千葉県内における人および豚のアカバネウイルスに対する抗体調査

丸山成和* 丸山典彦* 伊藤 宏* 田中良和* 植松典昭*

(昭和 58 年 2 月 18 日受理)

A survey on Antibody against Akabane Virus in Human Beings and
Swine in Chiba Prefecture, Japan
SEIKA MARUYAMA et al. (Chiba Serum Institute, Ichikawa, Chiba 272)

SUMMARY

Human and porcine serum samples were collected in Chiba Prefecture where outbreaks of abortion and the congenital arthrogryposis-hydranencephaly (AH) syndrome had been observed among cattle in 1972-1973.

A total of 1,348 human serum samples were collected over a period from June, 1977 to April, 1979, and a total of 1,134 porcine serum samples (654 fattening pigs 4-5 months old and 480 sows) over a period from September, 1978 to February, 1979. A relatively low incidence of inhibition against Akabane Virus hemagglutinin (HI) was obtained with human (1.3%) and porcine (1.4%) serum samples. The HI was observed with human sera collected in the countryside of the eastern part of Chiba Prefecture, where the AH syndrome was prevalent. The positive rate of HI was 0.8% in the fattening pigs and 2.3% in the sows.

要 約

牛以外の動物、とくに人と豚のアカバネウイルスに対する抗体の保有状況を知る目的で、両者の血清について、赤血球凝集抑制 (HI) 反応、中和 (NT) 試験による調査を実施した。なお HI 価 10 以上、NT 価 4 以上を反応陽性とした。調査期間は人では 1977 年 6 月～1979 年 4 月、豚では 1978 年 9 月～1979 年 2 月であった。調査地域は人では県内 8 市 5 町、豚では 9 市 4 町であった。その結果以下の成績を得た。

1) 人血清 1,348 例のうち 1.3% (17/1,348) が HI 陽性であった。これらの陽性例は県東部の隣接田園地区に集中してみられた。陽性例の HI 価は 10～40、NT 価は 4～32 であった。なお豚の HI 陽性率の高い地域の養豚従事者 19 人では 1 例が陽性 (陽性率 5.3%) で、その HI 価および NT 価はそれぞれ 10 および 8 であった。

2) 豚血清 1,134 例 (4～5 カ月齢の肥育豚 654 頭、繁殖豚 480 頭) について HI 価を測定したところ、1.4% (16/1,134) の陽性率であった。このうち肥育豚は 0.8% (5/654)、繁殖豚は 2.3% (11/480) の陽性率であった。陽性例の HI 価は 10～20、NT 価は 4～64 であった。

豚および人は、Vector の動物嗜好性によることも考えられるが、牛にくらべて本ウイルスの感染をうけにくいものと推測される。

1972～1974 年に関東以南、1975 年に東北・北陸地方の一部県下で牛の流早死産および異常子牛の多発が報告された^{4-6,10,11)}。ついでこのような牛の異常産は、アカバネウイルスに起因することが明らかにされた^{4,7,11)}。いっぽう、牛以外の動物のアカバネウイルスに対する抗体調査は、古屋ら¹⁾、中村ら⁹⁾により報告されている。しかし

人および豚におけるくわしい報告はない。

著者らは、人および豚がアカバネウイルスに対する抗体を保有しているかどうかについて、血清疫学的調査を実施した。

1. 材料および方法

(1) 調査地域：千葉県の東部・南部・北部および中央の各家畜保健衛生所管轄地区で、人では 8 市 5 町、豚で

* 千葉県血清研究所 (千葉縣市川市国府台2-6-1)

は9市4町について調査した。

(2) 調査期間：人では1977年6月～1979年4月、豚では1978年9月～1979年2月に実施した。

(3) 供試血清：豚血清は、肥育豚（4～5カ月齢豚、海上地区の雄豚1頭を含む）654頭、繁殖豚（7カ月齢以上）480頭、総計1,134頭であった。

人血清は主に千葉日赤血液センターで、他の目的のために集められたもので、総検体数は1,348例であった。調査地域のうち、旭市、茂原市、船橋市、長南市では高校生、他は成人の血清であった。また、アカバネウイルスに対する反応陽性豚が多数みられた勝浦市、市原市、大原町、松尾町、海上町の養豚従事者19人の血清も用いた。

使用ウイルス：アカバネウイルス JaGAR-39 株感染哺乳マウス脳の20代継代したものを使用した。

HI 価の測定：マイクロタイター法²⁾により測定した。供試血清は、いずれもアセトンまたは、カオリンにより処理した。抗原はアカバネウイルス JaGAR-39 株感染哺乳マウス脳から蔗糖アセトン法により抽出したもので、硼酸緩衝食塩液 (pH 9.0) に浮遊させ、1.0 ml あて小分けし凍結乾燥した。抗原は4単位を使用し、判定はHI 価10以上を陽性とした。

NT 価の測定：NT 価の測定には Vero 細胞を使用した。細胞増殖用培養液 (GM) は Eagle's MEM を基礎培地とし、これに Triptose phosphate broth (Difco) 10%、子牛血清 (アカバネウイルスの NT 価が陰性で、56℃ 30分間非働化した血清) 10%、カナマイシン 100 µg/ml、ストレプトマイシン、ペニシリン各 100 µg/ml、7.5% NaHCO₃ を1%に加えたものである。細胞維持液 (MM) には子牛血清のかわりにウシ血清アルブミンフラクション V (ARMOUR, USA) を 0.11% になるように加えた。

黒木ら^{6,7)}の方法に従って、トランスファープレート (Cook Engineering CO, USA) に、0.025 ml のダイリューターで 56℃ 30分間非働化した供試血清の2倍段階希釈列を作り、これに等量の 200 TCID₅₀/0.025 ml のウイルス液を添加し、25℃ 1時間感作した。なお血清の希釈列は、1血清につき2列ずつ作った。ついで各混合液 (0.05 ml) をトランスファープレートより細胞浮遊液 (5×10⁵/ml) を 0.1 ml ずつ分注してあるフラットボトムのマイクロプレート (Cook Engineering, CO, USA) に移したのち専用シール (Cook Engineering, CO, USA) で密閉し、37℃ の孵卵器で5日間培養した。

NT 価は Vero 細胞の細胞変性効果 (CPE) の出現を阻止した血清の最高希釈の逆数で示し、希釈列が2列とも4以上を示したものを陽性とした。なお、2列の NT 価が異なった場合は、低い方の値をその血清の NT 価とした。

2. 成 績

1) 豚のアカバネウイルスに対する血清反応の状況

調査地における豚のアカバネウイルス HI 陽性率は、9市4町のうち県中央および南部の市原市で 4.4% (陽性例数 3/試験血清例数 69)、勝浦市で 5.2% (5/97) であった (表1)。

HI 試験で1%以上の陽性率を示した地域は東部地区の海上町 (1.8%)、松尾町 (1.3%)、南部地区の大原町

表1 調査豚のアカバネウイルスに対する赤血球凝集抑制 (HI) 反応陽性率

調査地	調査頭数		HI 陽性率 (%)
	肥育豚	繁殖豚	
佐原市	48	0	0
東庄町	30	5	0
干潟町	41	0	2.4(1/41*肥育豚)
旭市	298	0	0.3(1/298 ")
松尾町	54	25	1.3(1/79 繁殖豚)
海上町	35	20	1.8(1/55 雄豚)
茂原市	46	66	0.9(1/112肥育豚)
八千代市	0	22	0
船橋市	31	0	0
市原市	50	19	4.4(3/69 繁殖豚)
木更津市	21	111	0.8(1/132肥育豚)
大原市	0	115	1.7(2/115繁殖豚)
勝浦市	0	97	5.2(5/97 ")
	654	480	1.4(16/1,134)

注) *: HI 価≥10 の頭数/採血頭数

表2 アカバネウイルスに対する HI 価が10以上の豚の中和 (NT) 価

豚 No.	調査地	採血年月日	繁殖肥育	血清反応	
				HI	NT
1	勝浦市	1978. 9. 27	未経産	10	8
2	"	"	2産以上	10	16
3	"	"	"	10	nt*
4	"	"	"	10	8
5	"	"	"	10	4
6	干潟町	1978. 9. 29	肥育	10	nt
7	海上町	1978. 10. 2	♂	10	8
8	松尾町	1978. 10. 3	2産	10	4
9	茂原市	1978. 10. 4	肥育	20	64
10	市原市	1978. 10. 30	3産	10	8
11	"	"	2産	10	4
12	"	"	3産	10	8
13	大原市	1978. 11. 22	未経産	10	nt
14	"	"	2産以上	10	4
15	木更津市	1978. 11. 28	肥育	10	4
16	旭市	1978. 11. 15	"	20	16

注) *: not tested

千葉県内における人および豚のアカバネウイルスに対する抗体調査

(1.7%), 北部地区の干潟町 (2.4%) であった。

陽性豚が全く検出されなかった地域は県北部の佐原市, 中央地区の八千代市, 船橋市であった。

肥育豚と繁殖豚の HI 陽性率をみると, 肥育豚は 0.8 % (5/654), 繁殖豚は 2.3 % (11/480) で, 繁殖豚の陽性率が高かった (表 1)。調査地域全域の陽性率は 1.4 % (16/1,134) であった。

2) HI 陽性豚の NT 価

HI 陽性豚は 16 頭で, その 56.3 % は 2 産以上の経産豚, 31.3 % が肥育豚 (雄豚 1 頭を含む), 12.5 % が未経産豚であった。これらの HI 価は 10~20, NT 価は 4~64 であった (表 2)。HI および NT 価の最高値を示した豚は同一肥育豚で, それぞれ 20 と 64 であった。

3) 人のアカバネウイルスに対する血清反応の状況

調査地域 8 市 5 町における HI 陽性率は, 県東部地区の八日市場市では 4.3 % (4/92), 光町では 5.1 % (4/78), 横芝町では 13 % (6/46), 長南町では 2.6 % (3/114) であった。いっぽう, 他の地区では 1 地区当たりが 63~177 例調査されたが, いずれも 0 % であった。この結果, 人の地域別陽性分布は, 長南町をのぞき, いずれも, 県東部地区の田園地帯に限局していた。調査地域全体の陽性率は 1.3 % (17/1,348) であった (表 3)。

なお HI 陽性 17 例の HI 価は 10~40 であり, NT 価は 4~32 であった。HI および NT 価の最高値を示したのは同一個体でそれぞれ 40 と 32 であった。

上記 HI 陽性 17 例の平均年齢は 35.0 歳で, これらの年齢分布は, 10 歳代 3 人, 20 歳代 4 人, 30 歳代 4 人および 40 歳以上 6 人であった。またそれぞれの HI 価

は 10 歳代 10, 20 歳代 10~20, 30 歳代 10~40, 40 歳以上は 10 であった。NT 価はそれぞれ 8, 4~16, 8~32, 8~32 であった。

さらに豚の HI 陽性率が 1.3~5.2 % の 2 市 3 町において, 養豚従事者 19 例 (平均年齢 42.1 歳) について

表 4 アカバネウイルスに対する HI 陽性者の NT 価

検体 No.	年齢	地 域	採血年月日	血清反応	
				HI	NT
1	17	長 南 町	1977. 6. 29	10	8
2	17	"	"	10	8
3	17	"	"	10	8
4	55	八日市場市	1978. 4. 24	20	16
5	39	"	"	20	nt*1
6	41	"	"	10	8
7	38	"	"	10	nt
8	38	横 芝 町	1978. 5. 2	40	32
9	55	"	"	10	8
10	22	"	"	20	16
11	32	"	"	10	32
12	43	"	"	10	8
13	34	"	"	10	8
14	51	光 町	1978. 10. 23	10	nt
15	28	"	"	10	8
16	27	"	"	10	4
17	22	"	"	10	4
18*2	43	大 原 町	1979. 3. 7	10	8

注) *1: not tested *2: 養豚従事者

表 5 養豚従事者のアカバネウイルスに対する HI および NT 価

検体 No.	地 域	年齢	血清反応	
			HI	NT
1	勝 浦 市	45	<10	<4
2	"	70	<10	<4
3	"	49	<10	<4
4	"	32	<10	<4
5	"	60	<10	<4
6	大 原 町	30	<10	<4
7	"	52	<10	<4
8	"	48	<10	<4
9	"	43	10	8
10	"	52	<10	<4
11	市 原 市	19	<10	<4
12	"	27	<10	<4
13	"	30	<10	<4
14	"	37	<10	<4
15	"	40	<10	<4
16	"	43	<10	<4
17	松 尾 町	47	<10	<4
18	"	42	<10	<4
19	海 上 町	35	<10	<4

表 3 調査住民血清のアカバネウイルスに対する HI 価分布

調 査 地	採血年月日	検体数	HI 価				HI 陽性率 (%)
			<10	10	20	40	
東 庄 町	1977. 7. 18	81	81	0	0	0	0
"	1978. 10. 13	96	96	0	0	0	0
干 潟 町	1977. 7. 29	82	82	0	0	0	0
"	1978. 3. 28	94	94	0	0	0	0
旭 市	1978. 6. 14	63	63	0	0	0	0
八日市場市	1978. 4. 24	92	88	2	2	0	4.3
光 町	1978. 10. 23	78	74	4	0	0	5.1
横 芝 町	1978. 3. 2	46	40	4	1	1	13.0
長 南 町	1977. 6. 29	114	111	3	0	0	2.6
茂 原 町	1978. 11. 10	101	101	0	0	0	0
館 山 市	1979. 4. 21	132	132	0	0	0	0
市 川 市	1978. 10. 14	93	93	0	0	0	0
船 橋 市	1978. 10. 28	149	149	0	0	0	0
千 葉 市	1978. 4. 8	49	49	0	0	0	0
"	1978. 11. 1	78	78	0	0	0	0
計		1,348	1,331	13	3	1	1.3

血清反応を試みた。その結果、陽性は年齢 43 歳の 1 例で、陽性率 5.3%，その HI 価は 10, NT 価は 8 であった。

3. 考 察

渡辺ら¹²⁾は 1972～1973 年の千葉県内における牛異常産発生状況を報告し、県内平均の発生率 8.7% に対し、30% 以上が東部に 1 地区、20% 代が同じく東部の 1 地区と北部の 2 地区にあったことを報告している。著者らの調査地域で陽性率が高かったのは、人では東部地区の横芝、光町、八日市場市で、それぞれ 13.0, 5.1, 4.3% の陽性率であった。この地区は渡辺ら¹²⁾の 30% 以上の 1 地区、20% 代の東部地区に隣接する。また豚では市原市、勝浦市がそれぞれ 4.4%, 5.2% と高い陽性率を示したが、この地区も渡辺ら¹²⁾の報告にある 10% 代の地区に一致する。このことは、牛の異常産発生状況と、人および豚の血清反応陽性率と何らかの関係があるものと推察する。

黒木ら⁹⁾は妊娠山羊で、池田ら⁸⁾は鶏胎児でアカバネウイルスの感染実験を実施し、脊柱側湾症などの arthrogryposis-hydranencephaly (AH) 症候群をともなった胎児の形態異常を確認している。

著者らは SPF オーミニ豚にアカバネウイルスを接種し、ウイルス血症、HI 価の上昇を認め、胎児からのウイルス回収にも成功しているため、豚は本ウイルスに感受性があると考えている。

今回、野外調査で検出された HI、中和価は特異抗体によるものと思われるが、陽性率が牛のそれ（千葉県調べで 1977 年 51.4%，1978 年 39.5%）にくらべ低いことが注目される。この原因は、豚が牛より感受性が低いことに基づくものかもしれないが、Vector の動物嗜好性によるものかもしれない。

中村ら⁹⁾は、アルボウイルスの抗体保有調査と題し、

A, B, Simbu. JE の年齢別抗体分布を報告している。このうち Simbu Group Akabane については人血清 1,344 例中 5 例 (0.4%) の陽性例を報告している。われわれも 1,348 例中 17 例 (1.3%) の陽性例を検出した。しかし人および豚の HI 陽性率は、牛のそれに比較しきわめて低く、かつその力価も低い点を考慮すると、人および豚はアカバネウイルスに対し感受性が低いものと推察する。また人の HI、中和価については特異的なものかどうかはなお検討を要する。

[本論文の要旨は第 88 回日本獣医学会で報告した。]

終わりに、本調査にあたり多数の人血清を分与下さった千葉日赤の原 茂先生、豚血清の採血にご協力下さった千葉県東部・南部・北部・中央の各家畜保健衛生所の諸先生方に深謝致します。

文 献

- 1) 古屋美人, 広池忠夫, 中尾丹美, ほか: 日獣会誌, 30, 440～444 (1977).
- 2) 後藤義之: 日獣会誌, 29, 628～631 (1976).
- 3) IKEDA, S. and YONAIYAMA, K.: *Natl. Inst. Anim. Health Q. (Jpn.)*, 18, 89～96 (1978).
- 4) 石原忠雄: 日獣会誌, 26, 491～498 (1973).
- 5) 稲葉右二: 日獣会誌, 28, 457～463 (1975).
- 6) KUROGI, H., INABA, Y., MIURA, Y., et al.: *Arch. Virol.*, 47, 71～83 (1975).
- 7) KUROGI, H., INABA, Y., TAKAHASHI, E., et al.: *Arch. Virol.*, 51, 67～74 (1976).
- 8) KUROGI, H., INABA, Y., TAKAHASHI, E., et al.: *Natl. Inst. Anim. Health Q. (Jpn.)*, 17, 1～9 (1977).
- 9) 中村忠美, 松山達夫, 奥野 剛, ほか: 医学のあゆみ, 60, 72～73 (1967).
- 10) 大橋義光: 日獣会誌, 26, 487～490 (1973).
- 11) OMORI, T., INABA, Y., KUROGI, H., et al.: *Bull. Off. Int. Epizoot.*, 81, 5～6, 447～458 (1974).
- 12) 渡辺芳郎, 木橋喜一郎, 岩田顯三, ほか: 日獣会誌, 26, 499～503 (1973).