

高病原性鳥インフルエンザウイルスの性状解析に関する研究

研究分担者 白倉 雅之

国立感染症研究所・インフルエンザウイルス研究センター・主任研究官

研究要旨

現在、主に中国、東南アジアにおいて高い致死率を伴う高病原性鳥インフルエンザ A (H5N1) ウイルスのヒト感染例が、未だ絶えず報告されている。このような背景から、迅速かつ的確にウイルスの詳細な性状解析を実施し、ヒトへの感染リスク評価を実施することは、重要な意義を持つと考えられる。本研究では、2021/22 シーズンに国内において家禽、野鳥及びキタキツネから分離された H5N1 及び H5N8 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルス株を受入れ、遺伝子解析及びフェレット抗血清を用いた HI 試験による抗原性解析を実施した。遺伝子解析の結果、国内分離株は欧州において分離されている株と類似しており、H5 HA clade 2.3.4.4b に属した。抗原性解析の結果、現行のワクチン製造候補株である IDCDC-RG71A (A/Astrakhan/3212/2020) 株に大半の株は良く反応した。高病原性鳥インフルエンザウイルスによるヒト感染例は、未だ絶えず報告されていることから、今後も継続的なグローバルサーベイランスの実施が必要であると考えられる。

A. 研究目的

現在、主に中国、東南アジアでは高い致死率を伴う高病原性鳥インフルエンザ A (H5N1) ウイルスのヒト感染例が、未だ絶えず報告されている。世界保健機関 (WHO) の報告によれば、2023 年 1 月 5 日現在、18 カ国で、868 例の感染者数が確認され、そのうち 457 名が死亡している。さらに、鳥インフルエンザ A (H5N6) ウイルスが我が国をはじめ、中国、台湾、韓国などのアジア諸国、またヨーロッパにまで拡大し、中国においてヒト感染事例が報告されている。これらのウイルスがヒトからヒトへ容易に伝播可能なウイルスに変異し、新型インフルエンザの出現が危惧されている。

2021/22 シーズン、国内において、初めて哺乳動物から高病原性鳥インフルエンザウイルスが検出された。さらに、ヨーロッパ諸国、北米においても哺乳動物から H5N1 ウイルスの感染事例が報告されている。

このような背景から、本研究では、鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染リスク評価実験として、分与された高病原性鳥インフルエンザウイルスの遺伝子解析及び抗原性解析を実施した。

B. 研究方法

1) ウイルス：
A/chicken/Akita/7C/2021 (H5N8; 秋田ニワトリ株)、A/chicken/Kagoshima/21A6T/2021 (H5N1;

鹿児島ニワトリ株)、A/hooded crane/Kagoshima/KU-5T/2021 (H5N8; 鹿児島ナベヅル株)、A/white-tailed eagle/Hokkaido/22-RU-WTE-2/2022 (H5N1; 北海道オジロワシ株)、A/crow/Hokkaido/0103B065/2022 (H5N1; 北海道カラス株)、A/Ezo red fox/Hokkaido/1/2022 (H5N1; 北海道キタキツネ株)

上記に記載したウイルス株を発育鶏卵を用いて増殖させ、七面鳥赤血球 (TRBC) を用いて赤血球凝集 (HA) 価を測定し、ワーキングストックを作製した。

2) 全ゲノム解析：ウイルス全ゲノム解析は、次世代シーケンサーを使用して行った。ウイルス培養液から QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて RNA を抽出した。抽出した RNA を Multi-segment RT-PCR により増幅後、NEBNext Ultra DNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs) を使用して DNA ライブラリーを調製後、MiSeq (Illumina) にて解析した。得られた塩基配列は、CLC Genomics Workbench を使用して、リファレンス配列との Assemble を行い、コンセンサス配列の作成と変異解析を行った。

3) HI 試験：七面鳥赤血球 (TRBC) を用いて定法に基づいて行った。

(倫理面への配慮)

該当なし

C. 研究結果

2021/22 シーズンに国内において分離された H5N8 及び H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスを受け入れ、遺伝子解析及び抗原性解析を行った。遺伝子解析の結果、分与されたすべての国内分離株は、H5 Clade 2.3.4.4b に属することが分かった。また、これらのウイルス株の HA 遺伝子は、欧州各国において分離報告された株と類似していた。抗原性解析の結果、同クレードのワクチン製造候補株である IDCDC-RG71A (A/Astrakhan/3212/2020) 株のフェレット抗血清に良く反応した。しかしながら、鹿児島ニワトリ H5N1 株は、IDCDC-RG71A 株と抗原性が異なり、ホモ価と比較して、16 倍差であった。

さらに、秋田 H5N8 株、鹿児島ニワトリ H5N1 株及び北海道キタキツネ H5N1 株のフェレット抗血清を作製し、受入株との反応性を調べた。その結果、秋田株に対するフェレット抗血清は、鹿児島ニワトリ H5N1 株にあまり反応しなかった。しかし、鹿児島ニワトリ H5N1 株及び北海道キタキツネ H5N1 株に対するフェレット抗血清は、受入株と良く反応した。

D. 研究発表

なし

E. 知的財産権の出願・登録状況

なし

F. 健康危険情報

なし