチン接種群は4週齢時並びに7週齢時に2度のワクチン接種を行い、その後両群が10週齢時に 1.0×10^4 50%ウイルス感染量 (TCID₅₀/ml) のIAV-Sをネブライザー (オムロン株, 京都) を用いて吸入させた。ウイルス接種後1, 3, 5, 7, 14日目に鼻腔拭い液を採取し、ウイルス排泄量を定量するためにMDCK細胞を用いてTCID₅₀/mlを計測した。また、ワクチン接種前、ウイルス接種前、並びにウ

イルス接種14日後に採血し、ELISA (IDEXX, U.S.A.) 並びに赤血球凝集阻止試験により抗体価を測定した。

3 結果

2015年から2023年にかけて1道14県の養豚場から15,029検体の鼻腔拭い液を採取し、1道10県で921株のIAV-Sを分離した。サーベイランスを通じてのIAV-Sの分離率は5.9%であった。各週齢でのウイルス分離率を調べたところ、2~3週齢の哺乳豚で11.9%と最も高く、週齢を重ねるにつれて下がっていき、13週齢以降ではほとんどIAV-Sは分離されなかった (図1)。また、臨床症状の有無とウイルス分離の関連性を調べたところ、臨床症状の認められない豚でもIAV-Sが分離されることが明らかになった。特に、3~4週齢並びに5~7週齢でIAV-Sが分離された豚では、臨床症状の無い豚から多くのIAV-Sが分離されている。

IAV-Sが分離された豚の表面抗原であるHA遺伝子を解析したところ、大きく3つの系統 (1A.1 Classical swine H1, A(H1N1)pdm09 H1, ヒト季節性H3) のHAを持つウイルスに分類された (図2)。1A.1 Classical swine 系統のH1遺伝子を有するIAV-Sは人から豚に種間伝播した1970年以降、系統的に国内で固有の進化を遂げており、他国のIAV-SのH1遺伝子とは大きく異なっていた。1990年代後期に人から豚に異種間伝播したとされるヒト季節性インフルエンザウイルス由来のH3N2亜型IAV-Sは、サーベイランス期間中に日本で分

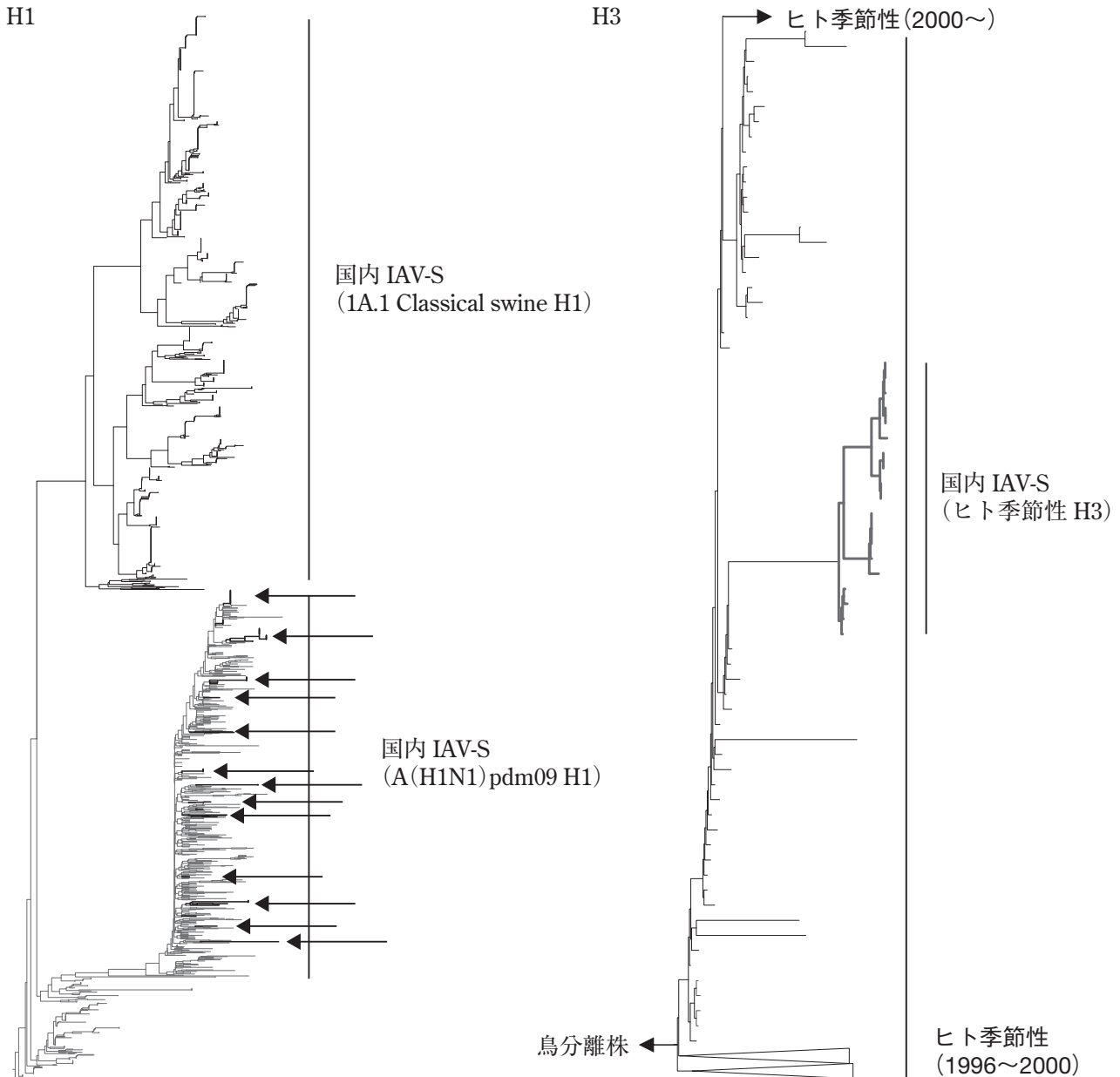


図2 豚インフルエンザウイルスのHA遺伝子による分類

離された全株が遺伝的に近縁であった。2009年に世界的に流行したA(H1N1)pdm09ウイルス由来のIAV-Sは、系統樹上で一つのグループにまとまらず、散発的に豚群に侵入していることが示唆された。もう一つの表面抗原であるNA遺伝子は、上述の1A.1 Classical swine系統のIAV-Sが有していたN2遺伝子、H3N2亜型のIAV-Sが有していたN2遺伝子並びに、A(H1N1)pdm09ウイルスが有していたN1遺伝子に分類された。全長遺伝子の解析により、A(H1N1)pdm09ウイルスが侵入した2009年以降、このウイルスが日本固有のIAV-Sと遺伝子再集合を起こし、表面抗原遺伝子、内部遺伝子共にA(H1N1)pdm09ウイルスに置き換わっているIAV-Sが多数存在した。

地理的な分布に注目してみると、1A.1 Classical

swine系統のHA遺伝子を有する株は関東地方(群馬県、栃木県、千葉県、茨城県)、東北地方(岩手県)、並びに九州地方(宮崎県、鹿児島県)で分離された(図3)。H3遺伝子を有する株は九州地方並びに千葉県に限局していた。一方でA(H1N1)pdm09ウイルスのHA遺伝子を持つIAV-Sは北海道、本州(新潟県、栃木県、群馬県、愛知県、鳥取県、岡山県)、九州(鹿児島県、宮崎県、長崎県、福岡県、熊本県、佐賀県)に存在していた。

ワクチン効果検証において、ウイルス攻撃試験に用いた群馬株[A(H1N1)pdm09 H1]とワクチン株である京都株でのHA遺伝子の塩基相同率は86.5%、千葉株とワクチン株である和田山株でのHA遺伝子の塩基相同率は85.7%であった。ワクチン接種群と非接種群との間でのピーク時のウイルス排泄量についてスチューデン

表 チャレンジ試験でのウイルス排泄量の推移と HI 抗体価

Pig No.	ワクチン	攻撃株	ウイルス排泄量* (log ₁₀ TCID ₅₀ /ml) の推移					HI 抗体価		
			Day1	Day3	Day5	Day7	Day14	京都株	和田山株	攻撃株
1	免疫群	千葉 1-5640 株 (H3N2)	1.1	5.6	3.0	1.1	1.1	80	320	<10
2			1.2	5.4	4.5	1.1	1.1	80	160	<10
3			1.1	5.4	4.4	1.1	1.1	80	160	<10
4			1.6	5.5	4.5	1.1	1.1	80	160	<10
5	非免疫群	千葉 1-5640 株 (H3N2)	1.1	1.2	4.6	5.1	1.1	<10	<10	<10
6			1.1	1.2	5.2	1.8	1.1	<10	<10	<10
7			1.1	1.1	5.4	1.1	1.1	<10	<10	<10
8			1.1	5.7	5.9	1.3	1.1	<10	<10	<10
9	免疫群	群馬 8-2986 株 (H1N1)	1.1	3.0	5.0	1.1	1.1	40	160	20
10			1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	80	160	20
11			1.1	1.1	3.6	1.1	1.1	320	640	10
12			1.1	3.3	4.1	1.1	1.1	80	80	20
13	非免疫群	群馬 8-2986 株 (H1N1)	1.1	4.4	4.1	1.1	1.1	<10	<10	<10
14			1.1	1.1	4.4	1.4	1.1	<10	<10	<10
15			1.1	4.9	4.6	1.1	1.1	<10	<10	<10
16			1.1	4.4	4.6	1.1	1.1	<10	<10	<10

* 検出限界 : 1.1

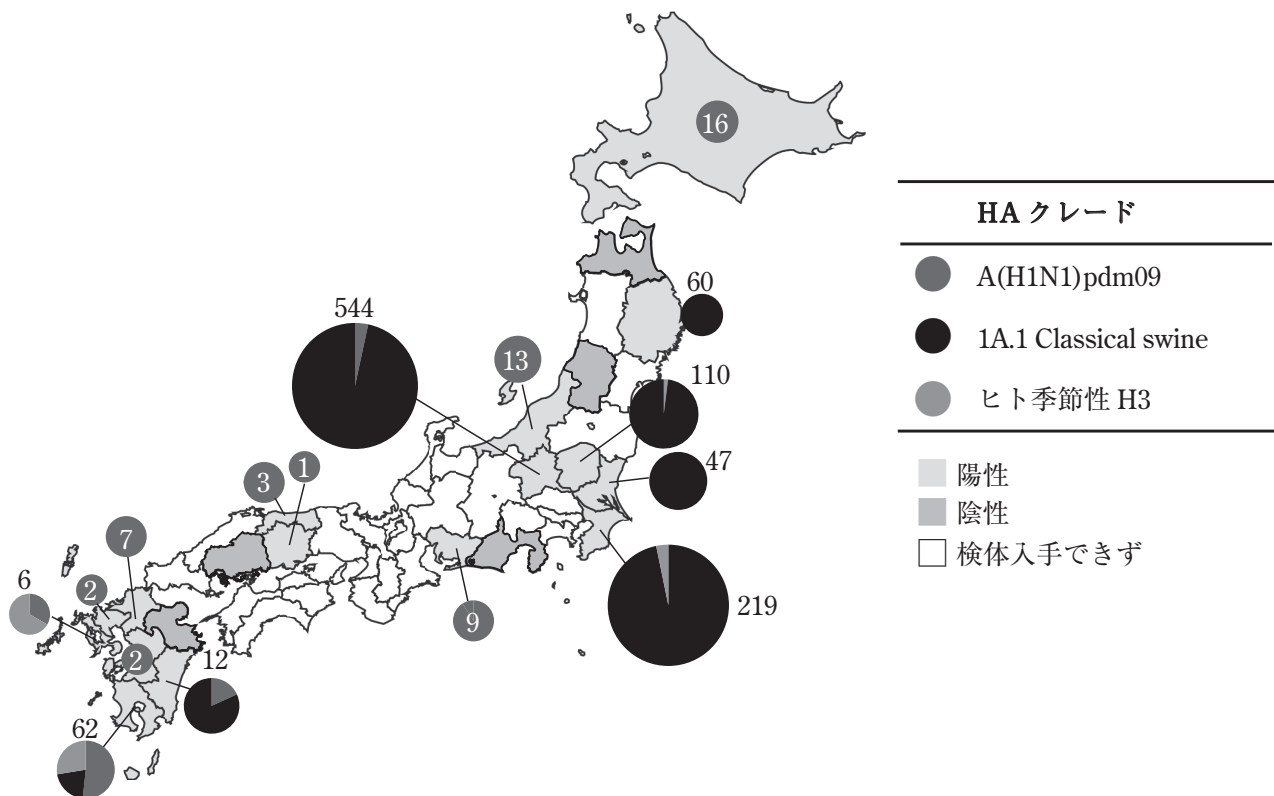


図3 豚インフルエンザウイルスの分離状況とその遺伝的特徴

トの *t* 検定を行ったところ $P=0.29$ となり、有意な差は確認されなかった (表). ただし、群馬株で攻撃した4頭のワクチン接種群の内、1頭ではウイルス排泄は確認されなかった. ワクチン接種群の攻撃前の血清中抗体価を調べたところ、群馬株で攻撃した群について、ワクチン株である京都株に対しては全頭で80以上の抗体

価を有していたものの、攻撃株に対しては10~20であった (表). また、千葉株で攻撃した群について、ワクチン株である和田山株に対しては全頭で160以上の抗体価を有していたものの、攻撃株に対しては検出限界以下となった.

4 考 察

本研究により、近年の日本において3系統のHA遺伝子を有するウイルスが循環していることが明らかとなった。各ウイルスが分離される数や地理的範囲の違いから、HA遺伝子の系統により流行状況に違いがあると考えられる。A(H1N1)pdm09ウイルスのHA遺伝子を有するIAV-Sの分離数は1A.1 Classical swine系統のH1遺伝子と比較すると少ないものの、国内で広範囲にわたって検出されている。加えて、本研究で分離されたIAV-Sのほぼ全てがA(H1N1)pdm09ウイルス由来の内部遺伝子を有していたことから、A(H1N1)pdm09ウイルスと既存の1A.1 Classical swine系統のIAV-Sとの間で遺伝子再集合を起こしていると考えられる。このことは、現在人で季節性インフルエンザウイルスとなっているA(H1N1)pdm09ウイルスが人から豚へ頻繁に伝播していることを示している。しかしながら、豚への適合が完全ではないために、1A.1 Classical swine系統のIAV-Sと比べると発生が小規模かつ散発的であったと考えられる。一方で、1A.1 Classical swine系統のH1遺伝子は1970年以降国内で固有の進化を遂げており、他国のIAV-Sとは遺伝的に大きく異なっている。この系統のウイルスは国内の豚の中で適合し独自の進化を遂げ、国内の豚群で維持されていると考えられる。このことが、この遺伝子を有するIAV-Sが関東地方の豚群において最も流行している理由としてあげられる。H3N2亜型のIAV-Sは、分離数は少ないものの、サーベイランス期間を通じて得られた株は全て近縁であった。そのため、1A.1 Classical swine系統のH1遺伝子を有するIAV-Sと比べると規模は小さいものの、国内の豚群に定着していると考えられる。

現在、養豚場でIAV-Sをコントロールするために最も実施される戦略の一つがワクチン接種である。国内で製造しているワクチンシードの元となった株は1960～70年代の分離株に由来しており、現在流行しているIAV-Sとは遺伝的に離れている。本研究において行ったウイルス攻撃試験において、H1N1亜型の一つである群馬株に対しては4頭中1頭のウイルス排泄を完全に抑えたことから、ある程度の効果は見込めるものと考えられる。一方で、千葉株を用いた攻撃試験のウイルス排泄において、有効性は確認できなかった。また、Classical swine系統のH1遺伝子を有する数株のIAV-Sについて同様の実験をした際、ウイルス排出を抑制できない株が存在していることが分かっている。この結果は、ワクチ

ン製造株に対する抗体価は十分に上がっているものの、攻撃株に対する抗体価が感染を防御できるほど上昇していないこのことによるものと考えられる。以上から、日本で独自に進化を続けていく中で変異が蓄積し、当時流行していた株から抗原性が離れたウイルス株に対しては効果が見込めないことが示唆された。現在も進化を続けている1A.1 Classical swine系統のH1亜型IAV-SやH3亜型IAV-S、人から頻繁に伝播するA(H1N1)pdm09ウイルスに対応するためには、国内のIAV-S流行状況をリアルタイムで把握し、近年流行するウイルスに見合う効果的なワクチン株を検討する必要がある。

本研究は、JRA畜産振興事業並びに農林水産省の委託事業“家畜の伝染病の国内侵入と野生動物由来リスクの管理技術の開発”で行われた。また、養豚場での豚鼻腔拭い液の採取を行っていただいた日本養豚開業獣医師協会、ご協力いただいた養豚場関係者に深謝する。

参 考 文 献

- [1] Vincent A, Awada L, Brown I, Chen H, Claes F, Dauphin G, Donis R, Culhane M, Hamilton K, Lewis N, Mumford E, Nguyen T, Parchariyanon S, Pasick J, Pavade G, Pereda A, Peiris M, Saito T, Swenson S, Van Reeth K, Webby R, Wong F : Review of influenza A virus in swine worldwide: a call for increased surveillance and research, *Zoonoses Public Health*, 61, 4-17 (2014)
- [2] Ito T, Couceiro JN, Kelm S, Baum LG, Krauss S, Castrucci MR, Donatelli I, Kida H, Paulson JC, Webster RG, Kawaoka Y : Molecular basis for the generation in pigs of influenza A viruses with pandemic potential, *J Virol*, 72, 7367-7373 (1998)
- [3] Garten RJ, Davis CT, Russell CA, Shu B, Lindstrom S, Balish A, Sessions WM, Xu X, Skepner E, Deyde V, Okomo-Adhiambo M, Gubareva L, Barnes J, Smith CB, Emery SL, Hillman MJ, Rivailier P, Smagala J, de Graaf M, Burke DF, Fouchier RA, Pappas C, Alpuche-Aranda CM, Lopez-Gatell H, Olivera H, Lopez I, Myers CA, Faix D, Blair PJ, Yu C, Keene KM, Dotson PD, Jr, Boxrud D, Sambol AR, Abid SH, St George K, Bannerman T, Moore AL, Stringer DJ, Blevins P, Demmler-Harrison GJ, Ginsberg M, Kriner P, Waterman S, Smole S, Guevara HF, Belongia EA, Clark PA, Beatrice ST, Donis R, Katz J, Finelli L, Bridges CB, Shaw M, Jernigan DB, Uyeki TM, Smith DJ, Klimov AI, Cox NJ : Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A (H1N1) influenza viruses circulating in humans, *Science*, 325, 197-201 (2009)