

○黒木雅彦、池森 豊、横山英明、ロバート・ベラルタ、児玉義勝(岐阜免疫研)

演者らは、毒素原性大腸菌の絨毛抗原で免疫することにより得たニワトリ卵黄中のIgG抗体が、新生豚 (Infect. Immun. 1992) と新生牛 (Am. J. Vet. Res. 1992) の下痢症に有効であることを報告してきた。今回、演者らは、ウシロタウイルスのシマネ株(血清型6)およびKK-3株(血清型10)に対するニワトリ卵黄IgGを作製し、マウス感染モデルを用いて経口受動免疫による下痢予防効果について解析した。

MA-104細胞を用いて培養したシマネ株またはKK-3株をそれぞれアジュバントと混合し産卵鶏を免疫して抗体含有卵を得た。これらの免疫鶏卵黄からクロロホルム抽出、硫酸塩析によりIgGを精製し、抗シマネ株IgGおよび抗KK-3株IgGとした。生後7日齢の乳のみマウス(CD-1)に抗シマネ株IgGまたは抗KK-3株IgGを1回経口投与し、3時間後に $10^{7.5}$ TCID₅₀のシマネ株または、 $10^{7.0}$ TCID₅₀のKK-3株を経口で攻撃した。攻撃後7日間観察し、下痢の発生の有無、腸管からのウイルス回収ならびにABC法による腸管内ウイルス抗原の検索、腸管の病理変化、およ

び回復期の血清中和抗体の産生について検討した。

各ウイルス株に対する中和抗体価640倍の卵黄IgGを投与したそれぞれの乳のみマウス群は、ホモのシマネ株またはKK-3株の攻撃に対してそれぞれ100% (12/12)、83% (10/12)の下痢を防御できた。作製した両卵黄IgG間には、低いながらも交差反応が認められ、異なる血清型間でも交差防御が成立したが、約100倍量のIgGを必要とした。しかし、攻撃ウイルスと投与IgGの免疫抗原が同一株の場合、また同一でない場合(交差防御)においても有意な下痢予防効果(P<0.05)は、攻撃ウイルス株に対して160倍以上の中和抗体価のIgG投与マウス群で認められた。小腸上皮における抗原検出や萎縮病変の程度、および回復期における血清中和抗体産生の程度なども投与IgGの中和抗体価に相関して減弱した。以上の結果からウシロタウイルス下痢症にも卵黄IgGは予防効果があり、下痢予防には投与卵黄IgGの攻撃ウイルス株に対する中和抗体価が重要であることが示唆された。

○今川 浩・関口喜一・福永昌夫・鎌田正信 (JRA総研・栃木)

(目的) 疫学的研究により、ウマロタウイルス(HRV)は血清型G3が主体を占めること、またG3のelectropherotype(ET)は4型(A~D型)に分類され、主にC型のウイルスがわが国の馬群に長期にわたり伝播している事を明らかにし、更にG5及びG10のウイルスも1株ずつ分離された事を第110回の本学会で報告した。これらの事実からプロトタイプであるHO-5(G3, ET-C型)がワクタン株として有望である事を示唆した。一方、HRVの分離株がこのHO-5と遺伝子レベルでどの程度の相同性をもっているかについては全く不明である。そこで、本研究ではHRVのgenogroupを明らかにするため、遺伝子レベルにおける相同性について検討した。なお、この研究から得られる情報はHRVのワクタン開発上極めて重要なものである。

(材料と方法) 用いたウイルスはすべてHRVであり、国内由来として1981年から1989年にかけて分離されたG3でありET-A型のHI-23、ET-B型のR-3、ET-C型のHO-5、R-14、R-17、R-25、R-39、R-112とSH-52、ET-D型のR-13、計10株であった。またG5のR-118とG10のR-22及び英国由来株のG3のBIを用いた。HO-5のmessenger R

NAの³²P標識プローブを用いて、各々のウイルスゲノムRNAとハイブリダイゼーションを試みた。

(成績と考察) HO-5プローブに対して用いたすべての株がhybridを形成したが、血清型およびETの違いによりhybridしたバンドの数に明瞭な違いがあった。すなわち、ET-C型のすべての株とR-13(ET-D)は1本のバンドすべてのgeneが、またET-A型のHI-23、ET-B型のR-3及びBIは7~9 geneがそれぞれhybridを形成した。一方、G5及びG10のR-118とR-22は2 geneがhybridを形成したにすぎなかった。これらの成績から、G3のHRVは共通したgenogroupを構成しており、またET-CとD型のHRVは極めて高いgeneの相同性を保有している事が明らかとなった。更に、G5及びG10のHRVはG3のHRVとは異なるgenogroupに属する事が示唆された。

本研究は、中込 浩¹、石田真一²(秋田大・微生物¹、秋田大・医・臨床検査医学²)との共同研究である。

望月雅美 (鹿大・農・獣医)

A群ロタウイルス(以下、ロタウイルス)はヒトをはじめ各種動物のウイルス性急性下痢症の主要病因因子である。イヌとネコの臨床上的重要性はヒトや産業家畜に比べて低く、分離株数もきわめて少ないが、血清疫学的調査はこれらの動物種に広範に分布していることを示唆している。さらにヒトの感染源としての危険性を指摘する成績があり、公衆衛生上も考慮に値する。

国内・外のイヌロタウイルス(CRV:RS15, CU-1, K9, Aichi/216株)とネコロタウイルス(FRV:FRV-1, Cal2, FRV64, Cal97株)、合計8株のG serotype抗原性とFRV64株のVP4 geneの性状を調べ、その特徴を考察した。

総てのCRV株とFRV株はブラック減数中和試験とRT-PCR based G typing assayでG3 serotypeの特異性を示した。しかし、相互の中和抗原関連性から、FRV株は2つのsubtype, G3A (FRV-1

とCal2)とG3B (FRV64とCal97)に分けられ、CRV株は総てG3Bであった。対照に用いたヒトG3ロタウイルス(MO, YO, AU-1, AU228株)はG3A、サルG3ロタウイルス(SA11, RRV株)はG3Bに近似していた。

一方、FRV64株VP4 geneのヌクレオチド配列とアミノ酸配列を既知ウイルス株と比較したところ、FRV-1株(P9 type)とはP typeが異なっており、FRVには少なくとも2つ以上のP typeが存在することが明らかとなった。また、FRV64株の血球凝集(HA)抗原性は、HA性ロタウイルスNGOV株とRRV株・SA11株の間型と推定された。(本内容は秋田大学医学部の中込 浩、中込 とよ子、大阪大学微生物病研究所の伊勢川 裕二、上田 重晴との共同研究の一部である)