

## ヒトスジシマカのアカバネウイルス媒介能試験

坂口 実・山下 伸夫\*・斉藤 久孝\*\*・千葉 伸\*\*

(富山県畜産試験場・\*東北農業試験場・\*\*盛岡家畜保健衛生所)

Transmission Test of Akabane Virus by *Aedes albopictus*

Minoru SAKAGUCHI, Nobuo YAMASHITA\*, Hisataka SAITO\*\* and Shin CHIBA\*\*

( Toyama Prefectural Livestock Experiment Station・\*Tohoku National  
Agricultural Experiment Station・\*\*Morioka Livestock Hygiene Service Center )

### 1 はじめに

アカバネ病は、牛、羊などの家畜生産に壊滅的被害を及ぼすウイルス病で、吸血昆虫が媒介すると言われている。媒介種としてウイルス保持能等でウシヌカカ (*Culicoides oxystoma*) が有力とされているが<sup>3)</sup>、感染実験等の実証的試験は行われていない。またこの種が分布していない地域でも<sup>1)</sup> 大流行が見られたことから<sup>4)</sup>、この種以外のベクターの存在が考えられる。ベクター種の特定においては感染試験での実証が決定的な意味を持つ。本研究では、感染試験手法の確立のため、吸血昆虫が活動していない晩秋期に分娩された子牛を用いて初乳摂取後の移行抗体価の推移を調べ、東北地域での感染試験用動物としての可能性を調べるとともに、移行抗体価が検出限界以下になった子牛に対するヒトスジシマカ (*Aedes albopictus*) の吸血によるアカバネウイルス感染実証実験を、ヤブカによる吸血実験において有効性を示したネットケージを用いて行った。

### 2 試験方法

#### (1) 供試牛

東北農試で1993年10~11月に分娩された日本短角種7頭(2組の双子を含む)及び黒毛和種(6頭)の子牛で、これらの子牛の母牛はアカバネウイルス生ワクチン接種歴のある経産牛であった。分娩された子牛は初乳摂取後親から離して人工哺乳で個別飼育した。

#### (2) 供試ベクター

マウスを吸血源として継代飼育したヒトスジシマカの成熟雌成虫を、24℃、16時間明、8時間暗の日長条件で飼育した。ウイルス感染蚊としては、ウイルス混合血を吸血させ、吸血途中に未飽血のまま吸血管を用いて採集したあと、2日間給水のみ行った個体を用いた。

#### (3) アカバネウイルス株及び検査法

JaGAR-39 (titer ;  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml) を使用し、吸血用のウイルス混合血は、アカバネウイルス抗体陰性の凍結羊血9 mlに、2 mlのウイルス液を混合したものである。抗体検査は、Vero細胞を用いた中和試験をマイクロタイター法により行った。ウイルスは、試験管にシートさせたVero細胞に蚊をすりつぶした乳剤を接種して、CPEを指標に検出した。

#### 1) 晩秋期分娩子牛の初乳摂取後における移行抗体価推移

分娩後48時間以内の子牛から初乳摂取を確認の後、採血し、同時に母牛からも採血し、それぞれ血清を分離して-30℃に保存した。その後、子牛のみ1カ月おきに採血し、得られた血清中の抗体価を測定した。

#### 2) ヒトスジシマカの吸血によるウイルス感染試験

1)の結果から、4カ月齢(平均体重; 120kg)までに抗体価が検出限界以下(<2)と判定された6頭(日本短角種4頭、黒毛和種2頭)を、各実験群に供試した。94年3月に、24℃恒温に保った人工照明室内にネットケージを設置しその中に子牛を係留した。2日前にウイルス混入血を中途吸血させた未飽血の100頭のヒトスジシマカをケージ内に1時間放飼した後、吸血管で回収し吸血個体数をカウントした。実験群は①ウイルスフリー中途吸血蚊による吸血(negative control)、②ウイルス皮下接種(positive control)、③ウイルス中途吸血蚊による吸血(Test)の3群とした。吸血感染実験あるいは皮下接種後の子牛は、1週間間隔で4週間抗体検査用に血清を、7日間毎日ウイルス検出用にヘパリン血を採取した。放飼1時間後に回収した蚊は、総個体数と再吸血個体数を調べた後、ウイルス検出に供した。

### 3 試験結果及び考察

表1に子牛の分娩後の移行抗体価の推移を示した。供試した13頭中6頭では、4カ月齢までに移行抗体が検出限界以下となった。これにより10~11月の晩秋期にアカバネウイルス接種歴のある母牛から分娩された子牛のほぼ半数は、東北地域で吸血昆虫が活動し始める前の4カ月齢時で、アカバネウイルスの媒介昆虫を調べるための実験動物として利用可能となることが示された。

吸血試験後の抗体価の推移は、表2に示すようにウイルス皮下接種群のみで接種7日後から抗体価の上昇が見られた。吸血(接種)試験後のウイルス症については、供試したすべての子牛で陰性であった。中途吸血させた未飽血蚊を用いた感染実験の結果、ヒトスジシマカのアカバネウイルス媒介能については実証できなかった。今回用いたアカバネウイルス株はJaGAR-39株であり、この株は子牛へのウイルス直接投与による感染試験の結果では、OBE-

表 1 分娩後の子牛の血清中移行抗体価の推移

子牛 No.*	抗 体 価						
	母牛	～48時間	1ヶ月	2ヶ月	3ヶ月	4ヶ月	5ヶ月**
日本短角牛							
N505 (♂)	32	16	16	8	4	2	<2
N506 (♀)	32	8	8	2	4	<2	N-Cont
N507 (♂)	16	2	2	2	<2	<2	Test
N508 (♂)	16	8	2	2	<2	<2	P-Cont
N509 (♂)	8	8	2	2	<2	<2	Test
N510 (♂)	8	16	16	8	4	4	4
N511 (♀)	16	64	32	16	16	16	16
黒毛和牛							
B515 (♀)	16	8	4	4	2	2	2
B516 (♂)	16	16	32	8	4	4	4
B517 (♂)	8	16	8	8	4	4	4
B518 (♂)	4	4	2	2	<2	<2	N-Cont
B519 (♂)	16	8	4	4	2	<2	P-Cont
B520 (♂)	16	64	16	16	16	16	8

注. \*: N505とN506, 及びN507とN508は双子

\*\* : N-Cont はウイルスフリー蚊による吸血群, P-Cont はウイルス皮下接種群, Test はウイルス取込み中途吸血蚊による吸血群として供試

表 2 感染試験後の抗体価の推移

実験群**	子牛No.*	抗 体 価				
		試験前	7日後	14日後	21日後	28日後
N-Cont	N506	<2	<2	<2	<2	<2
	B518	<2	<2	<2	<2	<2
P-Cont	N508	<2	<2	8	8	8
	B519	<2	2	4	4	8
Test	N507	<2	<2	<2	<2	<2
	B509	<2	<2	<2	<2	<2

注. \*, \*\*表 1 参照

表 3 放飼した蚊の再吸血率

実験群**	子牛No.*	回収個体数	吸血個体数	非吸血個体数	吸血率(%)
N-Cont	N506	55	36	19	65.5
	B518	76	46	32	60.5
Test	N507	94	53	41	56.4
	N509	91	36	55	39.6

注. \*, \*\*表 1 参照

1 株, R7949株に比べ感染性が弱いことが示されている<sup>2)</sup>。蚊を介した感染試験に用いるウイルス株の選択については一層の吟味が必要であると考えられた。またアカバネウイルスはヒトスジシマカの頭胸部から検出されるものの、唾液腺には移行していなかった可能性が考えられる。また、ウイルスが唾液腺に移行していたとしても、1回の吸血試験に供試した中途吸血蚊の頭数が少なかったことも考えられる。このため、唾液腺内ウイルスの定量と感染所要ウイルス量を算定したうえで蚊の個体数を設定することなどが必要である。

放飼1時間後に回収した蚊は表3に示すように、放飼個体の55～94%が回収され、このうち約40～65%の個体が吸血していた。吸血した蚊からアカバネウイルスが検出され、ウイルス混合血の吸血でウイルスが虫体内に取り込まれて

いることが確認できた。

使用ウイルス株、放飼個体数等の面でさらに改良すべき点はあるが、晩秋期に分娩された子牛と試作ネットケージを用いる方法は、吸血昆虫によるアカバネウイルス媒介能の感染試験法として有用であると考えられた。

#### 4 ま と め

媒介昆虫が依然特定できていない家畜の重要疾病アカバネ病の感染実証試験をヒトスジシマカを対象に行った。アカバネウイルスワクチン接種歴のある母牛に晩秋期に生ませた子牛は、約半数が生後4ヶ月で抗体陰性となり、供試用牛として利用できた。感染実験はウイルス混合血を取り込ませた蚊に供試牛を吸血させて行ったが抗体価の上昇は認められず、ヒトスジシマカのアカバネウイルス媒介は実証できなかった。使用ウイルス株、蚊の個体数等の面から改良すべき余地は多いが、試みた感染実験法はヤブカ類によるウイルス媒介試験に有用であると考えられた。

#### 引 用 文 献

- 1) 北岡茂男. 1963. 日本産ヌカカ属の分布に関する知見. 家衛試研報 46 : 45-51.
- 2) Kurogi, H. ; Akiba, K. ; Inaba, Y. 1987. Isolation of Akabane Virus from the Biting Midge *Culicoides oxystoma* in Japan. Vet Microbiol. 15 : 243-248.
- 3) 黒木 洋, 稲葉右二, 高橋英司. 1977. アカバネウイルスによる子牛の感染試験. 家衛試研報 75 : 1-8.
- 4) 大池裕治, 吉田欣也, 南野久晃. 1988. 1985年から1986年にかけて岩手県に多発したアカバネ病. 日獣会誌 41 : 246-250.