

論文紹介

白鳥から分離した合の子インフルエンザ

新潟県衛生研究所 芝田充男 阿部昭也
篠川 至

国立予防衛生研究所 根路銘国昭 中山幹男
石田正年 大谷 明

富山医科薬科大学ウイルス学 庭山清八郎 落合 宏

東芝生物物理化学研究所 岩瀬勇雄

はじめに

ヒトのA型インフルエンザは、ほぼ10年の周期で新型ウイルスによって大流行を繰返しているが、自然界における変異ウイルスの発現機序については抗原循環説¹⁾と遺伝的再結合²⁾の二説があって、前者の場合、流行後ヒトの世界から姿を消したウイルスの潜伏場所が問題となっている。また後者ではヒトのウイルスと動物または鳥類ウイルスの8本のそれぞれの遺伝子がどのように組換えられるかが興味の焦点となっているが、最近Webster³⁾⁴⁾⁵⁾らにより遺伝子組換えに関する詳細な実験報告がなされている。

われわれは自然界における動物や鳥類にインフルエンザウイルスがどのように分布し、変遷していくかを調べるため、過去10年余にわたり馬⁶⁾や豚⁷⁾のインフルエンザウイルスについて研究を行ってきた。今回は鳥類の中でも特に渡り鳥である“かも”と白鳥に狙いを定めてウイルス分離を行ったところ、血球凝集素(hemagglutinin:HA)抗原はブタ(sw)(スペインかぜ)型で、ノイラミニダーゼ(neuraminidase:NA)抗原はトリ(av)4型の組合せを持つウイルスを分離したので報告

したい。

材料と方法

(1) ウイルス

使用したウイルスは A/PR/8/34(H0N-1), A/FM/1/47(H1 N1), A/USSR/92/77(H1 N1), A/RI/5+/57(H2 N2), A/愛知/2/68(H3 N2), A/東京/6/73(H3 N2), A/Victoria/3/75(H3 N2), A/swine/Iowa/30(Hsw1 N1), A/New Jersey/8/76(Hsw1 N1), A/swine/新潟/1/77(Hsw1 N1), A/equine/Prague/1/56(Heq1 N1), A/equine/Miami/1/63(Heq2 Neq2), A/chicken/Brescia/1902(Hav1 N1), A/chicken/Germany 'N'/49(Hav2 Neq1), A/duck/England/56(Hav3 Nav1), A/duck/Czeck/56(Hav4 Nav1), A/tern/S. Africa/61(Hav5 Nav2), A/turkey/Mass./65(Hav6N2), A/duck/Ukraine/1/63(Hav7 Neq2), A/turkey/Ontario/6118/68(Hav8 Nav4)であり、それぞれのウイルスは11日齢の発育鶏卵の尿膜腔内で増殖させた。

(2) 抗血清

血球凝集阻止(hemagglutination inhibition: HI)試験には先に述べた標準株に対するウサギ免

疫血清を用いた。また、分離株の免疫血清はウサギとニワトリの静脈内または腹腔内に4～5回接種して作製した。補体結合(complement fixation:CF)反応には東芝工業KK製のインフルエンザA型、B型抗血清も併せて使用した。

(3) ウイルス分離

白鳥の糞便約0.2gを0.1% bovine serum albumin加beal infusion broth 2mlの試験管にとり、ゲンタマイシン100 γ /ml, ストレプトマイシン500 γ /ml, ペニシリン500u/mlを加え、37 $^{\circ}$ C 60分作用させ、3000rpm 10分間遠心後の上清を分離用材料とした。ウイルス分離は10～11日齢の発育鶏卵の羊膜腔および尿膜腔内にそれぞれ0.1mlあて接種し、35 $^{\circ}$ Cに3日間培養後、尿膜腔液と羊膜腔液を採取し、HA試験によりウイルス分離の成否を確認した。

(4) 血清反応

HI試験はRDE(receptor destroying enzyme)処理血清についてマイクロ法で実施した。CF反応は $C_{H_{50}}$ による米国CDCの予研変法によるマイクロ法で行った。また、ノイラミニダーゼ阻抑制(neuraminidase inhibition:NI)反応はWHOの方法に従った。

成 績

(1) ウイルス分離

1979年1月から2月に新潟県北蒲原郡水原町の瓢湖および豊栄市の福島潟に飛来してきた白鳥の糞便を拾い集め、計44検体からウイルス分離を試みた。その結果一検体からHA価が初代羊膜腔液で8倍、二代の羊膜腔液で256倍、尿膜腔液で64倍を示す血球凝集性の因子を分離した。

(2) ウイルスの型別

インフルエンザウイルスか否かを定めるため、分離ウイルスの尿膜を抗原として、CF反応を実施したところ、B型抗血清とは反応しなかったが、A型抗血清に対しては8倍の抗原価を示し、A型

インフルエンザウイルスであることがほぼ確認された。

(3) HA抗原の分析

表1に示すように、トリ型のHav1～Hav8の抗血清でHI試験を試みたが、いずれとも反応を示さなかった。そのため、表2のように、ヒト・ブタ・ウマ型12株の抗血清についてHI試験を行ったところ、A/New Jersey/8/76(Hsw1 N1) A/swine/新潟/1/77(Hsw1 N1)抗血清で阻止され、その値はホモのHI価が1024～2048倍のとき、分離株のそれは32～128倍であった。

HA抗原がswine型を示したことから、swine型ウイルス(A/swine/Iowa/30, A/New Jersey/8/76, A/swine/新潟/1/77)と分離株の4株で交差HI試験を行った。表3はその成績を示したものであるが、分離株はA/swine/Iowa/30の抗血清と反応しなかったが、A/swine/新潟/1/77の抗血清と低く反応し32倍の値を示した。ところが、同じブタ型のA/New Jersey/8/76抗血清に対しては128倍を示した。しかしながら分離ウイルスの抗血清は前記swine型3株に対し比較的高く阻止し、128～256倍のHI価を示した。このことから分離ウイルスのHA抗原は従来のswine型とやや異なっていることが明らかになった。

(4) NA抗原の分析

つぎにNA抗原を分析するため、トリ型のNav1～Nav4の抗血清でNI試験を行った。表4に示すように、A/turkey/Ontario/6118/68(Hav8 Nav4)に対し1024倍のNI価を示し強く阻止された。

以上のことから白鳥の糞便から分離されたウイルスはA型インフルエンザに属し、その抗原性はHAがsw1, NAがav4を示すA/swan/新潟/1/79(Hsw1 Nav4)と同定した。

表 1 分離ウイルスの HI 試験による同定

トリ型抗血清	HI 価	
	Homo ウイルス	分離ウイルス
A/Chicken/Brescia/1902 (Hav 1 N 1)	4,096	<32
A/Chicken/Germany 'N'/49 (Hav 2 Neq 1)	2,048	<32
A/duck/England/56 (Hav 3 Nav 1)	8,192	<32
A/duck/Czech/56 (Hav 4 Nav 1)	2,048	<32
A/tern/S. Africa/61 (Hav 5 Nav 2)	2,048	<32
A/turkey/Mass./65 (Hav 6 N 2)	16,384	<32
A/duck/Ukraine/1/63 (Hav 7 Neq 2)	1,024	<32
A/turkey/Ontario/6118/68 (Hav 8 Nav 4)	8,192	<32

表 2 分離ウイルスの HI 試験による同定

ヒト、ブタ、ウマ型抗血清	HI 価	
	Homo ウイルス	分離ウイルス
A/PR/8/34 (H 0 N 1)	1,024	<32
A/FM/1/47 (H 1 N 1)	2,048	<32
A/USSR/92/77 (H 1 N 1)	1,024	<32
A/RI/5*/57 (H 2 N 2)	8,192	<32
A/愛知/2/68 (H 3 N 2)	4,096	<32
A/東京/6/73 (H 3 N 2)	4,096	<32
A/Victoria/3/75 (H 3 N 2)	1,024	<32
A/swine/Iowa/30 (Hsw 1 N 1)	2,048	<32
A/New Jersey/8/76 (Hsw 1 N 1)	1,024	128
A/swine/新潟/1/77 (Hsw 1 N 1)	2,048	32
A/equine/Prague/1/56 (Heq 1 Neq 1)	256	<32
A/equine/Miami/1/63 (Heq 2 Neq 2)	512	<32

表 3 swine 型ウイルスの交差 HI 試験

抗原	抗 血 清			
	A/swine/Iowa/ /30(Hsw 1 N 1)	A/New Jersey/ /8/76(Hsw 1 N 1)	A/swine/新潟/ 1/77(Hsw 1 N 1)	A/swan/新潟/1/ /79(Hsw 1 Nav 4)
A/swine/Iowa/ 30(Hsw 1 N 1)	2,048	256	512	256
A/New Jersey/ 8/76(Hsw 1 N 1)	1,024	2,048	2,048	128
A/swine/新潟/1/ 77(Hsw 1 N 1)	512	1,024	2,048	256
A/swan/新潟/1/ 79(Hsw 1 Nav 4)	<32	128	32	2,048

考察および結論

約 10 年毎にヒトの間で大流行を起こす新型ウイルスがどのような機構でヒトに出現するかは未だ不明である。しかし、動物（ブタ・ウマ）と鳥類（野鳥・家禽類）に広く A 型ウイルスが分布しており、それらのウイルスがヒトの流行に何らかのかたちで関与しているのではないかと考えられている²⁾。特にヒトと動物および鳥類のインフルエンザウイルスとの間に遺伝子の組換えが起こってヒトの世界に出現するのではないかとする説が最近注目を浴びている。

われわれはこのような見地から、インフルエンザウイルスの自然界における生態の一端を知るため、“かも”または白鳥などの渡り鳥からウイルス分離を行ってきたが、1979 年 2 月に福島湾に飛来してきた白鳥の糞便から分離したインフルエンザウイルスは、Hsw 1 Nav 4 の抗原性を示すことが知られた。従来トリから分離されたウイルスの HA 抗原は Hav ~ Hav 8 で NA 抗原は Nav 1 ~ Nav 6, N 1, N 2 および Neq 1, Neq 2 が知られている。

NA 抗原の swine 型は 1930 年 Shope⁸⁾ らがブタから分離したのが初めであるが、それより先 1918 年からヒトに大流行を起

こしたスペインかぜの病原体と推定されている。

その後はほとんど影をひそめていたようであるが、

1976 年米国 New Jersey 州でヒトに小流行を起こし⁹⁾、スペインかぜの再来と注目された。しかし、ヒトからヒトへの感染は確認されていない。

わが国においてはわれわれが swine 型ウイルスをブタから分離し報告⁷⁾したが、その後全国各地でブタの間に感染が認められている。今回白鳥から分離したウイルスの HA 抗原は swine 型ウイルスとの交差 HI 試験から A/swine/Iowa/30 より A/New Jersey/8/76, A/swine/新潟/1/77 株と交差が強くみられた。また、同じ時期にフランス、香港¹⁰⁾また、わが国では宮城県¹¹⁾などで同型のウイルスが分離されたとの報告もあり、かなり広い範囲に出現したものと思われる。

さらに注目になることは、HA 抗原に対応して配列している NA 抗原がトリ型に由来していることで、このことはトリの世界でブタ型(スペイ

表 4 分離ウイルスの NI 試験による同定

抗 血 清	NI 価	
	Homo ウイルス	分離ウイルス
A/duck/England/56 (Hav 3 Nav 1)	4,096	<16
A/tern/S. Africa/61 (Hav 5 Nav 2)	4,096	<16
A/turkey/England/63 (Hav 1 Nav 3)	2,048	<16
A/turkey/Ontario/6118/68 (Hav 8 Nav 4)	2,048	1,024

ンかぜ) ウイルスとトリ型ウイルスが遺伝子の組換えの結果出現したものと想定される。いわゆる新型ウイルスの出現が遺伝子組換えによって起こるとする説に有力な手がかりが得られたものと考えられる。

【参 考 文 献】

- 1) Francis, T. Jr. and Magill, T. P.: J. Exp. Med., 63: 655~668, 1936. 2) C. H. スチュワート・ハリス, G. C. シルド (杉浦昭, 飛田清毅, 根路銘国昭訳): インフルエンザ, 1978, 講談社, 東京, 60~106.
- 3) Webster, R. G., Campbell, C. H. and Granoff, A.: Virology, 44: 317~328, 1971. 4) Webster, R. G. and Campbell, C. H.: Virology, 48: 528~536, 1972. 5) Webster, R. G., Campbell, C. H. and Granoff, A.: Virology, 51: 149~162, 1973. 6) Niwayama, S., Shibata, M. and Oda S.: Acta Med. et Biol., 21: 1~8, 1973. 7) 芝田充男, 他: 日本医事新報, 2841, 43~49, 1978.
- 8) Shope, R. E.: J. Exp. Med., 54: 373~380, 1931. 9) Notes and News: Lancet, 24: 921~922, 1976. 10) Hinshaw, V. S., Webster, R. G. and Rodriguez, R. J.: Archives of Virology, 62: 281~290, 1979. 11) 小田切孝人, 他: 第 27 回日本ウイルス学会総会講演集, 108, 1979.