鳥 類 に お け る イ ン フ ル エ ン ザ

河 岡 義 裕*

1983年、米国ペンシルベニア州で強毒トリインフルエンザが発生し、多大な被害を与えたことは、われわれの記憶に新しい。ウイルスは周辺の州に広がり、産卵鶏、肉用鶏およびシチメンチョウなどあらゆる家禽に感染し、総計約 1,700 万羽の家禽が淘汰され、その経費は 6,100 万ドルに達した。また同年、アイルランドではシチメンチョウに、1985年にはオーストラリアでニワトリに強毒インフルエンザが発生した。最近、世界で発生したこれらの強毒インフルエンザの流行を分子生物学の手法を用いて解析することにより、これまで知られていなかった新しい事実がわかってきた。本総説では強毒インフルエンザの防疫を考えるうえで重要な最近の知見を中心に記してみたい。なお、家禽ペストという用語の定義が確立していないため、本稿では病原性の高いインフルエンザウイルスによって引き起こされる疾病を強毒インフルエンザと総称する。

1. ウイルスの構造と機能²³⁾

インフルエンザウイルスはオルソミクソ科に属し、A、B、およびC型インフルエンザウイルスに型別される。トリインフルエンザウイルスはA型インフルエンザウイルスに属し、その形態は図1に示すようにスパイクをともなった多形性である。ウイルス表面には、2種類の異

図1 インフルエンザウイルスの模式図

* YOSHIHIRO KAWAOKA; St. Jude Children's Research Hospital, Department of Virology and Molecular Biology (332 N. Lauderdale, P. O. Box 318, Memphis, TN 38101 USA)

なるスパイク、赤血球凝集素 (HA) およびノイラミニダーゼ (NA) が存在する。これらのスパイクは宿主細胞由来のエンベロープに埋め込まれている。エンベロープの内層にはマトリクス (M) 蛋白質が存在する。それらに包まれたかたちで核蛋白質 (NP) と3種類の RNA 合成に関与している蛋白質 (PB1, PB2, PA) をともなったネガティブセンス (メッセンジャー RNA の相補) の8種類の1本鎖 RNA が存在する。これらの蛋白質以外に、ウイルス粒子には認められないが、感染細胞内に認められる非構造蛋白質 (NS 1, NS 2, M2) がウイルス遺伝子から合成される。

HA は分子量約 76,000 の糖蛋白質で、ウイルスが宿主細胞に吸着するのに関与し、赤血球凝集能を有する。ウイルス構造蛋白質のおよそ 25% は HA である。HA は1本鎖のポリペプチドとして合成された後、感染細胞内の蛋白質分解酵素により HA 1 と HA 2 に開裂される。HA の開裂はその機能上重要で、未開裂の HA を有するウイルスは感染能がない^{19,20)}。HA は宿主免疫機構にとって重要な標的で、インフルエンザウイルスの中和抗体の大部分は HA に対する抗体である。HA は、すでに分離、精製、結晶化され、その3次元構造が明らかにされている²⁵⁾。

A型インフルエンザウイルスの遺伝子は、前述のごとく8種類の1本鎖 RNA 分節からなる。それゆえ、2種類の異なるインフルエンザウイルスが同時に1個の細胞に感染すると、異なる遺伝子の組み合わせをもつ種々の合の子ウイルスが産生される。ヒトインフルエンザウイルスの H2N2 ウイルスの HA および NA 遺伝子、そして H3N2 ウイルスの HA 遺伝子はともにヒトに流行していたウイルスと、トリのウイルスとの合の子の形成により新しくヒトの集団に導入されたものと考えられている。野生の水鳥においても、合の子ウイルスの産生が頻繁に起こっている。

2. 野鳥、とくに水鳥におけるインフルエンザウイルスの生態

A型インフルエンザウイルスは、HA と NA の抗原性により、13 の HA 亜型および9 の NA 亜型に分類される。野生の鳥類、とくにカモ類を含めた水鳥には、これらすべての亜型のウイルスが存在する。1972年にインフルエンザウイルスがミズナギドリから分離されて以

来、これまでに膨大な数のインフルエンザウイルスが健康な鳥類から分離されている。

1) 増 殖 部 位

インフルエンザウイルスの増殖部位は、哺乳動物では主として呼吸器であるが、水鳥では下部腸管である。WEBSTER ら³⁸⁾およびKIDA ら¹⁷⁾は、哺乳動物由来のインフルエンザはアヒルの腸管で増殖しないが、鳥類由来のウイルスは増殖することを示した。カモの糞中には約 10^7 EID₅₀ のウイルスが存在する。したがって、自然界でのトリインフルエンザウイルスの伝播は、おそらく糞と伴に排出されたウイルスを水鳥が水と伴に摂取することによって成立するものと考えられる⁹⁾。

2) 疫 学

インフルエンザウイルスの鳥類からの分離は、世界各地で行われているが系統だった仕事は少ない。HINSHAW ら¹⁰⁾は、野生のカモにおけるインフルエンザウイルスの生態を約 10 年にわたって調べた。彼女らは米国の 2 つの異なる飛翔経路のカモからのウイルス分離を試み、以下の成績を得た。① これまでに知られているほとんどの亜型のウイルスが野生のカモに存在する。② 異なる亜型のウイルスが共存する。③ 年により主たる亜型のウイルスは異なる。④ 主たるウイルス亜型は同じ年でも飛翔経路により異なる。⑤ 繁殖地の幼鳥からは高頻度に(約 30% 陽性)ウイルスが分離されるが、成鳥からの分離頻度は低い(陽性 5% 以下)。日本でも北海道大学¹⁰⁾、東北大学³⁰⁾および鳥取大学²⁹⁾のグループが鳥類からのインフルエンザウイルスの分離を長年行っており、彼らの成績は HINSHAW ら¹⁰⁾の結果と一致する。これらの成績は、自然界には膨大な数のインフルエンザウイルスが存在しており、そのコントロールは不可能に近いことを示している。これは、家禽におけるトリインフルエンザの防疫を考えるうえで重要である。

3) トリとヒトのウイルスの変異率の相違

トリとヒトのインフルエンザウイルスの相違点のひとつは、トリインフルエンザウイルスの場合、同じ亜型のウイルスはその抗原性が非常に均一で、分離年度による大きな違いがみられない。いっぽう、ヒトのインフルエンザウイルスでは初期の香港型ウイルスと現在分離されているウイルスとでは、同じ亜型でありながらその抗原性は大きく異なる¹⁸⁾。KIDA ら¹⁸⁾は最近、野生のカモから分離されたいくつかの H3 亜型のウイルスの抗原性をモノクローナル抗体を使って詳細に調べ、これらのウイルスの抗原性は非常に近似していることを示した。遺伝子レベルでも、これらのウイルスの HA は相同性が高く、分離年度が 5 年も離れていたにもかかわらず、これらのウイルスの HA 遺伝子は約 1,700 塩基中わずか 24 塩基しか異なっていなかった。ヒトのウイルスでは通常、分離年度が 5 年離れたウイルス同士では約 42 塩基の相違が

ある^{7,11)}。つまり、カモでのインフルエンザウイルスの変異の割合はヒトにおける場合の約 1/2 である。自然界に存在するカモの約 50% はその年に生まれた幼鳥で、6 年以内にはすべてのカモが世代交代される (B. TURNER 私信)。しかも、アヒルを使った実験ではアヒルは容易に同じウイルスに再感染する¹⁷⁾。つまり、野生のカモではつねに未感染集団が用意されており、しかもカモでは免疫応答が低いために、野生のカモにおけるインフルエンザウイルスはヒトの場合と異なり Immune pressure がなく、その抗原性が保存されているのだろう。このトリにおけるインフルエンザウイルスの抗原性の保存は、ワクチン開発を考えるうえで重要である。

4) 強毒トリインフルエンザウイルスの Reservoir としての野鳥

これまで、野鳥から分離されたインフルエンザウイルスは、一部の例外を除きすべて家禽に対して弱毒である。これまでに認められた例外は、1961 年に南アフリカで大量のアジサシが斃死した例である⁹⁾。第 2 の例外は、1985 年にオーストラリアで強毒トリインフルエンザが発生した際に、ムクドリから分離されたウイルスの場合で²⁴⁾、これについては後述する。野鳥から分離された大部分のインフルエンザウイルスが弱毒であるのは、自然界ではトリインフルエンザウイルスにおける強毒株の占める割合が非常に低いためであろう。後で述べるように野生の水鳥、とくにカモは強毒トリインフルエンザウイルスに感染しても、大量のウイルスが実質臓器から分離されるにもかかわらず、まったく臨床症状を示さず外見的には健康である¹⁴⁾。したがって、これらの水鳥は強毒トリインフルエンザウイルスの恰好の reservoir になっているといえよう。

3. 家禽におけるトリインフルエンザ

1) 症 状

従来、家禽ペストとして知られていた病気の本体が A 型インフルエンザウイルスによることが、1955 年、SCHÄFER によって明らかにされた²⁸⁾。家禽におけるインフルエンザは、家禽ペストとして知られるような致死的なものから、軽度の呼吸器症状にとどまるものまで種種である。これまでに世界各地で発生した主な強毒トリインフルエンザを表 1 に示した。強毒トリインフルエンザに罹患したトリは、初期臨床症状として、沈鬱、羽毛逆立、食欲・飲水欲消失を呈し、産卵を停止する場合が多い。つづいて、肉冠内髯の紫変(図 2)と浮腫、顔面の浮腫、脚の皮下出血(図 3)などの特徴的の症状を示し、呼吸器停止、神経症状を呈して急性に死亡する。おもな肉眼病変は、各臓器、とくに気管、肺、腺胃、卵巣、腸管の充血である。これらの病変は、トリの系統、年齢により異なることがある。1983 年の米国での発生例では、

6 週齢前後の若ドリに腺胃の充出血が特徴的にみられた。また、急性に経過する場合には、感染後 2、3 日以内に死亡し、上述の肉眼的病変がまったくみられないことも多い。軽度のインフルエンザでは、咳、奇声、流涙などの呼吸器症状を示し、軟殻卵、異常卵、産卵率の低

表 1 おもな強毒トリインフルエンザ

発生年	国	名	ウイルス	亜型
1924	日	本	Chick/Japan/25	H7 N7
1934	ド	イ	FPV/Rostoch/34	H7 N1
1959	イ	ギ	Chick/Scot/59	H5 N1
1961	南	ア	Tern/S.A./61	H5 N3
1963	イ	ギ	Turkey/Eng/63	H7 N3
1966	カ	ナ	Turkey/Ont/66	H5 N9
1975	オーストラリア		FPV/Aus/75	H7 N7
1979	イ	ギ	Turkey/Eng/79	H7 N7
1983	ア	メ	Chick/Penn/83	H5 N2
1983	イ	ギ	Turkey/Ire/83	H5 N8
1985	オーストラリア		Chick/Vic/85	H7 N7

図 2 強毒インフルエンザウイルスに罹患したニワトリに見られる肉冠の紫変（左は正常鶏）

図 3 強毒インフルエンザウイルス感染鶏の足の皮下出血（右は正常鶏）

下もみられる。

2) 伝 播

強毒インフルエンザウイルスの伝播力は、ウイルス株によって異なる。われわれの実験では、Chicken/Pennsylvania/83 および Chicken/Victoria/85 ウイルスはニワトリにおける伝播力が非常に強かったが、Turkey/Ireland/83 ウイルスでは、ケージ間のウイルス伝播はみられなかった。強毒トリインフルエンザウイルスの伝播は鶏舎内では空気伝播であろう。1983年に米国で発生した強毒トリインフルエンザでは、汚染鶏舎内のすべてのもの（水、ケージ、壁などの表面、糞など）からウイルスが分離された。鶏舎間の伝播は、主として車や感染鶏等による機械的伝播によるものが多いと考えられる。その他、鶏舎に出入りする小鳥が運搬する可能性がある。1985年のオーストラリアでの発生例では、発生地域のスズメに血清抗体陽性の個体がみつかったっており、さらにムクドリからはウイルスが分離された⁶⁾。NESTROWITZ ら²⁴⁾はこのムクドリから分離されたウイルスが、遺伝的にニワトリの強毒インフルエンザウイルスと同じであり、病原性もニワトリからの分離株と同様に強毒であることを示した。さらに、感染実験の結果、強毒インフルエンザウイルスがスズメおよびムクドリで増殖し、それらの糞中に排出されることが示された²⁴⁾。すなわち、これらの小鳥は強毒インフルエンザウイルスの生物学的ベクターになることが可能で、トリインフルエンザ発生時の防疫上重要である。

3) 防 疫

トリインフルエンザは頻繁に発生する病気ではない。日本では 1925 年の流行以来報告がない。したがって、家禽にインフルエンザワクチンを使用することは経済的になりたない。これは、他の国においても同様である。しかし、後述の米国での発生例のように流行が長期化した場合には、ワクチンの導入も考慮する必要があるかもしれない。米国の一部の州では毎年シチメンチョウに軽度から中等度等のインフルエンザが発生するため、不活化ワクチンが使用されている⁹⁾。アマンタジン等の抗ウイルス剤の使用も考えられるが、アマンタジン単独の使用は薬剤耐性株の出現のため効果的ではない³¹⁾。

後で述べるように、これまでの強毒トリインフルエンザの発生は、おそらくすべてが野生の水鳥に保存されている強毒ウイルスが家禽に伝播したと考えられる。したがって、トリインフルエンザの最大の予防は、家禽と野生の水鳥の接触をできるだけ少なくすることである。

4. 病原性の分子生物学的解明

1) 病原性に関する遺伝子の同定

一般に病原体の宿主に対する病原性は多因的であり、インフルエンザウイルスも例外ではない。すなわち、単

一の因子でウイルスの病原性が決定されるのではなく、種々の要因が重なりあってその病原性が決定されている。インフルエンザウイルスは前述のごとく、その遺伝子が8種の分節に分かれていることから、実験的に合の子ウイルスをつくることが可能である。Rott ら²⁷⁾は、強毒トリインフルエンザウイルスと哺乳動物由来のウイルスを用いて数多くの合の子ウイルスをつくったが、ウイルスの病原性に重要な遺伝子を決定することはできなかった。BEAN と WEBSTER²⁾ は同様の実験を強毒トリインフルエンザウイルスとヒト由来のウイルスを用いて行い、HA, NA の組み合わせが重要であるとした。OGAWA と UEDA²⁵⁾ はこれらの仕事をさらに発展させた。彼らはこれまでの仕事がすべてトリ由来の強毒株と哺乳動物由来のウイルスを用いて行われていることから、トリ由来のウイルスどうして合の子ウイルスをつくることにより病原性に関与している因子をさらに限定できるのではないかと考えた。このアプローチにより、ポリメラーゼの遺伝子はトリ由来のウイルスを親株として用いるかぎり重要ではなく、HA, NA, M 遺伝子が重要であることを見出した。

2) ブラック形成能と病原性の関係

トリインフルエンザウイルスの強毒株と弱毒株には、表2に示したように種々の *in vitro* 性質の違いがある。なかでも、組織培養でトリプシン無添加におけるブラック形成能の相違は顕著である。これまで、自然界から分離されたすべての強毒株は、トリプシン無添加でブラック形成能を有するが、弱毒株ではトリプシンの添加が必要である^{19, 20)}。BOSCH ら⁵⁾はブラック形成能がHAの開裂と相関すること——組織培養において強毒株のHAはトリプシン無添加でHAが開裂し、HA1とHA2になるが、弱毒株では開裂しないこと——を明らかにした。この結果は、強毒株と弱毒株のHAには何らかの相違があることを示唆しており、上述の合の子ウイルスを用いた実験で示されたHA遺伝子が重要であるという結果と

表2 強毒インフルエンザウイルスの *in vitro* マーカー

性	状	強毒株	弱毒株
トリプシン無添加でのブラック形成		+	—
組織培養でのトリプシン無添加におけるHAの開裂		+	—
鶏胎児を殺すのに要する日数		2	3-7

表3 病原性を示すのに必要な遺伝子構成

合の子 ウイルス	遺 伝 子 構 成								斃死した鶏 の数/用いた 鶏の数
	PA	PB1	PB2	HA	NP	NA	M	NS	
R1	A	A	A	V	A	A	A	A	8/8
R2	V	V	V	A	V	V	V	V	0/8

注) A: 弱毒株 V: 強毒株

一致する。

3) Chick/Penn/83 ウイルスの病原性獲得の機構

1983年に米国で発生した強毒トリインフルエンザは、発生当初、比較的弱毒であったウイルスが後に突如強毒になったという点で非常にユニークで、インフルエンザウイルスの病原性に関与する因子を調べるうえで恰好の機会であった。われわれは、上述の背景に基づき Chick/Penn/83 ウイルスの病原性獲得の機構の解明を試みた。インフルエンザウイルスの場合、病原性獲得の機構として3つの可能性が考えられる。第1は、弱毒ウイルスの集団に他のウイルスが入り、両ウイルスの間に合の子ウイルスができた場合。第2は、弱毒ウイルスに点変異 (Point mutation) が起こった場合。第3は、第1と第2の両方が起こった場合である。弱毒株と強毒株のRNAのオリゴヌクレオチドマップの比較から、両者のRNAは非常に近似しており、他のウイルスの関与は否定された。すなわち、第2の可能性、弱毒ウイルスに点変異が起こり、強毒株になったことがわかった²¹⁾。次に、インフルエンザウイルスの8種の遺伝子のうち、どの遺伝子に病原性の獲得に関与した点変異が起こったかを弱毒株と強毒株との合の子ウイルスをつくることにより調べた。その結果、表3に示すように、HA遺伝子以外のすべての遺伝子が弱毒株由来で、HA遺伝子のみが強毒株由来の合の子ウイルスは、強毒株と同じくらい強い病原性を示した。いっぽう、その逆のウイルス、すなわちHA遺伝子のみ弱毒株由来で他はすべて強毒株の遺伝子をもつウイルスは、まったく病原性を示さなかった³²⁾。以上の結果は、HA遺伝子に変異が起こったことを示した。そこで、HA遺伝子のどの部分に変化が起こったかを明らかにするために、強毒株と弱毒株、そして強毒株から弱毒株に変異した逆変異株のHA遺伝子の塩基配列を比較した^{12, 13, 32)}。その結果、HAの13番目のアミノ酸に起こった点変異が重要であることがわかった。すなわち、1983年から'84年にかけて米国で大流行を引き起こしたウイルスは、HA上のたった1個所のアミノ酸の変異により弱毒株から強毒株に変異したことがわかった。

Chick/Penn/83 ウイルスの場合も他のトリインフルエンザウイルスと同様に、組織培養で強毒株はトリプシン無添加でHA開裂が起こりブラックを形成するが、弱毒株はしない¹²⁾。つまり、Chick/Penn/83 ウイルスのHAに起こった1個所のアミノ酸の変化により、弱毒株はHAの開裂能を獲得し、強毒株になったといえる。

4) HA開裂部位のアミノ酸配列の重要性

ドイツのグループは、トリインフルエンザウイルスの強毒株と弱毒株のHA開裂能のちがいは、HAのHA1とHA2の開裂部位のアミノ酸配列の違いにあるのではないかと考えた。彼らは2次元電気泳動を用いて強毒株は弱毒株よりも塩基性アミノ酸 (アルギニン, リジン)

が開裂部位に多いことを示した⁴⁾。彼らの仮説はわれわれが Chick/Penn/83 ウイルス で得た結果と一見矛盾する。なぜなら、Chick/Penn/83 の弱毒株と強毒株の HA の開裂部位のアミノ酸配列はまったく同じであるからだ。そこで、HA の開裂部位のアミノ酸配列の重要性をより詳細に調べるために H5¹⁴⁾および H7 亜型²⁴⁾の強毒株と弱毒株の HA の開裂部位のアミノ酸配列を HA 遺伝子の塩基配列を決定することにより比較した。その結果、表 4 に示すように強毒株では塩基性アミノ酸が連続しているが、弱毒株では1つずつ離れて存在していた。唯一の例外は、弱毒株の Chick/Penn/83 ウイルスで、強毒株と同様、塩基性アミノ酸が4つ連続していた。そこでわれわれは、強毒株の HA の開裂部位に塩基性アミノ酸が連続して存在することが HA の開裂能、ひいては病原性に関係していることを直接証明することを試みた¹⁵⁾。まず、強毒株の HA 遺伝子をプラスミッドにクローニングし、それを *in vitro* で発現 (HA の合成) させる実験系を確立した。次に、プラスミッドにクロー

ニングした HA 遺伝子において、HA の開裂部位に相当する部分の塩基配列を人工的に変えることにより (Site Specific Mutagenesis) 表 5 に示すような種々の変異 HA をつくった。これらの変異 HA の開裂を調べたところ、変異 HA のほとんどが HA の開裂に支障をきたしていた¹⁵⁾。この結果は、HA の開裂部位の連続した塩基性アミノ酸配列は、その開裂に重要であることを示している。しかし、連続した塩基性アミノ酸を保有する HA をもつウイルスがすべて強毒株であるかというそうではない。Chick/Penn/83 の弱毒株のように連続したアミノ酸を開裂部位にもちながら、さらに変異が必要な場合もある。したがって、HA の開裂部位の連続したアミノ酸の存在は、HA の開裂および病原性の必要条件ではあるが、必要十分条件ではない。

組織培養における強毒株と弱毒株の HA の開裂能の相違は、培養細胞には強毒株の HA は開裂するが、弱毒株の HA は開裂できない酵素があることを示唆している。すなわち、この酵素の基質特異性はかなり限られており、

表 4 インフルエンザウイルスの病原性と HA 開裂部位のアミノ酸配列

ウ イ ル ス	亜 型	病 原 性	HA 開裂部位のアミノ酸配列											
			←HA1 HA2→											
FPV/34	(H7)	+	Pro	Glu	Pro	Ser	Lys*	Lys	Arg	Glu	Lys	Arg	Gly	
Tern/SA/61	(H5)	+	Pro	Gln	Arg	Glu	Thr	Arg	Arg	Gln	Lys	Arg	Gly	
Ty/Ire/83	(H5)	+	Pro	Gln	—**	—	Arg	Lys	Arg	Lys	Lys	Arg	Gly	
Ty/Ont/66	(H5)	+	Pro	Gln	—	—	—	Arg	Arg	Lys	Lys	Arg	Gly	
Ck/Scot/59	(H5)	+	Pro	Gln	—	—	—	—	Arg	Lys	Lys	Arg	Gly	
Ck/Penn/83 vir	(H5)	+	Pro	Gln	—	—	—	—	Lys	Lys	Lys	Arg	Gly	
Ck/Penn/83 avir	(H5)	—	Pro	Gln	—	—	—	—	Lys	Lys	Lys	Arg	Gly	
弱毒の H5 亜型ウイルス 3 株	(H5)	—	Pro	Gln	—	—	—	—	Arg	Glu	Thr	Arg	Gly	
弱毒の H7 亜型ウイルス 6 株	(H7)	—	Pro	Glu	Asn	Pro	—	—	—	Lys	Thr	Arg	Gly	

注) *: 塩基性アミノ酸を下線で示した **: アミノ酸の欠損を示す

表 5 人工的に作製した HA 開裂部位のアミノ酸配列と HA の開裂

変異株	HA 開裂部位のアミノ酸配列							HA の開裂	
							←HA1	HA2→	
親 株	Gln	Arg	Lys	Arg	Lys	Lys	Arg	Gly	+
MT-4	Gln	<div>□</div> *	<div>□</div>	Arg	<div>Glu</div> **	<div>Thr</div>	Arg	Gly	—
MT-16	Gln	Arg	Lys	<div>Thr</div>	<div>Gln</div>	Lys	Arg	Gly	—
MT-14	Gln	Arg	Lys	<div>Thr</div>	Lys	Lys	Arg	Gly	—
MT-13	Gln	Arg	Lys	Arg	<div>Gln</div>	Lys	Arg	Gly	+
MT-1	Gln	Arg	Lys	Arg	Lys	<div>Thr</div>	Arg	Gly	±
MT-12	Gln	<div>Glu</div>	<div>Thr</div>	Arg	Lys	Lys	Arg	Gly	
MT-2	Gln	<div>□</div>	<div>□</div>	Arg	Lys	Lys	Arg	Gly	—
MT-18	Gln	<div>□</div>	<div>□</div>	Arg	<div>Gln</div>	Lys	Arg	Gly	—
MT-3	Gln	<div>□</div>	<div>□</div>	Arg	Lys	<div>Thr</div>	Arg	Gly	—

注) *: アミノ酸を人工的に欠落させた **: 人工的に変化させたアミノ酸

塩基性アミノ酸の連続した部分を特異的に認識していると考えられる。それでは、強毒株と弱毒株の組織培養における開裂能の違いは病原性とどのような関係があるのだろうか。おそらく、このHA開裂に働く酵素のニワトリ体内における分布と関係があるように思われる。強毒株のHAを開裂する酵素（連続した塩基性アミノ酸を切断する酵素）は体内に広く分布しているが、弱毒株のHAを開裂する酵素の体内分布は気管あるいは腸管など、かなり限られているのではないだろうか。それゆえ、弱毒株はHAの開裂をうける器官（気管あるいは腸管）でのみ増殖が可能であり、強毒株はニワトリ体内で広く増殖が可能で、その結果、全身感染を引き起こすのであろう。

5. 強毒トリインフルエンザウイルスの野鳥から家禽への伝播様式

世界各地で流行を起こす強毒トリインフルエンザウイルスは、どこから現われるのだろうか。米国で強毒インフルエンザが発生した同じ年に、アイルランドでNAの亜型は異なるが、同じHA亜型のウイルスによる強毒インフルエンザがシチメンチョウに発生した。アイルランドにおける流行の特色の1つは、シチメンチョウからウイルスが分離されたのと時を同じくして、汚染シチメンチョウ農場の近隣の健康な養殖カモからも同じ型のウイルスが分離されたことである²¹⁾。われわれは、シチメンチョウおよび養殖カモから分離されたウイルス(Turkey/Ire/83 および Duck/Ire/83) はたがいに関連性があるかどうかということを調べることににより、強毒インフルエンザウイルスが、どのように家禽に導入されるのかを明らかにすることを試みた。まず、Turkey/Ire/83 および Duck/Ire/83 ウイルスのHA遺伝子の全塩基配列および残り7遺伝子の部分塩基配列を決定し比較した¹⁴⁾。その結果、両ウイルス間にはわずかな相違しか認められず、両ウイルスは非常に似かよったウイルスであることがわかった。Duck/Ire/83 ウイルスをシチメンチョウおよびニワトリに感染させたところ、感染後1週間以内に全例斃死した。これらの結果は、強毒ウイルスが異なる種の鳥類間を行き来したことを示した。そこで、両ウイルスを含めた7株の強毒インフルエンザウイルスのカモでの増殖を調べた^{14,24)}。すべてのウイルスがカモでよく増殖した。ウイルスによっては血中からも回収された。それにもかかわらず、カモはまったく臨床症状を示さず、多くの場合、1週間以内にウイルスはカモ体内から排除された。上述の結果およびTurkey/Ire/83とDuck/Ire/83ウイルスが非常によく似ているが、わずかに塩基配列の相違があることは、養殖カモ集団に導入された強毒ウイルスが、しばらくその集団で増殖を繰り返した後にシチメンチョウに伝播したか、あるいはその逆の可能性を

示唆した。しかし、強毒ウイルスが先にシチメンチョウに導入され、続いて養殖カモに伝播したとすれば、シチメンチョウに導入された段階で、すでにシチメンチョウに症状がでていたはずなので、後の可能性は少ない。さらに、強毒インフルエンザがカモでよく増殖し、カモになんら病気を引き起こさないことは、野生のカモが強毒トリインフルエンザウイルスのreservoirになる可能性も示唆している。疫学的調査の結果からは、次の興味深い事実がわかった²³⁾。汚染シチメンチョウと養殖ガモの農場との距離は2kmで、両農場の間には野生の水鳥のサンクチュアリが設けられている。しかも、この養殖ガモは野外に放し飼いにされており、野生の水鳥と接触する可能性が十分にあったと考えられる。これらの状況は、1983年にアイルランドでシチメンチョウに発生した強毒トリインフルエンザは、強毒ウイルスが野生の鳥類から養殖カモに伝播し、そこからさらにシチメンチョウに伝播した可能性を強く示唆するものである。すなわち、以上の成績から、強毒インフルエンザは少なくとも、①野生の水鳥に保有されている強毒インフルエンザウイルスが直接あるいは間接的に(Turkey/Ire/83の場合のように養殖ガモを通じて)家禽に導入される場合、②弱毒インフルエンザウイルスが野生の水鳥から家禽に導入され、家禽の中で増殖を繰り返すうちに変異により強毒になる場合(Chick/Penn/83ウイルスの例)の2通りの発生様式があるものと考えられる。

6. 欧米におけるトリインフルエンザへの対応

現在、欧州および米国で、それぞれ独自に家禽におけるインフルエンザの防疫を協議する委員会が設けられている。これらの委員会では、インフルエンザが家禽に発生した場合の対応策が細かく検討されている。これによると、ニワトリにおいては、H5およびH7亜型のウイルスが分離され次第、ウイルスが弱毒であろうともすべての感染鶏を殺処分にするという厳しい対応が考慮されている。さらに注目すべき点は、ウイルスの病原性判定の基準の見直しである。これまで、1981年の第1回国際トリインフルエンザウイルス学会で採択された、“感染漿尿液あるいは培養細胞上清を4～6週齢のニワトリ8羽に、筋肉内、静脈内、あるいは後部気嚢内に接種し、8日以内に6羽以上斃死せしめたウイルスを強毒株とする²⁶⁾”という非常にあいまいな基準であった。この基準は、ウイルスが強毒株である場合には問題はないが、弱毒Chick/Pennウイルスのように、弱毒ではあるが強毒株になる可能性をもっているウイルスの評価はできない。現在、米国の委員会では、ブラック形成能およびHA開裂能といった*in vitro*での性状の相違も評価に加えることを検討している。さらに注目すべき点は、前述のようにすべての強毒インフルエンザウイルスには、

HA の開裂部位に連続した塩基性のアミノ酸が認められることから、分離ウイルスの HA の開裂部分に相当する部分の塩基配列の決定を行い、この部分のアミノ酸を同定するという項目が含まれていることである。この項目は非常に重要で、弱毒 Chick/Penn ウイルスのようなウイルスは、この方法でしかそのウイルスの強毒株になる可能性を調べることはできない。

7. 1983年に米国で発生した強毒トリインフルエンザ流行のその後

広範な血清調査および感染個体の淘汰により、1984年3月31日に分離された強毒株を最後に、米国で猛威を奮った強毒インフルエンザも収束したかのごとく思われた。しかし、1984年12月にはワシントン州、1984年1月にはペンシルベニア州の農場、1985年12月にはニューヨークの Live Poultry Market、1986年1月にはマサチューセッツ州の農場、同年4月にはオハイオ州、同年5月にはフロリダ州の Live Poultry Market で抗原亜型 H5N2 のウイルスが分離された³⁴⁾。詳細な抗原性および遺伝的分析により、これらのウイルスは 1983 年に米国で大流行を起こしたウイルスの弱毒株と同じであることがわかった。これらのウイルスは、そのたびに徹底した感染個体の淘汰により撲滅が計られ一見成功したかのようにみえた。しかし、今年 (1987 年) 2 月、再びニューヨークの Live Poultry Market で同じ型のウイルスが分離された (D. SENNE 私信)。これらのウイルスは、感染したトリにはほとんど病原性を示さないが、1983 年の例でも明らかなように、いつ強毒株に変異しても不思議ではない。それゆえ、米国農業省は、現在、全米的な規模で本ウイルスの潜行状態の調査ならびにウイルス汚染個体の徹底淘汰に全力をあげている。

お わ り に

1983 年に発生し、それから 4 年を経た現在でも原因ウイルスの完全撲滅が達成されていない米国のトリインフルエンザの状況は、一度流行が拡大するとその撲滅がいかに困難であるかを物語っている。野生の水鳥に膨大な数のインフルエンザウイルスが保有されている以上、わが国でも強毒トリインフルエンザが発生する可能性は常に存在する。したがって、わが国でも欧米で進められているようなトリインフルエンザの防疫に関する委員会の設置が必要かも知れない。

稿を終えるにあたり、本稿執筆の機会を与えてくださいました田島正典博士に深謝いたします。また、本稿をまとめるにあたり、貴重な助言を賜った高井伸二博士に謝意を表します。

引用文献

- 1) BEAN, W. J., KAWAOKA, Y., WOOD, J. M., et al.: *J. Virol.*, 54, 151~160 (1985).
- 2) BEAN, W. J. and WEBSTER, R. G.: *In Negative Strand Viruses and the Host Cells*, MAHY and BARRY, Eds., 685~692, Academic Press Inc., New York (1978).
- 3) BECKER, W. B.: *Virology*, 20, 318~327 (1963).
- 4) BOSCH, F. X., GARTEN, W., KLENK, H. -D., et al.: *Virology*, 113, 725~735 (1981).
- 5) BOSCH, F. X., ORLICH, M., KLENK, H. -D., et al.: *Virology*, 95, 197~207 (1979).
- 6) CROSS, G. M.: *In Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza*, 96~103 (1987).
- 7) FANG, R., JOU, W. M., HUYLEBROECK, D., et al.: *Cell*, 25, 315~323 (1981).
- 8) HALVORSON, D. A., KARUNAKARAN, D., ABRAHAM, A. S., et al.: *In Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza*, 264~270 (1987).
- 9) HINSHAW, V. S., WEBSTER, R. G. and TURNER, B.: *Intervirology*, 11, 66~68 (1979).
- 10) HINSHAW, V. S., WOOD, J. M., WEBSTER, R. G., et al.: *Bull. WHO* (in press).
- 11) JOU, W. M., VERHOEYEN, M., DEVOS, R., et al.: *Cell*, 19, 683~696 (1980).
- 12) KAWAOKA, Y., NAEVE, C. W. and WEBSTER, R. G.: *Virology*, 139, 303~316 (1984).
- 13) KAWAOKA, Y. and WEBSTER, R. G.: *Virology*, 146, 130~137 (1985).
- 14) KAWAOKA, Y., NESTROWITZ, A., ALEXANDER, D., et al.: *Virology* (1987) (in press).
- 15) KAWAOKA, Y. and WEBSTER, R. G. (投稿中).
- 16) KIDA, H. and YANAGAWA, R.: *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A*, 244, 135~143 (1979).
- 17) KIDA, H., YANAGAWA, R. and MATSUOKA, Y.: *Infect. Immun.*, 30, 547~553 (1980).
- 18) KIDA, H., KAWAOKA, Y., NAEVE, C. W., et al.: *Virology* (1978) (in press).
- 19) KLENK, H. -D., ROTT, R., ORLICH, M., et al.: *Virology*, 68, 426~429 (1975).
- 20) LAZAROWITZ, S. G. and CHOPPIN, P. W.: *Virology*, 68, 440~455 (1975).
- 21) MCNULTY, M. S., ALLAN, G. M., MCCracken, R. M., et al.: *Avian Pathol.*, 14, 173~176 (1985).
- 22) MURPHY, B. R. and WEBSTER, G.: *In Virology*, FIELDS, et al. Eds., Raven Press, New York (1985).
- 23) MURPHY, T. M.: *In Recent Advances in Acute Virus Diseases of Poultry* (in press).
- 24) NESTROWITZ, A., KAWAOKA, Y., BEAN, W. J., et al.: *Virology* (1987) (in press).
- 25) OGAWA, T. and UEDA, M.: *Virology*, 113, 304~313 (1981).

- 26) *Proceedings of the First International Symposium on Avian Influenza*, 8 (1981).
- 27) ROTT, R., ORLICH, M. and SCHOLTISSEK, C.: *J. Virol.*, 19, 54~60 (1976).
- 28) SCHÄFER, W.: *Z. Naturforsch.*, 106, 81~91 (1955).
- 29) TSUBOKURA, M., OTSUKI, K., KAWAOKA, Y.: *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B* 173, 494~500 (1981).
- 30) YAMANE, N., ARIKAWA, J., ODAGIRI, T., et al.: *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, 31, 431~434 (1978).
- 31) WEBSTER, R. G., KAWAOKA, Y., BEAN, W. J., et al.: *J. Virol.*, 55, 173~176 (1985).
- 32) WEBSTER, R. G., KAWAOKA, Y. and BEAN, W. J.: *Virology*, 149, 165~173 (1986).
- 33) WEBSTER, R. G., YAKHNO, M., HINSHAW, V. S., et al.: *Virology*, 84, 268~278 (1978).
- 34) WESLEY, H. G.: *In Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza*, 61~69 (1987).
- 35) WILSON, I. A., SKEHEL, J. J. and WILEY, D. C.: *Nature*, 289, 366~373 (1981).

—— 小動物臨床ハンドブックシリーズ ——

1. 犬の内科臨床

Darke/Notes on Canine Internal Medicine

長谷川篤彦訳
A 5判 352頁
定価 6,800円
〒300円

2. 犬の臨床繁殖

Jones & Joshua/Reproductive Clinical Problems in the Dog

加藤 元監訳
A 5判 256頁
定価 5,800円
〒300円

3. 小動物獣医師のための病理検査 —臨床検査から剖検まで—

Kelly, Lucke & Gaskell/Notes on Pathology for Small Animal Clinicians

竹内 啓 訳
浜名克己
A 5判 150頁
定価 4,800円
〒300円

4. 犬と猫の神経疾患

—診断と治療の要点—

Oliver & Lorenz/Handbook of Veterinary Neurologic Diagnosis

本間運隆監訳
B 5判 368頁
定価18,000円
〒400円

5. 早わかり 犬と猫の臨床

Fenner/Quick Reference to Veterinary Medicine

加藤 元監訳
B 5判 420頁
定価18,000円
〒400円

獣医畜産新報

—特集予告—

'87年 5 月号

カンピロバクターをめぐって

'87年 6 月号

小動物の栄養

'87年 7 月号

乳牛の起立不能症候群の知見

'87年 8 月号

低乳質乳牛の実態と考察

定価 1部600円 55円

1ヵ年12冊 7,800円(送料とも)

〒113

東京都文京区本郷2-27-18

文永堂出版

振替口座 東京 0-114601
電話 03(814)3321代