

12 県内で分離された鶏伝染性気管支炎ウイルスのS1 遺伝子全長の解析と抗原性及び病原性に関する考察

中央家畜保健衛生所

秦 祐介・前田 将誌・井上 大輔

鶏伝染性気管支炎ウイルス (IBV) はコロナウイルス科ガンマコロナウイルス属の 1 本鎖 RNA ウイルスで、S1 蛋白質はウイルス吸着や中和抗体産生と関連しており、S1 蛋白質の解析が IBV の性状を理解するのに重要である。S1 遺伝子全長の塩基配列に基づいて、世界中で分離された IBV は 32 系列 (G -1~G -27、G ~G) に分類されることが報告されている¹⁾。一方、国内では S1 の部分配列に基づいて JP- ~JP- 、Mass、4/91、Gray 型の 7 つの遺伝子型に分類され、S1 遺伝子全長配列の遺伝子型ではそれぞれ G -18、G -7、G -19、G 、G -1、G -13、G -3 に対応している²⁾。S1 アミノ酸配列は IBV の腎臓や気管との結合に重要とされている^{3,4)}。また、S1 アミノ酸配列のグリコシル化は抗原性、感染性、受容体結合などに影響を与えられている。しかし、国内株の S1 アミノ酸配列についての報告事例は少なく、国内株の S1 アミノ酸配列に関する情報は限られている²⁾。そこで、今回、県内で分離された IBV の S1 遺伝子全長解析とアミノ酸解析を行い、抗原性や病原性について既報を基に考察した。

1 材料と方法

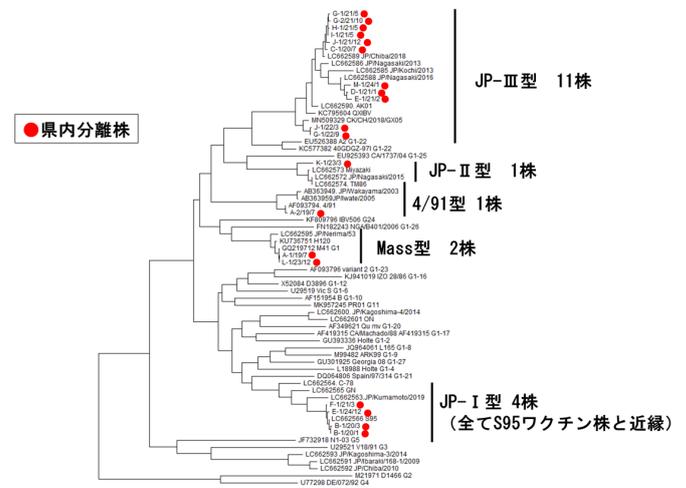
2019 年~2024 年に 13 養鶏場の病性鑑定 18 事例の臓器等から、発育鶏卵を用いて分離された IBV19 株について、S1 領域をターゲットにしたプライマー^{2,5)}を用いて RT-PCR を実施後、その PCR 産物を精製してダイレクトシークエンス解析を行い、ジーンバンクに登録されている各遺伝子型 IBV を参照株として、系統樹解析を行うとともに、アミノ酸多重解析によって、病変形成との関連が指摘されているアミノ酸配列の特

徴や潜在性 N 結合型グリコシル化部位 (グリコシル化部位) 数と、気管や腎臓における病変形成との関連を分析した。

2 結果

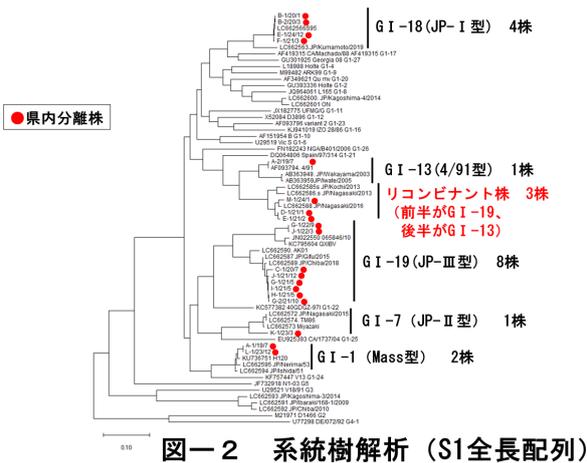
(1) S1 の部分配列または全長の系統樹解析による遺伝子型の分類

S1 部分配列に基づく系統樹解析では、4 株が JP- 型 (全て S95 ワクチン株と近縁)、1 株が JP- 型、11 株が JP- 型、2 株が Mass 型、1 株が 4/91 型に分類された (図 1)。



図—1 系統樹解析 (S1部分配列)

また、S1 遺伝子全長に基づく系統樹解析では、16 株が部分配列に対応した遺伝子型 (G -1、7、13、18、19) に分類されたが、3 株で G -19 (JP- 型) の塩基配列の途中から、G -13 (4/91 型) に組変わっている変異株 (リコンビナント株) が確認された (図 2)。



図一 2 系統樹解析 (S1全長配列)

(2) S1のアミノ酸多重解析

JP- 型の4株は全てS95ワクチン株と近縁であり、このうち、1株(B-1/20/1)は123番目のアミノ酸がロイシンで(123L)で、3株(B-1/20/3、F-1/21/3、E-1/24/12)はプロリン(123P)であった。このうち、B-1/20/3はB-1/20/1と同一農場由来で、どちらの事例でもIBワクチンは未接種であり、123LのB-1/20/1が分離された2か月後に分離された。123LのB-1/20/1が分離された鶏はIBを発症していなかったが、123PのB-1/20/3が分離された鶏は腎炎型IBを発症していた。さらに、123PのF-1/21/3とE-1/24/12が分離された別の2農場においても、同様に腎炎型IBを発症した。なお、S95ワクチン株及びこれら4株におけるS1遺伝子の推定アミノ酸配列の比較では、123番目以外にも82番目、370番目にワクチン株との違いが見られた(表1)。

表一 1 S95ワクチン株およびJP-1の4株とのS1遺伝子の推定アミノ酸配列の比較

株名	遺伝子型		S1糖蛋白質のアミノ酸番号の比較		
	1部	全長	82	123	370
S95 ワクチン株	JP-1	GI-18	T	L	L
B-2/20/1	JP-1	GI-18	*	*	F
B-2/20/3	JP-1	GI-18	*	P	F
F-1/21/3	JP-1	GI-18	A	P	F
E-1/24/12	JP-1	GI-18	V	P	F

*はS95ワクチン株と一致したアミノ酸を示す

の配列のアミノ酸を持つかどうか、呼吸器病変を起こした8株のアミノ酸を確認したが、M41と同じアミノ酸を持つ株は確認されなかった。同様に、腎臓病変を起こすQXと同様に、腎臓病変を起こすアミノ酸に重要とされるこれらの配列のアミノ酸を持つかどうか、腎臓病変を起こした7株のアミノ酸を確認したが、QXと同じアミノ酸を持つ株は確認されなかった(表2)。

表一 2 呼吸器病変または腎臓病変に重要とされるアミノ酸

株名	S1のアミノ酸番号						遺伝子型 (S1部分配列)	遺伝子型 (S1全長)	
	38	43	63	69	110	111			112
M41	N	H	P	T	K	I	P	Mass	GI-1
QX								JP-III	GI-19
C-1/20/7	N	Q	S	V				JP-III	GI-19
G-1/21/5	*	Q	S	V				JP-III	GI-19
J-1/22/3	*	Q	S	V				JP-III	GI-19
M-1/24/1	*	Q	N	V				JP-III	Recombinant
A-1/19/7	D	*	S	I				Mass	GI-1
A-2/19/7	Q	Y	S	*				4/91	GI-13
G-2/21/10	*	Q	S	V	R	*	*	JP-III	GI-19
J-1/21/12	*	Q	S	V	M	*	*	JP-III	GI-19
E-1/21/2					L	*	*	JP-III	Recombinant
H-1/21/5					R	*	*	JP-III	GI-19
B-2/20/3					F	*	E	JP-I	GI-18
F-1/21/3					F	*	E	JP-I	GI-18
E-1/24/12					F	*	E	JP-I	GI-18

*はM41またはQXと同一のアミノ酸を示す

■は気管病変、腎臓病変どちらも起こした株を示す

次にS1のグリコシル化部位の総数の少ない順番に株を並び替え、グリコシル化部位の総数とIBVが関与した腎炎の間に関連がないか確認したところ、グリコシル化部位の総数の多寡と腎炎に関連性は認められなかった(表3)。

表一 3 S1のグリコシル化部位数と腎炎の関連性

株名	S1のグリコシル化部位の総数	IBVが関与した腎炎	遺伝子型 (S1部分配列)	遺伝子型 (S1全長)
A-1/19/7	17	少	Mass	GI-1
L-1/23/12	17		Mass	GI-1
F-1/21/3	17		JP-I	GI-18
B-1/20/1	18		JP-I	GI-18
B-1/20/3	18		JP-I	GI-18
E-1/24/12	18		JP-I	GI-18
A-2/19/7	19		4/91	GI-13
C-1/20/7	19		JP-III	GI-19
G-1/21/5	19		JP-III	GI-19
H-1/21/5	19		JP-III	GI-19
I-1/21/5	19	JP-III	GI-19	
G-2/21/10	19	○	JP-III	GI-19
J-1/21/12	19	○	JP-III	GI-19
K-1/23/3	20	○	JP-II	GI-7
J-1/22/3	21	多	JP-III	GI-19
G-1/22/9	21		(QX-like)	GI-19
D-1/21/1	21		JP-III	Recombinant
M-1/24/1	21		JP-III	Recombinant
E-1/21/2	21		JP-III	Recombinant

3 まとめ

S1部分配列と全長配列に基づく遺伝子型分類の結果、16株は、それぞれの遺伝子型に一致していたが、3株には、G-19とG-13のリコン

次に呼吸器病変を起こすM41と同様に、呼吸器病変を起こすアミノ酸に重要とされるこれら

ピナント株が確認された。ワクチンを選択する際に、S1 部分配列の遺伝子型を基にした血清型の推定は広く実施されているが、リコンビナント株はS1 部分配列の遺伝子型と血清型が一致しない可能性がある。また、新たな変異株の出現や国外から新たな遺伝子型が侵入するおそれもあり、定期的に S1 遺伝子全長の解析を行い、IBV の浸潤状況を把握することが重要と考えられた。

S95 ワクチン株に近縁な 4 株の 123 番目のアミノ酸においては、ワクチン株の特徴と同じ 123L を持つ株が 1 株、S95 ワクチン株と近縁な病原性野外株と同じ 123P を持つ株が 3 株確認された。B 農場で、123L が分離された 2 か月後に 123P が分離されたことから、123 番目のアミノ酸が鶏間での継代に伴い変異する可能性や新たに病原性野外株が侵入した可能性が考えられた。また 123P が分離された鶏は 3 例とも腎炎型 IB を発症したことから、この変異が腎臓病変形成に関与する可能性が考えられた。

今回分析した呼吸器病変または腎臓病変に重要とされるアミノ酸については、特徴的なアミノ酸を持つ株は確認されなかった。また、グリコシル化と腎炎との関連ではグリコシル化部位数の多寡と腎炎の関連は確認されなかった。

今回分析した項目と病変形成に関連性は認められなかったが、別の部位にも病変形成に関連する配列等が存在する可能性が疑われ、今後知見の蓄積が重要と考えられた。

4 参考文献

- 1) Valastro, V. *et al.*: S1 gene-based phylogeny of infectious bronchitis virus: An attempt to harmonize virus classification. *Infect. Genet. Evol.* 39, 349-364 (2016)
- 2) Mase, M. *et al.*: Genetic analysis of the complete S1 gene in Japanese infectious bronchitis virus strains. *Viruses* 14, 716 (2022)
- 3) Bouwman, K.M. *et al.*: Three Amino Acid Changes in Avian Coronavirus Spike Protein

Allow Binding to Kidney Tissue. *J. Virol.* 94, e01363-19 (2022)

4) Sun, X. *et al.*: Infectious bronchitis virus: Identification of *Gallus gallus* APN high-affinity ligands with antiviral effects. *Antivir. Res.* 2021, 186.

5) Park, D.H. *et al.*: Determining pathogenicity of infectious bronchitis virus isolated in Korea 2018. *Korean J. Poultry Sci.* 46, 263-269 (2019)