

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 18 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2012～2015

課題番号：24405045

研究課題名(和文) 野生動物 - ウイルス共進化の解明と新規ウイルス変異予測

研究課題名(英文) Virus-host coevolution and new virus prediction

研究代表者

新井 智 (ARAI, SATORU)

国立感染症研究所・その他部局等・研究員

研究者番号：80321868

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,900,000円

研究成果の概要(和文)：野生小型哺乳類を捕獲し、これらの野生動物についてウイルス感染を調査したところ、翼手目に2種類の新規ハンタウイルスを発見した。新規に発見したハンタウイルスおよびGenBankに登録されているウイルス配列を基に系統解析を行ったところ、翼手目由来ハンタウイルスは一つのクラスターを形成し、齧歯目由来ハンタウイルス同様、宿主哺乳類と共進化していることが明らかになった。齧歯目由来ハンタウイルス、無盲腸目由来ハンタウイルスおよび翼手目由来ハンタウイルスの全てのハンタウイルスが宿主哺乳類と共進化していることが明らかになり、宿主哺乳類の系統解析の結果をウイルス性状予測に利用可能であることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：During this research, we conducted the field investigation of small animals in Vietnam and Myanmar for nine times. We captured a total of 1,039 rodents, shrews and bats animals. The infected virus in the animals, novel hantavirus RNAs were successfully detected in two species of insectivore bats, captured in Vietnam in 2012 and 2015. We conducted phylogenetic analysis based on the sequence data of newly-discovered viruses and deposited ones in GenBank. It showed that chiroptera-borne hantaviruses consisted of one cluster and also co-evolved with host mammalian animals. Detailed phylogenetic analyses, based on partial and full-length genomes of previously described rodent-borne and newly detected non-rodent-borne hantaviruses indicate an Eurasian origin and support the emerging concept that ancestral non-rodent mammals may have served as the hosts of primordial hantaviruses. The results of phylogenetic analysis would be able to be used for virus prediction in near future.

研究分野：感染症

キーワード：共進化 ウイルス予測 新型ウイルス ハンタウイルス

1. 研究開始当初の背景

(1) 未知の病原体に対して検出・発見前にその性状を予想してワクチン開発や対策の道筋を立てておくことは、対策立案上極めて重要であるが、将来流行する病原体がどのような性状であるか、病原体が証明される以前にその性状を推定することは極めて難しく困難な場合が多い。インフルエンザウイルスのように毎年流行する病原体に対しては、過去の情報を蓄積し将来の対策に利用しようとする試みが継続して進められているものの、毎年のワクチン株の選定は極めて難しく、年によっては抗原性状の相同性が低くワクチン効果が限定的な場合も報告されている。エイズウイルスの様に抗原性状が頻繁に変化するウイルスに対しては、標的の選定も困難を伴う。一方、SARS やハンタウイルスの様にウイルスによっては、自然宿主には不顕性感染、もしくはほとんど臨床症状を示さないにもかかわらず、ヒトに対して重篤な症状を発症させるウイルスも少なくない。

(2) そこで、宿主とウイルス病原体の共進化に着目し、両者を比較解析することで、過去から現在までの継時的な変化と地理的な差を基にウイルスの変化・変異の方向を推定し、過去から現在までにどのような変化がどのくらい発生したのかを明らかにし、その変化割合を現在のウイルスに当てはめ、未来のウイルスの性状を予想する手法の確立を計画した。

(3) これらの推定に基づき、自然宿主と共進化していると推測されているハンタウイルスをモデルに利用することで宿主の遺伝的特性を元にウイルスの進化方向を解析することを計画した。

2. 研究の目的

齧歯目、トガリネズミ形目(旧食虫目)および翼手目は、哺乳類の中でも最も多くの種が存在する。人獣共通感染症の多くはこれら小型哺乳類を自然宿主としており、宿主生物と密接に関連していることが明らかになっているにも関わらず、これら小型哺乳類と感染症の共進化や宿主転換についてはほとんど解析されていない。そこで、東アジアから欧州にいたる地理的に連続した地域に分布する野生動物とウイルスの共進化を分子時計を基に解析し、宿主性状の変化を基にウイルスの変異を推定し、今後誕生が予想される新しいウイルスを事前に推測することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ユーラシア大陸、特にベトナム、モンゴル、ミャンマー、日本のサンプルについて入手しウイルス感染を検索した。ベトナム、ミャンマーのサンプルについては、実際に調査チームを編成し、捕獲調査を実施した。日本のサンプルについては、それぞれ研究協力者から分与いただきウイルス感染について調査した。

(2) ウイルス感染については、ハンタウイルスに加え初代培養細胞の分離をすすめ、分離細胞と一緒に分離される未知・未同定のウイルスについても検索を行った。

(3) 宿主については Cytochrome-*b*(Cyt-*b*)遺伝子や COI 遺伝子について配列を決定し、宿主生物の多様性検索に用いた。

(4) ウイルス-宿主の共進化の比較病原体としてダニと共進化している可能性のある *Orientia tsutsugamushi* について系統解析も行った。こちらは、*O. tsutsugamushi* の 56kDa Type Specific Antigen 遺伝子、Heat shock protein の一つである GroEs および GroEL をコードする groES および groEL 遺伝子を用いて比較した。

4. 研究成果

(1) 4年間にベトナムで6回、ミャンマーで3回の野外調査を実施し、110種以上、合計1039頭の齧歯目、無盲腸目、および翼手目の野生小型哺乳類を捕獲し、新規ウイルス感染の有無を調査した。その結果、少なくとも翼手目由来ハンタウイルス2種類、齧歯目由来ハンタウイルス1種類を発見した。*Hipposideros pomona* から検出した新規ハンタウイルスは調査地域名から Xuanson virus (XSV)と命名した。

(2) 感染を確認したウイルスのうち、翼手目ハンタウイルスはどちらも新規ウイルスと予想され、1種類は全長配列の決定に成功した。

(3) これまでに明らかになっている齧歯目由来ハンタウイルス、無盲腸目由来ハンタウイルス、および翼手目由来ハンタウイルスの遺伝子配列と本研究課題で発見した新規ハンタウイルスの遺伝子配列を用いて、宿主-ウイルス共進化の解析を進めたところ、ハンタウイルスはユーラシア大陸起源であると推定された。

(4) ハンタウイルスをモデルにウイルス予測について検討したところ、齧歯目由来ウイルス、無盲腸目由来ウイルス及び翼手目由来ウイルスの全てにおいて自然宿主と共進化していることが改めて示唆されたこと、リアソートメントの様な文節ごとの齧齧が認められないなどの点から十分予測可能であると示唆された。

(5) ウイルス-宿主共進化の比較病原体としてツツガムシと共進化している可能性のある *O. tsutsugamushi* の系統解析を実施した。複数の遺伝子による比較の結果、異なる地域のツツガムシから分離もしくは検出された株であっても非常に近似していることが明らかになった。これらの結果は、*O. tsutsugamushi* がベクターのツツガムシの中で遺伝子組み換えを行っていることを示しており、ウイルス-宿主共進化の解明に非常に重要な知見を提供するものと示唆された。ウイルス以外の生物の共進化についても比較解析することで、ウイルス-宿主共進化の詳細な解析の

基礎データになると推測された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計7件)

1. TU, V. T., CSORBA, G., GÖRFÖL, T., ARAI, S., SON, N. T., THANH, H. T., HASANIN, A. Description of a new species of the genus *Aselliscus* (Chiroptera, Hipposideridae) from Vietnam. *Acta Chiropterologica*, 17(2): 233-254, 2015.
2. Thanh H.T., Fukui D., Arai S., Son N.T., Huan N.X. and Thong V.D. The currently known bat species composition of Khau Ca species and habitat conservation area, Ha Giang province. *VNU Journal of Science*. 30(35): 103-109. 2014.
3. Gu, S. H., Lim, B. K., Kadjo, B., Arai, S., Kim, J. A., Nicolas, V., Lalis, A., Denys, C., Cook, J. A., Dominguez, S. R., Holmes, K. V., Urushadze, L., Sidamonidze, K., Putkaradze, D., Kuzmin, IV., Kosoy, M. Y., Song, J. W., Yanagihara, R. Molecular phylogeny of hantaviruses harbored by insectivorous bats in Côte d'Ivoire and Vietnam. *Viruses*. 2014 Apr 29;6(5):1897-1910. doi: 10.3390/v6051897.
4. Bennett, S. N., Gu, S. H., Kang, H. J., Arai, S., Yanagihara, R. Reconstructing the evolutionary origins and phylogeography of hantaviruses. *Trends in Microbiology*. 2014 Aug;22(8):473-482. doi: 10.1016/j.tim.2014.04.008.
5. Yanagihara, R., Gu, S. H., Arai, S., Kang, H. J., Song, J. W. Hantaviruses: Rediscovery and new beginnings. *Virus Research*. 187 (2014) 6–14. DOI: 10.1016/j.virusres.2013.12.038
6. Arai, S., Tabara, K., Yamamoto, N., Fujita, H., Itagaki, A., Kon, M., Satoh, H., Araki, K., Tanaka-Taya, K., Takada, N., Yoshikawa, Y., Ishihara, C., Okabe, N., Oishi, K. Molecular phylogenetic analysis of *Orientalia tsutsugamushi* based on the *groES* and *groEL* genes. *Vector-borne and zoonotic diseases*. 13(11): 825-829. 2013.
7. Arai, S., Nguyen, S. T., Boldgiv, B., Fukui, D., Araki, K., Dang, C. N., Ohdachi, S. D., Nguyen, N. X., Pham, T. D., Boldbaatar, B., Satoh, H., Yoshikawa, Y., Morikawa, S., Tanaka-Taya, K., Yanagihara, R., Oishi, K. Novel Bat-borne Hantavirus, Vietnam. *Emerging Infectious Diseases*. 19(7): 1159-1161. 2013.

[学会発表](計6件)

1. Arai, S., Bennett, S. N., Ohdachi, S. D., Tanaka-Taya, K., Morikawa, S., Oishi, K., Yanagihara, R. Genetic Diversity and Phylogeography of Asama Virus in the Japanese Shrew Mole (*Urotrichus talpoides*). Vth International Wildlife Management Congress. Sapporo, Japan (July 26-30, 2015)
2. 新井 智, 池山 優, Se Hun Gu, Son Truong Nguyen, 福井 大, 大館智志, 吉川泰弘, 森川 茂, 荒木和子, 佐藤 弘, 多屋馨子, Richard Yanagihara, 大石和徳. ベトナムの翼手目由来に確認されたハンタウイルスの多様性. 第 62 回日本ウイルス学会, 神奈川県, (2014. 11. 10-12)
3. 新井 智, 池山 優, Bazartseren Boldgiv, Bazartseren Boldbaatar, 荒木和子, 佐藤 弘, 多屋馨子, 森川 茂, Richard Yanagihara, 大石和徳. モンゴルのトガリネズミに確認された遺伝的に異なるハンタウイルスの共循環. 第 157 回日本獣医学会, 札幌. 2014 年 9 月 9 日 ~ 12 日
4. Ikeyama, Y., Arai, S., Boldgiv, B., Boldbaatar, B., Araki, K., Satoh, H., Tanaka-Taya, K., Morikawa, S., Yanagihara, R., Oishi, K. Co-circulation of two distinct divergent hantaviruses in Sorex species in Mongolia. XVIth International Congress of Virology, Montréal, Canada. July 27-August 1, 2014
5. Arai, S., Nguyen, S. T., Boldgiv, B., Fukui, D., Araki, K., Dang, C. N., Ohdachi, S. D., Nguyen, N. X., Pham, T. D., Boldbaatar, B., Satoh, H., Yoshikawa, Y., Morikawa, S., Tanaka-Taya, K., Yanagihara, R., Oishi, K. A Newfound Hantavirus in the Pomona Roundleaf Bat (*Hipposideros pomona*) in Vietnam. IX International Conference on HFRS, HPS & Hantaviruses. Beijing, China. June 5-7, 2013
6. 新井 智. ウイルスの宿主転換と哺乳類との共進化. 神奈川県相模原市. 2012 年 9 月 20 日 ~ 23 日

6. 研究組織

(1)研究代表者

新井 智 (ARAI SATORU)

国立感染症研究所・感染症情報センター・主任研究官

研究者番号： 80321868

(2)研究分担者

大館智志 (OHDACHI SATOSHI)

北海道大学・低温科学研究所・助教

研究者番号： 60292041

鈴木仁 (SUZUKI HITOSHI)

北海道大学・地球環境科学研究科・教授

研究者番号： 40179239

川田伸一郎(KAWADA SHINICHIRO)

国立科学博物館・動物研究部・研究員

研究者番号： 30415608

福井大(FUKUI DAI)

東京大学・農学生命科学研究科・助教

研究者番号： 60706670

(3)連携研究者

森川茂 (MORIKAWA SHIGERU)

国立感染症研究所・獣医科学部・部長

研究者番号： 00167686