

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K14995

研究課題名（和文）養豚場における豚インフルエンザウイルスの感染流行動態の解明

研究課題名（英文）Epidemic Dynamics of Swine Influenza Virus Infections in Pig Farms

研究代表者

奥谷 公亮（Okuya, Kosuke）

鹿児島大学・農水産獣医学域獣医学系・助教

研究者番号：10907736

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、ロープを用いて豚から口腔液を採材する手法を確立した。また、咳やくしゃみの呼吸器症状の臨床スコアを評価し、各病原体と臨床症状の関連性を調べた。豚インフルエンザウイルス（SIV）の分離を試みたところ、H1N1亜型とH1N2亜型のSIVをそれぞれ1株分離に成功し、2株のH1N2亜型のSIV遺伝子が検出された。咳の臨床スコアが上昇する直前にSIV遺伝子が検出されたことから、SIVが早期の呼吸器症状の原因となり得ることが示唆された。SIVの様々な系統のウイルスに対する中和抗体価を測定したところ、保有する抗体の種類や抗体価の違いから、複数のSIVが1農場で流行することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

豚インフルエンザは、豚呼吸器複合病（PRDC）の原因となるだけでなく、人獣共通感染症でもある。2009年にはパンデミックを引き起こし、現在も養豚場の豚から新たな遺伝子再集合体が分離されている。しかしながら、養豚場内におけるSIVの感染伝播様式は未だ分かっておらず、豚インフルエンザウイルス（SIV）感染を制御できていない現状がある。本研究では、口腔液を検体とした簡易なSIV分離法を新たに確立し、養豚場内におけるSIVの流行動態を把握した。さらに、豚の口腔液中に含まれるウイルスおよび細菌の遺伝子量を定量することで、PRDC発症のリスク評価として口腔液の有用性を検証した。

研究成果の概要（英文）：We established a method for collecting oral fluids from pigs using ropes. We also evaluated the clinical scores of respiratory symptoms such as coughing and sneezing, investigating the relationship between various pathogens and clinical symptoms. In this study, swine influenza viruses (SIVs) of H1N1 and H1N2 subtypes were isolated, and two H1N2 subtype SIVs were detected. The detection of SIV genes just before the clinical score for coughing increased suggests that SIV may be a cause of early respiratory symptoms. Measuring the neutralizing antibody titers against various strains of SIV revealed that different types and levels of antibodies were present, indicating that multiple SIV strains can circulate within a single farm.

研究分野：ウイルス学

キーワード：豚インフルエンザウイルス 豚呼吸器複合病 豚サーコウイルス 豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス

1. 研究開始当初の背景

豚呼吸器複合病 (PRDC) は、ウイルスや細菌など複数の病原体により、豚が呼吸器病を示した状態を指す。豚の多頭飼養化が進んでいる近年、PRDC による経済被害は養豚業において最も甚大であり、農場内における感染症制御は喫緊の課題となっている。豚インフルエンザウイルス (SIV) は、PRDC の主要な原因ウイルスの一つである。SIV は、A 型インフルエンザウイルスに属し、8 本の分節 RNA をゲノムに持つ。一頭が複数の SIV 株に同時に感染・保有した場合、遺伝子再集合により、新たな性状を持つ変異体が発現する。また、豚インフルエンザは人獣共通感染症であり、2009 年には遺伝子再集合で生じた SIV がパンデミックを引き起こした。そのため、SIV は動物衛生および公衆衛生の両面において極めて重要な病原体の一つである。現在、2009 年に出現したパンデミックウイルス (pdm2009) 系統のウイルス株が人および豚で世界的に流行している。日本国内の豚では、pdm2009 系統の SIV が大部分を占める一方、古典的 SIV (H1N2 亜型) および人季節性 SIV (H3N2 亜型) も流行していることが分かっている。しかしながら、農場内で異なる系統の SIV が交互に流行しているのか、もしくは同一系統の SIV が抗原性を変えながら流行しているのか等、養豚場内における SIV の流行動態は分かっていなかった。

2. 研究の目的

養豚場の豚から SIV を分離し、その遺伝的特性および抗原性を解析することで、養豚場における SIV 感染流行動態を明らかにすること。

3. 研究の方法

(1) 豚の口腔液からの SIV 分離法の確立

従来、豚の鼻腔スワブからの SIV 分離が主流であったが、鼻腔スワブを採取する際には保定が必要のため、豚と農家の方の両者に負担のかかる作業であり、頻繁な検体採取は難しい。そこで、採材に負担の小さい口腔液検体からのウイルス分離を試みた。豚舎内にロープを設置すると、豚はロープを噛んで遊ぶため、口腔液がロープに染み、検体を容易に回収できた。口腔液に赤血球を混合し、HA の働きにより、赤血球に結合した SIV を濃縮し、培養細胞に接種した。

(2) PRDC の原因となるウイルスの遺伝子解析

豚口腔液に含まれる SIV、豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス (PRRSV)、および豚サーコウイルス 2 型 (PCV2) の遺伝子検出を実施した。また、SIV 分離株の各遺伝子分節を PCR 法にて増幅し、ナノポアシーケンサー Flongle を用いて、塩基配列を決定した。

4. 研究成果

本研究では、ロープを用いて豚から口腔液を採材する手法を確立した。離乳豚舎における複数の豚群の口腔液を毎週回収した。さらに、咳やくしゃみの呼吸器症状の臨床スコアを評価し、各病原体と臨床症状の関連性を調べた。SIV の分離を試みたところ、H1N1 亜型と H1N2 亜型の SIV がそれぞれ 1 株分離され、2 株の H1N2 亜型の SIV 遺伝子が検出された。咳の臨床スコアが上昇する直前に SIV 遺伝子が検出されたことから、SIV が早期の呼吸器症状の原因となり得ることが示唆された。また、PCV2 と PRRSV が口腔液中から検出される前に SIV が検出されたことが

ら、SIV 感染が PRDC の原因ウイルスの感染の発端になっている可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kosuke Okuya , Mana Esaki , Kaori Tokorozaki , Taichi Hasegawa , Makoto Ozawa	4. 巻 109
2. 論文標題 Isolation and genetic characterization of multiple genotypes of both H5 and H7 avian influenza viruses from environmental water in the Izumi plain, Kagoshima prefecture, Japan during the 2021/22 winter season	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 102182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cimid.2024.102182	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Mitarai Sumire, Okuya Kosuke, Miyane Kazuhiro, Miyamoto Machiko, Ishikawa Shingo, Kawaguchi Hiroaki, Hatazoe Itaru, Suda Yasuo, Arima Eriko, Nakazato Hiroshi, Hobo Seiji, Masatani Tatsunori, Ozawa Makoto	4. 巻 168
2. 論文標題 Genetic characterization of bovine respiratory syncytial viruses in Japan between 2017 and 2019	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Archives of Virology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00705-022-05670-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kojima Isshu, Onomoto Koji, Zuo Wenjie, Ozawa Makoto, Okuya Kosuke, Naitou Kiyotada, Izumi Fumiki, Okajima Misuzu, Fujiwara Takuro, Ito Naoto, Yoneyama Mitsutoshi, Yamada Kentaro, Nishizono Akira, Sugiyama Makoto, Fujita Takashi, Masatani Tatsunori	4. 巻 96
2. 論文標題 The Amino Acid at Position 95 in the Matrix Protein of Rabies Virus Is Involved in Antiviral Stress Granule Formation in Infected Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e810-822
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/jvi.00810-22	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Harima Hayato, Okuya Kosuke, Kajihara Masahiro, Ogawa Hirohito, Simulundu Edgar, Bwalya Eugene, Qiu Yongjin, Mori Kajihara Akina, Munyeme Musso, Sakoda Yoshihiro, Saito Takehiko, Hang'ombe Bernard M., Sawa Hirofumi, Mweene Aaron S., Takada Ayato	4. 巻 69
2. 論文標題 Serological and molecular epidemiological study on swine influenza in Zambia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Transboundary and Emerging Diseases	6. 最初と最後の頁 e931-e943
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tbed.14373	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okuya Kosuke, Hattori Takanari, Saito Takeshi, Takadate Yoshihiro, Sasaki Michihito, Furuyama Wakako, Marzi Andrea, Ohiro Yoichi, Konno Satoshi, Hattori Takeshi, Takada Ayato	4. 巻 10
2. 論文標題 Multiple Routes of Antibody-Dependent Enhancement of SARS-CoV-2 Infection	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microbiology Spectrum	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/spectrum.01553-21	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計3件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Nguyen Van Diep, 早川結子, 石川真悟, 川口博明, 隅田泰生, 奥谷公亮, 小澤真
2. 発表標題 ブタ肺胞マクロファージ由来培養細胞株の樹立と豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス研究への応用
3. 学会等名 第166回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 播磨勇人, 奥谷公亮, 梶原将大, 小川寛人, Edgar Simulundu, Eugene Bwalya, 邱永晋, 迫田義博, 西藤岳彦, Hang'ombe Bernard, 澤洋文, Aaron Mweene, 高田礼人
2. 発表標題 ザンビアにおけるブタインフルエンザの疫学調査
3. 学会等名 第166回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 奥谷公亮
2. 発表標題 環境水を対象にした鳥インフルエンザ疫学調査法の構築
3. 学会等名 第166回日本獣医学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関