

## [別紙 2]

### 審査の結果の要旨

氏名 山田 晋弥

本研究は、世界的な大流行（パンデミック）を起こしうる新型インフルエンザウイルス出現のメカニズムに関する解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

#### 第 1 章

1. インフルエンザウイルスのレセプターとして重要なシアル酸の分布をウズラの組織で調べたところ、呼吸器の組織には、トリ型レセプターのみならず、ヒトのインフルエンザウイルスが主に認識するヒト型のレセプターが豊富に存在していることが明らかになった。
2. ウズラで、トリ型レセプターしか認識しないカモのウイルスを継代したところ、ウイルス膜表面の2つの糖蛋白質であるヘマグルチニン(HA)とノイラミニダーゼ(NA)にて、経時的な変異が確認された。NA で生じた変異は、カモのウイルスにはあまり見られず、家禽やヒトのウイルスで見られる変異として知られていたものであったが、今回、経時的な解析により実際に家禽への適応過程で起こりうることが実証された。
3. HA 遺伝子のレセプター結合部位周辺に生じていた変異は、カモなどのウイルスには見られないが、ヒトのウイルスに多くみられるものであり、ウズラに適応することでヒト型のレセプターを認識できるようになっている可能性が示された。
4. 行ったレセプター結合試験においては、ウズラに適応したウイルスがヒト型レセプターを認識できるように変化しているといった結果は得られなかったが、ヒト組織への感染実験を行ったところ、ヒト型のレセプターしか存在しない気管支において感染できるように変化していた。

以上より、インフルエンザウイルスの自然宿主である水禽からヒト社会に入り込む過程で、ウズラに適応することで、ヒトに感染しやすい変化を獲得しうる可能性が強く示唆された。

#### 第 2 章

1. トリから分離された H5N1 インフルエンザウイルスは、トリ型レセプターのみ認識したのに対し、ヒト由来ウイルスは、解析した 21 株中、数株がヒト型レセプターを認識できるようになっていることが明らかになった。

2. とりわけ、ヒト型レセプターと高い結合親和性を示した 3 株において、ヒト型レセプターの認識に関与する HA 遺伝子における変異を同定した。
3. 同定したアミノ酸変異を異なる分岐群（クレード）の H5N1 ウイルスの HA 遺伝子に導入し、同様にヒト型レセプター認識に関与しうるか否か解析したところ、192 番目のアミノ酸変異は、共通してヒト型レセプターの認識に関与した。また、182 番目のアミノ酸変異は、共通して、トリ型のレセプターとの結合親和性を減少させることが明らかになった。
4. 同定したアミノ酸について、*In silico* における構造解析を行ったところ、HA 蛋白質の 182 番目がリジン、または 192 番目がアルギニンである場合、レセプター分子と水素結合を形成し、結合親和性を向上させている可能性が示された。以上から、182 番目と 192 番目のアミノ酸変異は、H5N1 トリインフルエンザウイルスのヒト型レセプターの認識において重要である可能性が示された。これにより、今後、分離される H5N1 インフルエンザウイルスのリスク評価をする際の、分子マーカーになりうるものと考えられる。

以上、本論文はトリのインフルエンザウイルスがヒト社会に入り込む経路において、ウズラが中間宿主として働きうることを示し、更に、H5N1 インフルエンザウイルスのヒト型レセプター認識に重要なアミノ酸変異を同定した。これらの知見は、パンデミックを起こしうる新型インフルエンザウイルスの出現の予測と予防に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。