

# 1. 新型 H1N1 インフルエンザ—ウイルス学の立場から—

堀本 泰介<sup>1,3)</sup>, 山田 晋弥<sup>1)</sup>, 河岡 義裕<sup>1,2,4)</sup>

東京大学医科学研究所 1)ウイルス感染分野 2)感染症国際研究センター

3)東京大学大学院農学生命科学研究科獣医微生物学研究室

4)ERATO 河岡感染宿主応答ネットワークプロジェクト

2009年春にメキシコで出現した H1N1 インフルエンザウイルスにより、21世紀初のパンデミックが発生した。原因ウイルスは、複雑な遺伝子構造をもつブタインフルエンザウイルス由来であり、季節性のソ連型 H1N1 ウイルスとは大きく抗原性が異なっていた。ウイルスの解析からは、ウイルスの病原性が、季節性ウイルスと比べ特に強毒であるという証拠を見出すことはできないものの、HA タンパク質はすでにヒト型レセプターに結合する性質をもっていること、PB2 タンパク質にはこれまでに知られていなかったアミノ酸変異が存在し、そのためヒトでよく増殖するウイルスに変わっていることなどが明らかとなった。しかし、季節性インフルエンザではほとんど見られないウイルス性肺炎が新型ウイルス感染患者にしばしば認められることや、動物を用いた感染実験の結果などから、新型ウイルスの肺組織へのより強い親和性が考察されている。今後、新型ウイルスがヒトに馴化することにより、その病原性がどう変化していくのか、注視すべきであろう。

## はじめに

2009年3月に発生したブタ由来の新型インフルエンザウイルス (Pandemic (H1N1) 2009) は、瞬く間に世界各地に拡がり、WHO は6月11日に21世紀初のパンデミックを宣言した。日本では、2009年11月に流行がピークに達した後に、その発生は少なくなり、現在 (2010年4月) ではその姿はほとんど見られていない。感染やワクチン接種により、国民の半数以上の人口がすでに特異抗体を獲得したものと推測されている。本稿では、21世紀初のパンデミックを引き起こした新型 H1N1 ウイルスの特徴について、これまでに得られたウイルス学的知見を概説する。

## 新型 H1N1 ウイルスの起源

2009年4月15日、米国疾病対策センター (CDC) は、

カリフォルニア州で軽い呼吸器症状を呈する子供から分離された H1N1 インフルエンザウイルスが季節性ウイルスとは異なることを発表した<sup>1)</sup>。その後、3月からメキシコで集団感染を起こしていたウイルスも、同一の病原体である事が判明した。これが世界中に拡がりパンデミックとなった新型インフルエンザウイルス (Pandemic (H1N1) 2009) である。この新型 H1N1 ウイルスは、ブタ・鳥・ヒトウイルス由来の遺伝子交雑体であることから、ブタからヒトに感染したことが強く推測されるが (図1)、ブタからは同じウイルスは分離されていない。分子疫学解析によると、北米ブタウイルスとユーラシア系鳥由来ブタウイルスの遺伝子交雑体がまずブタで流行していたとされる。さらに遺伝子進化速度から計算すると、このブタウイルスがヒトに最初に侵入したのは2008年の8月から2009年の1月頃であると推定された<sup>2)</sup>。しかし、この新型ウイルスが、実際にいつ、どこで、どのような経緯で誕生したのか、詳細はいまだ不明である。

## 新型 H1N1 ウイルスの分子性状

### 1) HA タンパク質

鳥インフルエンザウイルスの病原性は、ウイルスが増殖できる臓器と相関している。低病原性鳥インフルエンザウイルスは、ニワトリの呼吸器や腸管でしか増えないのに対

## 連絡先

〒108-8639

東京都港区白金台4-6-1

TEL: 03-5449-5281

FAX: 03-5449-5408

E-mail: horimoto@ims.u-tokyo.ac.jp

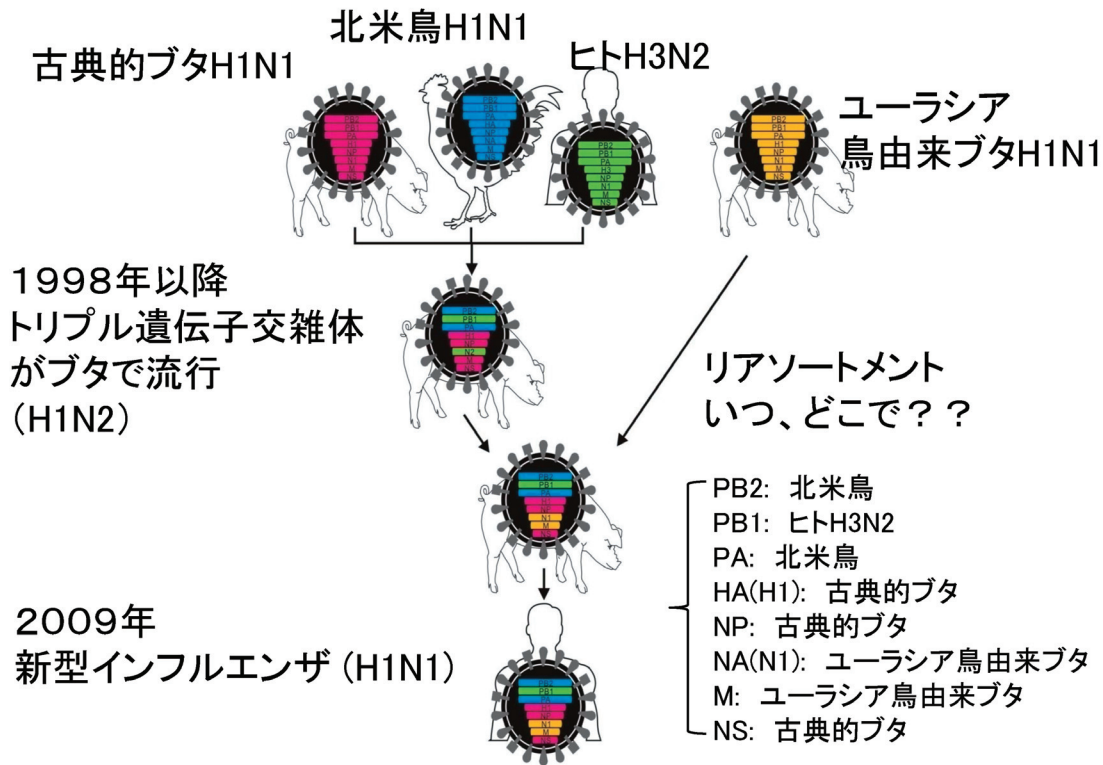


図1 Pandemic (H1N1) 2009 ウイルスは、どうやってできたか?

し、高病原性鳥インフルエンザウイルスは、ニワトリの脳を含む全身の細胞で増殖する。この違いは、それぞれのウイルスのHAタンパク質の開裂部位のアミノ酸配列に依存している。開裂部位の配列により、開裂に関わる宿主プロテアーゼが異なる。高病原性鳥ウイルスの場合、全ての細胞に普遍的に存在するプロテアーゼによって開裂されるため、全身の臓器で増殖可能となるが、低病原性鳥ウイルスの場合、呼吸器と消化器に局在するプロテアーゼでしか開裂されない。これが鳥インフルエンザウイルスにおける「宿主プロテアーゼ依存性の病原性発現機構」である。これまでに見つかっている全ての高病原性鳥ウイルスはH5およびH7亜型のみである<sup>3)</sup>。

一方、すべてのヒトインフルエンザウイルスおよびブタインフルエンザウイルスは、上述の鳥インフルエンザウイルスで定義する「低病原性」ウイルス型である。今回の新型H1N1ウイルスもその例外ではなく、HAタンパク質の開裂部位は弱毒型配列である(表1)。H1亜型はタンパク質の構造上、強毒型の開裂部位配列をとれないのか、あるいは他の要因があるのかはわからないが、HAタンパク質が高病原性型のH1N1ウイルスはこれまでに存在しない。つまり、新型ウイルスが今後ヒトに適応する変異を獲得したとしても、高病原性H5N1鳥ウイルスのように60%もの高い致死率をヒトに対して示すようなウイルスに変異す

る可能性は極めて低い。しかし、低病原性と定義されるウイルスであっても、他と比べて病原性の強い株は存在する。たとえば、スペイン風邪ウイルスがその代表例である。同じH1N1亜型で、スペイン風邪ウイルスと起源の同じ新型H1N1ウイルスが、今後ヒトに適応する方向に変異し、病原性が強くなる可能性は否定できない。

HAタンパク質は、宿主細胞のレセプターと結合する。その結合性は、ウイルスの宿主特異性を決定する重要な要因であり、その違いはレセプター結合部位のアミノ酸の種類により決定される。ただし、HA亜型によりどのアミノ酸部位がレセプター特異性に重要であるかは、若干異なる。H1亜型の場合は190番目と225番目のアミノ酸がレセプター結合特異性に関与する。新型H1N1ウイルスは、HAの190番目と225番目がヒト型レセプターを効率よく認識するアミノ酸であり、ヒト-ヒト間で効率よく伝播する性質と一致する(表1)。新型H1N1ウイルスの中には135番目と226番目のアミノ酸に置換のある株も分離されている。このアミノ酸置換をもつH5N1ウイルスのヒト分離株は、ヒト型レセプターへの親和性が上昇することが分かっている<sup>4)</sup>。したがって、新型H1N1ウイルスにおいても、ヒトで流行するに従って、ヒト型レセプターをより強く認識する変異株が広がる可能性がある。実際、当研究室で臨床分離株のHAタンパク質を解析しているが、レセプター結合

表1 インフルエンザウイルスの病原性に影響する因子

タンパク質	Pandemic (H1N1) 2009 ウイルスの特徴	人への感染性	機能
HA	開裂部位 (弱毒型) レセプター特異性 (ヒト型)	局所(呼吸器)に限局 高い	臓器親和性 細胞親和性
PB2	627 : グルタミン酸 (鳥型) 701 : アスパラギン酸 (鳥型)	低いタイプ 低いタイプ	RNA 合成能 RNA 合成能
NS1	C 末欠損	低いタイプ	シグナル制御
PB1-F2	欠損型 (ブタ型)	低いタイプ	アポトーシス誘導

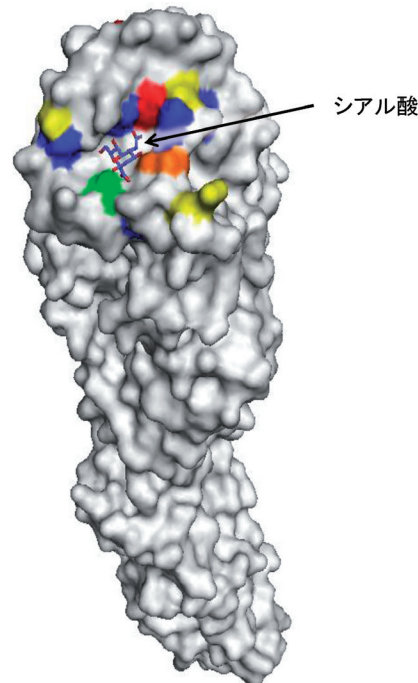


図2 Pandemic (H1N1) 2009 ウイルス臨床分離株の HA に認められる変異

レセプター (シアル酸) と結合する領域周辺で、変異のあったアミノ酸に色をつけた。ただし、異なる色は、異なるアミノ酸の視認性向上のために、特別の意味はない。

部位周辺に変位の入っているものが複数見つかっている (図2)。

## 2) PB2 タンパク質の性状

PB2 タンパク質は、ウイルスゲノムの転写・複製をつかさどる RNA ポリメラーゼの構成要素の一つである。このタンパク質は、インフルエンザウイルスが感染できる宿主の範囲を規定する上で重要な役割を果たしている。新型 H1N1 ウイルスの場合、PB2 タンパク質をコードする PB2 分節は鳥インフルエンザウイルスに由来する (図1)。PB2 タンパク質で注目すべきアミノ酸は二つある。一つ目は 627 番目のアミノ酸である。大部分の鳥インフルエンザウイルスでは、このアミノ酸がグルタミン酸であるが、このアミノ酸がリシンになると、ヒトの細胞で効率よく増殖するよ

うになる (表1)。スペイン風邪ウイルスを含め、ほとんどのヒトのインフルエンザウイルスでは、PB2 タンパク質の 627 番目のアミノ酸はリシンである。新型 H1N1 ウイルスの 627 番目のアミノ酸は、今のところ鳥ウイルス型のグルタミン酸である。なぜこの 627 番目のアミノ酸がウイルスのヒト細胞での増殖効率を規定するののかの詳細は分かっていないが、グルタミン酸の場合、哺乳類細胞において PB2 タンパク質の機能障害が認められる。例えば、他のウイルスタンパク質 (NP タンパク質) との相互作用が哺乳類細胞ではうまくいかず、その結果、機能障害が生ずる可能性も報告されている<sup>5)</sup>。

627 番目のアミノ酸は、インフルエンザウイルスの増殖能力のみならず、増殖至適温度にも影響する。ウイルスには、感染する宿主の中で効率よく増殖するのに最適な温度

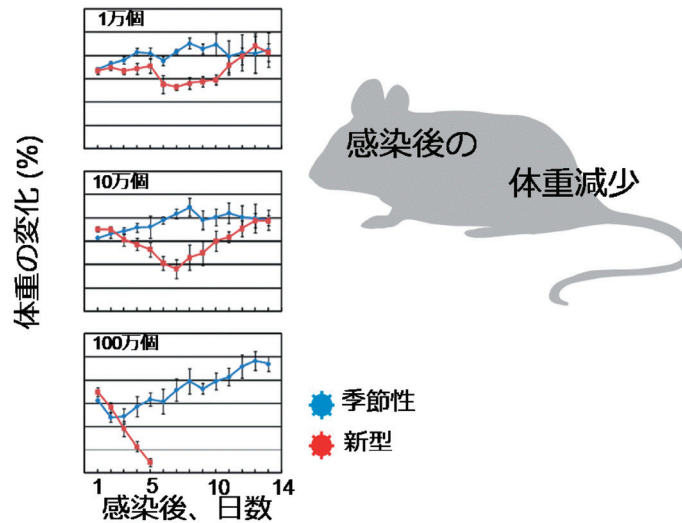


図3 1万から100万個の新型インフルエンザウイルスに感染したとき、季節性インフルエンザウイルスに感染したときのマウスの体重の変化。

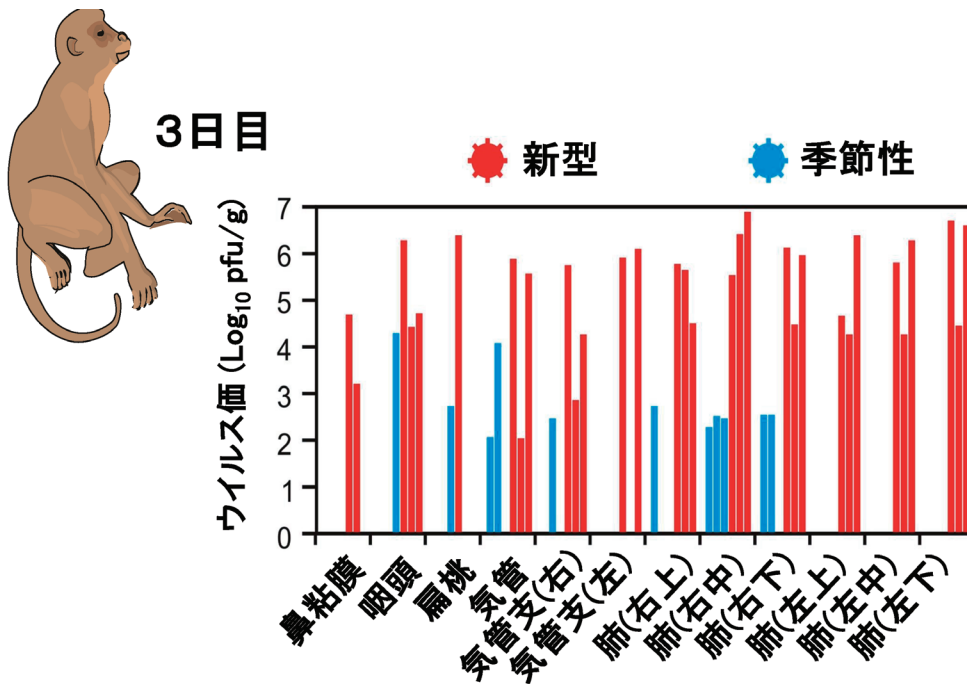


図4 新型インフルエンザウイルスと、季節性インフルエンザウイルスの臓器別のウイルス量 (感染3日目)。  
 季節性ウイルスは、上部気道と肺の一部でしか増殖していないのに対して、新型H1N1ウイルスは、上部気道と肺のすべての部位で増殖しており、その量も多い。実験では各グループ3頭ずつ感染させた。個々の棒グラフの値はそれぞれのサルで値である。

がある。鳥インフルエンザウイルスが増殖する水禽の腸管の温度は41℃であるのに対し、ヒトインフルエンザウイルスが増殖する上部気道の温度は33℃である。実際鳥ウイルスは41℃で良く増殖するが、33℃ではあまり増殖できない。一方、ヒトウイルスは33℃で効率よく増殖するが、

41℃では増殖できない。これまでの研究で、627番目のアミノ酸をグルタミン酸からリシンに変えると、哺乳類の上部気道の低い温度でも、鳥インフルエンザウイルスのRNAポリメラーゼが機能できるようになることが分かっている<sup>6)</sup>。ヒトの上部気道におけるウイルスの効率のよい増殖は、咳や

くしゃみを介したウイルスの伝播力を増強させる。

PB2 タンパク質でもう一つ重要なのが、701 番目のアミノ酸である。このアミノ酸がアスパラギンの場合、マウスでの病原性が強くなる<sup>7)</sup>。これは、ウイルスの RNA ポリメラーゼがウイルスゲノムの複製の場であるヒトの細胞の核に効率よく運ばれるようになることにより、ウイルスの増殖効率が高まるためだと考察されている。新型 H1N1 ウイルスの 701 番目のアミノ酸は、低病原性型のアスパラギン酸である (表 1)。

このように、PB2 タンパク質の 627 番目ならびに 701 番目のアミノ酸がウイルスのヒトでの増殖性、ひいては病原性を決定する重要な因子であると認識される。しかしながら、新型 H1N1 ウイルスの場合、それらのアミノ酸はいずれも鳥型である。にもかかわらず、ヒトでよく増殖するのは、PB2 の 590 番目と 591 番目のアミノ酸の変異のためである可能性が最近報告されている<sup>8)</sup>。

HA や PB2 タンパク質以外にも、病原性を決定するタンパク質はある。例えば、PB1-F2 と NS1 タンパク質である。新型 H1N1 ウイルスの場合、これらタンパク質上で病原性を規定するとされる部位のアミノ酸配列は、いずれもヒトでの病原性は弱いとされるタイプである (表 1)。

### 新型 H1N1 ウイルスの病原性

新型 H1N1 ウイルスの病原性を評価するため、種々の動物を用いた感染実験が行われている。私たちの実験結果を紹介する<sup>9)</sup>。

マウス (BALB/c) に季節性インフルエンザウイルス (H1N1 3 連型) を感染させても、体重は減少しなかったが、新型 H1N1 ウイルスを感染させたマウスでは、体重は減少し、100 万個感染させた場合には、感染後 5 日目に全てのマウスが死亡した (図 3)。また、カニクイザルを 1 グループ 3 頭ずつに分けて、それぞれ新型 H1N1 ウイルスと、季節性 H1N1 ウイルスを同じ量、同じルートで感染させて 3 日目の臓器別のウイルス量を調べた (図 4)。その結果、いずれの臓器でも、新型 H1N1 ウイルスのほうがよく増殖していることが明らかになった。特に、季節性ウイルスは右肺でしか増えなかったのに対し、新型 H1N1 ウイルスは肺のあらゆる部位で効率よく増殖していた。実験に用いたカニクイザルを病理解剖して調べたところ、季節性ウイルスとは異なり、新型 H1N1 ウイルスを感染させたサルでは、肺に激しい炎症が起きていることがわかった。これまでに報告された新型インフルエンザの死亡例では、肺でウイルスが増殖し、これが命取りになったケースが数多く報告されている。通常の季節性ウイルスであれば、ウイルス性肺炎になることはほとんどなく、むしろ細菌などによる二次感染が原因で重篤な症状に陥ることが多い。このように、新型 H1N1 ウイルスは、季節性ウイルスとはその病原性は異なっている。

### おわりに

現在までのところ、ウイルス学的にも臨床症状からも新型 H1N1 ウイルスが季節性ウイルスと比べ、特に強毒であるという証拠は見つからない。しかし、感染実験の結果は、明らかに季節性ウイルスとは異なる病態が認められる。今、新型 H1N1 ウイルスは、ヒトへと適応するための変異を獲得している段階である。スペイン風邪の場合、第二波の流行により多くの犠牲者が発生した。これは、ヒトへ適応したウイルスが原因であると考えられている。同様に、新型 H1N1 ウイルスもヒトに適応するに伴い、その病原性が増強する可能性は考えられる。また、いまだ H5N1 鳥インフルエンザが流行している南アジアでは、新型 H1N1 ウイルスとの遺伝子交雑体の出現が懸念される。私たちは、H5N1 ウイルスと季節性ウイルスのいくつかの遺伝子交雑体は、マウスにおいて親ウイルスより強い病原性を示すことを報告した<sup>10)</sup>。今後、自然界において同様の現象が新型 H1N1 ウイルスとの間で起こる可能性も否定できない。いつどのようにウイルスが変異するかは誰にも予測できない。

### 文 献

- 1) Dawood FS, Jain S, Finelli L et al : Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. *N Engl J Med* 360 : 2605-2615, 2009.
- 2) Smith GJ, Vijaykrishna D, Bahl J et al : Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic. *Nature* 459 : 1122-1125, 2009.
- 3) Horimoto T, and Kawaoka Y. Pandemic threat posed by avian influenza A viruses. *Clin Microbiol Rev* 14: 129-149, 2001.
- 4) Neumann G, Noda T, Kawaoka Y : Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. *Nature* 459 : 931-939, 2009.
- 5) Remeix-Welti MA, Tomoiu A, Dos Santos Afonso E et al: Avian influenza A virus polymerase association with nucleoprotein, but not polymerase assembly, is impaired in human cells during the course of infection. *J Virol* 83:1320-1331, 2009.
- 6) Hatta M, Hatta Y, Kim JH et al : Growth of H5N1 influenza A viruses in the upper respiratory tracts of mice. *PLoS Pathog* 3 : 1374-1379, 2007.
- 7) Li Z, Chen H, Jiao P et al : Molecular basis of replication of duck H5N1 influenza viruses in a mammalian mouse model. *J Virol* 79 : 12058-12064, 2005.
- 8) Mehle A and Doudna JA : Adaptive strategies of the influenza virus polymerase for replication in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 106 : 21312-21316, 2009.
- 9) Itoh Y, Shinya K, Kiso M et al : In vitro and in vivo characterization of new swine-origin H1N1 influenza viruses. *Nature* 460 : 1021-1025, 2009.
- 10) Li C, Hatta M, Nidom CA et al : Reassortment between avian H5N1 and human H3N2 influenza viruses creates hybrid viruses with substantial virulence. *Proc Natl Acad Sci USA* 107 : 4687-4692, 2010.

## **Virological characteristics of pandemic (H1N1) 2009 influenza virus**

**Taisuke HORIMOTO<sup>1,3)</sup>, Shinya YAMADA<sup>1)</sup>, Yoshihiro KAWAOKA<sup>1,2,4)</sup>**

1) Division of Virology, Institute of Medical Science, University of Tokyo,

2) International Research Center for Infectious Diseases, University of Tokyo

3) Department of Veterinary Microbiology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, University of Tokyo

4) ERATO Infection-Induced Host Responses Project

In the spring of 2009, a novel swine-origin H1N1 virus, whose antigenicity is quite different from those of seasonal human H1N1 strains, emerged in Mexico and readily transmitted and spread among humans, resulting in the first influenza pandemic in the 21st century. This novel H1N1 virus was shown to be a triple reassortant comprising genes derived from avian, human, and swine viruses. Here, we review our current knowledge of this pandemic influenza virus and discuss future aspects of the pandemic.