

ヒトへの感染力の強い高病原性鳥インフルエンザウイルスの変異シグナル簡易監視材料の開発と次期パンデミック阻止

鈴木康夫*

Development of a Device to Survey Human Adaptation of Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses and its Application to Control of the Influenza Pandemic

Yasuo Suzuki*

Abstract: The global spread of highly pathogenic H5N1 avian influenza virus has raised concerns that H5N1 might adapt to the human host and cause the next human influenza pandemic. Several factors are involved in host range restriction of influenza viruses. We have developed a prototype of immunochromatography-based device to differentiate H5N1 viruses that bind to avian- and human-type receptors. Novel immunochromatography-based device technologies can rapidly assess the precise receptor specificity of H5N1 avian influenza viruses, detecting changes that might signal human adaptation.

Keywords : *Highly pathogenic avian influenza virus, receptor, human adaptation*

1. はじめに

高病原性鳥インフルエンザウイルス（H5N1 亜型、以下 H5N1 と略）は、1997 年香港で歴史上初めてニワトリ→ヒト伝播（18 人感染 6 人死亡）が起こって以来、ヒトへの伝播は世界 15 ヶ国に広がった（598 人感染、352 人死亡、致死率約 59%、3 月 26 日、'12 年、WHO）。今のところ、ヒト-ヒト感染は限定的だが、家族内感染は起こっている。仮に本ウイルスが、高病原性を維持しつつ、ヒト間伝播を可能とする変異（ヒト上気道レセプターシアロ糖鎖（Sia α 2-6Gal-）への結合性獲得変異）を遂げ、パンデミック発生の場合、人類の健康のみならず社会的、経済的損失は計り知れない。よってこの変異ウイルスの早期検出、封じ込めは、極めて重要である。本研究では、この新型変異ウイルスの超高感度簡易診断技術の開発に挑戦し（世界初）、パンデミック発生を阻止する国際的協力体制を構築する。筆者らは、インフルエンザウイルスの宿主域は、ウイルスヘマグルチニン（HA）が認識する標的宿主細胞膜上のシアロ糖鎖受容体への結合特異性により第一義的に規定されることを明らかにしてきた。即ち、ウイルスの宿主間伝播の変異機構を解明し、鳥間で流行している鳥型ウイルスの HA は Neu5Ac (5-N-アセチルノイラミン酸) α 2-3Gal (ガラクトース) β 1-4GlcNAc (N-アセチルグルコサミン) β 1- (2-3 と略) を認識、ヒト間で流行するヒト型ウイルスは Neu5Ac α 2-6Gal β 1-4GlcNAc β 1- (2-6 と略) と特異的に結合することを発見（図 1）、H5N1 のヒト-ヒト感染可能な変異は、HA 分子のシアロ糖鎖レセプターへの認識特異

* 生命健康科学部・理学療法学科・教授

性の変異（鳥型(2-3) → ヒト型(2-6)）であり、これを監視することで、H5N1 によるパンデミック発生の予知が可能となる基本的技術を確認した。筆者らは、これにより、香港、ベトナム、タイ、イラク、ラオス、インドネシア、エジプトなどで分離された H5N1 株にヒト喉に存在するウイルスレセプターシアロ糖鎖（Neu5Ac α 2-6Gal-）への結合性を獲得した変異株を見出して来た¹⁾。本研究は、この技術の発展的応用に関わる。

2. 研究計画と実験方法

まず、遺伝子解析のみでは感知できない、H5N1 のトリ→ヒト宿主域の変異（変異のフェノタイプ：すなわち、新型インフルエンザの発生に伴うレセプター認識特異性変異）を高感度且つ簡便にサーベイする材料を構築する。既に、筆者らは、「鳥、ヒトインフルエンザウイルスが特異的に結合できる 2 種の異なる人工ポリマー：Neu5Ac α 2-3 (または 6) Gal β 1-4GlcNAc β 1-グルタミン酸ポリマー」の化学合成に成功し、これを 96 穴プレートに固相化し、鳥型およびヒト型ウイルスを分別して測定出来る基本材料を考案した。本研究では、この基本材料を、さらに、高感度、高特異性、簡便な材料(イムノクロマトを利用する材料)に改良する。具体的には、化学合成したウイルスレセプターシアロ糖鎖（ヒト型：Neu5Ac α 2-6Gal β 1-4GlcNAc β 1-；鳥型：Neu5Ac α 2-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-）をビーズ等の担体に結合させ、これにウイルス検体を結合させ、そのウイルスを H5N1 抗体とヒト型、鳥型糖鎖を特異的に識別・結合できるレクチンを塗布したストリップ上に展開し、ヒト型、鳥型レセプター認識 H5N1 ウイルスを特異的に識別検出させる。これら一連の実験により、材料キットのプロトタイプを完成させる。実用性が確認されたら高病原性 H5N1 で評価する（P3 施設を有する大阪大・生田和良教授と共同研究を組む）。発生国（アジア、アフリカ）の多くは発展途上国であり、高性能機器を保有していない。そこで、敢えて高価な機器を用いず安全・簡便に測定出来る材料を構築する。

3. 研究成果

以下に示す原理に基づき、高病原性鳥インフルエンザウイルス（以下、鳥型ウイルス）およびそのヒト型適応変異ウイルス（ヒト型ウイルス）を簡便かつ高感度に識別できるイムノクロマト原理を応用したアッセイキットのプロトタイプを作製した。これは、未だ、完成の域には達していないが、下記の感度、精度をクリア出来る世界初のプロトタイプを作製できた。

すなわち、ラテックスポリマー（ビーズ）に高病原性鳥インフルエンザウイルスのレセプターシアロ糖鎖（Neu5Ac α 2-3Gal）（青色ビーズに結合させる）または、ヒト間で流行するインフルエンザウイルス（高病原性鳥インフルエンザウイルスが変異してヒト→ヒト感染可能となったウイルス）のレセプターシアロ糖鎖（Neu5Ac α 2-6Gal）（赤色ビーズに結合）を結合させ、それを予め、H5N1 ウイルスと反応させる。この時、高病原性鳥インフルエンザウイルスは青色ビーズに結合し、ヒト型へ変異したウイルスは赤色ビーズへ結合する。それをイムノクロマトの担体（ストリップ）上で毛管現象により展開し、予めストリップ上に塗布した H5 の抗体によりウイルスと結合したビーズを捕捉する。これにより、被検ウイルスがヒト型のレセプターへ結合する変異体であった場合は、赤色ビーズが捕捉され、赤色のバンドがイムノクロマトストリップ上に現れる。バンドが青色であれば、鳥レセプターを認識するウイルスであり、青と赤の混合色（紫色）の場合は、被検ウイルスは鳥およびヒトの両方のシアロ糖鎖レセプターへ結合する。H5 ウイルスで無く、季節性のインフルエンザウイルス（H1N1 や H3N2 亜型）の場合は、抗体と反応しないのでバンドは現れない。また、反応系が問題なく進んでいるか否かは、対照においたレクチンとの反応性を調べることでよりモニターする。以上の原理に基づくイムノクロマトの装置（プロトタイプ）を構築できた。

謝辞

本研究は中部大学総合工学研究所 平成 23 年度～24 年度の第 4 部門の援助を受け遂行されたものであり，ここに謝意を表します。

参考文献

- 1) Yohei Watanabe, Madiha S. Ibrahim, Hany F. Ellakany, Norihito Kawashita, Rika Mizuike, Hiroaki Hiramatsu, Nogluk Sriwilaijaroen, Tatsuya Takagi, Yasuo Suzuki and Kazuyoshi Ikuta: Acquisition of Human-Type Receptor Binding Specificity by New H5N1 Influenza Virus Sublineages during Their Emergence in Birds in Egypt. *PLoS Pathogens*, 7, issue 5, e-1002068 (2011)

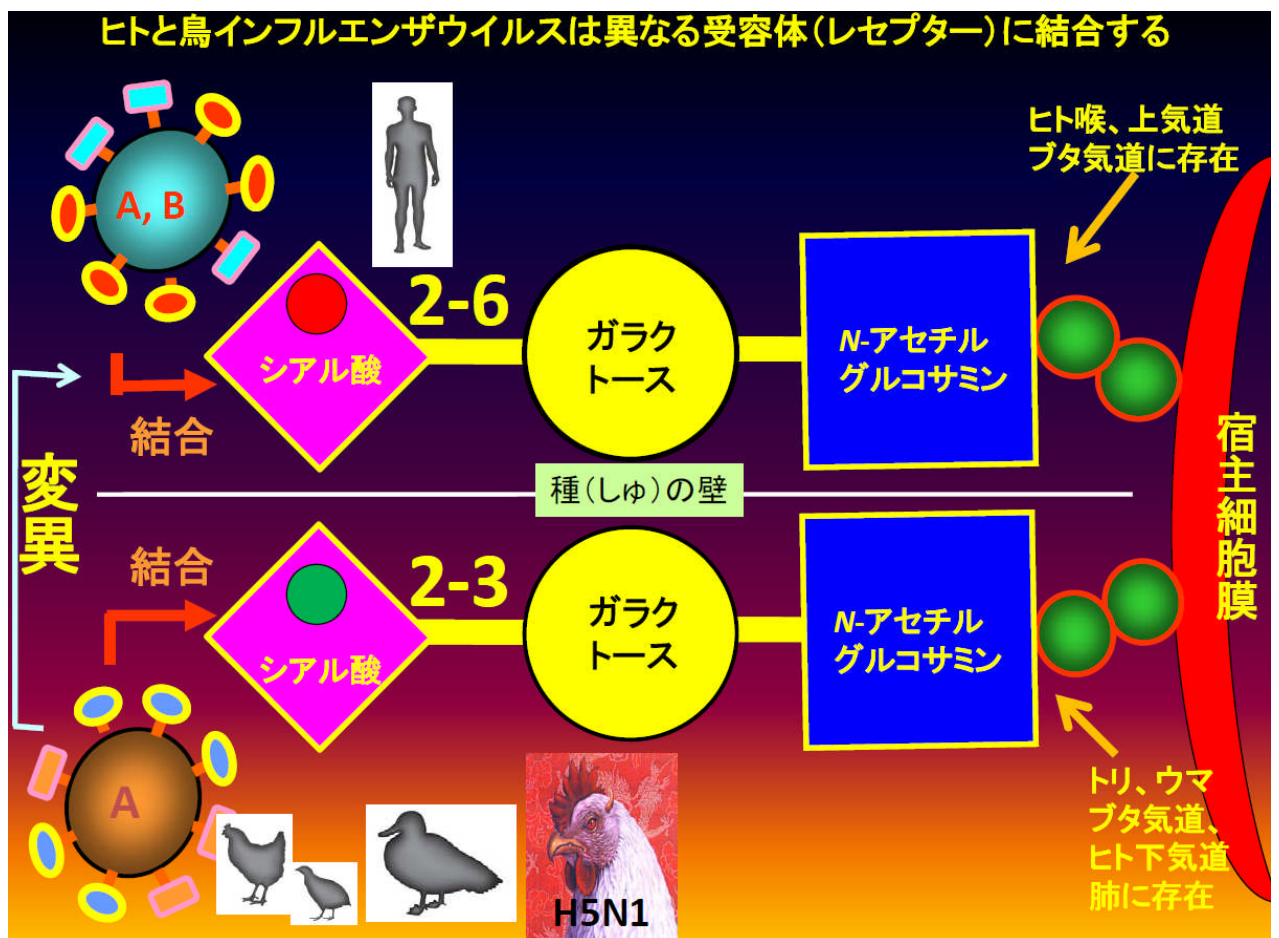


図 1 鳥およびヒトインフルエンザウイルスに対するレセプターシアロ糖鎖構造の相違