



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                                                                        |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | Studies on the phylodynamics and pathogenicity of swine and avian influenza viruses [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review] |
| Author(s)           | 峯, 淳貴                                                                                                                                                  |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                                                                  |
| Degree Name         | 博士(獣医学)                                                                                                                                                |
| Dissertation Number | 乙第7144号                                                                                                                                                |
| Issue Date          | 2021-09-24                                                                                                                                             |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/83349">https://hdl.handle.net/2115/83349</a>                                                                      |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>                                                |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                                                        |
| File Information    | MINE Junki_abstract.pdf, 論文内容の要旨                                                                                                                       |



## 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：峯 淳貴

### 学位論文題名

## Studies on the phylodynamics and pathogenicity of swine and avian influenza viruses

（豚及び鳥インフルエンザウイルスの遺伝的動態と病原性に関する研究）

インフルエンザはオルソミクソウイルス科インフルエンザウイルスを原因とする感染症である。インフルエンザウイルスはその遺伝子、抗原性の違いにより A から D 型に分かれるが、ヒト、ブタ、鳥含む様々な動物に感染し、人獣共通感染症として問題を引き起こすのは A 型インフルエンザウイルス（IAV）である。IAV は 8 分節の遺伝子を有するマイナス鎖の一本鎖 RNA ウイルスであり、一つの細胞に複数のウイルスが感染した際に遺伝子の交換を行うことがある（遺伝子再集合）。IAV は表面蛋白であるヘマグルチニン（HA）およびノイラミニダーゼ（NA）の亜型により、H1 から H18、N1 から N11 に分類され、自然宿主であるカモなどの水禽類はこれらのウイルス（H17、H18、N10、N11 亜型のウイルスを除く）を有している。多様な亜型のウイルスが存在する中で、自然界でニワトリに対して高い病原性を示す鳥インフルエンザウイルス（AIV）は H5 亜型と H7 亜型の AIV に限定されている。亜型や遺伝的特徴は宿主により異なるものの、遺伝子再集合により新たな宿主で増殖可能なウイルスが選抜されることがある。豚インフルエンザウイルス（IAV-S）は単独あるいは他の病原体との共感染により養豚場に経済的損失を与える。さらに、2009 年のパンデミックを引き起こしたウイルスのように、他のウイルスとの遺伝子再集合によりパンデミックを起こす能力を獲得する可能性があることから、ウイルスを監視することの重要性が増している。本研究は、国内あるいは世界で分離された IAV-S および AIV について遺伝子情報に加え時期情報、位置情報を加味した系統解析を行うことで、ウイルスの特徴や拡散の背景を詳細に明らかにすることを目的とした。近年の IAV-S の浸潤状況が追究されていなかった日本およびタイの養豚場において分離された IAV-S について時期情報を加味した遺伝子解析を行い、両国で循環している IAV-S の特徴と養豚場内での動態の解析を試みた。さらに、2017-2018 年冬季に日本で分離された H5N6 亜型高病原性 AIV（HPAIV）の病態を明らかにし、時期情報と位置情報を加えた系統解析により日本でウイルスが拡散する経路の解明を試みた。

日本においては、1970 年以降散発的に IAV-S が分離された報告があるものの、養豚場における IAV-S の循環状況を示すデータは少なく、地域も限られている。

そこで第Ⅰ章では、2015年から2019年の間に国内の21道県のブタから分離された424株のIAV-Sについて遺伝子の系統学的な解析を試みた。その結果、356株のIAV-Sは1A.1 classical swine 系統に属するH1遺伝子を有しており、この遺伝子是他国のIAV-Sのものとは遺伝的に大きく異なる独立したクレードを形成した。一方、2015年から2019年に分離された15株のH3N2亜型IAV-Sは全て近縁であったことから、国内の豚群に定着していることが示唆された。さらに、2009年にパンデミックを起こしたH1N1ウイルスのHA遺伝子を有するIAV-Sが53株分離された。本研究で分離されたIAV-Sは1株を除き全てのIAV-Sが2009年にパンデミックを起こしたH1N1ウイルス由来の遺伝子を有していたことから、1970年以降国内で循環していた日本のIAV-Sと遺伝子再集合を起こしていることが示唆された。以上の結果は、近年の国内流行株の遺伝的特徴を示しており、有効なワクチンの開発につながる基礎的知見である。

第Ⅱ章では、2011年から2017年にかけてタイの2県4養豚場において継続的にIAV-Sをモニタリングし、合計で169株のIAV-Sを分離した。このうち82株は2009年にパンデミックを起こしたH1N1亜型ウイルス由来であった。また、87株のH3N2亜型IAV-Sの内部遺伝子は全て2009年のパンデミックウイルス由来の遺伝子に置き換わっていたことから、遺伝子再集合が起こったことが示唆された。呼吸器症状を示すブタが頻繁に報告されていた2つの養豚場において、H1N1亜型およびH3N2亜型IAV-Sの抗原性が変化したことが継続的なIAV-Sのモニタリングにより明らかになった。系統解析の結果、この農場では抗原性の異なる2種類のウイルスが侵入することで、あるいは1種類のウイルスがHA遺伝子への変異の蓄積により抗原性が変化していることがわかった。以上の結果は、IAV-Sが実際に野外でどのように多様性を獲得し進化していくかを明らかにするものである。

1996年にGoose/Guangdong 系統のH5亜型HPAIVが中国で発生を起こして以降、このウイルスは世界中に拡散し20年以上にわたり循環し続けている。国内での最初の発生は2004年に報告され、以降近年まで家禽および野鳥に脅威を与えている。2017-2018年冬季には、アジアならびにヨーロッパで同時期にH5N6亜型HPAIVによる発生が記録された。アジアでは2017年11月に韓国で最初の発生が報告された後、2017-2018年冬季に家禽の高病原性鳥インフルエンザが香川県で発生し、また島根県、東京都、兵庫県において、死亡野鳥から同じ亜型のウイルスが検出された。第Ⅲ章では、2017-2018年冬季に家禽ならびに野鳥から分離されたH5N6亜型HPAIVの遺伝的由来と、ニワトリに対する病原性ならびに伝播能を明らかにした。時期系統解析を行った結果、2017-2018年冬季に日本で発生を起こしたH5N6亜型HPAIV（香川株及び日本野鳥株）は、ヨーロッパのH5N8亜型HPAIVと野鳥のN6亜型AIVが、日本野鳥株については2016年夏季に、日本家禽株については2017年夏季に遺伝子再集合を起こし出現したと推定された。香川株についてニワトリにおける50%致死量（EID<sub>50</sub>）を調べたところ、過去に日本で発生を起こしたH5亜型HPAIVに比べて10倍以上多かった。また、過去のH5亜型HPAIVにおいては、感染した1羽のニワトリから同居した6羽全てのニワトリへの伝播が成立していたものの、香川株では成立しなかった。以上の結果から、香川株のニワトリに対する

病原性は過去に日本で発生を起こした H5 亜型 HPAIV に比べて低く、また伝播能も低いことが示された。2017-2018 年冬季に日本で流行した HPAIV のニワトリに対する病原性が低いことと伝播能の低さは、当該シーズンの流行が大きく広がらなかったことの要因の一つと考えられる。

第 IV 章では、2017-2018 年冬季の H5N6 亜型 HPAIV の N6 遺伝子を含む世界中の AIV の N6 遺伝子を地理的・系統的に解析することで、AIV の拡散動態ならびに渡り鳥の移動との関連性を明らかにした。2018 年 1 月の高病原性鳥インフルエンザ発生原因となった H5N6 亜型 HPAIV の N6 遺伝子を含む 163 株の AIV の NA 遺伝子、2019 年 1 月時点でデータベース (GISAID) に登録されていた 3720 株全ての N6 遺伝子データを収集し地理系統解析を行った。その結果、モンゴルあるいはシベリアの HxN6 亜型 AIV がヨーロッパの AIV と近縁である事例、アジアの AIV と近縁である事例、そしてその両方とも近縁である事例が確認された。このことは、この地域がユーラシア大陸の長距離拡散に重要であることを示唆している。また、近縁な N6 遺伝子を有する AIV が、ユーラシア大陸内だけでなくユーラシア大陸—北アメリカ大陸間、ユーラシア大陸—アフリカ大陸間の長距離を拡散している例が確認された。これらの事例を渡り鳥の飛行経路と照らし合わせると、AIV の広範囲拡散は渡り鳥の飛行経路が関与しており、複数の飛行経路が重なる地点はウイルス拡散の中継点として重要であることが示唆された。

本研究は、IAV-S の養豚場での動態や日本の流行状況、AIV の国間、大陸間の拡散機構の一端を遺伝子情報だけでなく、時期情報、位置情報を加味した系統解析により明らかにしたものである。今後、日本および世界の IAV-S や AIV 循環状況を最新の遺伝子解析手法で把握し続けることが、近年流行株に見合ったワクチンの選定や国内に侵入しうる HPAIV の予見といった、現場へ還元できる対策へつながると期待される。