

**NIBS LETTER** 2011 MAY  
No. 568

# 日生研おより

2011年(平成23年)5月号 第57巻第3号(通巻568号)

## 挨拶・巻頭言

農業の話し

.....真板敬三(2)

## 獣医病理学研修会

第50回 NO. 1013 ネコの大脳

.....鳥取大学獣医病理学教室(3)

## レビュー

鶏の大腸菌症の発生状況について

.....永野哲司(4)

伝染性気管支炎ウイルスレセプターに

関する最近の知見.....石山真衣(9)

## お知らせ

学会発表演題.....(14)



**NIBS**

財団法人 日本生物科学研究所

NIPPON INSTITUTE FOR BIOLOGICAL SCIENCE

<http://nibs.lin.gr.jp/>

## 農薬の話し

真板 敬三

ヒトにより幸せの思いは様々だろうが、精一杯働いた後の空腹時に美味しいものを腹一杯食べる時の満足感は、何人にも共通した至福の瞬間ではないだろうか。生きとし生けるものの営みは、如何に食糧を確保し子孫を繁栄せしめるかに涙ぐましい努力と狡猾な知恵を巡らしてきたことにある。今や地球上で一人勝ちを取めたかに見える人類でも、どの階層の人も一応満足できる食べ物を享受できる国はほんの一握りだし、国民の半数以上が飢餓線にある国が大多数といっても過言ではない。今や飽食の日本においても、50代以上の人達の間には日本は貧しいという潜在意識がこびりついていて、家に食べ物の買い置きがないと何となく不安を感じる向きも少なくないだろう。確かに現在の日本には溢れんばかりの食物が供給されている。そのかなりの部分は経済力にものを言わせて世界中から輸入したものだが、国内の農業生産能力が過去50年間で飛躍的に伸びたことも紛れもない事実である。それには圃場の整備、生産技術の向上もさることながら、近年の化学工業の発展と共に進歩した農薬の貢献も計り知れない。

日本の神事には農業に関わることが多い。年始めの豊年豊作祈願から秋の収穫祭まで、作物が無事に育ち人々が飢えること無きよう神に祈るのである。冷害、日照り、大水、ウンカの襲来、作物の病などなど、一年中農家の心配材料は尽きず、おまけに田畑は10日も放っておくと雑草の海と化す。夏に必須の農作業の一つは草取りだったが、これは中腰に汗まみれで草の先で目を突く哀しいほど辛い作業である。農村のおばあさんといえば腰の曲がっているのが当たり前だったし眼病も少なくなかったが、現在はみなシャンとしている。米作では低温時におけるイモチ病の被害は甚大で、東北地方での周期的な大飢饉の原因であった。現在は耐寒性品種の作付けとイモチ剤を予防的に適用することで、記録的な低温年を除き壊滅的被害に遭うことはない。米の生産を昭和初期と現在で比べると単位面積当たりの収穫量は倍以上である。食卓にカラフルなサラダが一年中並ぶようになったのは何時の頃からだろうか。野菜や果物が色鮮やかで型がそろい、傷物に減多にお目にかかれなくなってからも久しい。これは品種改良、温室栽培の普及、包装・運搬器具等の技術向上もさることながら、食虫害/植物病予防及び生産者の労働軽減を果たして生産性向上をもたらした農薬の寄与が大きい。

残留農薬の毒性を心配する人は多いが、どの作物にも天然の化学物質(毒物)が多量に含まれることは意外と知られていない。作物の役目はヒトに食べられるのではなく、花を咲かせ身を実らせ優れた子孫を残すことにある。その成長過程で病気に罹患、動物に食されたのでは役目を果たせないため、動けない作物が殺菌効果あるいは捕食動物の活性を損なう毒物を備えるのは当然の自衛措置である。天然の毒物には遺伝子異常や発がん性を持つものが少なからずあり、品種改良とは毒物の量を減らし、食味を良くし、収穫量の増大を図る努力と言えよう。野生種に比し格段に濃度は減っているが、現在の作物にも数百ppmから数千ppmの濃度で毒物が含まれ、毒性発現量の差は数倍から数百倍の程度のものも少なくない。もっとも、唐辛子やコーヒーのように、辛みや興奮物質は毒物だが、同時にそれを目的に人が利用することもあり問題は単純でないが、毒物であることに変わりはない。一般的に品種改良が進まないものほど毒物量が多い。従って、カレーの材料とかハーブの類での含有量は多く、カレーを週3回食ベデザートはハーブ入りアイスクリーム、最後はコーヒーで締めて頂くと間違いなく発がんする勘定になる。しかし、これで発がんしたのはインドやパキスタンの方は全員が瘤だらけになってしまう。現実にそれが起こらないのは、我々にはカレーに含まれる程度の毒物は完全に無毒化する代謝能力を備えているからである。一方、市場の作物から検出される残留農薬の濃度はせいぜい数ppbである。農薬は化学物質でヒトは過去に遭遇したことがないから代謝できない、という人がいる。その言を敷衍すると、カレーを数千世代に亘り全く食べたことのないエスキモーの方は、カレーを食べると発がんしなくてはならない。農薬は動物代謝試験で代謝物の種類、量、排泄経路・時間を詳細に調べられており、動物で代謝できるものをヒトができないことはあり得ない。あのDDTですら時間の経過と共に無毒化され体外に排泄されて行く。化学物質の安全性評価の基本は、毒性を交通量の多い大通りに喩えると、通りからどの程度離れたら安全かを推定することである。10m離れたらまあ安全で20mならもっと安心できよう。農薬は最低でも1,000m離れることで安全性を担保している。

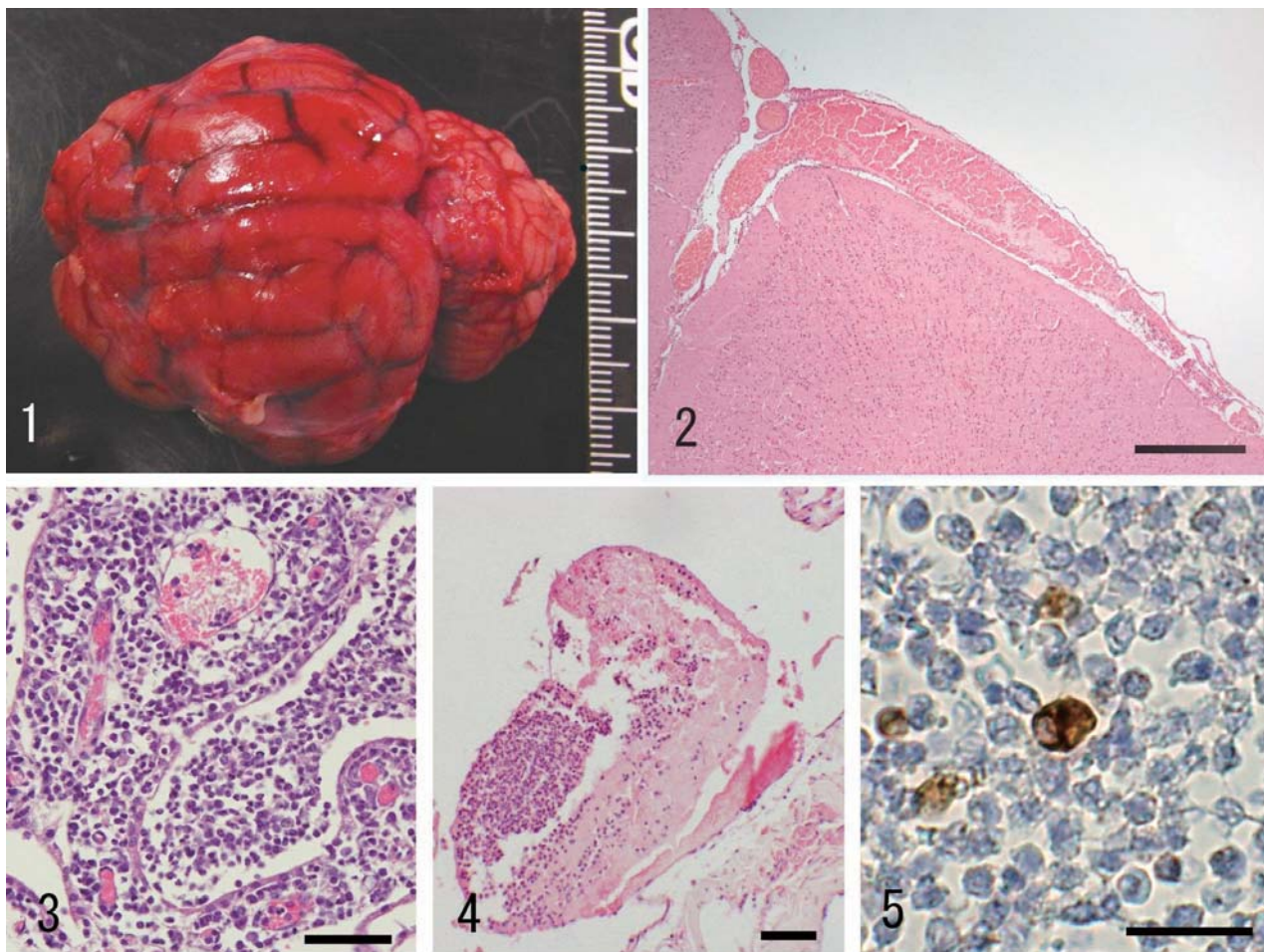
我々は農薬を上手に、賢く、恐れずに利用して現代生活の便利さを享受すべきであろう。

(監事)



## ネコの大脳

鳥取大学獣医病理学教室 第50回獣医病理学研修会標本 No. 1013



動物：ネコ，雑種，雌，7ヵ月齢。

臨床事項：2008年11月に食欲不振および元気消失を主訴に某動物病院を受診。初診時には脱水および発熱が見られ、血液検査では白血球数の著しい上昇が認められた。第2病日から神経症状（意識混濁，全身性痙攣，両前肢強直など）を呈し，第3病日には両後肢固有知覚反応の消失が見られた。その後状態は改善されず，第5病日に死亡した。

剖検所見：脳全体は重度うっ血により赤色調を呈し（図1），断面では髄膜内の静脈が拡張し，右側脳室内に出血が見られた。また，両側腎臓の被膜下皮質に最大直径1cmに至る乳白色結節が散在していた。

組織所見：組織学的にも脳全域におけるうっ血が認められ，赤血球が充満し拡張した静脈（図2，Bar = 100  $\mu$ m）および血管周囲を中心とした水腫が見られた。大脳の脈絡叢，脳室上衣，髄膜および脳室周囲の実質に炎症性細胞浸潤が見られた（図3，Bar = 50  $\mu$ m）。炎症は特に第3・第4脳室内および髄膜において著明で，好中球およびマクロファージを主体とした化膿性肉芽腫性病巣を形成していた。同様の炎症巣は両側腎臓皮質にも散在していた。硬膜上矢状静脈洞に線維素血栓が形成されていた（図4，Bar = 200  $\mu$ m）。猫伝染性腹膜炎（FIP）ウイルス抗体陽性像が炎症巣のマクロファージに一致して認められた（図5，Bar = 20  $\mu$ m）。

診断：著明なうっ血を伴う脈絡叢炎および髄膜炎（猫伝染性腹膜炎ウイルス感染による）

考察：本例は，腎皮質および大脳における化膿性肉芽腫性炎症の存在並びに炎症巣のマクロファージにFIPウイルス陽性像が認められたことからFIPと診断された。しかし，脳のみならず重度うっ血を認め，うっ血の原因をFIP感染による病巣のみでは説明できず，うっ血の機序についてさらに検討した。その結果，硬膜上矢状静脈洞に線維素血栓が認められた。静脈洞における血栓形成はヒトにおいて静脈洞血栓症と呼ばれ，多様な神経症状を示し，時に死亡することが報告されている。原因としては頭部の炎症，栄養不良，脱水などが考えられており，特に頭部近傍の組織における炎症は本症を引き起こしやすいとされる。過去に動物での静脈洞血栓症は報告されていない。今回，脳室に主座する炎症および髄膜炎（FIPウイルス感染による）が，ネコにおいて静脈洞血栓症を惹起した可能性があることに注目し出題した。

（櫻井 優・森田 剛仁）

参考文献：

1. Brown C. C. Baker, D. C. and Baker, I. K. 2007. Alimentary System. pp. 290–292. *In: Pathology of Domestic Animals*, 5th ed., vol 2. (Maxie, M. G. ed), Saunders, Philadelphia.
2. Graham, D. I. 1992. Hypoxia and vascular disorders, pp. 234–235. *In: Greenfield's Neuropathology*, 5th ed. (Adams, J. H. and Leo, W. D. ed), Edward Arnold, Great Britain.

## 鶏の大腸菌症の発生状況について

永野 哲司

鶏大腸菌症は、養鶏産業で最も対策が切迫している疾病のひとつである。特にブロイラー産業において、本症が発生すると斃死羽数の増加に伴って育成率を減少させるだけでなく、発生した鶏群の増体率を低減させて生産指数を低下させる。そのため、本症が発生した農場における経営上の損害は甚大なものとなる [1]。一方、採卵鶏においても斃死数の増加や卵管炎といった発生に加えて産卵低下が引き起こされる症例も報告されている [6]。一般的に、ブロイラーでは5～6週齢に好発するとされていたが、近年では3～4週齢のより若齢での発生が増加する傾向にある。これについては、飼養管理形態の変化や育種改良の影響によるものではないかと推察されている。採卵鶏で発生する場合は、産卵開始からそのピークに達するまでの期間に多発する傾向にあり、産卵開始によるストレスが関与していると推察されている。また、産卵後期の50週齢以降に発生する傾向もあるとされている [6]。

鶏大腸菌症の原因である大腸菌は約180のO抗原型に分類されているが、鶏に病原性を示す血清型を調べるとO78が最も多い [1, 4, 5, 8, 11]。これに次いでO2やO1による報告が多いものの、その他の血清型による発生事例も少なくはない [1, 11]。この菌は鶏の腸管における正常細菌叢を構成する細菌の一つであることから、その潜在的な発症リスクはほぼすべての飼育鶏が有していると思われる。一般的に健康な状態で飼育されているときは非感染あるいは不顕性感染で経過しているものの、何らかの要因が引き金となり発症に至ることも明らかとなっている [1]。それらの要因としては鶏舎内の換気や温・湿度管理の不良、密飼等のストレス及び飼料や飲水の汚染等の飼育環境要因、鶏伝染性気管支炎ウイルス、鶏伝染性ファブリキウス囊病ウイルス等の免疫抑制性感染症、鶏コクシジウムなどの消化器系感染症、その他の感染症への罹患、さらに生ワクチン投与によるストレス等が報告されている [1]。鶏

に病原性を引き起こす大腸菌は通常 Avian Pathogenic *E. coli* と呼ばれ APEC と略されることが多く、また消化器感染よりも呼吸器感染を主体としていることから Extraintestinal Pathogenic *E. coli* (腸管外病原性大腸菌; ExPEC) として、分類されることもある [1]。それによりヒト感染事例由来の ExPEC と APEC が遺伝学的に近縁であることを示した論文もあるが、両者の関連性については未だ不明のところが多い [2, 3, 9, 10]。

鶏大腸菌症の多くは呼吸器を通じて感染し、様々な病型を引き起こすことが知られている [1, 11]。従来はその病態から、特徴的な病変を示さず突然斃死する急性敗血症型、心臓及び肝臓等に漿膜炎がみられる亜急性漿膜炎型、肝臓や腸管に多数の肉芽腫を形成する慢性肉芽腫症型、皮下に化膿性炎がみられる皮下織炎型などに分類されていた [7]。近年は、鶏大腸菌症を全身感染症と局所感染症に区別した上で、さらに全身感染症については敗血症、敗血症に続発する症状、肉芽腫症に細分している [1]。

全身感染症における敗血症は、呼吸器由来(気嚢感染、慢性呼吸器病)、腸管由来、幼ヒナ、採卵鶏、アヒルに区分され、その敗血症に続発する症状としては、髄膜炎/脳炎、全眼球炎、骨髄炎、脊椎炎、関節炎/多発性関節炎、滑膜炎/腱鞘炎、胸骨滑液囊炎、慢性線維素性心膜炎、若齢期の卵管炎が上げられている。局所感染症については、臍帯炎/卵黄囊感染、蜂窩織炎、頭部腫脹症候群、下痢、生殖器大腸菌症(膣炎)、卵管炎/腹膜炎/卵管腹膜炎、精巣炎/精巣上体炎/精巣上体精巣炎が上げられている [1]。このように鶏大腸菌症は、種々の局所感染に加えて敗血症のような全身感染、並びにその後の続発症といった様々な病態を引き起こすことが明らかとなっている。

このように多様な病態を引き起こしながら、養鶏産業に甚大な損害を与えている鶏大腸菌症であるが、本病は家畜伝染病や届出伝染病には指定されておら



ず、監視伝染病の指定を受けていないため、その発生状況の詳細を統計的に取りまとめた資料はないとされている。ただ、農林水産省が発表している家畜衛生週報の家畜衛生情報でその発生件数、発生羽数並びに死亡羽数が報告されている。これについては必ずしも我が国での発生の全体像を捉えているものではないとする意見もあるが、ある程度の状況までは把握できるのではないかと考えている。図1に発生件数、図2に発生羽数と死亡羽数をそれぞれ1994年から2009年まで示した。発生件数を見ると、1994年以降2003年までは若干の減少傾向にあったものの、2005年から2008年に急増している。一方で、2009年には若干であるが減少している。発生羽数をみると1994年から2000年頃までは減少傾向にあるように見えるが、2001年以降から2009年までは年度ごとに大きく異なり、一定していない。しかし、その内に含まれる死亡羽数をみると、1994年以降から2003年までは若干の減少傾向にあったものの、2005年から2008年にかけて増加していることが明らかである。この死亡羽数の増加を引き起こしている誘因については現在のところ不明であり、今後の調査及び解析が待たれる。全体的に

みると、発生件数が増加する傾向にあるものの、発生羽数自体に同様の傾向が認められないことから、発生したとしてもある程度規模が小さく済んでいるのではないかと推察される。一方で、発生した場合の死亡率が明らかに上昇しているとも解釈できる。

家畜衛生情報では、鶏大腸菌症のみ単独で発生した報告以外に、伝染性気管支炎等のウイルス性感染症との合併症、マイコプラズマ症やブドウ球菌症等の細菌性感染症との合併症、鶏コクシジウム等の寄生虫性感染症との合併症といった混合感染症の報告も別途記載してある。それらも含めた上で鶏大腸菌症の発生羽数を図3に示した。1994年の伝染性ファブリキウス嚢病との合併症、2003年のコクシジウム症との合併などを除くと、単独感染での発生報告が多く、複合的な感染例の報告が少ないことが示されている。また、合併症を取りまとめた場合でも発生羽数については年度ごとで大きく異なり、その発生傾向は認められない。

鶏大腸菌症の発生状況を断面的に眺めることができる資料として厚生労働省が発表している食鳥検査成績がある。この資料からは、年間約6億羽のプロイラー並びに約1億羽の成鶏について出荷段階での

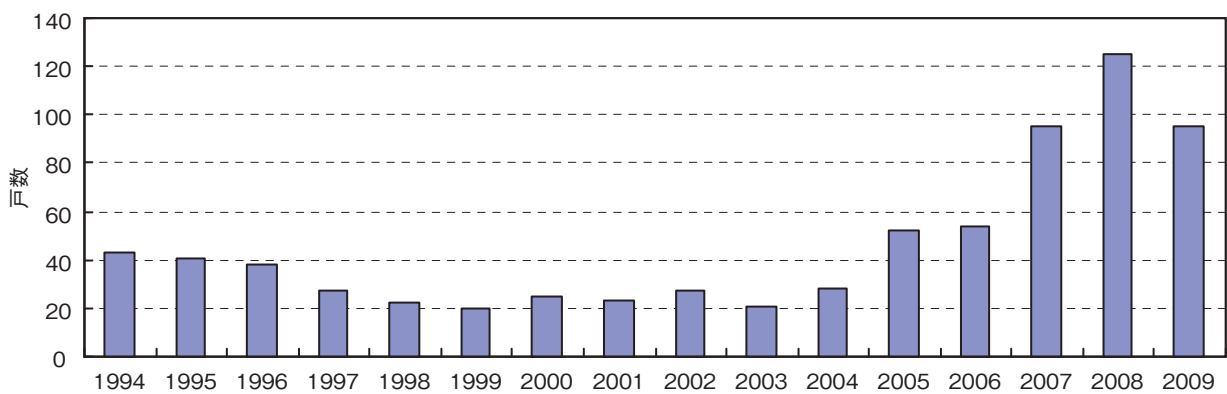


図1 鶏大腸菌症の発生件数 (家畜衛生情報より)

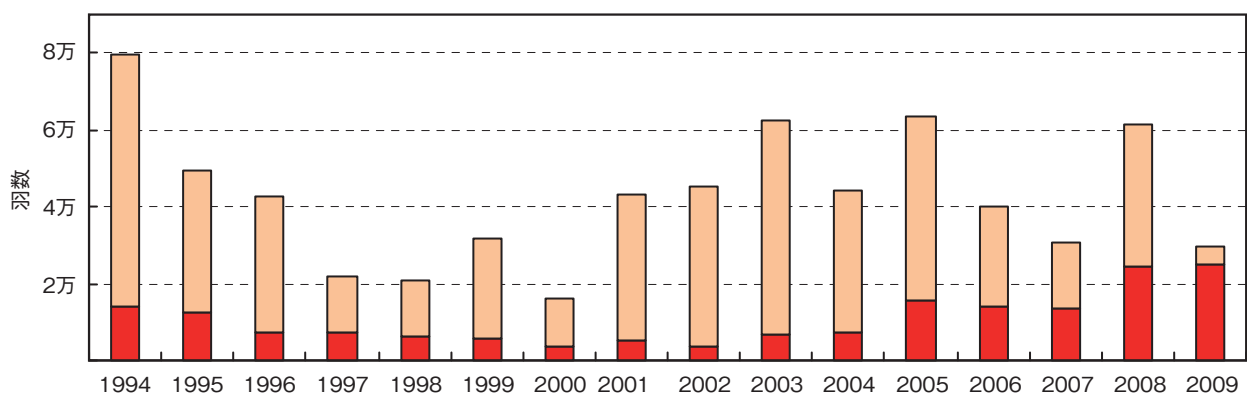


図2 鶏大腸菌症の発生羽数と死亡羽数 (家畜衛生情報より)

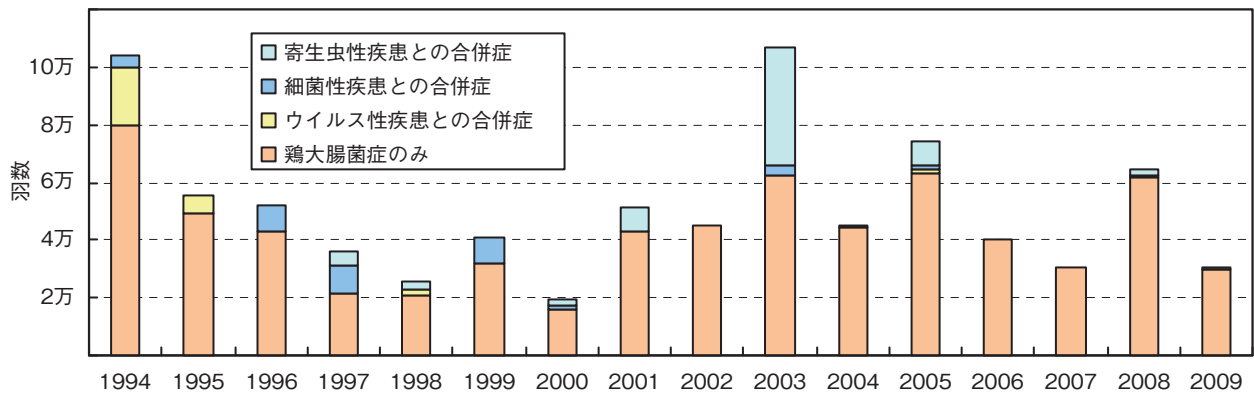


図3 鶏大腸菌症と他疾患との合併症の発生羽数 (家畜衛生情報より)

本症の発生状況を読み取ることが可能であり、それぞれ処理羽数、解体禁止羽数、全廃棄羽数、部分廃棄羽数が原因別に集計されている。それら資料を元にして、1993年から2008年までの期間について解体禁止及び全廃棄の措置が取られた鶏羽数とその原因について図4にとりまとめた。1993年から2008年までの間に解体禁止及び全部廃棄措置を執られた原因として削瘦及び発育不良が常にトップに位置しながらも、この数年で減少していく傾向が認められる。1993年の時点では腹水症やマレック病に次ぐ4位であった鶏大腸菌症は、1997年以降増加傾向にあり、2002年あるいは2006年からは急増している。その他には、炎症、腹水症や変性なども増加傾向にはある。注目すべき点としては、ワクチンの卵内接種法の普及に伴ってマレック病が確実に減少して

いることである。有効な対策手段が適確に講じられた場合は、鶏大腸菌症もこのような道筋を辿ることが期待できる。

表1は、2008年度の食鳥検査成績から解体禁止羽数及び全部廃棄羽数、それらの中で鶏大腸菌症と診断された羽数をブロイラーと成鶏別に抜粋したものである。

何れの検査においても、鶏大腸菌症は脱羽後検査時で解体禁止の原因となるよりも、むしろ内臓摘出後検査での全部廃棄の原因となることが圧倒的に多い。また、ブロイラーと成鶏では、全体的な解体禁止率や全部廃棄率に大きな差異が認められないものの、全部廃棄率に占める大腸菌症の割合がブロイラーで異常に高いことが示されている。飼育期間、飼育方法や鶏種などの様々な背景が異なるので、単

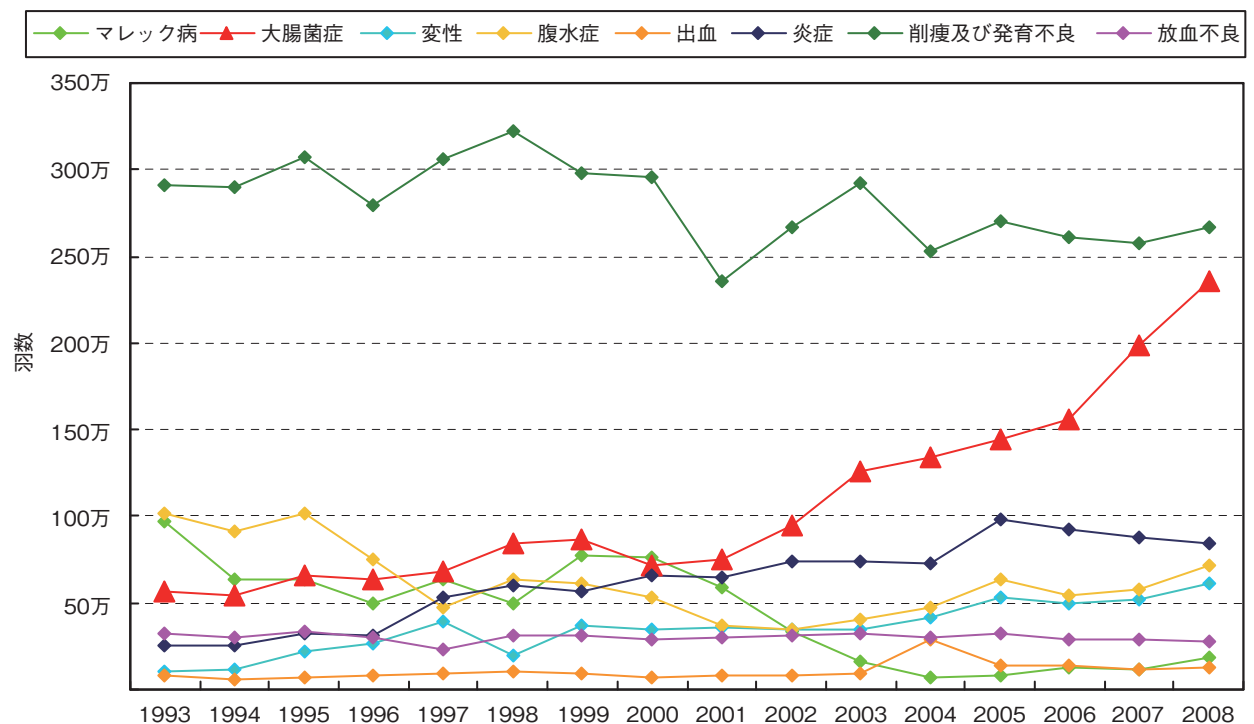


図4 食鳥検査で解体禁止及び全部廃棄措置が執られた主な原因

表 1 平成 20 年度の食鳥検査成績

	処理羽数	解体禁止羽数 (%)		全部廃棄 (%)		合計	
		全数	大腸菌症	全数	大腸菌症	全数	大腸菌症
ブロイラー	641,209,894	3,016,697 (0.471%)	27,559 (0.004%)	5,011,834 (0.782%)	2,328,083 (0.363%)	8,028,831 (1.232%)	2,355,642 (0.367%)
成鶏	79,269,084	471,917 (0.595%)	28 (0.000%)	566,526 (0.715%)	1,231 (0.002%)	1,038,443 (1.310%)	1,259 (0.002%)
総計	720,478,978	3,488,614 (0.484%)	27,587 (0.004%)	5,578,360 (0.774%)	2,329,314 (0.323%)	9,067,274 (1.258%)	2,356,901 (0.327%)

純に比較できないが、数字だけを見てもブロイラーでの鶏大腸菌症の被害が大きいことがわかる。

図 5 にはブロイラーについて、図 6 には成鶏について、それぞれ食鳥検査で全部廃棄された羽数とそのうち鶏大腸菌症と診断された羽数を示した。

1993 年から 2008 年におけるブロイラーの全部廃棄羽数には、年度ごとにある程度のバラツキを認めるものの、300 万～500 万羽の範囲内に収まり、およそ 400 万羽で一定している。そのなかで鶏大腸菌症が占める割合を見ると、2003 年を境に顕著な増加傾向を示しており、2008 年においては 4 割を超えている。1993 年での羽数と比較すると単純に約

4.2 倍程度にまで増加している。図 6 に示した成鶏の場合も、解体禁止及び全部廃棄された羽数は年度ごとにある程度の変動が認められる。一方で、その中に占める鶏大腸菌症の割合は著しく低いものであり、グラフ上では 2000 年に被害が増加したことが確認できるが、それによって全体的な全部廃棄羽数が増加するといった影響は認められない。成鶏における解体禁止及び全部廃棄の原因は、2008 年の食鳥検査成績を見る限りは削瘦及び発育不良、腹水症、腫瘍、炎症、放血不良の順であり、これらが全体の 86% を占めている。成鶏の食鳥検査において鶏大腸菌症の被害はさほど大きなものではないことが分か

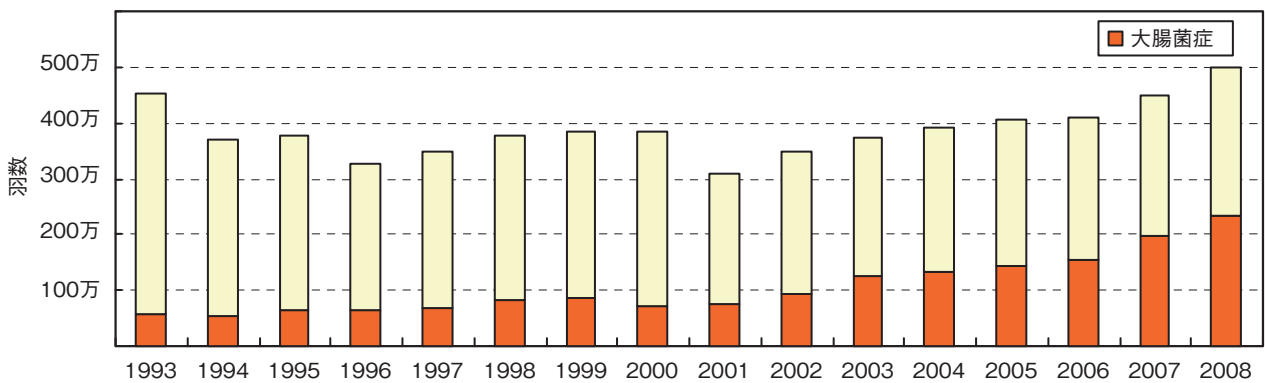


図 5 ブロイラー鶏の全部廃棄羽数とその中で鶏大腸菌症と判定された羽数

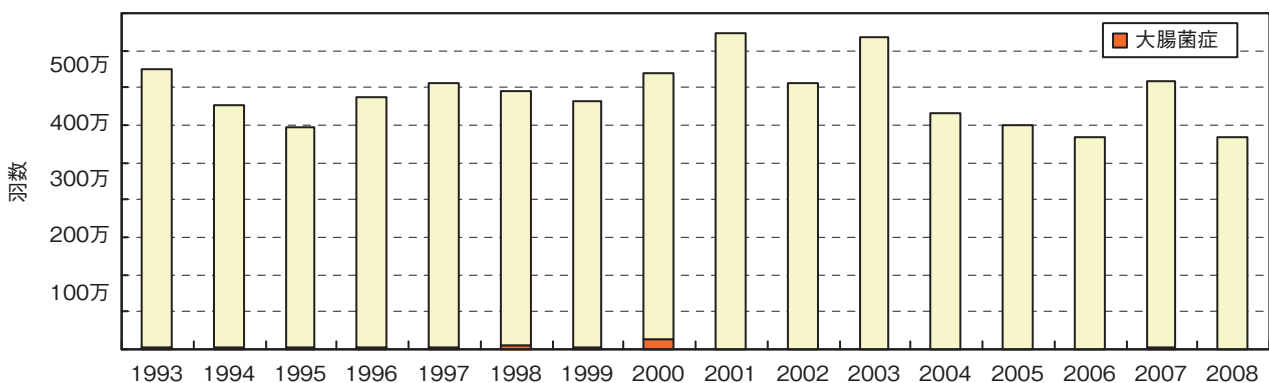


図 6 成鶏の全部廃棄羽数とその中で鶏大腸菌症と判定された羽数

る。

### 最後に

感染性疾患に対して、ワクチンを含む様々な対策資材が研究・開発され実際の農場で汎用されてきたことで、現在の養鶏産業は種々の感染症をコントロールできるようになってきた。しかしながら、ここに至って鶏大腸菌症による被害が急増してきている。これに対して抗生物質や不活化ワクチンといった対策が講じられてはいるものの、その発生を完全にコントロールすることは至極困難なようである。基本的には病原体となる大腸菌自体が、種鶏群からの伝播あるいは農場での常在化により、鶏群に定着していることが一因と推察される。そのため、これを排除するような衛生対策よりも、むしろ疾病の発生自体をコントロールする方向性を目指すことが一番適切と考える。そこには、より強力な対策資材を開発するだけでなく、常に育種改良されているブロイラーに対してその時々で最適な飼養育成管理も付随していくべきと思われる。もう一方で、現在のところ鶏大腸菌についてはヒトの公衆衛生学的な危険性は示されていない [9, 10]。しかし、ヒトの腸管外感染性病原性大腸菌との関連性やニューキノロン等の薬剤耐性に関して、今後新たな知見が得られてきた場合は、鶏大腸菌自体に関してさらに注意深く監視し、排除方法を考えていくことが必要と思われる。

### 参考文献

1. Barnes, H. J. *et al.* 2003. Disease of Poultry 12th ed., (Saif, Y. M. *et al.* eds.) Iowa State Press, Ames, Iowa.
2. Dho-Moulin, M. and Fairbrother, J. M. 1999. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Vet. Res.* **30**: 299-316.
3. Ewers, C. *et al.* 2007. Avian pathogenic, urogenic, and new-born meningitis-causing *Escherichia coli*: how closely related are they? *Int. J. Med. Microb.* **297**: 163-176.
4. Kawano M. *et al.* 2006. Genotypic analysis of *Escherichia coli* isolated from chickens with colibacil-

losis and apparently healthy chickens in Japan. *Microb. Immunol.* **50**: 961-966.

5. 小澤真名緒ら. 2007. 鶏大腸菌症由来大腸菌におけるフルオキノロン耐性と血清型の関係. 第144回日本獣医学会(酪農学園大学)講演要旨集.
6. 村瀬敏之. 2009. 採卵用鶏における大腸菌症. 鶏病研報 **45**: 147-155.
7. 中村菊保. 1988. 鶏大腸菌症野外例及び実験例の病理学的変化について. 鶏病研報 **24**: 37-48.
8. 長井伸也ら. 1995. III -3 頭部腫脹症候群を示す鶏から分離された大腸菌の特徴. 第120回日本獣医学会(鳥取大学)講演要旨集.
9. 坂崎利一. 2000. 新訂食水系感染症と細菌性食中毒(坂崎利一編)中央法規出版.
10. 坂崎利一, 田村和満. 1992. 腸内細菌, 近代出版.
11. 佐藤静夫. 1988. 鶏の大腸菌症. 鶏病研報 **24**: 1-11.



## 伝染性気管支炎ウイルスレセプターに関する最近の知見

石山真衣

伝染性気管支炎ウイルス (Infectious bronchitis virus, IBV) は、コロナウイルス科に属する RNA ウィルスである。ニワトリに呼吸器障害・腎臓障害・産卵低下を引き起こし、養鶏業界に大きな経済的損失を与えている。宿主への侵入は主に気道器を介して行われ、上部気道粘膜上皮細胞で感染・増殖後、ウィルス血症を経て腎臓や生殖器官等全身に拡がる [13]。腎病変を伴う場合の致死率は高く、腎臓に親和性の高いウィルス株はニワトリに対する病原性が強いと考えられる。

他のコロナウイルスと同様、IBV の宿主動物・感受性細胞域は狭い。自然宿主はニワトリであるが、キジやシチメンチョウからもまれに IBV が分離されることから [14]、他のコロナウイルスと同様に、IBV も遺伝子変異により宿主域が拡がる可能性がある。IBV は *in vitro* において、鶏腎初代培養細胞 (CK 細胞) ならびに発育鶏卵で最も効率よく増殖し、Beaudette 株のような一部のウィルス株を除いて、哺乳動物培養細胞では増殖しない [15]。

コロナウイルスの宿主特異性の決定には、感染初期段階におけるウィルススパイク (S) 蛋白質による細胞表面のウィルスレセプターの認識が重要な役割を果たしている (Fig. 1)。コロナウイルス S 蛋白質

質は、一つの細胞膜貫通領域を持つ type1 transmembrane 蛋白質の三量体で、N 末端側に位置する S1 サブユニットならびに C 末端側に位置する S2 サブユニットに区分される (Fig. 2)。S1 は細胞表面ウィルスレセプターの認識・結合に関与し、多くのコロナウイルスのレセプター結合部位が S1 に同定されている [16]。S2 は、インフルエンザウィルスのヘマグルチニン 2 (HA2) ならびに HIV の gp41 と同様に fusion peptide, heptad repeat 1・2 アミノ酸配列を持ち (Fig. 2)、S1 によるレセプター結合に引き続くウィルス粒子の細胞膜融合・侵入に重要な役割を果たすと考えられる。

Table 1 に、現在までに同定されたコロナウイル

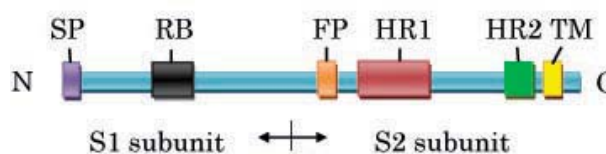


Fig. 2 コロナウイルス S 蛋白質の構造。

SP : signal peptide RB : receptor binding domain  
FP : fusion peptide HR : heptad repeat  
TM : transmembrane

Table 1 コロナウイルスレセプター

	virus	receptor
Group1	豚伝染性胃腸炎ウイルス (TGEV)	Aminopeptidase N
	ヒト呼吸器コロナウイルス 229E 株 (HCoV-229E)	
	イヌコロナウイルス (CCoV) ネコ伝染性腹膜炎ウイルス (FIPV)	
Group2	ヒトコロナウイルス OC43 (HCoV-OC43)	N-acetyl-9-O-acetylneuraminic acid
	ウシコロナウイルス (BCoV)	
	ブタ血球凝集性脳脊髄炎ウイルス (HEV)	
	マウス肝炎ウイルス (MHV)	Carcinoembryonic antigen cell adhesion molecule 1 (CEACAM1)
Group3	伝染性気管支炎ウイルス (IBV)	未同定
Group4	重症急性呼吸器症候群ウイルス (SARS-CoV)	Angiotensin-converting enzyme2 (ACE2), CD209L

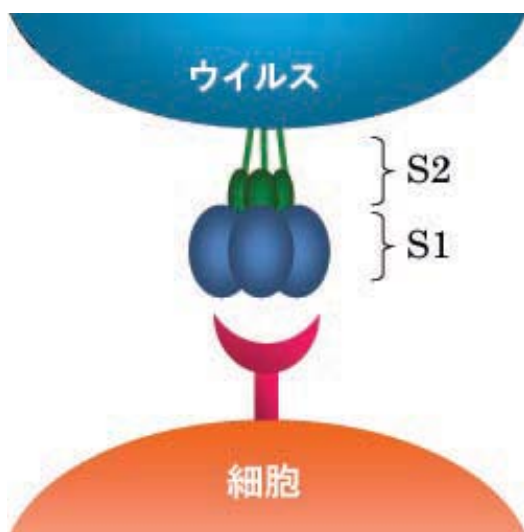


Fig. 1 コロナウイルスと細胞の相互作用  
スパイク蛋白 S1 領域が細胞表面のレセプターと結合する。

スのレセプターを示す。グループ1コロナウイルスに属する豚伝染性胃腸炎ウイルス (TGEV), ヒト呼吸器コロナウイルス 229E 株 (HCoV-229E), イヌコロナウイルス (CCoV), ネコ伝染性腹膜炎ウイルス (FIPV) は, それぞれ動物種特異的なアミノペプチダーゼ N (APN) をプライマリーレセプターとして利用する。グループ2コロナウイルスに属するヒトコロナウイルス OC43 (HCoV-OC43), ウシコロナウイルス (BCoV), ブタ血球凝集性脳脊髄炎ウイルス (HEV) は N-acetyl-9-O-acetyl-neuraminic acid をレセプターとし, マウス肝炎ウイルス (MHV) のレセプターは carcinoembryonic antigen cell adhesion molecule 1 (CEACAM1) である。また, グループ4コロナウイルスに属する重症急性呼吸器症候群ウイルス (SARS-CoV) のレセプターは angiotensin - converting enzyme2 (ACE2) と CD209L であると同定されている [5]。

他のコロナウイルスと同様に, IBV の S 蛋白質も S1・S2 サブユニットから構成され, S1 がレセプター結合, S2 が細胞膜融合・侵入に機能すると考えられている。しかしながら, IBV が属するグループ3コロナウイルスの感染分子機構に関する研究は進んでおらず, IBV のレセプターはいまだ明らかにされていない。近年, IBV の宿主細胞レセプター結合に関与する細胞表面分子として, シアル酸, ヘパラン硫酸, APN が報告された [1, 2, 3, 4, 9]。本稿では, これらの細胞表面分子の性状ならびに IBV 感染における役割を概説し, IBV のレセプターについて考察をする。

## 1. シアル酸

シアル酸 (sialic acid,  $C_{11}H_{19}NO_9$ ) (Fig. 3) はノイラミン酸のアミノ基又はヒドロキシ基の置換体で, 細胞表面糖鎖の非還元末端に存在し, 細胞認識

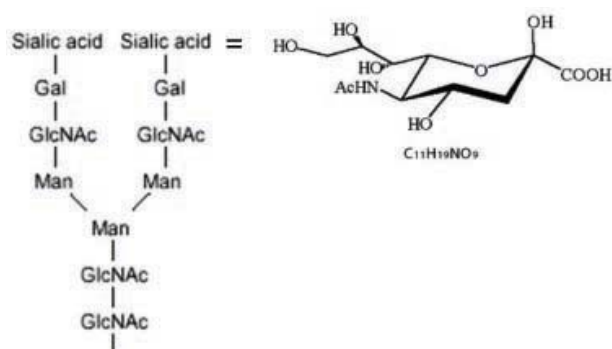


Fig. 3 シアル酸構造式

などにおいて重要な機能を担っている。様々なウイルスがシアル酸を細胞吸着因子・レセプターとして使用する事が知られているが, A 型インフルエンザウイルスの HA によるシアル酸認識が最も詳細に解析されている。HA とシアル酸の結合は, 糖鎖におけるシアル酸とガラクトースの結合様式により決定され, ヒト由来ウイルス HA は, シアル酸とガラクトースが  $\alpha 2 \rightarrow 6$  結合した  $\alpha 2, 6$  型シアル酸を認識し, トリ由来ウイルス HA は  $\alpha 2 \rightarrow 3$  結合した  $\alpha 2, 3$  型シアル酸を認識する [8]。ヒトの気道上皮細胞では  $\alpha 2, 6$  型, トリでは  $\alpha 2, 3$  型が主に発現されているため, ヒトインフルエンザウイルスとトリインフルエンザウイルスはそれぞれの宿主の間で交差感染しないと考えられる。一方, ブタの気道上皮細胞には,  $\alpha 2, 3$  型と  $\alpha 2, 6$  型両方のシアル酸が発現しているため, ブタはヒトインフルエンザウイルスとトリインフルエンザウイルス両方の宿主となり, それらが同時感染することによって, ブタの体内でリアソータントが形成される可能性がある。

IBV 株の中には赤血球凝集反応を引き起こすウイルス株があることから, 以前から IBV の感染過程においてシアル酸が関与する可能性が示唆されていた [1]。近年, IBV がヒトインフルエンザウイルスと同様に細胞表面の  $\alpha 2, 3$  型シアル酸を介して感染することが報告されている [3]。Rahman らは, Beaudette 株の Vero 細胞ならびに BHK 細胞における感染効率が, シアル酸を糖鎖から切断するノイラミニダーゼ (NA) で細胞を処理することにより減少することを示した [2]。また, Winter らも同様に, Beaudette 株を含む様々なウイルス株の CK 細胞感染効率が NA 処理により減少することを示している。鶏上部呼吸器の *in vitro* モデルである気管組織培養 (tracheal organ culture, TOC) においても, IBV 感染による気管上皮線毛運動の抑制が NA 処理により軽減され, 免疫染色によって TOC での IBV 感染細胞は  $\alpha 2, 3$  型シアル酸を発現する気管粘膜線毛細胞ならびに杯細胞であることが示されている [3]。またこれらの報告では, IBV のシアル酸への親和性がウイルス株によって異なり, その親和性はインフルエンザウイルスよりも低いことが示唆されている。

Rahman ならびに Winter らの一致した実験結果は, 細胞・組織培養系における IBV の宿主細胞感染に  $\alpha 2, 3$  型シアル酸が何らかの過程で関与する事を強く示唆している。IBV のシアル酸依存性は, イ

ンフルエンザウイルスとの類似性を想起させるが、IBVはシアル酸と親和性が低いことと、インフルエンザウイルスのNAのようなウイルス放出時に必要なシアル酸切断酵素を持たないことから、IBVがシアル酸をレセプターとして宿主細胞への感染や増殖をするとは考えにくい。さらに、 $\alpha 2, 3$ 型シアル酸は幅広い細胞・組織・動物種に存在することから、IBVの宿主特異性はシアル酸をプライマリーレセプターとして利用することでは説明できない。おそらく、 $\alpha 2, 3$ 型シアル酸はIBVの細胞吸着促進因子として作用し、引き続き種特異的レセプターとの相互作用によりIBVの宿主特異性が決定されると考えられる。

## 2. ヘパラン硫酸

細胞表面・細胞外マトリックスに存在する複合糖質プロテオグリカン (PG) は、タンパク質コア部分と二種類の単糖の繰り返し直鎖状多糖類からなるグリコサミノグリカン (GAG) により構成される (Fig. 4)。PGはGAGを介して様々な生体反応に関与するが、グルコサミンとグルクロン酸の繰り返し配列からなるGAGのヘパラン硫酸 (HS) は、単純ヘルペスウイルスのレセプターとして機能する事が知られている [17]。

Beaudette株はIBVでは例外的に哺乳動物培養細胞で感染・増殖するが、その分子機構は明らかにされていない。Maduらは、Beaudette株のS蛋白にこの株に特異的なヘパリン結合コンセンサス配列を

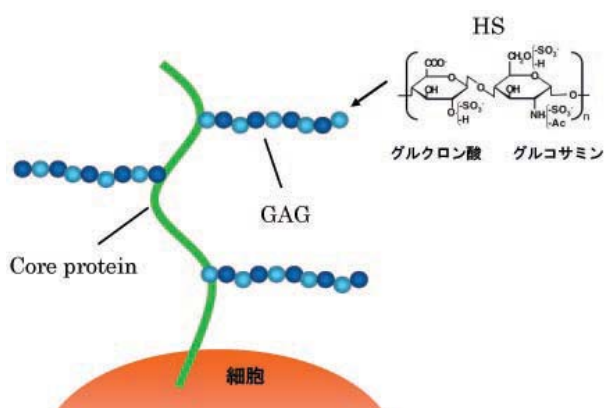


Fig. 4 プロテオグリカン (PG)

GAG: glycosaminoglycan HS: Heparan sulfate  
細胞表面・細胞外マトリックスに存在する複合糖質PGは、タンパク質コア部分と二種類の単糖の繰り返し直鎖状多糖類からなるGAGにより構成される。HSは、グルコサミンとグルクロン酸の繰り返し配列からなるGAGである。

同定し、Beaudette株のBHK細胞ならびにCK細胞への感染が可溶性ヘパリンによって用量依存的に阻害されることから、HSがBeaudette株の感染に必要な因子であるということを示した。一方、ヘパリン結合コンセンサス配列を持たないM41株のCK細胞への感染は、ヘパリンにより阻害されない事から、Beaudette株に特異的なヘパリン結合コンセンサス配列がHSの認識に関与する事を示唆した。さらに、Beaudette株の感染におけるコンドロイチン硫酸など他の細胞表面GAGの関与を検討するため、CHO細胞の変異株2株 (HSの合成を特異的に欠損、または全てのGAG合成を欠損)におけるBeaudette株の感染効率の解析を行った。その結果、HSを特異的に欠損したCHO細胞では感染が有意に減少し、検出限界以下になった。ところが、全てのGAG合成を欠損したCHO細胞では、正常細胞と同レベルの感染がみられた。彼らは、この矛盾する結果を、細胞表面の全てのGAGが欠損したCHO細胞表面に新たなウイルス結合サイトが露出し、その結果ウイルス感染が成立した可能性があると考えしている [9]。

Beaudette株のHS依存性は、おそらくこの株に特異的な感染様式であり、HSがIBV共通のレセプター・吸着因子として機能することはないと考えられる。しかしながら、哺乳動物細胞に適応したBeaudette株による株特異的なHS認識は、コロナウイルスの種を超えた進化の分子機構をよりよく理解するための有用な情報を提供するであろう。

## 3. アミノペプチダーゼN

APNは活性部位に1個の亜鉛イオンを有する金属ペプチダーゼであり、N末端側に細胞膜貫通領域を持つ約150kDaの糖蛋白である (Fig. 5)。顆粒

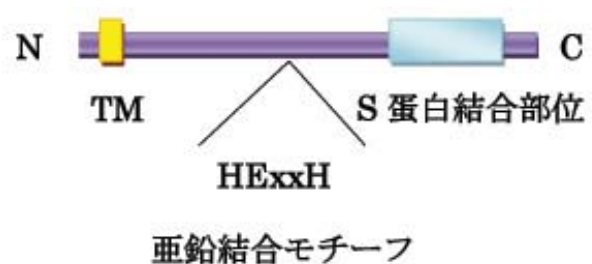


Fig. 5 アミノペプチダーゼNの構造

TM: transmembrane

APNは活性部位に1個の亜鉛イオンを有する金属ペプチダーゼである。



球・リンパ球・単球の細胞膜、線維芽細胞、中枢神経系のシナプス膜、腎近位尿細管上皮、消化管刷子縁、気管粘膜上皮細胞などに幅広く発現している [4]。APN は幅広い基質特異性を有し、多種のペプチドのアミノ酸への代謝に重要な役割を果たすと考えられている。ヒトでは CD13 抗原と呼ばれ、腫瘍の浸潤・転移に関与することから関心が集まっている [18]。

APN は一部の例外を除き、グループ 1 に属するヒト、ネコ、イヌ、ブタのコロナウイルスに共通なレセプターとして機能することが知られている [4]。APN 分子において、亜鉛結合モチーフ (His-Glu-X-X-His) を含む酵素活性部位とコロナウイルス S タンパク結合部位は異なり (Fig. 5)、APN 酵素活性インヒビターによってコロナウイルスの感染は抑制されない [6]。

イヌ、ネコ、ブタのコロナウイルスは、それぞれの宿主動物種に特異的な APN を認識することにより、宿主動物種を決定している。興味深いことに、ネコ APN (fAPN) はネココロナウイルスだけではなく、ブタの TGEV、イヌの CCoV、ヒトの HCoV-229E のレセプターとしても機能する事が知られている [7]。

実際、ネコは CCoV や HCoV-229E に不顕性感染し、抗体陽転する。この知見は、fAPN を介してネコに複数のグループ 1 コロナウイルスが同時感染すると、細胞内でウイルス遺伝子の組換えが起こる可能性を示唆している。ネコの細胞内でできたりコンビナントウイルスは、どちらの親ウイルスとも異なる組織向性、抗原性、病原性をもつ可能性があり、新しい病気の発生につながる可能性がある [19]。

APN が IBV のレセプターとして機能する可能性については、現在のところ 2 つの矛盾する結果が報告されている。まず、Miguel らは、APN を発現しているネコ腎 CRFK 細胞株に IBV Ark99 株が感染増殖することを示し、さらに IBV 非感受性 BHK-21 細胞にネコ APN を発現させることにより、Ark99 株の感染・増殖が起こることを示している [4]。一方、引き続き Chu らの報告では、Miguel らの用いた Ark99 株の CRFK 細胞での感染効率は著しく低く (<0.01%)、M41 株はそれに比較して若干高い感染効率 (6%) を示した。また、彼らは Miguel らと同様にネコ APN を発現させた BHK-21 細胞の、Ark99 株ならびに M41 株を含む 7 株の IBV に対する感受性について検索を行ったが、いずれ

のウイルス株においても APN 発現による感染の促進はみられなかった。以上の結果から、彼らは、少なくとも BHK-21 細胞で発現させたネコ APN が IBV のレセプターとして機能する可能性については否定している [5]。

ネコ APN の IBV レセプター機能に関する矛盾した結果の原因は明らかではない。しかしながら、いずれの報告でも CRFK 細胞株には、少数ながら IBV に感受性のある細胞が存在する事が認められている。

IBV 感受性の CRFK 細胞をクローニングすることにより、CRFK 細胞で IBV レセプターとして働く分子の同定は可能と思われるが、ネコ APN が普遍的な IBV のレセプターとして機能する可能性は極めて低いと考えられる。また、いずれの報告でも、レセプターとして検討されているのはネコの APN である。近年、発育鶏卵の卵黄とニワトリの腸から APN 遺伝子が同定された事から [4]、ニワトリ APN の IBV レセプターとしての機能はさらなる検証が必要である。

これまでに、多くのウイルスの宿主細胞感染分子機構が解析され、ウイルス側のレセプター結合部位、細胞側レセプターならびに両者の相互作用機序が明らかにされている。それらの知見は、基礎分子ウイルス学の発展のみならず、抗ウイルス薬・ワクチンの研究開発に大いに貢献している。本稿で概略したように、シアル酸、HS、APN が IBV の吸着因子として作用する事が示唆されているが、IBV の細胞、組織、種特異性を明確に規定するレセプターは同定されていない。IBV は高頻度の S 遺伝子変異性を示し、特にレセプター結合に直接機能すると考えられる S1 サブユニットには顕著な変異が認められる。それにもかかわらず、IBV の宿主特異性がきわめて高いことは、S 遺伝子の多様性に関わらず普遍的に認識される細胞側レセプターの存在と、S1 サブユニットで保存されたレセプター結合部位・モチーフの存在を示唆している。

現在、多様な S 遺伝子変異を持つ IBV は、S1 または S2 遺伝子解析によりいくつかの遺伝子型に分類されている。また、IBV はその中和交差性により血清型にも分類されている [10, 11, 12]。同じ遺伝子型に属するウイルスは中和交差性が高く、異なる遺伝子型のウイルス間では低い傾向がある。IBV のワクチン開発の歴史は比較的古いですが、高頻度の S 遺伝子変異ならびに多様な中和交差性を示す野外 IBV 感染を網羅的に抑制するワクチンの開発は今もなお

困難な状況である。IBVのレセプターならびにSタンパクのレセプター結合部位の同定は、より有効な次世代IBVワクチンの研究開発に、多大な貢献を果たすと期待される。

## 参考文献

- Winter, C., Schwegmann-Weßels, C., Dave Cavanagh, D., Neumann, U. and Herrler, G. 2006. Sialic acid is a receptor determinant for infection of cells by avian Infectious bronchitis virus. *J. General Virol.* **87**: 1209–1216.
- Abd El Rahman, S., El-Kenawy, A. A., Neumann, U., Herrler, G. and Winter, C. 2009. Comparative analysis of the sialic acid binding activity and the tropism for the respiratory epithelium of four different strains of avian infectious bronchitis virus. *Avian Pathol.* **38**: 41–5.
- Winter, C., Herrler, G. and Neumann, U. 2007. Infection of the tracheal epithelium by infectious bronchitis virus is sialic acid dependent. *Microbes Infect.* **10**: 367–73.
- Miguel, B., Pharr, G. T. and Wang, C. 2002. The role of feline aminopeptidase N as a receptor for infectious bronchitis virus. Brief review. *Arch Virol.* **147**: 2047–56.
- Chu, V. C., McElroy, L. J., Aronson, J. M., Oura, T. J., Harbison, C. E., Bauman, B. E. and Whittaker, G. R. 2007. Feline amino-peptidase N is not a functional receptor for avian infectious bronchitis virus. *Virol. J.* **26**: 20.
- 田口文広. SARS コロナウイルス. <http://jsv.umin.jp/topics/sars/sars-1.pdf>
- Tresnan, D. B., Levis, R. and Holmes, K. V. 1996. Feline aminopeptidase N serves as a receptor for feline, canine, porcine, and human coronaviruses in serogroup I. *J. Virol.* **70**: 8669–74.
- Yu, J. E., Yoon, H., Lee, H. J., Lee, J. H., Chang, B. J., Song, C. S. and Nahm, S. S. 2011. Expression patterns of influenza virus receptors in the respiratory tracts of four species of poultry. *J. Vet. Sci.* **12**: 7–13.
- Madu, I. G., Chu, V. C., Lee, H., Regan, A. D., Bauman, B. E. and Whittaker, G. R. 2007. Heparan sulfate is a selective attachment factor for the avian coronavirus infectious bronchitis virus Beaudette. *Avian Dis.* **51**: 45–51.
- Ariyoshi, R., Kawai, T., Honda, T. and Tokiyoshi, S. 2010. Classification of IBV S1 genotypes by direct reverse transcriptase – polymerase chain reaction (RT-PCR) and relationship between serotypes and genotypes of strains isolated between 1998 and 2008 in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* **72**: 687–92.
- Mase, M., Tsukamoto, K., Imai, K. and Yamaguchi, S. 2004. Phylogenetic analysis of avian infectious bronchitis virus strains isolated in Japan. *Arch. Virol.* **149**: 2069–78.
- Lin, Z., Kato, A., Kudou, Y. and Ueda, S. 1991. A new typing method for the avian infectious bronchitis virus using polymerase chain reaction and restriction enzyme fragment length polymorphism. *Arch. Virol.* **116**: 19–31.
- 動物の感染症. 初版. 2002: 250–251
- Cavanagh D. 2003. Severe acute respiratory syndrome vaccine development: experiences of vaccination against avian infectious bronchitis coronavirus. *Avian Pathol.* **32**(6): 567–82.
- Chen HY, Guo AZ, Peng B, Zhang MF, Guo HY, Chen HC. 2007. Infection of HeLa cells by avian infectious bronchitis virus is dependent on cell status. *Avian Pathol.* **36**(4): 269–74.
- Li, F., W. Li, M. Farzan, and S. C. Harrison. 2005. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Science.* **309**: 1864–1868.
- 石原雅之. ヘパラン硫酸の構造と機能 – FGFの高次構造を変えその活性を制御する – [http://lifesciencedb.jp/dbsearch/Literature/get\\_pne\\_cgpdf.php?year=1995&number=4009&file=SPjwkC601TPLUSr/pSomyvVnQ==](http://lifesciencedb.jp/dbsearch/Literature/get_pne_cgpdf.php?year=1995&number=4009&file=SPjwkC601TPLUSr/pSomyvVnQ==)
- 小野原侑子. 大腸菌由来アミノペプチダーゼNの結晶構造とその機能解析. [http://www.nagasaki-u.ac.jp/ja/gakusai/summary/h20/0906\\_ishi\\_yaku/file/ishi-yaku248ronbun.pdf](http://www.nagasaki-u.ac.jp/ja/gakusai/summary/h20/0906_ishi_yaku/file/ishi-yaku248ronbun.pdf)
- Tresnan DB, Holmes KV. 1998. Feline aminopeptidase N is a receptor for all group I coronaviruses. *Adv Exp Med Biol.* **440**: 69–75.

## 学会発表演題 (2010年9月～2010年3月)

## 第151回日本獣医学会学術集会

期 日：2010年3月30日～4月1日

開 催 地：東京農工大学

発 表 演 題：豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス (PRRSV) 実験感染豚の病理組織学的解析

○鈴木敬之, 平 修, 佐藤哲朗, 上塚浩司, 富岡ひとみ, 長尾亜貴, 竹山夏美, 小祿和希,  
小玉敏明, 土井邦雄, 布谷鉄夫

※東日本大震災により開催は中止となりましたが、講演要旨集の発行をもって成立されております。

## 第51回獣医病理学研修会 (第151回日本獣医学会学術集会)

期 日：2010年3月30日～4月1日

開 催 地：東京農工大学

発 表 演 題：ガチョウの腹腔内腫瘍

○上塚浩司

※東日本大震災により開催は中止となりましたが、講演要旨集の発行をもって成立されております。

## BIT Life Sciences' 3rd Annual World Vaccine Congress – 2011

期 日：2011年3月23日～3月25日

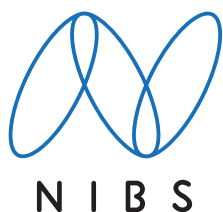
開 催 地：China National Convention Center (中国, 北京)

発 表 演 題：Rice-based oral vaccination of cholera toxin B subunit for the protection of enterotoxigenic  
*Escherichia coli* infection in pigs.

○Takeyama, N., Tokuhara, D., Nochi, T., Oroku, K., Chubachi, A., Yuki, Y. and Kiyono, H.

3月11日に発生いたしました東日本大震災に被災された皆様、関係者の方におかれましては、心よりお見舞い申し上げますと共に一日も早い復旧と皆様のご健康を心よりお祈り申し上げます。

弊所も早期の復旧・復興に向けて、微力ながら尽力して参る所存でございます。



—— テーマは「生命の連鎖」——  
生命の「共生・調和」を理念とし、生命体の豊かな明日と、研究の永続性を願う気持ちを快いリズムに整え、視覚化したものです。カラーは生命の源、水を表す「青」としています。

表紙題字は故中村稔治博士の揮毫

日生研たより 昭和30年9月1日創刊(隔月1回発行)  
(通巻568号) 平成23年4月25日印刷 平成23年5月1日発行(第57巻第3号)  
発行所 財団法人 日本生物科学研究所  
〒198-0024 東京都青梅市新町9丁目2221番地の1  
TEL: 0428(33)1056(企画学術部) FAX: 0428(33)1036  
発行人 林 志鋒  
編集室 委員/平 修(委員長), 堤 信幸, 黒田 丹  
事務/企画学術部  
印刷所 株式会社 精興社  
(無断転載を禁ず)