

学 位 論 文 題 名

Characterization of influenza viruses isolated from
domestic ducks in Vietnam and evaluation of H9
influenza virus vaccine

(ベトナムのアヒルから分離されたインフルエンザウイルスの性状および
H9インフルエンザウイルスワクチンの評価)

学位論文内容の要旨

2009 年 4 月および 2010 年 5 月にベトナムで収集された 600 羽のアヒルの
気管および総排泄腔のスワブサンプルから 40 株のインフルエンザ A ウイルス
が分離された。ウイルスのヘマグルチニン (HA) およびノイラミニダーゼ (NA)
の亜型をそれぞれ HI および NI 試験により同定した。ウイルス亜型の内訳は、
H9N2 (26 株)、H9N6 (1 株)、H3N2 (1 株)、H3N8 (1 株)、H4N6 (7 株)、H11N3
(3 株) および H11N9 (1 株) であった。次に、40 株全てのウイルス遺伝子の
塩基配列を決定した。H9N2 ウイルスが特に多く分離されたことから、27 株の
H9 ウイルスについて系統解析した。その結果、これらは韓国および G1 亜系統
に区分された。また、1 株の H9N2 ウイルスは、PB2 遺伝子が韓国亜系統に属し、
他の 7 分節の遺伝子が G1 亜系統に属する遺伝子再集合体であることがわかつた。
H9N2 ウイルス 3 株を選抜し、カモ、ニワトリ、ブタ、およびマウスに対
する病原性を感染実験により調べた。3 株をそれぞれ接種した全てのカモの気
管または総排泄腔からウイルスが回収された。ウイルスを接種したニワトリの
脳、気管、肺および結腸からウイルスは回収されなかったが、抗体が検出され
たことから、感染したものと判断された。また、3 株のウイルスをそれぞれ接
種したブタの鼻腔スワブからウイルスが回収された。そのうち 2 株を接種した
マウスの肺からウイルスが回収され、1 株はマウスの体重を減少させた。ブタ
における増殖が確認された H9N2 ウイルスは、ブタの間で受け継がれるとヒト
への伝播能を獲得するものと推定されたことから、ブタインフルエンザの疫学
調査を継続することが重要である。

次に、H9 ウイルスがヒトに伝播、流行する可能性が考えられるので、不
活化 H9 ウイルスワクチンを試製し、効果を評価した。当教室のインフルエン
ザウイルスライブラリーに保存されている H9N2 ウイルスから 22 株選抜し、抗
原性と遺伝子を解析した。その結果、これら 22 株の HA 遺伝子は 3 つの亜系統
に分類された。HI 試験の結果から、韓国亜系統に属するウイルスは、どの系

統のウイルスに対する抗血清とも広く反応することがわかった。そこで、韓国亜系統に属する Dk/Hok/49/98 (H9N2) 株をワクチン株として選抜し、不活化全粒子ワクチンを試製した。マウスを用いてワクチンの効果を評価したところ、中和抗体が検出され、異なる亜系統に属する HK/1073/99 (H9N2) 株の攻撃に対して、体重減少および肺におけるウイルス増殖を抑制することがわかった。

以上の結果から、インフルエンザウイルスライブラリーから試製した不活化全粒子ワクチンは、H9N2 ウイルスによるパンデミックの初期段階における緊急用ワクチンとして有用であ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	教 授	大 橋	和 彦
副 査	教 授	高 田	礼 人
副 査	准教授	迫 田	義 博

学 位 論 文 題 名

Characterization of influenza viruses isolated from domestic ducks in Vietnam and evaluation of H9 influenza virus vaccine

(ベトナムのアヒルから分離されたインフルエンザウイルスの性状および
H9インフルエンザウイルスワクチンの評価)

2009年4月および2010年5月にベトナムで収集された600羽のアヒルの気管および総排泄腔のスワブサンプルから40株のインフルエンザAウイルスが分離された。ウイルスのヘマグルチニン(HA)およびノイラミニダーゼ(NA)の亜型をそれぞれHIおよびNI試験により同定した。ウイルスの亜型は、H9N2、H9N6、H3N2、H3N8、H4N6、H11N3およびH11N9がそれぞれ26、1、1、1、7、3および1株であった。次に、これら40株のウイルス遺伝子の全塩基配列を決定した。H9N2ウイルスが特に多く分離されたことから、27株のH9ウイルスについて系統解析した。その結果、これらは韓国およびG1亜系統に区分された。1株のH9N2ウイルスは、PB2遺伝子が韓国亜系統に属し、他の7分節の遺伝子がG1亜系統に属する遺伝子再集合体であることがわかった。H9N2ウイルス3株を選抜し、カモ、ニワトリ、ブタ、およびマウスに対する病原性を感染実験により調べた。3株をそれぞれ接種した全てのカモの気管または総排泄腔からウイルスが回収された。ウイルスを接種したニワトリの脳、気管、肺および結腸からウイルスは回収されなかったが、抗体が検出されたことから、感染したものと判定した。3株のウイルスをそれぞれ接種したマウスのうち、2株を接種したマウスの肺からウイルスが回収され、1株はマウスの体重を減少させた。3株のウイルスをそれぞれ接種したブタ前頭の鼻腔スワブからウイルスが回収された。ブタにおける増殖が確認されたH9N2ウイルスは、ブタの間で受け継がれると、ヒトへの伝播能を獲得するものと想定されるので、ブタインフルエンザの疫学調査を継続することは重要である。

H9ウイルスがヒトに伝播、流行して、パンデミックを起こす可能性が考えられるので、不活化H9ウイルスワクチンを試製し、効果を評価した。当教室のインフルエンザウイルスライブラリーに保存されているH9N2ウイルスから22株選抜し、抗原性と遺伝子を解析した。その結果、これら22株のHA遺伝子は3つの亜系統に分類された。HI試験の結果から、韓国亜系統に属するウイルスに対する抗血清は、どの系統のウイルスとも広く反応することがわかった。そこで、韓国亜系統に属するDk/Hok/49/98(H9N2)株をワクチン株として選抜し、不活化全粒子ワクチンを試製した。このワクチンを接種したマウスは、中和抗体を産生し、異なる亜系統に属するHK/1073/99(H9N2)株の攻撃による体重減少および肺におけるウイルス増殖を抑制することがわかった。以上の結果は、インフルエンザウイルスライブラリーから選抜したウイルス株で試製した不活化全粒子ワクチンは、H9N2ウイルスによるパンデミックの初期段階における緊急用ワクチンとして有用であることを示している。

審査員一同は、野村 直樹氏の上記論文を慎重に審査した結果、北海道大学大学院獣医学研究科規程第6条の規定による本研究科の行う博士論文の審査に合格と認めた。