

鳥インフルエンザウイルスのパンデミックポテンシャルを規定するアミノ酸残基の解析

詹 暁月 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 川口 敦史 (筑波大学 医学医療系)

【背景・目的】

A 型インフルエンザウイルスはオルソミクソウイルス科に属するマイナス鎖1本鎖RNAウイルスであり、ウイルス粒子表面上のヘマグルチニン(HA)とノイラミニダーゼ(NA)の血清型に応じて140以上の亜型に分類される。A型インフルエンザウイルスの自然宿主は、カモなどの水鳥であり、カモではすべての亜型の存在が確認されている。通常、鳥インフルエンザウイルスに感染したカモは病原性を示さない。しかし、カモから他の動物種に伝播した場合、病原性を示す可能性がある。20世紀以降、A型インフルエンザウイルスによって4回のパンデミックが発生し、甚大な被害をもたらされた。現在、H1N1、H3N2亜型のパンデミックウイルス株は、季節性インフルエンザとしてヒト間で流行している。鳥インフルエンザウイルスが宿主域を超え、ヒト-ヒト間の感染伝播能を獲得するとパンデミックが引き起こされる可能性がある。鳥インフルエンザウイルスの哺乳動物での感染能や病原性(パンデミックポテンシャル)を規定するウイルス側の要因はいまだに不明であり、本研究ではその要因を解明することを目的とする。

【材料・方法】

1. PB2遺伝子変異ウイルス株の作製

1997年にH5N1亜型鳥インフルエンザウイルス感染患者から分離されたA/Hong Kong/483/97(以下HK483と略記)を親株として、6種類のPB2遺伝子変異株をリバーシジェネティクス法により作製した(表1)。ウイルスを発育鶏卵(11日卵)に接種し、35.5°Cで二日間培養したのち、しょう尿液を回収し、ウイルス液として用いた。それぞれのウイルス液の力価はブランクアッセイにより決定した。

表1. 各ウイルス変異株のアミノ酸変異部位

	355 a.a.	508 a.a.	627 a.a.
HK483	K	R	K
QQE株	Q	Q	E
QRE株	Q	R	E
QQK株	Q	Q	K
QRK株	Q	R	K
KRE株	K	R	E
KQE株	K	Q	E

2. 感染マウスモデル

体重25~30gのマウスにペントバルビタールを腹腔内投与し、100、300、1000 pfuのウイルス液を経鼻感染した。感染後2週間の体重変化、生存率を記録した。

【結果】

ウイルスポリメラーゼのPB2サブユニットは、ウイルスゲノムの複製と転写に関与する。これまでに、PB2のLys627が哺乳類への適応に重要であることが報告されている。一方、ヒトへの感染能を獲得した鳥インフルエンザウイルスでは、Q355K及びQ508R変異が高頻度に単離され、これらのアミノ酸残基もパンデミックポテンシャルに関わると考えられる。そこで、これらのアミノ酸残基を置換した変異ウイルス株を作製した。培養細胞系では、各変異ウイルス株の力価に大きな違いはみられなかった。次いで、マウスモデルでの感染実験を行ない、そのパンデミックポテンシャルを評価した。その結果、QQK株(Q355/Q508/K627をQQKと略す)とQRK株感染時の生存率は、HK483(野生株)感染時の生存率と同程度であり、感染後5~7日ですべての個体が死亡した。QQE株とQRE株では、感染後9日ですべての個体が死亡した。一方、KRE株及びKQE株では、体重減少は観察されたが、全頭生存した。

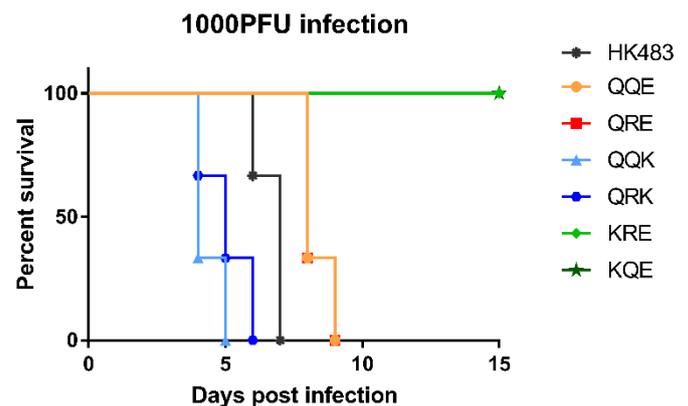


図1. 1000PFU感染時のマウス生存率

【考察】

マウス感染実験の結果より、Gln355を持つウイルス株では高い病原性が観察され、Lys627だけでなく、Gln355もパンデミックポテンシャルを上げる変異であることが推測された。ヒトへの感染能を獲得した鳥インフルエンザウイルスでは、Q355K変異が観察されており、ヒトへの適応にしたがって弱毒化している可能性が高い。Gln355は病原性の強い変異であるため、ヒトへの適応では選択されず、中間の病原性を持つ変異のみが選択されると推測される。一方、508 a.a.の変異は哺乳類に適応したウイルス株で変異が観察されるものの、パンデミックポテンシャルには関与しないアミノ酸残基であることが明らかになった。しかし、Q508R変異がウイルスの感染能や伝播能に関わる可能性はあり、検証が必要である。さらに、免疫応答がウイルスの病原性に関わることが知られており、免疫応答の観点からも解析が必要である。