

# インフルエンザウイルスのシアロ糖鎖生物学 —鳥インフルエンザウイルスのヒト適応性変異の分子基盤—

鈴木 康夫

A型インフルエンザは、地球規模で広がっている人獣共通感染症の一つである。1997年にホンコンで、H5N1亜型のA型鳥インフルエンザウイルスがニワトリからヒトへ伝播して以来、様々な亜型（H6N1, H7N7, H7N9, H9N2, H10N8）の鳥インフルエンザウイルスがヒトへ伝播している。しかし、これまでのところ、これが不特定多数のヒト-ヒト感染を起こしている証拠は見つかっていない。A型インフルエンザウイルスは野生水鳥を自然宿主としており、ウイルスの変異により、中間宿主を経てヒトへ伝播し、しばしば世界流行（パンデミック）を起こしてきた。インフルエンザウイルスの宿主域を決定するウイルス側の重要なスパイクとして、ヘマグルチニンが挙げられるが、これは、宿主細胞の受容体シアロ糖鎖への結合および細胞内侵入を担っている糖タンパク質である。近年、ウイルスの宿主域変異さらにヒトへの適応性変異獲得の分子機構が、ウイルスヘマグルチニンおよび宿主細胞受容体シアロ糖鎖との関連で、分子・細胞・個体レベルで明らかにされつつある。本稿では、鳥インフルエンザウイルスのヒトを含めた哺乳動物への適応性変異の新しい分子基盤について著者らの知見を含め概説する。

## 1. はじめに

シアル酸は、動物の進化上、約6億年前に別れた二つの系統、新口動物および旧口動物のうち、新口動物〔棘皮動物門（ウニ、ヒトデ）、半索動物門（ギボシムシ）、原索動物門の尾索類（ホヤ）、頭索類（ナメクジウオ）、脊椎動物門〕や、少数の病原性細菌、ウイルス（たとえばHIV）にも存在する酸性糖の一種である。基本的には、2種のシアル酸、*N*-アセチルノイラミン酸（Neu5Ac）および2-ケト-3-デオキシ-D-グリセロ-D-ガラクトノノン酸（KDN）に由来する構造を持つファミリーを形成する。このファミリーを構成するシアル酸の分子種は、現在50種類を超えている<sup>1-3)</sup>。すべてのA, B, C型インフルエンザウイルスは、Neu5Acおよびその誘導体を含むシアロ糖鎖と結合するが、KDNを含む糖鎖と結合するインフルエンザウイル

スについては今のところ報告がない。自然界における宿主細胞側のシアル酸を含む糖鎖（シアロ糖鎖）は、糖タンパク質（*N*-グリカン、*O*-グリカン）、スフィンゴ糖脂質（ガングリオシド）、およびある種のGPIアンカーに存在し、生物学的にきわめて多様性に富むと同時に、個体の種、組織、さらに個々の細胞により異なっており、その発現には高い特異性、限局性がみられる。この特性は、インフルエンザウイルスの宿主域、組織トロピズムを考える上できわめて重要な因子である。インフルエンザウイルスは、進化の過程で、感染の場を拡大する上で、宿主側のシアロ糖鎖の多様性を利用してきた可能性が考えられ、一方で、ウイルスが持つ高い標的宿主細胞受容体認識特異性は、宿主細胞シアロ糖鎖発現の高い特異性を反映しているのではないかと考えられる。インフルエンザウイルス膜には2種のスパイク糖タンパク質（ヘマグルチニンおよびノイラミニダーゼ）が存在し、これらは、ウイルスの感染成立、宿主細胞における増殖、宿主細胞からの出芽に重要な働きをしている。ヘマグルチニンスパイクは宿主細胞膜の受容体（シアル酸含有糖タンパク質および糖脂質）に結合する上で必須である。一方、ノイラミニダーゼスパイクは受容体破壊酵素（シアリダーゼ活性を持つ）であり、ウイルス自身が持つスパイク糖タンパク質からシアル酸を除去し、ウイルスどうしの結合による凝集を回避し、宿主細胞でのウ

中部大学生命健康科学部（〒487-8501 愛知県春日井市松本町1200）

**Sialoglycobiology of influenza—Molecular bases of the human adaptation of avian influenza viruses—**

Yasuo Suzuki (College of Life and Health Sciences, Chubu University, 1200 Matsumoto-cho, Kasugai-shi, Aichi 487-8501, Japan)

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU2015.870348

© 2015 公益社団法人日本生化学会

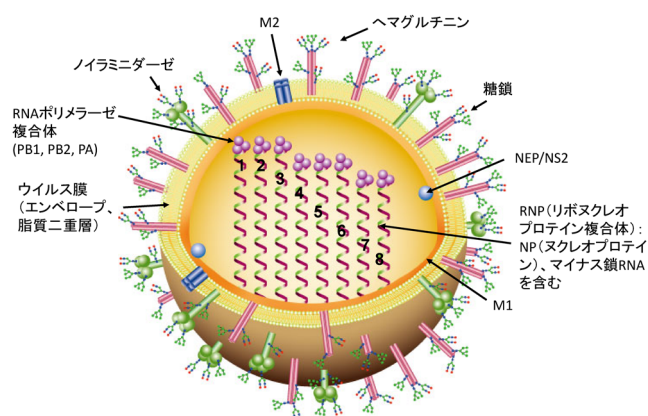


図1 A型インフルエンザウイルスの模式図

宿主由来のウイルス膜（脂質二重膜）には二つの糖タンパク質スパイク、ヘマグルチニン（HA）、ノイラミニダーゼ（NA）およびM2プロトンチャネルが存在する。HAは三量体、NAおよびM2は四量体である。マトリックス（M1）タンパク質は、脂質エンベロープの内側に存在する。nuclear export protein（NEP/NS2）もウイルス粒子に結合している。八つの一本鎖ウイルスRNAセグメント（1～8、マイナス鎖）は、それぞれ、ヌクレオプロテイン（NP）で覆われており、三つのポリメラーゼ複合体〔PA（polymerase acid）、PB1（polymerase basic 1）、PB2（polymerase basic 2）〕とも結合して、RNP（ribonucleoprotein）複合体となっている。RNA遺伝子1～8は、各々、1：PB2、2：PB1、3：PA、4：HA、5：NP、6：NA、7：M1 + M2、8：NEP/NS2タンパク質の他に、ウイルスには取り込まれず宿主細胞へ出ていく数種類のタンパク質をコードしている。HAおよびNAは糖タンパク質であり、宿主細胞の糖鎖合成系を利用してタンパク質に付加される。いずれの糖鎖にもシアル酸は含まれない<sup>125)</sup>。HA、NA糖鎖におけるシアル酸の存在は、HAによるウイルスの自己凝集をもたらす、ウイルスの産生ができないためとされている。グリコフォーラム（<http://www.glycoforum.gr.jp>）より一部改変。

ウイルス増殖、宿主細胞からのウイルス粒子の出芽に必須の役割を持つ（図1）<sup>4-11)</sup>。

1997年、高病原性鳥インフルエンザウイルス（H5N1）が、ホンコンで発生した。このウイルスは、ニワトリに対して致死性であり、ヒトに対しても高い致死率（約60%）で伝播し続けている。その後、さまざまな鳥インフルエンザウイルスのヒトへの伝播が明らかとなっている。インフルエンザウイルスはどのような仕組みでヒト世界へ入り、さらにヒト間伝播能力を獲得するのか？ この機構にはウイルスの宿主受容体（シアル酸含有糖鎖）結合特異性に関わる変異が深く関連する。近年、この仕組みが分子レベル、個体レベルで明らかにされつつある。すなわち、フェレットなどの哺乳動物を用いる飛沫感染実験により、鳥から哺乳動物への伝播性を担う分子機構が明らかにされつつある。本稿では、鳥インフルエンザウイルスのヒト適応性変異の新しい分子基盤につき、著者らの知見を含め概説する。

## 2. インフルエンザウイルスの宿主域

インフルエンザウイルスには、ウイルス粒子内の核タ

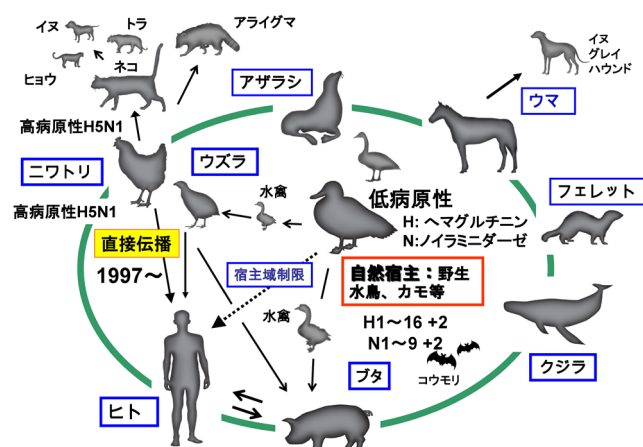


図2 A型インフルエンザウイルスの宿主域

A型インフルエンザウイルス（H1～16、N1～9亜型）の自然宿主はカモなどの野生水鳥である。近年、コウモリから新しい亜型（H17N10、H18N11）のインフルエンザウイルスが分離された。H1～16、N1～9ウイルスは、野生水鳥に在る間は低病原性であるが、ニワトリ、ウズラなどの陸生の家禽へ伝播し、その中で増殖を繰り返す過程で高病原性となる場合がある。すでに、H5N1、H6N1、H7N9、H9N2、H10N8亜型ウイルスがヒトへ伝播したが、ヒト間での効率的伝播は起こっていない。文献7およびグリコフォーラム（<http://www.glycoforum.gr.jp>）より一部改変。

ンパク質（nucleoprotein）およびウイルスエンベロープ（脂質二重膜）の内側に存在する膜タンパク質（membrane protein）の抗原性により、A、B、C型が存在する。すべてのA型インフルエンザウイルスは水鳥の世界に貯蔵されており、自然界ではさまざまな中間宿主を介してヒトへ侵入し、時に世界流行（パンデミック）を引き起こす。B、C型は、主としてヒトの間で流行するが、地域流行にとどまり世界流行に至った例はこれまでない。A型ウイルスは、さまざまな動物から分離される（図2）。よってA型インフルエンザは、世界で最も広く分布している人獣共通感染症の一つである。A型インフルエンザウイルスには、ウイルス膜に埋め込まれた二つのスパイク、ヘマグルチニン（hemagglutinin：HA）およびノイラミニダーゼ（neuraminidase：NA）\*の抗原性の違いにより分類される亜型が存在する。亜型はHAおよびNAに由来するH、Nで表記され、これまでにH1～16、N1～9、これらの組み合わせで144種類の亜型の存在が知られている。これらの亜型はカモなどの野生水鳥（主に腸管）に共生貯蔵されており、糞とともに水中へ排出され、これを飲み込んだ別の水鳥に伝播していく。この状態では、ウイルスは低病原性であ

\*ノイラミニダーゼ（EC 3.2.1.18）は、生化学的には、シアリダーゼと呼ぶのが一般的であるが、ウイルス学分野では歴史的に、インフルエンザウイルスが持つシアリダーゼ活性を持つスパイクをノイラミニダーゼ（neuraminidase、NAと略）と呼ぶのが慣例である。よって、本稿でもこれに従い、スパイク名をノイラミニダーゼ、それが持つ酵素活性をシアリダーゼ活性と呼ぶ。

り、宿主を殺すことはないとされている。多くの野生水鳥は渡り鳥であり、これによりウイルスは地球レベルで拡散していく。これが、偶発的に、陸生の家禽などに伝播し、数世代感染を繰り返すと、高い病原性を獲得する場合がある。これまでに高病原性を獲得した亜型はH5, H7のみであるが、これらは以前、家禽ペストウイルス (fowl plague virus) とも呼ばれていた。鳥インフルエンザは、これまで日本を含め絶え間なくさまざまな国で発生しているが、鳥インフルエンザウイルスが直接ヒトへ伝播したことが確認されたのは、1997年にホンコンの少年が高病原性鳥インフルエンザウイルスH5N1感染により死亡したことから始まる。さらに、H5N1ウイルスは、2003年以降、アジア、アフリカ、ヨーロッパ、カナダを含む世界16か国でヒトへの伝播を果たし、これまでに694人に感染し、うち402人が死亡しており（致死率約58%、2015年1月WHO資料による）、ヒトにおいても高い病原性を持ち続けている<sup>12)</sup>。2003年以降、他のさまざまな亜型（H6N7, H7N7, H7N9, H9N2, H10N8）の鳥インフルエンザウイルスもヒトへ伝播し、死者も出ている。特に、2013年2月に上海で発生したH7N9ウイルスは、ニワトリに対しては低病原性であるが、ヒトに対してはこれまでのところ致死率25%を超える高い病原性をもちつつ感染が拡大しつつあり、2014年7月には中国本土11省に拡散した<sup>13)</sup>。一度、家禽やヒトに対する病原性を獲得したウイルスが再び水禽、野生水鳥に感染した場合、これらにも病原性を示すことがある。2005年には、中国西部に位置し、多くの渡り鳥が集まる青海湖（Qinghai lake）で数千匹の渡り鳥が斃死したが、高病原性を獲得したH5N1によることが確認されている<sup>14-16)</sup>。

高病原性は、ニワトリに対する病原性を現すものであり、ヒトに対する定義ではない。国際獣疫事務局（OIE）は、最低8羽の4～8週齢のニワトリに感染させて、10日以内に75%以上の致死率を示した場合「高病原性」と定義している。また、HA分子の開裂部位における連続した塩基性アミノ酸配列の付加変異は分子レベルの高病原性の定義とされている。実際に1997年以降、現在まで流行している高病原性鳥インフルエンザウイルスH5N1のHAには、すべてこの付加が起こっている。B, C型ウイルスには亜型はない。

最近、コウモリから新しい二つの新亜型を持つインフルエンザウイルス [H17N10 (A/little yellow-shouldered bat/Guatemala/164/2009), および H18N11 (A/flat-faced bat/Peru/033/2010) 亜型]<sup>17-22)</sup> が、各々、中米のグアテマラおよび南米の東北部に位置するペルーのコウモリから分離された。これらのウイルスは、X線結晶解析により、他の亜型の鳥インフルエンザウイルスと同様に古典的HA, NA構造スパイクを持つことが明らかにされた。しかし、興味深いことに、HAは他の亜型のすべてのウイルスが持つシアロ糖鎖への結合性を欠いており、NAスパイクも通常のウイルスが持つシアリダーゼ活性を持たないことがわかっている。したがって、これらのウイルスの宿主受容体

への認識機構、宿主からの出芽機構は通常の鳥インフルエンザウイルスとは異なることが示唆される。このような性質から、コウモリのウイルスはインフルエンザ様ウイルス (influenza like virus) と呼ばれる場合もある。グアテマラとペルーでのウイルス分離場所は3500kmほど離れており、ウイルスは広域に拡がっている。さらにコウモリの種数は、全哺乳動物種の約20%を占めるといわれており、今後、さらにコウモリのウイルスの多様性が明らかになる可能性もある。しかし、中央ヨーロッパのコウモリからは今のところインフルエンザウイルス（H1～17）は分離されていない<sup>23)</sup>。これまでインフルエンザウイルスの自然界での貯蔵庫は野生水鳥であるといわれてきた。コウモリが水鳥に加えて新しい自然界における貯蔵庫の役割を果たしている可能性は否定できず、これら新しい亜型ウイルスの発見はインフルエンザウイルスの進化、感染経路に新たな知見をもたらす可能性がある。

### 3. インフルエンザウイルスの受容体および受容体結合特異性

インフルエンザウイルスの受容体はシアル酸を含む糖鎖である<sup>2, 4-11, 24-32)</sup>。A型インフルエンザウイルスはさまざまな動物から分離される（図2）。我々は、インフルエンザウイルスの宿主細胞への吸着およびそれに続く膜融合の過程に関与するインフルエンザウイルス受容体が、シアリルラクトサミン構造を有する糖鎖であることを明らかにし<sup>33, 34)</sup>、鳥およびヒトウイルスの受容体結合特異性、ウイルス受容体シアロ糖鎖の標的組織、細胞における解析を行ってきた。すなわち、A, B型インフルエンザウイルスHAが認識する受容体糖鎖は、シアル酸を非還元末端に持つシアリルラクト系II型 [Sia $\alpha$ 2-6(3)Gal $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ 1-] 糖鎖を基本とし、Sia $\alpha$ 2-3(6)Gal $\beta$ 1-3GalNAc $\beta$ 1-, Sia $\alpha$ 2-3(6)Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ 1-等の骨格にも結合すること<sup>34, 35)</sup>、鳥およびヒト間で流行するウイルスは、各々上記シアロ糖鎖の末端の2糖、Neu5Ac $\alpha$ 2-3Gal（鳥型受容体）、Neu5Ac $\alpha$ 2-6Gal（ヒト型受容体）を持つ糖鎖へ結合すること<sup>36-38)</sup>、鳥ウイルスのヒトへの適応性の獲得は、鳥型受容体からヒト型受容体への結合性の変異が深く関わることなどを報告してきた<sup>39-48)</sup>。

鳥型受容体（Sia $\alpha$ 2-3Gal）におけるシアル酸とガラクトースとの間のグリコシド結合の立体配位はほぼ直線的であり、グリコシド結合にある親水性の酸素原子は受容体結合サイトへ露出している。一方、ヒト型受容体（Sia $\alpha$ 2-6Gal）の場合は、シアル酸とガラクトースとの結合は折れ曲がっており、疎水性のC6原子が受容体結合サイトへ露出している<sup>49)</sup>。よって、これらの糖鎖にはまり込むHA分子内の受容体結合ポケットを構成するアミノ酸配位も異なることになる<sup>50-52)</sup>。受容体結合ポケットは、HA分子のトップにある190-ヘリックス、頭部の端にある220-ループ、さらにもう一つの端にある130-ループにより囲ま



れている。Sasisekharan<sup>50-52)</sup>らは、HA-グリカン共結晶構造を解析した結果、受容体シアロ糖鎖のNeu5Ac (Sia) 部分は、インフルエンザウイルスHA分子内の糖鎖結合部位に固定されるが、それ以外の糖鎖部分は、HA分子との最適な結合のためには三次元的に2種類のトポロジーを取りうるとしている。一つは、短い $\alpha$ 2-3 (di/tri-saccharide) または短い $\alpha$ 2-6オリゴ糖鎖 (たとえば6'-sialyl-lactosamineまたはlactose, Neu5Ac $\alpha$ 2-6Gal $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ 1-および6'-sialyl-Tn抗原Neu5Ac $\alpha$ 2-6GalNAc $\alpha$ 1-) であり、もう一つは長いシアロ糖鎖 [Neu5Ac $\alpha$ 2-6Gal $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Glc $\beta$ 1-, Neu5Ac $\alpha$ 2-6(Gal $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ 1-3)2-] であり、短いシアロ糖鎖はトウモロコシ様構造 (cone-like structure)、長い糖鎖は傘様構造 (umbrella-like structure) トポロジーをとる<sup>52)</sup>。実際に、ヒトの間で流行するヒト臨床分離株 (季節性インフルエンザウイルス, 1918年スペインインフルエンザウイルスを含む) は、長いシアロ糖鎖 [Neu5Ac $\alpha$ 2-6(Gal $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ 1-3)2-または3-] への結合性が高いことが生化学的に明らかにされている<sup>50, 53)</sup>。

#### 4. ウイルスの変異に伴う受容体シアロ糖鎖結合特異性と宿主域の変化

インフルエンザウイルスが宿主依存性変異を起こすことは、1940年代から知られている<sup>54, 55)</sup>。インフルエンザウイルスのゲノムは、8本の分節上の単鎖RNA(-)からなる。A型ウイルスの変異には主に二つの様式がある。一つは遺伝子再集合によるまったく新しい抗原性を持つウイルスの出現であり、自然界ではこれまで10年から30年間隔でヒトの中に新しい亜型のHAおよびNAを持つインフルエンザウイルスが出現し、世界流行を起こしてきた [1918年のスペインインフルエンザ (H1N1), 1957年のアジア風邪 (H2N2), 1968年のホンコン風邪 (H3N2), 1971年のソ連風邪 (H1N1), 2009年ブタ由来新型インフルエンザH1N1 (以後, A (H1N1) pdm09と略, WHOによる) など]。もう一つの様式は、ウイルスRNAポリメラーゼの読み間違いによると考えられるウイルスタンパク質の連続的抗原変異である。これは毎年の季節性地域流行の要因となる。インフルエンザウイルスの一本鎖のRNAの複製には、二本鎖のDNAを複製するDNAポリメラーゼのような修復機構がないため、自己が持つRNAポリメラーゼの読み間違いによる遺伝子点変異 (非同義置換, 同義置換) が起こってしまう仕組みがある。非同義置換 (アミノ酸配列の変化を伴う遺伝子変異) は、その変異によってもたらされるアミノ酸配列の変化がウイルスの生存にとって不利である場合は、自然淘汰により変異ウイルスは自然界から除去されるが、非同義座位も同義座位も同じ確率でポリメラーゼによる遺伝子の読み間違いが起こる。偶発的に鳥インフルエンザウイルスHA分子内アミノ酸置換が受容体結合に関わる領域で起こり、受容体結合特異性が変わり、その変異ウイルスが淘汰されず宿主個体で維持された場合、宿主域や標

的細胞へのトロピズムが変化していく現象がある。これに関する初期の研究では、Burnet, Stoneら<sup>55, 56)</sup>が、インフルエンザウイルスの継代前のオリジナル (original: O) 株と宿主細胞で継代後の株 (derivative: D) では、さまざまな動物赤血球に対する凝集性 (受容体結合特異性) が異なるO-D変異 (O-D change) という現象を見いだしている。発育鶏卵を用いるインフルエンザウイルスの培養法が最初に報告されたのは1940年である<sup>57)</sup>。採集できるウイルス抗原の収量が多いので、現在でも、季節性インフルエンザワクチンは、発育鶏卵で培養した株が主に用いられている。近年、ヒト型受容体 ( $\alpha$ 2-6) に結合するインフルエンザウイルスは、発育鶏卵の漿尿膜細胞で継代すると鳥型受容体 ( $\alpha$ 2-3) への結合性を獲得する場合があるが、MDCK細胞で継代した場合はこのようなことは起こらないこと<sup>58-61)</sup>、発育鶏卵の漿尿膜や異なる動物細胞で培養したインフルエンザウイルスのHAの受容体結合特異性が異なること<sup>62, 63)</sup>も明らかになっている。これらの現象は、インフルエンザウイルスの生ワクチンを製造する場合に考慮されるべきである。

さらに、実際に世界流行となったウイルス (1918年H1N1, 1957年H2N2, 1968年H3N2, 1979年H1N1) 株は鳥インフルエンザウイルスが起源であるが、ヒト間流行を起こすように変異したパンデミック株は、鳥型受容体結合性からヒト型受容体への結合性を新たに獲得しており、同時に、各ウイルス株のHAスパイク内のアミノ酸置換も起こっていることも明らかになっている<sup>64-71)</sup>。2009年に発生したA(H1N1)pdm09ウイルスも、ヒト、鳥、北米ブタ、ユーラシアブタインフルエンザウイルスの4種の遺伝子交雑体であるが、これも世界流行となった株は、ヒト型受容体への高い結合性を獲得していた<sup>70)</sup>。このように、自然界におけるインフルエンザウイルスのHA遺伝子の変異と、それに伴うシアロ糖鎖受容体結合特性と宿主域の変化は深く関わっている。

#### 5. インフルエンザウイルスの受容体シアロ糖鎖結合特異性の検出技術

インフルエンザウイルスの受容体結合特異性を解析する方法として、これまでさまざまな方法が開発されてきた。インフルエンザウイルスが受容体として宿主細胞膜のシアル酸含有糖鎖に結合することは、インフルエンザウイルス自身が受容体破壊酵素を持つこと、それがノイラミニダーゼであることが発見されたことが発端である。初期のころは、1) 細菌由来のシアリダーゼで赤血球を処理するとウイルスによる赤血球凝集が阻止されることから、インフルエンザウイルスの受容体にはシアル酸が関わるということが報告された<sup>72, 73)</sup>。その後、インフルエンザウイルスの受容体シアロ糖鎖結合特異性の検出法として、2) 細菌シアリダーゼ処理赤血球へ糖鎖構造の異なるガングリオシド (シアロスフィンゴ糖脂質) を取り込ませ、赤血球膜のシアロ糖鎖

分子を修飾し、ウイルスによる赤血球凝集性の回復を指標にする方法<sup>4, 33-35)</sup>、シアリダーゼ処理赤血球へシアル酸転移酵素 (ST6GalI, ST3GalIII) により赤血球膜シアロ糖鎖のシアル酸結合部位を修飾し、赤血球凝集性の回復を調べる方法<sup>26, 74, 75)</sup>、3) シリカゲル薄層、ポリアクリルアミドゲル、あるいは96穴プラスチック上にコートした疑似受容体 (合成・天然シアロ糖鎖) に対するウイルスの吸着を、ELISA の原理やPCRを基盤として測定する方法<sup>35-45, 76)</sup>、4) プレートに吸着したウイルスのシアリダーゼ活性を測定する方法<sup>77)</sup>、5) シアロ糖鎖グリカンアレイによる方法<sup>68, 70, 78-84)</sup>、6) イムノクロマトを原理とするシアロ糖鎖発現デバイスによる方法<sup>85)</sup> など、様々な方法が開発された。鳥インフルエンザウイルスがヒト適応性を得るための重要変異の一つに、鳥型受容体 (Neu5Ac $\alpha$ 2-3Gal) からヒトの呼吸器に存在するヒト型受容体 (Neu5Ac $\alpha$ 2-6Gal) への結合性変異獲得があげられる。この変異を監視できる上記2)~6) の方法は、鳥インフルエンザウイルスのヒトへの適応性変異の早期検出の上でも重要な手法である。我々が、最近開発したグリカンアレイは、ガラスチップ上にプリントしたシアロ糖鎖へ結合したウイルスをエバネッセント励起蛍光により検出するもので、未吸着のウイルスを洗浄する必要がなく、しかも、ウイルス赤血球凝集活性として2~8 HAUのウイルス量で測定できる特性を有する。これにより、CFG Consortium for Functional Glycomicsにおけるグリカンアレイに比べて、高感度、短時間測定が可能である。この方法は、インフルエンザウイルス以外のウイルスにも適用可能で、我々は、ヒト呼吸器疾患を引き起こすエンテロウイルス68が、ヒト型受容体Neu5Ac $\alpha$ 2-6Galシアロ糖鎖への結合性を持つことを見いだした<sup>84)</sup>。

グリカンアレイによるウイルスの受容体結合特異性の測定は、さまざまなシアロ糖鎖構造に対するウイルスの結合性を詳細に調べられる利点を持つと同時に、アレイに結合したウイルス検出のためのさまざまな試薬、高額な機器が必要となり、実際に、鳥インフルエンザが多発している開発途上国や発生現場での測定は困難である。そこで、高速、軽量、かつ機器を用いない監視デバイスの開発が求められる。我々は、イムノクロマトグラフィーを原理とする新たな鳥インフルエンザウイルスのヒト型受容体結合性検出デバイスを開発した<sup>85)</sup>。これは、あらかじめ鳥型およびヒト型受容体シアロ糖鎖を結合させたカラービーズ (鳥型受容体を青色ビーズ、ヒト型受容体を赤色ビーズに結合) を用意し、ビーズ上のシアロ糖鎖に結合した被検ウイルスを、イムノクロマトを原理とするストリップ上に展開し、展開された色バンド (青、赤) を目視により検出するもので、被検ウイルスの鳥型、ヒト型受容体への結合性を30分以内に検出可能である。同時に、両受容体への結合性を持つウイルスも検出できる。

現在、インフルエンザウイルスの国際的変異サーベランスは、主として抗原性および遺伝子変異による監視である。これらの変異情報のみから鳥インフルエンザウイルス

のヒトへの適応性変異を事前に捉えることは不可能に近い。今後は、これらに加えて、鳥インフルエンザウイルスのヒト型受容体への結合性獲得変異、すなわちウイルスの受容体特異性に関わる表現型変異を監視することが強く求められる。

## 6. インフルエンザウイルス受容体シアロ糖鎖の宿主動物組織内分布

自然界において、A型インフルエンザウイルスはクジラ、アザラシを含む海洋動物、鳥、哺乳動物などさまざまな動物から分離される。ウイルスの自然宿主であるカモなどの野生水鳥やニワトリ、ウズラを含む家禽類において、その標的器官は主として腸管および気道であるとされている。しかし、高病原性鳥インフルエンザウイルスH5N1の場合は、鳥のさまざまな組織に感染し多臓器不全を起こす。一方、哺乳動物での標的器官は主として気道、肺を含む呼吸器であるとされているが、ヒトの場合、まれに便や腸管からもウイルスが分離されたり<sup>86)</sup>、ウイルス遺伝子が検出される場合がある<sup>87)</sup>。このことは、インフルエンザウイルスがヒトの呼吸器のみならず、まれに酸性度の強い胃を通過し、腸管など消化器系組織にも感染増殖する可能性を示唆している。

ヒト上気道上皮細胞にはヒト型受容体 ( $\alpha$ 2-6) が主に存在するが、ヒトの呼吸器の深部組織 (下気道、細気管支および肺胞) には、ヒト型および鳥型受容体 ( $\alpha$ 2-3) の両者が発現している<sup>88-91)</sup>。よって、鳥ウイルスがヒトの下気道あるいは肺胞にまで達した場合、鳥型受容体を介した感染が成立し、重篤な肺炎を起こす可能性がある。Nichollsら<sup>90, 91)</sup> は、ヒト呼吸器 (気道、肺) の糖鎖を解析し、小児の肺には大人に比べ鳥型受容体が多く存在することから、高病原性鳥インフルエンザウイルスH5N1が小児に多く感染している理由として、小児肺における鳥型受容体の存在の多さをあげている。

ヒトの呼吸器でウイルスが増殖する過程でランダムに起こるHAの変異が、ヒト呼吸器に主に存在するヒト型受容体 (Neu5Ac $\alpha$ 2-6Gal) への適応性獲得である場合、その株が選択され、ヒトの体内で新たなヒト適応型変異株が生じる可能性がある。これまで、高病原性鳥インフルエンザウイルスの感染者は重篤なウイルス性肺炎を引き起こすことが明らかにされている。これは、毎年ヒト間流行を起こす季節性インフルエンザが主に上気道症状を起こすこととは明らかに異なる。これらの事象は高病原性鳥インフルエンザウイルスH5N1のヒトにおける主要な増殖部が肺の深部であるためと考えられ、鳥型受容体の発現部位と一致している。ブタ気道にも鳥およびヒト型受容体が検出されている<sup>92)</sup>。カモやアヒルを含む水鳥の気道上皮には鳥型受容体が主に存在する<sup>93-96)</sup>。しかし、ニワトリ、七面鳥、ウズラなど、陸生の鳥の上皮細胞には鳥型、ヒト型の両方の受容体が存在する<sup>93, 97)</sup>。これらのシア



口糖鎖の組織分布解析は、いずれもシアロ糖鎖に特異的なレクチン染色により行われており、標的組織におけるシアロ糖鎖構造は不明であった。我々は、ニワトリおよびウズラの腸管におけるN結合型シアロ糖鎖構造解析を行い、鳥およびヒト型受容体が存在することを生化学的に明らかにした<sup>98)</sup>。これらの結果は、ニワトリやウズラでは、鳥およびヒトインフルエンザウイルス両方の増殖が可能であり、ウイルスがこれらの種の中で伝播を繰り返す間に、鳥インフルエンザウイルスのヒト適応変異株の出現が起こる可能性を示唆するものである。実際に、ニワトリやウズラなどの陸生鳥から分離されたH5N1, H6N2, H6N6, H9N2株の中には、ヒト型受容体と結合するものが見いだされている<sup>44, 99-102)</sup>。さらに我々は、ウズラで継代することによりウズラに適応させたカモインフルエンザウイルスは、ヒトの呼吸器の細胞でも増殖可能な変異を遂げることを見いだした<sup>97)</sup>。また、ブタで鳥型受容体に結合するカモウイルス(A/duck/Hokkaido/5/77 H3N2)を継代すると、ヒト型受容体への結合性を獲得する変異が起こることも明らかにされている<sup>103)</sup>。これらの結果は、ウズラやニワトリさらにブタは、鳥インフルエンザウイルスのヒトへの伝播に関わる中間宿主としての役割を担う可能性を示すものである。

昔から、ブタは、鳥インフルエンザウイルスとヒトウイルスの混合容器(mixing vessels)といわれてきた。事実、ブタからは鳥インフルエンザウイルスが分離される<sup>43)</sup>し、実験的に鳥およびヒトのインフルエンザウイルスをブタに感染させることもできる。ブタの気道、肺には、レクチン染色により、ヒト型受容体( $\alpha 2-6$ )の方が鳥型受容体( $\alpha 2-3$ )に比べて多く発現されているという報告がある<sup>104, 105)</sup>。我々は、ブタの上、下気道、肺におけるN-グリカンの構造、シアル酸の分子種解析を行い、少なくとも45種類の構造の異なるN-グリカンと同定し、いずれの部位においてもヒト型受容体を持つシアロ糖鎖の発現が鳥型糖鎖よりも多いこと、N-アセチルノイラミン酸(Neu5Ac)がN-グリコリルノイラミン酸(Neu5Gc)よりも多いことを確認している<sup>106)</sup>。ブタ呼吸器の初代上皮細胞の詳細な糖鎖構造も行われており、これらの細胞においても、ヒト型受容体の発現が鳥型に比べて多いことが明らかとなっている<sup>107)</sup>。ショットガンライコミクスによるさまざまなインフルエンザウイルスに対するブタ肺の天然N-シアログリカンの受容体結合特異性も報告されている<sup>108)</sup>。

フェレットは、ヒトインフルエンザ感染の動物モデルとして使われている<sup>109, 110)</sup>。理由は、ヒトインフルエンザウイルスによるフェレット間の飛沫感染が成立し、ウイルス抗体価の上昇も確認され、ヒトのインフルエンザ様症状も現すためである。一方、鳥インフルエンザウイルスはフェレットへの実験的経鼻感染は可能であるが、一定の条件下では、フェレット間での飛沫感染は起こらない<sup>111-114)</sup>。これを裏づける生化学的証拠として、フェレットは天然のヒト型受容体(Sia $\alpha 2-6$ Gal)とヒトが持つシアル酸分子種(Neu5Ac)を生合成すること、フェレット

の気道にはヒトと類似のヒト型受容体やシアル酸分子種が発現されていることが報告された<sup>115)</sup>。一方で、鳥型受容体またはヒト型受容体に優先的に結合する2種の変異A(H1N1)pdm09を用いてフェレットへ経鼻感染を行い、両者の増殖性の違いを調べた実験で、受容体結合特異性の違いは、フェレット気道でのウイルス産生には影響しないこと、両ウイルスともフェレット肺における類似の細胞で増殖することも報告されている<sup>116)</sup>。これらの結果から、フェレットは、経鼻的に直接ウイルスを投与する経鼻感染系では鳥型、ヒト型受容体結合性ウイルスに対する感受性に差はみられないが、離れたケージで飼育するフェレット間飛沫感染系では、ヒト型受容体結合性のウイルスに感受性を示すと考えられ、さらなる実証研究が必要であった。最近、これに対する生化学的理解が得られた。Nicolls, Haslamらは、フェレットの呼吸器(気道、肺)のシアロ糖鎖解析を行い<sup>117)</sup>、フェレットの呼吸器ではヒト肺<sup>90)</sup>に比べて $\alpha 2-3$ および $\alpha 2-6$ 結合シアル酸はより不均一に存在すること、ヒトの呼吸器にはないSd<sup>a</sup>血液型糖鎖、Neu5Ac $\alpha 2-3$ (GalNAc $\beta 1-4$ )Gal $\beta 1-4$ GlcNAc、およびNeu5Ac $\alpha 2-6$ GalNAc $\beta 1-4$ GlcNAc(Sialyl-N,N'-diacetyl-lactosamine)が存在することを見いだしている。Sd<sup>a</sup> epitope糖鎖は $\alpha 2-3$ シアル酸を持つが、鳥インフルエンザウイルスは結合できない。これは、GalNAc側鎖による立体障害のためと考えられる。著者らもガングリオシドGM2, GM1a, GD1bなど、GalNAcやGal $\beta 1-3$ GalNAc側鎖を持つシアロ糖鎖にはインフルエンザウイルスが結合できないことを確認している<sup>34, 118)</sup>。さらに、彼らは、フェレット呼吸器切片において、ヒト型受容体へ結合するウイルス[A(H1N1)pdm09]の結合場所とDBAレクチン(GalNAc側鎖へ結合)によるSd<sup>a</sup>抗原の発現場所は異なることを明らかにし、Sd<sup>a</sup> epitopeの存在は、鳥インフルエンザウイルスのフェレットへの結合サイトを減少させ、よりヒト適応性ウイルスの感染性を高めるため、フェレットはヒトインフルエンザウイルスの感染モデルとして有益であると考察している<sup>117)</sup>。

## 7. 鳥インフルエンザウイルスがヒト型受容体シアロ糖鎖へ結合する変異の分子基盤

インフルエンザウイルスはHAスパイクを介して宿主細胞のシアロ糖鎖受容体へ結合する。これまで、高病原性鳥インフルエンザウイルスH5N1は、感染鳥との接触などにより偶発的にヒトへ感染しているが、いまだ、不特定多数のヒト間での伝播は起こっていない。高病原性鳥インフルエンザウイルスH5N1は鳥型受容体への結合性を持ち、ヒト型受容体への結合性はきわめて弱い。しかし、このウイルスは前述したように、鳥型受容体を発現しているヒト呼吸器の深部へ感染することが可能であり、これまで、690人を超える感染者がWHOにより確認されている<sup>12)</sup>。

我々はこれまで、ヒト型受容体への結合性を獲得した高

病原性鳥インフルエンザウイルスH5N1分離株を、感染した“ヒト”から見いだしてきた。すなわち、ホンコン<sup>119)</sup>、タイ<sup>41)</sup>、ベトナム<sup>39)</sup>において、H5N1に感染した“ヒト”から鳥型受容体のみならず、ヒト型受容体への結合性を獲得した分離株を見いだした。Watanabeら<sup>44)</sup>は最近、エジプトの“ニワトリ”から分離された高病原性鳥インフルエンザウイルスH5N1株から、初めて鳥型受容体のみならずヒト型受容体にも結合できる株を見いだした。Nidomら<sup>43)</sup>は、H5N1がインドネシアのブタにかなりの割合（調べたブタの13%）で伝播しており、分離株中の一つが鳥型、ヒト型両受容体への結合性を持つことを見いだしている。ニワトリおよび七面鳥から分離された高病原性の北米H7分離株<sup>80)</sup>、ホンコンのウズラから分離されたH9株<sup>99)</sup>においても鳥型、ヒト型受容体への結合性を獲得した株が報告されている。

H6亜型インフルエンザウイルスは、1965年に米国マサチューセッツ州で七面鳥から初めて分離されて以来、世界中の野生鳥、家禽、水禽から分離されている。H6N1は2012年に台湾でヒトへも伝播しており、監視が必要である。Chenら<sup>46)</sup>は、2008年から2011年にかけて中国の生家禽市場から分離されたH6亜型のインフルエンザウイルス(257株)の遺伝子、受容体結合性、哺乳動物（モルモット）への感染性を調べた。その結果、H6亜型株は、36の遺伝子型（genotype）に複雑に変異しており、かつ87株が鳥型受容体のみならずヒト型受容体への結合性を獲得していることを見いだした。H9N2ウイルスも2013年に中国湖南省、ホンコンでヒトへ伝播しているが、2009年から2013年に中国生家禽市場から分離されたH9N2ウイルス35株は17の遺伝子型に分歧し、ヒト型受容体への結合性およびその一部はフェレットへの飛沫感染性をも獲得していた<sup>47)</sup>。このように、高病原性鳥インフルエンザウイルス（H5N1）を含むさまざまな亜型の鳥ウイルスは、家禽、家畜の間でさまざまな変異を遂げ、ヒト型受容体への結合性、哺乳動物への伝播性を獲得している可能性がある。

感染者から分離されたH5N1の中には鳥型受容体の他にヒト型受容体への結合性を獲得した変異株が分離されている。このときHA分子内アミノ酸置換変異が起きており、その変異は一つまたは複数のアミノ酸置換による。これまでにヒト型受容体への結合性を獲得した高病原性鳥インフルエンザウイルス（H5N1）のHAスパイク内アミノ酸置換部位がまとめられている<sup>26)</sup>。我々も下記の変異を報告している。番号は、対照として使われるH3亜型のアミノ酸番号に対応している。G144R<sup>40)</sup>、N186K<sup>40)</sup>、N193K<sup>40)</sup>、Q196H<sup>44)</sup>、Q196R<sup>40)</sup>、N197K<sup>40)</sup>、S227N<sup>40)</sup>、G228S<sup>40)</sup>、S239P<sup>44)</sup>、E79K/R171K/(HA2)<sup>44)</sup>、S124/V214I<sup>44)</sup>、S127P/N197K<sup>40)</sup>、S127P/R171K（HA2）<sup>40)</sup>、I133del（欠失）/I155T<sup>44)</sup>、L133V/A138V<sup>41)</sup>、G144R/N186K<sup>40)</sup>、V152I/Q226L<sup>111)</sup>、N186K/M230I<sup>111)</sup>、D187G/S227N、Q196/S227N<sup>44)</sup>、Q196H/S239P<sup>44)</sup>、N197K/R171K（HA2）<sup>40)</sup>、R216E/S221P<sup>111)</sup>、N224K/Q226L<sup>111)</sup>、Q226L/G228S<sup>111)</sup>、Q226L/E231G<sup>111)</sup>、S227N/G228A<sup>111)</sup>、

E79K/S127P/N197K<sup>40)</sup>、E79K/S127P/R171K（HA2）<sup>40)</sup>、E79K/N197K/R171K（HA2）<sup>40)</sup>、E119G/V152I/Q226L<sup>111)</sup>、E119G/N224K/Q226L<sup>111)</sup>、S127P/N197K/R171K（HA2）<sup>40)</sup>、I133del/I155T/V214I<sup>44)</sup>、S140N/I133del/I155T<sup>44)</sup>、V152I/N224K/Q226L<sup>111)</sup>、N158D/N224K/Q226L<sup>111)</sup>、E79K/S127P/N197K/R171K（HA2）<sup>40)</sup>、E119G/V152I/N224K/Q226L<sup>111)</sup>、S124N/I133del/I155T/V214I<sup>111)</sup>、H107Y/T160A/Q226L/G228S<sup>120)</sup>、N158D/N224K/Q226L/T318I<sup>111)</sup>等である。この事実は、H5N1ウイルスのHAスパイクにおけるわずか1～数個のアミノ酸置換が、宿主受容体への結合性を変えている可能性を示唆する。これらの変異パターンには、ウイルスHAスパイクの鳥型受容体への結合性を弱める表現型を与える場合、ヒト型受容体への結合性を高める場合、その両方の表現型を付与する場合がある。ヒト型受容体への結合性を高める変異として、H5HAの場合は、受容体結合ポケット近傍の220-ループにおけるアミノ酸置換、N224K、Q226L、S227N、G228Sならびに受容体結合ポケットに至近のアミノ酸158～161における糖鎖付加欠落等があげられる。自然界で上記の変異を起こしたH5N1ウイルスの大部分は、程度の差はあるが鳥およびヒト型受容体の両方への結合性を示している。しかし、ヒト型受容体に優先的に結合し、鳥型受容体への結合性がきわめて弱い表現型を持つ天然のH5N1ウイルスはこれまでのところ分離されていない。一方、毎年ヒト間で流行する季節性インフルエンザの臨床分離株は、ヒト型受容体に強く結合し、鳥型受容体への結合性はほとんど示さない。さらに、これまでパンデミックを起こした1918年のH1N1スペインインフルエンザウイルス、1957年のH2N2アジア風邪ウイルス、1967年のH3N2ホンコン風邪ウイルス、さらに、2009年世界流行となったA(H1N1)pdm09いずれも、鳥を起源としているにも関わらず、ヒト型受容体への強い結合性を示す変異を獲得している。たとえば、1918年スペインインフルエンザウイルス（H1N1）の場合、HA分子内のわずか2個のアミノ酸変異が鳥型受容体への結合性をヒト型受容体結合性へと変化させたことが明らかとなっている。すなわち、第1波（first wave）のウイルスのHAはE190D、225Gであり、このウイルスは鳥型、ヒト型受容体の両方へ結合したが、第2波のウイルスHAはさらに190D、G225Dとなり、ヒト型受容体のみへ結合する性質を獲得した。この変異がヒト-ヒト上気道感染を容易にしたと考えられる。同じ亜型であるA(H1N1)pdm2009も速やかに全ヒト世界へ広がったが、このウイルスのHAも190D、225Dであり、ヒト型受容体に結合できる性質を獲得していた<sup>66, 67, 69)</sup>。1957年のH2N2パンデミックでは、流行初期のヒトから分離されたウイルスHAは3種（鳥型226Q、228G、ヒト型226I、228S、中間型226I、228G）存在したが、次第にすべてのウイルスはヒト特異的な226I、228Sの変異を獲得した。パンデミックとなったヒト型株（H2-human：226I、228S）はヒト型受容体へ結合し、鳥ウイルスの特徴を持つ株（H2-avian：226Q、228G）は鳥型受容体へ主に結合した。両方の変異



を持つ株 (H2-226I/228G) は鳥型およびヒト型受容体の両者に弱く結合した<sup>71)</sup>。このように、1957年アジア風邪ウイルス (H2 亜型) は、わずかに二つのアミノ酸置換 Q226L, G228S によりヒト上気道に主に存在するヒト型受容体への結合性を獲得し、パンデミックとなった可能性が示唆されている。

#### 8. 鳥インフルエンザウイルスが哺乳動物に対する適応性を獲得する変異の分子基盤

米国疾病予防管理センター (CDC) の Donis ら<sup>121)</sup> は、高病原性鳥インフルエンザウイルス H5 [A/Egypt/1162/2006 (H5N1) 株, clade 2, この株は、HA の受容体結合ポケット至近にある糖鎖付加部位のアミノ酸 158 が D であり、糖鎖を欠いている。さらに鳥型受容体 ( $\alpha 2-3$ ) へ効率的に結合する] は、リバースジェネティクス技術により、HA 分子内アミノ酸の複数個の置換 (Q196R-Q226L-G228S) 変異を人工的に起こさせると、鳥型受容体への結合性が著しく減少すると同時に、ヒト型受容体 ( $\alpha 2-6$ ) への高い結合性を示すことを見いだした。この変異ウイルスは、フェレットへの直接経鼻感染および同じケージで飼育するフェレットへの直接接触感染を引き起こすと同時に感染個体のウイルス抗体価も上昇した。しかし、5 cm 離れたケージで飼育するフェレット間飛沫感染は起こさず、抗体価の上昇もなかった。そこで、この変異 HA を持つウイルスに季節性インフルエンザウイルス H3N2 (A/Brisbane/10/2007) 由来の NA を導入したところ、フェレット間の飛沫感染も起こすようになった。この結果は、鳥型受容体への結合性が著しく減少し、ヒト型受容体への結合性が高くなる変異獲得だけでは、効率的なフェレット間の飛沫感染は起こらないことを初めて示したものである。すなわち、H5N1 ウイルスに関して、鳥型受容体への結合性の著しい減少、ヒト型受容体への高い結合性獲得は、ヒトへの適応性獲得に対する必要条件ではあるが、十分条件ではないことが示唆される。また、この論文では、実際にこのウイルスがヒトの気道組織に結合するの可否か調べていないために、この三つのアミノ酸置換がヒト適応性変異に深く関わるか否か不明であった。

鳥インフルエンザウイルスの受容体結合特異性の変異とフェレット間飛沫感染との関連については、いくつかの重要な報告がなされている。すなわち、鳥インフルエンザウイルスが変異してヒト型受容体への結合性を獲得しても、そのウイルスは、直ちにフェレット間で効率的飛沫感染が起らない場合もあること、つまり、鳥インフルエンザウイルスがフェレット間で飛沫感染できるためには、受容体結合特異性が鳥型受容体 ( $\alpha 2-3$ ) からヒト型受容体 ( $\alpha 2-6$ ) になるのは必要条件であるが、必ずしも十分条件ではないことがわかってきた<sup>111-114)</sup>。このような背景から、鳥インフルエンザウイルスのヒト適応性変異を調べる上で、少なくとも次の三つのポイント、1) 受容体結合特異性が鳥型

受容体結合性からヒト型受容体結合性へ変化する、2) フェレット間の飛沫感染が成立すること、さらに、3) ヒト呼吸器組織細胞への変異ウイルスの吸着、増殖が成立すること、が求められる。すなわち、鳥インフルエンザウイルスが上記三つの条件を満たす変異を獲得した場合、この変異ウイルスは、親株に比べて、よりヒト適応性変異に関わる可能性を持つといえる可能性がある。しかし、自然界におけるパンデミックインフルエンザウイルスの発生機構は、さらに未知のさまざまな要因が関わっているはずであり、さらなる研究が必要である。

最近、高病原性鳥インフルエンザウイルス H5N1 の哺乳動物 (フェレット) 適応性変異の分子基盤に関わる二つの論文<sup>111, 120)</sup> が、Kawaoka ら、Fouchier らにより、ほぼ同時に発表された。これらはいずれも、高病原性鳥インフルエンザウイルス H5N1 がフェレット間での呼吸器飛沫感染を可能とする変異は、HA スパイク内のわずか四つから五つのアミノ酸置換により起こることを明らかにしたものである。両論文とも、変異に関わるアミノ酸のうち、受容体結合ポケット近傍の二つのアミノ酸置換変異およびアミノ酸 158 番目の糖鎖付加の欠落変異、さらに HA スパイクの構造安定性に関わる軸領域の一つのアミノ酸置換変異が必要であることが共通していた。Fouchier らは上記の他に、ウイルス RNA ポリメラーゼである PB2 内アミノ酸置換変異、E627K (高体温の鳥体内での増殖性から、それより低いヒトやフェレット呼吸器の温度での増殖性獲得変異) の必要性もあげている。すなわち、高病原性鳥インフルエンザウイルス H5N1 のフェレット間呼吸器飛沫感染を可能にする変異は、ウイルス HA スパイク頭部の受容体結合ポケット近傍にある三つのアミノ酸置換変異 (Kawaoka ら: Q226, N224K および N158D, Fouchier ら: Q226L, G228S, T160A) および HA の構造安定性に関わる軸部分の変異 (Kawaoka ら: T318I, Fouchier ら: H107Y) および PB2 内の一つのアミノ酸置換変異 (Fouchier ら: E627K) のみでよいことが明らかにされた。ここで、HA スパイク内 N158D, T160A の変異はいずれも受容体結合ポケット至近のアミノ酸 158N の *N*-グリカン糖鎖付加を欠失させる変異であることも重要である。フェレット間飛沫感染を可能とする変異ウイルスは、いずれもヒト型受容体への結合性も獲得していた。

Kawaoka ら<sup>111)</sup> は、高病原性鳥インフルエンザウイルス (H5N1, A/Vietnam/1203/2004, VN1203, この株はベトナムの H5N1 感染患者から分離されたウイルスであるが、鳥型受容体への結合性を示し、ヒト型受容体への結合性はきわめて弱い) の HA タンパク質の globular head 部 (球状の頭部領域, アミノ酸残基 120~259 番) にランダム変異を入れ、一つの HA globular head に対し平均 1.0 個の変異が入った HA 遺伝子プラスミドを作製した。実験に先立ち HA タンパク質にある高病原性を定義する部分 (塩基性アミノ酸が連なる部位) を低病原性配列に入れ替え、BSL-2 で実験できるようにした。

得られた変異 H5 遺伝子を、H1N1 PR8 ウイルスの他の 6



個の遺伝子セグメントとともにヒト培養細胞に遺伝子導入し、H5N1 ウイルスライブラリーを構築した。700万種類のウイルスクローンから、Sia $\alpha$ 2-6Galに結合するものを選び出す実験（七面鳥赤血球を $\alpha$ 2-3シアリダーゼ処理により、 $\alpha$ 2-6シアロ糖鎖を多く持つ赤血球に変換し、これにウイルスを吸着させ、37Cで溶出させるなど）を行い、最終的にヒト型受容体結合性を持つ9個のウイルスを得た。すべてのウイルスはglobular head部に変異を持っていた。次いで、今回実験的に得られた変異HAとA (H1N1) pdm09 ウイルス (A/California/04/2009, CA04) の7遺伝子との再集合ウイルスを作出した。このような再集合ウイルスは、実際に自然界で起こりうる可能性を持つ。さらに、このウイルスのフェレットでの感染性、病原性を調べた結果、フェレットの鼻腔内で高いウイルス量を保っている個体がみられた。この個体の鼻腔から分離したウイルスは、もともとの変異、N224KおよびQ226Lに加え、N158Dを獲得していた。このN158D/N224K/Q226L HA 三アミノ酸置換変異ウイルスのフェレット間飛沫感染を確認するために、本ウイルスを感染させたフェレットのケージから5cm 離してコンタクト個体ケージを設置した。野生型H5を持ったウイルス (rgVN1203/CA04) や二アミノ酸置換変異株 [rg(N224K/Q226L)/CA04] はコンタクト個体に感染しなかったが、三アミノ酸置換変異株 [HA(N158D/N224K/Q226L)/CA04] に感染したフェレットと隣接させた6頭のうち2頭からウイルスが分離された。さらに5頭は抗体陽性が確認された。飛沫感染コンタクト個体から分離されたウイルスには、T318I変異が確認された。この変異は、HAに熱安定性を付与しており、HA構造安定性に関わることが示唆された。HA(N158D/N224K/Q226L/T318I)/CA04という四アミノ酸置換変異体を用い飛沫感染実験をしたところ、6頭中4頭からウイルスが分離され、全頭が抗体陽性となっていた。このことから、A(H1N1)pdm09遺伝子をバックボーンとし、これにH5N1ウイルスのHA遺伝子を組み合わせたウイルスが哺乳類（フェレット）間で感染するためには、HAスパイク内にN158D/N224K/Q226L/T318Iというわずかに四つのアミノ酸置換変異があればよいことが示された。さらに、このウイルスは*in vitro*でヒト呼吸器組織切片へのシアル酸依存的結合性も獲得していた。

一方、Fouchierら<sup>120)</sup>は、部位特異的変異誘発により天然のH5N1ウイルスの複数のアミノ酸を変異させ、さらにフェレットで継代したところ、ヒト型受容体への結合性とフェレット間飛沫感染を起こす能力を獲得したウイルスを分離できた。このウイルスのHA分子は、Kawaokaらの場合と類似の四つのアミノ酸置換 (Q226L, G228S, T160A, H107Y) とPB2内での一つアミノ酸置換変異 (E627K) がみられた。

両研究から高病原性鳥インフルエンザウイルスH5 HAスパイク内受容体結合ポケット近傍の220-ループにおけるアミノ酸置換変異 (N224K, Q226L<sup>111)</sup>、およびN224K, G228S<sup>120)</sup>、ならびにアミノ酸158~161位における糖鎖付

加欠落、さらに、H5 HAスパイク分子の軸部位におけるアミノ酸置換 (T318I<sup>111)</sup>, H107Y<sup>120)</sup>) がヒト型受容体結合特異性ならびにフェレット間の飛沫感染性の付与に重要であることがわかる。H5 HAの受容体結合ポケットから離れている軸部位における置換変異、T318IまたはH107YはH5分子の構造安定性に重要である可能性が示唆されている<sup>111, 120)</sup>。

上記の2種の変異H5N1ウイルスの受容体結合特異性は、最近、Paulsonら<sup>122)</sup>によりグリカンマイクロアレイにより詳細に調べられた。いずれのウイルスもヒト型受容体への高い結合性を示したが個々のシアロ糖鎖間の認識は異なっていた。また、構造安定性に関わるとされたHAのstalk部位の変異、T318, H107Yは、ウイルスの受容体結合ポケット構造や特異性に影響を与えず、HA分子の構造安定性に関わる可能性も確認された。

今回、実験的に作出した上記哺乳動物（フェレット）適応性H5N1高病原性鳥インフルエンザウイルス変異株は、ヒト型受容体への結合性、フェレット間の飛沫感染性を獲得すると同時にヒト呼吸器切片へのシアル酸依存的結合性（組織切片をシアリダーゼ処理すると結合性が消失する性質）を獲得していた。このような変異を同時にすべて持つウイルスは自然界ではいまだ分離されていない。しかし、部分的ではあるが、HA分子内受容体結合部位近傍のアミノ酸置換変異、Q226L, G228Sやアミノ酸158位の糖鎖付加欠落は、自然界から分離された個々の株でも確認されている<sup>68, 79, 123, 124)</sup>。

今後は、ウイルスの受容体結合性を高感度で簡便に監視できる技術や、デバイスの開発が重要となる。さらにこれを用いた地球レベルの監視網の構築も必要と思われる。

## 9. おわりに

以上、本稿では、鳥インフルエンザウイルスのヒトを含めた哺乳動物への適応性獲得に関わる分子基盤を、歴史的背景も加えてさまざまな側面から概説した。インフルエンザウイルスは、HAスパイクを介して宿主細胞膜シアロ糖鎖に結合する。HAは、さらに、エンドサイトーシスによるウイルスの細胞内侵入後、感染細胞内リソソームからウイルスゲノムの細胞質へ遊離を可能とするウイルス膜とリソソーム膜との融合もつかさどる感染成立に必須のタンパク質である。このHAは糖タンパク質であり、糖鎖は、宿主細胞の糖鎖合成系を利用して付加される。したがって、ウイルスHAに付加される糖鎖は、宿主細胞が持つ糖鎖合成系に依存し、宿主細胞により異なり、宿主細胞が持つ糖鎖に類似することが報告されている<sup>125, 126)</sup>。さらに、ウイルススパイクの糖鎖は、受容体への結合性や抗原性に影響を与える<sup>127-136)</sup>。よって、鳥インフルエンザウイルスのヒトを含めた哺乳動物への適応性の把握には、HAスパイクのアミノ酸変異のみならず、HAタンパク質への糖鎖付加、糖鎖構造の変化にも注意を向ける必要がある。

今回、述べなかったが、インフルエンザウイルスのもう一つのスパイクであるNAも鳥ウイルスのヒト適応性に関わっている可能性がさまざまな側面から報告されている。特にウイルスの宿主細胞への感染成立からウイルスの出芽に至る過程で、NAの基質特異性の変異<sup>137-139)</sup>、HAとNAの生物活性のバランス<sup>127, 140-146)</sup>、感染細胞内エンドソーム、リソソーム内弱酸性下におけるウイルスNAの安定性<sup>147-149)</sup>などが指摘されている。

シアロ糖鎖を認識するウイルス<sup>150, 151)</sup>は、インフルエンザウイルス以外にも、センダイウイルス<sup>152-155)</sup>、ニューカッスル病ウイルス<sup>155-158)</sup>、ロタウイルス<sup>159-161)</sup>、JCウイルス（進行性多巣性白質脳症ウイルス）<sup>162, 163)</sup>、ヒトパラインフルエンザウイルス<sup>164-166)</sup>、ヒトノロウイルス<sup>167)</sup>、ヒトピコルナウイルス<sup>168)</sup>、エンテロウイルス<sup>68<sup>84)</sup></sup>、レオウイルス<sup>151, 169)</sup>、コロナウイルス<sup>170)</sup>、アデノウイルス<sup>171)</sup>、ポリオーマウイルス<sup>6, 7<sup>172, 173)</sup></sup>、パルボウイルス<sup>174)</sup>、ブタサポウイルス<sup>175)</sup>などが知られている。今後、ウイルス受容体としてのシアロ糖鎖の機能、ウイルス感染機構の解明、その成果に基づく創薬や診断技術の推進、ウイルス感染症の克服が望まれる。糖鎖生物学とウイルス学を包括する研究領域を「糖鎖ウイルス学」(Glycovirology)と呼ぶことができる。今後はさらにこの分野の進展、専門家の増加を期待したい<sup>176)</sup>。

## 文 献

- Schauer, R. (1982) *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **40**, 131-234.
- Varki, A., Cummings, R.D., Esko, J.D., Freeze, H.H., Hart, G.W., & Etzler, M.E. (2010) コールドスプリングハーバー糖鎖生物学第2版 (鈴木康夫, 木全弘治監訳), 丸善.
- Varki, A. (2007) *Nature*, **446**, 1023-1029.
- Suzuki, Y. (1994) *Prog. Lipid Res.*, **33**, 429-457.
- 鈴木康夫 (2002) ウイルス, **51**, 193-200.
- 鈴木康夫 (2004) 生化学, **76**, 227-233.
- Suzuki, Y. (2005) *Biol. Pharm. Bull.*, **28**, 399-408.
- 鈴木康夫 (1990) 生化学, **62**, 231-260.
- Suzuki, Y. (2009) *Chang Gung Med. J.*, **32**, 258-263.
- Suzuki, Y. (2013) <http://www.glycoforum.gr.jp/>
- Sriwilaijaroen, N. & Suzuki, Y. (2014) in *Lectins, Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology* (Hirabayashi, J. ed.), Vol. 1200, pp. 447-480, Humana Press, New York.
- [http://www.who.int/influenza/human\\_animal\\_interface/EN\\_GIP\\_20150106CumulativeNumberH5N1cases\\_corrected.pdf?ua=1](http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/EN_GIP_20150106CumulativeNumberH5N1cases_corrected.pdf?ua=1)
- [http://www.who.int/influenza/human\\_animal\\_interface/influenza\\_h7n9/en/](http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/influenza_h7n9/en/)
- Chen, H., Smith, G.J.D., Zhang, S.Y., Qin, K., Wang, J., Li, K.S., Webster, R.G., Peiris, J.S., & Guan, Y. (2005) *Nature*, **436**, 191-192.
- Chen, H.L., Li, Y.B., Li, Z.J., Shi, J.Z., Shinya, K., Deng, G., Qi, Q., Tian, G., Fan, S., Zhao, H., Sun, Y., & Kawaoka, Y. (2006) *J. Virol.*, **80**, 5976-5983.
- Liu, J., Xiao, H., Lei, F., Zhu, Q., Qin, K., Zhang, X.W., Zhang, X.L., Zhao, D., Wang, G., Feng, Y., Ma, J., Liu, W., Wang, J., & Gao, G.F. (2005) *Science*, **309**, 1206.
- Wu, Y., Wu, Y., Tefsen, B., Shi, Y., & Gao, G.F. (2014) *Trends Microbiol.*, **22**, 183-191.
- Mehle, A. (2014) *Viruses*, **6**, 3438-3449.
- Tong, S., Li, Y., Rivallier, P., Conrardy, C., Castillo, D.A., Chen, L.M., Recuenco, S., Ellison, J.A., Davis, C.T., York, I.A., Turmelle, A.S., Moran, D., Rogers, S., Shi, M., Tao, Y., Weil, M.R., Tang, K., Rowe, L.A., Sammons, S., Xu, X., Frace, M., Lindblade, K.A., Cox, N.J., Anderson, L.J., Rupprecht, C.E., & Donis, R.O. (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 4269-4274.
- Zhu, X., Yang, H., Guo, Z., Yu, W., Carney, P.J., Li, Y., Chen, L.M., Paulson, J.C., Donis, R.O., Tong, S., Stevens, J., & Wilson, I.A. (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 18903-18908.
- Zhu, X., Yu, W., McBride, R., Li, Y., Chen, L.M., Donis, R.O., Tong, S., Paulson, J.C., & Wilson, I.A. (2013) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 1458-1463.
- Tong, S., Zhu, X., Li, Y., Shi, M., Zhang, J., Bourgeois, M., Yang, H., Chen, X., Recuenco, S., Gomez, J., Chen, L.M., Johnson, A., Tao, Y., Dreyfus, C., Yu, W., McBride, R., Carney, P.J., Gilbert, A.T., Chang, J., Guo, Z., Davis, C.T., Paulson, J.C., Stevens, J., Rupprecht, C.E., Holmes, E.C., Wilson, I.A., & Donis, R.O. (2013) *PLoS Pathog.*, **9**, e1003657.
- Fereidouni, S., Kwasnitschka, L., Balkema Buschmann, A., Müller, T., Freuling, C., Schatz, J., Pikula, J., Bandouchova, H., Hoffmann, R., Ohlendorf, B., Kerth, G., Tong, S., Donis, R., Beer, M., & Harder, T. (2014) *Zoonoses Public Health*, doi: 10.1111/zph.12131
- Suzuki, Y. (2011) *Adv. Exp. Med. Biol.*, **705**, 443-452.
- Suzuki, Y. (2011) *Journal of Disaster Research*, **6**, 398-403.
- Paulson, J.C. & de Vries, R.P. (2013) *Virus Res.*, **178**, 1-186.
- Gambaryan, A., Tuzikov, A., Pazynina, G., Bovin, N., Balish, A., & Klimov, A. (2006) *Virology*, **344**, 432-438.
- Chutinimitkul, S., van Riel, D., Munster, V.J., van den Brand, J.M., Rimmelzwaan, G.F., Kuiken, T., Osterhaus, A.D., Fouchier, R.A., & de Wit, E. (2010) *J. Virol.*, **84**, 6825-6833.
- Stevens, J., Blixt, O., Chen, L.M., Donis, R.O., Paulson, J.C., & Wilson, I.A. (2008) *J. Mol. Biol.*, **381**, 1382-1394.
- Böttcher-Friebertshäuser, E., Garten, W., Matrosovich, M., & Klenk, H.D. (2014) *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **385**, 3-34.
- Xiong, X., McCauley, J.W., & Steinhauer, D.A. (2014) *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **385**, 63-91.
- Gamblin, S.J. & Skehel, J.J. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 28403-28409.
- Suzuki, Y., Matsunaga, M., & Matsumoto, M. (1985) *J. Biol. Chem.*, **260**, 1362-1365.
- Suzuki, Y., Nagao, Y., Kato, H., Matsumoto, M., Nerome, K., Nakajima, K., & Nobusawa, E. (1986) *J. Biol. Chem.*, **261**, 17057-17061.
- Suzuki, Y., Nakao, T., Ito, T., Watanabe, N., Toda, Y., Xu, G., Suzuki, T., Kobayashi, T., Kimura, Y., Yamada, A., et al. (1992) *Virology*, **189**, 121-131.
- Ito, T., Suzuki, Y., Takada, A., Kawamoto, A., Otsuki, K., Masuda, H., Suzuki, T., Kida, H., & Kawaoka, Y. (1997) *J. Virol.*, **71**, 3357-3362.
- Suzuki, Y., Ito, T., Suzuki, T., Holland, R.E. Jr., Chambers, T.M., Kiso, M., Ishida, H., & Kawaoka, Y. (2000) *J. Virol.*, **74**, 11825-11831.
- Ito, T., Suzuki, Y., Suzuki, T., Tanaka, A., Horimoto, T., Wells, K., Kida, H., Otsuki, K., Kiso, M., Ishida, H., & Kawaoka, Y. (2000) *J. Virol.*, **74**, 9300-9305.
- Le, Q.M., Kiso, M., Someya, K., Sakai, Y.T., Nguyen, T.H., Nguyen, K.H., Pham, N.D., Ngyen, H.H., Yamada, S., Mura-



- moto, Y., Horimoto, T., Takada, A., Goto, H., Suzuki, T., Suzuki, Y., & Kawaoka, Y. (2005) *Nature*, **437**, 1108.
- 40) Yamada, S., Suzuki, Y., Suzuki, T., Le, M.Q., Nidom, C.A., Tagawa-Sakai, Y., Muramoto, Y., Ito, M., Kiso, M., Horimoto, T., Shinya, K., Sawada, T., Kiso, M., Lin, Y., Hay, A., Haire, L.F., Stevens, D.J., Russel, R.J., Gambin, S.J., Skehel, J.J., & Kawaoka, Y. (2006) *Nature*, **444**, 378–382.
- 41) Auewarakul, P., Suptawiwat, O., Kongchanagul, A., Sangma, C., Suzuki, Y., Ungchusak, K., Louisirirochanakul, S., Lertsamran, H., Pooruk, P., Thitithanyanont, A., Pittayawonganon, C., Guo, C.T., Hiramatsu, H., Jampangern, W., Chunsutthiwat, S., & Puthavathana, P. (2007) *J. Virol.*, **81**, 9950–9955.
- 42) Boltz, D.A., Douangngeun, B., Phommachanh, P., Sinthasak, S., Mondry, R., Obert, C., Seiler, P., Keating, R., Suzuki, Y., Hiramatsu, H., Govorkova, E.A., & Webster, R.G. (2010) *J. Gen. Virol.*, **91**, 949–959.
- 43) Nidom, C.A., Takano, R., Yamada, S., Sakai-Tagawa, Y., Daulay, S., Aswadi, D., Suzuki, T., Suzuki, Y., Iwatsuki-Horimoto, K., Shinya, K., Muramoto, Y., & Kawaoka, Y. (2010) *Emerg. Infect. Dis.*, **16**, 1515–1523.
- 44) Watanabe, Y., Ibrahim, M.S., Ellakany, H.F., Kawashita, N., Mizuike, R., Hiramatsu, H., Sriwilaijaroen, N., Takagi, T., Suzuki, Y., & Ikuta, K. (2011) *PLoS Pathog.*, **7**, e-1002068.
- 45) Imai, M., Watanabe, T., Hatta, M., Das, S.C., Ozawa, M., Shinya, K., Zhong, G., Hanson, A., Katsura, H., Watanabe, S., Li, C., Kawakami, E., Yamada, S., Kiso, M., Suzuki, Y., Maher, E.A., Neumann, G., & Kawaoka, Y. (2012) *Nature*, **486**, 420–428.
- 46) Wang, G., Deng, G., Shi, J., Luo, W., Zhang, G., Zhang, Q., Liu, L., Jiang, Y., Li, C., Sriwilaijaroen, N., Hiramatsu, H., Suzuki, Y., Kawaoka, Y., & Chen, H. (2014) *J. Virol.*, **88**, 3953–3964.
- 47) Li, X., Shi, J., Guo, J., Deng, G., Zhang, Q., Wang, J., He, X., Wang, K., Chen, J., Li, Y., Fan, J., Kong, H., Gu, C., Guan, Y., Suzuki, Y., Kawaoka, Y., Liu, L., Jiang, Y., Tian, G., Li, Y., Bu, Z., & Chen, H. (2014) *PLoS Pathog.*, **10**, e-1004508.
- 48) Watanabe, Y., Arai, Y., Daidoji, T., Kawashita, N., Ibrahim, M.S., Hiramatsu, H., Kubota-Koketsu, R., Takagi, T., Murata, T., Usui, T., Takahashi, K., Okuno, Y., Nakaya, T., Suzuki, Y., & Ikuta, K. (2015) *mBio*, 6(2):e00081-15.
- 49) Wu, Y., Wu, Y., Tefsen, B., Shi, Y., & Gao, G.F. (2014) *Trends Microbiol.*, **22**, 183–181.
- 50) Chandrasekaran, A., Srinivasan, A., Raman, R., Viswanathan, K., Raguram, S., Tumpey, T.M., Sasisekharan, V., & Sasisekharan, R. (2008) *Nat. Biotechnol.*, **26**, 107–113.
- 51) Viswanathan, K., Chandrasekaran, A., Srinivasan, A., Raman, R., Sasisekharan, V., & Sasisekharan, R. (2010) *Glycoconj. J.*, **27**, 561–570.
- 52) Bewley, C.A. (2008) *Nat. Biotechnol.*, **26**, 60–62.
- 53) Hidari, K.I.P.J., Murata, T., Yoshida, K., Takahashi, Y., Minamijima, Y., Miwa, Y., Adachi, S., Ogata, M., Usui, T., Suzuki, Y., & Suzuki, T. (2008) *Glycobiology*, **18**, 779–788.
- 54) Burnet, F.M. & Bull, D.H. (1943) *Aust. J. Exp. Biol. Med.*, **21**, 55–69.
- 55) Burnet, F.M. & Stone, J.D., et al. (1949) *Br. J. Exp. Pathol.*, **30**, 419–425.
- 56) Stone, J.D. (1951) *Br. J. Exp. Pathol.*, **32**, 367–376.
- 57) Burnet, F.M. (1940) *Br. J. Exp. Pathol.*, **21**, 147–153.
- 58) Robertson, J.S., Nicolson, C., Major, D., Robertson, E.W., & Wood, J.M. (1993) *J. Gen. Virol.*, **74**, 2047–2051.
- 59) Ito, T., Suzuki, Y., Takada, A., Kawamoto, A., Otsuki, K., Masuda, H., Suzuki, T., Kida, H., & Kawaoka, Y. (1997) *J. Virol.*, **71**, 3357–3362.
- 60) Sriwilaijaroen, N., Kondo, S., Yagi, H., Wilairat, P., Hiramatsu, H., Ito, M., Ito, Y., Kato, K., & Suzuki, Y. (2009) *Glycoconj. J.*, **26**, 433–443.
- 61) Takemae, N., Ruttanapumma, R., Parchariyanon, S., Yoneyama, S., Hayashi, T., Hiramatsu, H., Sriwilaijaroen, N., Uchida, Y., Kondo, S., Yagi, H., Kato, K., Suzuki, Y., & Saito, T. (2010) *J. Gen. Virol.*, **91**, 938–948.
- 62) Kumari, K., Gulati, S., Smith, D.F., Gulati, U., Cummings, R.D., & Air, G.M. (2007) *Virol. J.*, **4**, 42.
- 63) Stevens, J., Chen, L.M., Carney, P.J., Garten, R., Foust, A., Le, J., Pokorny, B.A., Manojkumar, R., Silverman, J., Devis, R., Rhea, K., Xu, X., Bucher, D.J., Paulson, J.C., Cox, N.J., Klimov, A., & Donis, R.O. (2010) *J. Virol.*, **84**, 8287–8299.
- 64) Connor, R.J., Kawaoka, Y., Webster, R.G., & Paulson, J.C. (1994) *Virology*, **205**, 17–23.
- 65) Matrosovich, M., Tuzikov, A., Bovin, N., Gambaryan, A., Klimov, A., Castrucci, M.R., Donatelli, I., & Kawaoka, Y. (2000) *J. Virol.*, **74**, 8502–8512.
- 66) Kobasa, D., Takada, A., Shinya, K., Halfman, P., Hatta, M., Theriault, S., Suzuki, H., Nishimura, H., Mitamura, K., Sugaya, N., Usui, T., Murata, T., Suzuki, T., Suzuki, Y., Feldman, H., & Kawaoka, Y. (2004) *Nature*, **431**, 703–707.
- 67) Glaser, L., Stevens, J., Zamarin, D., Wilson, I.A., Garcia-Sastre, A., Tumpey, T.M., Basler, C.F., Taubenberger, J.K., & Palese, P. (2005) *J. Virol.*, **79**, 11533–11536.
- 68) Stevens, J., Blixt, O., Glaser, L., Taubenberger, J.K., Palese, P., Paulson, J.C., & Wilson, I.A. (2006) *J. Mol. Biol.*, **355**, 1143–1155.
- 69) Tumpey, T.M., Maines, T.R., Van Hoeven, N., Glaser, L., Solórzano, A., Pappas, C., Cox, N.J., Swayne, D.E., Palese, P., Katz, J.M., & Garcia-Sastre, A. (2007) *Science*, **315**, 655–659.
- 70) Childs, R.A., Palma, A.S., Wharton, S., Matrosovich, T., Liu, Y., Chai, W., Campanero-Rhodes, M.A., Zhang, Y., Eickmann, M., Kiso, M., Hay, A., Matrosovich, M., & Feizi, T. (2009) *Nat. Biotechnol.*, **27**, 797–799.
- 71) Xu, R., McBride, R., Paulson, J.C., Basler, C.F., & Wilson, I.A. (2010) *J. Virol.*, **84**, 1715–1721.
- 72) Burnet, F.M. & Bull, D.H. (1943) *Aust. J. Exp. Biol. Med.*, **21**, 55–69.
- 73) Gottshalk, A. (1957) *Biochim. Biophys. Acta*, **23**, 645–646.
- 74) Rogers, G.N. & Paulson, J.C. (1983) *Virology*, **127**, 361–373.
- 75) Rogers, G.N., Daniels, R.S., Skehel, J.J., Wiley, D.C., Wang, X.F., Higa, H.H., & Paulson, J.C. (1985) *J. Biol. Chem.*, **260**, 7362–7367.
- 76) Takahashi, T., Kawakami, T., Mizuno, T., Minami, A., Uchida, Y., Saito, T., Matsui, S., Ogata, M., Usui, T., Sriwilaijaroen, N., Hiramatsu, H., Suzuki, Y., & Suzuki, T. (2013) *PLoS ONE*, **8**, e78125.
- 77) Sriwilaijaroen, N. & Suzuki, Y. (2014) in *Lectins, Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology* (Hirabayashi, J. ed.), Vol. 1200, pp. 107–120, Humana Press, New York.
- 78) Stevens, J., Blixt, O., Tumpey, T.M., Taubenberger, J.K., Paulson, J.C., & Wilson, I.A. (2006) *Science*, **312**, 404–410.
- 79) Stevens, J., Blixt, O., Paulson, J.C., & Wilson, I.A. (2006) *Nat. Rev. Microbiol.*, **4**, 857–864.
- 80) Belser, J.A., Blixt, O., Chen, L.M., Pappas, C., Maines, T.R., Van Hoeven, N., Donis, R., Busch, J., McBride, R., Paulson, J.C., Katz, J.M., & Tumpey, T.M. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 7558–7563.
- 81) Yang, H., Chen, L.M., Carney, P.J., Donis, R.O., & Stevens, J. (2010) *PLoS Pathog.*, **6**, e1001081.
- 82) Chen, L.M., Blixt, O., Stevens, J., Lipatov, A.S., Davis, C.T.,

- Collins, B.E., Cox, N.J., Paulson, J.C., & Donis, R.O. (2012) *Virology*, **422**, 105–113.
- 83) Xu, R., McBride, R., Paulson, J.C., Basler, C.F., & Wilson, I.A. (2010) *J. Virol.*, **84**, 1715–1721.
- 84) Imamura, T., Okamoto, M., Nakakita, S., Suzuki, A., Saito, M., Lupisan, S., Roy, C., Hiramatsu, H., Sugawara, K., Mizuta, K., Matsuzaki, Y., Suzuki, Y., & Oshitani, H. (2013) *J. Virol.*, **88**, 2374–2384.
- 85) Watanabe, Y., Ito, T., Ibrahim, M.S., Arai, Y., Hotta, K., Phuong, H.V.M., Hang, N.L.K., Mai, L.Q., Soda, K., Yamaoka, M., Poetranto, E.D., Wulandari, L., Hiramatsu, H., Daidoji, T., Kubota-Koketsu, R., Sriwilaijaroen, N., Nakaya, T., Okuno, Y., Takahashi, T., Suzuki, T., Ito, T., Hotta, H., Yamashiro, T., Hayashi, T., Morita, K., Ikuta, K., & Suzuki, Y. (2015) *Biosens. Bioelectron.*, **65**, 211–219.
- 86) Tamura, D., Fujino, M., Ozawa, M., Iwatsuki-Horimoto, K., Goto, H., Sakai-Tagawa, Y., Horimoto, T., Nirasawa, M., & Kawaoka, Y. (2010) *Pediatr. Infect. Dis. J.*, **29**, 578–579.
- 87) Uiprasertkul, M., Puthavathana, P., Sangsiriwut, K., Pooruk, P., Srisook, K., Peiris, M., Nicholls, J.M., Chokephaibulkit, K., Vanprapar, N., & Auewarakul, P. (2005) *Emerg. Infect. Dis.*, **11**, 1036–1041.
- 88) Shinya, K., Ebina, M., Yamada, S., Ono, M., Kasai, N., & Kawaoka, Y. (2006) *Nature*, **440**, 435–436.
- 89) van Riel, D., den Bakker, M.A., Leijten, L.M., Chutinimitkul, S., Munster, V.J., de Wit, E., Rimmelzwaan, G.F., Fouchier, R.A., Osterhaus, A.D., & Kuiken, T. (2010) *Am. J. Pathol.*, **176**, 1614–1618.
- 90) Walther, T., Karamanska, R., Chan, R.W., Chan, M.C., Jia, N., Air, G., Hopton, C., Wong, M.P., Dell, A., Malik Peiris, J.S., Haslam, S.M., & Nicholls, J.M. (2013) *PLoS Pathog.*, **9**, e1003223.
- 91) Nicholls, J.M., Bourne, A.J., Chen, H., Guan, Y., & Peiris, J.S. (2007) *Respir. Res.*, **8**, 73.
- 92) Ito, T., Couceiro, J.N., Kelm, S., Baum, L.G., Krauss, S., Castrucci, M.R., Donatelli, I., Kida, H., Paulson, J.C., Webster, R.G., & Kawaoka, Y. (1998) *J. Virol.*, **72**, 7367–7373.
- 93) Kimble, B., Nieto, G.R., & Perez, D.R. (2010) *Viol. J.*, **7**, 365.
- 94) Kuchipudi, S.V., Nelli, R., White, G.A., Bain, M., Chang, K.C., & Dunham, S. (2009) *J. Mol. Genet. Med.*, **3**, 143–151.
- 95) Yu, J.E., Yoon, H., Lee, J.H., Chang, B.J., Song, C.S., & Nahm, S.S. (2011) *J. Vet. Sci.*, **12**, 7–13.
- 96) Wan, H. & Perez, D.R. (2006) *Virology*, **346**, 278–286.
- 97) Yamada, S., Shinya, K., Takada, A., Ito, T., Suzuki, T., Suzuki, Y., Le, Q.M., Ebina, M., Kasai, N., Kida, H., Horimoto, T., Rivallier, P., Chen, L.M., Donis, R.O., & Kawaoka, Y. (2012) *J. Virol.*, **86**, 1411–1420.
- 98) Guo, C.T., Takahashi, N., Yagi, H., Kato, K., Takahashi, T., Yi, S.Q., Chen, Y., Ito, T., Otsuki, K., Kida, H., Kawaoka, Y., Hidari, K.I., Miyamoto, D., Suzuki, T., & Suzuki, Y. (2007) *Glycobiology*, **17**, 713–724.
- 99) Saito, T., Lim, W., Suzuki, T., Suzuki, Y., Kida, H., Nishimura, S., & Tashiro, M. (2001) *Vaccine*, **20**, 125–133.
- 100) Matrosovich, M.N., Krauss, S., & Webster, R.G. (2001) *Virology*, **281**, 156–162.
- 101) Wang, G., Deng, G., Shi, J., Luo, W., Zhang, G., Zhang, Q., Liu, L., Jiang, Y., Li, C., Sriwilaijaroen, N., Hiramatsu, H., Suzuki, Y., Kawaoka, Y., & Chen, H. (2014) *J. Virol.*, **88**, 3953–3964.
- 102) Li, X., Shi, J., Guo, J., Deng, G., Zhang, Q., Wang, J., He, X., Wang, K., Chen, J., Li, Y., Fan, J., Kong, H., Gu, C., Guan, Y., Suzuki, Y., Kawaoka, Y., Liu, L., Jiang, Y., Tian, G., Li, Y., Bu, Z., & Chen, H. (2014) *PLoS Pathog.*, **10**, e1004508.
- 103) Shichinohe, S., Okamatsu, M., Sakoda, Y., & Kida, H. (2013) *Virology*, **444**, 404–408.
- 104) Nelli, R.K., Kuchipudi, S.V., White, G.A., Perez, B.B., Dunham, S.P., & Chang, K.C. (2010) *BMC Vet. Res.*, **6**, 4.
- 105) Van Poucke, S.G., Nicholls, J.M., Nauwynck, H.J., & Van Reeth, K. (2010) *Viol. J.*, **7**, 38.
- 106) Sriwilaijaroen, N., Kondo, S., Yagi, H., Takemae, N., Saito, T., Hiramatsu, H., Kato, K., & Suzuki, Y. (2011) *PLoS ONE*, **6**, e16302.
- 107) Bateman, A.C., Karamanska, R., Busch, M.G., Dell, A., Olsen, C.W., & Haslam, S.M. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 34016–34026.
- 108) Byrd-Leotis, L., Liu, R., Bradley, K.C., Lasanajak, Y., Cummings, S.F., Song, X., Heimburg-Molinaro, J., Galloway, S.E., Culhane, M.R., Smith, D.F., Steinhauer, D.A., & Cummings, R.D. (2014) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, E2241–E2250.
- 109) van Riel, D., Munster, V.J., de Wit, E., Rimmelzwaan, G.F., Fouchier, R.A., Osterhaus, A.D., & Kuiken, T. (2007) *Am. J. Pathol.*, **171**, 1215–1223.
- 110) Xu, Q., Wang, W., Cheng, X., Zengel, J., & Jin, H. (2010) *J. Virol.*, **84**, 4936–4945.
- 111) Imai, M., Watanabe, T., Hatta, M., Das, S.C., Ozawa, M., Shinya, K., Zhong, G., Hanson, A., Katsura, H., Watanabe, S., Li, C., Kawakami, E., Yamada, S., Kiso, M., Suzuki, Y., Maher, E.A., Neumann, G., & Kawaoka, Y. (2012) *Nature*, **486**, 420–428.
- 112) Maines, T.R., Chen, L.M., Matsuoka, Y., Chen, H., Rowe, T., Ortin, J., Falcon, A., Nguyen, T.H., Mai, Q., Sedyaningsih, E.R., Harun, S., Tumpey, T.M., Donis, R.O., Cox, N.J., Subbarao, K., & Katz, J.M. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 12121–12126.
- 113) Chen, L.M., Blixt, O., Stevens, J., Lipatov, A.S., Davis, C.T., Collins, B.E., Cox, N.J., Paulson, J.C., & Donis, R.O. (2012) *Virology*, **422**, 105–113.
- 114) Maines, T.R., Chen, L.M., Van Hoeven, N., Tumpey, T.M., Blixt, O., Belser, J.A., Gustin, K.M., Pearce, M.B., Pappas, C., Stevens, J., Cox, N.J., Paulson, J.C., Raman, R., Sasisekharan, R., Katz, J.M., & Donis, R.O. (2011) *Virology*, **413**, 139–147.
- 115) Ng, P.S., Böhm, R., Hartley-Tassell, L.E., Steen, J.A., Wang, H., Lukowski, S.W., Hawthorne, P.L., Trezise, A.E., Coloe, P.J., Grimmond, S.M., Haselhorst, T., von Itzstein, M., Paton, A.W., Paton, J.C., & Jennings, M.P. (2014) *Nat. Commun.*, **5**, 5750.
- 116) Lakdawala, S.S., Shih, A.R., Jayaraman, A., Lamirande, E.W., Moore, I., Paskel, M., Sasisekharan, R., & Subbarao, K. (2013) *Virology*, **446**, 349–356.
- 117) Jia, N., Barclay, W.S., Roberts, K., Yen, H.L., Chan, R.W., Lam, A.K., Air, G., Peiris, J.S., Dell, A., Nicholls, J.M., & Haslam, S.M. (2014) *J. Biol. Chem.*, **289**, 28489–28504.
- 118) Suzuki, Y., Matsunaga, M., Nagao, Y., Taki, T., Hirabayashi, Y., & Matsumoto, M. (1985) *Vaccine*, **3**, S201–S213.
- 119) Shinya, K., Hatta, M., Yamada, S., Takada, A., Watanabe, S., Halfman, P., Horimoto, T., Neumann, G., Lim, W., Guan, Y., Peiris, M., Kiso, M., Suzuki, T., Suzuki, Y., & Kawaoka, Y. (2005) *J. Virol.*, **79**, 9926–9932.
- 120) Herfst, S., Schrauwen, E.J., Linster, M., Chutinimitkul, S., de Wit, E., Munster, V.J., Sorrell, E.M., Bestebroer, T.M., Burke, D.F., Smith, D.J., Rimmelzwaan, G.F., Osterhaus, A.D., & Fouchier, R.A. (2012) *Science*, **336**, 1534–1541.
- 121) Chen, L.M., Blixt, O., Stevens, J., Lipatov, A.S., Davis, C.T., Collins, B.E., Cox, N.J., Paulson, J.C., & Donis, R.O. (2012) *Virology*, **422**, 105–113.



- 122) de Vries, R.P., Zhu, X., McBride, R., Rigter, A., Hanson, A., Zhong, G., Hatta, M., Xu, R., Yu, W., Kawaoka, Y., de Haan, C.A., Wilson, I.A., & Paulson, J.C. (2014) *J. Virol.*, **88**, 768–773.
- 123) Yang, Z.Y., Wei, C.J., Kong, W.P., Wu, L., Xu, L., Smith, D.F., & Nabel, G.J. (2007) *Science*, **317**, 825–828.
- 124) Ayora-Talavera, G., Shelton, H., Scull, M.A., Ren, J., Jones, I.M., Pickles, R.J., & Barclay, W.S. (2009) *PLoS ONE*, **4**, e7836.
- 125) Yagi, H., Takahashi, N., Suzuki, T., Watanabe, S., Tanigawa, A., Suzuki, Y., & Kato, K. (2012) *Open Glycoscience*, **5**, 2–12.
- 126) Deom, C.M., Caton, A.J., & Schulze, I.T. (1986) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 3771–3775.
- 127) de Graaf, M. & Fouchier, R.A.M. (2014) *EMBO J.*, **33**, 823–841.
- 128) Gambaryan, A.S., Marinina, V.P., Tuzikov, A.B., Bovin, N.V., Rudneva, I.A., Sinitsyn, B.V., Shilov, A.A., & Matrosovich, M.N. (1998) *Virology*, **247**, 170–177.
- 129) Matrosovich, M., Zhou, N., Kawaoka, Y., & Webster, R. (1999) *J. Virol.*, **73**, 1146–1155.
- 130) Saito, T., Nakaya, Y., Suzuki, T., Ito, R., Saito, T., Saito, H., Takao, S., Sahara, K., Odagiri, T., Murata, T., Usui, T., Suzuki, Y., & Tashiro, M. (2004) *J. Med. Virol.*, **74**, 336–343.
- 131) Vigerust, D.J. & Shepherd, V.L. (2007) *Trends Microbiol.*, **15**, 211–218.
- 132) Wang, C.C., Chen, J.R., Tseng, Y.C., Hsu, C.H., Hung, Y.F., Chen, S.W., Chen, C.M., Khoo, K.H., Cheng, T.J., Cheng, Y.S., Jan, J.T., Wu, C.Y., Ma, C., & Wong, C.H. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 18137–18142.
- 133) Jayaraman, A., Koh, X., Li, J., Raman, R., Viswanathan, K., Shriver, Z., & Sasisekharan, R. (2012) *Biochem. J.*, **444**, 429–435.
- 134) Rödig, J.V., Rapp, E., Bohne, J., Kampe, M., Kaffka, H., Bock, A., Genzel, Y., & Reichl, U. (2013) *Biotechnol. Bioeng.*, **110**, 1691–1703.
- 135) Hütter, J., Rödig, J.V., Höper, D., Seeberger, P.H., Reichl, U., Rapp, E., & Lepenies, B. (2012) *J. Immunol.*, **190**, 220–230.
- 136) Rödig, J.V., Rapp, E., Bohne, J., Kampe, M., Kaffka, H., Bock, A., Genzel, Y., & Reichl, U. (2013) *Biotechnol. Bioeng.*, **110**, 1691–1703.
- 137) Mochalova, L., Kurova, V., Shtyrya, Y., Korchagina, E., Gambaryan, A., Belyanchikov, I., & Bovin, N. (2007) *Arch. Virol.*, **152**, 2047–2057.
- 138) Onsirisakul, N., Nakakita, S., Boonarkart, C., Kongchanagul, A., Suptawiwat, O., Puthavathana, P., Chaichuen, K., Kittiniyom, K., Suzuki, Y., & Auewarakul, P. (2014) *World J. Virol.*, **3**, 30–36.
- 139) Kobasa, D., Kodihalli, S., Luo, M., Castrucci, M.R., Donatelli, I., Suzuki, Y., Suzuki, T., & Kawaoka, Y. (1999) *J. Virol.*, **73**, 6743–6751.
- 140) Hughes, M.T., McGregor, M., Suzuki, T., Suzuki, Y., & Kawaoka, Y. (2001) *J. Virol.*, **75**, 3766–3770.
- 141) Wagner, R., Matrosovich, M., Klenk, H.D., Benton, D.J., Martin, S.R., Wharton, S.A., & McCauley, J.W. (2002) *Rev. Med. Virol.*, **12**, 159–166.
- 142) Yen, H.L., Liang, C.H., Wu, C.Y., Forrest, H.L., Ferguson, A., Choy, K.T., Jones, J., Wong, D.D., Cheung, P.P., Hsu, C.H., Li, O.T., Yuen, K.M., Chan, R.W., Poon, L.L., Chan, M.C., Nicholls, J.M., Krauss, S., Wong, C.H., Guan, Y., Webster, R.G., Webby, R.J., & Peiris, M. (2011) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 14264–14269.
- 143) Gen, F., Yamada, S., Kato, K., Akashi, H., Kawaoka, Y., & Horimoto, T. (2013) *Arch. Virol.*, **158**, 1003–10011.
- 144) Casalegno, J.S., Ferraris, O., Escuret, V., Bouscambert, M., Bergeron, C., Linès, L., Excoffier, T., Valette, M., Frobert, E., Pillet, S., Pozzetto, B., Lina, B., & Ottmann, M. (2014) *PLoS ONE*, **9**, e104009.
- 145) Benton, D.J., Martin, S.R., Wharton, S.A., & McCauley, J.W. (2015) *J. Biol. Chem.*, **290**, 6516–6521.
- 146) Heider, A., Mochalova, L., Harder, T., Tuzikov, A., Bovin, N., Wolff, T., Matrosovich, M., & Schweiger, B. (2015) *J. Virol.*, Mar. 4. pii:JVI.03304-14. [Epub ahead of print]
- 147) Suzuki, T., Takahashi, T., Guo, C.T., Hidari, K.I.-P.J., Miyamoto, D., Goto, H., Kawaoka, Y., & Suzuki, Y. (2005) *J. Virol.*, **79**, 11705–11715.
- 148) Takahashi, T., Kurebayashi, Y., Ikeya, K., Mizuno, T., Fukushima, K., Kawamoto, H., Kawaoka, Y., Suzuki, Y., & Suzuki, T. (2010) *PLoS ONE*, **5**, e15556.
- 149) Takahashi, T., Suzuki, T., Hidari, K.I., Miyamoto, D., & Suzuki, Y. (2003) *FEBS Lett.*, **543**, 71–75.
- 150) Matrosovich, M., Herrler, G., & Klenk, H.D. (2013) *Top. Curr. Chem.*, **2013**, 20.
- 151) Stencel-Baerenwald, J.E., Reiss, K., Reiter, D.M., Stehle, T., & Dermody, T.S. (2014) *Nat. Rev. Microbiol.*, **12**, 739–749.
- 152) Markwell, M.A., Fredman, P., & Svennerholm, L. (1984) *Biochim. Biophys. Acta*, **775**, 7–16.
- 153) Suzuki, Y., Suzuki, T., Matsunaga, M., & Matsumoto, M. (1985) *J. Biochem.*, **97**, 1189–1199.
- 154) Wybenga, L.E., Epand, R.F., Nir, S., Chu, J.W., Sharom, F.J., Flanagan, T.D., & Epand, R.M. (1996) *Biochemistry*, **35**, 9513–9518.
- 155) Villar, E. & Barroso, I.M. (2006) *Glycoconj. J.*, **23**, 5–17.
- 156) Connaris, H., Takimoto, T., Russell, R., Crennell, S., Moustafa, I., Portner, A., & Taylor, G. (2002) *J. Virol.*, **76**, 1816–1824.
- 157) Ferreira, L., Villar, E., & Muñoz-Barroso, I. (2004) *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **36**, 2344–2356.
- 158) Ryan, C., Zaitsev, V., Tindal, D.J., Dyason, J.C., Thomson, R.J., Alymova, I., Portner, A., von Itzstein, M., & Taylor, G. (2006) *Glycoconj. J.*, **23**, 135–141.
- 159) Guo, C.T., Nakagomi, O., Mochizuki, M., Ishida, H., Kiso, M., Ohta, Y., Suzuki, T., Miyamoto, D., Hidari, K.I., & Suzuki, Y. (1999) *J. Biochem.*, **126**, 683–688.
- 160) Delorme, C., Brüßow, H., Sidoti, J., Roche, N., Karlsson, K.A., Neeser, J.R., & Teneberg, S. (2001) *J. Virol.*, **75**, 2276–2287.
- 161) Fleming, F.E., Böhm, R., Dang, V.T., Holloway, G., Haselhorst, T., Madge, P.D., Deveryshetty, J., Yu, X., Blanchard, H., von Itzstein, M., & Coulson, B.S. (2014) *J. Virol.*, **88**, 4558–4571.
- 162) Komagome, R., Sawa, H., Suzuki, T., Suzuki, Y., Tanaka, S., Atwood, W.J., & Nagashima, K. (2002) *J. Virol.*, **76**, 12992–13000.
- 163) Gee, G.V., Tsomaia, N., Mierke, D.F., & Atwood, W.J. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 49172–49176.
- 164) Dirr, L., El-Deeb, I.M., Guillon, P., Carroux, C.J., Chavas, L.M., & von Itzstein, M. (2015) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **54**, 2936–2940.
- 165) Fukushima, K., Takahashi, T., Ito, S., Takaguchi, M., Takano, M., Kurebayashi, Y., Oishi, K., Minami, A., Kato, T., Park, E.Y., Nishimura, H., Takimoto, T., & Suzuki, T. (2014) *Virology*, **464–465**, 424–431.
- 166) Xu, R., Palmer, S.G., Porotto, M., Palermo, L.M., Niewiesk, S., Wilson, I.A., & Moscona, A. (2013) *MBio*, **4**, e00803–e00813.
- 167) Han, L., Tan, M., Xia, M., Kitova, E.N., Jiang, X., & Klassen, J.S. (2014) *J. Am. Chem. Soc.*, **136**, 12631–12637.
- 168) Zoicher, G., Mistry, N., Frank, M., Hähnlein-Schick, I.,

- Ekström, J.O., Arnberg, N., & Stehle, T. (2014) *PLoS Pathog.*, **10**, e1004401.
- 169) Frierson, J.M., Puijssers, A.J., Konopka, J.L., Reiter, D.M., Abel, T.W., Stehle, T., & Dermody, T.S. (2012) *J. Virol.*, **86**, 13164–13173.
- 170) Wickramasinghe, I.N. & Verheije, M.H. (2015) *Methods Mol. Biol.*, **1282**, 155–163.
- 171) Shen, S., Troupes, A.N., Pulicherla, N., & Asokan, A. (2013) *J. Virol.*, **87**, 13206–13213.
- 172) Khan, Z.M., Liu, Y., Neu, U., Gilbert, M., Ehlers, B., Feizi, T., & Stehle, T. (2014) *J. Virol.*, **88**, 6100–6111.
- 173) Ströh, L.J., Neu, U., Blaum, B.S., Buch, M.H., Garcea, R.L., & Stehle, T. (2014) *J. Virol.*, **88**, 10831–10839.
- 174) Huang, L.Y., Halder, S., & Agbandje-McKenna, M. (2014) *Curr. Opin. Virol.*, **7**, 108–118.
- 175) Kim, D.S., Hosmillo, M., Alfajaro, M.M., Kim, J.Y., Park, J.G., Son, K.Y., Ryu, E.H., Sorgeloos, F., Kwon, H.J., Park, S.J., Lee, W.S., Cho, D., Kwon, J., Choi, J.S., Kang, M.I., Goodfellow, I., & Cho, K.O. (2014) *PLoS Pathog.*, **10**, e1004172.
- 176) 鈴木康夫 (2003) ウイルス, **53**, 127–131.

## 著者寸描

### ●鈴木 康夫 (すずき やすお)



静岡県立大学名誉教授, 中部大学客員教授。薬学博士。

■略歴 1964年静岡薬科大学卒業。89年静岡県立大学薬学部教授。96年同大学院研究科長。98年静岡県立大学薬学部長。2006年中部大学生命健康科学部教授。10年中部大学生命健康科学研究所長。14年から現職。

■研究テーマと抱負 シアル酸およびシ

アロ糖鎖の機能, 糖鎖ウイルス学分野。

■趣味 渓流釣り。