

## 豚熱ウイルスの抗体検出用簡易キットを日韓共同で開発

～豚熱のマーカーワクチン使用時における野外ウイルスの流行を把握することに貢献～

### ポイント

- ・豚熱ウイルスの二つの糖タンパク質に対する抗体を一度に検出する簡易キットの開発に成功。
- ・豚の血液から、高額な機器を使うことなく肉眼で、豚熱ウイルスの抗体を15分で検出可能。
- ・豚熱のマーカーワクチン接種豚と野外ウイルスの感染を識別する技術として期待。

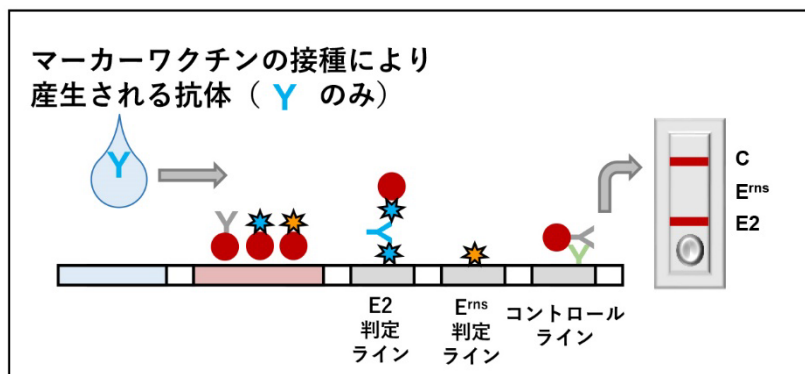
### 概要

北海道大学大学院獣医学研究院の迫田義博教授らの研究グループは、豚熱ウイルスの感染やワクチン接種時に産生される抗体を識別する簡易キット（免疫クロマトグラフィーテストストリップ\*1）を韓国のバイオアプリケーションズ社と共同開発しました。

この簡易キットには、植物（ベンサミアナタバコ）中で人工合成した豚熱ウイルスのE2蛋白質とE<sup>rns</sup>蛋白質が使用されており、豚の体内で産生されたE2蛋白質とE<sup>rns</sup>蛋白質に対する抗体をそれぞれ肉眼で検出することに成功しました。開発された抗体検出簡易キットに豚熱野外ウイルスに感染した豚、及び従来型の豚熱ワクチンを接種した豚の血液を滴下したところ、E2とE<sup>rns</sup>の両方の蛋白質に対する抗体が検出されました。一方、韓国で開発された豚熱ウイルスのE2蛋白質のみからなる豚熱マーカーワクチン\*2またはE<sup>rns</sup>を他のウイルスのE<sup>rns</sup>に置き換えた豚熱ウイルスを接種したブタの血液をそれぞれ抗体検出簡易キットに滴下したところ、E2に対する抗体は検出されましたがE<sup>rns</sup>に対する抗体は検出されませんでした。

以上の結果から、野外ウイルスの感染や従来型の豚熱ワクチンの接種により産生される抗体と、豚熱マーカーワクチン及びE<sup>rns</sup>を他のウイルスのE<sup>rns</sup>に置き換えた豚熱ウイルスを接種した豚の体内で産生される抗体の質的な差を簡易キットにより迅速に検出できることが分かりました。今回開発した抗体検出簡易キットは、将来マーカーワクチンの国内での導入時に有効な検査ツールとして活用されることが期待されます。

なお、本研究成果は、2024年4月11日（木）公開のFrontiers in Microbiology誌に掲載されました。



豚熱ウイルスに対する抗体を識別する簡易キット（免疫クロマトグラフィーテストストリップ）

## 【背景】

豚熱は豚熱ウイルスが豚とイノシシに感染する感染症です。豚熱は高い伝播力を持ち、さらに感染した動物に対して致死的な病原性を示すため、豚とイノシシにおいて最も重要な感染症の一つです。日本では、2018年に26年ぶりに発生し、現在もイノシシにおける流行と、養豚場における散発的な感染が報告されています。ウイルスに感染した農場では飼養豚の全頭殺処分が行われるため、発生を防止するためのワクチン接種と衛生対策の徹底が進められています。現在国内で使用されているワクチンは豚熱の予防に有効ですが、ワクチン接種された豚の体内で産生される抗体は野外流行ウイルスが感染した時の抗体と識別ができないので、ワクチンを接種した農場に野外ウイルスが潜んでいないと言い切ることができません。

この問題を克服するため、ワクチン接種による抗体を野外ウイルスの感染による抗体と識別するためのマーカーワクチンが国内外で開発されています。しかし、この抗体を識別する技術は操作が煩雑で、さらに二つの検査（E2とE<sup>rns</sup>蛋白質に対する抗体検出）を別々に実施して結果を判断しなければなりません。

## 【研究手法】

豚熱ウイルスの表面に発現している糖タンパク質であるE2とE<sup>rns</sup>を組換え蛋白質として植物（ペンサミアナタバコ）中で合成しました。植物由来の不純物を取り除いたE2とE<sup>rns</sup>蛋白質をそれぞれ濾紙に貼り付けました。この濾紙の上に豚熱ウイルスに対する抗体を保有した豚の血液を滴下すると、E2とE<sup>rns</sup>蛋白質に対する抗体を保有する場合、蛋白質と抗体が反応し、肉眼で判定可能なバンドが検出される免疫クロマトグラフィーテストストリップ（抗体検出簡易キット）を作製しました。この抗体検出簡易キットを用いて、豚熱野外ウイルスに感染した豚、及び従来型の豚熱ワクチンを接種した豚の血液を滴下して抗体の検出を試みました。また、韓国で開発された豚熱ウイルスのE2蛋白質のみからなる豚熱マーカーワクチン<sup>\*3</sup>及びE<sup>rns</sup>を他のウイルスのE<sup>rns</sup>に置き換えた豚熱ウイルス<sup>\*4</sup>を接種したブタの血液をそれぞれ抗体検出簡易キットに滴下して抗体の検出を試みました。

## 【研究成果】

豚熱ウイルスの表面に発現している糖タンパク質であるE2とE<sup>rns</sup>を組換え蛋白質として発現し、さらにそれを抽出精製することに成功しました。この蛋白質を用いて開発された抗体検出簡易キットに豚熱野外ウイルスに感染した豚、及び従来型の豚熱ワクチンを接種した豚の血液を滴下したところ、E2とE<sup>rns</sup>の両方の蛋白質に対する抗体が検出されました（図1）。一方、韓国で開発された豚熱マーカーワクチン及びE<sup>rns</sup>を他のウイルスのE<sup>rns</sup>に置き換えた豚熱ウイルスを接種したブタの血液をそれぞれ抗体検出簡易キットに滴下したところ、E2に対する抗体は検出されましたが、E<sup>rns</sup>に対する抗体は検出されませんでした（図1）。

以上の結果から、野外ウイルスの感染や従来型の豚熱ワクチンの接種により産生される抗体と、豚熱マーカーワクチンまたはE<sup>rns</sup>を他のウイルスのE<sup>rns</sup>に置き換えた豚熱ウイルスを接種した豚の体内で産生される抗体の質的な差を、簡易キットにより迅速に検出できることが分かりました。

## 【今後への期待】

豚熱の清浄化を進めるために、将来的に国内でマーカーワクチンが使用されることが想定されます。使用にあたっては、安全で有効なマーカーワクチンと、そのワクチンを接種した豚で産生される抗体を適切に識別できる検査法の両方が必要になります。今回、開発した抗体検出簡易キットは、将来マーカーワクチンの国内での導入時に有効なツールとして活用されることが期待されます。

## 論文情報

論文名 Development of a dual immunochromatographic test strip to detect E2 and Erns antibodies against classical swine fever (豚熱ウイルスに対する E2 および E<sup>ns</sup> 抗体を検出するための免疫クロマトグラフィーテストストリップの開発)

著者名 ロック・タン・ヒュー<sup>1, 2</sup>、ユン-ジュ・ソン<sup>3</sup>、ヤングミン・パク<sup>3</sup>、ジュフン・キム<sup>3</sup>、下田智彦<sup>4</sup>、日尾野隆大<sup>1, 5, 6, 7</sup>、磯田典和<sup>1, 5, 6, 7</sup>、サング-ヒ・ホング<sup>8</sup>、ハ-ナ・リー<sup>8</sup>、迫田義博<sup>1, 5, 6, 7</sup> (1 北海道大学大学院獣医学研究院微生物学教室、<sup>2</sup>ベトナムカントー大学獣医学部、<sup>3</sup>韓国バイオアプリケーションズ、<sup>4</sup>三重県南勢家畜保健衛生所、<sup>5</sup>北海道大学 One Health リサーチセンター、<sup>6</sup>北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所国際協働ユニット、<sup>7</sup>北海道大学ワクチン研究開発拠点、<sup>8</sup>韓国セルトリックス)

雑誌名 Frontiers in Microbiology (微生物学の専門誌)

D O I 10.3389/fmicb.2024.1383976

公表日 2024 年 4 月 11 日 (木) (オンライン公開)

## お問い合わせ先

北海道大学大学院獣医学研究院 教授 迫田義博 (さこだよしひろ)

T E L 011-706-5207 F A X 011-706-5273 メール sakoda@vetmed.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.vetmed.hokudai.ac.jp/organization/microbiol/>

## 配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

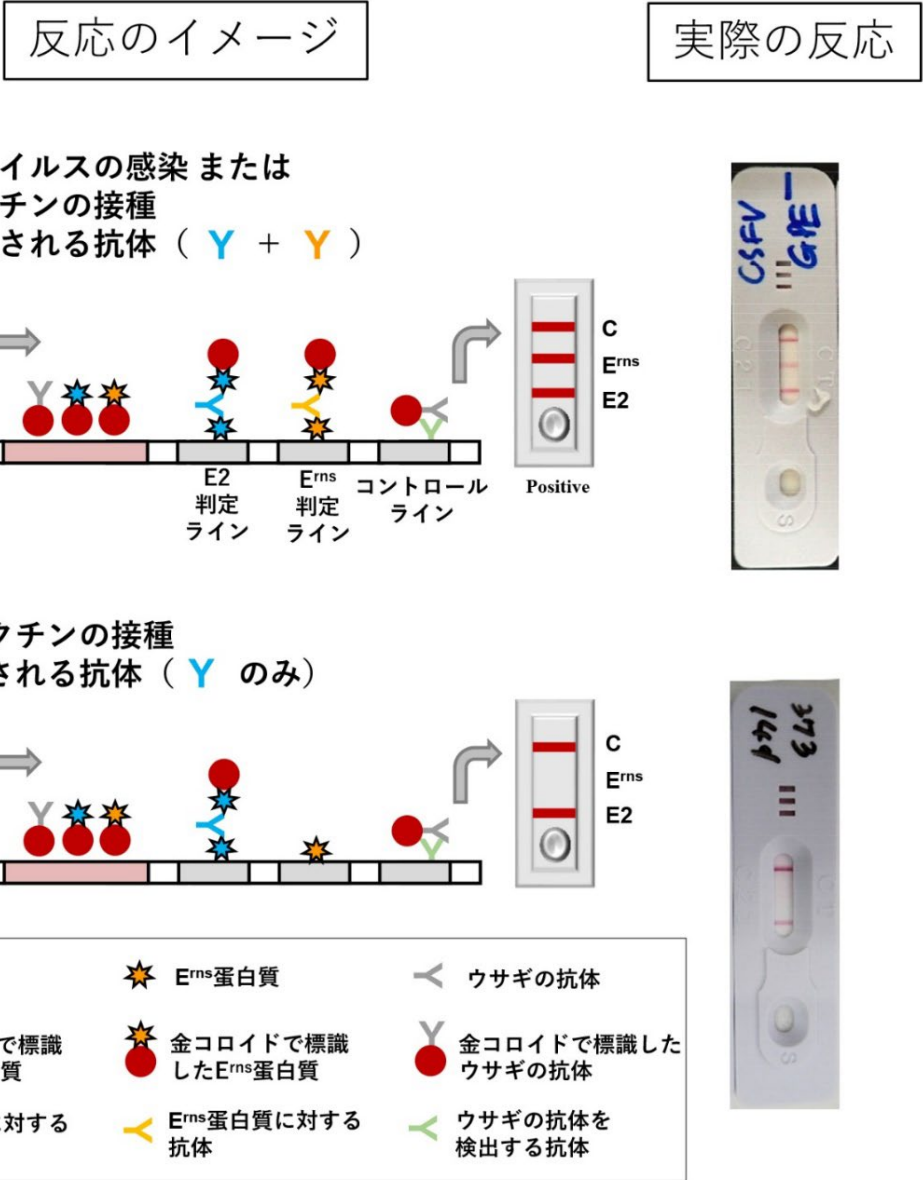


図 1. 韓国のバイオアプリケーションズ社と共同開発した豚熱ウイルスに対する抗体を識別する簡易キット（免疫クロマトグラフィーテストストリップ）の仕組みと実際のキットにおける抗体検出像。

【用語解説】

\*1 免疫クロマトグラフィーテストストリップ …特定の抗体または抗原を検出するための簡易的な検査方法。検査サンプルをストリップの一端に滴下すると、サンプルが毛細管現象により濾紙（ストリップ）上を移動していく。このストリップ上で、蛋白質と抗体の免疫複合体が形成され、陽性の場合、赤紫のバンドが現れる。これを目視で判定し、抗体の有無を判断する。

\*2 マーカーワクチン … 遺伝子の一部を欠損させたウイルスや人工合成されたウイルス由来の蛋白質を基に開発されたワクチンのことを指す。この特性により、ワクチンを接種した動物と野外のウイルスに感染した動物を識別することができる。

\*3 韓国で開発された豚熱ウイルスの E2 蛋白質のみからなる豚熱マーカーワクチン … 共同研究先の韓国バイオアプリケーションズ社が今回の共同開発でも使用した豚熱ウイルスの E2 蛋白質を遺伝子組換え技術により安価で大量に発現させ、これを CSF E2 MARKER ワクチンとして商品化したもの（関連する論文情報の DOI : 10.3390/vaccines9060537）。

\*4 E<sup>rns</sup> を他のウイルスの E<sup>rns</sup> に置き換えた豚熱ウイルス … 豚熱ウイルス E2 蛋白質を保持し、E<sup>rns</sup> 蛋白質は豚熱ウイルス以外のウイルスのそれに置き換えた遺伝子組換えウイルス（関連する論文情報の DOI : 10.3390/v15071587）。