

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 須田 遊人

ナイロウイルスはブニヤウイルス科のウイルス属で、人獣共通感染症の原因であるクリミア・コンゴ出血熱ウイルス (CCHFV) やナイロビ羊病ウイルス等が属する。CCHF はヒトでの致死率が高い重篤な出血熱であり、その症例報告は地域、数ともに増加している。CCHFV はバイオセーフティレベル (BSL) 4 の病原体であり、その研究は未解明な部分が多い。CCHF の診断もウイルス分離や中和試験には BSL-4 施設が必要である。CCHF の非流行国である日本などでは新規の実験系や研究ツールの構築が求められている。ナイロウイルスは 7 つの血清型に分類され、例えば、CCHFV は Hazara ウイルス (HAZV) と CCHF グループを構成している。しかし、新規に発見された Issyk-Kul ウイルス (IKV) や Soft tick bunyavirus (STBV) など未分類のウイルスも多い。ナイロウイルスの詳細な理解、ひいてはナイロウイルス感染症の制御には、これらの性状解析が必要である。本研究では、CCHFV および新規ナイロウイルスを含む性状解析と血清学的診断法の構築を行った。

第一章では、CCHFV のシュードタイプウイルス (CCHFV_{pv}) を用いた感染機構の解析を目的とした。シュードタイプウイルスは、BSL-2 施設でウイルス侵入機構の解析や代替中和試験による血清診断を可能にするが、これまでに高力価を示す CCHFV_{pv} は作製されていない。そこで CCHFV エンベロープ蛋白質 (GP) を被ったシュードタイプウイルスの構築を検討し、ウイルス粒子への取り込みを制御しうる GP の C 末端領域を 53 アミノ酸欠損させたものを用いることで、水胞性口炎ウイルス (VSV) ベースの高力価 CCHFV_{pv} の作製に成功した。次に、C 型レクチンである DC-SIGN と LSECtin について、CCHFV_{pv} の細胞への感染における影響を解析した。その結果、CCHFV_{pv} の感染は DC-SIGN によって増強され、CCHFV の感染が樹状細胞やマクロファージなどに起こりやすいことが示唆された。

第二章では、第一章で作製した CCHFV_{pv} を抗原とした中和試験系の構築を

目的とした。中和試験は特異性が高い血清診断法でありウイルスの同定にも利用される。**CCHF** 流行地で提供されたヒト血清を用いて中和試験を行い、すでに確立されている組換え核タンパク質を抗原とした **ELISA** 診断法と比較した。その結果、中和試験系は、**ELISA** と比較すると感度は劣るものの、高い特異性で **CCHFV** 抗体を検出できた。さらに **CCHFV** そのものを用いた中和試験と、同一血清で得られる抗体価に大きな差はなく、**CCHFV_{pv}** を用いた中和試験系は **BSL-2** 施設で実施可能な代替中和試験法になることが明らかとなった。

第三章では、近年分離報告が複数なされているナイロウイルス全体の理解を目的として、3 種類のナイロウイルス **HAZV**、**STBV**、**IKV** の性状を解析した。**STBV** は、2014 年に日本でコウモリマルヒメダニから分離された新規ナイロウイルスである。**IKV** は、中央アジアのヒトに発熱やめまい、吐き気を引き起こす **Issyk-Kul** 熱の病原体である。**HAZV** は、遺伝学的、血清学的に **CCHFV** に近縁な非病原性ウイルスである。まずゲノム解析では、**STBV** と **IKV** が遺伝学的に極めて近縁であることがわかり、培養細胞での増殖性では、**STBV** と **IKV** は類似の性状を示したが、**HAZV** ではこれらとは異なっていた。構築した **ELISA** 系による血清学的な比較では、**STBV** と **IKV** の間には強い抗原交叉性が認められたが、これらと **HAZV** との抗原交叉性は極めて弱かった。これらの結果は、ナイロウイルス間におけるウイルス学的、血清学的多様性を示すものである。また、**ELISA** 系によりヒト血清中からは **STBV** 特異抗体は検出できず、ヒトの **STBV** 感染リスクはない、もしくは極めて低いことが示された。

本論文において、筆者はナイロウイルスの性状解析ならびに血清診断系の構築を試みた。構築したシュードタイプウイルスは高力価を示し、**CCHFV** の侵入機構の解析や、代替中和試験への利用などに強力なツールとなると期待される。また、新規ナイロウイルスを含む比較解析によりナイロウイルスの多様性が明らかとなったが、比較にあたって構築した **ELISA** 系などの血清診断系は、動物感染症学的かつ公衆衛生学的な見地において、ナイロウイルス感染症の診断や疫学解析に力を発揮することが期待される。以上のように、本論文で得られた研究成果は、ナイロウイルス感染症の理解と制御に貢献するものであり、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。