

県内飼養牛におけるA型およびD型インフルエンザウイルス浸潤状況調査

県央家畜保健衛生所

高山 環 英 俊征
海老澤 久美子 石川 由
小菅 千恵子 近田 邦利
仲澤 浩江

緒言

インフルエンザウイルスはオルソミクソウイルス科に属する分節化マイナス一本鎖RNAウイルスで、A～D型の4つの型に分類される。A型は水禽類を自然宿主とし、広い宿主域を持つため鳥類や馬、豚を始めとした様々な哺乳動物に感染する。ウイルス粒子表面にある二つの糖タンパク質のヘマグルチニン（HA）18種類とノイラミニダーゼ（NA）11種類の組み合わせにより抗原性が決まるが、同じ亜型でも宿主動物により抗原性が異なる場合がある²⁾⁵⁾¹¹⁾¹²⁾。牛は初乳、乳汁、血清等の体液や肺にウイルス活性を抑制する成分が含まれているため基本的に抵抗性があり、感染してもその多くは不顕性感染や軽い呼吸器症状を示すのみである。しかし、過去には世界中で発熱、肺炎、泌乳量の急激な低下を示した集団発生例の報告もある¹⁴⁾。

一方、D型は2011年に米国で豚の呼吸器から検出され2016年に国際ウイルス分類委員会（ICTV）に認定された比較的新しいウイルスである⁹⁾。牛を主要宿主とし、健康牛からも遺伝子が検出されるが、特に呼吸器症状を呈する牛から高率に検出されるため、米国では牛呼吸器症候群（bovine respiratory disease complex；BRDC）の主要な原因ウイルスの一つとされている⁸⁾⁹⁾。単独感染の場合、病原性は低く、軽い呼吸器症状を示すのみだが、高い水平伝播能が示唆されている⁹⁾。

今回、牛に感染するインフルエンザウイルスであるA型及びD型について、牛呼吸器病対策の一助とするため、県内飼養牛における浸潤状況を調査したので報告する。

材料と方法

1 供試材料

乳用牛 30 頭以上を飼養する酪農家 38 戸を対象に各 10 頭を抽出し、遺伝子検査に鼻腔スワブ 380 検体を、抗体検査に血清 380 検体を供試した（採材日：令和 6 年 5 月 20 日～11 月 26 日）。

2 検査方法

(1) 遺伝子検査

A型はNP遺伝子、D型はPB1 タンパク質を標的としたRT-PCR検査を行った⁴⁾⁷⁾（表 1）。A型遺伝子が検出された検体は亜型判別PCR検査を行い、HA及びNA亜型判定を行った⁴⁾¹⁷⁾¹⁸⁾（表 2）。

表 1 RT-PCR 検査

型	プライマー	標的
A 型	NP1200f/NP1529r	NP 遺伝子
D 型	PB1-F/PB1-R	PB1 タンパク質

表 2 亜型判別 PCR 検査

亜型	プライマー	標的
H1	H1-550f/H1-1016r	HA 遺伝子
H3	H3-175f/H3896r	
H5	H5-155f/H5-699r	
H7	H7-12f/H7-645r	
N1	N1-54F/N1-298R	NA 遺伝子
N2	N2-59F/N2-336R	

(2) 抗体検査

RDE 法による非特異的血球凝集阻止因子除去処理を行った血清 380 検体について、市販抗原の A/ビクトリア/489/2022（H1N1）、D/bovine/Yamagata（東京大学から分与、国内分離株）と 0.5%鶏血球を用いた赤血球凝集抑制（HI）試験による抗体検査を行なった³⁾⁵⁾¹⁰⁾¹³⁾。なお、A型はHI 価 10 倍以上、D型は 40 倍以上を陽性と判定した。

結果

1 遺伝子検査

A型のPCR検査では、農場は 39.47%（15／38 戸）、個体別では 7.89%（30／380 頭）から A 型特異遺伝子が検出された。A型特異遺伝子が検出された 30 頭は亜型判別PCR検査でH1 亜型 4 検体、H3 亜型 2 検体、H5 亜型 7 検体と判定され、17 検体は判別不可となった。なお、全ての検

体においてN1、N2 亜型は検出されなかった。D型については全ての検体で特異遺伝子は検出されなかった。

2 抗体検査

(1)抗体保有率

A型は全ての農場が抗体陽性（38／38 戸）で、個体別では 85.53%（325／380 頭）の牛が抗体を保有していたが、320 倍以下のH I 価の牛が 6 割を占めていた。

D型は 89.47%（34／38 戸）の農場が抗体陽性となり、個体別では 53.16%（202／380 頭）で抗体を保有し、320 倍以下のH I 価の牛が 9 割を占めていたが、一部で 640、1280 倍と高い抗体価の牛が確認された。

(2)移動歴の有無による抗体陽性率の比較

預託や他農場からの導入等の移動歴がある牛とない牛に区分した、抗体陽性率の比較結果を表 3 に示す。A型では移動歴の有無による抗体陽性率に差は殆どなかったが、D型は移動歴のある牛の抗体陽性率が移動歴のない牛よりも高い傾向にあった。

表 3 移動歴の有無別抗体陽性率

	移動あり（N=234）			移動なし（N=146）		
	陽性	陰性	陽性率（%）	陽性	陰性	陽性率（%）
A 型	204	30	87.18	122	24	83.56
D 型	143	91	61.11	59	87	40.41

(3)農場内飼養歴別抗体価の分布状況

預託や他農場からの導入等移動歴のある牛について、農場内で飼養開始してから 1 年未満、1 ～5 年、6 年以上に区分した抗体価の分布状況を図 1、2 に示す。A型では、飼養開始 1 年未満は 8 割が抗体陰性又は 20 倍だったが、5 年以内に 2 割が陽転又は 40～320 倍へ上昇し、6 年以降は変化がなかった。

一方、D型は飼養開始 1 年未満の半数が抗体陰性だったが徐々に陽転し、6 年以上になると 8 割近くが抗体陽性となった。

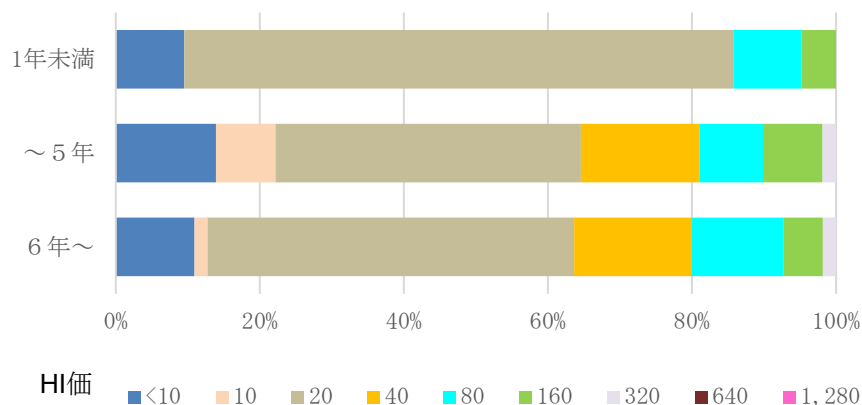


図1 農場内飼養歴別抗体価の分布状況 (A型)

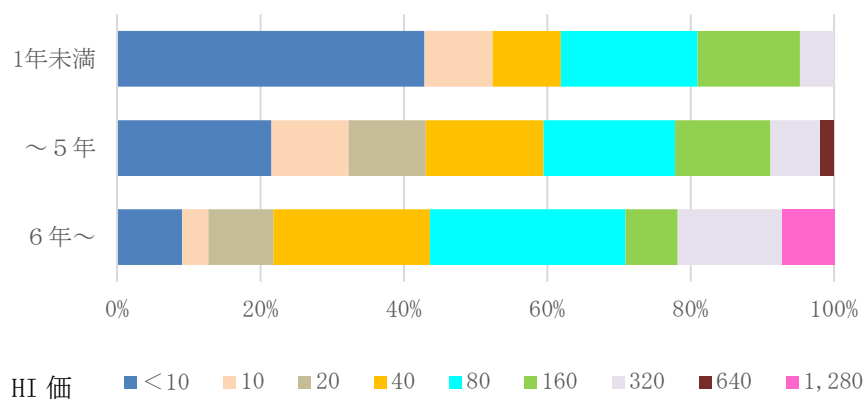


図2 農場内飼養歴別抗体価の分布状況 (D型)

まとめ及び考察

今回、調査対象牛の7.89%からA型遺伝子が検出され、抗体陽性率はA型で85.53%、D型は53.16%と、過去の調査結果であるA型2.5%（H1亜型：1.5%、H3亜型：1%、他亜型：0%）¹⁴⁾、D型26.3~50%³⁾¹⁰⁾¹³⁾よりも高い結果となった。採材時に呼吸器症状や全身症状は認めず、畜主に近年の疾病状況を確認したが視認した呼吸器病の発生はないとのことから、ウイルスは県内に広く浸潤しているものの不顕性感染が主体と考えられた。

また、移動歴の有無による抗体陽性率の比較では、A型では移動歴による差はないもののD型では移動歴のある牛の抗体陽性率が高い傾向にあったこと、A型・D型共に下牧や他農場からの導入後、

農場での飼養開始後に抗体陽性率も抗体価も高くなる傾向があったことから、A型は農場内の人や環境等が感染の要因となったこと、D型は牛の移動に伴い農場内にウイルスが侵入したことが要因として、農場内で感染したものと推察された。D型の抗体陽性率が過去の他県での報告（北海道、青森県、岩手県、茨城県、埼玉県、東京都、岐阜県、宮崎県、鹿児島県）よりも高くなった³⁾¹⁰⁾¹³⁾要因としては、今回の調査農家 38 戸中 31 戸で、移動歴のある牛がいたことが影響したものと考えられる。このことから、都市型酪農である本県では多くの農場で県外預託を行っているため、他の疾病と同様¹⁾¹⁵⁾¹⁶⁾にD型の侵入リスクは高く、牛の生産性を低下させるBRDC対策の一環として、呼吸器病発生時の病性鑑定においてD型を含めた診断が必要と考えられた。

また、A型遺伝子が検出された 30 検体について実施したHA・NAの亜型判別PCR検査では、過去にもウイルス分離報告のあるH1、H3 亜型¹⁴⁾のほか、今回、新たにH5 亜型も検出された。過去に牛から分離されたA型は全て人由来株、人由来近縁株又は豚由来株（H1～3 亜型）であり、人、豚及び鳥がその感染源とされており¹⁴⁾、今回の結果は、近年の人季節性インフルエンザ流行株がH1、3 亜型であることに加え、2003 年以降、野鳥や鶏等ではH5 亜型感染が主流となっていることから、人や動物での近年流行株が影響したものと推察される。

加えて、過去のA型分離数は不明なため比較は出来ないが、今回のA型抗体陽性率が過去の報告である 2.5%¹⁴⁾より高くなった要因として、過去の調査が 1975～1977 年と国内のHPAI未発生時期に行われたこと、近年では死亡野鳥からのHPAIウイルス又はA型検出事例が増加しており、現在は過去の調査時期よりも、環境中のウイルス濃度が高い状況にあることが影響した可能性がある。

近年はHPAIウイルスを保有する渡り鳥が世界各地に直接飛来している状況下であり、米国ではこれを原因とする乳牛での集団発生が多発し、人への感染被害も発生している。最近の報告では、牛は人型と鳥型の両方のウイルス受容体を持つとされており⁶⁾、今回の調査における高いA型抗体陽性率やH5 亜型遺伝子が検出されていることを踏まえると、日本でも牛での集団発生やそれを原因とした人での感染など、米国と同様の事例が起きる可能性は否定できない。また、D型については、人で 18～97%の抗体保有率があり⁹⁾、空港や救急病院室等の環境中から遺伝子が検出された事例があることから¹⁴⁾、A型・D型は共に公衆衛生上の観点においても注視する必要がある。

牛でのA型の集団発生への誘因や、D型の感染経路や日本でのBRDCへの関与についてはまだ未解明な部分が多い。近年は飼料や燃料費の高騰、後継者の担い手不足等から畜産経営を取り巻く状況は厳しく、家畜の生産性を阻害する要因となるBRDCや集団罹患のリスクヘッジを行うことは畜産経営上の点で有効である。そのため、今後も情報を蓄積していき、衛生対策の一助としていきたい。

引用文献

- 1) 病性鑑定指針 平成 27 年 3 月 13 日付消安第 4686 号農林水産省消費安全局通知, 109-111
- 2) 堀本泰介：日本獣医師会雑誌, 第 64 号, 117-183 (2011)
- 3) Horimoto T *et. al.* : PLOS ONE, Doi : journal.pone.0163828 (2016)
- 4) Kishimoto M : J Vet MedSci, 79 (3) , 517-523 (2017)
- 5) 国立感染症研究所「インフルエンザ診断マニュアル第 5 版」 (2023)
- 6) Kristensen C *et. al.* : Emerg Infect Dis, 30 (9) , 1907-1911 (2024)
- 7) Lee M-S *et. al.* : J Virol Methods, 97, 13-22 (2001)
- 8) Mitra N *et. al.* : J Gen Virol, 97 (8) , 1771-1784 (2016)
- 9) 村上晋：ウイルス, 第 67 巻, 第 2 号, 161-170 (2017)
- 10) 村田拓馬ら：令和 3 年度埼玉県調査研究成績報告書（家畜保健衛生業績発表会集録）, 第 63 報, 43-48 (2021)
- 11) 野田岳志：ウイルス, 第 62 巻, 第 2 号, 219-228 (2012)
- 12) 西藤岳彦：日本内科学会雑誌, 第 106 巻, 第 3 号, 415-421 (2017)
- 13) 齋藤豪ら：青森県獣医師会会報, 第 186 号, 17-21 (2021)
- 14) Screenivasan C *et. al.* : Viruses, 11, 561 (2019)
- 15) 高山環ら：平成 24 年度家畜保健衛生業績発表会集録, 第 54 号, 46-56
- 16) 高山環ら：平成 28 年度家畜保健衛生業績発表会集録, 第 58 号, 34-40
- 17) Tsukamoto T *et. al.* : J.Cline.Microbial, 46, 9, 3048-3055 (2008)
- 18) Tsukamoto T *et. al.* : J.Cline.Microbial, 47, 7, 2301-2303 (2009)