

学 位 論 文 題 名

Mode of hantavirus infection among host rodents and
characterization of a vaccine candidate strain of
Puumala virus

(宿主げっ歯類におけるハンタウイルスの感染様式と
プーマラウイルスのワクチン候補株の性状解析)

学位論文内容の要旨

ハンタウイルス属に含まれるプーマラウイルス(PUUV)はヨーロッパヤチネズミを自然宿主としてヨーロッパやロシアに広く分布し、人に感染すると腎症候性出血熱(HFRS)を引き起こす。日本にはPUUVは存在しないが、近縁なホッカイドウウイルス(HOKV)がエゾヤチネズミに保有されている。しかし、現在までにHOKVによる人の感染例は報告されていない。自然宿主である野生げっ歯類集団におけるハンタウイルスの感染様式や伝播様式を知るために、北海道の森林でエゾヤチネズミを捕獲し、抗HOKV抗体、ウイルス抗原、およびウイルス遺伝子を検出することにより、HOKVの感染状況を解析した。その結果、捕獲された199匹中、10例(5.0%)で抗体が検出された。2004年に実施した当別町と中川町の抗体陽性率はオスではそれぞれ25%(1/4)と45.5%(5/11)であったが、メスではそれぞれ5.0%(4/80)と0%(0/37)であった。いずれのげっ歯類の集団においてもオスの抗体陽性率が有意に高かったことから($P<0.01$)、オスがメスよりもHOKVの感染維持や伝播により重要な役割を果たしていることが示唆された。中川町で捕獲されたエゾヤチネズミのうち、2匹では抗体陰性であったが、ウイルス抗原とウイルス遺伝子が陽性であったことから、これら2匹は抗体産生前の急性感染期の個体であると考えられた。抗体もしくはウイルス遺伝子が検出された12例の個体についてreal-time RT-PCRを実施して、各種臓器中のウイルスRNA量を測定したところ、急性感染期個体の肺と脾臓中のウイルスRNAコピー数は急性期以外の感染個体よりも10倍以上高かったことから、急性感染期の個体も感染の拡大に関与しているものと考えられた。

ロシアやヨーロッパ諸国などで年間7,000人ほどのHFRS患者がPUUVの感染によって発生しているが、未だにPUUV感染に対するワクチンは開発されていない。一般にPUUVの培養細胞中における増殖は 10^3 ffu/ml程度と著しく悪いため、少しでも増殖のよいウイルス株を見出すことがワクチン開発の最初の段階として重要である。ロシアのHFRS患者より分離されたPUUVのDTK/Ufa-97株は比較的よく増殖することが予備実験によって明らかにされた。そこで、本ウイルス株について抗原解析や遺伝子解析を行って、ワクチン候補株として適するかどうかについて検討を行った。無血清培地で培養したVero E6細胞におけるウイルスの増殖状況を調べたところ、感染14日目の培地中のDTK/Ufa-97株の

ウイルス感染価は 8.5×10^4 ffu/ml を示し、PUUV の標準株である Sotkamo 株の 3.5×10^3 ffu/ml よりも約 24 倍高かった。ウイルス遺伝子全長の塩基配列を決定して他の PUUV と比較したところ、DTK/Ufa-97 株のエンベロープ糖蛋白質のアミノ酸配列は Sotkamo 株の配列と 92.6% 一致した。また、ハンタウイルスのエンベロープ蛋白質に対する各種モノクローナル抗体は DTK/Ufa-97 株と他の PUUV 株でほとんど同じ反応パターンを示した。また、DTK/Ufa-97 株とその他の PUUV 株の抗 DTK/Ufa-97 株血清に対する中和抗体価は 1:160 から 1:640 と非常に近い値を示したことから、DTK/Ufa-97 株の抗原性は他の PUUV 株に類似していることが明らかになった。以上のことから、DTK/Ufa-97 株は PUUV 感染による HFRS に対するワクチン候補株になりうると考えられた。

本研究により、げっ歯類集団でのハンタウイルスの存続にはオスがメスよりも重要である可能性が示唆された。また、急性感染期の個体は持続感染期の個体よりも体内に保持されるウイルス RNA が多いことから、げっ歯類集団の密度が高い時には、急性感染期の個体が感染の拡大に関与するものと考えられる。また、PUUV の DTK/Ufa-97 株は培養細胞中でよく増殖し、しかも抗原性状が他の PUUV とほとんど同じであることから、PUUV 感染に対するワクチンの候補株として有用であることが示された。本研究で得られたハンタウイルスの自然界での存続様式と HFRS のワクチン開発に関する知見はハンタウイルス感染症の制御にとって有用な情報となると思われる。

学位論文審査の要旨

主査	教授	高島郁夫
副査	教授	大橋和彦
副査	准教授	前田秋彦
副査	准教授	荻和宏明

学位論文題名

Mode of hantavirus infection among host rodents and characterization of a vaccine candidate strain of Puumala virus

(宿主げっ歯類におけるハンタウイルスの感染様式と
プーマラウイルスのワクチン候補株の性状解析)

ハンタウイルス属に含まれるプーマラウイルス(PUUV)はヨーロッパヤチネズミを自然宿主としてヨーロッパやロシアに広く分布し、人に感染すると腎症候性出血熱(HFRS)を引き起こす。日本には PUUV は存在しないが、近縁なホッカイドウウイルス(HOKV)がエゾヤチネズミに保有されている。自然宿主である野生げっ歯類集団におけるハンタウイルスの感染様式や伝播様式を知るために、北海道の森林でエゾヤチネズミを捕獲し、抗 HOKV 抗体、ウイルス抗原、およびウイルス遺伝子を検出することにより、HOKV の感染状況を解析した。その結果、捕獲された 199 匹中、10 例(5.0%)で抗体が検出された。抗体陽性率はオスとメスでそれぞれ 11.5%(6/52)と 2.7%(4/147)であり、オスの抗体陽性率が有意に高かったことから($P<0.01$)、オスがメスよりも HOKV の感染維持や伝播により重要な役割を果たしていることが示唆された。ロシアの HFRS 患者より分離された PUUV の DTK/Ufa-97 株のワクチン株としての有用性について解析を行った。無血清培地で培養した Vero E6 細胞におけるウイルスの増殖状況を調べたところ、感染 14 日目の培地中の DTK/Ufa-97 株のウイルス感染価は PUUV の標準株である Sotkamo 株よりも約 24 倍高かった。ウイルス遺伝子全長の塩基配列を決定して他の PUUV と比較したところ、DTK/Ufa-97 株のエンベロープ糖蛋白質のアミノ酸配列は Sotkamo 株の配列と 92.6%一致した。また、DTK/Ufa-97 株とその他の PUUV 株の抗 DTK/Ufa-97 株血清に対する中和抗体価は 1:160 から 1:640 と非常に近い値を示したことから、DTK/Ufa-97 株の抗原性は他の PUUV 株に類似していることが明らかになった。以上のことから、DTK/Ufa-97 株は PUUV 感染による HFRS に対するワクチン候補株になりうると思われた。

本研究により得られたハンタウイルスの自然界での存続様式と HFRS のワクチン開発に

関する知見はハンタウイルス感染症の制御にとって有用な情報となると思われる。よって審査員一同は上記論文提出者 Nur Hardy bin Abu Daud 氏の博士論文は北海道大学大学院獣医学研究科規定第 6 条の規定による本研究科の行う博士論文等の審査に合格と認めた。