日本の豚におけるレオウィルスの抗体調査

平原 正* 安原寿雄* 松井 修* 児玉和夫*

中井正久* 佐々木文存

(平成元年 4 月 21 日受理)

Serological Survey on Reovirus Infection of Pigs in Japan

TADASHI HIRAHARA, HISAO YASUHARA, OSAMU MATSUI, KAZUO KODAMA, MASAHISA NAKAI
and NORIMASA SASAKI (Division of Microbiology Kyoto-Biken Laboratories Inc.
Makishima-cho, Uji, Kyoto 611)

SUMMARY

Sera collected from approximately 1,300 pigs in 20 prefectures from 1976 to 1987 in Japan were examined for virus neutralization antibody (VNAb) against porcine reovirus types 1, 2 and 3. The positive rates of VNAb against type 1 in 1- and 2-month-old pigs were 60.2 and 15.4%, respectively. Afterwards, the rate was raised to 65.3% in 3-month-old and a level higher than 85% was maintained during 4-6 months of age. The positive rates of VNAb against types 2 and 3 were generally lower than that of type 1, however, these rates changed approximately parallel to that of type 1. These results suggested that the pigs were infected with these types of reovirus at about 2 months of age. On the other hand, chronologically, the positive rates of VNAb against types 1, 2 and 3 of the virus in pigs that had been raised from 1976 to 1987 ranged 64.3-99.0% (geometric mean(GM): 89.3%), 15.0-72.7%(GM:44.0%) and 20.0-70.6%(GM:50.3%), respectively. There was a few difference in positive rates between each observation period. Furthermore, it was revealed that the pigs raised in various districts of Japan had higher rates of VNAb against type 1 (75.8-98.0%) than those against types 2 and 3 (30.3-68.9%). From these findings it was considered that porcine reovirus has widely spread among pigs in Japan since 1976.

———*J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 42, 481~484 (1989).

要 約

1976年から1987年の12年間に、日本各地の20道府県より集めた約1,300例の豚血清について、豚レオウィルスに対する中和抗体を測定した。

その結果、1型に対する陽性率は1カ月齢の60.2%から2カ月齢には15.4%へ低下したが、3カ月齢には65.3%へ再び上昇し、4カ月齢以後85%以上の高い陽性率を示した。2型と3型に対する陽性率は概して低い値ながら1型と同一傾向で推移した。このことから、豚群においては移行抗体の低下する2カ月齢頃レオウィルスが自然感染すると推察される。年度別に見た陽性率は1型で64.3~98.9% (平均89.3%)、2型では15.0~72.7% (平均44%)、3型では20.0~70.6% (平均50.3%)で、共に年度によりやや開きが見られた。地域別の陽性率は、1型で75.8~98.0%と最も高く、地域による大差はなかった。しかし、2型では30.3~54.8%、3型では37.5~68.9%と低値で、地域により、やや格差が見られた。

以上の成績により、日本の豚群にはレオウィルスが広く伝播し、3血清型の中では1型に感染する率が高いことが明らかにされた。

* (株)微生物化学研究所 (京都府宇治市横島町24-16)

Key Words: 豚, レオウィルス, 抗体調査.

図1 年度別陽性率と平均抗体価の推移

豚のレオウイルスの抗体保有状況については、本ウイルスが相次いで分離された 1970 年前後に調査されている。それによると、1, 2, 3 型の株に対して約 20～80% の中和抗体陽性率^{2, 3, 7)}を示し、本ウイルスが豚群に広く伝播していることが明らかにされている。

日本では、著者ら⁴⁾が地域の異なる 2 農場で発咳や鼻漏を呈した豚の気道からレオウイルスを 2 株分離し、血清学的に 1 型に属することを明らかにしたが、本ウイルスの本邦における浸潤状況についての報告例はない。

今回、日本の豚におけるレオウイルスの分布状況を知るため、全国 20 道府県から集めた豚血清について中和抗体の分布を調べたので報告する。

1. 材 料 お よ び 方 法

1) 豚 血 清

供試した豚血清は 1976 年から 1987 年の 12 年間に、北海道から九州までの 20 道府県の農場より、無作為的に集められた。採集された豚血清は 1 カ月齢から 6 カ月齢まで各月齢別の肥育豚と繁殖豚で、合計 1328 例であった。

2) 中 和 用 ウ イ ル ス

レオウイルス 1 型は 1984 年、呼吸器病豚の気道から分離し 1 型と同定した NNFOR 43 株⁴⁾を用いた。2 型と 3 型は既知レオウイルスの代表株として岩手大学の村上教授より分与された Amy 株 (2 型) と Abney 株 (3 型) を使用した。これらのウイルス株は、それぞれ初代豚腎培養細胞で 1～2 代継代して、中和用ウイルスとした。

3) 中 和 試 験

被検血清は 56℃ 30 分間非働化後、5.6% 牛アルブミンを 2 V/V% 添加したりん酸緩衝食塩液で 2 倍階段希釈して、それぞれのウイルス株の 200 TCID₅₀/0.1 ml のウイルス量を用いて中和試験を実施した。その手技は前報⁴⁾で述べた方法により、各血清希釈毎に 2 本宛の初代豚腎培養細胞試験管を用い、同一血清に対し 3 株のウイルスについて同時に測定した。

中和抗体価は、CPE を阻止した血清の最高希釈倍数

の逆数で表わし、4 倍以上を陽性とした。

2. 成 績

1) 月 齢 別 に み た 中 和 抗 体 保 有 率 お よ び 平 均 抗 体 価

豚の月齢別に集計した中和抗体陽性率と幾何平均中和抗体価は表 1 に示した。各月齢別に見て 1 型の NNFOR 43 株に対して最も高い陽性率と平均抗体価を示した。すなわち 1 カ月齢群の陽性率 63.2%、平均抗体価 5.9 倍から 2 カ月齢群では 15.4% と 2.7 倍へ下降したが、3 カ月齢群では 66.7% と 7.7 倍へ上昇した。4 カ月齢群では 86.3% と 25.2 倍へと更に上昇し、6 カ月齢では最も高い 94.8% の陽性率と 63.5 倍の平均抗体価を示した。繁殖豚も 87.5% の高い陽性率と 24.6 倍の平均抗体価を示した。

2 型の Amy 株に対する抗体は、1 カ月齢群の 8.8% の陽性率と 2.3 倍の低い平均抗体価から 2 カ月齢群では更に低値の 1.4% と 2.0 倍へ下降した。3 カ月齢群では 20.9% と 2.7 倍へ上昇し、以後、1 カ月の加齢毎に約 10% 宛陽性率が上昇し続け、6 カ月齢群では最高の 60.3% を示し、平均抗体価は 6.1 倍の低値のままであった。繁殖豚では 43.8% の陽性率と 4.5 倍の低い平均抗体価であった。

3 型の Abney 株に対しては、1 カ月齢群で 17.6% の陽性率と 2.7 倍の平均抗体価から、2 カ月齢群では 2.1% と 2.1 倍へ下降し、3 カ月齢群では 26.3% へ上昇した。以後も更に上昇を続け、6 カ月齢群では 69.0% の高い陽性率まで上昇したが、平均抗体価は 3.0～8.0 倍の低値のままであった。繁殖豚は、51.4% の陽性率と 5.6 倍の平均抗体価を示した (表 1)。

2) 年 度 別 に み た 中 和 抗 体 保 有 率 お よ び 抗 体 価

豚の月齢別陽性率と平均中和抗体価が、ほぼ安定した値を示すのは 4 カ月齢以後と判断されたので、4 カ月齢以後の豚における測定値を年度別に集計して図 1 に表わした。

1 型に対する抗体陽性率は、測定した 1976 年に 80.0% の陽性率で 1981 年までの 6 年間は 80.0～88.9% の高い値を示したが、1982 年には 64.3% と低値で 1983

表 1 豚の月齢別にみた中和抗体保有状況

ウイルス株	月 齢 : 頭 数 :	1 68	2 292	3 320	4 188	5 136	6 166	繁殖豚 208
NNFOR 43 (1 型)		63.2* (5.9)**	15.4 (2.7)	65.3 (8.1)	85.6 (23.0)	93.4 (50.9)	94.8 (63.5)	87.5 (24.6)
Amy (2 型)		8.8 (2.3)	1.4 (2.0)	20.9 (2.7)	32.4 (3.6)	49.3 (4.7)	60.3 (6.1)	43.3 (4.5)
Abney (3 型)		17.6 (2.7)	2.1 (2.1)	26.3 (3.0)	34.6 (4.3)	55.1 (6.0)	69.0 (8.0)	51.4 (5.6)

注) *: 中和抗体陽性率 (%) **: () 内は幾何平均中和抗体価

図1 年度別陽性率と平均抗体価の推移

表2 地域別の中和抗体保有状況

ウイルス株	頭数:	九州 32	中国 62	四国 86	近畿 78	中部 40	北陸 102	関東 74	東北 94	北海道 56
NNFor43 (1型)		87.5* (32.3)**	75.8 (16.2)	81.4 (13.9)	93.6 (54.2)	87.5 (28.0)	98.0 (83.2)	95.9 (49.0)	93.6 (51.7)	82.1 (12.5)
Amy (2型)		34.4 (3.1)	54.8 (5.3)	43.0 (5.0)	51.3 (5.4)	40.0 (3.5)	53.9 (6.3)	40.5 (3.7)	40.4 (4.3)	30.3 (3.2)
Abney (3型)		50.0 (5.9)	40.3 (4.0)	40.7 (3.8)	44.9 (4.8)	37.5 (4.9)	57.8 (6.0)	68.9 (7.9)	61.7 (11.8)	50.0 (4.0)

注) *: 中和抗体陽性率 (%) **: () 内は幾何平均中和抗体価

年には再び99.0%と高い値を示した。その後も1987年まで86.0～99.0%の高い陽性率を示した。平均抗体価は7.7～105.0倍を示し、その値は陽性率の高低にほぼ比例する傾向を示した。しかし、1978年だけは105.0倍で他年度に比べて極端に高い値を示した。これらを総合した陽性率は89.3%で、平均抗体価は32.4倍であった。

2型に対しては、1976年と1977年の抗体陽性率が15.0%と22.2%、平均抗体価が2.4倍と2.8倍で低い値を示し、1985年も30.0%の陽性率と3.4倍の平均抗体価で、やや低値であった。その他の年度では、40%以上の陽性率を示し1978年と1983年は60%以上の陽性率と、11.6倍と7.3倍の平均抗体価でやや高い値を示した。1987年には最高値で、72.7%の陽性率と7.5倍の平均抗体価を示し、総合した陽性率は44.0%で平均抗体価は4.5倍であった。3型に対しては、1976年に20.0%の陽性率と2.9倍の平均抗体価で1979年と1981年も37.5%と33.3%の陽性率で4.9倍と3.1倍の平均抗体価を示した。その他の年度は、40%以上の陽性率と3.4倍の平均抗体価を示した。陽性率の最高値は1983年の70.6%で平均抗体価の最高値は1985年の14.7倍であり、これを総合した陽性率は50.3%で、平均抗体価は6.3倍であった。

3) 地域別の中和抗体価の保有状況

地域別の抗体陽性率と平均抗体価は、4カ月齢以上の豚血清の測定値を集計し、表2に表わした。

1型に対する陽性率が90%を越えたのは、北陸の98.0%、関西の95.9%、東北と近畿の93.6%で、これらの地方では平均抗体価も50倍前後から80倍の高い値を示した。陽性率が80%以上を示したのは、九州と中部の87.5%、北海道の82.1%、四国の81.4%で最も低い中国でも、75.8%と地方毎に余り大きな差がなく、しかも高い陽性率を示した。陽性率が90%に近い九州と中部では、30倍前後の平均抗体価を示したが、陽性率が70%台に近い北海道、四国、中国の平均抗体価は12.5～16.2倍の低い値であった。

2型に対する陽性率は、3血清型の中で最も低かったが、50%を越えたのは、中国の54.8%と北陸の53.9%、近畿の51.3%で、他の地域は30.3～43.0%の範囲を示し、平均抗体価も全ての地方で低く、3.1～6.3倍を示した。

3型に対する陽性率は関東の68.9%が最も高く、次いで東北の61.7%であった。陽性率が50%台を示したのは、北陸の57.8%、九州と北海道の50.0%で、陽性率が40%台を示したのは、近畿の44.9%、四国の

40.7% および中国の 40.3% で、37.5% の中部が最も低い陽性率であった。平均抗体価は陽性率にはほぼ比例し、陽性率 61.7% の東北は 11.8 倍を示したが、他の地方は 10 倍以下で、3.8 ～ 7.9 倍の平均抗体価を示した。

3. 考 察

著者ら⁴⁾は、1983 年から翌年にかけて採取した豚の気道から日本で初めて豚のレオウイルス 1 型を分離して以来、日本の豚における本ウイルスの分布状況に多大の関心を有してきた。そこで過去 12 年間にわたり、日本全国の種々の養豚場で採血された血清について中和抗体の測定を実施したので今回これらを集計した。供試した血清の中には月齢毎に定期的に採血されたものも一部含まれてはいたが、大部分は相互に何ら関連性を有しない豚群の血清であった。それらの測定成績をまとめ、ウイルスの血清型別に豚の月齢、年度、地域別に集計した結果、それぞれの分布状況を明らかにすることができた。

まず、豚の月齢別の成績では、1 型に対しては 1 カ月齢まで移行抗体が約 60% の高率に残存したが、2 カ月齢群では約 15% の陽性率へ低下した。そして 3 カ月齢群から抗体保有率が急上昇していることから、自然界では 2 カ月齢の後半から 3 カ月齢頃にウイルス感染が起これと予測された。2 型と 3 型に対する 1 カ月齢群の移行抗体保有率は、約 10 ～ 20% と低率であったが、2 カ月齢群では約 1 ～ 2% の陽性率へさらに低下した。3 カ月齢群で再び上昇する推移は、1 型の場合と同じであった。Watt⁸⁾ は、2 豚群について継続したウイルス分離と血清学的な調査を行い、レオウイルス 3 型の移行抗体が低下するのは、生後 11 週頃でその頃から感染が始まり、ウイルスが分離されることを報告しているが、今回の著者らの成績とほぼ一致している。

著者ら⁴⁾は、先にウイルスを分離した 2 農場における豚群について小規模ながら月齢毎の中和抗体を調べたが、3 血清型とも今回の成績とよく似た成績であった。

豚群におけるレオウイルスの感染は 2 ～ 3 カ月齢に起こると判断されたので、年度別および地域別の成績を抗体価の変動が少ない 4 カ月齢以後の豚血清について集計した。その結果、1 型に対する抗体陽性率は、64.3 ～ 99.0% と概して高く、2 型では 15.0 ～ 72.7%、3 型では 20.0 ～ 70.6% でやや低い陽性率を示した。平均抗体価も 1 型の 32.4 倍に比べ 2 型では 4.5 倍、3 型では 6.3 倍の低い値であった。

地域別の集計を見ると 1 型に対しては 75.8 ～ 98.0% の高い抗体陽性率を示し、2 型では 30.3 ～ 54.8%、3 型では 37.5 ～ 68.9% と低い値ながら地域によりやや格差が見られたものの、全国的にみて 1 型に対して高い陽性率を示した。

豚のレオウイルスの分布状況について Kasza²⁾ は 12 農場由来の 40 倍希釈血清について試験した結果、彼の分離した 1 型のウイルスに対し約 80% の中和抗体陽性率であったことを明らかにした。また、Harkness ら³⁾ は同様に 40 倍希釈血清で測定し、1 型で 37.5%、2 型では 31.3% の抗体陽性率であったことを報告している。

著者らの成績では、4 倍以上を抗体陽性と判定しており、これらの成績と彼らの成績をそのまま比較するには、いささか無理があるとはいえ、諸外国の豚群はレオウイルスに高率に感染していることが知られる。しかも、血清型により、陽性率に大差の無い成績であるが、日本の豚では各月齢別、年度別、地域別にみても常に 1 型に対して高い抗体陽性率と平均抗体価を示していることから、わが国では、2 型と 3 型よりも 1 型のウイルスの感染が多いものと判断される。なお、豚レオウイルスの病原性については、いくつかの実験例^{1, 4, 5, 6)}から、呼吸器病に関与することが示されている。今回の調査成績からわが国の豚群に高率にレオウイルス感染がみられることは、とくに大規模養豚場における育成豚への影響が考えられ、ワクチンの開発などその対策も考慮しなければならないものと考えられる。

引用文献

- 1) BASKERVILLE, A. McFERRAN, J. B. and CONNOR, T.: *Res. Vet. Sci.*, 12, 172～174 (1971).
- 2) KASZA, L.: *Vet. Rec.*, 87, 681～686 (1970).
- 3) HARKNESS, J. W., CHAPMAN, M. S. and DARBYSHIRE, J. H.: *Vet. Rec.*, 88, 441～447 (1971).
- 4) HIRAHARA, T., YASUHARA, H., MATSUI, O., KODAMA, K., NAKAI, M. and SASAKI, N.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 50, 353～361 (1988).
- 5) McFERRAN, J. B. and CONNOR, T.: *Res. Vet. Sci.*, 11, 388～390 (1970).
- 6) ROBLE, M. G., McADARAGH, J. P., PHILIPS, C. S. and BICLMELL, E. J.: *Vet. Med./Small Anim. Clin.*, 66, 903～909 (1971).
- 7) STANLEY, N. F. and LEAK, P. J.: *Am. J. Hyg.*, 78, 82～88 (1963).
- 8) WATT, R. G.: *Res. Vet. Sci.*, 24, 147～153 (1978).