
高病原性鳥インフルエンザが家禽で高い病原性を示す メカニズムの解明

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・主任研究官 高山 郁代

■ 目的

高病原性鳥インフルエンザ(HPAI)は、鶏などの家禽に対しては高い病原性を示すものの、インフルエンザの自然宿主であるカモなどの水禽類では、主に腸管細胞にウイルスが存在して共存をはかっているため、感染しても必ずしも高い病原性を示すとは限らない。この病原性の違いについては、近年、ニワトリ由来細胞と比較して、ペキンアヒルやマガモ由来細胞では、アポトーシスが速く誘導され感染が広がらないことが報告されているものの、HPAI 感染時の宿主感染応答メカニズムについては、未だ全貌は明らかとなっていない。

これらの背景を踏まえ、著者は、HPAI に対する感染初期の感染応答が、全身のターゲット細胞において、家禽では水禽類と比較して異なっているのではないかと推測した。また、器官ごとにその違いが異なることで、HPAI 感染時の症状も動物種によって大きく異なるのではないかと考えた。そこで本研究では、宿主細胞種および器官の違いによる感染応答の違いを見るために、ニワトリとカモ由来の初代培養細胞を樹立し、まずはそれらの細胞の低病原性鳥インフルエンザウイルス(LPAI)感染後のアポトーシス誘導について検討を行った。

■ 方法

ニワトリおよびカモの肺上皮および腸管上皮細胞は、胎児もしくはヒナから採取した各器官から樹立した。これらの細胞表面に発現しているインフルエンザウイルスに対する受容体(SA α 2,3-Gal および SA α 2,6-Gal)は、各受容体を特異的に認識するレクチンを反応させて検出を行った。また、これらの細胞における LPAI 感染後のアポトーシス誘導の変化については、感染後 8、24、48 時間後の細胞にアポトーシス初期を検出する Annexin V と後期アポトーシスまたはネクローシスを検出する Propidium iodide (PI) を反応させた後、フローサイトメーターで検出を行った。感染後 48 時間後の培養上清中のウイルス量については、リアルタイム PCR 法により定量を行った。

■ 結果および考察

本研究で樹立した初代培養細胞については、カモ腸管上皮細胞で SA α 2,3-Gal が比較的多く発現していたが、ウイルス分離や増殖に一般的に用いられる細胞株と比較して、全体的に受容体発現量がかなり少なかった。感染 48 時間後の培養上清中のウイルスの定量結果から、カモ腸管上皮細胞以外の樹立細胞では複製ウイルス量が非常に僅かであったが、これらの細胞では受容体発現量が極端に少ないことから、感染能力が低く、複製ウイルス量も少なかった可能性も考えられた。LPAI 感染後の各細胞のアポトーシス誘導の変化を検討した結果では、細胞株 DF1 では、感染後次第にアポトーシスが進行し、24 時間後にはアポトーシス後期の指標のみの陽性が確認され、細胞の損傷が示された。しかし、樹立細胞では、細胞の損傷が感染 8 時間後でも多く見られており、感染による明確な差は見られなかった。今後は、感染時間の短縮、感染ウイルス量や細胞調整方法などの実験手法の最適化が細胞ごとに必要であると考えられた。

■ 結語

本研究で、インフルエンザウイルスに対する受容体を発現したニワトリおよびカモの肺上皮および腸管上皮細胞を樹立した。細胞間で発現受容体の種類やその発現量には差が見られた。HPAI および LPAI 感染後の各細胞でのアポトーシス誘導の変化については、本研究で検討を行ったものの、更なる条件検討が必要であると考えられた。