
高病原性鳥インフルエンザウイルス感染による 鶏樹状細胞における発現変動遺伝子の解析

鹿児島大学共同獣医学部・准教授 松嶋 彩

■ 目的

高病原性鳥インフルエンザウイルス (HPAIV) は、ニワトリにとって致死的な病原性を有し、またニワトリ間で強力な伝播性を有することから、家禽において発生が認められた場合には速やかな摘発淘汰と防疫が必要である。国内では 2004 年以降、主に冬季を中心に散発的な発生が認められており、依然として畜産界における脅威となっている。

HPAIV 制圧のためにはニワトリにおける病原性発現機構の解明が必要である。我々は本ウイルスに対して抵抗性を有する鶏品種を用いた研究の有用性に着目している。先行して行った感染実験では、白色レグホン種に比べて 3 種類の地鶏が明らかな抵抗性を示した。品種間で宿主免疫応答に差が存在する可能性に着目し、末梢血由来樹状細胞にウイルス接種後、主要な免疫関連遺伝子の動態について real-time PCR 法により評価した。その結果、地鶏由来樹状細胞では白色レグホンに比べて HPAIV の増殖性の低下が認められたものの、免疫関連性遺伝子の発現に有意な差は見られなかった。本研究ではより網羅的な解析を目的として、次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトーム解析を行った。

■ 方法

4 週齢の SPF 白色レグホンおよび地鶏 A から心採血を行い、樹状細胞 (WL-DC および Na-DC) を作製した。H5N8 亜型 HPAIV 10^4 EID₅₀ を接種し、pre、6 時間および 16 時間後の細胞を回収した。RNA を抽出し、ライブラリーを作成後、次世代シーケンサーによる RNA シークエンスを行った。得られたリードについてニワトリのリファレンスゲノム配列を参照し、RNAseq のツール Salmon を用いて定量した。ウイルス接種前に比べて 2 倍以上に亢進あるいは減少した遺伝子群を発現変動遺伝子 (differentially expressed genes : DEGs) として、リストを作成した。これら遺伝子群の機能を解析するため、GO 解析および KEGG パスウェイ解析を行った。また WL- および Na-DC の両者の間で異なる発現変動を示した免疫関連遺伝子および long noncoding RNA (lncRNA) の抽出を行った。

■ 結果および考察

Na-DC において 16 時間後の発現が亢進した DEGs は 458 個、減少した DEGs は 595 個であった。WL-DC では発現亢進が 563 個、減少が 431 個であった。これらのうち、両者に共通して発現亢進あるいは減少した DEGs の数はそれぞれ 149 個および 157 個であった。エンリッチメント解析により得られる GO term の傾向は異なっていた。WL- および Na-DC で異なる発現変動が見られた 13 の免疫関連遺伝子を抽出した。この中には、近年哺乳動物や鳥類の A 型インフルエンザウイルス感染に対する宿主応答への関連性が指摘されているサイトカインおよび受容体も含まれていた。さらに本研究では機能が不明な lncRNA で両者に発現変動が異なる遺伝子 24 個を抽出した。これらの遺伝子は今後地鶏の HPAIV 耐性機序を解明するにあたり重要な候補となることが期待された。

■ 結語

本研究では、HPAIV 暴露後の樹状細胞における発現変動遺伝子について網羅的な解析を行い、HPAIV 感染後の異なる宿主応答因子として、複数の遺伝子を候補として得ることができた。これらの候補遺伝子について、地鶏の HPAIV 体制機序への関連について検証を進めていく予定である。