



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Investigation of the life cycles of novel viruses in arthropods and molecular analyses of the intracellular proliferation mechanisms of Chikungunya virus [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	鳥居, 志保
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第14113号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78579
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Shiho_Torii_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：鳥居 志保

審査委員	主査 教授	澤 洋文
	副査 教授	荏和 宏明
	副査 教授	迫田 義博
	副査 講師	大場 靖子

学位論文題名

Investigation of the life cycles of novel viruses in arthropods and molecular analyses of the intracellular proliferation mechanisms of Chikungunya virus

(節足動物から検出された新規ウイルスの生活環の解析と
蚊媒介性チクングニアウイルスの細胞内増殖の分子生物学的解析)

節足動物には様々なウイルスが存在し、それぞれ異なる生活環を形成している。節足動物に特異的に感染するウイルスが存在する一方で、節足動物媒介性ウイルス(アルボウイルス)は哺乳動物と節足動物の両者に感染する。近年、ジカ熱やデング熱といった蚊媒介性アルボウイルス感染症は、物質輸送のボーダーレス化に伴い、発展途上国を中心に世界規模で蔓延し、経済上の影響を与えてきた。加えてチクングニアウイルス (CHIKV) などのアルボウイルスは、アメリカやヨーロッパでも感染が認められ、日本でも毎年、輸入症例が報告されている。これら越境性のアルボウイルス感染症は公衆衛生上大きな問題となっているが、CHIKV やデングウイルスなどのアルボウイルスは、細胞内増殖機構や病原性発現機序において不明点が多いことから、未だ有効な治療法は確立されていない。今後、治療薬の有用なターゲットを見出し、アルボウイルス感染症対策を構築するためには、ウイルスの分布を把握する疫学調査及びウイルスの性状を明らかにする分子生物学的研究が必要とされる。

そこで本研究では節足動物に存在するウイルスの分布状況を国内外で調査し、公衆衛生学上対策が必須であるアルボウイルスの細胞内増殖機構を解析した。

第1章では、北海道でのダニ媒介性フレボウイルスの分布状況を把握するために北海道のマダニを対象に網羅的なフレボウイルス遺伝子調査を実施した。その結果、道内各地で採集した 747 匹のマダニから 12 株のフレボウイルス遺伝子が検出された。そのうち 5 株は、北海道で以前検出されたムカワウイルス (MKWV) で、2 株

は MKWV と遺伝子相同率が高かった。マダニ由来細胞を用いて MKWV と遺伝子相同率が高い新規ウイルスであるクリヤマウイルス (KURV) を分離した。KURV の全長遺伝子配列を決定し、系統解析を実施した結果、KURV は MKWV と同じ系統に分類された。北海道に分布する MKWV の公衆衛生上のリスクを評価するため、MKWV の哺乳動物への感染性を検討した。北海道の野生動物を対象とした血清疫学調査の結果、エゾシカ及びアライグマの血清から MKWV に対する中和抗体が検出された。マウスを用いた MKWV 感染実験の結果、マウスは臨床症状を示さなかったが、感染 3 日後に複数の臓器から MKWV 遺伝子が検出された。以上より北海道に分布する MKWV は哺乳動物に感染し得ることが明らかとなった。

第 2 章では、これまでアルファウイルスの検出が報告されていないアフリカのザンビア共和国で、蚊を対象に網羅的にアルファウイルスを探索した。ザンビア共和国各地で採集した 9,699 匹の蚊から 552 プールを作製し、遺伝子調査を実施した。その結果、ネッタイシマカのプールから新規ウイルスであるムウィニルンガアルファウイルス (MWAV) を検出した。決定したウイルス遺伝子全長配列を元に系統解析を実施した結果、MWAV は蚊特異的に感染するウイルスと同じ系統に分類された。またウイルスの生活環を予想するためにウイルス遺伝子配列を用いて連続 2 塩基出現頻度を基にした主成分分析を実施した。その結果、MWAV が蚊特異的に感染するウイルスであることが示された。

第 3 章では、未だ特異的治療法及び予防法が確立されていない CHIKV の細胞内の増殖機構を解析した。siRNA を用いて CHIKV の感染を制御する宿主因子を探索した結果、複数の endosomal sorting complex required for transport complex (ESCRT) タンパク質が同定された。そこで ESCRT タンパク質群に着眼し、CHIKV タンパク質と相互作用する ESCRT タンパク質を探索した結果、hepatocyte growth factor-regulated tyrosine kinase substrate (HGS) が同定された。次に、CHIKV のゲノム複製過程を再現する CHIKV レプリコンシステムを構築し HGS はウイルスゲノム複製過程に関与することを明らかにした。また、CHIKV 粒子形成・放出を再現するウイルス様粒子発現プラスミドを構築し、HGS は CHIKV の粒子形成・放出過程を制御することを示した。また、HGS 以外の 4 つの ESCRT タンパク質をそれぞれノックダウンした細胞でも、CHIKV レプリコンの複製効率及びウイルス様粒子放出効率が低下した。以上より、ESCRT 機構は CHIKV のゲノム複製及び粒子放出過程を制御することが明らかとなった。

近年の世界規模でのアルボウイルス感染症症例の増加を鑑みると、自然界におけるアルボウイルスの生活環、存続機構を考慮した対策が必須である。本研究は、アルボウイルス感染症対策に向けた節足動物に存在するウイルスの疫学調査及び分子生物学的解析によるウイルスの細胞内増殖機構解明の基盤を構築した研究である。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者鳥居志保氏の学位論文は、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学位論文の審査等に合格と認めた。