

学 位 論 文 題 名

# Studies on the development of vaccine and molecular basis of pathogenicity of avian influenza viruses for chicken

(鳥インフルエンザウイルスのワクチン開発および  
病原性の分子基盤に関する研究)

## 学位論文内容の要旨

1997年以来、H5またはH7ウイルスの感染に因る高病原性鳥インフルエンザ(HPAI)の発生が続いている。著者はインフルエンザAウイルスの自然宿主である野生水禽に維持されているH5またはH7ウイルスとHPAIウイルス間でヘマグルチニン(HA)の抗原性が類似していることを見出した。本結果に基づき、野生水禽から分離された非病原性鳥インフルエンザウイルスを元に、A/duck/Hokkaido/Vac-1/2004 (H5N1) [Vac-1/04 (H5N1)]、A/duck/Hokkaido/Vac-3/2007 (H5N1)、およびA/duck/Hokkaido/Vac-2/2004 (H7N7) [Vac-2/04 (H7N7)]をワクチン候補株として作出した。ホルマリン不活化したVac-1/04 (H5N1)を100 $\mu$ g皮下接種したマウスは、致死量のHPAIウイルスVietnam/1194/2004 (H5N1)の攻撃に耐過した。Vac-1/04 (H5N1)およびVac-2/04 (H7N7)によって試製したワクチンを接種したニワトリおよびサルは、HPAIウイルスの攻撃に耐過した。以上の結果は野生水禽から分離した非病原性ウイルスがHPAIウイルスに因る感染症に対するワクチン株として有用であることを示している。

一方で、ワクチンの濫用は HPAI ウイルスの見えない流行拡大を助長する恐れがある。ワクチン接種に依存し HPAI 対策の基本である摘発淘汰が疎かとなっている地域では、抗原変異ウイルスの出現を招くと共に、人の感染例が増加している。本研究で確立したワクチン株と流行株間の交差反応性を調べると共に、世界各国が摘発淘汰を基本とした対策を行い、鳥インフルエンザを封じ込める必要がある。

H5 または H7 ウイルスに因る HPAI に加え、近年低病原性 H9N2 ウイルスによる鳥インフルエンザの発生がアジア・中近東で続いており、家禽に甚大な被害を及ぼしている。従って H9 ウイルスが H5 および H7 ウイルスのように家禽に対する高い病原性を獲得し得るかどうかを確認しておくことは防疫上重要である。本研究において、H9 ウイルスの HA 開裂部位に HPAI ウイルスに見られる塩基性アミノ酸の連続配列を人工的に導入し、さらにヒヨコの気嚢内で 10 代継代したウイルス rgY55sub-P10 (H9N2)はニワトリに対して静脈内接種病原性を示した。HA 開裂部位に導入した塩基性アミノ酸、および継代によって起こったアミノ酸の置換がニワトリに対する高い病原性に関与するものと考えられる。rgY55sub-P10 (H9N2)は MDCK 細胞における増殖に外来性のトリプシン(ニワトリの呼吸器・腸管に局在)を必要としなかったが、本株を鼻腔内に接種したニワトリは H5 ウイルスを接種した場合と異なり全く症状を示さなかった。以上の知見はニワトリ体内のユビキタスなプロテアーゼによる HA の開裂活性化はウイルスの全身感染に必要なが、十分条件ではないことを示している。著者は、H5 ウイルスは H9 ウイルスに比べ、ニワトリの血管内皮細胞で効率的に増殖してウイルス血症を引き起こし、さらに脳に侵入して高い病原性を発揮するものと考察している。

本研究では、H9N2 ウイルスが静脈内接種病原性を獲得し得ることが明らかとなった。H9 ウイルスはニワトリに細菌と共感染すると、鼻腔内接種病原性が増強することを岸田らは明らかにした。HA 開裂部位に塩基性アミノ酸の置換変異を有するウイルスが実際に野外のニワトリから分離されており、このようなウイルスが鶏群内で感染を繰り返すことによって、静脈内接種病原性に加え鼻腔内接種病原性を獲得する恐れがあるので、家禽の疫学監視を続ける必要がある。

本研究で得られた成績は野生水禽および家禽におけるインフルエンザサーベイランスが、1. 自然界および家禽飼養環境中のウイルスの抗原性を把握する、2. HPAI に対するワクチン株を得る、3. 新たな HPAI ウイルスの出現予測、のために重要であることを示している。

# 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	梅 村	孝 司
副 査	教 授	高 田	礼 人

## 学 位 論 文 題 名

### Studies on the development of vaccine and molecular basis of pathogenicity of avian influenza viruses for chicken

(鳥インフルエンザウイルスのワクチン開発および  
病原性の分子基盤に関する研究)

1997 年以来、H5 または H7 ウイルスの感染に因る高病原性鳥インフルエンザ(HPAI)の発生が続いている。著者はインフルエンザ A ウイルスの自然宿主である野生水禽に維持されている H5 または H7 ウイルスと HPAI ウイルス間でヘマグルチニン(HA)の抗原性が類似していることを見出した。本結果に基づき、野生水禽から分離された非病原性鳥インフルエンザウイルスを元に、A/duck/Hokkaido/Vac-1/2004 (H5N1) [Vac-1/04 (H5N1)]、A/duck/Hokkaido/Vac-3/2007 (H5N1)、および A/duck/Hokkaido/Vac-2/2004 (H7N7) [Vac-2/04 (H7N7)]をワクチン候補株として作出した。ホルマリン不活化した Vac-1/04 (H5N1)を 100 $\mu$ g 皮下接種したマウスは、致死量の HPAI ウイルス Vietnam/1194/2004 (H5N1)の攻撃に耐過した。Vac-1/04 (H5N1)および Vac-2/04 (H7N7)によって試製したワクチンを接種したニワトリおよびサルは、HPAI ウイルスの攻撃に耐過した。以上の結果は野生水禽から分離した非病原性ウイルスが HPAI ウイルス感染症に対するワクチン株として有用であることを示している。

H5 または H7 ウイルスに因る HPAI に加え、近年低病原性 H9N2 ウイルスによる鳥インフルエンザの発生がアジア・中近東で続いており、家禽に甚大な被害を及ぼしている。従って H9 ウイルスが H5 および H7 ウイルスのように家禽に対する高い病原性を獲得し得るかどうかを確認しておくことは防疫上重要である。著者は H9 ウイルスの HA 開裂部位に HPAI ウイルスに見られる塩基性アミノ酸の連続配列を人工的に導入し、さらにヒヨコの気嚢内で 10 代継代した。継代したウイルス rgY55sub-P10 (H9N2)はニワトリに対して静脈内接種病原性を示した。この成績は HA 開裂部位に導入した塩基性アミノ酸、および継代によって起こったアミノ酸の置換がニワトリに対する高い病原性に関与することを示している。rgY55sub-P10 (H9N2)は MDCK 細胞における増殖に外来性のトリプシン(ニワトリの呼吸器・腸管に局在)を必要としなかったが、本株を鼻腔内に接種したニワトリは H5 ウイルスを接種した場合と異なり、全く症状を示さなかった。本結果はニワトリ体内のユビキタスなプロテアーゼによる HA の開裂活性化はウイルスの全身感染に必要であるが、十分条件ではないことを示している。以上の知見から著者は、H5 ウイルスは H9 ウイルスに比べニワトリの血

管内皮細胞で効率的に増殖してウイルス血症を引き起こし、さらに脳に侵入して高い病原性を発揮するものと考察している。

審査員一同は、上記論文提出者 曾田 公輔氏が博士(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。