

1977~1978年における「かも」からのA型インフルエンザウイルスの分離成績について (第2報)

森田盛大* 庄司キク* 伊藤陽子* 久松公子*
高橋久美子* 佐藤宏康* 高山和子* 山脇徳美*
後藤良一* 原田誠三郎* 佐々木光穂* 天野保二**
小田切孝人*** 有川二郎*** 山根誠久*** 石田名香雄***

I 緒言

世界的大流行を起すA型インフルエンザウイルスの出現機序¹⁾については、抗原循環説に対応して、遺伝的再結合現象を根拠としたレコンビナント説²⁾が注目されているが、これまでに明らかにされたA型インフルエンザウイルスの赤血球凝集(HA又はH)抗原は、人系で5種類、馬系で2種類、鳥系で9種類、また、ニューラミニダーゼ(NA又はN)抗原は、人系で2種類、馬系で2種類及び鳥系で6種類である。

我々は、このレコンビナント説を想定して、鳥系のHAとNAの各抗原の種類を調査してきた³⁾が、本報では、1977~1978年にかけて行なった「かも、からのA型インフルエンザウイルスの分離成績を中心にして報告する。

II 材料と方法

A. 「かも、からのウイルス分離材料採取

ウイルス分離材料は、表1.に示す如く、県内4地区で狩猟開始日の11月15日にハンターが射殺した460羽及び環境庁の許可(学術研究を目的として)を得て1978年3月1日~3月15日に鳥獣捕獲許可証(第171~187号)を所持した捕獲員が射殺した78羽の「かも、から採取した合計525検体の気管擦過液と538検体の総排泄口ぬぐい液である。

採取液は牛血清アルブミンを0.1%の割合に加えたSLEにストレプトマイシン1000r/ml, ペニシリン1000u/ml, アクロマイシン50r/ml, クロロマイセチン20r/ml及びマイコスタチン10r/mlを添加したものである。被検材料は当日現地で採取(氷浴)後衛研に持ち帰り-70°Cに凍結保存した。

B. 「かも、からの被検血清採取

「かも、からの被検血清は表4.に示す14羽(1978年3月の環境庁の鳥獣捕獲許可調査時)の凝固した心血から

採取し、被検時迄、-20°Cに保存した。

C. ウイルス2分離方法と同定方法

ウイルス分離と同定の方法は既報³⁾と同様であるが、同定に用いた抗Hsw1, HO, H1, H2, H3, Hav1~9, Heq1, Heq2, 及び抗N1, N2, Neq2, Nav1~6の各抗血清は、Dr. Webster, R. G. から分与されたものである。また、NA及びニューラミニダーゼ活性阻止(NAI)試験はWebsterらの方法⁹⁾により行った。

D. 赤血球凝集抑制試験

赤血球凝集抑制(HAI)試験は、被検血清を形の如くRDE処理した後、A/Turkey/Oregon/71(Hav1 Hav2), A/duck/Akita/34/78(Hav2 Nav5), A/duck/Akita/65/77(Hav4 Nav6), A/tern/S. Africa/61(Hav5 Nav2), A/duck/Akita/470/78(Hav6 N2), A/duck/Akita/239/77(Hav6 Nav2), A/NJ/8/76(Hsw1 N1), A/USSR/92/77(H1 N1)及びA/Yamanashi/2/77(H3 N2)の各抗原を用いてマイクロタイター法により実施した。

E. 電子顕微鏡による形態学的観察

電顕による分離インフルエンザウイルスの形態学的観察は既報の方法³⁾により実施した。

III 成績

ウイルス分離成績は、表1.に示す如く、1063検体から20株(分離1.9%)のA型インフルエンザウイルスが検出された。年別にみると、1977年は僅か0.5%の分離率であったが、1978年には2.9%と上昇し、採取年による変動がみられた。採取部位別には前報³⁾と同様、総排泄口ぬぐい液が気管擦過液より約2倍分離率が高かった。「かも、の種類によってみると、非渡り鳥(地がも)系のカルガモからは9株(分離率1.6%)分離されたのに対し

*秋田県衛生科学研究所

**秋田大学医学部研究機器センター

***東北大学医学部細菌学教室

表1. 1977~1978年, “かも、からのウイルス分離成績

“かも、 の種類	採取場所 採取年 採取月日 採取部位	北秋田郡 米代川流域		能代市 沼		八郎潟		山内村 相野々ダム		小計		合計		
		1977	1978	1977	1978	1977	1978	1977	1978	1977	1978			
		11・15	11・15	11・15	11・15	11・15	3・1~3・15	11・15	11・15	11・15	11・15			
カルガモ	T	0/11		0/53	0/25	0/23	0/12	1/22	0/69	1/63	0/156	2/122	2/278 (0.7)	9/560 (1.6)
	C	0/13		0/52	3/25	0/26	0/12	1/22	0/69	3/63	0/160	7/122	7/282 (2.5)	
コガモ	T				0/1	0/10	0/34	2/29	0/2	0/3	0/12	2/67	2/79 (2.5)	8/161 (5.0)
	C	1/1		0/2	0/1	1/10	0/34	4/29	0/2	0/3	2/15	4/67	6/82 (7.3)	
マガモ	T			0/3		0/7	0/13	1/10	0/4	0/5	0/14	1/28	1/42 (2.4)	1/84 (1.2)
	C			0/3		0/7	0/13	0/10	0/4	0/5	0/14	0/28	0/42 (0)	
キンクロハジロ	T				0/2	0/25	0/12	2/59			0/25	2/73	2/98 (2.0)	2/202 (1.0)
	C				0/2	0/31	0/12	0/59			0/31	0/73	0/104 (0)	
オナガガモ	T					0/2			0/1		0/3		0/3 (0)	0/6 (0)
	C					0/2			0/1		0/3		0/3 (0)	
ヒドリガモ	T						0/4					0/4	0/4 (0)	0/8 (0)
	C						0/4					0/4	0/4 (0)	
ホシバジロ	T						0/3	0/18				0/21	0/21 (0)	0/42 (0)
	C						0/3	0/18				0/21	0/21 (0)	
小計	T	0/11		0/56		0/67	0/78	6/138	0/76		0/210	7/315	7/525 (1.3)	13/538 (2.4)
	C	1/14		0/57		1/76	0/78	5/138	0/76		2/223	11/315	13/538 (2.4)	
合計		1/25 (4.0)		0/113 (0)	3/56 (5.4)	1/143 (0.7)	0/156 (0)	11/272 (4.0)	0/152 (0)	4/142 (2.8)	2/433 (0.5)	18/630 (2.9)	20/1,063 (1.9)	
		1/25 (4.0)		3/169 (1.8)		12/571 (2.1)		4/294 (1.4)						

註1. T:気管, C:総排泄口, 註2. 分離陽性数/被検数, 註3. ()内は分離陽性率%

て、シベリア地方などから渡ってくるとみられるコガモからは8株(5.0%),マガモからは1株(1.2%),キンクロハジロからは2株(1.0%)で、他のオナガガモ、ヒドリガモ、ホシバジロからはいずれも分離されなかった。

分離されたウイルスの抗原構成を“かも、の種類別にみると、表2.に示す如く、カルガモからは3種類以上(1976年分を加えると5種類以上)、コガモからは6~8種類、マガモからは1種類、キンクロハジロからは1~2種類の異なる抗原構成をもつウイルスが検出された。

これを抗原構成別にまとめてみると、表3.の如く、H抗原はav7が4株(1976年分を加えると6株)、av2が2

株、av3が2株、av6が2株(1976年分を加えると4株)、及びav4とeq2がそれぞれ1株ずつであった。

また、N抗原についてみると、avが4株、av1が2株N2が1株(1976年分を加えると5株)、及びav2とav5が各1株ずつであった。なお、抗原構成が(?)とされたものは現在同定中のものである。

次に分離ウイルスの電顕像をみると、図1., 2., 3.に示す如く、形態は概ね球形で、サイズも80~150nmであったが、中には、図1の左側のような多形性のももみられた。また、図2のように、内部の構造たんばくが露出したものも観察された。

最後に、“かも、の保有するHAI抗体の検出を試み

表2. 1976～1978年県内の「かも、から分離された
A型インフルエンザウイルス

「かも、の種類	抗原構成	分離株数
カルガモ	Hav 2 Nav 5	1
	Hav 3 N?	1
	Hav 6 N 2	2*
	Hav 7 N 2	2*
	Hav 7 Nav 6	1
	H(?) N(?)**	6
コガモ	Hav 2 (or av 6) N(?)	1
	Hav 4 Nav 6	1
	Hav 6 N 2	1
	Hav 6 N(?)	1
	Hav 7 Nav 1	1
	Hav 7 Nav 2	1
	Hav 7 Nav 6	1
	H(?) Nav 1	1
マガモ	Heq 2 Nav 6	1
キンクロハジロ	Hav 3 N(?)	1
	H(?) N(?)	1

* 1976年に分離されたもの

** (?)は未同定

表3. 1976～1978年県内の「かも、から分離された
A型インフルエンザウイルス

抗原構成	分離番号
Hav 2 Nav 5	78-34*
Hav 4 Nav 6	77-65
Hav 6 N 2	76-63, 76-347, 78-470
Hav 7 Nav 1	78-468
Hav 7 Nav 2	77-239
Hav 7 Nav 6	78-469, 78-482
Hav 7 N 2	76-310, 76-311
Heq 2 Nav 6	78-485
H(?) Nav 1	78-484
Hav 2 (or av 6) N(?)**	78-203, 78-232
Hav 3 N(?)	78-629, 78-852
H(?) N(?)	(株数7……いずれも 1978年分)

* 分離年(西暦末尾2桁)－検体番号, ** (?)は未同定

た結果、表4.に示す如く、14羽中1羽(カルガモ)から
A / USSR / 92 / 77抗原に対する抗体が検出された。

IV 考 察

A型インフルエンザウイルスのRNAは、1本鎖のバ

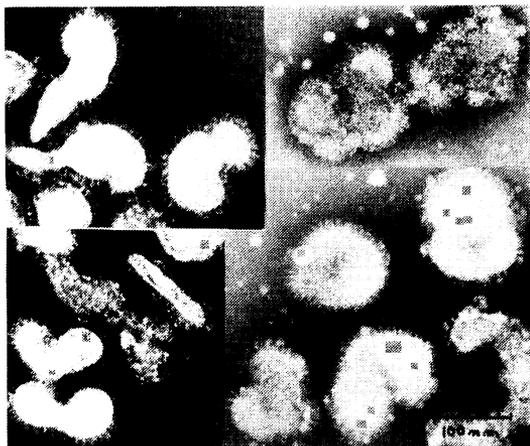


図1. 78-470株* の電顕像

* A / duck / Akita / 470 / 78 (Hav 6 N 2)

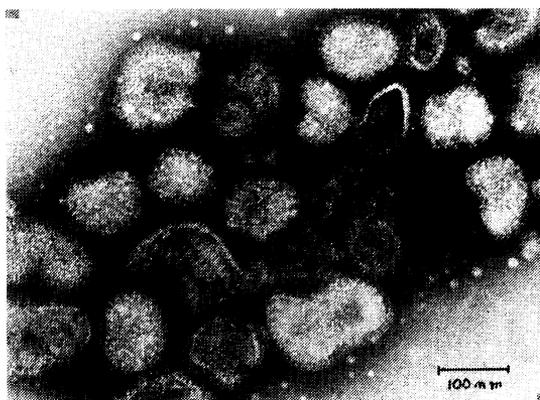


図2. 78-484株* の電顕像

* A / duck / Akita / 484 / 78 (H? Nav 1)

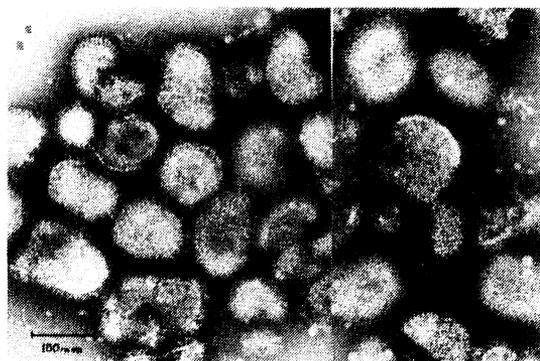


図3. 78-232株* の電顕像

* A / duck / Akita / 232 / 78 (Hav 3 N?)

ラインフルエンザウイルスと異なり、8本のRNA分節
から構成されているため、2種類のA型インフルエンザ
ウイルスを in vitro や in vivo で2重感染することに

表 4. 1978年3月に採取した“かも、血清中のHAI抗体検出

Na	かもの種類	NA 抗原								
		A/Turky/Oregon/71 (Hav1Nav2)	78-34 (Hav2Nav5)	77-65 (Hav4Nav6)	A/tern/S.Africa/61 (Hav5Nav2)	78-470 (Hav6Nav2)	77-239 (Hav7Nav2)	A/NJ/8/76 (Hsw1N1)	A/USSR/92/77 (H1N1)	A/山梨/2/77 (H3N2)
1	キンクロハジロ	—*	—	—	—	—	—	—	—	—
2	”	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	”	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	”	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	”	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	”	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	コガモ	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	”	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	”	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	”	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	”	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12	カルガモ	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13	”	—	—	—	—	—	—	—	64	—
14	マガモ	—	—	—	—	—	—	—	—	—

* HAI 抗体価32倍以下

より、容易に“あいの子、のレコンビナントウイルスを作成し得る。このことが、新しい汎流行ウイルスの発生機序に関するレコンビナント説のよりどころとなっているわけであるが、そのベースとなる哺乳類や鳥類などにおけるA型インフルエンザウイルスの種類、殊に、鳥類については、Webster たちの成績⁷⁾⁸⁾をはじめとして、近年数多く報告されてきている。本邦では、根路銘たち⁴⁾と著者らが参加している山根たち⁵⁾⁶⁾の報告が中心であるが、前者の場合は、東南アジアからの輸入鳥についての調査で、Hav 7 Neq2, Hav 4 Neq 2, Hav 4 Nav 1の抗原構成をもつインフルエンザウイルスを検出している。これに対して、後者の場合は、渡り鳥系や非渡り鳥系の“かも、を中心に調査し、Hav 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 並びに、N 2, Neq 2, Nav 1, 2, 3, 4の組み合わせによるウイルスを検出している。

今回の調査では、Hav 7のHA抗原を有するものが最も多かったが、これまで本邦で報告されていないHav 2が新たに検出され、また、NA抗原でもNav 5やNav 6が新たに検出されるなど、8種類以上にわたる抗原構成のA型インフルエンザウイルスが分離された。従って、上述の山根たちの成績と合わせると、鳥類から本邦で未だ検出されていないHA抗原は人系のH 1, H 2,

H 3, 馬系のHeq 1, NA抗原ではN 1とNeq 1のみとなった。しかし、本報の12株の如く、未同定又は既知の抗血清で同定されがたい分離株が存在することはこれらの分離株の中から上記抗原を有するものや新しい抗原を有するものが見つけられる可能性も若干残されている。

このように、鳥類から数多くのタイプのHAやNA抗原が検出されたが、この中でも、人系のN 2抗原および馬系のHeq 1やNeq 2などの抗原を有するものが存在したと、或いは、“かも、の血清中に人系ウイルスに対する抗体が検出されたこと一連でも鳥からH 3 H 2に対する抗体が検出されている¹⁰⁾、或いは又、同一の“かも、から2種類のウイルスが同時に検出されたこと(78-469株と78-470株)などの成績は、レコンビナント説を想定した時、興味深いものと考えられた。すなわち総排泄口から排泄されたウイルスが湖沼を汚染し、他のウイルスを保有している次の“かも、へと経口伝播していく可能性、或いは、人系ウイルスのその場への混入汚染の可能性などが合わさり、“かも、という宿主での同時感染が成立し、レコンビナントウイルスの出現が想定されるからである。その意味でも、人インフルエンザや豚インフルエンザなどの流行後に“かも、の保有するウイルスやHAI抗体を精査することや本邦の“かも、の

渡りコースであるシベリア地方の成績などを観察することなどは、今後本調査をすすめていく上に、必要になってくるものと考えられる。勿論、`かも、にのみレコンピナントの場を求めようとするものではなく、その可能性のある宿主の1つとしてみていくわけである。また、出来得るならば、他のウイルスの汚染の恐れのないような場での2重感染実験—勿論、感染ウイルスやレコンピナントウイルスが他に絶体波及しないような—なども今後慎重に考えていきたい。

V 結 論

1977～1978年、県内4地区で採取したカルガモ、コガモ、マガモ、キンクロハジロなど7種類の`かも、の気管擦過液525検体と総排泄口ぬぐい液538検から20株A型インフルエンザウイルスを分離した。

抗原構成は Hav 2 Nav 5, Hav 4 Nav 6, Hav 6 N 2, Hav 7 Nav 1, Hav 7 Nav 2, Hav 7 Nav 6, Hav 7 N 2, Heq 2 Nav 6 などであった。

稿を終えるにあたり、本調査に御協力下さいました県林政課、秋田、山本、男鹿、北秋田各農林事務所、県自然保護課、秋田県猟友会、大潟村猟友会、並びに、環境庁に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) 植竹久雄編：ウイルス学，1版，理工学社，オルソミキソウイルス科（森田盛大たち），277—295(1979)。
- 2) Kilbourne, E.D. : The influenza viruses and influenza, I, Academic Press, Antigenic variation of influenza viruses (Webster, R.G. &

Laver, W.G.), 269—314 (1975)

- 3) 森田盛大たち：「かも」からのインフルエンザウイルスの分離（第1報），秋田県衛生科学研究所報，21 75—78 (1977)
- 4) 根路銘国昭たち：鳥類から分離したオルソミクソウイルスの特性，第26回日本ウイルス学会総会抄録（東京），117 (1978)
- 5) 山根誠久たち：`かも、からのインフルエンザウイルスの分離（第2報），第2回日本ウイルス学会総会抄録（東京），118 (1978)
- 6) Yamane, N., et al : Isolation of orthomyxoviruses from migrating and domestic ducks in northern Japan in 1976—1977, J. J. Med. Sci. Biol., 31, 407—415 (1978)
- 7) Webster, R.G., et al : Ortho—and Paramyxoviruses from migrating feral ducks : Characterization of a new group of influenza A viruses, J. gen. Virol. 32, 217—225 (1976)
- 8) Shortridge, K.F., et al : Isolation and characterization of influenza A viruses from avian species in Hong Kong, Bull. World Health Organ., 55, 15—16 (1977)
- 9) Webster, R.G. & Champbell, C.H. : An inhibition test for identifying the neuraminidase antigen of influenza viruses, Avian diseases, 16, 1057—1066 (1972)
- 10) WHO : WHO expanded programme on the ecology of influenza viruses ; Consultation on the ecology of influenza viruses, London, 23—24 February (1979)