

機関番号：82603

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21790451

研究課題名 (和文) 鳥インフルエンザウイルスの高病原性化メカニズムの解明

研究課題名 (英文) Analysis of generation mechanism of highly pathogenic avian influenza virus

研究代表者 岸田典子 (Kishida Noriko) 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第1室 研究員

研究者番号：70435965

研究成果の概要 (和文)： H1～16 亜型鳥インフルエンザウイルスのなかで、ニワトリに対して高病原性のウイルスは H5 と H7 亜型にしか認められない。H5 と H7 亜型のウイルスだけが高病原性を獲得する要因、すなわち H5 と H7 ウイルスの HA 蛋白開裂部位にだけ連続した塩基性アミノ酸の挿入が起こる要因を明らかにするため、これまでの学術的背景から「H5 と H7 亜型の遺伝子には塩基性アミノ酸の挿入を誘引する特有の塩基配列がある」のではないかと推測し、H1 から H16 全ての亜型の HA 遺伝子データベースの情報を網羅的に比較解析した。その結果、高病原性化に必要なすなわち塩基性アミノ酸の挿入を誘引する共通配列候補を見つけた。また渡り鳥から分離された非病原性の H5 と H6 ウイルスについて遺伝子解析を行い、H5 と H7 亜型が持つ共通配列の検索を行った。その結果、H5 のウイルスにも共通配列と考えられる配列が認められたのに対し、H6 ウイルスには認められなかった。今後は共通配列を導入した変異ウイルスの作出し、それらを用いて比較解析を行いたい。

研究成果の概要 (英文)： Influenza A viruses have two major viral surface glycoproteins, hemagglutinin (HA) and neuraminidase (NA), and 16 HA and 9 NA subtypes are recognized at present. However, highly pathogenic influenza virus for chicken appears only in H5 and the H7 sub-type. These viruses have multiple basic amino acids at the cleavage site of the HA. We searched peculiar base sequences that induce insertion of multiple basic amino acids from Gene data bank. As a result, necessary common sequences for high pathogenicity, that is, the insertion of the basic amino acid was found. Moreover, HA genes of non-pathogenic H5 and H6 viruses isolated from migratory ducks were analyzed. As a result, H5 virus had common sequences, while H6 virus had not. We will analyze the mutant viruses introduced the common sequences in the future.

交付決定額

(金額単位：円)

|          | 直接経費        | 間接経費 | 合計          |
|----------|-------------|------|-------------|
| 平成 21 年度 | 2,100,000 円 | 0 円  | 2,100,000 円 |
| 平成 22 年度 | 1,200,000 円 | 0 円  | 1,200,000 円 |
| 年度       |             |      |             |
| 年度       |             |      |             |
| 年度       |             |      |             |
| 総計       | 3,300,000 円 | 0 円  | 3,300,000 円 |

研究分野：ウイルス

科研費の分科・細目：

キーワード：高病原性インフルエンザウイルス、H5、H7

#### 1. 研究開始当初の背景

H1～16 亜型の数あるインフルエンザウイルスの中で、H5 と H7 亜型に限りニワトリに対して高病原性のウイルスが出現するという事象は昔から謎であった。しかし、このメカニズムを明らかにするための研究はほとんどなされていない。

#### 2. 研究の目的

H5 と H7 亜型に限りニワトリに対して高病原性のウイルスが出現するメカニズムを明らかにすることで、潜在的に病原性を獲得しやすい HA 亜型またはウイルス株の摘発を可能にし、高病原性鳥インフルエンザの防圧に大きく貢献すると考える。

#### 3. 研究の方法

H1 から H16 全ての亜型の HA 遺伝子データベースの情報を網羅的に比較解析。分離ウイルスの遺伝子解析。

#### 4. 研究成果

高病原性化に必要なすなわち塩基性アミノ酸の挿入を誘引する共通配列候補を見つけた。渡り鳥から分離された非病原性の H5 と H6 株について遺伝子解析を行い、H5 と H7 亜型が持つ共通配列の検索を行った。その結果、H5 のウイルスには共通配列と考えられる配列が認められたのに対し、H6 ウイルスには認められなかった。今後は共通配列を導入した変異ウイルスの作出し、それらを用いて比較解析を行いたい。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

Ujike M, Ejima M, Anraku A, Shimabukuro K, Obuchi M, **Kishida N.** Hong X, Takashita E, Fujisaki S, Yamashita K, Horikawa H, Kato Y, Oguchi A, Fujita N, Tashiro M, Odagiri T; Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Monitoring and characterization of oseltamivir-resistant pandemic (H1N1) 2009 virus, Japan, Emerg Infect Dis. 2011 Mar;17(3):470-9. 2009-2010

Nakayama E., Yokoyama A., Miyamoto H., Igarashi M., **Kishida N.**, Matsuno K., Marzi A., Feldmann H., Ito K., Saijo M., Takada A. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of filovirus

species-specific antibodies. Clin Vaccine Immunol. 2010 Nov;17(11):1723-8.

Sakoda Y., Sugar S., Batchluun D., Erdene-Ochir T., Okamatsu M., Isoda N., Soda K., Takakuwa H., Tsuda Y., Yamamoto N., **Kishida N.**, Matsuno K., Nakayama E., Kajihara M., Yokoyama A., Takada A., Sodnomdarjaa R., Kida H. Characterization of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus strains isolated from migratory waterfowl in Mongolia on the way back to their northern territory. Virology. 2010 Oct 10;406(1):88-94

Ujike M., Shimabukuro K., Mochizuki K., Obuchi M., Kageyama T., Shirakura M., **Kishida N.**, Yamashita K., Horikawa H., Kato Y., Fujita N., Tashiro M., Odagiri T.; Working Group for Influenza Virus Surveillance in Japan. 2010) Oseltamivir-resistant influenza viruses A (H1N1) during 2007-2009 influenza seasons, Japan. Emerg Infect Dis. Jun;16(6):926-35.

Shiino T., Okabe N., Yasui Y., Sunagawa T., Ujike M., Obuchi M., **Kishida N.**, Xu H., Takashita E., Anraku A., Ito R., Doi T., Ejima M., Sugawara H., Horikawa H., Yamazaki S., Kato Y., Oguchi A., Fujita N., Odagiri T., Tashiro M., Watanabe H. (2010) Molecular Evolutionary Analysis of the Influenza A(H1N1)pdm, May–September, 2009: Temporal and Spatial Spreading Profile of the Viruses in Japan. PLoS ONE 5(6)

Matsuno K., **Kishida N.**, Usami K., Igarashi M., Yoshida R., Nakayama E., Shimojima M., Feldmann H., Irimura T, Kawaoka Y, Takada A. (2010) Different potential of C-type lectin-mediated entry between Marburg virus strains. J Virol. May;84(10):5140-7.

Yoshida R., Igarashi M., Ozaki H., **Kishida N.**, Tomabechi D., Kida H., Ito K., Takada A. (2009) Cross-protective potential of a novel monoclonal antibody directed against antigenic site B of the

hemagglutinin of influenza A viruses. *Mar*;5(3):e1000350. *PLoS Pathog.*

Okamatsu M., Sakoda Y., **Kishida N.**, Isoda N. and Kida H. (2008) Antigenic structure of the hemagglutinin of H9N2 influenza viruses. *Archives of Virology* 153:2189-2195

Soda K., Ozaki H., Sakoda Y., Isoda N., Haraguchi Y., Sakabe S., Kuboki N., **Kishida N.**, Takada A., and Kida H. (2008) Antigenic and genetic analysis of H5 influenza virus isolated from water birds for the purpose of vaccine use. *Archives of Virology* 153:2041-2048

Isoda N., Sakoda Y., **Kishida N.**, Soda K., Sakabe S., Sakamoto R., Imamura T., Skaguchi M., Sasaki T., Kokumai N., Ohgitali T., Sijo K., Sawata A., Hagiwara J., Lin Z. and Kida H. (2008) Potency of an inactivated avian influenza vaccine prepared from a reassortant non-pathogenic H5N1 virus generated between isolates from migratory ducks in Asia. *Archives of Virology* 153:1685-1692

Manzoor R., Sakoda Y., Mweene A., Tsuda Y., **Kishida N.**, Bai G. R., Kameyama K., Isoda N., Soda K., Naito M. and Kida H. (2008) Phylogenetic analysis of the M gene of influenza viruses isolated from free-flying water birds from their Northern territory to Hokkaido, Japan. *Virus Genes* 37:144-152

**Kishida N.**, Sakoda Y., Shiromoto M., Bai G.R., Isoda N., Takada A., Laver G. and Kida H. (2008) H2N5 influenza virus isolates from terns in Australia: genetic reassortants between those of the Eurasian and American lineages. *Virus Genes* 37:16-21.

Isoda N., Sakoda Y., **Kishida N.**, Bai G.R., Matsuda K., Umemura T. and Kida H. (2006) Pathogenicity of a highly pathogenic avian influenza virus, A/chicken/Yamaguchi/7/04 (H5N1) in different species of birds and mammals. *Archives of Virology* 151: 1267-1279

**Kishida N.**, Sakoda Y., Isoda N., Matsuda K., Eto M., Sunaga Y., Umemura T. and Kida H. (2005) Pathogenicity of H5 influenza viruses for ducks. *Archives of*

*Virology* 150: 1383-1392

Bai G.R., Sakoda Y., Mweene A.S., **Kishida N.**, Yamada T., Minakawa H. and Kida H. (2005) Evaluation of the ESPLINE INFLUENZA A&B-N Kit for the diagnosis of avian and swine influenza. *Microbiology and Immunology* 49: 1063-1067

**Kishida N.**, Sakoda Y., Eto M., Sunaga Y. and Kida H. (2004) Co-infection of *Staphylococcus aureus* or *Haemophilus paragallinarum* exacerbates H9N2 influenza A virus infection in chickens. *Archives of Virology* 149(11): 2095-2104

Ohishi K., **Kishida N.**, Ninomiya A., Kida H., Takada Y., Miyazaki N., Boltunov A.N. and Maruyama T. (2004) Antibodies to human-related H3 influenza A virus in Baikal Seals (*Phoca sibirica*) and ringed seals (*Phoca hispida*) in Russia. *Microbiology and Immunology* 48(11): 905-909

Shengqing Y., **Kishida N.**, Ito H., Kida H., Otsuki K., Kawaoka Y., Ito T. (2002) Generation of velogenic Newcastle disease viruses from a nonpathogenic waterfowl isolate by passaging in chickens. *Virology*. Sep 30;301(2):206-11.

[雑誌論文] (計 18 件)

[学会発表] (計 30 件)

[図書] (計 1 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計◇件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者 岸田典子 (Kishida Noriko)  
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 研究員

研究者番号：70435965

(2) 研究分担者  
( )

研究者番号：

(3) 連携研究者  
( )

研究者番号：