

迅速かつ省力的な高病原性鳥インフルエンザ遺伝子検査法の開発

宮澤 光太郎

1 はじめに

新型コロナウイルス感染症が世界中で流行した結果、診断法として用いられる遺伝子検査や抗原検査といった用語が、広く一般に知られるようになった。また、冬季に流行する季節性インフルエンザの原因である A 型インフルエンザウイルスも多くの人々に馴染みのある言葉ではないだろうか。図 1 に示すように、ウイルス学的にはインフルエンザウイルスは A～D 型の 4 種類に分類される。

この中でも A 型インフルエンザウイルスの宿主域は特に広く、ヒトを含む多くの哺乳類と鳥類に感染する。B 及び C 型インフルエンザウイルスは主にヒトに感染し、D 型インフルエンザウイルスは 2010 年代にウシやブタから分離された比較的新しいウイルスである。A 型インフルエンザウイルスの自然宿主は水禽類（ガンやカ

モといった水鳥）と考えられており、鳥類が感染するインフルエンザウイルスは A 型インフルエンザウイルスのみである¹⁾。すなわち、本稿のテーマである鳥インフルエンザ（avian influenza, AI）は A 型インフルエンザウイルスが引き起こす鳥類の感染症である。

図 2A に示すように、A 型インフルエンザウイルスは 8 分節の 1 本鎖マイナス鎖 RNA をゲノムとし、ウイルス表面には標的細胞への侵入と複製したウイルスの細胞からの出芽に重要なヘマグルチニン（HA）とノイラミニダーゼ（NA）の 2 種類のタンパク質を持つ。この HA と NA の抗原性の違いによって、HA は 18 亜型（H1～H18）、NA は 11 亜型（N1～N11）が知られている。コウモリから分離された H17N10 亜型及び H18N11 亜型ウイルスを除いたすべての HA（1～16）と NA（1～9）亜型の組み合わせウイルスが水禽類から分離されている²⁾。一般に A 型インフルエンザウイルスは、HA と NA の組み合わせを用いて H1N1 や H5N1 のように表現される。特筆すべき点として、インフルエンザウイルスは分節 RNA ゲノムを有しているため、異なる 2 種類のウイルスが同一細胞に同時感染した場合、遺伝子再集合（re-assortment）が生じる可能性がある。この過程によ

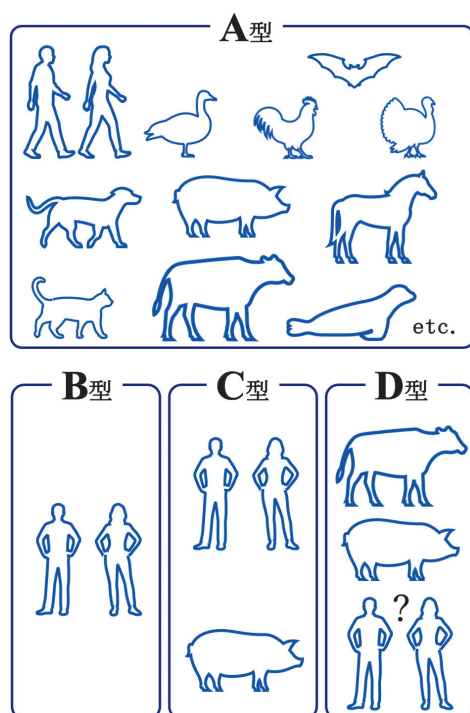


図1 各種インフルエンザウイルスの宿主範囲

インフルエンザウイルスは、A～Dの四つの型に分類される。A型インフルエンザウイルスの宿主範囲は広く、近年ではウシでの感染も確認されている。D型インフルエンザウイルスは、2010年代に発見された比較的新しいウイルスである。

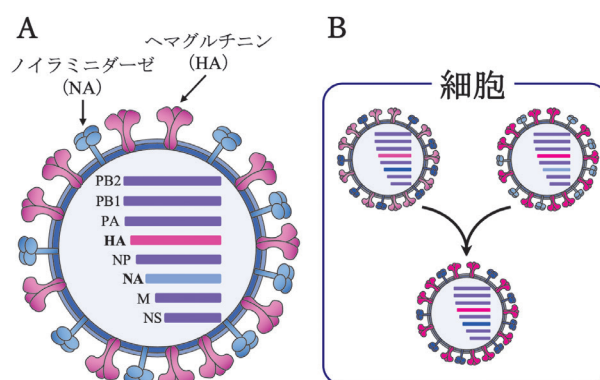


図2 A型インフルエンザウイルスの構造と遺伝子再集合

A型インフルエンザウイルスは、8本の分節RNAゲノムを有し、ウイルス表面には細胞への侵入と細胞からの出芽に必要なヘマグルチニン（HA）とノイラミニダーゼ（NA）を発現する（A）。一つの細胞に異なる分節RNAゲノムの組み合わせを持つ2種類のウイルスが同時に感染すると、新たな分節RNAの組み合わせを持つ遺伝子再集合ウイルスが産生される（B）。図2Bは、赤いHAと青いNAを持つ新たなウイルスの出現を示している。

り、従来に存在しなかった新たな分節ゲノムの組み合わせを持つウイルスが出現することがある（図 2B）³⁾。

先に述べたように、野生水禽類は A 型インフルエンザウイルス（以下、鳥インフルエンザウイルスという）の自然宿主であり、ほとんどの場合は臨床症状を呈さない不顕性感染が成立し、ウイルスと共生関係を保っている（図 3A）。野生水禽に由来する鳥インフルエンザウイルスは、ガン・カモ類を家畜化した水生家禽（アヒルやガチョウ）に伝播し、やがて陸生家禽（鶏や七面鳥など）にも感染を拡大したと考えられている。これらの病原性の低い鳥インフルエンザ（low pathogenicity avian influenza, LPAI）ウイルスが陸生家禽群内で感染を繰り返す間に適応変異を起こし、鶏や七面鳥に致死性の疾患を起こすようになったものが高病原性鳥インフルエンザ（high pathogenicity avian influenza, HPAI）ウイルスである⁴⁾。これまでのところ、HPAI ウイルスの HA 亜型は H5 と H7 に限られており、他の HA 亜型ウイルスでは知られていない。鳥インフルエンザウイルスの標的細胞への感染には HA タンパク質の開裂（酵素による切断）が重要な役割を果たす。LPAI ウイルスの HA タンパク質の開裂部位には塩基性アミノ酸が一つしか含まれ

ないため、トリプシン様酵素のみが切断可能である。そして、これらの酵素が鶏の呼吸器や消化管の上皮細胞にしか存在しないため、ウイルスの感染と増殖はその部位に限定される（図 3B）。一方、HPAI ウイルスの HA タンパク質の開裂部位には変異に伴って複数の塩基性アミノ酸が蓄積しており、フリン（Furin）など宿主細胞に広く発現するタンパク質分解酵素によって切断可能である⁵⁾。このため、HPAI ウイルスは全身の様々な臓器で増殖し、重篤な全身感染を引き起こす（図 3C）。現在世界的な流行を引き起こしている H5 亜型 HPAI ウイルスは、1996 年に中国広東省で分離されたウイルス（A/goose/Guangdong/1/96 H5N1）に由来し、その HA 遺伝子を受け継いでいることから Gs/Gd 系統と呼ばれている。1997 年に香港で初のヒト死亡事例が報告されて以降、2025 年の米国におけるウシからヒトへの感染事例に至るまで散発的にヒトへのスピルオーバーが確認されており、人獣共通感染症としても認識されている⁶⁾。

HPAI ウイルスは日本での越冬を目的とする渡り鳥によって毎年秋頃に持ち込まれており、家禽農場における HPAI の発生は秋から翌年の春先までに集中する。気温の上昇に伴い渡り鳥がシベリアや極東ロシア、アラスカといった高緯度地域に分布する繁殖地に戻り始めると家禽農場における HPAI の発生も収束に向かう。HPAI が季節性に発生することは、夏季（6～8 月）には一度も家禽農場での HPAI の発生が報告されていないことや、同時期に国内の死亡野鳥からも HPAI ウイルスが検出されたことが無い事実から支持される⁷⁾。我が国においては、2022/23 シーズン（秋から翌年春にかけての鳥インフルエンザ流行期をシーズンという）に過去最大の発生数（26 道県 84 事例）を記録し、約 1771 万羽の家禽が感染拡大を防ぐために淘汰された。結果として、飼養羽数の大幅な減少による鶏卵不足と価格の高騰を招くこととなった。2024/25 シーズンも愛知県や千葉県の実鶏密集地域における連続発生によって被害が拡大し、約 932 万羽が殺処分されている。現在、我が国では感染予防を目的とした家禽への HPAI ワクチン接種は禁止されているため、発生予防対策の基本はバイオセキュリティと飼養衛生管理の強化ならびに感染家禽の早期発見による摘発・淘汰である。このため、迅速な鳥インフルエンザウイルスの検出と HA 亜型の同定は、HPAI の制御において極めて重要である。

2 鳥インフルエンザの監視及び検査体制

我が国が定める家畜伝染病予防法（家伝法）では、鳥インフルエンザを①高病原性鳥インフルエンザ（HPAI）、②低病原性インフルエンザ（LPAI、H5 又は H7 亜型ウイルスが原因）、③鳥インフルエンザ（H5 又は H7 亜型以外のウイルスが原因）の三つに分類している（表 1）。このうち、① HPAI と② LPAI は家畜伝染病（法定伝染

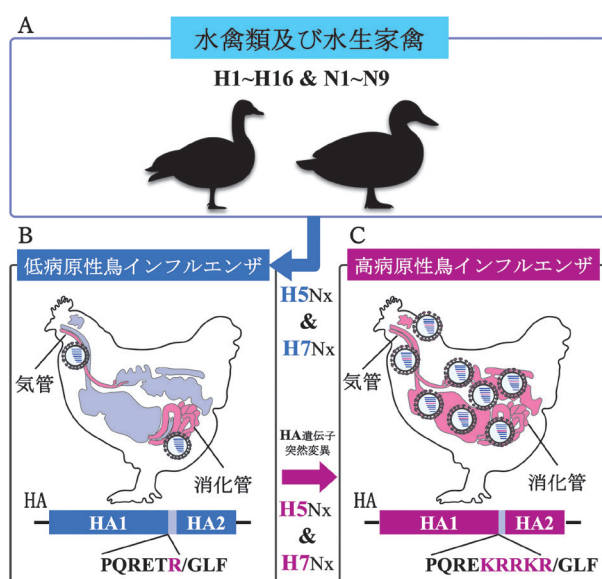


図 3 低病原性及び高病原性鳥インフルエンザ

水禽類は様々な HA（1～16）と NA（1～9）亜型の組み合わせのウイルスと共生関係にある（A）。ウイルス感染にはタンパク質分解酵素による HA の開裂（HA1 と HA2 への切断）が必須だが、水禽類に由来する H5 又は H7 亜型ウイルスの HA は気管や消化管上皮に存在するトリプシン様酵素で切断されるため、ウイルス増殖部位は限定され、病原性は低い（B）。一方、HA 遺伝子に突然変異が生じ、開裂部位に塩基性アミノ酸が蓄積した高病原性鳥インフルエンザウイルスの HA は、宿主細胞に広く存在するフリンで切断されるため、ウイルスは全身諸臓器で増幅可能となり、高い病原性を示す（C）。このため、家畜伝染病予防法では H5 及び H7 亜型ウイルスに起因する鳥インフルエンザを家畜伝染病に指定している。

表1 家伝法上の鳥インフルエンザの分類

		ウイルスのHA亜型	
		H5又はH7	左記以外
病原性	低	低病原性鳥インフルエンザ [¶]	鳥インフルエンザ [¶]
	高*	高病原性鳥インフルエンザ [¶]	

[¶]対象種：鶏、あひる、うずら、きじ、だちょう、ぼろぼろ鳥、七面鳥

*次に示すWOAHの高病原性鳥インフルエンザ診断基準のいずれかを満たした場合に高病原性と判定

1. 6週齢鶏の静脈接種試験で病原性指標が1.2以上又は4-8週齢鶏の静脈接種試験で75%以上の致死率を示す。
2. H5又はH7亜型ウイルスで、HAの開裂部位のアミノ酸配列が既知のHPAIウイルスと類似している。

病)に指定されており、これらの疾病が発生した場合は、法律に基づく殺処分や移動制限などの強制力を伴う防疫措置が執られる。一方、③鳥インフルエンザは届出伝染病に指定されており、都道府県への通報義務はあるものの、発生に際して強制力を伴う防疫措置は執られない。HPAI又はLPAIを規定するのは“鶏に対する病原性”であり、国際獣疫事務局(WOAH)が定めた診断基準(WOAH Terrestrial Manual 2021)に従って判定することとなる(表1*を参照)。

図4に我が国における鳥インフルエンザの監視検査体制を示す。5羽以上の家禽がまとまって死亡しているなどの「高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザに関する特定家畜伝染病防疫指針」(以下「特定家畜防疫指針」という)に記載された指標に基づ

く届出を都道府県が家禽の所有者や獣医師等から受けた場合は、直ちに家畜防疫員を当該農場に派遣し、簡易検査キットによる抗原検査を実施する。抗原検査では、家禽の気管又は総排泄腔拭い液(スワブともいう)からA型インフルエンザウイルスが持つ保存性の高いタンパク質(家畜防疫員が使用するキットではNPタンパク質)を抗原抗体反応によって検出する。検査結果が陽性となった場合は、A型インフルエンザウイルス(つまり鳥インフルエンザウイルス)が農場内に侵入していることは明らかであるが、家畜伝染病に指定されているHPAI又はLPAIが発生しているのかまでは結論づけることができない。そこで、採取した拭い液を家畜保健衛生所に持ち帰り、HA遺伝子の亜型を調べる遺伝子検査を実施する(図4)。抗原検査や遺伝子検査の結果等の様々な情報は各都道府県から農林水産省(農水省)に送付される。農研機構動物衛生研究部門(動衛研)は、農水省から送付された遺伝子検査の結果を精査し、当該農場で検出された鳥インフルエンザウイルスがH5又はH7亜型ウイルスであるかを判定し、その結果を農水省に報告する。H5又はH7亜型ウイルスが検出された場合には、農水省及び都道府県は、特定家畜伝染病防疫指針に基づき患畜及び疑似患畜を決定し、殺処分を含む防疫措置を実施する。一方、動衛研は家畜保健衛生所が发育鶏卵を用いて分離したウイルスの提供を受け、病原性判定試験を実施し、分離されたH5又はH7亜型鳥インフルエン

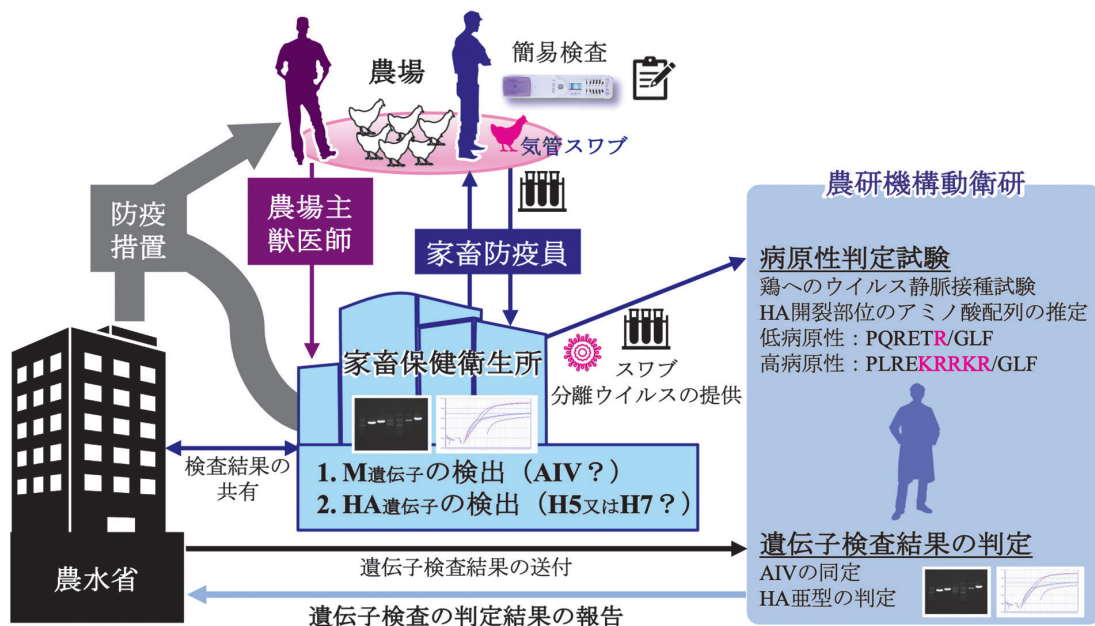


図4 我が国における鳥インフルエンザの監視検査体制

農場からの通報を受け、家畜保健衛生所の家畜防疫員が農場で簡易検査を実施する。簡易検査陽性鶏の気管スワブから核酸を抽出し、鳥インフルエンザウイルス(AIV)の検出とHA亜型の同定を目的とした遺伝子検査を家畜保健衛生所で実施する。検査結果等の情報は農林水産省(農水省)、都道府県及び農研機構動物衛生研究部門(動衛研)で共有され、動衛研は家畜保健衛生所が実施した遺伝子検査結果を精査し、HA亜型を判定して農水省に報告する。低病原性又は高病原性鳥インフルエンザと判定された場合は、殺処分等の防疫措置を実施する。

ザウイルスの病原性を決定する（図4）。例えば、2005年のH5N2ウイルスによる鶏の感染事例や2008年のH7N6ウイルスによるウズラの感染事例では分離ウイルスを鶏に静脈内接種し、WOAHの判定基準に従ってLPAIと判定している⁸⁾⁹⁾。このように都道府県、農水省及び動衛研の三者が協力して家禽での鳥インフルエンザの発生に対処している。

3 鳥インフルエンザウイルスを検出する遺伝子検査法

3.1 RT-PCRの概要

ある特定のDNA配列の断片を大量に増幅する分子生物学的な手法としてポリメラーゼ連鎖反応（polymerase chain reaction, PCR）がある。反応の鋳型となるDNA、DNA合成の起点となるプライマー、DNA合成の材料となるヌクレオチド、DNAを合成する酵素（DNAポリメラーゼ）などを1本のチューブに入れ、95℃付近（2本鎖DNAを1本鎖に熱変性）→55℃付近（プライマーの1本鎖DNAへの結合：アニーリング）→70℃付近（DNAの伸長）という3段階の温度変化を周期的に繰り返すことにより、2本のプライマー（Forward: FwとReverse: Re）に挟まれたDNA断片を指数関数的に増やすことができる（図5下段）。アニーリングとDNA伸長

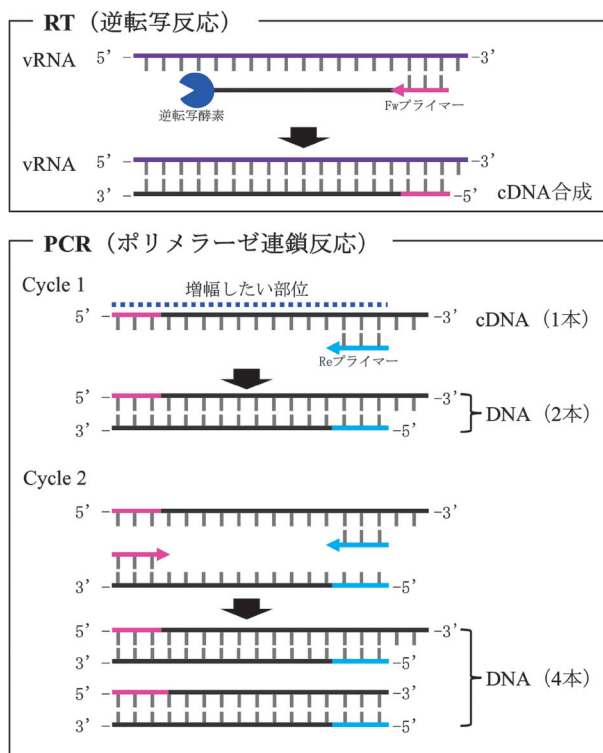


図5 RT-PCRの原理

RT-PCRは、特定のRNA配列を高感度に出る分子生物学的手法である。逆転写酵素を用いてRNAを相補的DNA（cDNA）に変換し、そのcDNAをPCRで指数関数的に増幅させる。

反応の過程を合わせて一つにした2ステップでPCRを実施することも可能である。ただし、PCRはDNAを大量に増やす手法であるため、RNAを直接増幅することはできない。前述したように、鳥インフルエンザウイルスのゲノムはRNAであるため、RNAをDNAに変換する逆転写（reverse transcription, RT）反応を使ってウイルスゲノムRNA配列に相補的なDNA配列（complementary DNA, cDNA）を得る必要がある（図5上段）。RNAからcDNAへの逆転写反応とそれに続くポリメラーゼ連鎖反応を含む一連の過程をRT-PCR（reverse transcription-polymerase chain reaction）という。

得られたPCR産物は、アガロースゲル電気泳動後にエチジウムブロマイドなどの2本鎖DNA間に挿入されて蛍光を発する物質を利用して可視化する方法（いわゆるコンベンショナルRT-PCR法）や蛍光プローブとその蛍光を検出可能なPCR装置を使ってPCR産物の増幅をリアルタイムに検出するリアルタイムRT-PCR法などが確立されている（図6）。

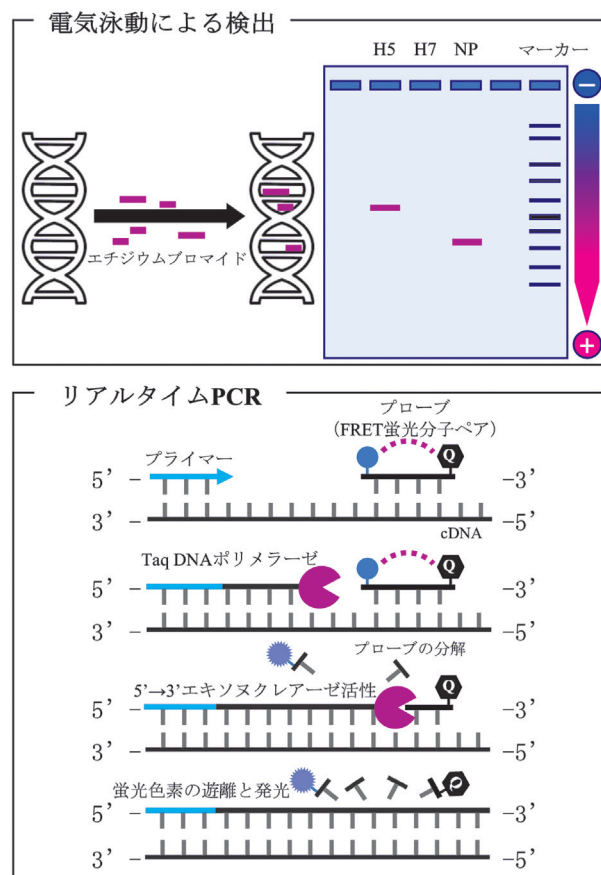


図6 PCR産物の検出方法

PCR産物は、電気泳動後にエチジウムブロマイド等のDNAと結合して蛍光を発する物質により可視化できる。または、蛍光プローブとその蛍光を検出するPCR装置を用いてリアルタイムでPCR産物の増幅を検出することもできる。リアルタイムPCRは電気泳動が不要なので、迅速な解析を実現できる。

3・2 鳥インフルエンザウイルス遺伝子検査法

鳥インフルエンザに関する遺伝子検査の目的は、①鳥インフルエンザウイルスが検出されるか？ ②検出された鳥インフルエンザウイルスがH5又はH7遺伝子を持っているか？ の2点を明らかにすることである。検査方法としては、コンベンショナル RT-PCR 法とリアルタイム RT-PCR 法の両方が使用されている。ゲル電気泳動が不要で迅速な解析が可能なリアルタイム RT-PCR 法による検査は、近年の流行ウイルス系統を含む既知のH5亜型とH7亜型ウイルスのHA遺伝子を網羅的に検出可能であるが、過去に報告された一部のH5及びH7亜型ウイルスに対する検出感度が低い。このため、リアルタイム RT-PCR 法で用いるプライマーとは異なるHA遺伝子の塩基配列を対象にプライマーを設計したコンベンショナル RT-PCR 法による検査も並行して行い、検査の網羅性を補完している。繰り返しになるが、家伝法において家禽の移動制限や殺処分といった強制措置を含む防疫作業の対象となる疾病は、H5又はH7亜型鳥インフルエンザウイルスを原因とするHPAIとLPAIであるため（表1）、遺伝子検査におけるHA亜型の決定は重要な意味を持つ。加えて、HPAIウイルスは鶏に対して高い致死性と強い伝播力^{でんぱ}を示すため、農場における

HPAIの発生をいち早く発見し、近隣農場への感染拡大と病気の蔓延を防ぐ措置を素早く執ることが必要不可欠である。このため、国や都道府県の病性鑑定施設等（動物検疫所や家畜保健衛生所）が実施する本病の判定に資する遺伝子検査は迅速性と正確性が強く求められる。

3・3 従来のリアルタイム RT-PCR 法について

従来のリアルタイム RT-PCR 法（従来法）は、「高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザに関する特定家畜伝染病防疫指針に基づく遺伝子検査の方法について」（令和元年9月27日付け元消安第2275号）に則った検査法として都道府県の家畜保健衛生所において利用されている。鳥インフルエンザウイルスの検出には、HA亜型の異なるウイルス間でも塩基配列が保存されているM遺伝子の塩基配列の一部を標的とするプライマー/プローブが使用されており、HA亜型を決定するためにはH5及びH7遺伝子の塩基配列の一部を標的とするプライマー/プローブが使われている。H5ならびにH7亜型ウイルスには北米大陸で進化してきたウイルス系統とユーラシア大陸で進化してきたウイルス系統が存在する。そのため、異なる標的配列に対する複数のプライマー/プローブを混合して使う事により2系統の

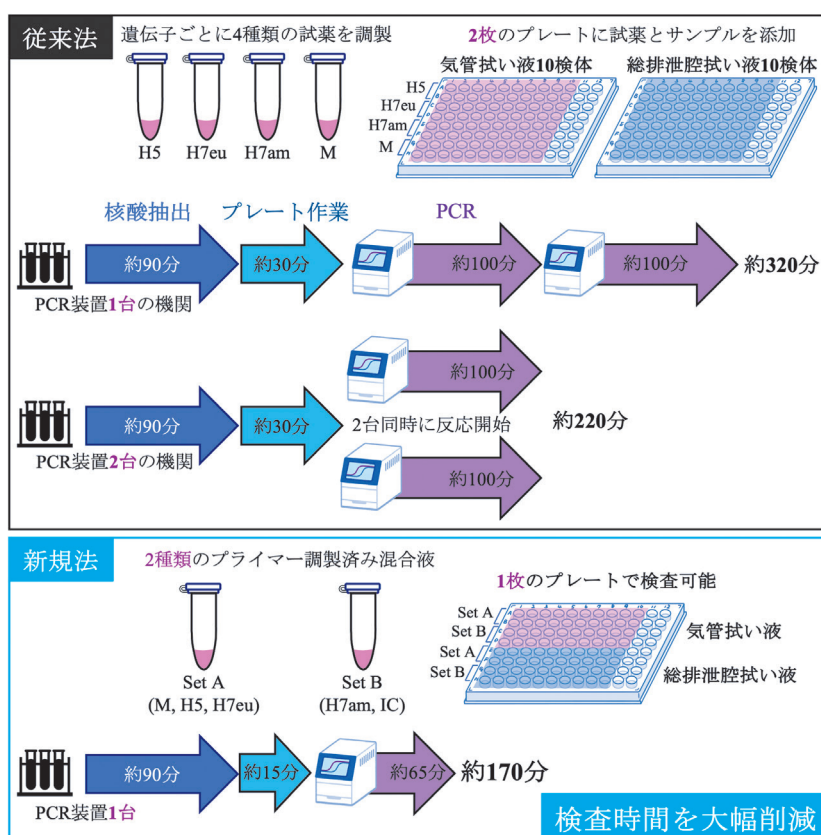


図7 従来法と新規法の違い

遺伝子検査は各検体をデuplicate（2ウェルずつ）で実施する。従来法（上段）では1回の検査（20検体分）で標的遺伝子（H5, H7eu, H7am 及び M）ごとに試薬を4種類準備するため、検査には2枚の96ウェルプレートが必要である。一方、新規法（下段）では一つの試薬で複数の標的遺伝子を検出できるため、事前調製済みの2種類の試薬と96ウェルプレート1枚を用いて20検体の検査が完了する。

H5 亜型ウイルスの検出に対応している。一方、2 系統の H7 亜型ウイルスの検出に関しては、主にユーラシア系統のウイルスを検出可能なプライマー/プローブ (H7eu) とアメリカ系統を検出可能なプライマー/プローブ (H7am) の 2 種類のプライマー/プローブを混合せずに使用している。このため、従来法は M、H5、H7eu 及び H7am の四つのプライマー/プローブを使い、それぞれを単独で検出する検査法である。図 7 に示すように、従来法では検査対象とする遺伝子ごとに 4 種類の異なるプライマー/プローブを含む試薬を検査者が調製する。鶏以外の家禽（例えばアヒルなど）を対象とした検査では、死亡家禽 8 羽と生存家禽 2 羽の合計 10 羽の気管及び総排泄腔拭い液（10 羽×2 種類の拭い液＝20 検体）を採取し、RNA を抽出する。結果の信頼性を高めるために 1 検体につきデュプリケート（2 ウェルずつ）で RT-PCR を実施するため、気管拭い液と総排泄腔拭い液を 10 検体ずつ検査するには 96 ウェルプレートが 2 枚必要となる（図 7、従来法）。つまり、検査には RT-PCR を 2 回実施する必要がある、リアルタイム PCR 装置を 1 台しか保有しない機関では検査終了までに 320 分程度かかる。一方、リアルタイム PCR 装置を 2 台保有する機関では 2 枚のプレートを一度に RT-PCR に供することができるが、それでも検査終了までには約 220 分を要する（図 7、従来法）。

令和 6 年 10 月 31 日に特定家畜伝染病防疫指針の一部が改正され、鶏の検査に関しては気管拭い液のみを対象とする方針が新たに示された。この改正により、従来法を用いても鶏の遺伝子検査は 1 枚の 96 ウェルプレート上で可能になった。それでも、正確さと迅速さを常に要求される中で多数の検体を扱う検査者の肉体的・精神的負担は大きく、検査結果の判明まで長い時間を要することが課題となっていた。

3.4 新たに確立したリアルタイム RT-PCR 法について

上記の課題を克服するため、筆者らはタカラバイオ㈱と共同で、これまでよりも簡便かつ省力的な操作で鳥インフルエンザウイルスが持つ 2 種類の遺伝子 (HA と M) を同時に検査し、鳥インフルエンザウイルスの検出と病原性にかかわる HA 亜型 (H5 又は H7) の判定が可能な新たなリアルタイム RT-PCR 法（新規法）の確立に取り組んだ。省力化を達成するために、従来法では個別に検出していた 4 種類のプライマー/プローブを組み合わせで遺伝子検出系のマルチプレックス化を図った（図 7、新規法）。鳥インフルエンザウイルスの指標となる M 遺伝子を検出するプライマー/プローブ (M)、H5 遺伝子を検出するプライマー/プローブ (H5) 及びユーラシア系統の H7 遺伝子を検出するプライマー/プローブ (H7eu) の 3 種類を組み合わせで混合した Set A [M、H5、H7eu] とアメリカ系統の H7 遺伝子を検出するプ

ライマー/プローブ (H7am) とインターナルコントロールを検出するプライマー/プローブ (IC) を組み合わせで混合した Set B [H7am、IC] の 2 種類の試薬を開発した。新規法では、PCR 阻害を受けやすい低濃度の鋳型 DNA（インターナルコントロール：IC）を反応系に添加し、そのシグナル増幅の有無を確認することにより、RNA 抽出過程において拭い液材料から持ち込まれた PCR 阻害因子を原因とする偽陰性の可能性を排除できるようになった。また、拭い液検体から抽出した RNA と 2 種類の事前調製済み試薬 (Set A 及び Set B) を用いて M、H5、H7eu、H7am の四つの遺伝子を検出できるため、1 枚の 96 ウェルプレート上で 20 検体すべてについて鳥インフルエンザウイルスの検出と H5 又は H7 亜型の判定が可能となった（図 7、新規法）。鶏を対象とした検査であれば、96 ウェルプレートの半分を使用するだけで検査が終了する。

新規法では、マルチプレックス化された事前調製済みプライマー/プローブ試薬を使うため、試薬調製などの準備作業が半減したことに加え、RT 反応や PCR における DNA 伸長反応に要する時間も短縮できたことから、リアルタイム PCR 装置を 1 台のみ所有する機関であっても約 170 分ですべての検査過程が終了し、従来法に比べて検査時間を約半分に短縮することに成功した（図 7）。Gs/Gd 系統の H5 亜型 HPAI ウイルスは、1996 年の出現以来約 30 年間に渡り世界中で流行を続けているため、HA 遺伝子に変異が蓄積し、多様性が顕著に増加している¹⁰⁾。他の HA 亜型との交差反応を回避しつつ、検出可能な H5 亜型 HPAI ウイルスの網羅性を高めるために Set A には H5 遺伝子を標的とする複数組のプライマー/プローブセットを混合している。これにより、従来法に比べて H5 亜型 HPAI ウイルスに対する網羅性が向上している。また、マルチプレックス化と事前調製済み試薬の導入により、96 ウェルプレートへの試薬及び検体の分注回数が半減した。この作業効率の向上は、ウェルへの試薬・検体の入れ忘れや、同一ウェルへの異なる検体の誤添加といったヒューマンエラーの発生率を低減し、結果として誤操作やコンタミネーションのリスク軽減にも寄与している。

4 これからの課題

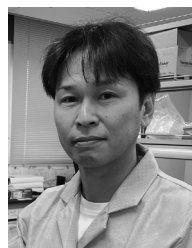
新たに確立した遺伝子検査法は、特定家畜伝染病防疫指針を踏まえて定められる「高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザに関する特定家畜伝染病防疫指針に基づく遺伝子検査の方法について」（令和 6 年 9 月 30 日付け 6 消安第 3679 号）に則った遺伝子検査法の一つとして国や都道府県の病性鑑定施設等において利用が開始されている。検査現場における使用実績においても、従来法と比較して検査終了までの所要時間が短縮されており、検査担当者の作業負担軽減に寄与して

いると考えられる。しかしながら、新規法においても他の HA 亜型遺伝子との交差反応を回避し、遺伝子データベースに登録されているすべての H5 亜型ウイルスの HA 遺伝子を検出可能なプライマー/プローブは設計できておらず、検査の信頼性を担保するには、リアルタイム RT-PCR 法とコンベンショナル RT-PCR 法の併用が欠かせない。99 % 以上の登録配列を少ない数のプライマー/プローブで網羅することは極めて難しいと考えられるが、検査者の負担軽減に向けて遺伝子検査法をリアルタイム RT-PCR 法に一本化するためには、この課題を克服する必要がある。また、検査の利便性を考慮した場合は、ユーラシア系統とアメリカ系統の H7 亜型ウイルスを網羅的に検出可能なプライマー/プローブの組み合わせを設計し、[H5, M, IC] と [H7, M, IC] のような HA 亜型ごとの試薬セットを開発する必要があるかもしれない。一方で、鳥インフルエンザウイルスの遺伝子検査全体の工程を俯瞰すると、気管拭い液及び総排泄腔拭い液からのウイルス核酸抽出に最も長い作業時間を割いている（図 7、新規法）。鳥インフルエンザウイルス遺伝子検査の最前線である各都道府県の家畜保健衛生所の中には、シリカメンブレン法（いわゆるカラム精製）や磁性ビーズ法を用いた自動核酸抽出装置を導入している施設もあるが、決して安価な装置ではなく、定期的な保守管理費用が発生する機種もある。今後は核酸抽出過程に焦点を当て、更なる省力化と迅速化を可能にする簡易核酸抽出法を開発し、検査者の負担軽減に貢献したい。

謝辞 本遺伝子検査法の開発は、農林水産省の「安全な農畜産物安定供給のための包括的なレギュラトリーサイエンス研究推進委託事業（新たな感染症の出現に対してレジリエントな畜産業を実現するための家畜感染症対策技術の開発）」(JPJ008617.23812859) により実施した。

文 献

- 1) M. J. Pantin-Jackwood, D. E. Swayne : *Rev Sci Tech*, **28**, 113 (2009).
- 2) R. Chmielewski, D. E. Swayne : *Annu Rev Food Sci Technol*, **2**, 37 (2011).
- 3) J. Steel, A. C. Lowen : *Curr Top Microbiol Immunol*, **385**, 377 (2014).
- 4) S. M. Abdelwhab el, J. Veits, T. C. Mettenleiter : *Virulence*, **4**, 441 (2013).
- 5) W. Garten, F. X. Bosch, D. Linder, R. Rott, H. D. Klenk : *Virology*, **115**, 361 (1981).
- 6) X. F. Wan : *Zoonoses Public Health*, **59** (supplement 2), 32 (2012).
- 7) 日尾野隆大, 磯田典和, 迫田義博 : ウイルス, **74**, 107 (2024).
- 8) M. Okamatsu, T. Saito, Y. Yamamoto, M. Mase, S. Tsuduku, K. Nakamura, K. Tsukamoto, S. Yamaguchi : *Vet Microbiol*, **124**, 35 (2007).
- 9) K. Sugiura, K. Fushimi, T. Takehisa, M. Miwa, T. Saito, Y. Uchida, T. Onodera : *Vet. Ital*, **45**, 481 (2009).
- 10) B. Bellido-Martin, W. F. Rijnink, M. Iervolino, T. Kuiken, M. Richard, R. A. M. Fouchier : *Nat. Rev. Microbiol*, (2025). DOI: 10.1038/s41579-025-01189-4.



宮澤 光太郎 (MIYAZAWA Kohtaroh)
 (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 (〒305-0856 つくば市観音台 3-1-5). 東北大学大学院農学研究科. 博士 (農学). 《現在の研究テーマ》ブリオン病とウイルス性人獣共通感染症の診断法開発と病原性解析. 《趣味》(最近は行っていないが) ハゼ釣り.
 E-mail : miyazawa.kohtaroh090@naro.go.jp