

人血清における牛コロナウイルス に対するH I 抗体活性 (第1報)

森 田 盛 大* 庄 司 キ ク* 後 藤 良 一*
 斉 藤 志 保子* 鈴 木 正 則* 近 藤 田 鶴子*
 大 山 鉦 一** 渡 辺 満** 天 野 保 二***

I はじめに

人コロナウイルス (HCV) と動物コロナウイルスとの免疫学的交叉性については必ずしも十分に明らかにされていない¹⁾。我々は、牛下痢症の1病原である牛コロナウイルス (BCV) の血清疫学を試みた時、BCVに対してH I 抗体活性を示す人血清が認められたことから、HCVとBCVとの間のH I 抗体の交叉反応性を検討する第1歩として、牛におけるBCVの侵淫状況と人、豚、犬の各血清のBCVに対するH I 抗体活性について調査したので、その成績を報告する。

II 材料と方法

A. 被検血清

被検牛血清は昭和54年6—10月に県内4地区 (表2) の飼育牛181頭から採取した210検体。人血清は、51—54年の感染症定点観測時に病原微生物の不明であった各種疾患患者74名、53年の集団かぜでインフルエンザでなかった罹患者29名、および、55年大館市に発生した集団嘔吐下痢症患者25名⁴⁾ からそれぞれベア血清として採取した256検体、並びに、54年の流行予測調査で五城目町住民172名、55年の風疹免疫保有検査 (成人女子) で78名からそれぞれ採取した単味血清250検体、合計505検体である。豚血清は55年の日脳流行予測のためと畜豚から採取した64検体。また、犬血清は54年10—12月に秋田保健所の不用犬から採取した67検体である。

B. BCV—HA抗原の調製方法とH I 抗体測定方法

農林水産省家畜衛生試験場から分与されたBCV掛川株をBEK—1細胞 (増殖液: 10%仔牛血清加TPB—MFM³⁾、維持液: 0.2%Lグルタミン酸Na、0.1%牛血清アルブミン添加TPB—MFM) に接種し、CPEが完全に発現してから—70℃にストック。その後、ストックしたものを凍結融解1回してから、プールして5,000rpm, 30分遠心。この遠心上清を22,000rpm, 2時間超遠心したペレットをマイナスPBSに溶解して赤血球凝集 (HA) 抗原とした。このようにして調製したBCV

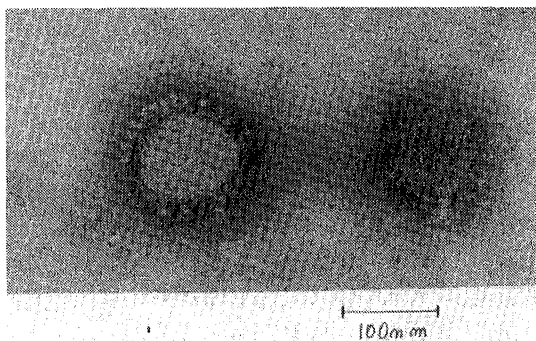
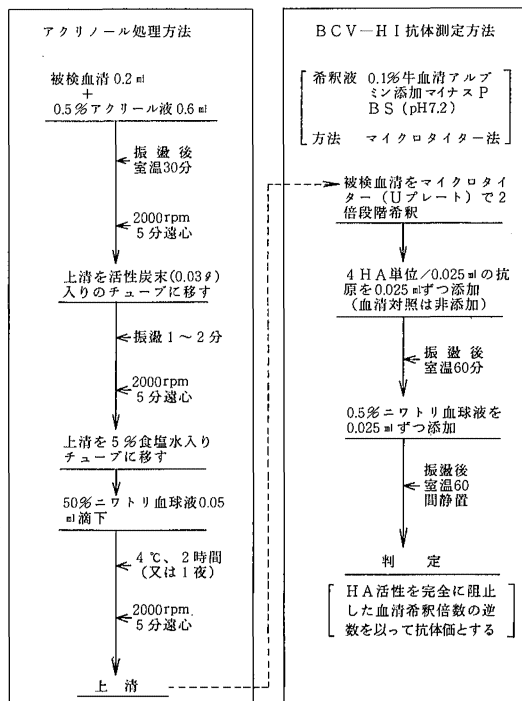


図1.

表1. 被検血清のアクリノール処理法とBCV—H I 抗体測定方法



* 秋田県衛生科学研究所 ** 秋田県中央家畜保健衛生所 *** 秋田大学医学部研究機器センター

表2. 飼育牛の牛コロナウイルスH I抗体陽性

飼育地	秋田市	男鹿市	河辺町	矢島町	計
成績	54・8	54・7	54・10	54・6	
被検数	26	72	54	29	181
H I 抗体 陰性 (%)	10 (38.5)	14 (19.4)	13 (24.1)	1 (3.4)	38 (21.0)
H I 抗体 陽性 (%)	16 (61.5)	58 (80.6)	41 (75.9)	28 (96.6)	143 (79.0)
幾何平均H I 抗体価(倍)	17.4	25.8	22.8	33.5	26.7

※BCV-H I 抗体価8倍又は8倍以上を陽性とした。

抗原の電顕像は図1の如くであった。

赤血球凝集抑制(H I)抗体の測定方法³⁾は、被検血清中のHAインヒビターをアクリノール法²⁾と一部カオリン法で除去後、0.1%牛血清アルブミン添加マイナスPBS (pH7.2)を希釈液として、表1の如く、行なった。なお、人血清でBCV-HA抗原に対するH I活性を示したものは、一応、H I抗体として表わした。

Ⅲ 成 績

A. HAインヒビター除去法としてのアクリノール法とカオリン法の比較

最初に、HA活性インヒビターの除去方法として、牛血清を用いて、アクリノール法とカオリン法を比較した結果、図2に示す如く、カオリン処理血清のBCV-H I抗体価はアクリノール処理血清より約2倍高かったが、ほぼ相関性のあるところから、操作の簡単なアクリノール

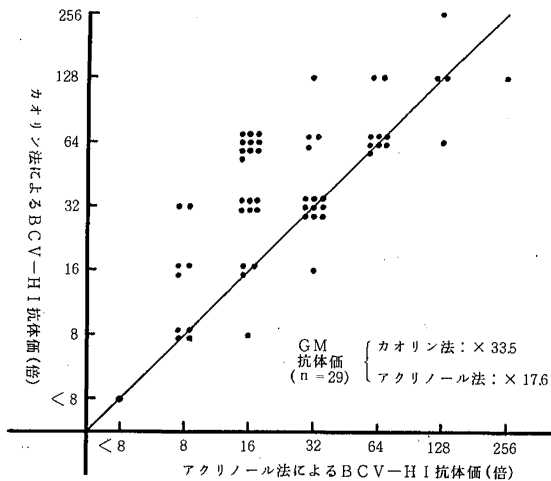


図2. アクリノール法とカオリン法によるBCV-H I抗体価の比較

ル法を以後のインヒビター処理法とした。

B. 牛のBCV-H I抗体陽性状況

県内の4地区で飼育されている牛181頭から採取した血清について、BCV-H I抗体陽性状況をみたのが表2である。平均79%の高率な陽性率であるが、概して、秋田市周辺より、鳥海山麓の矢島町など、農山村部の飼育牛が高い陽性率を示した。幾何平均(GM)抗体価は17.4~33.5倍、平均26.7倍であった。

また、矢島町の29頭について、4ヶ月後の54年10月に再採血して抗体価を測定した結果、図3の如く、H I抗体価は約1/2に低下していた。

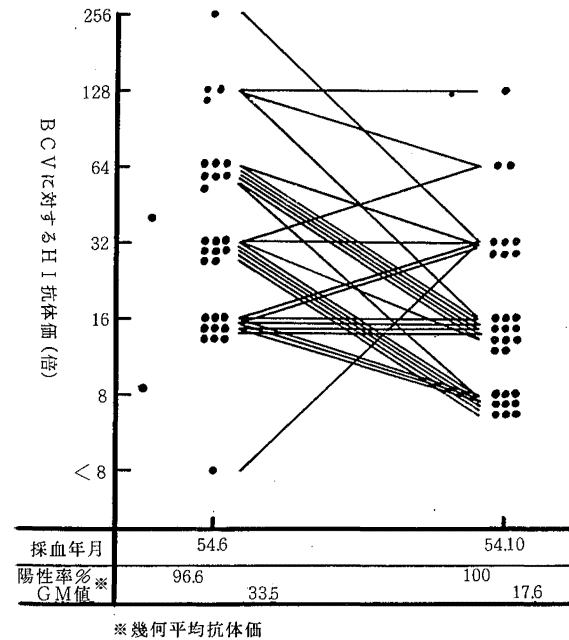


図3. BCoV-H I抗体価の時期変動(矢島町、飼育牛29頭)

C. 県内住民のBCV-H I抗体陽性状況

県内住民のBCV-H I抗体陽性状況を年齢群別にみたのが図4である。H I抗体陽性率は1才群より加齢と共に上昇し、10-12才群で36.8%のピークに達し、以後の年齢群では、ほぼ同じレベルの陽性率を示した。陽性例について抗体価分布とGM抗体価をみたのが図5であるが、2-3才群を除くと、年齢と共にゆるやかにGM値が上昇していく傾向を示した。

D. 各種疾患の患者から採取したベア血清のBCV-H I抗体価上昇

病原の明らかとなった大館市の嘔吐下痢症患者⁴⁾を除く99名の患者は集団かぜや定点観測でウイルス分離や血清学的検査が陰性で、病原の不明であったものであるが、

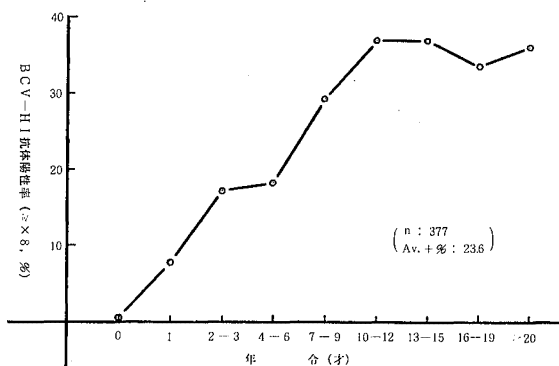


図4. 人における年令別BCV-H I 抗体陽性率

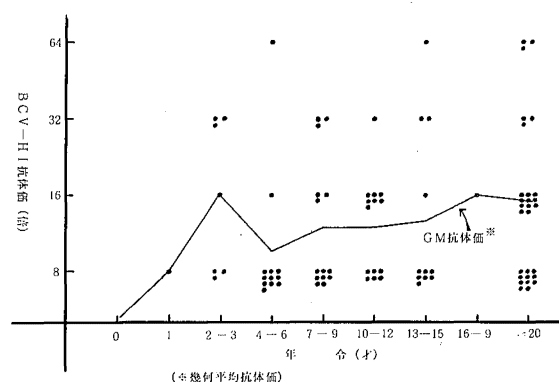


図5. B C V-H I 抗体陽性例の抗体価分布 (人)

そのうち3例にBCV-H I 抗体価の上昇が認められた。No.1は発疹などから水痘の疑われた症例、No.2は集団かぜ発生時の罹患者である。No.3は $\times 8 \rightarrow \times 8$ に上昇したが、インヒターや測定誤差の可能性も考えられた。なお、これらの詳細な成績については、人コロナウイルスOC-43株の結果も含めて、次号で報告する考えである。

E. 豚および犬血清のBCV-H I 抗体陽性状況

64検体の豚血清および67検体の犬血清のすべてはBCV-H I 抗体陰性であった。

IV 考 察

牛下痢症の病原として、NCDV、牛アデノウイルス、ウシウイルス性下痢症ウイルス、ウシパルボウイルスなどがあげられているが、BCVもその病原の1つであり、そのHA活性はInabaたち⁵⁾によって報告された。

HCVと動物コロナウイルスとの免疫学的交叉性についての報告例を我々は見出していないが、NCDVとヒトRotaウイルスの如く、BCV-HA抗原を用いてHCV感染症の血清診断の可能性が想定された。このことから、我々は、人血清についてH I 試験を試みたところ、

H I 抗体活性の検出されるものがあることを見出した。我々はこの抗体活性が、人のBCV感染によるものでなく、HCV抗体の交叉反応性によるものであらうと、現段階では、考えている。

このようなことから、先ず、BCVの牛間における侵淫状況と人、豚、犬のBCV-H I 抗体活性の存否について検討することとしたわけである。得られた成績をみる限りにおいては、牛では稲葉たち⁵⁾の97.2%の陽性率より小さいが79%の陽性率を示し、BCVが県内の牛間にかなり高率に侵淫していることがわかった。一方、豚や犬血清では陰性であったが、人では23.6%にH I 抗体活性が検出され、しかも、この抗体活性陽性率が加齢と共に上昇し、Miyazakiたち⁶⁾がみたHCV 229 E株に対する年令別中和抗体分布と同様の傾向を示した。更に、少なくとも2例の患者のベア血清間に抗体価の有意上昇がみられた。我々は、現在、HCV 229 E株とOC 43株(いずれも岩手医大川名林治教授から被分与)を用いて、人血清におけるBCV-H I 抗体活性との交叉性を検討しているが、少なくとも本報の限りでは、牛を除くと、人血清にのみBCV-H I 抗体活性が認められたのである。

V 結 論

牛血清210検体、ヒト血清505検体、豚血清64検体および犬血清67検体についてBCVに対するH I 抗体を測定した結果、牛では79%、人では23.6%にH I 抗体が検出された。この人血清のH I 抗体活性はBCVとHCVの免疫学的交叉反応性の存在を示唆した。しかし、豚と犬血清では全く検出されなかった。

稿を終えるにあたり、BCV掛川株とBEK-1細胞を分与して下さいました農林水産省家畜衛生試験場、豚と犬の採血に御協力いただいた県中央食肉衛生検査所および秋田所健所の方々に深謝します。

文 献

- 1) 川名林治たち：コロナウイルス感染症、内科(別集)、33, 150-159 (1978)
- 2) 須藤恒久：風疹免疫検査における基本要項、臨床とウイルス、4 (11), 43-46 (1976)
- 3) Sato, K, et al: Hemagglutination by calf diarrhea coronavirus, Veterinary Microbiology, 2, 83-87 (1977)
- 4) 佐藤宏康たち：昭和55年2月大館市を中心に発生した嘔吐下痢症、秋田県衛生科学研究所報、24, 76-79 (1980)
- 5) 稲葉右二：子ウシの下痢症に関与するウイルス、と

くにNebraska Calf Diarrhea Virus について, 臨床
とウイルス, 5, 63—65 (1976)
6) Miyazaki, K, et al: Presence of neutralizing

antibody against the 229E strain of coronavirus
in the sera of Sendai, Japan. J. Microbiol.,
15, 276 — 277 (1971)