

学 位 論 文 題 名

Asian Lineage H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenza Virus Replication in Feathers of Waterfowl

(水禽の羽における H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの
増殖に関する研究)

学位論文内容の要旨

1997 年、アジア系統 H5N1 亜型ウイルスによる高病原性鳥インフルエンザ (HPAI) が香港の家禽に発生した。その後、本ウイルスは、アジアからヨーロッパやアフリカへ伝播し、多くの国々に深刻な経済的損失をもたらした。この H5N1 HPAI ウイルスの主要な伝播経路として、野鳥や家禽の移動、汚染鶏肉の流通、生鳥市場等の関連が指摘されている。特に、東南アジアにおける流行では、HPAI に感染した鶏から水禽への伝播が報告されており、斃死した野生水禽から H5N1 HPAI ウイルス分離されている。本研究では、水禽からのウイルス伝播経路の解明を目的として水禽体内における H5N1 HPAI ウイルス増殖部位を検索し、本ウイルスが羽でも増殖していること、羽組織中のウイルスは水中あるいは糞便中のウイルスに比べ長期間生存することから、感染水禽の羽からもウイルス分離が可能であること、羽を介した水平伝播が自然界で起こっている可能性を明らかにした。

第 I 章では、H5N1 HPAI ウイルス山口株のアイガモに対する病原性を検討した。ウイルスを接種された 2 週齢および 4 週齢のアイガモは、少数の個体が神経症状を示して斃死した。一方、同一ウイルスを接種された 1 日齢のアイガモは全羽が斃死し、水禽の日齢が体内でのウイルス増殖に影響することが示唆された。組織学的に脳炎、脾臓壊死、角膜混濁、羽を構成する上皮組織の壊死が認められた。感染アイガモの皮膚組織に対する免疫組織化学検索およびウイルス分離の結果、アイガモの羽でウイルスが増殖していることを明らかにし、羽が感染水禽からのウイルス排泄経路の一つとなる可能性を提示した。

第 II 章では、前章で観察された山口株によるアイガモの羽における増殖に関して、H5N1 HPAI ウイルス清武株やガチョウでも羽でウイルスが増殖しているか否かを検討した。H5N1 HPAI ウイルスを実験感染させたアイガモやガチョウの羽を免疫組織化学検索、電子顕微鏡検索、およびウイルス分離に供し、山口株および清武株が、アイガモおよびガチョウの羽上皮細胞で増殖することを確認した。この結果、羽における増殖が、H5N1 HPAI ウイルス感染水禽に共通する現象である可能性が示された。

さらに、H5N1 HPAI ウイルスに自然感染した白鳥の羽組織を病理組織学的、ウイルス学的に検索した。羽軸根からウイルスが分離され、羽上皮細胞および羽包上皮細胞にウイルス抗原が検出された。さらに羽のパラフィン包埋切片から H5N1 HPAI ウイルスの遺伝子が検出された。この結果、ウイルスに自然感染した水禽の羽にウイルスが存在していることが明らかとなった。

感染アイガモの綿羽を健康なアイガモに経口投与するウイルス伝播試験の結果、投与アイガモが感染した。この結果、山口株に感染したアイガモの羽が、鳥に対する感染性を有する事が示された。以上の成績に基づき、感染水禽の羽が、動物や人への感染源となりうる事が明らかになった。

第Ⅲ章では、羽からのウイルス検出が有用な診断法となりうるか否か検討した。H5N1 HPAI ウイルス清武株および秋田株をアイガモに経鼻接種し、簡易抗原検出キット、ウイルス分離、免疫組織化学、および逆転写 PCR を用いて、羽の羽軸根、咽喉頭スワブおよびクロアカスワブからのウイルス検出を経時的に行った。ウイルス分離の結果、スワブと比較して、羽から大量のウイルスが長期間検出され、感染アイガモの羽が、スワブと同様に、ウイルス検出のための有用な試料となりうることを明らかにした。

最後に、感染水禽の羽を介した環境中へのウイルス汚染を評価した。清武株および秋田株を実験感染させたアイガモの羽軸根、ウイルスを含む飲用水および糞便を異なる 2 つの温度条件下におき、試料中の感染性ウイルスの存続期間を比較した。その結果、飲用水や糞便と比較して、羽は大量の感染性ウイルスを長期間保持していた。羽組織からの感染性ウイルスの分離期間は、摂氏 4 度で保存された場合 160 日間、摂氏 20 度の場合 15 日間であった。以上の成績から、感染水禽の羽が、野外環境において H5N1 HPAI ウイルスを長期間保有し、ウイルスの水平感染を媒介する可能性が示された。

本研究の結果、H5N1 HPAI ウイルスに感染した水禽からのウイルス伝播経路として、これまでに報告されていた呼吸器分泌物や糞便に加え、羽を介する経路が存在する事が示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 梅 村 孝 司
副 査 教 授 喜 田 宏
副 査 教 授 高 田 礼 人
副 査 准教授 迫 田 義 博

学 位 論 文 題 名

Asian Lineage H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenza Virus Replication in Feathers of Waterfowl

(水禽の羽における H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの
増殖に関する研究)

H5N1 亜型ウイルスによる高病原性鳥インフルエンザ (HPAI) の発生は、アジアから中東、ヨーロッパ、アフリカへ広がり、多くの国々に深刻な経済的損失をもたらした。このウイルスの伝播経路として、野鳥や家禽の移動、汚染鶏肉の流通、生鳥市場等の関連が指摘されている。特に、ウイルス伝播における野生水禽やアヒル等水生家禽の関与は、強い関心が寄せられる主題である。本研究は、水禽からのウイルス伝播経路の解明を目的として、水禽の体内における H5N1 HPAI ウイルスの増殖に関する詳細な検索を行い、感染水禽の羽を介したウイルス伝播が起こりうる事を示したものである。

第 I 章で、著者は、H5N1 HPAI ウイルスをアイガモに実験感染させ、臨床症状や病理所見を解析した。水禽の日齢が感染時の致死率に関与することを発見した。また、ウイルスがアイガモの羽を構成する上皮細胞で増殖することを発見し、羽が感染水禽からのウイルス排泄経路となる可能性を示した。

第 II 章では、H5N1 HPAI ウイルスに感染したアイガモ、ガチョウ、白鳥の羽を解析し、ウイルスが羽組織で増殖することを確認した。また、健康なアイガモに、感染アイガモの綿羽を経口投与した結果、感染が成立した。以上の成績より、羽でのウイルス増殖が、H5N1 HPAI ウイルスに感染した水禽に共通する現象であることを明らかにした。さらに、感染水禽の羽が、動物や人に対して感染性を有しうることを示した。

第 III 章では、H5N1 HPAI ウイルスを実験感染させたアイガモの羽からのウイルス検出を経時的に行い、感染アイガモの羽が、診断のための有用な試料となることを示した。また、感染アイガモから羽を採材した場合、羽組織中のウイルスの感染性は、温度条件に応じて長期間保持される現象を発見し、感染水禽の羽が野外においてウイルスを媒介する可能性を示した。

本研究の結果、著者は、H5N1 HPAI ウイルスに感染した水禽からのウイルス伝播経路として、これまでに報告されていた呼吸器分泌物や糞便に加え、羽を介する経路が存在するという新しい仮説を提示した。

審査員一同は、本博士学位論文について、その内容を高く評価し、著者に対し博士（獣医学）の学位を授与するにふさわしい水準に達していると判断した。