

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 グラント スチュアート ハンスマン

本研究は、カリシウイルス科に属し人に感染してウイルス性急性胃腸炎を引き起こすノロウイルス(Norovirus)とサポウイルス(Sapovirus)のアジア地域における疫学調査、両ウイルスのゲノム塩基配列の解析および発現を行った。さらに、昆虫細胞及び組換えバキュロウイルスを用いたウイルス様中空粒子(VLPs)の発現と VLPs を利用した抗原 ELISA システムを構築した。本研究では以下の結果を得ている。

1. タイ王国(以下タイとした)、ベトナム共和国(以下ベトナムとした)及びモンゴル共和国(以下モンゴルとした)のノロウイルス、サポウイルスに関する疫学調査では、ノロウイルスの新しいゲノタイプ Mc37 株を発見した。またタイでは、ノロウイルスに加えてサポウイルスも多様なゲノタイプが広く分布していることを明らかにした。ベトナムでは、世界に広く分布すると報告されたノロウイルス GII/4 株がベトナムでも主要株であることを明らかにした。また、ノロウイルス感染患者は、雨季よりも乾季に患者数が多いことを明らかにした。モンゴルでは、ノロウイルスには無症候性キャリアーが存在し、ヒト-ヒト伝播を起こす可能性を示唆した。3つのアジア地域の研究により、ノロウイルスは無症候性キャリアーを発端とするヒト-ヒト伝播、食品を媒介する通常の糞口感染で、アジア地域に広く分布し、散発性の非細菌性小児下痢症の一因となっていることを明らかにした。サポウイルスでは、タイでの検出率とベトナム、モンゴルでの検出率に統計学的に有意な差があった。サポウイルスは、食材や飲料水を媒体とするノロウイルスの伝播様式ではなく、地域差に関係した伝播様式を有する可能性を示唆した。

2. ノロウイルス 3 株、サポウイルス株 4 株のゲノム全長塩基配列を解析し、ゲノムリコンビネーションについて調べた。ノロウイルスでは、SimPlot 解析を用いてゲノム全長塩基配列を解析から、Mc37 は新たな遺伝子組み換え型株であることが示された。また、組換えバキュロウイルスを用いて発現させた Mc37 の VLP は、ORF1 の相同性が高かった 026 の VLP と異なる抗原性を示した。これらの結果から、ノロウイルスが共通の非構造蛋白質領域;ORF1 を用い、構造蛋白質領域;ORF2 以降を遺伝子レベルで交換して、抗原性を変化させ、宿主の免疫反応から逃れ、日本ばかりでなく、アジア地域広範にわたり新たな流行を引き起こしている可能性を示唆した。サポウイルスでは、Mc10

株と C12 株のゲノム全長塩基配列を比較し、C12 株のゲノムリコンビネーションを発見した。ノロウイルス属、サポウイルス属でゲノムの組換えが起きていることが明らかになり、構造蛋白質と非構造蛋白質のジャンクション領域で起きるこの組換えが、両ウイルス属のゲノム進化において、宿主域の拡張や新たな感染の流行に重要な役割を演じていることが明らかにされた。

3. バキュロウイルス発現系を用いたウイルス様中空粒子の作成に取り組み、サポウイルスの SG-I-a の Mc114 株、SG-II-c の C12 株、SG-V-a 株の NK24 株の VLP 作成に世界で初めて成功した。また、発現に成功したサポウイルスの VLP の形態を詳細に解析するため、クライオ電子顕微鏡解析が進行中である。

4. 免疫に十分な量の VLP の発現に成功した Mc114 株、NK24 株 VLP を用いて、抗 VLP ウサギ免疫血清、および抗 VLP モルモット免疫血清を用い、サポウイルス抗原 ELISA システムの構築に成功した。今後、SG-I, SG-V 以外のサポウイルスに対する抗体の作成、追加など、まだ課題は残っているが、本 ELISA システムは、初めてのサポウイルス抗原検出システムであり、その簡便性、ランニングコストの低さから、今後のサポウイルス疫学に有用である。

以上、本論文は、アジア地域におけるノロウイルスおよびサポウイルスの網羅的疫学調査を通じ、不顕性感染者を発端とするヒト-ヒト伝播の可能性を示唆した。また、構造蛋白質と非構造蛋白質のジャンクション領域で起きるこの組換えが、カリシウイルスのゲノム進化において、宿主域の拡張や新たな感染の流行に重要な役割を演じていることを明らかにした。さらに、発見以来約30年にわたり成し得なかったサポウイルスの VLP の大量発現と、ELISA システムによる検出系の構築に成功した。これらの業績は今後のヒトに感染するカリシウイルス科のウイルスの疫学だけでなく、基礎研究にも重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値する。