

マガモにおける高病原性鳥インフルエンザウイルスの 感染初期の体内動態と宿主免疫応答

(国研) 農業・食品産業技術総合研究機構

動物衛生研究部門人獣共通感染症研究領域新興ウイルスグループ・研究員 佐久間 咲希

■ 目 的

高病原性鳥インフルエンザウイルス (HPAIV) は渡り鳥の移動に伴って国内外に拡散されと考えられている。我々はこれまでにマガモ(渡り鳥)を用いた HPAIV の感染試験を実施しており、経鼻感染後のマガモにおける総排泄腔からのウイルス排出動態が HPAIV 株により大きく異なることを明らかにした。本研究では HPAIV 感染後のウイルス排出と宿主免疫応答の関係性を解明するために、総排泄腔から排出されやすい株と排出されにくい株をマガモに感染させ、感染初期におけるウイルスの体内動態と宿主の抗ウイルス自然免疫応答を比較した。

■ 方 法

近年に分離された A/chicken/Iwate/21A7T/2022 (H5N1 亜型、遺伝子型 G2d-0) (岩手株) と A/chicken/Aichi/22A3T/2022 (H5N1 亜型、遺伝子型 G2c-8) (愛知株) を試験に用いた。経鼻接種における 2 株の 50% マガモ感染量は同量 ($10^{3.50}$ 50% 発育鶏卵感染量 [EID₅₀]) であり、感染マガモの気管からのウイルス排出動態も同様である。しかし、総排泄腔からのウイルス排出動態は異なり、岩手株は総排泄腔から排出されやすく、愛知株は排出されにくい。本研究では、人工的に孵化・飼育した 12 週齢のマガモに各株を 10^6 EID₅₀/羽 で経鼻接種し、接種 0.5、1、2 日後に臓器を採取した。肺、脾臓、空回腸、肝臓、脾臓、心臓、腎臓、大脳から RNA を精製し、組織中のウイルスコピー数を M 遺伝子を標的としたリアルタイム RT-PCR により検量線法を用いて測定した (検出限界: 10^1 copies/RNA 10ng)。そして、肺、脾臓、空回腸、肝臓における自然免疫関連分子 (RIG-I、MDA5、TLR7、IRF7、IFN- α 、IFN- β 、Mx1) の RNA 発現量をリアルタイム RT-PCR により比較 Ct 法 ($\Delta\Delta$ Ct 法) を用いて測定した。比較 Ct 法では内在性コントロール遺伝子に GAPDH を用いて、非感染対照群に対し何倍上昇したか (Fold Change) を算出した。

■ 結果および考察

両接種群とも、接種 0.5 日後に採取した組織からウイルス遺伝子はほぼ検出されなかった。接種 1 及び 2 日後には多くの組織からウイルス遺伝子が検出され、その検出率とコピー数の中央値は岩手株接種群が愛知株接種群より高かった。両接種群とも、肺、脾臓、空回腸、肝臓中の RIG-I、MDA5、IRF7、Mx1 の遺伝子発現量は上昇したが、TLR7、IFN- α 、IFN- β の遺伝子発現量はほぼ変化しなかった。全 4 組織において、接種 0.5 日後の RIG-I、MDA5、IRF7、Mx1 の遺伝子発現量の中央値は愛知株接種群が岩手株接種群より高くなった。一方、接種 1 及び 2 日後のこれら遺伝子発現量の中央値は、接種 2 日後の脾臓の RIG-I を除き、全 4 組織において岩手株接種群が愛知株接種群より高くなった。以上の結果から、岩手株は接種後すぐ (接種 0.5 日後) に誘導される自然免疫応答が弱いために、全身に拡散しやすく、その結果、総排泄腔から多く排出されることが示唆された。接種 1 及び 2 日後の RIG-I、MDA5、IRF7、Mx1 の遺伝子発現量に関しては、岩手株接種群の方が組織中の抗原量 (ウイルス量) が多いために免疫応答が強くなったと考えられた。

■ 結 語

感染マガモの総排泄腔から排出されやすい岩手株は排出されにくい愛知株に比べ、接種 0.5 日後の抗ウイルス自然免疫応答が弱く、接種 1 及び 2 日後の組織中のウイルス量が多くなった。今後は接種後すぐに誘導される自然免疫応答に関して、より詳細に解析する予定である。