H5N1 鳥インフルエンザウイルスはヒトで流行するか？

渡辺登喜子¹⁾ 渡辺 真治¹⁾ 河岡 義裕^{1) 2)}

要 旨

H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルス（以後，“H5N1 ウイルス”と呼ぶ）が，世界各地に拡大している．それに伴い，ヒトにおける感染例も増えてきており，これまでに 600 人ほどの感染が確認され，60% 近い致死率が報告されている．確認されている感染例が限られていることから，ヒトには比較的感染しづらく，感染したとしてもヒトからヒトへの伝播が起こりにくいと考えられている．しかし，ウイルス遺伝子の交雑やウイルス蛋白質のアミノ酸変異により，ひとたび H5N1 ウイルスが，これまでよりヒトへ感染しやすくなり，さらにヒトからヒトへと効率よく伝播する能力を獲得すれば，致死率の高い H5N1 ウイルスが世界的大流行（パンデミック）を起こす危険性がある．本稿では，最近の研究から得られた知見を元に，H5N1 ウイルスがパンデミックを起こす可能性について議論したい．

〔日内会誌 102 : 2705~2713, 2013〕

Key words H5N1 鳥インフルエンザウイルス，パンデミック，宿主特異性

はじめに

高病原性鳥インフルエンザは，以前は“家禽ペスト”とも呼ばれ，鳥におけるウイルスの病原性と伝播力の強さから，養鶏業界で最も恐れられている感染症の 1 つである．元々，H5N1 ウイルスのヒトにおける感染例の報告はなかったが，今を遡ること 15 年前の 1997 年，香港の鳥市場で流行していた H5N1 ウイルスが直接ヒトに伝播し，18 人が感染し，そのうち 6 人が死亡するという事件が起こった．これは“鳥インフルエンザウイルスが直接ヒトに感染することは

ない．”と思い込んでいた我々の常識を覆す，衝撃的なニュースであった．だが，幸い，H5N1 ウイルスのヒトからヒトへの伝播は見られず，また，事態を重く見た香港政府が市場の全ての鳥を殺処分するという措置をとったため，それ以上被害が拡がることはなかった．

一旦終息したかのように見えた H5N1 ウイルス感染騒動が再燃したのは，東アジア諸国で，H5N1 ウイルスの流行が起こりはじめた 2003 年末のことである．この流行は，家禽だけでなく渡り鳥のような野鳥にまで波及したため，アジア諸国だけに留まらず，ヨーロッパやアフリカまで拡大していき，それに伴い，ヒトにおける感染例

¹⁾ 科学技術振興機構（ERATO 河岡感染宿主応答ネットワークプロジェクト），²⁾ 東京大学医科学研究所
The Cutting-edge of Medicine ; Pandemic potential of H5N1 influenza virus.
Tokiko Watanabe¹⁾, Shinji Watanabe¹⁾ and Yoshihiro Kawaoka¹⁾²⁾ : ¹⁾ ERATO Kawaoka Infection-induced Host Responses Project, Japan and ²⁾ The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Japan.

図 1. H5N1 鳥インフルエンザの発生国およびヒトでの感染例

2003 年 11 月から 2012 年 12 月 17 日までに、H5N1 鳥インフルエンザの発生国およびヒトでの H5N1 ウイルス感染例について、世界保健機関および国際獣疫事務局から公表されたデータに基づく（厚生労働省のホームページに掲載されていた図を改変）。

の報告も増えてきた。世界保健機関（WHO）によると、現在までに、世界十数カ国で H5N1 ウイルスのヒトにおける感染が確認されており、感染者数は 610 人で、そのうち、360 人が亡くなっている（2012 年 12 月 17 日現在；図 1）。H5N1 ウイルスのヒトへの感染は、市場で生きたままの家禽が売られているような、一般人と家禽の距離が非常に近い地域で多く、鳥との濃厚接触が原因であると考えられている。感染患者は、普通の季節性インフルエンザと同様に発熱および呼吸器症状を示すが、重症例では、経過の早い進行性の肺炎を併発し、多臓器不全などを引き起こして、死亡する場合が多い。

WHOでは、このような H5N1 ウイルスの流行状況をふまえて、現在、H5N1 インフルエンザをパンデミックアラート期のフェーズ 3 に分類している。これは、“新しい亜型のインフルエンザウイルスのヒトにおける感染は確認されているが、ヒトからヒトへの感染はほとんど起きていない”という状態を指している。だが、もしも H5N1 ウイルスがヒトに適応し、ヒトへの感染やヒト-ヒト間での伝播が効率よく起こるようになれば、状況は一変し、H5N1 ウイルスによるパンデミックが引き起こされ、世界はパニックに陥ることになるだろう。本稿では、最近の H5N1 研究の結果を元に、H5N1 ウイルスがパンデミッ

図 2. A型インフルエンザウイルスの宿主域

A型インフルエンザウイルスは自然界に広く分布しており、様々な種類の動物から分離される。

クを起こす可能性について論じていきたい。

1. インフルエンザウイルスの多様性と宿主特異性

1) 多様なA型インフルエンザウイルス

インフルエンザウイルスにはA, B, Cの3つの型があり、H5N1ウイルスは、A型インフルエンザウイルスに属する。A型インフルエンザウイルスは、宿主域が非常に広く、ヒトや家禽以外にも、ウマ、ブタ、イヌ、アザラシ、クジラなどに感染する¹⁾。このように、インフルエンザは非常に広い宿主域を持つ人獣共通感染症である（図2）。

A型インフルエンザウイルスの表面にはHA（ヘマグルチニン）とNA（ノイラミニダーゼ）という2種類の表面糖蛋白質があり、抗原性の違いから、17種類のHAと10種類のNAの亜型に分類されている（図3）^{1, 2)}。インフルエンザウイル

スの自然宿主である水禽からは、全てのHAとNA亜型のウイルスが分離されている¹⁾。水禽類では、インフルエンザウイルスは経口感染し、腸管内で増殖する。糞便中には腸管内で増殖したウイルスが含まれるので、排泄によって湖沼に放出されたウイルスが他の個体へと伝播していく。このように、多様なインフルエンザウイルスが野生の水禽類で保存されている。

2) A型インフルエンザウイルスには“宿主特異性”がある

水禽が保有しているインフルエンザウイルスが、自然宿主でない他の動物へと伝播することはまれであり、さらにその動物間でインフルエンザウイルスの伝播は容易には起こらない。なぜなら、そこには、“宿主特異性”というバリアーがあるからである。バリアーの1つが“レセプター特異性”である。インフルエンザウイルスの感染は、ウイルスのHAが宿主細胞表面に存在するレセプターに結合することからはじまる。

図3. A型インフルエンザウイルスの模式図

A型インフルエンザウイルスの表面にはHAとNAという表面糖蛋白質がある。抗原性の違いから、17種類のHAと10種類のNAの亜型に分類されている。ウイルス粒子内では、8本のウイルス遺伝子がポリメラーゼ蛋白質(PB (polymerase basic protein) 2, PB1 およびPA (polymerase acidic protein))とNP (nucleoprotein)と結合して、複合体を形成している。

ヒトと鳥のウイルスは異なるレセプターを認識する(便宜上、ヒト型ならびに鳥型レセプターと呼ぶ)。鳥由来のウイルスが増殖する水禽の腸管上皮細胞の細胞表面には鳥型レセプターが豊富に存在する。それに対して、ヒト由来のウイルスが効率良く増殖するヒトの上部気道(鼻腔や喉)の上皮細胞表面にはヒト型レセプターが多く存在する。実際、季節性ウイルスは、上部気道で効率良く増殖するので、咳やくしゃみによってヒトからヒトへと効率良く伝播する。ウイルスのレセプター認識の違いは、それぞれの宿主動物の粘膜上皮細胞上のレセプター型に対応した特性であり、それが、鳥由来ウイルスが容易にヒトに感染しない理由と考えられている。

2. H5N1 ウイルスが宿主の壁を越えるとき

1) H5N1 ウイルスはどうやってヒトに感染できたのか?

“レセプター特異性”というバリアーのせいで、H5N1 ウイルスがヒトに感染しにくいとすれば、H5N1 ウイルスは一体どうやってヒトに感染したのだろうか?この謎を解く鍵は、以下に示すように、“ヒト体内のレセプター分布”にあった。

H5N1 ウイルスに感染した患者では、季節性インフルエンザの場合と違い、ウイルス性肺炎を頻発することや、上部気道よりも気道の深部からの方がウイルスの分離率が高いことが臨床的に知られていた。そこで、細気管支や肺といったより深部の呼吸器を含めて、ヒトの呼吸器におけるレセプター分布状況を詳細に調べたところ、ヒトの呼吸器深部では、ヒト型レセプターだけでなく、鳥型レセプターも分布しているこ

図 4. ヒトの呼吸器におけるウイルスレセプターの分布

ヒト型レセプターは呼吸器全体に分布している。しかし、細気管支 (f) や肺胞 (g) などの下部呼吸器では、鳥型レセプターも存在している。

とがわかった^{3,4)}(図 4)。このヒト呼吸器におけるレセプター分布の様子は、H5N1 ウイルス感染による病態、すなわち重度の下部呼吸器疾患をよく説明している。H5N1 ウイルスは、ヒト型レセプターが優位に存在する人の上部気道ではあまり良く増えることができず、そのためヒトからヒトへの伝播は起こりにくい。しかし、鳥との濃厚接触など、何らかの原因により、一度に多量のウイルスが鳥型レセプターを発現している呼吸器深部(肺)まで入り込むと、H5N1 ウイルスの感染が成立し、肺炎を起こすと考えられる。

2) H5N1 ウイルスはヒト型レセプターを認識できるようになるのか？

インフルエンザウイルス遺伝子には高頻度で変異が入ることから、環境に適した変異ウイル

スが出現しやすい。そのため、ヒト型レセプターを認識するHAを持つ変異H5N1 ウイルスが出現すれば、変異H5N1 ウイルスはヒトで効率良く増殖し、さらにヒトからヒトへ伝播するようになる可能性は高い。

それでは、H5N1 鳥インフルエンザウイルスが、どのような変異を獲得したときにヒト型レセプターを認識できるようになるのだろうか？ H5N1 ウイルスがヒト型レセプターを認識するために重要なアミノ酸変異を調べるために、我々は、2004 年から 2005 年にかけてヒトから分離された H5N1 ウイルスのレセプター特異性の解析を行った。その結果、鳥から分離されたウイルス 5 株は、鳥型のレセプターのみを認識したのに対し、ヒトから分離されたウイルスは、数株が鳥型の

レセプターのみならずヒト型のレセプターも認識することが分かった。さらに、それらのウイルスのHAの遺伝子解析の結果、ヒト型レセプター認識に関わるいくつかのアミノ酸変異が明らかとなった⁵⁾。実際に、2006年にアゼルバイジャンやイラクにおけるヒトから分離されたH5N1ウイルスでは、このようなアミノ酸変異が見つっている。また、H5N1ウイルスのヒトでの感染例の報告が多いエジプトにおいても、ヒト型レセプターを認識するアミノ酸変異を持つH5N1ウイルスが分離されている。このような変異を持つH5N1ウイルスがヒトの上部気道の細胞で増えるようになってきていることも示されている⁶⁾。HAの変異だけでは、ヒト-ヒト間のウイルス伝播は起こらないかもしれないが、危険性は非常に高くなってきている。これらの知見は、パンデミックウイルス出現に対する事前策を講じる際、分離株のリスク評価を行うための分子マーカーとなると考えられ、パンデミックウイルスの出現を監視する上で重要である。

3) H5N1ウイルスがヒトの上部気道で増えるようになるためのレセプター特異性以外の要因

(1) ヒト細胞における、効率の良いウイルス遺伝子の転写・複製を担うアミノ酸変異

最近の大規模インフルエンザウイルス遺伝子解析から、鳥あるいはヒト由来のインフルエンザウイルスに特有のアミノ酸配列が特定されている。これらの多くは、ウイルスポリメラーゼ複合体(PB2, PB1, PA, およびNP)に見られるため、鳥のウイルスがヒト細胞で効率良く増えるためには、ヒト型のアミノ酸変異を獲得することが重要であろうと考えられている。代表的な例であるPB2蛋白質の627番目のアミノ酸は温度感受性に関与することが分かっている。鳥由来ウイルスの増殖場所である鳥の腸管と、ヒト由来ウイルスの増殖場所であるヒトの上部気道では温度が違い、前者が41℃であるのに対して、後者は33℃である。そのため、鳥型のア

ミノ酸を持つ鳥由来ウイルスのポリメラーゼ活性は、高温条件下では高いが、低温条件下では低い。しかし、PB2蛋白質の627番目のアミノ酸がヒト型であるウイルスは、低温条件下(33℃)においても、高いポリメラーゼ活性を持ち、ヒト由来の細胞で効率よく増殖した⁷⁾。これらの結果は、PB2蛋白質の627番目のアミノ酸は、ウイルスが低温で増殖するために重要であることを示唆している。

ヒトの上部気道の温度が33℃であることを考えると、PB2蛋白質の627番目における鳥型からヒト型へのアミノ酸変化は、鳥由来ウイルスがヒトの上部気道で効率よく増殖するために重要であることが分かる。ヒトの上部気道で増殖することによって、ウイルスは咳やくしゃみによりヒトからヒトへ効率よく伝播される。すなわち、PB2蛋白質の627番目のヒト型へのアミノ酸変異は、鳥インフルエンザウイルスがヒトからヒトへの伝播を起こすのに重要な役割を持つと考えられる。

(2) 遺伝子再集合によるH5N1 リアソータントウイルスの出現

A型インフルエンザウイルスは8本の遺伝子分節を持つ。そのため、例えば、二つの異なる亜型のウイルスが1つの宿主細胞に同時に感染すると、遺伝子交雑により理論上 $2^8 (=256)$ 種類のウイルスが誕生しうる¹⁾。この現象を遺伝子再集合(リアソートメント)といい、リアソートメントによってできたウイルスをリアソータントと呼ぶ。H5N1ウイルスはヒトには感染しにくい、ひとたび感染が成立すれば、感染個体で強い病原性を示す。一方、ヒトの季節性ウイルスは病原性は前者ほどではないがヒトの呼吸器で良く増え、またヒト-ヒト間で効率よく伝播する。よって、両ウイルスのリアソートメントによって、ヒトで効率よく増えるH5N1ウイルスが誕生する可能性がある。そこで、我々はインフルエンザウイルスの人工合成法を用いて、中程

度の病原性を示すH5N1 ウイルスと季節性H3N2 ヒトインフルエンザウイルス間のリアソータント（合計 256 種類）の作出を試み、産生されたウイルスの性状解析を行った。その結果、季節性ヒトウイルスのPB2 が、ヒト細胞でのウイルスポリメラーゼの活性ならびにマウスにおける効率の良いウイルス増殖に重要であることが分かった。次に、マウスモデルを用いて、リアソータントの病原性を調べたところ、季節性ヒトウイルスのPB2 とH5N1 ウイルスのHAを持つ 22 種類のリアソータントが、親株であるH5N1 ウイルスよりも強い病原性を示すことが分かった。この結果から、リアソートメントによって、より病原性の強いH5N1 ウイルスが出現し、ヒトに感染する可能性があることが判明した⁸⁾。

さらに、2009 年にパンデミックを起こしたH1N1 ヒトインフルエンザウイルス（2009pdm）とH5N1 ウイルス間でリアソータントの作出を試みた。これら二つのウイルスを同時に細胞に感染させたところ、33 種類のリアソータントウイルスを得ることができた。いくつかのリアソータントは、ヒトの肺由来細胞において、親株よりも、よく増えることができた⁹⁾。この結果は、2009 pdmウイルスは、H5N1 ウイルスと容易にリアソータントを作り得ることを示している。また、H5N1 ウイルスと 2009 pdmウイルスがともにブタから分離されていること¹⁰⁾を考慮すると、ブタにおいて、これらのウイルスのリアソータントが作られ、それがヒトに伝播する可能性が高いことが分かる。この結果は、ブタにおけるインフルエンザウイルスのサーベイランスが重要であることを示唆している。

4) H5N1 ウイルスはヒト-ヒト間で伝播できるようになるのか？

上述の一連の研究結果から、H5N1 ウイルスが、いくつかの変異を獲得することで、ヒトの上部気道で効率良く増殖できる可能性が示された。それでは、ヒト-ヒト間の伝播を担う要因は一体

何だろうか？

この疑問に答えるために、我々は、インフルエンザ感染のモデル動物であるフェレットを用いた。フェレットはインフルエンザウイルスの伝播実験にもよく使われる。野生型のH5のHAは鳥型レセプターを認識するが、ヒト型のレセプターを認識する変異H5 HAを持つウイルスを作出し、感染実験を行った。感染したフェレットの体内でウイルスが増殖する際に、HAにさらに変異が入り、H5N1 ウイルスがフェレットの呼吸器でよく増えるようになった。さらに、これらの変異を持つウイルスをフェレットに感染させ、ウイルス伝播実験を行ったところ、コントロールの野生型H5 HAを持つウイルスはフェレット間で伝播をしなかったのに対して、これらのHA変異を持つウイルスは伝播した(図 5a, b)。フェレット間で伝播したウイルスのHAにはさらに変異が入っており、合計 4 個の変異が起こるとフェレット間のウイルス伝播効率が大幅に上昇することが明らかとなった¹¹⁾(図 5c)。

その後の詳細な解析により、これらの変異には、HAのレセプター特異性に関わるものに加えて、H5N1 ウイルスのHAの安定性に関わるものがあることが分かった。これらの結果から、H5N1 ウイルスのフェレット間での伝播には、HAヒト型レセプターへの認識だけではなく、HAの安定性も重要であることが明らかとなった。

おわりに

H5N1 ウイルスはその出現から 15 年経つにもかかわらずパンデミックを起こしていないことから、パンデミックの可能性は低く、備蓄ワクチンは無駄であるという声も聞かれた。しかし、本稿で述べた最近の研究によって、H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスが、ヒトに感染し、ヒト-ヒト間で効率良く伝播するために重要と知られる変異が明らかになった。このような変異

図 5. ヒト型レセプターを認識する変異H5 ウイルスのフェレットでの感染・伝播実験

ヒト型のレセプターを認識する変異H5 HAを持つウイルスを作出し、感染実験を行った。フェレットの体内でウイルスが増殖する際に、HAにさらに変異が入り、変異H5N1 ウイルスはフェレットの呼吸器でよく増えるようになった。さらに、この変異ウイルスをフェレットに感染させ、ウイルス伝播実験を行ったところ、コントロールの野生型H5 HAを持つウイルスはフェレット間で伝播をしなかった (a) のに対して、これらのHA変異を持つウイルスは伝播した (b)。フェレット間で伝播したウイルスのHAにはさらに変異が入っており、合計 4 個の変異が起こるとフェレット間のウイルス伝播効率が大幅に上昇することが明らかとなった (c)。

を持つH5N1 ウイルスは、ヒトでパンデミックを起こす可能性が高いと考えられる。世界規模のサーベイランスによって、このような変異を持つH5N1 ウイルスや、ヒトインフルエンザウイルスとH5N1 ウイルスとのリアソータントの出現をモニタリングすることは公衆衛生上非常に重要である。サーベイランスによって分離されたウイルスのアミノ酸配列ならびにその病原性や伝播性などの性状解析により流行ウイルスのリスク評価を行うことができる。得られた情報は公衆衛生上非常に重要であり、備蓄ワクチンの準

備など政策決定にも必須の情報となる。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：河岡義裕：報酬 (独立行政法人科学技術振興機構)、研究費・助成金 (第一三共、デンカ生研、富山化学工業)、寄付金 (グラクソスミスクライン)

文 献

- 1) Wright PF, et al: Orthomyxoviruses. Knipe DM, et al, eds. Fields Virology, 5th ed, Lippincott Williams & Wilkins, 2007, 1691-1740.
- 2) Tong S, et al: A distinct lineage of influenza A virus from bats. Proc Natl Acad Sci U S A 109: 4269-4274, 2012.

- 3) Shinya K, et al : Avian flu: influenza virus receptors in the human airway. *Nature* 440 : 435–436, 2006.
- 4) van Riel D, et al : H5N1 virus attachment to lower respiratory tract. *Science* 312 : 399, 2006.
- 5) Yamada S, et al : Haemagglutinin mutations responsible for the binding of H5N1 influenza A viruses to human-type receptors. *Nature* 444 : 378–382, 2006.
- 6) Watanabe Y, et al : Acquisition of human-type receptor binding specificity by new H5N1 influenza virus sublineages during their emergence in birds in Egypt. *PLoS Pathog* 7 : e1002068, 2011.
- 7) Hatta M, et al : Growth of H5N1 influenza A viruses in the upper respiratory tracts of mice. *PLoS Pathog* 3 : 1374–1379, 2007.
- 8) Li C, et al : Reassortment between avian H5N1 and human H3N2 influenza viruses creates hybrid viruses with substantial virulence. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107 : 4687–4692, 2010.
- 9) Octaviani CP, et al : High level of genetic compatibility between swine-origin H1N1 and highly pathogenic avian H5N1 influenza viruses. *J Virol* 84 : 10918–10922, 2010.
- 10) Nidom CA, et al : Influenza A (H5N1) viruses from pigs, Indonesia. *Emerg Infect Dis* 16 : 1515–1523, 2010.
- 11) Imai M, et al : Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets. *Nature* 486 : 420–428, 2012.