



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Pathological studies on hantavirus using hemorrhagic fever with renal syndrome mouse model and development of a novel serodiagnosis method for shrew-borne hantaviruses [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	危, 卓行
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(感染症学)
Dissertation Number	甲第15518号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89939
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Wei_Zhuoxing_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（感染症学）氏名：危 卓行

審査委員	主査	教授	荻和	宏明
	副査	教授	高田	礼人
	副査	准教授	松野	啓太
	副査	准教授	吉松	組子

学位論文題名

Pathological studies on hantavirus using hemorrhagic fever with renal syndrome mouse model and development of a novel serodiagnosis method for shrew-borne hantaviruses. (腎症候性出血熱マウスモデルを用いたハンタウイルスの病原性解析及び新規トガリネズミ由来ハンタウイルスの血清診断法開発)

腎症候性出血熱(HFRS)は、数種のハンタウイルスによって引き起こされ、げっ歯類を病原巣動物とする人獣共通感染症であり、韓国型出血熱(KHF)、流行性腎症、流行性出血熱などとも呼ばれる。HFRSは、アジアおよびヨーロッパ諸国で流行し、公衆衛生上の問題となっているが、動物モデルが不足しているため、病理学的研究は十分ではない。また、近年、げっ歯類以外を宿主とするハンタウイルスが次々と報告されているが、それらのヒトへの感染性および病原性は明らかではない。

第1章では、2つのKHFウイルス、病原性株KHF5、および非病原性バリエントKHF4を比較した。KHF株は韓国型出血熱患者の末梢血に由来するHantaanウイルスである。一般にげっ歯類はHantaanウイルスを接種しても、HFRS様の症状は呈さない。しかし、先行研究において清水らはKHF5株を接種したマウスが腎髄質にHFRS様の出血を呈すること、エンベロープ糖タンパク質の417番目でEからKへの単一のアミノ酸変化を持つKHF4が非病原性であることを報告した。In vitroの比較では、KHF4は細胞内でより高いウイルス抗原の蓄積を示し、培養上清ではより低いウイルス力価を示した。モノクローナル抗体によるエピトープ解析、細胞融合活性、およびシュードタイプウイルス産生では、KHF4とKHF5の性質に有意な差は見られなかった。In vivo解析では、KHF5を接種したマウスの肺組織でより多く、より早いウイルス産生が確認された。病理学的解析により、肺胞上皮への

感染、重度の肺炎や浮腫が認められた。腎臓の出血は尿細管領域にみとめられ、同時に抗原も検出されたが、細胞浸潤は顕著ではなかった。また、KHF5 接種は肝炎を引き起こし、肝実質細胞の感染、単球の浸潤と好中球の活性化がウイルス抗原とともに見られた。また CD8+ T 細胞の活性化を示す転写の増加が検出された。これらの結果は、免疫応答が KHF5 感染マウスの病理に重要な役割を果たしていることを示唆する。一方で、末梢血において、IL-6、TNF- α の上昇は認められず、サイトカインストームの病態への関与は確認されなかった。このモデルは、末梢における好中球を中心とする白血球の増加、肝臓逸脱酵素 ALT の上昇を伴う肝炎、肺炎および腎出血について、HFRS 症例と一致した。一方で、血清尿素窒素 (BUN) 上昇やアルブミン尿の腎機能低下については確認出来ず、マウスにおける適切な腎機能評価法を検討する必要があると考えられた。これらの症状に、感染初期段階の肺における KHF5 ウイルスの増殖が関与している可能性が考えられた。

第 2 章ではトガリネズミ由来ハンタウイルスの血清診断法の構築およびスリランカ検体への応用を試みた。先行研究において、スリランカの公衆衛生上の大きな問題である原因不明の慢性腎臓病 (CKDu) 患者の 50% が抗ハンタウイルス抗体を保有し、未知のげっ歯類由来ハンタウイルスが CKDu 発症に関与することが報告された。しかしながら、トガリネズミ由来ハンタウイルスの関与は不明のままであった。そこで本研究では 4 種類のトガリネズミ由来ハンタウイルス、Thottapalayam、Altai、Seewis、Asama の組換え N 抗原を発現し、蛍光抗体法と Western blot 法を組み合わせた診断法を確立し、CKDu 患者と健常者の血清合計 375 例を調べた。その結果、抗 Thottapalayam および Altai ウイルス抗体保有例が合計 3 例検出されたことから、トガリネズミが多種棲息するスリランカにおいて、ヒトへのトガリネズミ由来ハンタウイルスの感染が起こっていることが示唆された。しかしながらこれらのウイルスと CKDu との関連は確認されなかった。

本研究で得られた結果は、ハンタウイルスの病原性および診断法開発と血清疫学的解析を通して、ハンタウイルス感染症をコントロールする上で有用な知見であると考えられる。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者、危 卓行氏の学位論文は、北海道大学大学院国際感染症学院規程第 10 条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。