

学 位 論 文 題 名

Epidemiological study of hantavirus infection in Japan and
Russia and isolation of the virus from *Clethrionomys rufocanus*

（日本とロシアにおけるハンタウイルス感染症の疫学的研究と
タイリクヤチネズミからのウイルス分離）

学位論文内容の要旨

多くのハンタウイルスは人に病原性を有し、病原巣動物であるげっ歯類の生息域に従って世界中に分布している。ハンタウイルス感染症は人の重篤な疾患であるが、これまでに二つの病型が存在することが知られている。一つはハンタウイルス肺症候群(HPS)であり、もう一つは腎症候性出血熱(HFRS)である。人に HFRS を引き起こすハンタウイルスの血清型は Hantaan 型、Amur 型、Dobrava 型、Seoul 型、Saaremaa 型、および Puumala 型の 6 種類が知られている。ハンタウイルスの遺伝子は S、M、および L と呼ばれる 3 本分節に分かれたマイナス鎖 RNA で、これらはそれぞれヌクレオキャプシド、エンベロープ糖蛋白、および RNA ポリメラーゼをコードしている。

日本では約 20 年間 HFRS 患者の発生はないが、日本各地の港湾地区のドブネズミがハンタウイルスを保有しているばかりでなく、北海道のエゾヤチネズミ(タイリクヤチネズミの亜種)の約 10%がハンタウイルス抗体陽性である。また、原因不明の肝疾患患者にもハンタウイルス抗体が認められることも明らかになってきた。しかし、全国規模の野生げっ歯類の疫学調査は実施されておらず、特に本州以南では病原巣げっ歯類が特定されていないことから、わが国のハンタウイルス感染の詳細は明らかになっていない。

そこで、本研究ではまず、北海道、本州、四国、および九州において合計 1,221 匹のげっ歯類と食虫類の捕獲を行い、ハンタウイルス抗体の保有状況について調査を行った。その結果、アカネズミ(5/482, 1.0%)、ドブネズミ(4/364, 1.1%)、クマネズミ(3/45, 6.7%)、およびタイリクヤチネズミ(7/197, 1.1%)に抗体陽性例が見られた。函館港で捕獲されたクマネズミからハンタウイルスの S 遺伝子の一部が PCR によって検出され、塩基配列を決定したところ、Seoul 型ウイルスの SR-11 株との一致率は 98.7%であった。また、207 例の北海道の陸上自衛隊員の血清についてハンタウイルス抗体の保有状況を調べたところ、1 例の抗体陽性例が検出された。本血清を感染型別鑑別用の ELISA に供したところ、本例は Seoul 型ハンタウイルスの感染であることが判明した。したがって、日本におけるヒトの Seoul 型ハンタウイルス感染症の危険性が存在することが明らかになった。

ヨーロッパヤチネズミから分離されている Puumala 型に近縁なウイルスが日

本のタイリクヤチネズミに存在することが 10 年ほど前から判明していたが、ウイルスの分離に成功していなかったため、詳細なウイルス性状を明らかにできなかった。そこで、実験動物を用いた分離法を開発するために、マウス、ラット、およびスナネズミに Puumala 型ウイルスを接種し、それぞれの動物体内でのウイルスの増殖性について検討を行った。その結果、スナネズミではウイルス接種 15 日目に抗体が産生されていない状態でウイルス力価は最も高い値にまで上昇した(脳内で 1.36×10^5 FFU/g, tissue)。これに対して、マウスとラットでは感染 15 日目にはすでに抗体が産生されており、臓器中のウイルス力価は $4-8 \times 10^3$ FFU/g, tissue にまでしか上昇しなかった。また、ウイルスの検出された当別町のタイリクヤチネズミの肺乳剤をスナネズミに接種したところ、PCR によりウイルス遺伝子がスナネズミの肺乳剤中から検出された。したがって、スナネズミはヨーロッパヤチネズミが保有するウイルスのみならず、タイリクヤチネズミの保有するウイルスを分離するための最適な実験動物であることが判明した。

ロシアのユジノサハリンスクと当別町で捕獲された抗体陽性のタイリクヤチネズミの肺乳剤を新生スナネズミの脳内に接種し、PCR でウイルス遺伝子の検出された個体の脳乳剤を再び新生スナネズミの脳内に接種した。次に、ウイルス遺伝子陽性の肺乳剤を Vero E6 細胞に接種して 2 週間ごとに継代を行い、60 日目まで継代したところ、細胞中にウイルスのヌクレオキャプシド蛋白とウイルス遺伝子が検出されるようになった。分離されたウイルスの起源はユジノサハリンスクで捕獲されたタイリクヤチネズミであった。以上のように、スナネズミと Vero E6 細胞を用いてタイリクヤチネズミの保有するハンタウイルスが初めて分離され、Sakhaline-99 と名付けた。本ウイルスの S 遺伝子の一部分の配列を解読し、他のハンタウイルスと比較したところ、北海道のタイリクヤチネズミで検出されていたウイルスの遺伝子 TobetsuS-Cr60 との間で塩基配列で 87.2%、アミノ酸配列で 100%と最も高い一致率を示した。

本研究により日本のげっ歯類におけるハンタウイルスの感染状況が明らかになったばかりでなく、タイリクヤチネズミが保有するハンタウイルスが初めて分離された。タイリクヤチネズミは北海道、サハリン、極東ロシアなどを含むユーラシアの北東域に広く分布することから、今後地理的に異なる複数の地点からウイルスを分離し、互いに比較することにより、ハンタウイルスの進化や拡散について解析することが可能になるものと期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 高 島 郁 夫
副 査 教 授 有 川 二 郎 (医学研究科)
副 査 教 授 片 倉 賢
副 査 助教授 荻 和 宏 明

学 位 論 文 題 名

Epidemiological study of hantavirus infection in Japan and Russia and isolation of the virus from *Clethrionomys rufocanus*

(日本とロシアにおけるハンタウイルス感染症の疫学的研究と
タイリクヤチネズミからのウイルス分離)

多くのハンタウイルスは人に病原性を有し、病原巣動物であるげっ歯類の生息域に従って世界中に分布している。ハンタウイルス感染症は人の重篤な疾患であるが、これまでに二つの病型が存在することが知られている。一つはハンタウイルス肺症候群(HPS)であり、もう一つは腎症候性出血熱(HFRS)である。日本では全国規模の野生げっ歯類の疫学調査は実施されておらず、わが国のハンタウイルス感染の詳細は明らかになっていない。

本研究ではまず、北海道、本州、四国、および九州において合計 1,221 匹のげっ歯類と食虫類の捕獲を行い、ハンタウイルス抗体の保有状況について調査を行った。その結果、アカネズミ(5/482, 1.0%)、ドブネズミ(4/364, 1.1%)、クマネズミ(3/45, 6.7%)、およびタイリクヤチネズミ(7/197, 1.1%)に抗体陽性例が見られた。

実験動物を用いたハンタウイルスの分離法を開発するために、マウス、ラット、およびスナネズミについて検討した。その結果スナネズミはヨーロッパヤチネズミが保有するウイルスの増殖に適しており、またタイリクヤチネズミの保有するウイルスを分離するための最適な実験動物であることが判明した。

ロシアのユジノサハリンスクで捕獲された抗体陽性のタイリクヤチネズミの肺乳剤から新生スナネズミ脳内接種と VeroE6 細胞接種によりハンタウイルスが今回初めて分離された。本ウイルスの S 遺伝子の一部分の配列を解読し、他のハンタウイルスと比較したところ、北海道のタイリクヤチネズミで検出されていたウイルスの遺伝子 TobetsuS-Cr60 との間で塩基配列で 87.2%、アミノ酸配列で 100%と最も高い一致率を示した。

本研究により日本のげっ歯類におけるハンタウイルスの感染状況が明らかになったばかりでなく、タイリクヤチネズミが保有するハンタウイルスが初めて分離された。よって審査員一同は、上記学位論文提出者ロクガマゲ ナンダデ

バ氏が博士（獣医学）の学位を授与されるのに十分な資格を有するものと認めた。