

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2011

課題番号：19300148

研究課題名（和文） 動物実験用サル類のヘルペスウイルス群高感度検出法の確立と病原性の進化生態学的研究

研究課題名（英文） Establishment of Sensitivity Detection of Herpesviruses of Laboratory Monkeys and Study of Pathogenic Evolutionary Ecology.

研究代表者

大沢一貴（OHSAWA KAZUTAKA）

長崎大学・先導生命科学研究支援センター・教授

研究者番号：90244756

研究代表者の専門分野：実験動物学（人獣共通感染症学）

科研費の分科・細目：実験動物学

キーワード：感染症

### 1. 研究計画の概要

ヘルペスウイルスは、数多くの動物種から宿主固有のウイルスが分離されている。マカカ属サル(マカク)固有のサルヘルペス B ウイルス (B ウイルス) は、感染により本来の宿主を死亡させることはないが、ヒトに感染すると重篤な脳炎を招き、死亡症例も報告されている。ウイルス性人獣共通感染症を引き起こすウイルスとしてわが国では危険度がレベル 3 (少量・診断) ～レベル 4 (動物感染実験) に分類されている。

これまで研究・調査等から全国の国立大学で飼育されている実験用マカクは、約 40% の B ウイルス抗体陽性率であることが明らかになっている。B ウイルスは国内では実質的にウイルスそのものを扱うことは困難で、実用的な診断用抗原の作製を行うことは不可能な状況が続いていた。そこで、マカクに近縁のヒヒを宿主とする  $\alpha$  ヘルペスウイルス (HVP2) を代替抗原として用いた IgG-ELISA 診断法を開発した。抗原として使用した HVP2 の OU1-76 株はマウスに脳炎を惹起するもののヒトでの感染例は報告がなく、レベル 2 の微生物としての取扱いが可能である。

近年、米国において HVP2 のマウス無症候性株(HVP2ap)が発見され、診断用抗原として十分な信頼性を有するかどうか検討を加え、可能であれば OU1-76 に替わる抗原として共用開始する計画である。また、チンパンジーやリスザルの  $\alpha$  ヘルペスウイルスのゲノム解析を行うとともに、検査系の確立を目指す。

### 2. 研究の進捗状況

現在、HVP2nvのOU1-76株をELISA用代替ウイルス抗原に利用している。このウイルス株はマウスに病原性のある株であり、マウスでの感染事故等の問題が生ずる可能性がゼロではない。これを回避するため、病原性の低いHVP2ap株のいずれかのウイルス株に変更可能かどうか検討した。HVP2apのA951、OU2-5、OU4-8の各株について、ウイルスを入手し抗原の特異性・感度について、OU1-76株と遜色ないことを確認し、このウイルス抗原の利用価値について再評価を行っている。

1999年より現在に至るまで、HVP2のOU1-76株を代替抗原として用いたBウイルス抗体検査キットを作製して、マカクを飼育している全国の動物実験施設等に配布している。2007年から現在まで延べ34の施設等へ配布し、良好な結果を得ている。また、国内で飼育されている実験用マカク血清のBウイルス感染診断を行っており、現在までの感染診断数は5,000検体を超えた。2007年以降では10か所の大学・研究機関等より分与された1,732検体のマカク血清についてBウイルス抗体検査を行い、26.3% (456/1732) の検体が抗体陽性であるという結果になっている。

研究代表者は、米国で分離されたチンパンジー固有の  $\alpha$  ヘルペスウイルス (ChHV) のゲノム解析を行い、ChHV がヒトの単純ヘルペスウイルス 2 型のきわめて近縁のウイルスであることを明らかにしてきた。これまで、すでに報告されている塩基配列も含めてゲノム全長の約 40% の解析を終えており、本年度も進化系統学的なアプローチを視野に入れながら解析を進める計画である。さらに、リスザルのヘルペスウイルス (HVS1) につ

いても同様の解析に着手する。

### 3. 現在までの達成度

#### ②おおむね順調に進展している

Bウイルス抗体検出用乾燥抗原プレートを国内研究機関・大学等へ配布し、概ね良好な結果を得ている。また、抗原としてマウスに強い病原性を有する OU1-76 株に代わって HVPap の A951、OU2-5、OU4-8 の各株について特異性、感度ともに OU1-76 株と遜色ないことを確認した。また、新たに分離された ChHV のゲノム解析を行い、全ゲノムの 40% を明らかにした。

### 4. 今後の研究の推進方策

Bウイルス抗体検出用の抗原として新たに HVPap の A951、OU2-5、OU4-8 を使用する予定であるが、その信頼性をより高めるために、これまで全国の研究機関等より分与された約 5,000 検体のマカク血清の中から血清を抽出し、抗原の検定を行う予定である。また、これまで解析を行ってきたチンパンジーヘルペスウイルスに加え、リスザルのヘルペスウイルスについても進化系統学的な視点からゲノム解析を進め、さらに検査系の確立を目指す予定である。

### 5. 代表的な研究成果

(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 4 件)

- ①高木利一、大沢牧子、森田千春、池郁生、佐藤 浩、大沢一貴、国内分離リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス(LCMV) 2 株におけるマウス病原性比較、九州実験動物雑誌、25、37-42、2009、査読有
- ②大沢牧子、増村さやか、久保憲昭、大沢一貴、マウス導入時検疫における Helicobacter 診断の問題点、九実験動物雑誌、25、43-48、2009、査読有
- ③Yamamoto H, Li TC, Koshimoto C, Ito K, Kita M, Miyashita N, Arikawa J, Yagami K, Asano M, Tezuka H, Suzuki N, Kurosawa T, Shibahara T, Furuya M, Mohri S, Sato H, Ohsawa K, Ibuki K, Takeda N., Serological Evidence for Hepatitis E Virus Infection in Laboratory Monkeys and Pigs in Animal Facilities in Japan., Experimental Animals, 2008, 57, 367-376, 査読有
- ④大沢牧子、大沢一貴、佐藤 浩、マカクの Bウイルス抗体保有率調査－1999～2006 年、九州実験動物雑誌、23、63-68、2007、査読有

#### [学会発表] (計 5 件)

- ①高木利一、大沢牧子、佐藤 浩、大沢一貴：国内分離リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス 2 株のマウス病原性、第 27 回九州実験動物研究会総会、2009 年、11/14、熊本
- ②高木利一、大沢一貴、大沢牧子、池 郁生、森田千春、佐藤 浩：リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV) の日本国内分離株の病原性状解析、第 146 回日本獣医学会、2008 年、9/24、宮崎
- ③高木利一、大沢牧子、大沢一貴、佐藤 浩：LCMV のマウス感染実験、第 25 回九州実験動物研究会総会、2007 年、11/10、熊本
- ④大沢一貴、田崎雄一、山内沙央里、佐藤 浩：ヒビ α1 ヘルペスウイルス 3 株の US 領域について、第 25 回九州実験動物研究会総会、2007 年、11/10、熊本
- ⑤大沢一貴、佐藤 浩、R. Eberle: チンパンジーから分離された α1 ヘルペスウイルス (ChHV) の特性、第 54 回日本実験動物学会総会、2007 年、5/24、東京

#### [図書] (計 1 件)

- ①大沢一貴、サル類の感染症とサルの健康管理－人獣共通感染症の視点から－、平成 21 年度動物実験関係教職員 高度技術研修テキスト(分担)、37-46 (2009)

#### [産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

#### [その他]