



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on functions of envelope glycoproteins in replication and pathogenicity of influenza A viruses
Author(s)	小林, 大樹
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第16956号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16956
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99801
Type	doctoral thesis
File Information	Daiki_Kobayashi_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



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：小林 大樹

審査委員	主査	特任教授	荻和 宏明
	副査	教授	迫田 義博
	副査	准教授	松野 啓太
	副査	准教授	日尾野 隆大

学位論文題名

**Studies on functions of envelope glycoproteins
in replication and pathogenicity of influenza A viruses**
(インフルエンザ A ウイルスの複製および病原性発揮における
表面糖タンパク質の機能に関する研究)

インフルエンザ A ウイルスは哺乳動物および鳥に広範な宿主域を持ち、主に急性の呼吸器感染症を引き起こす。ウイルス表面にはヘマグルチニン (HA) とノイラミニダーゼ (NA) の 2 種類の表面糖タンパク質が存在する。HA は標的細胞表面のシアロ糖を認識しウイルス感染を惹起し、NA は糖鎖末端のシアル酸を切断しウイルスの細胞からの遊離を促進する。したがって、HA と NA の拮抗する機能バランスはインフルエンザ A ウイルスの感染環の維持に重要である。鳥インフルエンザはインフルエンザ A ウイルスに起因する家禽の疾病である。本ウイルスの自然宿主であるカモの有する非病原性の鳥インフルエンザウイルス (AIV) が他の水生家禽や陸生家禽に伝播する過程を経るとニワトリへの感染性を獲得することがある。また、ウイルスが鶏群内で感染伝播を繰り返すと、HA 亜型が H5 あるいは H7 のウイルスではニワトリに対して致死的な病原性を示すウイルスが出現することがある。そのため、本疾病の制御には AIV の宿主間伝播およびニワトリにおける病原性獲得機構の解明が必須である。

野生のカモ類が持つ非病原性の AIV は $\alpha 2, 3$ シアロ糖を受容体とする。 $\alpha 2, 6$ シアロ糖を受容体とするヒト由来インフルエンザウイルスの HA には、 $\alpha 2, 6$ シアロ糖を提示する糖鎖の幹部分の伸長や分岐に特異性を示すものがあるが、AIV ではこれらに対する特異性が明らかではない。そこで小林氏は、AIV の組換え HA とウイルス粒子を用い、長さや局所密度の異なる $\alpha 2, 3$ シアロ糖に対する結合特異性を比較した。組換え HA は糖鎖密度が高いポリマーに強く結合したが、糖鎖密度が著しく高いポリマーとの結合性は低かった。これは、ポリマー上の多くの $\alpha 2, 3$ シアロ糖が HA との結合に関与しておらず、著しく高い密度の糖鎖は HA との結合を弱めると考えられる。一方、ウイルス粒子は低い密度の糖鎖にも高い結合性を示し、ウイルス

粒子上に存在する複数の HA が複数の糖鎖リガンドと相互作用することで結合性を保っていると考えられた。本手法を用いることにより、小林氏はウイルス粒子と糖鎖の結合における複雑な相互作用や糖鎖密度による影響の評価を可能にした。

AIV の NA のストック領域はニワトリ由来株においてアミノ酸欠失を認めることがある。先行研究では、非病原性 AIV の遺伝子改変とニワトリ接種継代により、NA ストック領域のアミノ酸が 5 か所の *N* 型糖鎖付加部位を含む形で欠失し、かつニワトリに致死的な病原性を示す株を得ている。そこで小林氏は NA ストック領域の糖鎖欠損およびアミノ酸欠失が AIV のニワトリに対する病原性を高める分子基盤の解明を試みた。アミノ酸置換により糖鎖のみを欠損した NA を持つ組換えウイルスの遺伝子は不安定だった。そこで遺伝子の不安定性を代償するアミノ酸置換を加えた変異株を用いたところ、糖鎖欠損ウイルスは糖鎖を持つ親株と比較してニワトリに対して高い病原性を示した。また、糖鎖欠損ウイルスはアミノ酸欠失ウイルスと同様に赤血球遊離能が低かった。以上より小林氏は、NA ストック領域の糖鎖欠損はアミノ酸欠失と同様に NA の機能を低下させ、ウイルスのニワトリに対する病原性を増強させることを明らかにした。

インフルエンザ A ウイルスの NA はウイルス粒子上でシアル酸を遊離する機能を持つが、細胞内での成熟過程や機能は明らかになっていない。小林氏は NA の細胞内機能を調べるため、犬腎臓由来株化細胞（MDCK 細胞）にウイルスを接種し、その表面糖鎖構造をレクチンで解析した。その結果、ウイルス感染 MDCK 細胞では非感染細胞と比較して、末端にガラクトースや α 1-2 フコースを持つ糖鎖が増加していた。 α 1-2 フコース転移酵素はゴルジ体内に局在し、シアル酸転移酵素と拮抗することから、ウイルス感染細胞内で NA はシアル酸を遊離する機能を持つことが示唆された。また、ウイルス感染細胞上の糖鎖の経時的変化を観察したところ、末端シアル酸の遊離と α 1-2 フコースの転移は、感染細胞内でのウイルスタンパク質の発現と経時的に一致した。これらの観察結果より、NA が粒子形成前の感染細胞内ですでに活性を有しており、末端シアル酸の遊離によりシアル酸転移酵素と拮抗する糖転移酵素が糖鎖修飾できるようになることを示した。

以上、小林氏の研究により明らかになった知見は、インフルエンザ A ウイルスの生態と病原性発揮機構の解明に貢献するとともに、抗ウイルス薬の開発に対して新たな視点を提供するものである。本研究成果はインフルエンザ A ウイルス感染症の制圧および制御に資することが期待される。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者小林大樹氏の学位論文は、北海道大学大学院国際感染症学院規程第 10 条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。