

厚生省
平成10年度

平成10年度厚生科学研究費補助金
(新興・再興感染症研究事業)

研究報告書

インフルエンザ大流行に備えた
危機管理対策の確立に関する研究

平成11年3月

主任研究者 **田代真人**
(国立感染症研究所ウィルス製剤部)

厚生省
平成10年度

平成10年度厚生科学研究費補助金
(医薬安全総合研究事業)

研究報告書

新型インフルエンザワクチンの
開発・製造・品質管理に関する研究

平成11年3月

主任研究者 **田代真人**
(国立感染症研究所ウィルス製剤部)

インフルエンザ大流行に備えた危機管理対策の確立に関する研究

平成10年度 研究組織

主任研究者

田代 真人 国立感染症研究所 ウイルス製剤部 部長

分担研究者

喜田 宏 北大獣医学部 教授

中島 捷久 名古屋市立大医学部 教授

中村喜代人 山形大医学部 教授

鈴木 康夫 静岡県立大 教授

小田切孝人 金沢医大 助教授

中島 節子 国立公衆衛生院 室長

黒田 和道 大阪薬科大 助教授

水田 克巳 国立仙台病院 副センター長

菅谷 憲夫 日本鋼管病院 部長

協力研究者

永田 恭介 東京工業大学

鈴木 宏 新潟大学医学部

目 次

1.総括研究報告書	主任研究者	田代 真人	1-10	頁
2.分担研究報告書				
(1) 香港のマーケット、養鶏場の家禽および野鳥のインフルエンザ疫学調査		喜田 宏	11-12	頁
(2) H5 インフルエンザに対する試製ワクチンによる感染防御		喜田 宏	13-14	頁
(3) 新型ウイルスのヘマグルチニン亜型の予知と流行防止のための疫学調査		喜田 宏	15-17	頁
(4) 1997年に香港でニワトリとヒトに感染したH5N1 インフルエンザウイルスのニワトリとマウスに対する病原性試験		喜田 宏	18-19	頁
(5) インフルエンザウイルスHA蛋白質機能の動的変化に関する研究		中島 捷久	20-21	頁
(6) アジア型インフルエンザウイルスのヘマグルチニン蛋白の 抗原構造に関する研究		中村喜代人	22-25	頁
(7) インフルエンザウイルスの宿主域およびその変異機構に関する研究		鈴木 康夫	26-29	頁
(8) B型インフルエンザウイルスBM2蛋白の性状および 機能解析に関する研究		小田切孝人	30-33	頁
(9) B型インフルエンザウイルスの2系統への分岐の解析		中島 節子	34-35	頁
(10) 抗インフルエンザウイルスCTLのウイルス増殖抑制活性に関する研究		黒田 和道	36-38	頁
(11) 仙台市におけるインフルエンザウイルス感染症の発生と 気象条件(絶対湿度)の関係について		水田 克巳	39-47	頁
(12) 小児科入院からみたインフルエンザ流行のインパクト、 RSウイルス流行との比較		菅谷 憲夫	48-54	頁
3. 協力研究報告書				
(1) H5およびH7亜型A型インフルエンザウイルスの検出系の確立に関する研究		永田 恭介	55-57	頁
(2) 高齢者におけるインフルエンザワクチンの有効性 (海外論文の文献的評価)		鈴木 宏	58-75	頁
4. 関連研究の学会報告および論文掲載 分担報告書に記載			76-81	頁

総括研究報告書

インフルエンザ大流行に備えた危機管理対策の確立に関する研究

主任研究者 田代 真人 国立感染症研究所ウイルス製剤部長

高齢・者社会に向かった総合的なインフルエンザ対策の中で、新型インフルエンザによる大流行に対する準備体制の確立と健康危機管理・社会危機管理としての対応方針の確立を目的として、(1) 流行規模、被害状況、社会的影響等の予測とシミュレーションおよび各状況に置けるシナリオの作製、(2) 各シナリオにおける被害の最小化を図るための準備と対応、および社会危機管理への対応策の検討、(3) 大流行出現に関与するウイルス側および生体側要因の解明と大流行予測方法の確立、(4) 新型ウイルスに対する緊急ワクチン開発・製造・供給体制の確立の4点から調査研究および基礎研究を行った。また、(5) 新たな問題としてインフルエンザ脳炎・脳症の実態の把握と対策の必要性の検討、(6) 高齢者に対するインフルエンザワクチンの効果と副作用に関する文献的考察を行った。平成9年の厚生省新型インフルエンザ対策検討会報告書および香港で出現した新型インフルエンザH5N1型における教訓をもとに、今後、基本方針の補足改訂と、各項目についての具体的な行動マニュアルを緊急に策定する必要がある。

A. 研究目的

インフルエンザは毎年のように流行を繰り返し、高齢者を中心としたハイリスク群に重症化と死亡をもたらすことが大きな社会問題となっている。更にA型インフルエンザは、数十年に一度の割合で「新型」ウイルスが出現して世界的な大流行を起こす。近くこの様な事態が起こることが想定されているが、この場合には、近年の生活環境の変化によって短期間に集中して感染が拡がり、未曾有の大被害と大きな社会的混乱が生じることが予想される。欧米ではインフルエンザ大流行に対する国家レベルでの危機管理対策の策定・実施が進んでいるが、これに反してわが国では、ワクチン摂取率が極端に低下するなどインフルエンザに対

する危機意識が低下しており、現状では、大流行の際には健康問題のみならず、政治・経済・社会を含めた大混乱が生じることが危惧される。一方、平成9年暮れの香港におけるH5N1型トリインフルエンザの出現や、高齢化社会を迎えて、老人施設等におけるインフルエンザによる健康被害の問題、さらに若年者におけるインフルエンザ脳炎・脳症が社会的な大きな問題として取り上げられ、インフルエンザ対策に対する社会の期待は大きくなっている。

そこで、新型インフルエンザ対策は普段からの通常のインフルエンザ対策の延長線上にあるとの認識の下に、わが国におけるインフルエンザ対策全般の再構築を目的として、それに資するための基礎データを収

集するための調査研究と対策の方向性を検討するための基礎研究を行った。

主任研究者

田代 真人 国立感染症研究所ウイルス製剤部長

分担研究者

喜田 宏 北海道大学獣医学部大学院
家畜衛生学講座教授

中島 捷久 名古屋市立大学医学部
ウイルス学講座教授

中島 節子 国立公衆衛生院微生物部
分子疫学室長

中村喜代人 山形大学医学部
細菌学講座教授

鈴木 康夫 静岡県立大学薬学部
生化学講座教授

小田切孝人 金沢医科大学
微生物学講座助教授

黒田 和道 大阪薬科大学
第二微生物学講座助教授

水田 克巳 国立仙台病院
ウイルスセンター長

菅谷 憲夫 日本鋼管病院小児科部長

協力研究者

岡崎 克則 北海道大学獣医学部大学院
家畜衛生学講座助教授

高田 礼人 北海道大学獣医学部大学院
家畜衛生学講座

鈴木 宏 新潟大学医学部
公衆衛生学講座教授

葛西 健 厚生省保健医療局
結核感染症課専門官

B. 研究方法

本研究は、高齢者社会に向かいつつあるわが国における総合的なインフルエンザ対策の中で、新型インフルエンザによる大流

行に対する準備体制と対応に関して、(1) 流行規模、被害状況、社会的影響等の予測とシミュレーションおよび各状況に置けるシナリオの作製、(2) 各シナリオにおける被害の最小化を図るための準備と対応、および社会危機管理への対応策の策定、(3) 大流行出現に關与するウイルス側および生体側要因の解明と大流行予測方法の確立、(4) 新型ウイルスに対する緊急ワクチン開発・製造・供給体制の確立の4点から調査研究および基礎研究を行っている。これまでの研究成果を踏まえて、平成9年度に設置された厚生省新型インフルエンザ対策検討会において様々な方向から検討が重ねられ、平成9年10月24日に報告書としてまとめられたが、更にこの報告書に盛り込まれた行動指針に基づいて、平成9年5月に香港で出現した新型インフルエンザH5N1型に対する対応が図られ、情報収集、技術支援、ワクチン開発の面で国際的な貢献を果たすとともに、国内に於いても大きな混乱を避けるための行動を検討した。

本年度は、これらの研究目的に沿った研究を進めるとともに、香港におけるH5N1型インフルエンザ出現における様々な教訓を下に、新型インフルエンザ対策の再検討と具体的行動計画の策定に資する検討を行った。特に、緊急時におけるワクチン開発に関しては、予め各亜型の弱毒型ウイルスを保存しておくことが重要であり、その準備を検討した。さらに、高齢化社会を迎えて、老人施設等におけるインフルエンザによる健康被害の問題、および若年者におけるインフルエンザ脳炎・脳症が社会的な大きな問題として取り上げられ、インフルエンザ対策に対する社会の期待は大きくなっている。そこで、これらの新たな問題についても専門家による検討会を開催して、実

態の把握と今後の対応の在り方を検討した。

C. 研究結果

1) 香港におけるH5N1型インフルエンザに対する研究

(1) H5N1型インフルエンザウイルスの病原性に関する研究

1997年に香港で出現し、ヒトに致死的な感染をもたらしたH5N1ウイルスについて、ニワトリとマウスにおける病原性を検討した。香港のウイルスは抗原的に2つのグループが区別されるが、いずれのウイルスもニワトリに全臓器指向性の致死感染を起こした。病理機序としては、血管内皮系に感染して障害をもたらす、凝固系の破綻が生じていることが示唆された。一方、マウスにおいてはウイルス株の違いによって病原性に差異が認められた。いずれのウイルスもヘマグルチニン(HA)の解裂性は同じであるので、それ以外の因子が病原性を規定しているものと考えられる。今後、弱毒型のワクチン製造株を設計する際の基本情報として、更に検討を加える必要がある。

(2) H5N1型インフルエンザに対する試作ワクチンの開発と効果の検討

1997年に香港で出現し、ヒトに致死的な感染をもたらしたH5N1ウイルスの様な病原性の高いウイルスは、安全性確保と生産効率の両面から、そのままワクチン製造株として用いることは出来ない。そこで、強毒性を規定しているH5N1ウイルスのヘマグルチニン(HA)遺伝子をリバーシ・ジェネティクスを応用して改変し、弱毒化した感染性ウイルスを回収することに成功した。この弱毒化ウイルスおよび渡りカモから分離したH5型の弱毒株ウイルスについて、不活化ワクチンを試作した。これらをマウスの免疫して、強毒型ウイルス

による感染・発症を防御出来るか否かを検討した。その結果、いずれのワクチンも感染防御免疫を誘導しうることが示された。新型インフルエンザ出現に際して、緊急ワクチン開発のためには、リバーシ・ジェネティクス技術を確立しておくことと、各亜型の弱毒株ウイルスを保存しておくことが必要であり、且つ有効であることが実証された。

(3) 香港のマーケット、養鶏場の家禽および野鳥におけるインフルエンザに対する疫学調査

香港におけるH5N1型インフルエンザの感染源、起源を明らかにする目的で、家禽および野鳥からのウイルス分離を行った。1997年12月末、トリを殺処分する直前に、香港のマーケットのニワトリ、アヒルおよびガチョウから採取された検体から、H5N1型を含む多くのトリインフルエンザウイルスが分離された。一方、農場、動物園、公園等の鳥類、けっ歯類、イヌ、ネコ等からはウイルスは分離されなかった。この成績は、香港におけるヒトへのH5N1型ウイルスの感染は、マーケットのトリから直接・間接に起こった可能性が高いことを示唆している。

2) 新型インフルエンザの出現予測法の確立に関する研究

(1) 新型ウイルスの亜型の予知に関する疫学調査

日本・中国を含む東アジアの渡りガモはシベリアを営巣地としている。そこで、シベリアの湖沼において水禽が保持しているA型インフルエンザウイルスの亜型を検討した。その結果、様々な亜型のウイルスが保持されており、これらのNPおよびH5HA遺伝子の系統進化を解析した結果、新型インフルエンザの直接の起源がこれらの

水禽類にあることが判明した。新型インフルエンザの亜型を予知するためには、今後、シベリアを含むアジア地域で、トリのインフルエンザの疫学調査を定期的に行う必要があるものと考えられる。

(2) インフルエンザウイルスの宿主域規定機構及びそれを乗り越える機序に関する研究

A型インフルエンザはトリ、ブタ、ヒトなどを宿主とする人獣共通感染症であるが、一般に、ある動物種の間で伝播されているウイルスは、それぞれ固有の宿主に局限して感染する傾向にある。これは、主にトリのウイルスをヒトのウイルスのレセプター認識特異性が異なるためであると考えられている。一方、新型ウイルスの出現は、トリのウイルスがブタを介してか、または直接にヒトに感染することにより起こるが、このためには種の壁を越えて感染が成立する必要がある。そこで、この機序を検討した。(a) 香港および中国南部で分離されたトリインフルエンザウイルスのレセプター認識特異性、(b) これらのウイルスがトリからヒトへ伝播された後のレセプター認識特異性の変化、および(c) レセプター破壊酵素であるNAの基質特異性について調べた。

その結果、レセプター特異性は絶対的なものではなく、トリウイルスの特異性は $2\alpha-3 > \alpha 2-6$ であるが、ヒトウイルスのレセプターである $\alpha 2-6$ もある程度認識するので、トリのウイルスが直接ヒトにも感染できる可能性がある。これは、香港のH5N1型ウイルスについても同様であった。一方、ヒトのH3香港型ウイルスでは、1968-1975年までのウイルスは $\alpha 2-3$ のトリ型レセプター認識特異性を持っていたが、1997年以降はすべて $\alpha 2-6$ を認識するヒト型に変化していた。従っ

て、一旦種の壁を越えると、新しい種に適応してレセプター認識特異性が変化するものと考えられる。

(3) 新型ウイルスによる大流行の可能性予測に関する研究

新型ウイルス出現の機構と大流行に関する科学的予測および有効なワクチンの設計・作製方法の確立および抗ウイルス剤の開発を目的として、これらに必要な基礎研究を進めた。H1及びH3亜型のHA遺伝子の抗原変異能力の限界とレセプター認識機序の関係、および新型ウイルス出現の際のレセプターに対する競合性を検討し、新型ウイルスが出現した後に、以前の流行株を駆逐して大流行に結びつく条件を検討した。

(4) H2アジア型インフルエンザHA蛋白の構造に関する研究

H2アジア型インフルエンザが10年という短期間で消えた理由の解明、およびH2型の再出現に備えてHAの抗原構造の解析を進めた。その結果、H1、H3型に比べて、抗原変異にとまなう機能的な拘束が強い可能性が考えられた。

3) 大流行の被害を最小限に留めるための政策の検討

大流行による健康被害・社会的影響を最小限に留めるために、各シナリオに応じて、ワクチン政策、抗ウイルス剤の認可を含めた有効で実行可能な準備体制と対応体制および健康危機・社会危機管理のための方策、更に現状におけるその効果と限界についても検討した。さらに、大流行対策の基本となる通常のインフルエンザに対する流行対策も検討した。

(1) B型インフルエンザウイルスの2系統への分岐の解析

B型インフルエンザは1970年代に遺伝的に2系統に分岐し、その後各々が独

立に進化している。欧米ではそのうちの山形系統のみが流行しているが、中国や日本では、1990年代から両系統が共存する傾向にある。両系統のウイルスは抗原的にほとんど交叉しないので、ワクチン株の選択には両系統を考慮する必要がある。

(2) インフルエンザの発生と気象条件の関係の検討

仙台市を中心に、インフルエンザウイルスの分離数と気象条件を検討した。その結果、絶対湿度 5.2 g/m^3 以下でインフルエンザの流行が始まり、 5 g/m^3 前後を越すと終息に向かい、 10 g/m^3 以上で分離されなくなった。日本では、絶対湿度のモニターがインフルエンザ流行の開始時期および終息時期の予測に役立つと考えられる。しかし、東南アジアではインフルエンザの流行は主に雨期であり、またアジアかぜや香港かぜの最初の流行は夏季に起こっていることから、更に検討を加える必要がある。

(3) 小児科入院から見たインフルエンザ流行のインパクト

特に基礎疾患のない小児においても、インフルエンザはRSウイルスと並んで入院の大きな原因となっており、ワクチン接種の対象として積極的に考慮すべきである。

4) 新型インフルエンザワクチンの開発に資する基礎研究

(1) B型インフルエンザウイルスのBM2蛋白の性状および機能解析

新型インフルエンザウイルスの出現は、主に遺伝子分節の再集合によるが、これに関するウイルス粒子形成機序の検討を進めている。A型とは異なり、B型では新亜型の出現はないが、ワクチン株の開発を効率良く進めるための粒子形成機構の解析モデルとしては有用である。B型ウイルスに新た

に見つかったBM2蛋白について、粒子形成との関連で解析を進めているが、この蛋白がウイルス粒子に取り込まれることが明らかにされ、更に感染性の発現に関与することが示唆された。

(3) 現行インフルエンザワクチンの有効性に関する文献の検討

過去10年間に発表されたインフルエンザワクチンの効果および副作用に関する世界の文献を検索し、その内容について批判的な検討を加えた。その結果、現行ワクチンの効果は100%では無いものの、高齢者においても十分に有効性を持っており、広く使われるべきものであるとの結論が得られた。また、副作用も重篤なものはほとんど無く、安全性の面でも問題の少ないものであると評価された。

5) インフルエンザ脳炎・脳症の実態および今後の対策に関する検討

2~3年前から、小児においてインフルエンザの流行時期に一致して、急激な経過をとり、予後不良な脳炎・脳症の報告が増加している。そこで、以前から指摘されていたライ症候群との異同を含めて、その実態を把握し、治療法・予防法の開発等の対策を検討するために、約20名からなる専門家会議を開催した。その結果、毎年約1000人の患者が出現し、約20%が死亡しているものと推定された。病態に関しては不明であるが、ウイルスの直接的侵襲よりも、サイトカイン等の宿主反応を介した病理機構が想定された。外国ではこのような疾患はほとんど報告されておらず、今後実態解明のための研究を推進する必要性が強調された。

この検討会の成果をもとに、平成10年どのインフルエンザシーズンでは、脳炎・脳症の全例が届出られることになり、その

実態解明が一步前進した。

6) 新型インフルエンザ対策指針の再検討および新型インフルエンザ対策の課題の再整理

以上の検討および香港におけるH5N1型インフルエンザに対する対応の反省を教訓にして、厚生省新型インフルエンザ対策検討会報告書について再検討を進め、また具体的な研究主題について検討を行った。

その結果、以下の様な問題を緊急に解決する必要があることが指摘された。

ウイルス学

a) インフルエンザウイルスライブラリーの構築：すべての亜型のトリ由来の代表的なウイルスを収集し、性状を解析して、速やかにワクチン製造株および診断キットの作製に応用できる体制を作っておく。

b) 抗原変異予測法の確立：

新型インフルエンザの出現機序およびこれが大流行に結びつく条件の解明

免疫学

c) 万能ワクチンの開発：亜型を越えて、また連続抗原変異にも対応できる様なワクチンの開発が必要である。

d) 経鼻ワクチンなどの新しい接種法の検証：簡便、確実かつ安全な投与方法の確立

e) ワクチン製造の短縮化：緊急時のワクチン大量製造に必須。検定法の改良も必要

f) 有精卵を用いないワクチン製造方法の確立：抗原的により有効なワクチンの安定供給に寄与する。

薬学

g) 抗インフルエンザ薬の開発：

緊急時の治療薬、重症化防止のために

アマンタジン、ニューラミニダーゼ阻害剤を越える、強力な抗インフルエンザ薬を開発する必要がある。

疫学

h) サーベイランス体制の強化

i) 流行評価と警戒警報体制の確立

公衆衛生学

j) ハイリスク群へのワクチン接種の有効性の検証

k) 抗インフルエンザ薬（アマンタジン、ニューラミニダーゼ阻害剤）の予防内服効果に対する評価

l) 予防接種を再度普及させるための方策作り

m) パンデミーの際の医療サービスの提供と確保体制の確立

n) パンデミー警報下でのワクチン接種の優先順位づけ

社会経済学・法学

O) パンデミー発生時の社会的経済的損失の推測

p) 近隣諸国へのワクチン製造技術移転

q) パンデミー時の公権力行使と個人の権利

D. 考察

先進諸国の中で、わが国におけるインフルエンザ対策が極端に立ち後れていたが、両3年の間に基本的な取組が積極的に行われている。今後ワクチン政策の新型インフルエンザ出現による世界的な大流行が危惧されているが、これに対する準備と対応は、毎年起こる通常のインフルエンザ対策の積み重ねの上に有効性が期待されるのであり、通常のインフルエンザ対策を確立しておくことが大前提となる。特に、サーベイラン

ス体制の充実整備とそこから得られた情報の適切な評価・還元・共有体制の確立、ワクチン政策を中心とした感染・発症防御体制の確立と抗ウイルス剤の許認可を含む流行時における対策、健康被害・社会的影響に対応するための健康危機管理体制の確立の3点について、早急に検討する必要がある。これらは一国のみで出来るものではなく、国際的な協力体制が必要であるので、この方面での検討も必要である。

本研究班を中心とした検討を含めて、厚生省新型インフルエンザ対策検討会で議論が進められ、平成9年10月24日に報告書が纏められた。この英語訳も編集されて、国際的に検討されることになっている。今後は、ここに示された方針に沿って、準備体制の確立と具体的な行動マニュアルの作製を図る必要がある。

特にワクチン政策に関しては、ハイリスク群に対する現行ワクチンの積極的な接種を進めるために、社会の理解と同意が得られるようなデータの収集と活用、広報活動が必要である。一方では、ワクチンの生産体制、供給体制、接種体制等の再構築を図る必要もある。

ワクチンに関しては、現行のワクチンの範囲内で、緊急事態に対応するための行動指針を確立しておくことが現実的な対応として必要である。しかし長期的展望に立ってインフルエンザワクチン政策を考えると、現行のワクチンの壁を大きく越えた次世代のワクチン開発が不可欠である。そのためには、流行株の出現様式の解明とこれを予測する科学的技術の開発、感染防御・発症阻止に必要かつ有効な免疫機構の解明とその賦活法の開発、最新の技術を駆使した有効なワクチン製剤の開発と実用化への努力を続ける必要がある。従って、これらに関する基礎研究を積極的に進展させることが

重要である。

香港においてトリからヒトへの新型インフルエンザウイルスの伝播が認められ、大流行への端緒かと危惧されたが、感染源となるトリを殺処分にして感染の拡大を絶つという政策が奏功して、現在のところ大流行の危機は回避されている。この一連の動きの中で、厚生省は新型インフルエンザ対策検討会及びその報告書で討議された方針に沿って国内及び国際的な対応を進めたが、概ね大きな問題もなく解決し得たと評価できよう。しかし、インフルエンザ対策の総論的な方針が提起されたのみの状況で、組織・予算等の準備もなく、具体的な政策立案・執行・行動を模索検討して実施せねばならず、実際の場面においては、細部においては幾つかの問題点も指摘されることはやむを得ないことである。これらを反省材料として、今後速やかに、インフルエンザに対する準備・対策方針の批判的な再検討と、各項目における具体的な行動マニュアルを緊急に作製する必要がある。この準備体制の確立を怠っては、インフルエンザ対策の実効は期待できない。

一方、平成11年3月になって、中国南部から香港へ輸入されたガチョウからH5N1型インフルエンザウイルスが新たに分離されたとの報告があった。これは平成9年のウイルスとは異なるものであり、新たな新型の火種が依然として中国南部に存在していることを示している。

更に、同じく香港でH9N2型の新たなトリインフルエンザウイルスが二人の小児の患者から分離されたとの非公式な報告が入ってきた。これらに対しては、今後速やかに対応を検討する必要があるが、このように、新型インフルエンザの出現は予想以上に頻繁に起こっているのかもしてない。これらが、大流行に結びつくのか否かを予

測する方法の確立が急務である。

従って、本研究の目的に沿って、来年度以降は、更に研究者の充実を図り、検討を続ける必要があるものと判断される。

インフルエンザの脳炎・脳症に関する研究会

7月24日13:00から17:20まで、新興・再興感染症研究事業「新型インフルエンザに関する研究」（班長：国立感染症研究所ウイルス製剤部田代部長）主催で標記研究会を開催した。研究会は、患者の発生状況に関する考察、患者の背景因子について、治療方法について、ワクチンの効果について、の4点について専門家の意見を討議しながら収束させる手法（デルファイ手法）を用いて研究会を行った。

結果

1. 患者の発生状況に関する考察

①脳炎・脳症の診断（定義）について

インフルエンザウイルスの感染が確認された症例で、脳炎・脳症が発症していること、インフルエンザの流行と脳炎脳症の発症に疫学的な関係が見られることから、インフルエンザウイルス感染によって脳炎・脳症が発生している。

②発生の機序について

ウイルス血症によって脳障害が起きている可能性が高い。このほか、サイトカイン、血管内皮障害の可能性も指摘されたが、仮説の域に留まっている。

③発生頻度について

97年から98年のシーズンには、全国で100例から200例の死亡例があったと推定される。発生数については、定義の取り方によって大きく変わることから、研究会としては推定できない。発生率及び死亡率は、年ごとに大きな変化はない。

2. 患者発生の背景因子について

患者の好発年齢は、2歳から4歳と推定される。性差については不明である。予後に関する因子としては、インフルエンザ症状がでてから意識消失などの中枢神経症状がでるまでの期間が短い程（48時間以内）予後が悪く、インフルエンザ脳炎の特徴としては、進行が早いことが挙げられる。それ以外に予後に関連する因子としては、CTでの脳所見、肝障害、血液凝固系の異常等が挙げられるが、脳炎・脳症の発症については特定背景因子は特定されない。

3. 治療方法について

インフルエンザの脳炎・脳症に特異的な治療法はなく、全身集中管理療法を

含めた対処療法が中心である。抗インフルエンザ薬であるアマンタジンの使用については、これまで使用経験がないので不明であるが、耐性化の問題もあり濫用は避けるべきである。アスピリンなどのサリチル酸含有の解熱剤は、ライ症候群を起こす危険性があり、十分な注意を呼びかけるべきである。

4. ワクチンの効果等の予防について

インフルエンザワクチンは、インフルエンザの発病防止効果があることが内外の研究からも明らかであるが、ワクチンの脳炎・脳症の予防に対する効果は疫学調査がない。しかし、これまでの診療経験ではインフルエンザ脳炎・脳症を発症した乳幼児はワクチン接種を受けていない。

インフルエンザ脳炎・脳症を含めた重症化及び合併症の予防としては、既にワクチンの効果が判明していることから、2歳児から5歳児の子供接種を検討するべきである。

5. 提言

- ・インフルエンザによる脳炎・脳症に関して、今後その発生等の疫学調査を実施し、より確実に正確なデータを収集し、その治療、予防方法を検討するべきである。
- ・また予防のためには、厚生省はこれらの子供達にインフルエンザを感染させる可能性のある両親等が自らインフルエンザに感染しないように注意喚起するべきであると同時に、保護者自らの判断で子供達も予防接種を受けれるように、インフルエンザに関する情報を積極的に提供するべきである。

香港のマーケット、養鶏場の家禽および野鳥のインフルエンザ疫学調査

研究分担者：喜田 宏（北海道大学大学院獣医学研究科）

共同研究者：高田礼人（北海道大学大学院獣医学研究科）

伊藤壽啓（鳥取大学農学部）

研究要旨 1997年4月、香港でニワトリのインフルエンザが流行し、4,500羽が斃死した。病因はH5N1インフルエンザウイルスであった。次いで5月に肺炎で死亡した3歳男児の気管吸引材料からH5N1インフルエンザウイルスが分離され、これがニワトリから分離されたものと近縁であることが8月に判明した。その後、11月に3名（うち2名死亡）、12月に14名（うち3名死亡）の患者が確認された。12月29日に香港のニワトリ130万羽が殺された後、ヒトに新たな感染は認められていない。我々は12月25日から30日間、香港の農場の家禽およびマーケットで売られていた鳥のウイルス保有状況を調べた。マーケットで採取した総数1,350の総排泄孔拭い液または糞便を調べた結果、ニワトリから42株、アヒルおよびガチョウから8株のH5N1ウイルスが分離された。また、H5亜型以外のインフルエンザウイルス（主にH9）36株およびニューカッスル病ウイルス43株が分離された。一方、農場、動物園あるいは自然公園等の鳥類、げっ歯類、イヌ、ネコ等から採取した830の検体からはウイルスが分離されなかった。今回の調査で、香港のマーケットで売られる鳥類の間にインフルエンザウイルスが蔓延していたことが明らかとなった。この成績は、香港におけるヒトのH5N1ウイルスによるインフルエンザはこのようなマーケットから直接、原因ウイルスが供給された可能性が高いことを示唆している。

A. 研究目的

香港で1997年5月、急性呼吸器症状および発熱を呈して入院、死亡した3歳児からH5N1インフルエンザウイルスが分離された。同じ時期に香港のニワトリの間でH5N1インフルエンザウイルスが病因の家禽ベストの流行が見られ、その後ヒトからの分離例がなかったため、この症例はlaboratory contaminationあるいは偶発的な事故かとも考えられた。しかし、同年11月に2例目の患者が確認され、その後約1ヶ月の間にさらに16名の患者からH5N1ウイルスが分離され、計6名が死亡したことから、ニワトリからヒトへの感染が強く疑われるに至った。そこで、ヒトから分離されたH5N1ウイルスの侵入と伝播経路の解明ならびに香港の家禽のウイルス保有状況を調べる目的で、WHO、米国CDCおよびNIHと共同で、ニワトリ、アヒル、ブタおよびヒトのインフルエンザの疫学調査を実施した。

B. 研究方法

1997年12月25日から30日間、香港の生鳥を売買するマーケットでニワトリ、アヒル、ガチョウ、その他の鳥類から総排泄孔拭い液または糞便を採取した。それらを発育鶏卵に接種してウイルス分離を行った。分離したウイルスはヘマグルチニン(HA)亜型特異抗体を用いた赤血球凝集阻止試

験によって同定した。また、農場、動物園あるいは自然公園等の鳥類、げっ歯類、イヌ、ネコ等から採取した検体についても同様に調べた。

C. 研究結果

7箇所のマーケットで採取した総数1,350（ニワトリ339、アヒル330、ガチョウ159、その他552）の総排泄孔拭い液または糞便から計86株のインフルエンザウイルスが分離された。そのうち、ニワトリ由来の42株、アヒルおよびガチョウ由来の8株がH5N1ウイルスであった。H5亜型以外では主にH9ウイルスが分離された。また、ニューカッスル病ウイルス43株が分離された。一方、農場、動物園あるいは自然公園等の鳥類、げっ歯類、イヌ、ネコ等から採取した830の検体からはウイルスが分離されなかった。抗H5HAモノクローナル抗体との反応性から、我々が分離したH5ウイルスは少なくとも2つのグループに分けられた。これはヒトから分離されたウイルスが同じく2つのグループに分けられた事実と一致する。

D. 考察

今回の調査で1997年末には香港のマーケットで売られる鳥類の間にインフルエンザウイルスが蔓延していたことが明らかとなった。しかしなが

ら、そのウイルスがいつ、どこから持ち込まれたのかは判明していない。一方、同年2月と3月に、中国広東省で170万羽のニワトリがインフルエンザの流行で斃死していたという報道があった。この事件が知られていなかったのは、中国が国際獣疫事務局(OIE)に加盟していないので、これが報告されなかったためであるという。実は、香港が中国に返還される前から広東省と香港の間を日に10万人を越えるヒトが往来し、10万羽のニワトリ、アヒル、ガチョウやブタが生体で香港に持ち込まれ、売買されていた。したがって、今回のH5N1ウイルスが中国本土から導入された可能性は否定できない。

最初にヒトから分離されたH5N1ウイルスの8つの遺伝子全てが鳥類由来のウイルスと高い相同性を示すことが1998年の初めに報告された。HAの開裂部位は強毒鳥インフルエンザウイルスと同様に宿主体内に広く存在する細胞内蛋白分解酵素によって開裂するアミノ酸配列を有していた。インフルエンザウイルスの宿主域決定因子としてHAのレセプター特異性が重要であるが、レセプター結合部位のアミノ酸配列からこのHAはいわゆるトリ型の結合様式のシアル酸を認識し、ヒト型のレセプターに対する親和性は殆どないと予想された。そのため、このウイルスが何故ヒトに感染できたのかは不明のままである。

E. 結論

1997年末には香港のマーケットで売られる鳥類の間にH5N1インフルエンザウイルスが蔓延していたことが明らかになった。したがって、香港のH5N1インフルエンザ事件の原因ウイルスはこのようなマーケットの鳥類から直接ヒトに伝播した可能性が高い。現在、中国、台湾その他の東南アジア地域におけるインフルエンザウイルスの生態はほとんど明らかではない。この地域で組織的にニワトリ、アヒル、ブタおよびヒトのインフルエンザの疫学調査を実施する必要がある。

F. 研究発表

論文発表

1. Shortridge, K.F., Zhou, N.N., Guan, Y., Gao, P., Ito, T., Kawaoka, Y., Kodihalli, S., Krauss, S., Markwell, D., Murti, K.G., Norwood, M., Senne, D., Sims, L., Takada, A., Webster, R.G. (1998) Characterization of avian H5N1 influenza viruses from poultry in Hong Kong. *Virology* 252: 331-342.
2. 喜田 宏 (1998) 新型インフルエンザウイルスの出現予測と流行防止. *科学* 68, 691-699.
喜田 宏 (1998) 動物のインフルエンザ. *モダンフイジシャン* 18, 1295-1298.
3. 喜田 宏 (1998) 新型インフルエンザウイルスの出現にかかわる動物とその役割. *今日の感染症* 17, 12-14.
4. 喜田 宏 (1999) 新型インフルエンザウイルスの出現のメカニズムとその対策. *小児科診療*. 62, 340-345.
5. 喜田 宏 (1999) 新型インフルエンザの発生メカニズムと対策. *学術月報*. 52, 182-187.

学会発表

1. 伊藤壽啓, P.Gao, G.Yee, 高田礼人, 河岡義裕, K.F.Shortridge, R.G. Webster (1998) ホンコンにおけるH5N1インフルエンザの動物疫学調査. 第15回中国・四国ウイルス研究会. 徳島市. 5月15-17日.
2. 高田礼人 (1998) 1997年に香港に出現したH5N1インフルエンザウイルス. 日本ウイルス学会北海道支部第32回夏季シンポジウム. 恵庭市. 7月31日-8月1日.
3. 今井正樹, 高田礼人, 岡崎克則, 喜田宏 (1998) 香港H5N1インフルエンザウイルスの起源. 第14回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム. 新潟県六日町. 2月27日-3月1日.

H5 インフルエンザに対する試製ワクチンによる感染防御

研究分担者：喜田 宏（北海道大学大学院獣医学研究科）

共同研究者：岡崎克則、高田礼人（北海道大学大学院獣医学研究科）

研究要旨 1997年に香港でヒトから分離されたH5N1インフルエンザウイルスのような病原性の高いウイルスは安全性と生産効率の問題でワクチン株として用いることが出来ない。そこで、強毒H5N1インフルエンザウイルスのヘマグルチニン(HA)遺伝子を改変し、リバースジェネティクス法を用いて作出した弱毒ウイルス株ならびに渡りガモから分離した弱毒H5インフルエンザウイルス株の免疫原性を調べた。精製ウイルスをホルマリンで不活化したワクチンを腹腔内に接種したマウスの血清中には、H5N1ウイルスに対する血球凝集阻止(HI)抗体が接種したワクチン量に依存して検出された。それぞれのワクチンの間にHI抗体誘導能に差は認められなかった。鼻腔内にワクチンを接種したそれぞれのワクチンの間にHI抗体誘導能に差は認められなかった。鼻腔内にワクチンを接種したマウスの鼻腔洗浄液中にウイルス特異的IgGおよびIgA抗体が検出された。これらのマウスは致死量のウイルス攻撃に対してその80-90%が生残し、いずれのワクチンを用いた場合にも感染防御効果に差は認められなかった。以上の成績は遺伝子改変弱毒ウイルスおよび野外弱毒ウイルスは香港H5N1ウイルスに対するワクチン候補株として適当であること示している。さらに、不活化ウイルス粒子ワクチンの呼吸器粘膜への接種によって感染防御免疫を誘導できることが判った。

A. 研究目的

1997年に香港でヒトから分離されたH5N1インフルエンザウイルスはニワトリおよびヒトに対して強い病原性を示した。このようなウイルスはワクチン製造時における安全性と効率の問題でワクチン株として用いることは出来ない。ヒトの新型インフルエンザが発生した場合、ワクチン株はそのヘマグルチニン(HA)の抗原性が流行株と似ていること、ならびに発育鶏卵でよく増殖し、かつ病原性が低いことが要求される。そこで、ヒトから分離されたH5N1インフルエンザウイルスのHA遺伝子を改変し、リバースジェネティクス法を用いて作出した弱毒ウイルス株ならびに1996年に北海道で渡りガモから分離した弱毒H5インフルエンザウイルス株の免疫原性を調べる目的で、それらを用いた試製ワクチンをマウスに接種し、免疫誘導能および感染防御効果について検討した。

B. 研究方法

ヒトから分離された強毒インフルエンザウイルス株A/Hong Kong/156/97(HK156)のHAの開裂部位を弱毒型に改変して、弱毒のカモ由来ウイルス、A/duck/Hong Kong/836/80(H3N1)(HK836)に組み込んだ遺伝子改変弱毒ウイルス(HK911)をリバースジェネティクス法を用いて作出した。北海道で渡りガモから分離した弱毒ウイルス、A/duck/Hokkaido/67/96(H5N4)(Hok67)およびHok67と香港で分離された弱毒ウイルスA/duck/

Hong Kong/301/78(H7N1)とのリアソータントウイルス(H5N1)(R513)を作出した。HK911、Hok67、R513およびHK836を発育鶏卵で培養し、精製後ホルマリンで不活化してワクチンとして用いた。6週齢のddYマウスの腹腔内にそれぞれのワクチンを接種し、3週間後に血清を採取して赤血球凝集阻止(HI)試験を行った。HI試験の抗原にはHK156および同じくヒトから分離されたA/Hong Kong/483/97(HK483)を用いた。6週齢のddYマウスの鼻腔内にワクチンを3回接種し、鼻腔洗浄液、気管肺胞洗浄液、および血清を採取して、IgGおよびIgA抗体をELISAで測定した。また、これらのマウスの鼻腔内に致死量のウイルスを接種し、感染防御効果を調べた。

C. 研究結果

HK911、Hok67またはR513を腹腔内に接種したマウスの血清中にはHK156およびHK483に対するHI抗体が接種したワクチン量に依存して検出された。いずれのワクチンを接種した場合でも、HK156に対する抗体価の方がHK483に対する抗体価より高かった。また、それぞれのワクチンの中でHI抗体誘導能に差は認められなかった。HK836を接種したマウスの血清中にはH5N1ウイルスに対するHI抗体は検出されなかった。鼻腔内にワクチンを接種したマウスの鼻腔洗浄液中にウイルス特異的IgGおよびIgA抗体が検出された。一方、気管肺胞洗浄液および血清中にはIgG抗体のみが検出された。これらのマウスは致死量のウイルス攻撃に対してその80-90%が生残し、い

れのワクチンを用いた場合にも、その感染防御効果に差は認められなかった。

D. 考察

いずれのワクチンを接種したマウスも、HK156に対するHI抗体価の方がHK483に対する抗体価より高かったことから、Hok67のHAの抗原性はHK156により近いと考えられる。本研究で、マウスの鼻腔内に不活化ウイルス粒子ワクチンを接種すれば、アジュバントを用いなくても血中抗体および局所抗体の産生を誘導し、感染防御免疫を賦与できることが明らかになった。今回の実験では、異なる亜型のHAをもつワクチン(HK836)(H3N1)でも、強毒H5N1ウイルスに対する感染防御能を賦与できた。これらのウイルスのノイラミニダーゼが共通であるためかも知れない。あるいは、ウイルス内部蛋白は抗原性の違いが少ないことから、鼻腔粘膜下織で産生された内部蛋白に対するIgA抗体が上皮細胞中を輸送される間に、細胞中でウイルスの増殖を阻害したのかも知れない。このような機序での感染防御はロタウイルス感染モデルで実証されている。

一般にトリのウイルスのHAの抗原性はよく保存されている。また、新型インフルエンザ発生の場合として重視されている中国南部に渡るカモは主にシベリアから大平洋ルートで飛来するので、シベリア、中国、東南アジアにおけるインフルエンザウイルスの生態調査を組織的に実施し、様々なHA亜型の弱毒ウイルスを分離して抗原性を解析しておけば、ヒトの新型ウイルスが出現した際に効果的で安全なワクチン株を即座に提供できると思われる。

E. 結論

A/Hong Kong/156/97(H5N1)のHAの開裂部位を弱毒型に改変して、リバーシジェネティクス法を用いて作出した遺伝子改変弱毒ウイルスおよび渡りガモから分離した弱毒H5インフルエンザウイルスは香港H5N1ウイルスに対するワクチン候補株として適当であった。また、不活化ウイルス粒子ワクチンの呼吸器粘膜への接種は、効果的に感染防御免疫を誘導した。

F. 研究発表

論文発表

1. Shortridge, K.F., Zhou, N.N., Guan, Y., Gao, P., Ito, T., Kawaoka, Y., Kodihalli, S., Krauss, S., Markwell, D., Murti, K.G., Norwood, M., Senne, D., Sims, L., Takada, A., Webster, R.G. (1998) Characterization of avian H5N1 influenza viruses from poultry in Hong Kong. *Virology* 252: 331-342.
2. Imai, M., Takada, A., Okazaki, K., and Kida, H. (1999) Antigenic and genetic analyses of H5 influenza viruses isolated from wild ducks in Asia. *Jpn J Vet Res* (in press)
3. 喜田 宏 (1998) 新型インフルエンザウイルスの出現予測と流行防止. *科学* 68, 691-699.
4. 喜田 宏 (1998) 動物のインフルエンザ. *モダンフィジシャン* 18, 1295-1298.
5. 喜田 宏 (1999) 新型インフルエンザウイルスの出現のメカニズムとその対策. *小児科診療*. 62, 340-345.
6. 喜田 宏 (1999) 新型インフルエンザの発生メカニズムと対策. *学術月報*. 52, 182-187.

学会発表

1. 岡崎克則 (1998) 北方圏におけるインフルエンザウイルスの生態. 日本ウイルス学会北海道支部第32回夏季シンポジウム. 恵庭市. 7月31日-8月1日.
2. 板村繁之、西村秀一、田代真人、岡崎克則、喜田宏 (1999) 新型インフルエンザ(A/H5N1)に対するワクチン候補株弱毒化の分子基盤. 第14回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム. 新潟県六日町. 2月27日-3月1日.
3. 高田礼人、久保木基高、二宮愛、田中裕子、尾崎弘一、岡崎克則、板村繁之、西村秀一、田代真人、榎並正芳、Shortridge, K.F., 喜田宏 (1998) 香港H5N1インフルエンザウイルスに対するカモの弱毒ウイルス不活化ワクチンの感染防御効果. 第14回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム. 新潟県六日町. 2月27日-3月1日.

新型ウイルスのヘマグルチニン亜型の予知と流行防止のための疫学調査

研究分担者：喜田 宏（北海道大学大学院獣医学研究科）

共同研究者：岡崎克則、高田礼人（北海道大学大学院獣医学研究科）

研究要旨 シベリアの水禽営巣地ならびに北海道で採取した野鳥の糞便からインフルエンザウイルスを分離し、シベリアに営巣する水禽が様々なヘマグルチニン(HA)亜型のインフルエンザウイルスを保持していることを明らかにした。NPならびにH5HA 遺伝子の系統進化解析の結果、新型インフルエンザウイルスの起源がこれらの水禽類にあることが判った。したがって、今後ヒトの間に侵入する新型ウイルスのHA亜型を予測するため、シベリア、アジアを含む広範な地域で鳥類インフルエンザの疫学調査を実施する必要がある。また野鳥から分離されるウイルスは、新型インフルエンザウイルスによる大流行に備えたワクチン株として利用することが期待できる。

A. 研究目的

研究分担者らはインフルエンザウイルスの供給源が野生の水禽(渡りガモ)であること、1968年に出現した新型ウイルス A/Hong Kong/68 (H3N2) 株はカモのウイルスが中国南部でアヒルを介してブタに感染し、同時に感染したヒトのウイルスとの間で産生された遺伝子再集合体であることを明らかにした。次にアラスカおよびシベリアで水禽のインフルエンザの疫学調査を実施した結果、ウイルスが渡りガモの営巣湖沼に存続していることを見いだした。さらに、分離したインフルエンザウイルス遺伝子の系統進化解析成績から、新型ウイルスの登場舞台と想定される中国南部に渡るカモは春～夏期にシベリアで営巣し、秋にウイルスを運んでくるものと推定した。

1997年香港で18名のH5N1インフルエンザウイルス感染患者が確認され、6名が死亡した。分離ウイルスの遺伝子解析結果から、これらのウイルスは家禽ベストに罹患したニワトリから直接ヒトに伝播したものと考えられた。

インフルエンザウイルスのヘマグルチニン(HA)は感染防御の鍵である。本研究では今後ヒトに出現する新型ウイルスのHA亜型を予知してその流行を防止することを目的として、シベリアおよび渡りガモの飛来する日本国内、中国南部、韓国ならびに台湾において疫学調査を実施し、鳥類におけるインフルエンザウイルスの分布を明らかにした。

B. 研究方法

1) ウイルス分離および同定

1998年8月、ロシア共和国内サハ自治共和国レナ河流域において399検体の水禽糞便を採取した。同年10月、北海道稚内市において239検体を採取した。これらを発育鶏卵に接種して赤血球凝集因子を分離した。同定は標準抗血清を用いた赤血球凝集阻止(HI)試験およびノイラミニダーゼ(NA)阻止

試験によった。

2) H5 インフルエンザウイルス HA の抗原解析

A/chicken/Pennsylvania/1/83(H5N2)およびA/chicken/Pennsylvania/1370/83(H5N2)のHAに対するマウス単クローン性抗体パネルを用いて、常法に従いHI試験を実施した。

2) 遺伝子解析

ウイルスRNAを抽出し、これを鋳型として逆転写酵素反応を行いcDNAを得た。インフルエンザAウイルスNP遺伝子ならびにH5HA遺伝子に特異的なオリゴヌクレオチドプライマーを用い、ウイルスcDNAを鋳型としたdirect sequencing法によって両遺伝子の塩基配列を決定した。

3) 系統進化解析

NP 遺伝子は1,216～1,430塩基位について、H5HA 遺伝子は559～1,056塩基位についてGenbank登録塩基配列と比較し、Neighbor-joining法を用いて進化系統樹を作成した。

4) アジア各国における疫学調査

韓国ソウル大学およびチェジュ大学、中国浙江農科大学ならびに台湾省家畜衛生試験所にインフルエンザウイルス標準抗血清セットを配布し、現地でインフルエンザ疫学調査の技術指導を行った。

C. 研究結果

1) 水禽糞便からのインフルエンザウイルスの分離

1998年8月、レナ河流域で採取した399検体の水禽糞便から1株のインフルエンザウイルス(H13N6)が分離された。また、同年10月に稚内で採取した239検体からは2株(H6N2およびH9N2)が分離された。

台湾では1998年9月以降、渡りガモの糞便から100株余のH3、H4およびH7亜型インフルエンザウイルスが分離された。NA亜型については現在同定中である。

2) シベリアおよび北海道で分離されたカモ由来インフルエンザウイルス NP 遺伝子の系統進化解析

1996および1997年にレナ河流域ならびに北海道でカモの糞便から分離されたインフルエンザウイルス19株のNP遺伝子の塩基配列を決定し、Genbank登録配列とともに系統進化解析を行った。その結果、1996年北海道で分離された3株を除く16株のNP遺伝子は、1997年香港でヒトと家禽ベストに罹患したニワトリから分離された強毒H5N1インフルエンザウイルスのそれと同一のクラスターを形成した。なかでも、1996年シベリアで分離されたH11N9ウイルスのNP遺伝子は極めて近縁な関係にあることが判った。一方、異なるクラスターに属する北海道で分離された3株のNP遺伝子は、ブタ、ウマあるいはミンクから分離された鳥類由来様インフルエンザウイルスのそれに近縁であった。

3) アジアの渡りガモおよびアヒルから分離されたH5インフルエンザウイルスHAの抗原解析

1976年宮城県で渡りガモから分離されたH5N3インフルエンザウイルス、1978、79および80年に香港のアヒルから分離されたH5N2および2株のH5N3ウイルス、1996年に北海道で渡りガモから分離されたH5N3およびH5N4ウイルス、ならびに1997年香港でヒトから分離されたH5N1ウイルスとH5亜型HAに対する単クローン性抗体パネルとの反応性をHI試験で調べた。その結果、総てのウイルスがほとんどの抗体と反応した。したがって、アジアで分離されたH5インフルエンザウイルスのHAは、ヒトの分離株も含めて抗原的によく保存されていることが判った。

4) アジアで分離されたH5インフルエンザウイルスHAの開裂部位

インフルエンザウイルスが宿主細胞に感染するためにはHAが開裂活性化している必要がある。家禽ベストウイルスのような強毒インフルエンザウイルスのHAはその開裂部位のアミノ末端側に塩基性アミノ酸が連続し、細胞内に普遍的に存在する蛋白分解酵素によって開裂活性化する。そこで、抗原解析に用いた6株の渡りガモおよびアヒル由来H5インフルエンザウイルスHA遺伝子の塩基配列を決定し、開裂部位近傍のアミノ酸配列を調べた。その結果、連続する塩基性アミノ酸はこれらのウイルスのHA中には見い出されなかった。

5) アジアで分離されたH5インフルエンザウイルスHA遺伝子の系統進化解析

1996年北海道で渡りガモから分離された2株のHA遺伝子は1997年香港でヒトおよびニワトリから分離されたH5N1ウイルスのHA遺伝子に近縁であった。また、1978～1980年に香港のアヒルから分離された3株と1976年に宮城県で渡りガモから分離された株は互いに関連していた。さらに、それらのHA遺伝子は1983年にアイルランドで分離された強毒型ウイルスのHA遺伝子と近縁であった。

D. 考察

1995年以降、アムールおよびレナ河流域の水禽営巣地帯ならびに渡りガモの飛翔路上にある北海道において水禽の糞便を採取し、それらから計48株のインフルエンザウイルスを分離した。また、台湾では1998年秋以降100余株のインフルエンザウイルスが分離されている。それらのHA亜型はH1、H3、H4、H5、H6、H7、H8、H9、H11およびH13の10種であった。これらの成績から、アジア地区の野生水禽の間には様々なHA亜型のインフルエンザウイルスが分布していることが判った。

分離ウイルス19株についてNP遺伝子の系統進化解析を実施したところ、1996年シベリアで分離されたH11N9ウイルスは翌年香港で分離された強毒H5N1インフルエンザウイルスに極めて近縁であることが判った。さらに、1996年に北海道で分離されたウイルス中の3株は中国のウマおよびスウェーデンのミンクに突如発生した致命的なインフルエンザの原因ウイルスに近縁であった。また、調べた19株のNP遺伝子は新型ウイルスの登場舞台である中国南部を含むユーラシア大陸で分離された鳥インフルエンザウイルスのNP遺伝子の系統に属していた。以上の成績から、シベリアに営巣する水禽の間に保存されているインフルエンザウイルスはヒトや家畜・家禽の間に侵入すると強い病原性を示すウイルスへの遺伝子供与体であることが示唆された。

そこで、1997年香港でヒトおよびニワトリから分離された強毒H5N1インフルエンザウイルスHA遺伝子の起源を明らかにするため、アジアの渡りガモおよびアヒルから分離されたH5ウイルスのHAと比較した。抗原解析ならびに系統進化解析の成績は、1996年に北海道で渡りガモから分離された2株のHAが香港の強毒H5ウイルスのHAに極めて近縁であることを示した。したがって、香港で分離された強毒H5インフルエンザウイルスのHA遺伝子はシベリアに営巣する水禽類の間で保存されていたウイルスに由来するものと考えられた。一方、香港の強毒H5ウイルスのHAには何れも開裂活性化部位のアミノ末端側に6残基の連続した塩基性アミノ酸が存在したが、渡りガモあるいはアヒルから分離されたウイルスのHAでは連続する塩基性アミノ酸は認められなかった。おそらく、ニワトリ間で継代される間にHA開裂部位に塩基性アミノ酸が増加したウイルスが選択されたのであろう。

本研究では、インフルエンザウイルスの供給源である野生の水禽の間で優勢なHA亜型を明らかにすることはできなかった。一方、多くのHA亜型ウイルスが分離された。これらは何れも発育鶏卵を殺さない弱毒株であったことから、新型ウイルス出現に備えたワクチン株として利用することが