



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on the interspecies transmission of influenza virus and vaccine preparation for the emergence of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus infection [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	七戸, 新太郎
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第11279号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56162
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Shintaro_Shichinohe_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：七戸 新太郎

審査委員	主査	特任教授	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

Studies on the interspecies transmission of influenza virus and vaccine preparation for the emergence of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus infection

(インフルエンザウイルスの宿主間伝播と

H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスワクチンの試製に関する研究)

インフルエンザウイルスのヘマグルチニン糖蛋白 (HA) は、その HA1 サブユニット上のレセプター結合部位のアミノ酸配列がレセプター特異性を決定している。鳥のインフルエンザウイルスはシアル酸 (SA) $\alpha 2,3$ ガラクトース (Gal) を、ヒトのウイルスは SA $\alpha 2,6$ Gal をレセプターとして認識し、結合する。ブタの呼吸器上皮細胞には SA $\alpha 2,3$ Gal と SA $\alpha 2,6$ Gal 両レセプターが存在する。1968 年に出現したパンデミックインフルエンザウイルス A/Hong Kong/68 (H3N2)株は、ヒトの H2N2 流行株と鳥の H3 ウイルスがブタに同時感染して生じた遺伝子再集合体である。その HA 遺伝子は鳥のウイルスに由来するので、ブタに感染した当初の H3 ウイルス HA は SA $\alpha 2,3$ Gal をレセプターとする。A/Hong Kong/68 ウイルスの HA は SA $\alpha 2,6$ Gal を認識する。鳥インフルエンザウイルス HA が SA $\alpha 2,6$ Gal を認識する特異性獲得のメカニズムは明らかではなかった。本研究では、鳥のウイルスがブタに感染し、ブタからブタに受け継がれる間に SA $\alpha 2,6$ Gal レセプターを認識するウイルスが選択されるか否かを調べた。

A/duck/Hokkaido/5/77 (H3N2)を 3 週齢のブタに経鼻接種した。7 日間毎日鼻腔スワブを採取し、MDCK 細胞で回収ウイルスを分離培養した後、これを新たなブタに経鼻接種して、継代を重ねた。継代毎に回収したウイルスをブラッククロニングし、遺伝子の塩基配列を決定し、推定されるアミノ酸配列を決定した。さらに、配列が異なるウイルスクローンの糖鎖結合特異性を調べた。継代前のウイルスは HA1 サブユニットのレセプター結合部位の 226-227-228 番目のアミノ酸配列が Gln-Ser-Gly で SA $\alpha 2,3$ Gal 糖鎖に結合した。ブタ継代 2 代目の回収ウイルスに、Leu-Ser-Ser の配列を持つウイルスが含まれており、3 代目でこれが優勢になった。このウイルスは SA $\alpha 2,6$ Gal 糖鎖に特異的に結合した。すなわち、鳥インフルエンザウイルスがブタに感染を繰り返すことによってヒトにパンデミックを起こし得るウイルスが選択された。本成績は、これまでのパンデミックウイルスがブタで産

生された遺伝子再集合体であるとの提案を支持するものである。加えて、ブタインフルエンザのサーベイランスによりパンデミックウイルスの出現を予測し得ることを示している。

H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスの感染がアジア、アフリカの家禽に拡がっている。本研究は、当研究室のインフルエンザウイルスライブラリーから選抜した H5N1 低病原性鳥インフルエンザウイルス A/duck/Hokkaido/Vac-3/07 (H5N1) [Dk/Vac-3/07]株で試製したワクチンが近年アジアで流行している、抗原性が異なる 3 つのウイルス株の攻撃に対する防御免疫を誘導するか否かをニワトリで評価した。不活化した Dk/Vac-3/07 とオイルアジュバントを混合して試製した Vac-3 ワクチンを 4 週齢のニワトリに接種し、3 週後に A/muscovy duck/Vietnam/OIE-559/11 (H5N1) [Mdk/VN/11]、A/whooper swan/Hokkaido/4/11 (H5N1) [Ws/Hok/11]、または A/peregrine falcon/Hong Kong/810/09 (H5N1) [Pf/HK/09]を鼻腔内に接種して攻撃した。Mdk/VN/11 または Ws/Hok/11 で攻撃したニワトリは臨床症状を示すことなく全羽生残した。Pf/HK/09 の攻撃後、臨床観察群のニワトリ 12 羽中、攻撃後 4 日目と 7 日目に 1 羽ずつが死亡し、10 羽が生残した。Vac-3 ワクチンの 2.4 倍量の抗原を含む Vac-3 conc. ワクチンを接種したニワトリを Pf/HK/09 で攻撃したところ、全羽が臨床症状を示すことなく生残した。

本成績から、Vac-3/07 を用いて試製したワクチンは近年アジアで流行している抗原変異株に対する防御免疫をニワトリに誘導し、ウイルスの排泄量を低減することがわかった。H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスワクチンの誤用によって選択された多様な抗原変異株が流行を起こしている。鳥インフルエンザ対策は摘発淘汰を基本とし、ワクチンを使用するとしても緊急時の補助的な手段としてのみ用いるべきである。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者七戸新太郎の論文は、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学位論文の審査等に合格と認めた。