

学位論文題名

Studies on the epidemiology of hantavirus infection in Mexico and the role of nucleocapsid protein N-terminus domain in serological cross-reactivity

（メキシコにおけるハンタウイルス感染症の疫学と血清学的交差反応性に関わるヌクレオキャプシド蛋白のアミノ酸末端領域の役割に関する研究）

学位論文内容の要旨

ハンタウイルスはブニヤウイルス科ハンタウイルス属に属し、野生げっ歯類によって媒介される人獣共通感染症の原因ウイルスである。人は感染げっ歯類の分泌物を吸引することによりハンタウイルスに感染し、腎症候性出血熱（HFRS）及びハンタウイルス肺症候群（HPS）等の重篤なハンタウイルス感染症を発症する。ハンタウイルス感染症は世界中で毎年数万人の患者が報告されているため、公衆衛生上重要な問題となっている。ハンタウイルスは様々な血清型に分類され、自然界においてそれぞれのウイルスは特定のげっ歯類の間で維持されている。

メキシコではこれまで HPS の発生はないが、アメリカ合衆国や中南米諸国では HPS 患者が毎年多数報告されている。しかし、メキシコではげっ歯類にハンタウイルスが存在することが次第に明らかにされつつあるので、HPS の発生はあるものの、診断されずに HPS 患者が見逃されている可能性も考えられる。近年、メキシコのげっ歯類において 3 種類の新規ハンタウイルスが検出され、Montano virus (MTNV)、Carrizal virus (CARV)、および Huitzilac virus (HUIV) と名付けられた。しかし、げっ歯類集団内でのメキシコのハンタウイルスの感染状況や、これらのウイルスの宿主については明らかにされていない。そこで第一章では、メキシコのげっ歯類におけるハンタウイルスの感染状況をさらに詳細に調べるために、メキシコの Guerrero 州と Morelos 州で捕獲された 410 匹のげっ歯類について、抗体検出とウイルス RNA 検出を行い、さらにウイルス遺伝子とチトクローム b 遺伝子 (*cytb*) の塩基配列を決定した。捕獲された 32 種類のげっ歯類種のうち、7 種類のげっ歯類が抗体を保有していた。すなわち、抗体保有率はげっ歯類ごとに、*Peromyscus beatae* が 24.4% (31/127)、*Reithrodontomys sumichrasti* が 40% (6/15)、*R. megalotis* が 8% (2/25)、*P. aztecus evides* が 100% (1/1)、*P. megalops* が 2.4% (1/41)、*Megadontomys thomasi* が 11.1% (1/9)、および *Neotoma picta* が 16.7% (1/6) であり、全体の抗体保有率は 10.5%

(43/410)であった。抗体陽性のげっ歯類のほとんどがウイルス遺伝子を保有していた。ウイルス遺伝子と *cytb* の系統樹解析からメキシコのハンタウイルスは MTNV、CARV、および HUIV の 3 つの系統に分類され、さらに MTNV と CARV は、それぞれ *P. beatae* と *R. sumichrasti* を宿主とすることが示唆された。さらに、これらのハンタウイルスは宿主の集団内で伝播しているだけでなく、宿主以外のげっ歯類にも感染していることが明らかになった。

メキシコのハンタウイルスの検出や性状解析を目的として、MTNV の N 蛋白質に対するモノクローナル抗体 (MAbs) が作出された。ハンタウイルスの N 蛋白質は人やげっ歯類の免疫系を刺激し、交差反応性の強い抗体応答を誘導する。N 蛋白質に対する抗体応答の主要な標的は N 末端にあることが知られているが、なぜ N 末端が抗体の主要な標的になるのかその理由は明らかにされていない。第二章では、MTNV の N 蛋白質に対して作出された 6 種類の MAbs の N 蛋白質に対する反応性を明らかにし、これらの MAbs を用いて様々なハンタウイルス間で認められる N 蛋白質の強い交差反応性について解析を行った。6 種類のうち 5 種類の MAbs は、8 種類のアメリカ大陸を起源とするハンタウイルス、および 6 種類のユーラシア大陸を起源とするハンタウイルスの N 蛋白質と反応したが、トガリネズミ目の *Suncus murinus* を宿主とするハンタウイルスである Thottapalayam virus の N 蛋白質とは反応しなかった。5 つの交差反応性の強い MAbs は N 蛋白質中の N 末端、13 から 51 番目のアミノ酸領域を非連続的なエピトープとして認識していることが示唆された。一方、1 種類の mAb は N 末端中の 1 から 25 番目と、49 から 75 番目のアミノ酸領域を認識しており、北アメリカのハンタウイルスに特異的な反応性を示した。これらの成績から N 蛋白質の N 末端に存在する非連続性のエピトープが少なくともげっ歯類由来のハンタウイルス間で保存されており、このことが N 蛋白質の交差反応性に関連していることが示唆された。

本研究において、メキシコのハンタウイルスが自然宿主となる種のげっ歯類のみならず、それ以外の種のげっ歯類にも感染していることが明らかになった。また、ハンタウイルスの N 蛋白質の広い交差反応性が N 末端の非連続的なエピトープに依存していることが判明した。本研究で得られたメキシコのげっ歯類集団におけるハンタウイルスの感染様式に関する知見と、N 蛋白質に対する交差反応性の強い MAbs は、メキシコのみならず、様々な地域におけるハンタウイルス感染症の予防や診断などに広く応用が可能である。

学位論文審査の要旨

主 査	准教授	荻 和 宏 明
副 査	教 授	有 川 二 郎
副 査	教 授	澤 洋 文
副 査	准教授	迫 田 義 博

学 位 論 文 題 名

Studies on the epidemiology of hantavirus infection in Mexico and the role of nucleocapsid protein N-terminus domain in serological cross-reactivity

(メキシコにおけるハンタウイルス感染症の疫学と血清学的交差反応性に関わるヌクレオキャプシド蛋白のアミノ酸末端領域の役割に関する研究)

ハンタウイルスはブニヤウイルス科ハンタウイルス属に属し、野生げっ歯類によって媒介される人獣共通感染症の原因ウイルスである。人は感染げっ歯類の分泌物を吸引することによりハンタウイルスに感染し、腎症候性出血熱 (HFRS) 及びハンタウイルス肺症候群 (HPS) 等の重篤なハンタウイルス感染症を発症する。ハンタウイルス感染症は世界中で毎年数万人の患者が報告されているため、公衆衛生上重要な問題となっている。ハンタウイルスは様々な血清型に分類され、自然界においてそれぞれのウイルスは特定のげっ歯類の間で維持されている。

メキシコではこれまで HPS の発生はないが、アメリカ合衆国や中南米諸国では HPS 患者が毎年多数報告されている。近年、メキシコのげっ歯類において 3 種類の新規ハンタウイルスが検出され、Montano virus (MTNV)、Carrizal virus (CARV)、および Huitzilac virus (HUIV) と名付けられた。しかし、げっ歯類集団内でのメキシコのハンタウイルスの感染状況や、これらのウイルスの宿主については明らかにされていない。そこで、メキシコのげっ歯類におけるハンタウイルスの感染状況をさらに詳細に調べるために、メキシコの Guerrero 州と Morelos 州で捕獲された 410 匹のげっ歯類について、抗体検出、ウイルス RNA 検出、およびウイルス遺伝子とチトクローム b 遺伝子 (*cytb*) の塩基配列の決定を行った。捕獲された 32 種類のげっ歯類種のうち、7 種類のげっ歯類が抗体を保有していた。すなわち、抗体保有率はげっ歯類ごとに、*Peromyscus beatae* が 24.4% (31/127)、*Reithrodontomys sumichrasti* が 40% (6/15)、*R. megalotis* が 8% (2/25)、*P. aztecus evides* が 100% (1/1)、*P. megalops* が 2.4% (1/41)、*Megadontomys thomasi* が 11.1% (1/9)、および *Neotoma picta* が 16.7% (1/6) であり、全体の抗体保有率は 10.5% (43/410) であった。抗体陽性のげっ歯類のほとんどがウイルス遺伝子を保有していた。ウイルス遺伝子と *cytb* の系統樹解析からメキシコのハンタウイルスは MTNV、CARV、および HUIV の 3 つの系統に分類され、さらに MTNV と CARV は、それぞれ *P. beatae* と *R. sumichrasti* を宿主とすることが示唆された。さらに、これらのハンタウイルスは宿主の集団内で伝播しているだけでなく、宿主以外のげっ歯類にも感染して

いることが明らかになった。

メキシコのハンタウイルスの検出や性状解析を目的として、MTNVのN蛋白質に対するモノクローナル抗体 (MAbs) が作出された。ハンタウイルスのN蛋白質は人やげっ歯類の免疫系を刺激し、交差反応性の強い抗体応答を誘導する。N蛋白質に対する抗体応答の主要な標的はN末端にあることが知られているが、なぜN末端が抗体の主要な標的になるのかその理由は明らかにされていない。そこで、MTNVのN蛋白質に対して作出された6つのMAbsのN蛋白質に対する反応性を明らかにし、これらのMAbsを用いて様々なハンタウイルス間で認められるN蛋白質の強い交差反応性について解析を行った。6つのうち5つのMAbsは、8種類のアメリカ大陸を起源とするハンタウイルス、および6種類のユーラシア大陸を起源とするハンタウイルスのN蛋白質と反応したが、トガリネズミ目の *Suncus murinus* を宿主とするハンタウイルスである Thottapalayam virus のN蛋白質とは反応しなかった。5つの交差反応性の強いMAbsはN蛋白質中のN末端、13から51番目のアミノ酸領域を非連続的なエピトープとして認識していることが示唆された。一方、1種類のmAbはN末端中の1から25番目と、49から75番目のアミノ酸領域を認識しており、北アメリカのハンタウイルスに特異的な反応性を示した。これらの成績からN蛋白質のN末端に存在する非連続性のエピトープが少なくともげっ歯類由来のハンタウイルス間で保存されており、このことがN蛋白質の交差反応性に関連していることが示唆された。

以上の研究業績は、ハンタウイルスの自然界での存続様式の一端を明らかにするとともに、ハンタウイルスのN蛋白質の性状を理解する上で貴重な情報を提示したものとして高く評価される。よって審査員一同は、上記博士論文提出者Ngonda SAASA氏の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第6条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。