

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月27日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23780304

研究課題名（和文）鳥インフルエンザウイルスの感受性を決定する因子の解析

研究課題名（英文）Mechanism of interspecies transmission of avian influenza viruses

研究代表者

岡松 正敏（OKAMATSU MASATOSHI）

北海道大学・大学院獣医学研究科・助教

研究者番号：00507163

研究成果の概要（和文）：インフルエンザウイルスのレセプター特異性と宿主の糖鎖レセプターの構造を詳細に明らかにし、異なる宿主間の伝播に関与する因子を明らかにした。糖鎖構造を認識するレクチンおよび抗糖鎖抗体を用いて、哺乳動物と鳥のインフルエンザウイルス増殖部位のレセプター分布を調べた。その結果、ニワトリの気管に特徴的な糖鎖レセプターが発現し、ニワトリで増殖するウイルスは、そのレセプターを認識することが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Receptor specificity of influenza A viruses and glyco receptors expressed host tissues were analyzed. Using lectins and antibodies that recognize terminal sialic acid and structure of glycoconjugates, distribution of the receptors in the epithelial cells of birds and mammals were determined. On chicken epithelial cells, unique glyco receptor was detected and virus that efficiently grow in chickens recognized the receptor.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学、応用獣医学

キーワード：人獣共通感染症、鳥インフルエンザ、種間伝播、レセプター、糖鎖、ニワトリ

1. 研究開始当初の背景

インフルエンザウイルスはシアル酸を末端に持つ糖鎖をレセプターとして認識し、感染を開始する。自然宿主であるカモと、ヒトのインフルエンザウイルスのレセプター特異性は明らかとなっており、ウイルスが増殖する宿主細胞でのレセプター発現と関連している。

2. 研究の目的

ニワトリのインフルエンザウイルスは、カモと同じ鳥型レセプターを認識するが、カモには感染しない。また、ウイルスが増殖するニワトリの気管上皮細胞にはヒト型レセプターが優位に検出され、この矛盾点を明らか

にすることを目的とした。

3. 研究の方法

さまざまな鳥および哺乳動物から分離されたインフルエンザウイルスの糖鎖結合特異性を調べた。さらに、インフルエンザウイルスレセプターの解析に用いられてきたレクチン、ならびに糖鎖構造を特異的に認識する抗糖鎖抗体を用いて、ウイルス増殖部位における糖鎖の分布を明らかにした。

4. 研究成果

インフルエンザウイルスの糖鎖結合特異性を調べた結果、ヒトのウイルスは $\alpha 2, 6$ シアル糖鎖に、カモのウイルスは $\alpha 2, 3$ シアル

酸糖鎖に結合した。カモから分離された A/duck/Mongolia/52/2001 (H5N2) は、直鎖上およびフコースの分岐差を持つ $\alpha 2, 3$ シアル酸糖鎖の両方と結合した。ニワトリから分離された A/chicken/Ibaraki/1/2005 (H5N2) は、分岐差を持つ $\alpha 2, 3$ 糖鎖とは結合したが、分岐差を持たない糖鎖との結合は弱かった。ニワトリから分離された A/chicken/Yokohama/aq-55/2001 (H9N2) は、 $\alpha 2, 6$ 糖鎖と結合した。

インフルエンザウイルスの感受性動物であるカモ、ニワトリ、ウズラ、マウス、ブタ、ウマ、イヌ、サルおよびヒトの全身臓器の組織切片を用いて、シアル酸レセプターの分布を調べた。カモの結腸上皮細胞に直鎖上の $\alpha 2, 3$ シアル酸糖鎖が検出されたが、ニワトリの気管上皮細胞には検出されなかった。ニワトリに気管上皮にはフコースの分岐差を持つ糖鎖が検出された。

これらの知見は、自然宿主であるカモのウイルスが、ニワトリに感染しにくいメカニズムを明らかにしたため、家禽の疾病制御に役立つものである。また、糖鎖レセプターの解析にこれまでのレクチンだけでなく抗糖鎖抗体を用いた解析が有用であることを示している。

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)

[雑誌論文] (計 22 件)

Yamamoto N, Soda K, Sakoda Y, Okamatsu M, Kida H. Proteins of duck influenza virus responsible for acquisition of pathogenicity in chickens. *Virus Res*, 査読有, 173. 294-298. 2013

Shichinohe S, Okamatsu M, Yamamoto N, Noda Y, Nomoto Y, Honda T, Takikawa N, Sakoda Y, Kida H. Potency of an inactivated influenza vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 virus against a challenge with antigenically drifted highly pathogenic avian influenza viruses in chickens. *Vet Microbiol*, 査読有, 164. 39-45. 2013

Okamatsu M, Sakoda Y, Hiono T, Yamamoto N, Kida H. Potency of a vaccine prepared from A/swine/Hokkaido/2/1981 (H1N1) against A/Narita/1/2009 (H1N1) pandemic influenza virus strain. *Virol J*, 査読有, 10. 47. 2013

Okamatsu M, Feng F, Ohyanagi T, Nagahori N, Someya K, Sakoda Y, Miura N, Nishimura S, Kida H. Fluorescence polarization-based assay using N-glycan-conjugated quantum dots for screening in hemagglutinin blockers for influenza A viruses. *J Virol Methods*, 査読有, 187. 390-394. 2013

Kajihara M, Sakoda Y, Soda K, Minari K, Okamatsu M, Takada A, Kida H. The PB2, PA, HA, NP, and NS genes of a highly pathogenic avian influenza virus A/whooper swan/Mongolia/3/2005 (H5N1) are responsible for pathogenicity in ducks. *Virol J*, 査読有, 10. 45. 2013

Sakoda Y, Okamatsu M, Isoda N, Yamamoto N, Ozaki K, Umeda Y, Aoyama S, Kida H. Purification of human and avian influenza viruses using cellulose sulfate ester (Cellufine Sulfate) in the process of vaccine production. *Microbiol Immunol*, 査読有, 56. 490-495. 2012

Sakoda Y, Ito H, Uchida Y, Okamatsu M, Yamamoto N, Soda K, Nomura N, Kuribayashi S, Shichinohe S, Sunden Y, Umemura T, Usui T, Ozaki H, Yamaguchi T, Murase T, Ito T, Saito T, Takada A, Kida H. Reintroduction of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus by migratory water birds, causing poultry outbreaks in 2010-2011 winter season in Japan. *J Gen Virol*, 査読有, 93. 541-550. 2012

Nomura N, Sakoda Y, Soda K, Okamatsu M, Kida H. An H9N2 influenza virus vaccine prepared from a non-pathogenic isolate from a migratory duck confers protective immunity in mice against challenge with an H9N2 virus isolated from a girl in Hong Kong. *J Vet Med Sci*, 査読有, 74. 441-447. 2012

Nomura N, Sakoda Y, Endo M, Yoshida H, Yamamoto N, Okamatsu M, Sakurai K, Hoang NV, Nguyen LV, Chu HD, Tien TN, Kida H. Characterization of avian influenza viruses isolated from domestic ducks in Vietnam in 2009 and 2010. *Arch Virol*, 査読有, 157. 247-257. 2012

Isoda N, Tsuda Y, Asakura S, Okamatsu M, Sakoda Y, Kida H. The nucleoprotein is responsible for intracerebral pathogenicity of A/duck/Mongolia/47/2001

(H7N1) in chicks. Arch Virol, 査読有, 12. 2257-2264. 2012

Arikata M, Itoh Y, Okamatsu M, Maeda T, Shiina T, Tanaka K, Suzuki S, Nakayama M, Sakoda Y, Ishigaki H, Takada A, Ishida H, Soda K, Pham VL, Tsuchiya H, Nakamura S, Torii R, Shimizu T, Inoko H, Ohkubo I, Kida H, Ogasawara K. Memory Immune Responses against Pandemic (H1N1) 2009 Influenza Virus Induced by a Whole Particle Vaccine in Cynomolgus Monkeys Carrying Mafa-A1*052ratio02. PLoS One, 査読有, 7. e37220. 2012

Yoshida H, Sakoda Y, Endo M, Motoshima M, Yoshino F, Yamamoto N, Okamatsu M, Soejima T, Senba S, Kanda H, Kida H. Evaluation of the reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) as a screening method for the detection of influenza viruses in the fecal materials of water birds. J Vet Med Sci, 査読有, 73. 753-758. 2011

Yamamoto N, Sakoda Y, Motoshima M, Yoshino F, Soda K, Okamatsu M, Kida H. Characterization of a non-pathogenic H5N1 influenza virus isolated from a migratory duck flying from Siberia in Hokkaido, Japan, in October 2009. Virol J, 査読有, 8. 65. 2011

Uchida Y, Kanehira K, Mase M, Takemae N, Watanabe C, Usui T, Fujimoto Y, Ito T, Igarashi M, Ito K, Takada A, Sakoda Y, Okamatsu M, Yamamoto Y, Nakamura K, Kida H, Hiromoto Y, Tsuda T, Saito T. Genetic characterization and susceptibility on poultry and mammal of H7N6 subtype avian influenza virus isolated in Japan in 2009. Vet Microbiol, 査読有, 147. 1-10. 2011

Takeyama N, Minari K, Kajihara M, Isoda N, Sakamoto R, Sasaki T, Kokumai N, Takikawa N, Shiraishi R, Mase M, Hagiwara J, Kodama T, Imamura T, Sakaguchi M, Ohgitani T, Sawata A, Okamatsu M, Muramatsu M, Tsukamoto K, Lin Z, Tsuchiya K, Sakoda Y, Kida H. Detection of highly pathogenic avian influenza virus infection in vaccinated chicken flocks by monitoring antibodies against non-structural protein 1 (NS1). Vet Microbiol, 査読有, 147. 283-291. 2011

Soda K, Cheng MC, Yoshida H, Endo M, Lee

SH, Okamatsu M, Sakoda Y, Wang CH, Kida H. A low pathogenic H5N2 influenza virus isolated in Taiwan acquired high pathogenicity by consecutive passages in chickens. J Vet Med Sci, 査読有, 73. 767-772. 2011

Soda K, Asakura S, Okamatsu M, Sakoda Y, Kida H. H9N2 influenza virus acquires intravenous pathogenicity on the introduction of a pair of di-basic amino acid residues at the cleavage site of the hemagglutinin and consecutive passages in chickens. Virol J, 査読有, 8. 64. 2011

Samad RAS, Y. Tsuda, Y. Simulundu, EManzoor, R. Okamatsu M, Ito, K. Kida, H., Virological surveillance and phylogenetic analysis of the PB2 genes of influenza viruses isolated from wild water birds flying from their nesting lakes in Siberia to Hokkaido, Japan in autumn. Jpn J Vet Res, 査読有, 59. 15-22. 2011

Samad RA, Nomura N, Tsuda Y, Manzoor R, Kajihara M, Tomabeche D, Sasaki T, Kokumai N, Ohgitani T, Okamatsu M, Takada A, Sakoda Y, Kida H. A vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 influenza virus strain from the influenza virus library conferred protective immunity to chickens against the challenge with antigenically drifted highly pathogenic avian influenza virus. Jpn J Vet Res, 査読有, 59. 23-29. 2011

Motoshima M, Okamatsu M, Asakura S, Kuribayashi S, Sengee S, Batchuluun D, Ito M, Maeda Y, Eto M, Sakoda Y, Sodnomdarjaa R, Kida H. Antigenic and genetic analysis of H3N8 influenza viruses isolated from horses in Japan and Mongolia, and imported from Canada and Belgium during 2007-2010. Arch Virol, 査読有, 156. 1379-1385. 2011

Kajihara M, Matsuno K, Simulundu E, Muramatsu M, Noyori O, Manzoor R, Nakayama E, Igarashi M, Tomabeche D, Yoshida R, Okamatsu M, Sakoda Y, Ito K, Kida H, Takada A. An H5N1 highly pathogenic avian influenza virus that invaded Japan through waterfowl migration. Jpn J Vet Res, 査読有, 59. 89-100. 2011

Isoda N, Sakoda Y, Okamatsu M, Tsuda Y, Kida H. Improvement of the H5N1 influenza virus vaccine strain to decrease the

pathogenicity in chicken embryos. Arch Virol, 査読有, 156. 557-563. 2011

〔学会発表〕(計 9 件)

岡松正敏、迫田義博、本橋友里恵、山本直樹、栗林沙弥、市川貴也、谷川力、喜田宏、2011年に日本で野鳥から分離された H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスのカラス、スズメおよびクマネズミに対する病原性、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月 13-15 日、グランキューブ大阪、大阪市

山本直樹、迫田義博、曾田公輔、岡松正敏、喜田宏、非病原性鳥インフルエンザウイルス A/duck/Hokkaido/Vac-1/2004 (H5N1) のニワトリに対する病原性獲得に与るウイルス因子の同定、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月 13 日-15 日、グランキューブ大阪、大阪市

七戸新太郎、岡松正敏、迫田義博、喜田宏、鳥インフルエンザウイルスがブタに感染すると SA α 2,6Gal レセプターを認識するウイルスが選択される、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月 13-15 日、グランキューブ大阪、大阪市

岡松正敏、迫田義博、本橋友里恵、山本直樹、栗林沙弥、喜田宏、2011 年に日本で野鳥から分離された H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスのカラス、スズメおよびクマネズミに対する病原性、第 154 回日本獣医学会学術集会、2012 年 9 月 14 日-16 日、岩手大学、盛岡市

岡松正敏、伊藤啓史、内田裕子、迫田義博、山本直樹、曾田公輔、笛吹達史、尾崎弘一、山口剛士、村瀬敏之、高田礼人、伊藤壽啓、西藤岳彦、喜田宏、2010-2012 年に日本で野鳥から分離された H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルス、第 152 回日本獣医学会学術集会、2011 年 9 月 19 日-21 日、大阪府立大学、大阪

七戸新太郎、岡松正敏、山本直樹、野田優、野元由佳、瀧川義康、迫田義博、喜田宏、H5N1 非病原性鳥インフルエンザウイルスを用いて試製したワクチンの異なる系統のウイルス攻撃に対する効果、第 152 回日本獣医学会学術集会、2011 年 9 月 19 日-21 日、大阪府立大学、大阪

日尾野隆大、岡松正敏、迫田義博、喜田宏、カモの非病原性インフルエンザウイルスがニワトリに感染し増殖する条件、第 152 回日

本獣医学会学術集会、2011 年 9 月 19 日-21 日、大阪府立大学、大阪

M. Okamatsu, Y. Sakoda, T. Hiono, N. Yamamoto, H. Kida. Comparison of potency of whole virus particle and ether split pandemic influenza vaccine prepared from A/swine/Hokkaido/2/1981 (H1N1). 国際微生物学連合 2011 会議、2011 年 9 月 15 日、札幌コンベンションセンター、札幌市

S. Shichinohe, Y. Sakoda, N. Yamamoto, M. Okamatsu, Y. Noda, Y. Nomoto, T. Honda, Y. Takigawa, H. Kida. Potency of an inactivated avian influenza vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 virus against the challenge with an antigenically drifted virus of clade 2.3.4. 国際微生物学連合 2011 会議、2011 年 9 月 15 日、札幌コンベンションセンター、札幌市

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

北海道大学大学院獣医学研究科微生物学教室ホームページ

<http://www.vetmed.hokudai.ac.jp/organization/microbiol/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡松 正敏 (OKAMATSU MASATOSHI)

北海道大学・大学院獣医学研究科・助教

研究者番号：000507163