

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 伊波興一朗

ウイルス性出血熱（VHF）は出血、発熱、多臓器不全を特徴とする重篤な疾患である。VHFは様々なウイルスの感染によって起こり、ほぼ同様の臨床症状を示すが、ウイルス毎に伝播の様式、レゼルボアおよび致死率を含めた臨床経過は異なる。VHFの原因ウイルスはアレナウイルス科、ブニヤウイルス科、フィロウイルス科およびフラビウイルス科に属している。ラッサウイルスと5種の南米出血熱ウイルスはアレナウイルス科のウイルスである。

現在、アレナウイルス性出血熱の確立された特異的な治療法はなく、輸液による電解質と浸透圧のインバランスの補正、および凝固因子や血小板置換による出血対策が柱となっている。免疫血清療法は、フニンウイルスおよびマチュポウイルス感染によるVHFの場合には有効かもしれないが、それらの血清は限られており、入手は難しい。フニンウイルスによって引き起こされるアルゼンチン出血熱（AHF）は唯一ワクチン開発が進められており、Candid #1と呼ばれる弱毒生ワクチンはAHF流行地域の農業労働者において評価中であり、現在までのところ重大な副作用も無く、AHFの発生件数は減少したと理解されている。しかし、Candid #1ワクチンが他の南米出血熱に対して有効であるかは不明である。さらに、このワクチンはアルゼンチンでのみ利用可能で、他の国では使用できない。

上記のアレナウイルスは多くの国々でBSL4の病原体に分類されており、BSL4設備を持った特定の機関でしか扱えず、このことが高病原性アレナウイルスの病原性の解析、治療薬やワクチンの開発の障害となっている。さらに、これらの疾病の流行地域は、主として開発途上国（アフリカのサハラ砂漠周辺と南アメリカ）であり、製薬会社は収益が見込まれないため、これらの疾病のための創薬には力を注がない。

これらの問題を解決するために、第1章ではラッサウイルス（LASV）エンベロープタンパク質（LASpv）およびフニンウイルス（JUNV）エンベロープタンパク質（JUNpv）を外套した水疱性口内炎ウイルス（VSV）シュードタイプを開発した。いくつかの哺乳類細胞株で作製されたLASpvとJUNpvは、様々な哺乳類細胞株で高い感染力を示した。VSVシュードタイプ上のアレナウイルスエンベロープタンパク質は高マンノース型のオリゴ糖によって糖鎖修飾を受けていた。シュードタイプウイルスの低pH依存的エンドサイトーシスはリソソーム由来試薬によって確認された。また、ラッサウイルスとフニンウイルスのエンベロープタンパク質の低pH環境による膜融合を合胞体形成やリポーター遺伝子の活性によって検討した。JUNpvのHuh7細胞への感染は、ヒトトランスフェリン受容体1型（hTfR1）を受容体として利用していた。また、JUNpvの細胞への侵入にはカテプシンLの関与が示唆された。これらの結果はVSVシュ

ードタイプがアレナウイルスのエンベロープタンパク質のウイルス受容体相互作用などの生物学的機能の解析に有用であることを示している。しかも、JUNV や LASV のエンベロープタンパク質の遺伝子は、ウイルス遺伝子の中にはコードされていないので、VSV シュードタイプは感染性子孫ウイルスを産生できず、BSL2 レベルの封じ込めで安全に取り扱うことができる。

第 2 章では、JUNV 糖タンパク質 (GP) を外套した VSV シュードタイプを用いたウイルス中和アッセイ法 (NT) を開発した。VSV シュードタイプを用いた NT は、感染性ウイルスを用いた NT と感度や特異性が等しいことが示された。AHF 患者抗体のマチュポウイルス、ガナリトウイルス、サビアウイルスおよびチャパレウイルスに対する交差反応性を、それぞれのウイルスの糖タンパク質を外套した VSV シュードタイプを用いた NT、それぞれのウイルスの核タンパク質 (NP) を抗原とする IgG-ELISA、およびそれぞれのウイルスの NP を発現する培養細胞株を標的とする間接免疫蛍光抗体法 (IFA) によって評価した。AHF 患者血清は IgG-ELISA および IFA で、他のアレナウイルスと交差反応した。しかしながら、NT では他の南米出血熱ウイルスと交差反応せず、VSV シュードタイプを用いた NT は南米出血熱の鑑別診断に役立つことが示された。

以上の結果は、アレナウイルスのための安全な研究ツールおよび AHF のための有用な診断手法を開発され、かつこれらのツールと診断手法は世界中の研究所の BSL2 か、より低レベルの封じ込めで使用可能であることを示している。また、これらの研究成果はアレナウイルス性出血熱の更なる研究と治療法および予防法の開発にも寄付するものと考えられる。したがって、これらの研究成果は公衆衛生および獣医学学術上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士 (獣医学) の学位論文として価値のあるものと認めた。