

令和 2 年 9 月 8 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08090

研究課題名(和文)新規E型肝炎ウイルス(HEV)の作製およびその人獣共通感染症の可能性の検討

研究課題名(英文) Production of the novel hepatitis E virus (HEV) and examination of the possibility of the zoonotic infection

研究代表者

李 天成 (Li, Tiancheng)

国立感染症研究所・ウイルス第二部・主任研究官

研究者番号：90370957

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では新型HEV(HEV-5, HEV-6, HEV-8, Rabbit HEVおよびMoose HEV)の全長配列に基づき、Cap構造をもつ全長HEV RNAをそれぞれ合成し、PLC/PRF/5細胞にトランスフェクションし、ウイルスの複製を評価した。その結果としてHEV-5の作製に成功し、HEV-5の細胞培養法を樹立した。カニクイザルはG5 HEVに感受性を有することが証明され、HEV-5は人獣共通感染を引き起こす可能性も示唆された。同じリバーシジェネティック法を用いたrabbit HEVの作製が成功し、rabbit HEVを接種したウサギに持続感染を呈した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新型HEV-5をリバーシジェネティック法により世界は作製に成功した。また、HEV-5が霊長類のカニクイザルに感染することにより、HEV-5の人獣共通感染症の可能性が示唆された。この発見はE型肝炎対策の策定に非常に有意義なことである。また、rabbit HEVがウサギに持続感染を引き起こすことは動物モデルの樹立にも大いに期待できる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we used a reverse genetics system to generate HEV-5 and examined the possibility of zoonotic infection. Infectious HEV-5 was produced using a reverse genetics system, and the antigenicity was identical to that of human HEVs. Transmission of HEV-5 to primates was confirmed by an experimental infection, providing evidence of the possibility of zoonotic infection by HEV-5. Further, rabbit HEV was also generated by reverse genetics system and the recovered viruses was capable of infecting rabbits negative for anti-HEV antibody by intravenous and oral inoculation. In addition, transmission of rabbit HEV to rabbits caused persistent infection, suggesting that the virus-infected rabbit could be an animal model for virus-induced hepatitis.

研究分野：ウイルス

キーワード：HEV 人獣共通感染症 リバーシジェネティック法

1 . 研究開始当初の背景【和文】

HEV は E 型肝炎の原因ウイルスである。近年、新規の HEV 株がラクダ、イノシシ、ヘラジカ、レッドフォックス、ウサギ、ラット、ミンク、フェレット、およびコウモリなどの非霊長類から続々と発見されているが、これらのウイルスに対して人が感受性を有するか否かは明らかになっていない。新規 HEV に関してもヒトへの感染性の有無についても早急に解明する必要がある。しかしながら、これらの新規 HEV はいずれも入手が困難であり、また細胞培養方法も樹立されていないので、新規 HEV の病原性、特に人獣共通感染症の可能性を検討するためには如何にしてウイルスを獲得するかが鍵となっている。

【英文】

Hepatitis E virus (HEV) is a causative agent of acute hepatitis E and has been classified into the Hepeviridae family. Recently, in addition to human HEV strains, many novel HEVs or HEV-like viruses have also been isolated from animals such as camels, wild boar, rats, rabbits, foxes, moose, minks, ferrets, chickens and bats. Because there is no cell culture system to grow novel HEVs, and it is unknown whether those HEVs infect human. Thus, it is necessary to establish a cell culture system for the novel HEVs and examine the possibility of zoonotic infection.

2 . 研究の目的【和文】

イノシシに由来する G5 と G6 HEV、ウサギ由来の Rabbit HEV、ヘラジカ由来の Moose HEV はヒト由来の HEV と遺伝学的に極めて類似していることからヒトへの感染性を明確にする必要がある。本研究ではリバースジェネティクを用いて感染性 HEV を作製し、細胞培養系を樹立した上でカニクイザルに感染させ、その感染性と病原性を解析し、人獣共通感染の可能性を究明する。

【英文】

Since the G5, G6 HEV, rabbit HEV and moose HEV are genetically similar with the G1 to G4 HEV that isolated from human, it required to identify whether these novel HEVs infect human and cause zoonotic infection. This research aimed to generate infectious HEV by using a reverse genetics system and establish the cell culture system for novel HEVs. Further to identify the potential for zoonotic infection.

3 . 研究の方法【和文】

Cap 構造をもつ新規 HEV (G5 および G6 HEV、Rabbit HEV、Moose HEV) の全長 RNA を *in vitro* で合成し、肝癌細胞 PLC/PRF/5 細胞にトランスフェクションし、感染性を有する HEV を作製する。作製した各ウイルスを肝細胞や肝がん細胞などに接種し、感受性を有しかつ増殖効率の良い細胞を見だし、ウイルス増殖の最適な細胞培養方法を樹立する。新規に作出した HEV をカニクイザルに接種して霊長類への感染性を確認し、人獣共通感染症を引き起こす可能性を推測する。

【英文】

Capped HEV (HEV-5,HEV-6,HEV-8,Rabbit HEV and Moose HEV) RNA was synthesized using in vitro and transfected on to PLC/PRF/5 cells to produce the infectious HEV. The virus recovered from cell culture supernatants was further inoculated in to other cell line or cynomolgus monkeys to established cell culture system for novel HEVs and identify the possibility for zoonotic infection.

4 . 研究成果【和文】

本研究では新型 HEV (HEV-5,HEV-6,HEV-8,Rabbit HEV および Moose HEV) の全長配列に基づき、Cap 構造をもつ全長 HEV RNA をそれぞれ合成し、PLC/PRF/5 細胞にトランスフェクションし、ウイルスの複製を評価した。その結果として HEV-5 の作製に成功し、HEV-5 の細胞培養法を樹立した。カニクイザルは G5 HEV に感受性を有することが証明され、HEV-5 は人獣共通感染を引き起こす可能性も示唆された。同じリバーシジェネティック法を用いた rabbit HEV の作製が成功し、rabbit HEV を接種したウサギに持続感染を呈した。

【英文】

In this study, we used a reverse genetics system to generate HEV-5 and examined the possibility of zoonotic infection. Infectious HEV-5 was produced using a reverse genetics system, and the antigenicity was identical to that of human HEVs. Transmission of HEV-5 to primates was confirmed by an experimental infection, providing evidence of the possibility of zoonotic infection by HEV-5.

Further, rabbit HEV was also generated by reverse genetics system and the recovered viruses was capable of infecting rabbits negative for anti-HEV antibody by intravenous and oral inoculation. In addition, transmission of rabbit HEV to rabbits caused persistent infection, suggesting that the virus-infected rabbit could be an animal model for virus-induced hepatitis.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yang Fengmei, Duan Suqin, Guo Yingqiu, Li Yanyan, Yoshizaki Sayaka, Takeda Naokazu, Wakita Takaji, Muramatsu Masamichi, Zhao Yuan, He Zhanlong, Li Tian-Cheng	4. 巻 230
2. 論文標題 Current status of hepatitis E virus infection at a rhesus monkey farm in China	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Veterinary Microbiology	6. 最初と最後の頁 244 ~ 248
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vetmic.2019.01.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Li Tian-Cheng, Bai Huimin, Yoshizaki Sayaka, Ami Yasushi, Suzaki Yuriko, Doan Yen Hai, Takahashi Kazuaki, Mishiro Shunji, Takeda Naokazu, Wakita Takaji	4. 巻 3
2. 論文標題 Genotype 5 Hepatitis E Virus Produced by a Reverse Genetics System Has the Potential for Zoonotic Infection	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Hepatology Communications	6. 最初と最後の頁 160 ~ 172
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hep4.1288	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Bai Huimin, Shiota Tomoyuki, Yoshizaki Sayaka, Saito-Obata Mariko, Malbas, Jr Fedelino F., Lupisan Socorro P., Oshitani Hitoshi, Takeda Naokazu, Muramatsu Masamichi, Wakita Takaji, Ishii Koji, Li Tian-Cheng	4. 巻 72
2. 論文標題 Detection of Subgenotype IA and IIIA Hepatitis A Viruses in Rivers Flowing through Metro Manila, the Philippines	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 53 ~ 55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7883/yoken.JJID.2018.148	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 IMAGAWA T, SUGIYAMA R, SHIOTA T, LI TC, YOSHIKAWA S, WAKITA T, AND ISHII K.	4. 巻 81(6)
2. 論文標題 Evaluation of Heating Conditions for Inactivation of Hepatitis E Virus Genotypes 3 and 4.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Food Protection	6. 最初と最後の頁 947-952
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4315/0362-028X.JFP-17-290	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wang W, Wang Y, Qu C, Wang S, Zhou J, Cao W, Xu L, Ma B, Hakim MS, Yin Y, Li TC, Peppelenbosch MP, Zhao J, Pan Q.	4. 巻 67(6)
2. 論文標題 Peppelenbosch MP, Zhao J, Pan Q. The RNA genome of hepatitis E virus robustly triggers an antiviral interferon response	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Hepatology	6. 最初と最後の頁 2096-2112
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hep.29702	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Li TC, Yoshizaki S, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Yen Hai Doan, Haga K, Ishii K, Takeda K, and Wakita T	4. 巻 53
2. 論文標題 Genetic and physicochemical analyses of a novel ferret hepatitis E virus, and clinical signs of infection after birth.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Infect, Genet Evol.	6. 最初と最後の頁 153-159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.meegid.2017.03.026	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Li TC, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Johne R, Wakita T.	4. 巻 70
2. 論文標題 No evidence of rat hepatitis E virus excretion into urine of rats.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Jpn J Infect Dis	6. 最初と最後の頁 305-307
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7883/yoken.JJID.2016.283	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Li TC, Yoshizaki S, Zhou X, Sentsui H, Kazuya Shirato, Matsuyama S, Simenew Keskes Melaku, Boldbaatar Bazartseren, Takeda N, Wakita T.	4. 巻 21;246
2. 論文標題 w Keskes Melaku, Boldbaatar Bazartseren, Takeda N, Wakita T.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Virol Methods.	6. 最初と最後の頁 34-37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jviromet.2017.04.008.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 1.張文静、吉崎 佐矢香、須崎 百合子、網康至、Suljid Jilintai、高橋 雅春、村松正道、岡本 宏明、李天成。
2. 発表標題 Characterization of rabbit HEV infection in Japanese white rabbits.
3. 学会等名 第66回日本ウイルス学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 2.米満 研三、Virhuez Milagros、李 天成、黒田 雄大、立本 完吾、Supriyono Supriyono、南 昌平、 楸田 龍星、高野 愛、下田 宙、 Phichitraslip Thanmaporn、Rerkamnuaychoke Worawut、鈴木 和男、前田 健
2. 発表標題 野生動物、伴侶動物、産業動物におけるE型肝炎ウイルス感染状況調査
3. 学会等名 第66回日本ウイルス学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 李天成、吉崎佐矢香、網康至、須崎百合子、団海燕、芳賀慧、高橋利明、三代俊治、武田直和、脇田隆字
2. 発表標題 A Potential Zoonotic Infection of G5 Hepatitis E Virus Produced by Reverse Genetics System
3. 学会等名 第64回日本ウイルス学会
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 李天成、白慧敏、吉崎佐矢香、網康至、須崎百合子、団海燕、芳賀慧、高橋利明、三代俊治、武田直和、脇田隆字。
2. 発表標題 ラットE型肝炎ウイルス持続感染ヌードラットをモデルにした抗ウイルス薬の評価
3. 学会等名 第160回日本獣医学会
4. 発表年 2017年～2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	網 康至 (Ami Yasushi) (10202699)	国立感染症研究所・動物管理室・主任研究官 (82603)	