

[総説]

ブタインフルエンザと種間伝播

時 吉 幸 男

はじめに

ブタインフルエンザは A 型インフルエンザウイルスによって引き起こされる発熱，食欲廃絶，体重減少などを伴う急性の呼吸器疾患である。群内での伝播性は極めて高いが，致死率は低く一週間程度で多くは回復する。他の呼吸器病原体の二次感染が起きると肺炎などで重症化する傾向にある。ブタインフルエンザウイルスは一年を通して豚の間で伝播しているが，ヒトのインフルエンザと同様に秋後半から冬にかけての流行が多い。国内でのブタインフルエンザの発生報告数は年間数件以内と少ないが，国内での実態は不明な点が多い。

ブタインフルエンザは育成豚の慢性呼吸器病の基礎疾患として家畜異性領域での重要性が指摘される一方，豚は鳥やヒトのインフルエンザウイルスにも感染するため，ヒトの新型インフルエンザウイルスをつくりだす遺伝子再集合の場“mixing vessel”としての役割も演じている。このように，ブタインフルエンザは家畜衛生のみならず，公衆衛生の面からも大いに注目されている。

1. ブタインフルエンザの病因

本病の病因はオルトミタソウイルス科のインフルエンザ A ウイルスである。本ウイルスは径100 nm 前後の球形ないし棒状で，宿主細胞に由来する脂質二重層のエンベロープが遺伝子 RNA を含む直径9 nm の螺旋状ヌクレオカプシドを囲んでいる。ウイルスの遺伝子は1本のマイナス鎖 RNA で，8分節に分かれている。各 RNA 分節には NP, PB1, PB2 および PA とよばれる蛋白が付随している。MI 蛋白はエンベロープのマトリックスとしてウイルス粒子の形態を保持する。M 蛋白遺伝子のスプライシング産物である M2蛋白は，その4重体がエンベロープ貫通蛋白を構成し，イオンチャネルの働きを

担う。エンベロープ表面には赤血球凝集素 (HA) とノイラミニダーゼ (NA) 糖蛋白が突起状に存在する。HA は宿主細胞表面のレセプターに吸着し，ウイルスが細胞内空胞に取り込まれた後に，エンベロープと空胞膜の融合を媒介する。その結果，ウイルス遺伝子が細胞質内に侵入する。NA はシアル酸レセプターを水解する酵素活性を有し，成熟ウイルス粒子が宿主細胞から放出されるときに機能すると考えられている。各分節遺伝子は PB1, PB2 および PA からなる RNA ポリメラーゼ複合体と NP が付随しているので宿主細胞内で独立に転写・複製する。インフルエンザウイルス株名の標記は，WHO (1980) が提案した方法¹⁾に従い，抗原型 / 由来宿主動物種 (ヒトの場合は省略) / 分離された場所 / 株番号 / 分離年 (HA と NA の亜型) の順に，例えば，A/swine/Hokkaido/2/81 (H1N1) のように記載する。

2. ブタインフルエンザの歴史

科学的記録に基づく豚インフルエンザ最初の報告は，1918年8月に米国イリノイ州西部の農場で発生し，その後アイオワ州に流行が広がった事例である²⁾。本症例の臨床症状と病理所見は人のインフルエンザと同様で，流行は瞬く間に米国の中北西部全域に広がった。同じ時期にヒトの間でもスペイン風邪が大流行し，世界中で少なくとも2,000万人以上が死亡した。後年，当時ヒトとブタに流行したインフルエンザウイルスはともに H1N1 で，それらは互いに近縁であることから，人のスペイン風邪ウイルスが豚に伝播し，ブタの間で受け継がれたと推定されている。以来80年間，米国のブタには H1N1 ウイルスによるインフルエンザが毎年発生している。インフルエンザウイルスが豚から初めての分離・同定されたのは1930年に遡る^{3, 4)}。ブタインフルエンザウイルスは複雑な遺伝子背景をもっている。現在の

世界的に主流なウイルスの表面抗原亜型は H1N1, H1N2, H3N2 である。日本の豚群で現在循環している表面抗原亜型は、1918年のスペイン風邪に由来する古典的 H1N1, 1968年の香港風邪に由来する H3N2 及びこれら亜型の遺伝子再集合により生じた H1N2 である。H1N2 亜型は NA 遺伝子以外のすべての遺伝子分節が古典的豚インフルエンザウイルスに由来し、NA 遺伝子のみ A/H3N2 香港風邪ウイルスに由来している。2009年の新型インフルエンザのパンデミック以降は A/H1N1pdm が新たに加わり、現在わが国の豚群には少なくとも 4 亜型のブタインフルエンザウイルスが浸潤している。

3. 種間伝播とブタにおけるリアソータントウイルスの出現

全てのインフルエンザウイルスはもともと鴨などの水禽類由来のウイルスであることがわかっている。これらのウイルスは、ウイルスの HA 遺伝子などの変異の蓄積により、トリ以外の動物種への感染性を獲得し、それぞれの動物種に定着している。感染や増殖に重要な役割を担うウイルス表面タンパクの HA や NA の種類によって、A 型インフルエンザウイルスは多くの亜型に分かれる。HA が 16 種 NA は 9 種わかっており、理論上 146 種の亜型の組み合わせができることになる。トリ、ヒト、ブタなどそれぞれの宿主にはそれぞれの亜型が定着している。例えば、ヒトでは H1 と H3, トリでは H1 ~ H13 (H5 や H7 は高病原性)、ブタでは H1 ~ H3, ウマでは H3 と H7 という定着である。A 型インフルエンザウイルスは本来の感受性動物種内での伝播 (種内伝播) だけでなく、他の動物種との間で伝播 (種間伝播) する場合がある。一般的には、ある動物種の亜型が他の動物種に容易に伝播することはない。その主な理由はウイルスレセプターの違いである。すべてのインフルエンザウイルスの HA は、シアル酸を末端に持つシアルルオリゴ糖をレセプターとして認識する。しかし、トリ型ウイルスとヒト型ウイルス HA の認識するレセプターは異なる。トリ型ウイルスはシアル酸とガラクトースの $\alpha 2, 3$ 結合 (SA $\alpha 2, 3$ Gal) を認識し、ヒト型ウイルスは SA $\alpha 2, 6$ Gal を認識する⁵⁾。しかし、ウイルス HA のレセプター結合部位がトリ型のままヒトやブタに感染する事例が報告されている^{6, 7, 8, 9)}。ブタの器官上皮細胞にはヒト型レセプター (SA $\alpha 2, 6$ Gal) の他にト

リ型レセプター (SA $\alpha 2, 3$ Gal) も発現されていることがわかっている¹⁰⁾。このことより、トリからブタへの種間伝播が起きても何ら不思議なことではない。Kida らは多数のトリ由来 H1 ~ H13 亜型ウイルスに対するブタの感受性を検討し、どの HA 亜型ウイルスのなかにもブタ由来ウイルスと同等以上にブタの呼吸器で増殖する株があることを認めている¹¹⁾。この結果は、これらのうちどの HA 亜型のウイルスも豚の呼吸器で遺伝子再集合体として産生される可能性を示している。

遺伝子再集合は、分節遺伝子を持つウイルスにおいて起こる特有の現象で、インフルエンザウイルスのゲノムが 8 つの分節遺伝子 (PB2, PB1, PA, HA, NP, NA, M, NS の各遺伝子分節) からなっていることに起因する。ブタは、既述のとおりトリ型ウイルスおよびヒト型ウイルスの両方のレセプターを発現している。もし、これらの異なるウイルスが偶然ブタ体内の同一細胞に感染すれば、ウイルス遺伝子が分節化しているため、感染細胞内で遺伝子交雑が起こり、理論上 2 つのウイルスに由来する 2^8 (=256) 通りの新たなウイルスが出現する。遺伝子再集合によって新たに出現するウイルスは、遺伝子再集合ウイルス (リアソータントウイルス) と呼ばれる。以下、これまで報告されているリアソータントの例を紹介する。欧州では、1970年代の後半に野鳥由来の H1N1 亜型ウイルスがブタに侵入して、トリ型豚インフルエンザウイルスが出現した¹²⁾。さらに、ヒト由来の H3N2 亜型ウイルスも豚の中で循環しており、1983-85年の間にそれら 2 種類のウイルスの間での遺伝子再集合体 (人由来の H3 および N 2 亜型の遺伝子とトリ型ブタインフルエンザウイルス由来の 6 つの遺伝子分節) が出現している¹³⁾。一方、北米大陸では 1990 年後半まで古典的ブタインフルエンザウイルスが循環していたが、1997年にはヒト型 H3N2 亜型ウイルスが豚に侵入した。さらに古典的ブタインフルエンザウイルスとヒト型ウイルス、さらには北米大陸型の野鳥由来インフルエンザウイルスの PB2, PA 遺伝子を持つ H1N1 亜型と H3N2 亜型の 2 種類のいわゆるトリプルリアソータントが出現した。また 1999年にはトリプルリアソータント同士のリアソータントと考えられる H1N2 亜型ウイルスが出現している¹⁴⁾。アジア地域では、韓国で豚輸入によると推測されている北米大陸同様のトリプルリアソータントの検出¹⁵⁾ および野鳥由来

H5N2亜型ウイルスの検出が報告されている¹⁶⁾。中国においては、古典的ブタインフルエンザウイルスとヒト型ウイルスとの間のリアソータントであるH3N2亜型¹⁷⁾およびH1N2亜型¹⁸⁾の報告がある。また、鳥型H9N2ウイルスの浸潤も知られており、ヒト型(HA, NA)とトリ型(PB2, PB1, PA, NP, M, NS), およびヒト型(HA, NA)・古典的ブタ型(NP)・トリ型(PB2, PB1, PA, M, NS)のトリプルリアソータント¹⁹⁾の報告がある。さらに、わが国の動物衛生研究所とタイ家畜衛生研究所との共同研究活動により、タイ国において2000-2005年の間に豚より分離されたリアソータントウイルスが9つの遺伝子型に区別されることが報告されている²⁰⁾。

一方、Synyaらは人の呼吸細気管支、肺胞細胞の多くがトリ由来インフルエンザウイルスによって認識されるSA α 2,3Galを発現していること、さらに、ヒトの鼻粘膜の一部の細胞を除き上部気道の上皮細胞ではヒト由来ウイルスによって認識されるSA α 2,6Galしか発現していないことを報告している²¹⁾。これらの事実により、なぜトリインフルエンザウイルスが鳥類からヒトに直接感染して重篤な下部呼吸器障害を引き起こすのか、また、なぜH5N1ウイルスがめったにヒト-ヒト間伝播を引き起こさないのかが説明できる。しかし、H5N1ウイルスの中にはヒトウイルスのレセプターを認識するものが検出されている²²⁾。また、1918~19年にパンデミックをもたらしたスペイン風邪においても、少なくとも初期のスペイン風邪ウイルスは長年考えられてきたようにブタを介してヒトへの感染性を獲得したのではなく、弱毒トリウイルスの突然変異の蓄積によりヒトへの感染性を獲得するようになった可能性が高いとされている²³⁾。Kobasaらは公表されたスペイン風邪ウイルスゲノムの塩基配列情報をもとに、リバースジェネイクスにより人工的にスペイン風邪ウイルスを再現し、そのサル感染試験によりスペイン風邪ウイルスの高病原のメカニズムについて報告している²⁴⁾。種間伝播における宿主域や病原性の変化には、レセプター特異性の変化のみならず、NS1, PB2, PB1-F2なども関与していることがわかりつつある。

4. パンデミック A (H1N1) 2009ウイルスのブタへの浸潤

2009年に新型インフルエンザ(以下 A (H1N1)

pdm) のパンデミックが発生した。カナダ、アルゼンチン及びタイなどでは、A (H1N1) pdm による豚群でのアウトブレイクが報告されている^{25, 26, 27)}。A (H1N1) pdm パンデミック前におけるわが国の豚群で循環している主なブタインフルエンザウイルスは、スペイン風邪に由来する古典的 H1N1, 1968年の香港風邪に由来する H3N2及び両亜型のリアソータントにより生じた H1N2である。A (H1N1) pdm) パンデミック発生以降の国内飼育豚群の流行亜型がどのように変化しているかは不明であった。化血研および熊本保健科学大学の共同チームは、2008~2011年の間の国内飼育豚を対象に大規模な抗ブタインフルエンザウイルス抗体の調査を実施し、わが国の豚群への A (H1N1) pdm の浸潤を確認している^{28, 29)}。以下その概要を紹介する。

調査対象は、A (H1N1) pdm のパンデミックが起きた2009年をはさむ3年間(2008年4月~2011年3月)に採取された国内23県延べ365農場の豚血清(120~240日齢)3,189検体である。まず、A型インフルエンザウイルスの共通抗原を用いてゲル内沈降反応(AGP)による抗A型インフルエンザウイルス抗体要請血清のスクリーニングを実施した。A (H1N1) pdm のパンデミックの2008年4月~2009年3月までのAGP抗体陽性率は8.4%であった。しかし、ヒトでのパンデミックが発生した2009年度のAGP抗体陽性率は21.8%と明らかに上昇し、A (H1N1) pdm が季節性インフルエンザとなった2010年度もAGP抗体陽性率は22.7%と前年度と同様の結果を示している。このように、わが国におけるヒトでのパンデミック発生以降、豚群におけるAGP抗体陽性率が上昇していることが明らかとなった。わが国におけるヒトでのA (H1N1) pdm Aの動きを見ると、2009年5月の渡航歴のないヒトからのウイルス分離を皮切りに一気に国内に広がり、罹患者からの分離・検出は同年11月にピークとなり、翌年3月に終息している。A (H1N1) pdm が終息して季節性インフルエンザとなった2010/11シーズンは、A (H1N1) pdm が11月から再び検出され始め、1月にピークとなり、3月中旬には終息している³⁰⁾。わが国の豚群におけるAGP抗体陽性率の推移は、ヒトにおけるA (H1N1) pdm の動きと連動していた。そこで、AGP陽性検体について、赤血球凝集抑制(HI)試験により血清型を決定した。HI試験に用いた亜型抗原は、A/sw/京都

/3/1979株（以下 H1N1）、A/sw/和田山/5/1969株（以下 H3N2）および A/California/07/2009 (NYMC X-179) 株（デンカ生研）（以下 H1N1pdm）である。3 ヶ月ごとの抗 A (H1N1) pdm 抗体価 (GM 値) は、2009年7～9月期から2010年4～6月期にかけて徐々に上昇した (18.0, 44.9, 148.4及び577.0倍)。その後、2010年7～9月および10～12月期は176.4および91.8倍と低下した。しかし、11月にヒトでの A (H1N1) pdm 流行が再び始まった後の2011年1～3月期のGM値は153.4倍と再び上昇した。一方、H1N1およびH3N2に対するHI抗体価は、2008年4～6月期の測定開始以降一貫して10～20倍と低く推移した。古典的豚インフルエンザウイルス (H1N1) 感染血清は A (H1N1) pdm とは交差するが、しかし、A (H1N1) pdm 感染血清は古典的豚インフルエンザ (H1N1) とは交差しないことが報告されている³¹⁾。今回、2009年10月以降の血清において、A (H1N1) pdm と反応するがH1N1とは反応しないか低値を示す検体が多く認められた。このことから、2009年10月以降の抗 H1N1pdm 抗体の上昇は、我が国の豚群内に A (H1N1) pdm の感染が広がっていたことを示している。また、A (H1N1) pdm の非流行期であった2010年3月以降同年12月までの間、AGP 抗体陽性検体における抗 A (H1N1) pdm 抗体陽性率は80%以上であった。このことは、わが国の豚群への A (H1N1) pdm の定着を示唆している。

今回の調査から、2009年の A (H1N1) pdm の日本国内のヒトでの流行以降、国内飼育豚の抗 A 型インフルエンザに対する AGP 抗体陽性率は上昇し、その原因は A (H1N1) pdm の感染であることが示された。また、2010/11年シーズンにおけるヒトでの A (H1N1) pdm の流行とともに、国内飼育豚の A (H1N1) pdm に対する HI 抗体価 (GM 値) が再上昇していることから、豚への A (H1N1) pdm の感染源はヒトであることが推察される。今後、ヒトの中で変異している A (H1N1) pdm が豚群に侵入する可能性が考えられる。国内の2011/12シーズンではヒトにおける A (H1N1) pdm の動きはほとんどなく、H3亜型ウイルス (香港型) が流行している。豚群における今後の亜型は、A (H1N1) pdm からヒト由来の H3亜型ウイルスへと置き換わるのか、それとも豚群に定着していると考えられる A (H1N1) pdm にヒト由来の H3亜型、もともと

豚群に存在する H1N1およびH3N2亜型などが遺伝子交雑をおこし、新たなマルチリアソータントが出現するのか注視していく必要がある。

2011年、米国の豚群から A (H1N1) pdm, H1N1 および H3N2のマルチリアソータントウイルスが検出されている³²⁾。更に、同年9月には A (H1N1) pdm の M 遺伝子を持ったブタ由来 H3N2ウイルス (H3N2v) がヒトから検出されている³³⁾。この H3N2v は幸いにも未だヒト-ヒト伝播する適応性を獲得していないようである。わが国の豚群の中でもすでに新たなリアソータントウイルスが出現しているのかもしれない。

おわりに

ブタは新型ウイルス出現に関わるいわゆる Mixing vessel である。H1N1pdm の病原性は幸いにも季節性インフルエンザ並みであったが、今後 H5N1のような抗病原性を保持したままヒト-ヒト伝播するリアソータントの出現が懸念されている。このような背景から、継続的な豚インフルエンザウイルスのモニタリングの重要性が指摘されている。

引用文献

1. WHO: A revision of the system of nomenclature for influenza viruses: a WHO memorandum. Bull Wld Health Org 58: 585-591, 1980.
2. Dorset M, McBryde CN, Niles WB.: Remarks on "hog flu". J Am Vet Assoc 62: 162-71, 1922.
3. Shope RE.: Swine influenza: I. Experimental transmission and pathology. J Exp Med 54: 349-59, 1931.
4. Shope RE.: Swine influenza: III. Filtration experiments and etiology. J Exp Med 54: 373-85, 1931.
5. Rogers GN, Pritchett TJ, Lane JL et al.: Differential sensitivity of human, avian, and equine influenza A viruses to a glycoprotein inhibitor of infection: Selection of receptor specific variants. Virology 131: 394-08, 1983.
6. Kida H, Shortridge KF, Webster RG.: Origin of the hemagglutinin gene of H3N2 influenza viruses from pigs in China. Virology 162: 160-66, 1988.

7. Yasuda J, Shortridge KF, Shimizu Y et al.: Molecular evidence for a role of domestic ducks in the introduction of avian H3 influenza viruses to pigs in southern China, where the A/HongKong/68(H3N2) strain emerged. *J Virol* 72: 2007-10, 1991.
8. Karasin AI, West K, Carman S, et al.: Characterization of avian H3N3 and H1N1 influenza A viruses isolated from pigs in Canada. *J Clin Microbiol* 42:4349-54, 2004.
9. Karasin AI, Brown IH, Carman S et al.: Isolation and Characterization of H4N6 Avian Influenza Viruses from Pigs with Pneumonia in Canada. *J Virol* 74: 9322-27, 2000.
10. Ito T, Couceiro JN, Kelm S et al.: Molecular basis for the generation in pigs of influenza A viruses with pandemic potential. *J Virol* 72: 7367-73, 1998.
11. Kida H, Ito T, Yasuda J et al.: Potential for transmission of avian influenza viruses to pigs. *J Gen Virol* 75: 2183-88, 1994.
12. Van Reeth K, Nauwynck H, Pensaert M.: Dual infections of feeder pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus followed by porcine respiratory coronavirus or swine influenza virus: a clinical and virological study. *Veterinary Microbiology* 48: 325-35, 1996.
13. Castrucci MR, Donatelli I, Sidoli L et al.: Genetic Reassortment between Avian and Human Influenza A Viruses in Italian Pigs. *Virology* 193: 503-06, 1993.
14. Olsen CW.: The emergence of novel swine influenza viruses in North America. *Virus Res* 85:199-10, 2002.
15. Pascua PN, Song MS, Lee JH et al.: Seroprevalence and genetic evolutions of swine influenza viruses under vaccination pressure in Korean swine herds. *Virus Res* 138: 43-49, 2008.
16. Lee JH, Pascua PN, Song MS et al.: Isolation and genetic characterization of H5N2 influenza viruses from pigs in Korea. *J Virol* 83: 4205-4215, 2009.
17. Nerome K, Kanegae Y, Shortridge KF et al.: Genetic analysis of porcine H3N2 viruses originating in southern China. *J Gen Virol* 76:613-24, 1995.
18. Qi X, Lu CP. Genetic characterization of novel reassortant H1N2 influenza A.
19. Yu H, Hua RH, Zhang Q, et al.: Genetic evolution of swine influenza A (H3N2) viruses in China from 1970 to 2006. *J Clin Microbiol* 46: 1067-75, 2008.
20. Takemae N, Parchariyanon S, Damrongwatanapokin S et al.: Genetic diversity of swine influenza viruses isolated from pigs during 2000 to 2005 in Thailand. *Influenza and Other Respiratory Viruses* 2: 181-89, 2008.
21. Shinya K, Ebina M, Yamada Set al.: Influenza virus receptors in the human airway. *Nature* 440: 435-436, 2006.
22. Altiok E, Taylan F, Yene OS et al.: Mutations in influenza A virus (H5N1) and possible limited spread, Turkey, 2006. *Emerg Infect Dis* 14: 491-2, 2008.
23. Taubenger JK, Reid AH, Janczewski TA et al.: Integrating historical, clinical and molecular genetic data in order to explain the origin and virulence of the 1918 Spanish influenza virus. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 356: 1829-39, 2001.
24. Kobasa D, Jones SM, Shinya K et al.: Aberrant innate immune response in lethal infection of macaques with the 1918 influenza virus. *Nature* 445: 319-23, 2007.
25. Howden KJ, Brockhoff EJ, Caya FD et al.: An investigation into human pandemic influenza virus (H1N1)2009 on an Alverta swine farm. *Can Vet J* 50: 1153-61, 2009.
26. Pereda A, Cappuccio J, Quiroga MA, et al: Pandemic (H1N1) 2009 outbreak on pig farm, Argentina. *Emerg Infect Dis* 16: 304-07, 2010.
27. Sreta D, Tantawet S, Na Ayudhya SN et al.: Pandemic (H1N1) 2009 virus on commercial swine farm, Thailand. *Emerg Infect Dis* 16: 1587-90, 2010.
28. 長尾和哉、楯田隼希、酒井梨花、田中咲穂:

- 2008年から2010年の国内飼育豚における新型インフルエンザ A (H1N1) ウイルス抗体保有状況. 第151回日本獣医学界学術集会抄録集: 232, 2011.
29. 長尾和哉: 新型インフルエンザウイルス A (H1N1) ウイルスのブタにおける浸潤状況. 化血研所報黎明21: 52-57, 2012.
30. 国立感染症研究所感染症情報センター: 「インフルエンザウイルス分離・検出状況」. <http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr-inf.html>
31. Garten RJ, Davis CT, Russell CA et al.: Antigenic and genetic characteristics of swine ?origin 2009 A(H1N1) influenza viruses circulating in humans. *Science* 325: 197-201, 2009.
32. Ducatez MF, Hause B, Stigger-Rosser E et al.: Multiple reassortment between pandemic (H1N1) 2009 and endemic influenza viruses in pigs, United States. *Emerg Infect Dis* 17: 1624-29, 2011.
33. Lindstrom S, Garten R, Balish A et al.: Human infections with novel reassortant influenza A(H3N2)v viruses, United States, 2011. *Emerg Infect Dis* 18: 834-7, 2012.

(平成25年1月31日受理)