

ウエストナイルウイルスの野鳥における 生態学的研究

高島郁夫

北海道大学大学院獣医学研究科

捕獲地の概要

2006年8月



ロシアで捕獲した野鳥の概要(2006)

和名	学名	採取地	個体数	備考
カワアイサ	<i>Mergus merganser</i>	ホル川	22	
アジサシ	<i>Sterna hirundo</i>	ハンカ湖周辺	14	
カルガモ	<i>Anas poecilorhyncha</i>	ハンカ湖周辺 ホル川	11 (2) (9)	
キジバト	<i>Fulica atra</i>	ハンカ湖周辺	9	
カワウ	<i>Phalacrocorax carbo</i>	ホル川	9	
ウミアイサ	<i>Mergus serrator</i>	ハンカ湖周辺	8	
コウライキジ	<i>Phasianus colchicus</i>	ハンカ湖周辺	5	
ハシブトガラス	<i>Carvus macrorhynchos</i>	ホル川	3	
アオサギ	<i>Ardes cinerea</i>	ホル川	2	
ハシボソカラス	<i>Cervus corone</i>	ハンカ湖周辺 ホル川	2 (1) (1)	
コガモ	?	ホル川	2	
その他	7種各1匹		7	
計 18 種	—	—	94 検体	

(注) 捕獲個体からは、血液、腎臓を採取

Real time PCRによるWNV RNA検出のまとめ

ロシア94検体中 No.1~24 ;陰性

野鳥由来ウイルスゲノム解析

国立感染症研究所
病原体ゲノム解析研究センター

横山 勝、 佐藤 裕徳、 神田 忠仁

野鳥由来ウイルスゲノムデータベースの構築 登録情報数 (2006/3/30現在)

公共データベース (GenBank)

自動収集
システム



登録全エントリー数

Influenza A virus	21,054
Influenza B virus	1,561
Influenza C virus	667
West Nile virus	699

Relational database
表形式で管理

配列情報は解析可能な
様式で格納

内容

血清型登録

Influenza A virus	15,950
-------------------	--------

採取国登録

Influenza A virus	12,193
Influenza B virus	638
Influenza C virus	13
West Nile virus	354

採取年登録

Influenza A virus	20,802
Influenza B virus	1,487
Influenza C virus	653
West Nile virus	26

宿主登録*

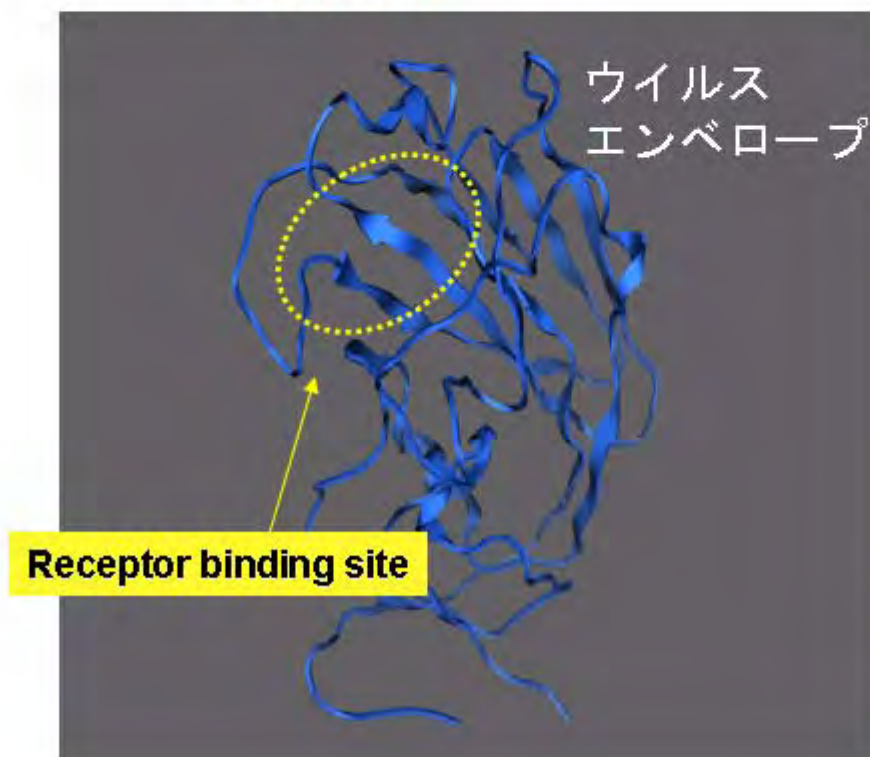
Influenza A virus	9,786
Influenza B virus	86
Influenza C virus	91
West Nile virus	349

感染受容体特異性の変化に関わる変異を見つける

⇒ 新型ウイルス出現のしくみを知る (IFV)

IFV HAの構造と機能

- 感染受容体との相互作用領域
- 感染宿主域の決定に関わる
- **高変異性**



計算科学によるIFV HA変異と感染受容体親和性変化の解析

初期構造の構築 MOE

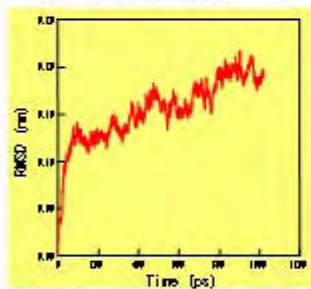
Receptor binding site を含む残基(64~291)、結晶構造は解析済み

- Influenza A/Vietnam/1194/04 (VN1194)H5N1
- VN1194(Q192R)
- VN1194(S223N)
- VN1194(Q192R S223N)
- VN1194(G139R)
- VN1194(S223N)
- VN1194(Q192R S223N)

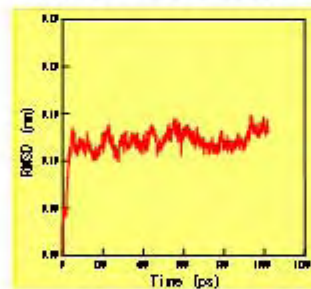
*Yamada, S. et. al.
Nature 2006, 444, pp. 378-382

構造の平衡化 (精密化) AMBER+MDGRAPE-3

VN1194(S223N)



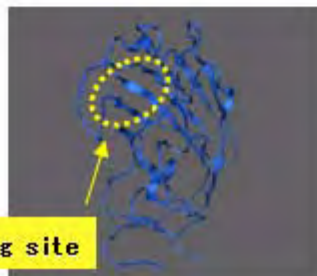
VN1194(Q192RS223N)



横軸
蛋白質の構造の平衡化 (最適化) にかかる時間
20psで0Kから300Kまで上げた後、1気圧、300K
の環境で100ps維持

縦軸
平衡化をしている構造と初期の推定構造との主
鎖のズレの平均値

結合シュミレーション MOE



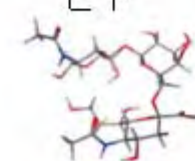
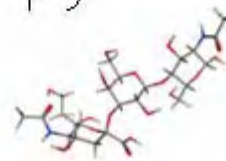
実験で用いられた基質

SAa2,3-Galb1-4GlcNAc

SAa2,6-Galb1-4GlcNAc

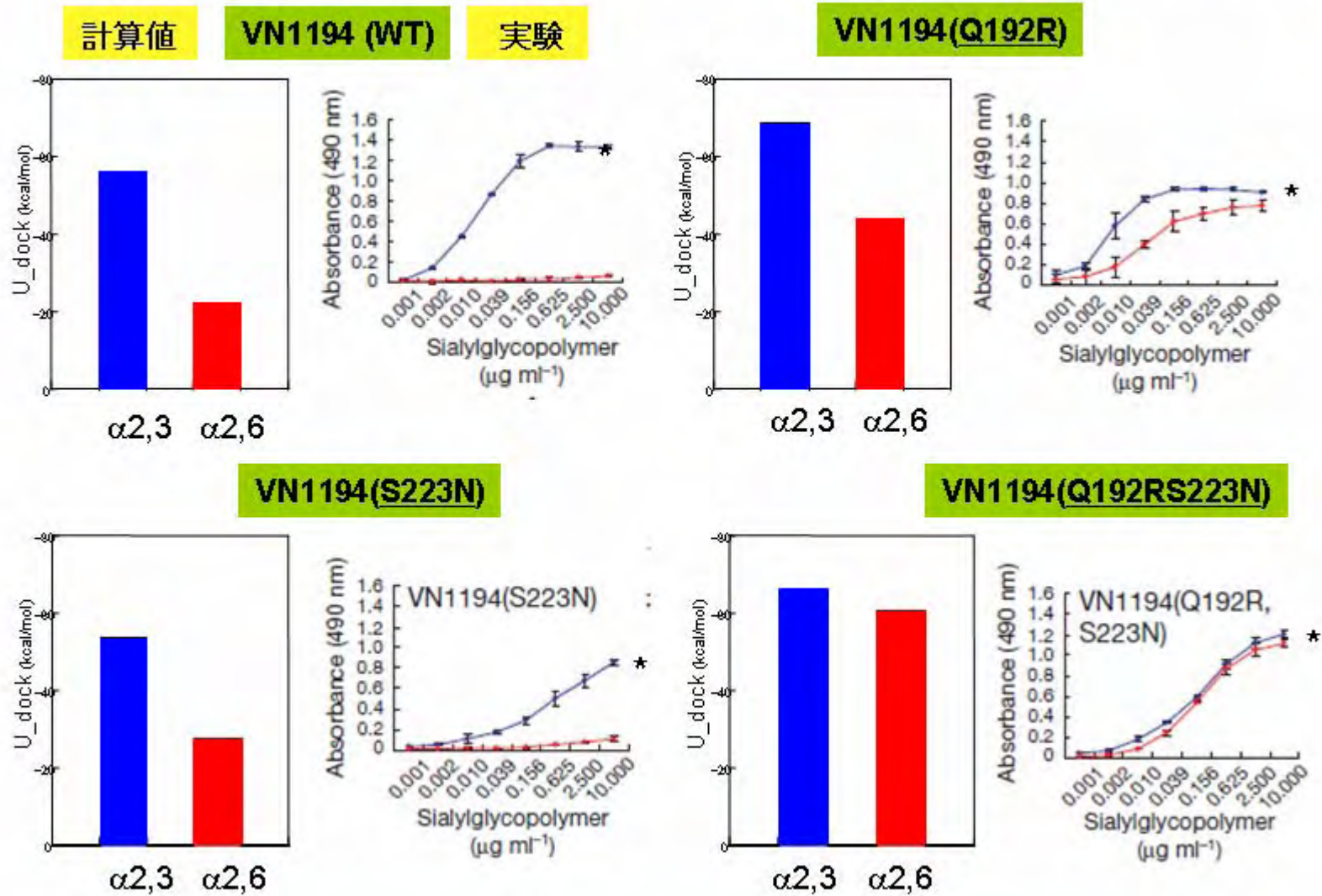
トリ

ヒト



$$U_{dock} = U_{ele} + U_{vdw} + U_{solv} + U_{strain}$$

変異による結合親和性の変化予測と実験価



Q192R/S223N変異がヒト感染受容体への親和性を上げる→実験結果を再現

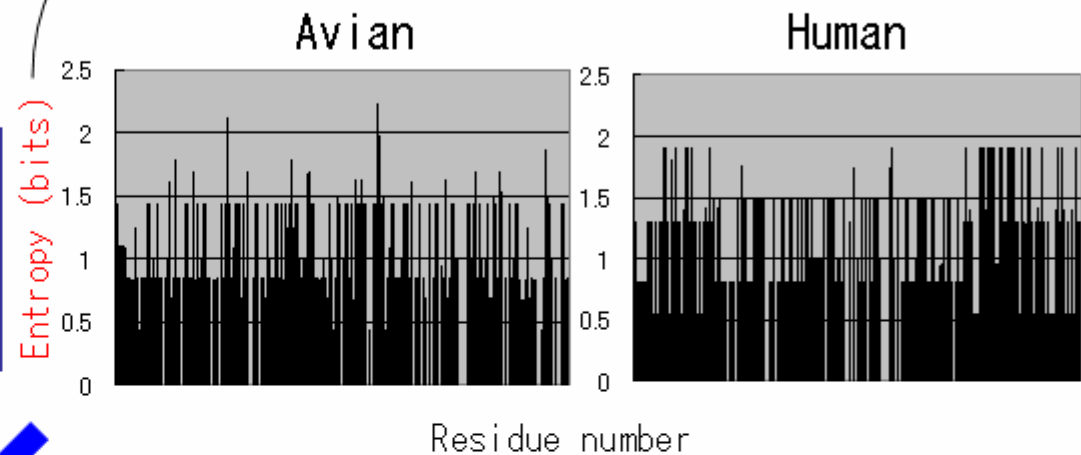
宿主域変化に関わる変異の抽出

病原体ゲノムデータベース

Influenza A アミノ酸配列抽出

H1N1	トリ6株	ヒト4株 (スペイン風邪)
H2N2	トリ2株	ヒト2株 (アジア風邪)
H3N2	トリ3株	ヒト2株 (香港風邪)
H5N1	トリ10株	ヒト10株 (2004-5)

$$-\sum p_i \log_2 p_i \quad P_i \text{は各残基における各アミノ酸の出現頻度}$$



変異の抽出基準

- * 機能に必須のアミノ酸は高度に保存されている。
- * 適応変化に関わるアミノ酸は活性中心近傍にあって、変化する。

154番目のアミノ酸

過去にヒトで大流行したトリ由来インフルエンザウイルス (H1N1, H2N2, H3N2) および近年ヒトへの散発的な感染がおきている H5N1 (いずれもヒト感染者検体由来) のHAでは全てロイシン (L)

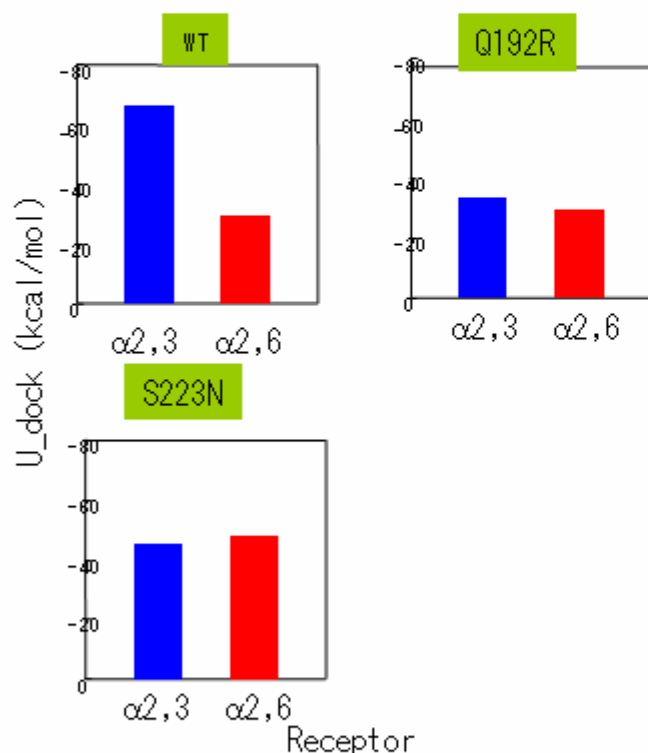
トリインフルエンザウイルスのHAではイソロイシン (I) が優勢。L をもつものも混在する

Avian		Human		
Residue No.	Entropy (bits)	Residue	Entropy (bits)	Residue
154	0.994	I/L	0	L

Q192R/S223N変異に対する154Iと154Lの影響

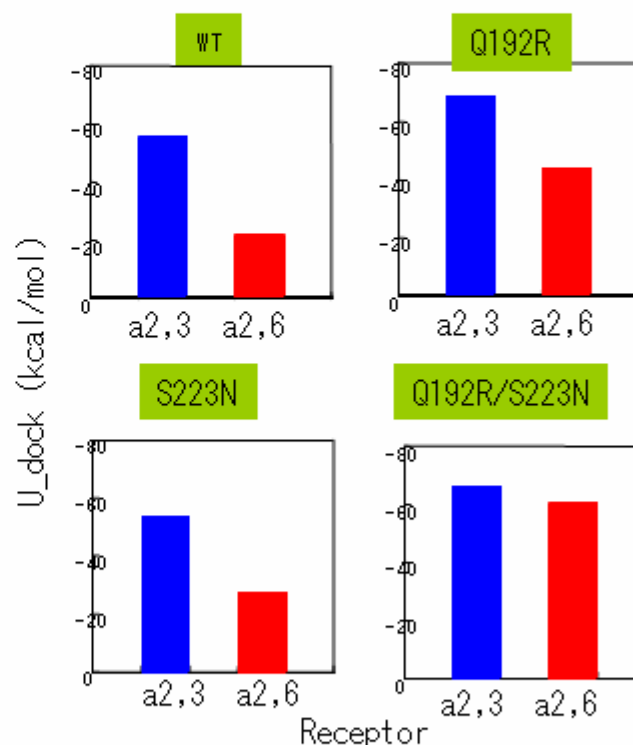
154I (トリで優勢) のHA

Q192R、S223Nではトリ感染受容体への親和性低下
(=トリではおきにくい変異)



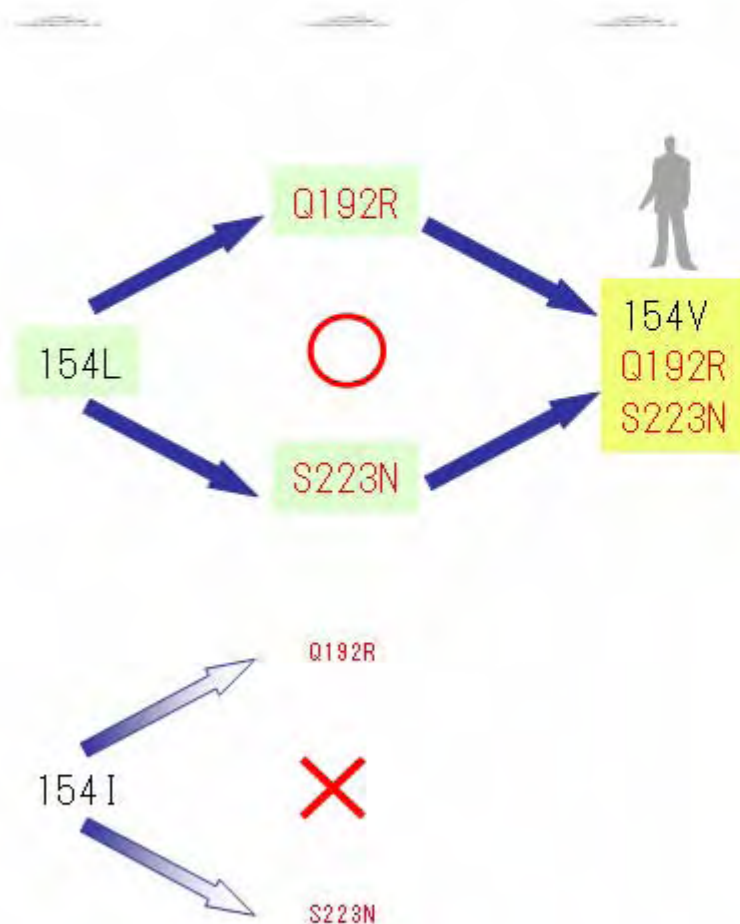
154L (ヒトで高度に保存) のHA

Q192R、S223Nの変異でトリ感染受容体への親和性は維持
(=トリでおきうる変異)
Q192R/S223Nでヒト感染受容体への親和性が高まる



154I (トリで優勢) が154Lになると、ヒト感染受容体への親和性を高めるHA変異がトリで許容されやすくなることが予測される。

自然界でヒト細胞への感染性をもつAIFVが発生するしくみの一つ（モデル）



・自然界でトリに感染するIFVには154I（優勢）と154Lの2種のHA変異株がある。

（1）154L株は、HAにQ192RかS223N変異が発生してもトリへの感染性は保たれ増殖が続く。さらに2次変異が発生するとトリへの感染性を保ったままヒト細胞への感染性を獲得する。

（2）154I株にQ192RかS223Nの変異が発生するとトリへの感染性が失われ、2次変異が蓄積できない。ヒト細胞への感染性を獲得する確率は低い。