

One killer virus, three key questions

新型インフルエンザウイルスに関する 3つの重大課題

Brendan Maher, Declan Butler

Nature Vol. 462(154-157)/12 November

H1N1 新型インフルエンザの世界的大流行（パンデミック）に対して全世界が緊急体制をとっている今、研究者たちも、このウイルスに関する差し迫った問題に答えを出そうと努力している。米国の疾病管理予防センター（CDC）の病理学者たちは、新型インフルエンザウイルスが死をもたらす仕組みを調べている。ニューヨークのある研究室では、感染が広まる仕組みを調べている。フランスのあるバイオセーフティーレベル4（BSL-4）施設では、新型インフルエンザウイルスがH5N1 鳥インフルエンザウイルスと遺伝子再集合を起こす可能性を調べている。

1 いかにして死をもたらすのか？

その顕微鏡には5セットのアイピース（接眼レンズ）がついている。その1つをのぞき込んでいるのが、疾病管理予防センター（CDC）感染症病理学部門（米国ジョージア州アトランタ）のSherif Zakiだ。残り4つは、Zakiの研究チームのメンバーたちがのぞき込んでいる。狭い会議室の奥の壁には大きなフラットスクリーンモニターがあり、疫学、細菌学、電子顕微鏡法を専門とするほかの研究者たちが、映し出された顕微鏡画像を見つめている。

疫学者のDianna Blauによると、彼らが今観察している組織は2009年9月に死亡した11歳の女兒から採取されたもので、新型インフルエンザが死因と考えられている。チームは既に、この女兒のサンプル中にウイルスRNAがあることは確認しているが、肺の奥深くにあるこの組織でH1N1ウイルスの存在を観察することができれば、より正確で詳細に診断できる。組織はぐちゃぐちゃに見え、青く染色された黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* であふれかえっている。Zakiはスライドを

くまなく観察し、H1N1ウイルスと結合した抗体の存在を示す赤く染まった箇所を探していた。それは、1枚のスライドの上に見つかった。赤い斑点は、破裂しつつある細胞から大量のウイルスが放出されようとしていることを示している。この女兒は陽性と判定された。

Zakiの研究室では毎日午後にごうした判定会議を開いて、世界各国の医師や検死官がCDCに送ってくる剖検やその他の組織を検討し、さまざまな感染症を確定したり排除したりしている。H1N1ウイルスのおかげで、彼らが扱う症例数は2009年4月から倍増している。チームはこれまでに300以上の病理サンプルを受け取り、その3分の1以上を新型インフルエンザと確認している。

チームの分析は、診断のほかに、ウイルスが患者を死に至らしめる仕組みを解き明かすのにも役立っている。病理検査により、どの組織がどの程度の影響を受けたかがわかり、世界的なモニタリングとサーベイランスに詳細な情報を追加することができるからだ。

その結果、新型H1N1ウイルスに特徴的な動向が浮かび上がってきた。季節性

インフルエンザウイルスが上気道の細胞にしか感染しない傾向があるのに対して、新型H1N1ウイルスは肺胞（気管支の末端にある小さな袋で、ここで、血液中の二酸化炭素と空気中の酸素の交換を行う）にまで侵入する。「季節性インフルエンザウイルスが肺の肺胞にみられることはまずありません」とZakiはいう。けれども彼は、そのような振る舞いをするウイルスを見たことがある。それは、H5N1 鳥インフルエンザ感染による死者のいくつかの肺サンプルだった。しかし、今回調べている重篤な新型インフルエンザ症例の組織では、それよりウイルスの数がはるかに多い。Zakiの言葉を借りるなら、「パワーアップした鳥インフルエンザ」のような感じだった。

Zakiは、自分の観察は、このウイルスの感染機構に関する最近の研究結果とよく一致しているという。マールブルク・フィリップス大学（ドイツ）のMikhail Matrosovichとインペリアル・カレッジ・ロンドン（英国）のTen Feiziは、インフルエンザウイルスがヒトの細胞に侵入するために結合するシアリル糖鎖という糖タンパク質を調べた¹。その結果、季節性H1N1株がもっぱら α 2-6という種類の



Sherif Zaki (手前) は新型インフルエンザウイルスに感染した組織を調べている。

糖タンパク質に結合するのに対して、新型 H1N1 株は、下気道に多くみられる α 2-3 という種類の糖タンパク質にも結合できることが明らかになった。

新型インフルエンザでは混合感染がよくみられる。少なくとも死亡例においてはそうである。Zaki のチームが調べた新型インフルエンザによる死亡例の約 3 分の 1 で、黄色ブドウ球菌や肺炎連鎖球菌 *Streptococcus pneumoniae* などによる細菌感染が観察されている。それ以外の症例では、このウイルスが単独で死をもたらしたようである。Zaki は、細菌混合感染なしに死亡した 38 歳の男性のサンプルを顕微鏡のステージに載せた。このサンプルはどこもかしこも赤く染まっている。肺胞の壁は破裂し、通常はガス交換のために空いているスペースまで血液細胞や血漿でいっぱいになっており、硝子膜とよばれる瘢痕のようなピンク色の帯が、組織を横切るように弧を描いている。これは病理学者が「びまん性肺泡損傷」とよぶ状態

であり、この男性が呼吸窮迫症候群であったことを示している。「こうした状態になってしまった患者を治療することは非常に困難です」と Zaki はいう。この男性は肥満症で、高血圧と心臓疾患の既往歴があったことがわかっている。実際、Zaki のチームがチェックした症例の約 90% に、なんらかの基礎疾患があった。

Zaki は、近いうちにこうした知見の一部につき論文を発表する予定であるという。彼はこれまでも、CDC のほかの研究者や公衆衛生に携わるさまざまな分野の人々と情報を分かち合ってきた。病理学は、ウイルスがこれからどのように振る舞うのかを予測することはできないが、重症化しやすい人の特定には役立つ。CDC の国立予防接種・呼吸器疾患センターの Anne Schuchat センター長は、「病理検査からは本当に多くを学ぶことができました」という。彼女は、「一部の感染における顕著な肺炎も細菌混合感染も、臨床において重要な意味があります」といい、病理検査の結果に基づき、CDC は高リスク群への肺炎球菌ワクチンの接種を推奨することになったと説明する。

判定会議が終わると、Zaki は静かな実験室を通り抜けてオフィスに戻る。技官たちは既に帰宅していて、スライド調製と染色に使う機械も静まり返っている。実験台の上には、新たに検討すべき 6 つの症例が紫色のフォルダーに入れられて並んでいる。これらの中には、スライドやパラフィンに固定された組織のほか、プラスチック製の標本容器に入ったホルマリン漬けの組織塊も含まれる。

インフルエンザシーズンの到来により、送られてくる症例数は激増するだろうと Zaki はいう。しかし、彼らの研究室で観察されているのは、世界中で起きていることの断片にすぎない。「我々が目にしているのは、氷山の一角なのです」と彼はいう。死者の物語を読み解く作業はつらいが、「得られる情報は、我々生きている人間にとって大きな意味があるのです」。

2 いかにして広まるのか?

ニューヨークのマンハッタン北部にあるマウントサイナイ医科大学のキャンパスには、エマージング病原体（現代社会の変遷とともに現れた新しい病原体）の研究を行っている施設がある。この施設の取材に訪れた記者は、実験室のスタッフにより高層階の窮屈なロッカールームに連れて来られた。ここは高度バイオセーフティーレベル 3 (BSL-3) 施設である。

実験室内に入るには、非常に手間のかかる身支度が必要だ。ゴム底の短いブーツはジャンプスーツの下にたくし込まなければならない。こぼれた液体が入り込まないようにするためだ。紫色のラテックス手袋をはめたら、その上から緑色の手袋を重ねてはめる。違う色の手袋を重ねることで、外側の手袋が破れた場合に目立ちやすくするためだ。黒い N95 マスクを装着しなければならないが、鼻孔が締めつけられるので、口から騒々しく呼吸することになる。スタッフはこれを「ダースベダー・マスク」とよんでいる。さらに紙のようなメッシュ素材の手術衣と、住宅用の断熱材でできた白い気密作業服も着用する。バイオセーフティー担当者の Philip Hauck は施設内に入る準備をするとき、ダンテの言葉を引用する。「ここに入る者はすべての望みを捨てよ」。

もう 1 つ別の準備室では、ベルト付きの重い電池式エアフィルターが追加される。そのホースは白いヘッドカバーの後ろ側につながっており、これをぴったり合わせると、顔に空気が吹きつけられ作業服がふくらむ。作業服の中を陽圧にし、実験室の中を陰圧にすることで、空気中に浮遊している病原体が体のそばから吹き飛ばされるようになっているのだ。

致死性の病原体についての動物実験を行っているマウントサイナイ医科大学の研究者たちは、毎日これだけの身支度をしている。ふだんはさまざまな病原体を扱っ

ているが、2009年5月からは新型インフルエンザウイルスが主流となった。モルモットにおけるインフルエンザの伝染のモデル化に取り組んでいた John Steel と Anice Lowen は、今回のパンデミックが始まったときに米国カリフォルニア州とオランダから新型 H1N1 株を入手し、自分たちの実験に加えようと計画した。通常、H1N1 ウイルスの研究に BSL-3 施設は必要ない。しかし倫理審査委員会は、この施設で定められている最も厳格な条件下で研究を行うことを求めた。

ヒトのウイルス疾患の伝染と病理学のモデル化には、多くの研究室がフェレットを使用しているが、フェレットは扱いが困難なことがある。マウントサイナイ医科大学の微生物学部門のリーダーである Peter Palese は、数年前に、モルモットを使って研究を行うことを思いついた。そのきっかけとなったのは、1918年のインフルエンザのパンデミックの後にニューメキシコ州の研究者が発表した論文の中で、研究室で飼っていたかなりの数のモルモットがインフルエンザに感染して死んでしまったと報告しているのを読んだことだった²。彼は早速、研究室の助教である Lowen と Steel に、モルモット間でヒトインフル

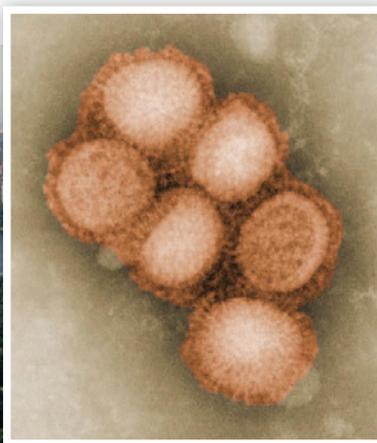
エンザが伝染するかどうかを調べるよう指示し、実際に伝染しうることを確認した。2006年には、モルモット間のウイルスのやりとりの効率が、ヒトの場合とほぼ同じであることを示した³。彼らは今も、モルモットをインフルエンザの伝染のモデルに使っている。ただし、業者から購入する実験用のモルモットがインフルエンザの症状を示したり、これによって死亡したりすることはない。

Lowen と Steel らが新型インフルエンザウイルスのサンプルを使って最初に行ったのは、その伝染性を季節性インフルエンザと比較することだった。彼らは4匹のモルモットの鼻先に感染力のある H1N1 新型インフルエンザウイルス粒子を約1万個吹きつけ、1日後に、この4匹のモルモットをインフルエンザに感染していないモルモットの隣のケージに入れた。2つのケージは金網でできた壁で隔てられていて、呼吸による飛沫は通り抜けられるようになっている。ウイルス検査を行うと、飛沫にさらされたすべてのモルモットが5日以内に陽性反応を示した。2009年10月に *Journal of Virology* のオンライン版に発表されたこの結果は、H1N1 新型インフルエンザウイルスの伝染力が季節性イ

ンフルエンザウイルスと同程度であることを示唆している⁴。これは、パンデミックが始まった時期に行われた伝染性に関する研究⁵の結果とは逆であるが、新型インフルエンザの急速な広がりを示す現実のデータとは一致している。「我々は、このパンデミックに出し抜かれたといえるかもしれませんが」と Lowen はいう。Palese のグループは、過去に H1N1 型および H3N2 型の季節性インフルエンザウイルスに暴露されたモルモットは、新型インフルエンザウイルスに感染しにくいことも発見した。この知見は、季節性インフルエンザへの感染またはワクチン接種により、新型インフルエンザに対するなんらかの交差防御が得られる可能性があるという見方を裏付けるものである。

施設内にはフェレット用の鋼鉄製の巨大なケージがある。Steel と Lowen は、これを改造して、2匹のモルモットが中にちょうどおさまるようにした。彼らは現在、新しい実験を予定している。新型インフルエンザウイルスのゲノムを調べ、ヒトからヒトへの伝染力がほかの豚由来インフルエンザ株に比べて非常に高いことの原因となるかもしれない塩基配列を見つけようというのである。さらに、ウイルスの遺伝子を再集合させ、そうしてできたものが、モルモットではどのくらいよく伝染するかを調べようと考えている。その結果は、動物に由来し、ヒトに感染する可能性があるさまざまなウイルス株を同定するために実施されているサーベイランスの取り組みに役立つだろう。

BSL-3 施設内に立ち入った者、持ち込んだ物はすべて、退室前に除染しなければならない。人間はボディースーツにくまなくエタノールを噴霧された後、これを慎重に脱ぎ、シャワールームを経由して施設を出る。ペンやノートは腐食性の薬品に漬けられて使い物にならなくなってしまうので、必要なページをスキャナーで取り込み、消毒可能な CD 上にデータを落としてもらう。



マウントサイナイ医科大学（左）の生物学者たちは、新型インフルエンザウイルス（上）の伝染の仕組みを研究している。

再びマンハッタンの路上に出れば、いつ何時、誰かの咳やくしゃみと一緒に新型インフルエンザウイルスが襲いかかってくるかわからない。この実験室を取材した後では、何の装備もなく歩き回るのは、いささか心もとないと感じてしまう。

3 いかにして変化するのか？

フランスのリヨンにあるジャン・メリュー /INSERM バイオセーフティーレベル 4 (BSL-4) 施設には、コンピューター制御の金庫がある。その中には大金が入っているのでも宝石がおさめられているのでもない。エボラウイルス、ニパウイルス、ラッサウイルス、ヘンドラウイルス、マールブルクウイルスなどの致死性のウイルスが厳重に保管されているのだ。ここで研究している科学者たちは、こうしたウイルスの新しい仲間を作り出そうと計画している。彼らは、伝染力の強い H1N1 新型インフルエンザウイルスが、凶暴な親戚である H5N1 鳥インフルエンザウイルスと遺伝子再集合を起こして、お互いの最悪の性質を兼ね備えたウイルスを生み出す可能性について実験しようとしているのだ。

国の高度安全レベル実験施設に分類されるこの実験室は、強化ガラスでできた 3 階建ての靴箱のような構造になっていて、国立保健医学研究所 (INSERM) の生物学研究センターの上に据えられている。この建物は、地震にも銃弾にも爆発にも耐えられるようになっている。ここはまた、市の中心部から目と鼻の先にあり、入り口を出て数メートルも歩けば、母親たちが乳母車を押して行きかうトニー・ガルニエ通りに入る。

実験室はがらんとした通路に囲まれている。その内装は、鋼鉄製の階段、三角形の骨組み、少し高くなっている通路、換気用のパイプなど、無骨きわまりない。フロア全体は、空気清浄装置やその他のサポート設備が立てるブンブンという音に包まれ



完全防備：BSL-4 施設内では広範にわたる安全対策を実施しなければならない。

ている。実験室は 3 つのゾーンに分割されており、内部は陰圧になっていて、実験室内でウイルスが漏れても外部に逃げ出さないようにしている。そしてすべての空気は、暴露リスクが最も大きいゾーン（裏手にある実験動物舎）に向かって流れていくようになっている。

2009 年 4 月に新型インフルエンザのパンデミックが始まったとき、実験室の使用時間はインフルエンザの研究を行っている Bruno Lina に優先的に割り当てられた。彼はフランス国立科学研究センター (CNRS) に所属し、クロード・ベルナル・リヨン第 1 大学で研究を行っているウイルス学者である。新型インフルエンザウイルスを扱うだけなら BSL-2 施設で十分であり、BSL-4 施設は不要である。けれどもフランス保健省は、Lina が行っている種類のウイルス遺伝子再集合実験には、BSL-4 施設の安全対策が必要であると判断した。

ウイルス間でどのような遺伝子再集合が起きて、どのタイプのインフルエンザウイルスが誕生するかを予測する能力は、今回および将来のパンデミックの推移を予測するためのカギとなる。インフルエンザウ

イルスの分節ゲノムにある 8 つの遺伝子は、ウイルス株の間で容易に交換される。しかし、そのウイルスが生きていくためには、新しい遺伝子の組み合わせがうまく機能して、ウイルス粒子の中に核酸を包み込むことができないと行かない。同じサブタイプ (亜型) のウイルスどうしは、異なるサブタイプのウイルスどうしに比べて遺伝子再集合を起こしやすく、こうして誕生した遺伝子再集合体も生存可能であることが多い。

インフルエンザに対して現在最もよく使用されている抗ウイルス薬は、オセルタミビル (商品名:タミフル) である。夏の間、Lina のチームはこの BSL-4 施設を利用して、新型インフルエンザウイルスが遺伝子再集合によりタミフルへの耐性を獲得する可能性や、これらの遺伝子再集合体がどのくらい容易に広まりうるかを検討してきた。耐性は自然な突然変異によって出現するが、季節性 H1N1 ウイルスが既にタミフルへの耐性を獲得しており、容易に広まっていること、そして何より、季節性 H1N1 ウイルスと新型インフルエンザウイルスが同じ H1N1 というサブタイプであることを考えると、新型インフルエンザウ

ルスが耐性を獲得する方法として最も可能性が高いのはおそらく遺伝子再集合であろう。今回のパンデミックが始まってから、複数の国でタミフル耐性株が散発的に出現しているが、いずれもまだ定着には至っていない。タミフル耐性株の出現頻度が低く、あまり容易に広まらないのは、季節性 H1N1 ウイルスがほとんど出回っておらず、新型インフルエンザウイルスに圧倒されているせいかもしれない。遺伝子再集合により伝染可能なウイルスが出現するには、多数の同時感染が起こる必要があるからだ。

Lina の研究では、1 つの細胞系の中でこの 2 つの H1N1 ウイルスを同時に培養している。彼は今、遺伝子再集合により誕生したウイルスがマウスに対してどの程度の病原性を示すかを検証している。この検証が終わったら、次はフェレットを使い、このウイルスが広まる能力を調べる予定である。研究者が実験室でさらされる最大の危険は、ウイルスに感染した動物にかまれたり引っかけたりしてけがをすることである。そのため、動物に対するすべての操作は遠隔にて麻酔をかけたうえで行われる。

Lina は新型インフルエンザウイルスと H5N1 鳥インフルエンザウイルスの遺伝子再集合も試みようとしており、現在、その許可を得るために施設の科学評議員会に提出する実験計画の準備をしている。「この研究は論争的となるものですが、しなければならない基礎科学研究なのです」と Lina はいう。H5N1 ウイルスは、2003 年に再出現して以来、その感染者の半数以上を死に至らしめてきたが、ヒトからヒトへ広まることはほとんどない。一方、新型インフルエンザウイルスは季節性インフルエンザウイルスと同程度の伝染性があるようだが、一部の患者で重症化することがあるものの、大多数の患者は軽症ですんでいる。Lina の提案の目的は、H5N1 ウイルスの致死性と H1N1 ウイルスの伝染力を兼ね備えた遺伝子再

集合体が誕生する確率を明らかにすることにある。

このウイルスの分節ゲノムの中には、遺伝子再集合によりできあがった核酸がウイルス粒子中に正しく包み込まれるか否かを決定する分子制御領域があるはずだ。Lina が何よりもめざしているのは、この領域を特定することである。「H5N1 ゲノムのどの領域が制御を担っているのか、まだわかっていないのです」と Lina はいう。彼によると、この領域を特定することができれば、インフルエンザのサーベイランスに役立つという。遺伝子再集合を容易にするカギとなる遺伝子領域がわかれば、この領域に変化が起きて危険な遺伝子再集合を起こす寸前の状態になっている、H5N1 ウイルスまたは H1N1 ウイルスがないかどうかに注意してサーベイランスを行えばよいからだ。

Lina は逆遺伝学の手法を用いて多様な遺伝子再集合体を作り、これらが生存可能であるかどうかを調べ、生存可能であるならば、その毒性と伝染力を評価する予定である。Lina は H1N1 ウイルスと H5N1 ウイルスが容易に遺伝子を交換するとは考えていない。両者のサブタイプは異なるからだ。彼は 2005 年にも H5N1 ウイルスと季節性 H1N1 ウイルスおよび H3N2 ウイルスとの間で遺伝子再集合を起こさせようと試みたが、これは失敗に終わっている。「1 年後にようやく 3 つだけ遺伝子再集合体ができましたが、どれも生存できませんでした」と Lina は語る。「遺伝子再集合は本当に起こりにくいのです」。

Lina のチームが BSL-4 施設で行っている実験そのものは、技術的に新しいものでも、難しいものでもない。けれども、高度安全レベル実験施設で実験を行う際には安全確保のために煩雑な手順をふまなければならないため、ふだんならなんでもない操作がおそらく困難なものになってしまう、と Lina はいう。強化ガラス越しに室内のようすを見ると、その理由

がよくわかる。実験室の天井からは気密服に空気を送り込むための黄色いホースが約 60 本もぶら下がっている。まぶしいほど白い気密服を着用した研究者たちは、このホースをつないだりはずしたりしながら室内を移動するのだ。また、組織標本を切っている研究者の手は、刺し傷をつけたりしないように、何重も手袋に包まれている。施設長の Hervé Raoul は、「ボクシングのグローブをつけて外科手術をしているようなものです」と説明する。

研究者は、この実験室で作業を開始する前に、3 週間の講習を受けなければならない。さらに 200 時間の実習を終えてから、ようやく実験室内で自由に作業することが許される。それでも、1 人で室内にいることは絶対に許されない。また不注意によるミスを防ぐため、利用者は 1 日当たり最長で 4 時間しか作業をすることができない。そして、同僚の行動に不信感もったり、自分自身が精神的にも肉体的にもよくない状態にあったりする場合、不注意による事故を招きやすいため、仲間どうし率直に打ち明けるよう奨励されている。

Lina の実験が許可されるためには、公衆衛生の観点からみてそれが正当であること、科学的に一流であること、安全に実験できることをこの施設の外部科学評議員会に納得させる必要があると Raoul はいう。さらに、政府の規制当局の承認も得る必要がある。順調にいけば、数週間で許可が出るだろうと Lina はいう。

「大物のインフルエンザ研究者と比べれば、私は取るに足らない研究者です」と Lina はいう。「けれども私には、実験動物舎を備えた世界でも珍しい BSL-4 施設の近くにいるという大きな強みがあります」。(三枝小夜子 訳)

1. Childs, R. A. et al. *Nature Biotechnol.* **27**, 797-799 (2009).
2. Lamb, F. H. & Brannin, E. B. *J. Am. Med. Assoc.* **72**, 1056-1062 (1919).
3. Lowen, A. C., Mubareka, S., Tumpey, T. M., Garcia-Sastre, A. & Palese, P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 9988-9992 (2006).
4. Steel, J. et al. *J. Virol.* doi:10.1128/JVI.01732-09 (2009).
5. Maines, T. R. et al. *Science* **325**, 484-87 (2009).