

学 位 論 文 題 名

Genetic and antigenic characterization of the Amur virus,
a distinct hantavirus serotype carried by *Apodemus peninsulae*

(ハントウアカネズミ由来のアムール型ハントウウイルスの
遺伝子と抗原性の解析)

学位論文内容の要旨

ロシアのウラジオストックで捕獲された 122 例の野生げっ歯類についてハントウイルス抗体の検出を行ったところ、ハントウアカネズミ (*Apodemus peninsulae*) の 70 例中 4 例、セスジネズミ (*A. agrarius*) の 39 例中 1、およびタイリクヤチネズミ (*Clethrionomys rufocanus*) の 8 例中 1 例からハントウイルス抗体が検出された。2 匹の抗体陽性ハントウアカネズミと 2 名の腎症候性出血熱(HFRS)患者からハントウイルスの M 遺伝子が検出された。ハントウアカネズミと患者由来のウイルス遺伝子をそれぞれ、Solovey および Primorye と名付けた。Solovey, Primorye および極東ロシアで HFRS 患者から検出されている Amur 型ハントウイルスの M 遺伝子は互いに 92%以上の一致率を示した。一方、Solovey と Primorye はハントウイルスの標準株である HTN76-118 株と 84%の一致率しか示さなかった。系統樹解析により Solovey, Primorye, Amur, およびロシア、中国、韓国などで検出されるいくつかのウイルスは近縁関係が強いことが明らかになった。これらのことから、ハントウアカネズミが極東ロシアを含む東アジアの広い地域で HFRS を引き起こすハントウイルスの病原巣動物となっていることが明らかになった。

Amur 型と Far East 型の遺伝子型に属するハントウイルスについて遺伝子と抗原性状について解析を行った。Amur 型の代表として H5 株と B78 株を Far East 型の代表として Bao14 株を実験に供した。3' と 5' 端の 20 塩基を除く S と M 遺伝子の全長の塩基配列を決定し、解析を行った。Amur 型の S および M 遺伝子にコードされるアミノ酸配列を HTN ウイルスと比較したところ、それぞれ 96.7%および 92.0-92.2%の一致率を示した。FE と HTN 型の S および M 遺伝子において、アミノ酸配列の一致率はそれぞれ 99.1%および 97.9%であった。またこれら 3 つのウイルス株と HTN ウイルスのモノクローナル抗体に対する反応について比較したところ 1 種類の抗体の反応性が Amur 型

で消失していた他はほとんどの抗体の反応性はウイルス間でほとんど同一であった。しかし、Amur 型に自然感染したハントウアカネズミの血清を用いて交差中和試験を行ったところ、ホモのウイルスに対しては 1:160 から 1:320 倍の中和抗体価を示したが、HTN ウイルスに対しては 1:20 から 1:40 の抗体価であった。抗 HTN 免疫血清はホモのウイルスに対し、1:320 倍の抗体価であったが、Amur 型のウイルスを中和できなかった ($<1:40$)。これらのことから Amur 型はハンタウイルス属の中の一つの独立した血清型を構成する可能性が示唆された。

Amur 型の H5 と B78、Far East 型の Bao14 株および HTN ウイルスについて新生マウスにおける毒力を調べた。これらのウイルスを 1 focus forming unit (FFU) ずつ皮下接種し、マウスの生死を観察したところ、AMR 型と FE 型を接種したマウスの全例がそれぞれ 16 日目と 21 日目までに死亡した。一方、HTN ウイルス接種マウスは 30 日目まで 50% が生残した。Amur 型と Far East 型を接種したマウスでは肺、脳、腎臓でウイルスが多量に検出できたのに対し、HTN 接種マウスでは少量のウイルスが肺においてのみ検出された。また、Amur 型と Far East 型接種マウスの体重増加は HTN 接種マウスよりも遅かった。これらのことから、Amur 型と FE 型のハンタウイルスは HTN ウイルスよりも新生マウスにおいて毒力が強いことが示唆された。

本研究より Amur 型のハンタウイルスの病原巣動物がハントウアカネズミであり、本げっ歯類が分布する北東ユーラシアの広い地域で Amur 型による HFRS が発生している可能性が示唆された。また Amur 型は遺伝子性状も抗原性も HTN ウイルスとは異なり、ハンタウイルス属の中の一つの血清型となりうる可能性が示された。さらに Amur 型のウイルスは新生マウスに対して強い毒力を有することが明らかになった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 高 島 郁 夫

副 査 教 授 喜 田 宏

副 査 教 授 有 川 二 郎 (医学研究科)

副 査 助 教 授 荻 和 宏 明

学 位 論 文 題 名

Genetic and antigenic characterization of the Amur virus,
a distinct hantavirus serotype carried by *Apodemus peninsulae*

(ハントウアカネズミ由来のアムール型ハントウイルスの
遺伝子と抗原性の解析)

ロシアのウラジオストックで捕獲された野生げっ歯類についてハントウイルス抗体の検出を行ったところ、ハントウアカネズミの 4 例、セスジネズミの 1 例、およびタイリクヤチネズミの 1 例から抗ハントウイルス抗体が検出された。2 匹の抗体陽性ハントウアカネズミと 2 名の腎症候性出血熱(HFRS)患者からハントウイルスの M 遺伝子が検出された。ハントウアカネズミと患者由来のウイルス遺伝子(それぞれ Solovey と Primorye)、および極東ロシアで HFRS 患者から検出されているアムール (AMR) 型ハントウイルスの M 遺伝子は互いに 92%以上の一致率を示した。一方、Solovey と Primorye はハンターン (HTN) 型の 76-118 株と 84%の一致率しか示さなかった。

AMR 型のハントウイルスについて遺伝子と抗原性状について解析を行った。3'と 5'端の 20 塩基を除く S と M 遺伝子の全長の塩基配列を決定した。AMR 型の S および M 遺伝子にコードされるアミノ酸配列を 76-118 株と比較したところ、それぞれ 96.7%および 92.0-92.2%の一致率を示した。また AMR 型のウイルス株と HTN 型ウイルスの交差中和試験を行ったところ、抗 AMR 血清と抗 HTN 血清はいずれもホモの中和抗体価がヘテロのものより 8 倍以上高い中和抗体価を示した。したがって、AMR 型はハントウイルス属の中の一つの独立した血清型を構成すると考えられた。

本研究によって、AMR 型のハントウイルスの病原巣動物がハントウアカネズミであり、本ウイルスが HTN 型のウイルスとは異なる血清型であることが示唆された。本知見は HFRS の診断と予防に多大な貢献を果たすものと期待される。よって、審査員一同は上記博士論文提出者 Lokugamage Priyadarshani Samarakone Kahanda Kumari 氏の博士論文が北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規定による博士論文の審査に合格と認めた。