

Studies on the Diagnosis and Molecular Epidemiology of Avian Influenza

(鳥インフルエンザの診断ならびに分子疫学に関する研究)

学位論文内容の要旨

本論文は H7 インフルエンザウイルスの感染に起因する鳥インフルエンザの迅速診断法の確立、鳥インフルエンザウイルス M 遺伝子の系統進化解析ならびに高病原性鳥インフルエンザウイルス A/chicken/Yamaguchi/7/04(H5N1) (Ck/Yamaguchi) 株の宿主域を決定する因子の解明を目指す研究成果を纏めたものである。

H7 亜型ウイルスの感染による鳥インフルエンザの迅速診断キットを開発した。このキットは検査に用いたすべての H7 ウイルスを特異的に検出した。さらに、このキットは、実験的に感染させたニワトリの組織ホモジネートおよび気管とクロアカのスワブから H7 HA を検出した。以上の結果から、本キットが迅速診断に有用であり、鳥インフルエンザの制圧に貢献するものと期待される。

2000 から 2007 年の間に、北海道で渡り水禽から 28 通りの異なる HA と NA の組み合わせのインフルエンザウイルス 218 株が分離された。分離年と場所にに基づき、67 株を選び、M 遺伝子の塩基配列を決定した。その結果、異なる亜系統に属するウイルスが自然界の水禽の間で受け継がれて存続していることが明らかになった。さらに、台湾で分離された H6N1 インフルエンザウイルスが、渡り鳥の太平洋飛翔路に沿ってもたらされたものであることも明らかになった。また、北海道で分離されたウイルスがヨーロッパおよびアジアの多くの国で分離された株と近縁な系統関係にあることが明らかになった。この知見は、水禽が、その飛翔路に沿ってウイルスを運搬するばかりでなく、それを越えてウイルスを拡散する役割を演ずることを示している。

ブタが鳥インフルエンザウイルスとヒトのウイルスの遺伝子再集合体を産生する *mixing vessel* として、過去のヒトの新型インフルエンザウイルスが出現したことが証明されており、また、ブタは多くの亜型の鳥インフルエンザウイルスに感染することが知られている。ところで、日本でニワトリから分離された高病原性鳥インフルエンザウイルス Ck/Yamaguchi 株は、ブタに実験感染しなかった。この株がブタに感染しない分子基盤を明らかにするため、ブタのウイルス株との遺伝子再集合ウイルスをリバーシジェネティクスによって作出して解析した。その結果、PB2 遺伝子のみがブタウイルス由来の再集合体がブタで増殖することが判った。さらに、

Ck/Yamaguchi の PB2 タンパクの 2 アミノ酸残基がブタへの感染と増殖に関わる
ことが示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 喜 田 宏
副 査 准教授 迫 田 義 博
副 査 教 授 高 田 礼 人
副 査 教 授 大 橋 和 彦

学 位 論 文 題 名

Studies on the Diagnosis and Molecular Epidemiology of Avian Influenza

(鳥インフルエンザの診断ならびに分子疫学に関する研究)

本論文は H7 インフルエンザウイルスの感染に起因する鳥インフルエンザの迅速診断法の確立、鳥インフルエンザウイルス M 遺伝子の系統進化解析ならびに高病原性鳥インフルエンザウイルス A/chicken/Yamaguchi/7/04 (H5N1) (Ck/Yamaguchi) 株の宿主域を決定する因子の解明を目指す研究成果を纏めたものである。

H7 亜型ウイルスの感染による鳥インフルエンザの迅速診断キットを開発した。このキットは検査に用いたすべての H7 ウイルスを特異的に検出した。さらに、このキットは、実験的に感染させたニワトリの組織ホモジネートおよび気管とクロアカのスワブから H7 HA を検出した。以上の結果から、本キットが迅速診断に有用であり、鳥インフルエンザの制圧に貢献するものと期待される。

2000 から 2007 年の間に、北海道で渡り水禽から 28 通りの異なる HA と NA の組み合わせのインフルエンザウイルス 218 株が分離された。分離年と場所に基つき、67 株を選び、M 遺伝子の塩基配列を決定した。その結果、異なる亜系統に属するウイルスが自然界の水禽の間で受け継がれて存続していることが明らかになった。さらに、台湾で分離された H6N1 インフルエンザウイルスが、渡り鳥の太平洋飛翔路に沿ってもたらされたものであることも明らかになった。また、北海道で分離されたウイルスがヨーロッパおよびアジアの多くの国で分離された株と近縁な系統関係にあることが明らかになった。この知見は、水禽が、その飛翔路に沿ってウイルスを運搬するばかりでなく、それを越えてウイルスを拡散する役割を演ずることを示している。

ブタが鳥インフルエンザウイルスとヒトのウイルスの遺伝子再集合体を産生する *mixing vessel* として、過去のヒトの新型インフルエンザウイルスが出現したことが証明されており、また、ブタは多くの亜型の鳥インフルエンザウイルスに感染することが知られている。ところで、日本でニワトリから分離された高病原性鳥インフルエンザウイルス Ck/Yamaguchi 株は、ブタに実験感染しなかった。この株がブタに感染しない分子基盤を明らかにするため、ブタのウイルス株との遺伝子再集合ウイルスをリバーズジェネティクスによって作出して解析した。その結果、PB2 遺伝子のみがブタウイルス由来の再集合体が

ブタで増殖することが判った。さらに、Ck/Yamaguchi の PB2 タンパクの 2 アミノ酸残基がブタへの感染と増殖に関わることが示唆された。

よって、審査員一同は、上記博士論文提出者 Rashid Manzoor 氏が博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。