

厚生労働科学研究費補助金 [新興インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）]

研究分担者報告書

動物由来感染症の対応に関する研究（H25-新興-一般-008）

分担研究課題：新興モルビリウイルスの病原性と動物由来新興
ウイルスの国内疫学と総括

研究分担者：森川 茂（国立感染症研究所獣医科学部部長）

研究協力者：朴ウンシル、鈴木道雄、木村昌伸、今岡浩一（同獣医科学部）、河合康洋、網康至、山田靖子（同、実験動物管理室）、吉河智城、西條政幸（同、ウイルス第一部）、酒井宏治、竹田誠（同、ウイルス第三部）、阪井弘治、俣野哲朗（同、エイズ研究センター）、永田典代、岩田奈緒子、鈴木忠樹、長谷川秀樹（同、感染病理部）、久保田菜美、齊藤隆一、水谷浩志、丸山啓二（東京都動物愛護センター）、古谷哲也、水谷哲也（東京農工大）

研究要旨：新興・再興感染症の大部分は動物由来感染症である。サルの新興モルビリウイルス感染症はイヌジステンパーウイルス(CDV)による。この CDV をリバーシジェネティクスにより回収し、元の CDV と同様イヌ、マカク属サル SLAM により感染することを確認した。CDV 感受性マウスモデル作製のため、マカク属サル SLAM / nectin4 TG マウス作出が進展した。一方、近年新興ウイルスとして同定されたネコモルビリウイルスの国内のネコにおける抗体陽性率、ウイルス感染率を明らかにし、日本でもネコモルビリウイルスが浸淫していることが明らかとなった。ネコモルビリウイルス感染ネコのほとんどが腎炎陽性であったが、腎疾患との有意な関連は未だ得られていない。ネコモルビリウイルスに近縁なウイルスが他種動物やヒトに存在するかの不明であり、今後の調査が必要である。

A．研究目的：

ほとんどの新興・再興感染症は動物由来感染症であることから、その対応には既に新興・再興感染症として顕在化したものだけでなく、宿主域を拡大するなど人の新興感染症になり得ると考えられる動物感染

症も対象とした研究が求められる。パラミクソウイルス科のモルビリウイルスは、宿主域を拡大し易いウイルスと考えられている。実際、ウイルスの遺伝的解析等から、麻疹ウイルスは牛痘の原因ウイルスであるリンダーペストウイルスがヒトへ馴化した

ことが明らかとなっている。また、イヌ類を自然宿主とする犬ジステンパーウイルス (Canine Distemper Virus, CDV) は、自然界で宿主域を拡大し、多くの野生動物に致死感染を引き起こし、ライオン、トラ、パンダなどにも甚大な被害が出ている。さらに宿主域を拡大し、中国、日本などでマカク属サルに大規模な致死感染の流行を引き起こしている。サルに致死感染する CDV は、イヌなどから分離された CDV と比較して保存された 19 箇所のアミノ酸に変異がある。また、マカク属サルではリンパ球のレセプター-SLAM が CDV に親和性があり感受性がある。サルから分離された CDV は、イヌでも高い病原性を示すことから、CDV がサルにまで宿主域を拡大した理由は、19 箇所のアミノ酸変異によりウイルスの病原性が高くなっている可能性が示唆された。一方、サルから分離された CDV は H 蛋白の 1 アミノ酸の変異により容易にヒト SLAM を効率よく利用できるようなことから人の新興感染症となるリスクがある。

本研究では、サルから分離された CDV の遺伝子改変を可能にするためリバーシジェネティクスにより感染性ウイルスを作製し、強毒化に関わる変異を同定することを最終目的とする。また、病原性解析には小動物モデル系が必須であるため、マカク属サルの SLAM と上皮細胞レセプターである Nectin4 を knock in/knock out した B6 マウスを作製する。これらを用いて CDV の宿主域拡大に関わる遺伝的変異を明らかにし、将

来ヒトへの感染域拡大に繋がる可能性を明らかにすることを目的とする。

一方、2012 年に新規のモルビリウイルスとしてネコモルビリウイルス (feline morbillivirus; FCoV) が分離同定された。本ウイルスは、これまで全く未同定のウイルスであったため、近縁なウイルスが他種動物やヒトに感染しているのか否かも不明で、感染症との関連も不明である。そこで、国内のネコへのネコモルビリウイルスの浸淫状況を調査し、感染症との関連を明らかにすることを目的とした。

B. 材料と方法：

1) サルでの CDV 感染症流行後期の CDV のカニクイザル感染実験：

これまで流行初期のサルから分離されたウイルスの感染実験によりサルが全身感染することが分かっている。そこで、流行後期のサル由来ウイルスの感染実験を行った。

2) サルから分離された CDV のリバーシジェネティクス：

CDV のリバーシジェネティクスは、基本的に麻疹ウイルスで用いられている方法を用いた。ウイルス RNA 転写用の T7promoter-CDV-CYN07-dV-cDNA-delta ribozyme、ウイルス蛋白発現用の pKS336-CDV-CYN07-dV-NP, pKS336-CDV-CYN07-dV-P, pKS336-CDV-CYN07-dV-L を作製し、これらを T7-polymerase 発現 BHK 細胞に cotransfection する。トランスフェクションした細胞に CDV 感受性の dogSLAM

発現 Vero 細胞を重層して培養し、ウイルスを回収する。

3) マカク属 SLAM knock-in マウス作製用ベクターの作製 :

大野らがヒト SLAM knock-in マウス作製に用いたベクター-pTK2-5 (JVI 81:1650-59, 2007) をベースに V domain をコードする exon 2 をマカク属 SLAM に入れ替えた。この targeting vector をマウス ES 細胞に導入し、マカク SLAM を発現する ES 細胞を相同組換えにより作製し、キメラマウスを作出して、最終的にマカク SLAM 発現マウスを作製する。必要に応じて I 型インターフェロンレセプター欠損も導入する。

4) マカク属 nectin4 トランスジェニックマウス作製用ベクターの作製 :

Nectin4 に関しては、上皮系でのみ発現するため targeting vector、CAG promoter-stop-cassette-mNectin4、を作製した。この targeting vector をマウス nectin4 KO-ES 細胞にベクターを導入し TG マウスを作製する。本 TG マウスでは、Tamoxifen 投与により Keratin14-CreERT2 が上皮細胞特異的に核内移行し、stop-cassette 除去。その結果、macNectin4 を発現するマウスとなると予想される。

5) FMoV 抗体検出系の確立と血清疫学と FMoV 感染ネコからのウイルス遺伝子検出 :

FMoV NP 発現 HeLa 細胞を樹立し、塗抹標本作製して間接蛍光抗体法用抗原とした。本抗原により国内のネコの血清抗体を

調べた。FMoV 抗体陽性、抗体陰性ネコの尿から RT-PCR によりウイルス遺伝子を検出した。

(倫理面からの配慮について)

遺伝子組換え実験では機関承認及び大臣確認実験として承認を受け、動物実験にあたっては国立感染症研究所動物実験委員会に申請し承認されている。

C. 結果 :

1) 流行後期のサル由来 CDV の感染実験 :

サルでの流行後期には、初期の CDV の遺伝子配列に 11 塩基の変異が蓄積したことが分かっている。そこで、流行後期に分離された CDV CYN11-dV 株を 2 頭のカニクイザルに実験感染した。その結果、流行初期のサル由来 CDV CYN07-dV 株と同様のリンパ球 viremia をおこした。全身感染に関しては現在病理組織学的に解析中である。

2) サルから分離された CDV のリバーシジェネティクス :

T7promoter-CDV-CYN07-dV-cDNA-delta ribozyme のコンストラクトを作製した。全塩基配列を決定し、変異がないことを確認した。タンパク発現様プラスミドとして、NP, P, L を発現する pKS336-CDV-CYN07-dV-NP, pKS336-CDV-CYN07-dV-P, pKS336-CDV-CYN07-dV-L を作製した。これらの遺伝子配列を決定し、変異がないことを確認した。これらのプラスミドを T7-polymerase 発現 BHK 細胞へ導入し、dogSLAM 発現 Vero 細胞を重層して培養し

たところ、CDV 特異的な CPE が出現し感染性ウイルスが回収された。回収された CDV CYN07-dVRG は、発症したカニクイザルから分離された CDV CYN07-dV 株と同様、dogSLAM, macSLAM を介した感染と細胞融合をおこしたが、humanSLAM を介した感染、細胞融合は起こさなかったことから、親株の CDV の性状を持ったウイルスが回収されたと考えられる。回収されたウイルスはカニクイザルのリンパ球に感染することが確認された。

3) サルから分離された CDV 等の病原性解析可能な小動物モデル系の開発：

カニクイザルから分離された CDV CYN07-dV 株は、サルに全身感染を起すが、本株の病原性に関与する遺伝子変異を解析するにはリバーシジェネティクスにより CDV CYN07-dV 株と犬由来 CDV 株などとの種々のキメラ CDV や変異導入 CDV を作製して病原性を比較する必要がある。カニクイザルを用いてこれらの解析をするためには莫大な予算が必要で、実質的に実施できる状況にない。CDV は、免疫系細胞では SLAM を、上皮系細胞等では nectin4 をレセプターとして感染するため、小動物代替モデルとして、マカク属サル SLAM 及び nectin4 発現マウスの作製を試みた。マカク属サル SLAM は、大野らが humanSLAM knock-in マウス作製に用いたベクター pTK2-5 (JVI 81:1650-59, 2007) をベースに V domain をコードする exon 2 をマカク属

SLAM に入れ替えた。V domain の N 末端の 2 アミノ酸をヒトや他の霊長類(28R, 49Y)型からマカク属サルの 28 H, 49 H に置換するため、部位特異変異により pTK2-5 のヒト SLAM exon2 に C273T, A339G の変異を導入した。これをベースに targeting vector を作製し、マウス ES 細胞株を樹立するため IDG26.10-3ES 細胞に transfection して、300 クローン選択して相同組換えの有無を確認している。マカク属 nectin4-TG マウス作製には、conditional expression vector である pEx-CAG-stop-bpA に macNectin4 cDNA を挿入した。IDG26.10-3ES 細胞の Rosa26 遺伝子座のアクセプターアレルの hygromycin 耐性遺伝子部位を DNA 組換え配列(att 配列)による組み換えを行う。macSLAM^{KI/+}IDG26.10-3ES 細胞に pEx-CAG-stop-bpA-macNectin4 と BP クロナーゼ発現 pCAG-C31 Int と cotransfection し、G418 選択後にマカク属 nectin4 が相同組換えされた細胞(macSLAM^{KI/+},macNectin4^{+/-}IDG26.10-3ES 細胞)を選択している(図 2)。ES 細胞での組換えを確認後マウスを作製する。これまでに作製した I 型インターフェロンレセプター-KO マウスと交配して、mac-SLAM, -nectin4 発現/InfaR(-/-)マウスを最終的に作出する。このマウスを作出後に、CDV 感染実験を行う。

4) ネコモルビリウイルス (FMoV) 感染ネコの調査：

FMoV NP 発現 HeLa 細胞を樹立し、細胞

塗抹標本を抗原として間接蛍光抗体法 (IF) を行った。この IF では CDV 感染イヌ血清は反応しないことから、血清学的に CDV とは交差しないと考えられる。

動物愛護センターで採取されたネコ血清 100 検体中 21 検体(21%)が抗体陽性であった(表1)。一方、これらの腎組織あるいは尿からの FMoV 遺伝子検出を RT-PCR あるいは nested RT-PCR で行った結果、100 匹中 22 匹(22%)が遺伝子陽性で、FMoV に感染していた。遺伝子陽性 22 検体中腎及び尿で陽性を示したのが 13 検体、尿のみ陽性が 4 検体、腎組織のみ陽性が 5 検体であった。また、FMoV 遺伝子のみ陽性、FMoV 遺伝子及び抗体陽性、抗体のみ陽性の検体があった。

病理組織学的に RT-PCR 陽性 22 検体と RT-PCR 陰性/抗体陽性 7 検体の腎組織を解析した結果、RT-PCR 陽性 22 検体中 13 検体(77%)、RT-PCR 陰性/抗体陽性 7 匹中 2 匹(53%)で中度から重度の間質性腎炎が認められた(表1)。この内、免疫組織染色法により病変部位で FMoV 抗原が認められたのは RT-PCR 陽性の 4 検体のみであった(図3)。この 4 検体の 3 検体に関してより詳細に検討した結果、いずれも慢性間質性腎炎が認められ、病変部の尿細管に FMoV 抗原が認められ、1 検体は移行上皮細胞が抗原陽性であった。なお、RT-PCR 陰性/抗体陽性 7 検体の腎組織には、いずれも免疫組織染色では FMoV 抗原が認められた(表1)。

5) 国内の FMoV の分子系統樹解析：

FMoV 遺伝子陽性検体の L 遺伝子の部分配列に基づく分子系統樹解析を行った結果(図4)、香港株 FMoV 3 株(M252A, 761U, 776U)と日本の株は、3つの遺伝子型に分けられるが、地理的分布と遺伝子型は一致しなかった。

D. 考察：

CDV は宿主域を拡大し、ライオン、トラ、パンダや種々の野生動物が感染し死亡している。2008 年には CDV はマカク属のサルへも感染域を拡大し、大規模な致死感染症を起こしていることから、ヒトへの感染リスクも危惧された。これまでに、1)サルから分離された CDV は、イヌ、サルの SLAM 及びイヌ、サル、ヒトの nectin4 をレセプターとして感染する、2)H 蛋白の 541 位の近傍の 1 アミノ酸変異でヒトの SLAM をレセプターとして利用できるようになる、3)イヌ由来 CDV も同様の感染域を持つ、4)サル由来 CDV は、イヌにも強い病原性を示す、5)サルでの流行後期には、流行初期の CDV の遺伝子配列に 11 塩基の変異が蓄積したことが分かっている。また、海外で行われた犬由来 CDV のサル感染実験では、リンパ球には感染するが上皮系細胞には感染が広がらないとの報告がある。これらから、本来 CDV はマカク属サルのリンパ球に SLAM を介して感染するが、サルで

流行した CDV は強毒であったと考えられる。サル由来 CDV はイヌ由来 CDV と比較して多くの変異が認められるが、その原因は不明である。今回の研究では、サルでの流行後期の CDV 株のサルへの感染実験を行ったが、現時点では病理組織学的解析の途中で結論が出ていないため、流行後期のウイルスへの遺伝子変異の蓄積が病原性と関連するかは不明であるため、来年度に結論を出したい。サルに病原性を示す CDV の病原性に関与する遺伝的変異を明らかにすることは、リスク評価の上からも重要であるため、サル由来 CDV をリバーシジェネティックス (RG) により感染性ウイルスを回収した。現時点ではサルのリンパ球に効率よく感染することが分かったため、サルへの感染実験により元の CDV と同様の病原性を有するかを明らかにしたい。その上で、イヌ由来 CDV とのキメラウイルスを RG により回収する予定である。また、病原性比較には多くの動物感染実験が必要であることから、CDV 感受性マウスを作出している。マカク属 SLAM knock-in、マカク属 nectin4 TG の ES 細胞クローンを得ているため、マウス作成を来年度行いたい。また、既に InfaR(-/-)マウスを作製したので、InfaR(-/-)も導入予定である。

一方、近年分離同定された新規ネコモルビリウイルスの国内のネコにおける抗体陽性率、ウイルス遺伝子陽性率を継続して調査した結果、抗体陽性率、ウイルス遺伝子陽性率は共に 20%程度と、国内のネコにお

けるネコモルビリウイルス感染率は高かった。抗体陽性、遺伝子陰性の腎組織で免疫組織染色法では抗原陽性の検体が多かったこと、遺伝子陽性で抗体陽性の検体が多いことから、本ウイルスが持続感染することがわかった。感染ネコのほとんどが間質性腎炎陽性であるが、現時点では本ウイルスと疾患との関連は明らかでない。これまでの予備調査では、本ウイルスの抗体陽性のイヌは見出されていないが、動物種、検体数を増やして調査する予定である。

E. 結論

サルの致死性感染症の流行の原因となった CDV は病原性が高い。その原因を解析するために RG によりウイルスを回収した。CDV の病原性を解析するためのマウスモデルとしてマカク属サル SLAM / nectin4 TG マウスの作出が進展した。

ネコモルビリウイルスは国内のネコにおいても 20%程度に感染し、さらに多くが持続感染している。ウイルスは遺伝的に 3 型に分けられるが、地理的分布とは一致しない。本ウイルスと疾患との関連に関してはさらなる研究が必要である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Paola Katrina G. Ching, Vikki Carr de los

- Reyes, Maria Nemia Sucaldito, Enrique Tayag, Alah Baby Columna-Vingno, Fedelino F. Malbas, Gilbert C. Bolo, James J. Sejvar, Debbie Eagles, Geoffrey Playford, Erica Dueger, Yoshihiro Kaku, Shigeru Morikawa, Makoto Kuroda, Glenn A. Marsh, Sam McCullough, and A. Ruth Foxwell. Outbreak of Henipavirus Infection, Philippines. *Emerg Infect Dis.* 2015, 21(5), 21(2):328-31. DOI: 10.3201/eid2102.141433
- 2) Shimojima M, Fukushi S, Tani H, Yoshikawa T, Fukuma A, Taniguchi S, Suda Y, Maeda K, Takahashi T, Morikawa S, Saijo M. Effects of ribavirin on severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in vitro. *Jpn J Infect Dis.* 2014;67(6):423-7.
 - 3) Orba Y, Sasaki M, Yamaguchi H, Ishii A, Thomas Y, Hang'ombe BM, Mweene AS, Morikawa S, Saijo M, Sawa H. Orthopoxvirus infection among wildlife in Zambia. *J Gen Virol.* 2014 Oct 15. pii: vir.0.070219-0. doi: 10.1099/vir.0.070219-0.
 - 4) David Nadeba Bukbuk, Shuetsu Fukushi, Hideki Tani, Tomoki Yoshikawa, Satoshi Taniguchi, Koichiro Iha, Aiko Fukuma, Masayuki Shimojima, Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo, Francis Kasolo, Saka Saheed Baba. Development and Validation of Serological Assays for Viral Hemorrhagic Fevers and Determination of Prevalence of Rift Valley Fever in Borno State, Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2014 Oct 24. pii: tru163. PMID: 25344695
 - 5) Eun-Sil Park, Michio Suzuki, Masanobu Kimura, Keiji Maruyama, Hiroshi Mizutani, Ryuichi Saito, Nami Kubota, Tetsuya Furuya, Tetsuya Mizutani, Koichi Imaoka, Shigeru Morikawa. Identification of a natural recombination in the F and H genes of feline morbillivirus. *Virology*, 2014, 468-470: 524-531
 - 6) Noriyo Nagata, Masayuki Saijo, Michiyo Kataoka, Yasushi Ami, Yuriko Suzaki, Yuko Sato, Naoko Iwata-Yoshikawa, Momoko Ogata, Ichiro Kurane, Shigeru Morikawa, Tetsutaro Sata, and Hideki Hasegawa. Pathogenesis of fulminant monkeypox with bacterial sepsis after experimental infection with West African monkeypox virus in a cynomolgus monkey. *Int J Clin Exp Pathol* 2014, 7(7):4359-4370.
 - 7) Tomoki Yoshikawa, Shuetsu Fukushi, Hideki Tani, Aiko Fukuma, Satoshi Taniguchi, Shoichi Toda, Yukie Shimazu, Koji Yano, Toshiharu Morimitsu, Katsuyuki Ando, Akira Yoshikawa, Miki Kan, Nobuyuki Kato, Takumi Motoya, Tsuyoshi Kuzuguchi, Yasuhiro Nishino, Hideo Osako, Takahiro Yumisashi, Kouji

- Kida, Fumie Suzuki, Hirokazu Takimoto, Hiroaki Kitamoto, Ken Maeda, Toru Takahashi, Takuya Yamagishi, Kazunori Oishi, Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo, and Masayuki Shimojima. Sensitive and specific PCR systems for the detection of both Chinese and Japanese severe fever with thrombocytopenia syndrome virus strains, and the prediction of the patient survival based on the viral load. *J. Clin. Microbiol.* 2014 Sep;52(9):3325-33.
- 8) Aya Zamoto-Niikura, Masayoshi Tsuji, Koichi Imaoka, Masanobu Kimura, Shigeru Morikawa, Patricia J. Holman, Haruyuki Hirata, and Chiaki Ishihara. Sika Deer Carrying *Babesia* Parasites Closely Related to *B. divergens*, Japan. *EID*, 2014, 20(8):1398-1400.
- 9) Sunohara M, Morikawa S, Fuse A, Sato I. GATA-dependent regulation of TPO-induced c-mpl gene expression during megakaryopoiesis. *Okajimas Folia Anat Jpn.* 2014;90(4):101-6. PMID: 24815109
- 10) Naoko Iwata-Yoshikawa, Akihiko Uda, Tadaki Suzuki, Yasuko Tsunetsugu-Yokota, Yuko Sato, Shigeru Morikawa, Masato Tashiro, Tetsutaro Sata, Hideki Hasegawa and Noriyo Nagata. Effects of Toll-Like Receptor Stimulation on Eosinophilic Infiltration in Lungs of BALB/c Mice Immunized with UV-Inactivated Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus Vaccine. *J. Virol.* 2014, 88(15):8597-8614. DOI: 10.1128/JVI.00983-14.
- 11) Tani H, Iha K, Shimojima M, Fukushi S, Taniguchi S, Yoshikawa T, Kawaoka Y, Nakasone N, Ninomiya H, Saijo M, Morikawa S. Analysis of Lujo virus cell entry using pseudotype vesicular stomatitis virus. *J Virol.* 2014, 88(13):7317-7330. DOI:10.1128/JVI.00512-14.
- 12) Yamanaka A, Iwakiri A, Yoshikawa T, Sakai K, Singh H, Himeji D, Kikuchi I, Ueda A, Yamamoto S, Miura M, Shioyama Y, Kawano K, Nagaishi T, Saito M, Minomo M, Iwamoto N, Hidaka Y, Sohma H, Kobayashi T, Kanai Y, Kawagishi T, Nagata N, Fukushi S, Mizutani T, Tani H, Taniguchi S, Fukuma A, Shimojima M, Kurane I, Kageyama T, Odagiri T, Saijo M, Morikawa S. Imported case of acute respiratory tract infection associated with a member of species nelson bay orthoreovirus. *PLoS One.* 2014 Mar 25;9(3):e92777. doi: 10.1371/journal.pone.0092777.
- 13) Uda A, Sekizuka T, Tanabayashi K, Fujita O, Kuroda M, Hotta A, Sugiura N, Sharma N, Morikawa S, Yamada A. Role of Pathogenicity Determinant Protein C (PdpC) in Determining the Virulence of the *Francisella tularensis* Subspecies

- tularensis SCHU. PLoS One. 2014 Feb 18;9(2):e89075.
- 14) Neekun Sharma, Akitoyo Hotta, Yoshie Yamamoto, Akihiko Uda, Osamu Fujita, Toshio Mizoguchi, Junji Shindo, Chun-Ho Park, Noboru Kudo, Hitoshi Hatai, Toshifumi Oyamada, Akio Yamada, Shigeru Morikawa, and Kiyoshi Tanabayashi. Serosurveillance for Francisella tularensis among wild animals in Japan using a newly developed competitive ELISA. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 2014 Apr;14(4):234-9
 - 15) Toru Takahashi, Ken Maeda, Tadaki Suzuki, Aki Ishido, et al. , Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo. The First Identification and Retrospective Study of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome in Japan. J Inf Dis., 2014 Mar;209(6):816-27.
2. 学会発表
1. 堀田明豊、棚林清、山田章雄、森川茂. 国内の医師および獣医師への One Health についての意識調査.第 157 回日本獣医学会学術集会, 北海道, 2014 年 9 月
 2. 堀田明豊,木村昌伸,中村幸子,片山敦司,中下留美子,坪田敏男,猪島康雄,鈴木道雄,今岡浩一,棚林清,藤田修,山本美江,宇田晶彦,森川茂. 2007 年以前の国内野生動物における重症熱性血小板減少症候群ウイルス (SFTSV) に対する抗体調
 3. 堀田明豊、木村昌伸、坪田敏男、中村幸子、片山敦司、中下留美子、猪島康雄、鈴木道雄、今岡浩一、棚林清、藤田修、山本美江、宇田晶彦、森川茂.「2007 年以前の国内野生動物における重症熱性血小板減少症候群ウイルス (SFTSV) に対する抗体調査」第 157 回日本獣医学会学術集会、北海道、2014 年 9 月 9 日-12 日
 4. 藤田修、宇田晶彦、木村昌伸、藤田博己、今岡浩一、森川茂. 「ニホンジカから採取したマダニ類のウイルス遺伝子保有状況からみた自然界における SFTS ウイルス維持様式の検討」第 157 回日本獣医学会学術集会、北海道、2014 年 9 月 9 日-12 日
 5. 森川茂、木村昌伸、堀田明豊、加来義浩、朴ウンシル、鈴木道雄、野口章、井上智、今岡浩一、前田健. 「野生のシカにおける SFTS ウイルス抗体調査」第 157 回日本獣医学会学術集会、北海道、2014 年 9 月 9 日-12 日
 6. 浜崎千菜美、鍬田龍星、野口慧多、寺田豊、下田宙、高野愛、鈴木和男、森川茂、前田健. 「野生動物における SFTS ウイルス感染の疫学調査」第 157 回日本獣医学会学術集会、北海道、2014 年 9 月 9 日-12 日
 7. 松本苑子、橋野正紀、鈴木尋、高野愛、藤田修、堀田明豊、森川茂、高田伸弘、

- 渡邊健太、清水隆、度会雅久. 「ダニにおける *Francisella tularensis* の全国的疫学調査」第 157 回日本獣医学会学術集会、北海道、2014 年 9 月 9 日-12 日
8. 堀田明豊、棚林清、山田章雄、森川茂. 「国内の医師および獣医師への One Health についての意識調査」第 157 回日本獣医学会学術集会、北海道、2014 年 9 月 9 日-12 日
9. 加来義浩、奥谷晶子、河合康洋、野口章、濱本紀子、梁瀬徹、加藤友子、新井智、井上智、森川茂. 「国内で分離された未分類のラプトウイルスの遺伝学的解析」第 157 回日本獣医学会学術集会、2014 年 9 月 9 日-12 日
10. 新倉綾、森川茂、平田晴之、石原智明. 「北海道のシュルツマダニ *Ixodes persulcatus* から分離された *Babesia microti* の性状解析」第 157 回日本獣医学会学術集会、2014 年 9 月 9 日-12 日
11. 新井智、池山優、Boldgiv Bazartseren、Boldbaatar Bazartseren、荒木和子、佐藤弘、多屋馨子、森川茂、Yanagihara Richard、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 回日本獣医学会学術集会、2014 年 9 月 9 日-12 日
12. 池山優、新井智、Kang Haeji、大館智志、Taylor Kyle、中田圭亮、雲野明、荒木和子、佐藤弘、多屋馨子、森川茂、Yanagihara Richard、大石和徳. 「Sarufutsu virus ; オオアシトガリネズミに感染を確認した新規ハンタウイルス」第 157 回日本獣医学会学術集会、2014 年 9 月 9 日-12 日
13. 朴ウンシル、鈴木道雄、木村昌伸、丸山啓二、水谷浩志、斉藤隆一、久保田菜美、古谷哲也、水谷哲也、今岡浩一、森川茂「日本のネコにおける新規モルビリウイルス(*feline morbillivirus, FMV*)の疫学調査」第 157 回日本獣医学会学術集会、2014 年 9 月 9 日-12 日
14. 森川茂、朴 ウンシル、今岡 浩一、前田 健、宇田 晶彦. 「SFTS ウイルスの生活環における野生のシカの役割」第 62 回日本ウイルス学会学術集会、神奈川、2014 年 11 月 10-12 日
15. 西條政幸、吉河智城、福士秀悦、谷英樹、福間藍子、谷口怜、須田遊人、Harpal Singh、前田健、高橋徹、森川茂、下島昌幸. 「重症熱性血小板減少症候群ウイルスの分子系統学的特徴とその地理的分布」第 62 回日本ウイルス学会学術集会、神奈川、2014 年 11 月 10-12 日
16. 前田健、濱崎千菜美、下田宙、鍬田龍星、野口慧多、米満研三、高野愛、鈴木和男、森川茂. 「SFTS ウイルスの生活環における動物の重要性」第 62 回日本ウイルス学会学術集会、神奈川、2014 年 11 月 10-12 日
17. 朴ウンシル、佐藤由子、中島典子、古谷哲也、水谷哲也、今岡浩一、森川茂.

- 「日本国内ネコにおける新規モルビリウイルス (feline morbillivirus, FMV) の疫学調査」 第 62 回日本ウイルス学会学術集会、神奈川、2014 年 11 月 10-12 日
18. 河内健吾、氏家誠、谷英樹、森川茂、田口文広. 「Baculovirus を用いた牛 Torovirus の可溶性 HemagglutininEsterase protein の発現」第 62 回日本ウイルス学会学術集会、神奈川、2014 年 11 月 10-12 日
19. 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学術集会、神奈川、2014 年 11 月 10-12 日
20. 谷英樹、谷口怜、福間藍子、福士秀悦、森川茂、下島昌幸、西條政幸. 「重症熱性血小板減少症候群ウイルス GP の細胞融合能と 25-hydroxycholesterol による感染阻害効果」 第 62 回日本ウイルス学会学術集会、神奈川、2014 年 11 月 10-12 日
21. 吉河智城、福士秀悦、谷英樹、福間藍子、谷口怜、須田遊人、Harpal Singh、江川和孝、下島昌幸、森川茂、西條政幸. 「ワクシニアウイルス LC16m8 株を土台とした組換えワクシニアウイルス作出システムの確立」 第 62 回日本ウイルス学会学術集会、神奈川、2014 年 11 月 10-12 日
22. Shigeru Morikawa, Masanobu Kimura, Shuetsu Fukushi, Aiko Fukuma¹ Yoshihiro Kaku, Unsil Paku, Hideki Tani¹ Tomoyuki Yoshikawa, Koichi Imaoka, Masayuki Shimojima, Masayuki Saijo, Ken Maeda. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in domestic and wild animals in Japan. XVIth International Congress of Virology, Montreal (Canada), 27July- 1Aug 2014
23. Aiko Fukuma, Shuetsu Fukushi, Hideki Tani, Tomoki Yoshikawa, Satoshi Taniguchi, Momoko Ogata, Masayuki Shimojim¹, Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo. Development of IFA and ELISA to detect antibodies against SFTSV. XVIth International Congress of Virology, Montreal (Canada), 27July- 1Aug 2014
24. Hideki Tani, Masayuki Shimojima, Shuetsu Fukushi, Tomoki Yoshikawa, Aiko Fukuma, Satoshi Taniguchi, Momoko Ogata, Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo. Analyses of cell entry of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus using pseudotype vesicular stomatitis virus system. XVIIth International Congress of Virology, Montreal (Canada), 27July- 1Aug 2014.
25. Akihiko Uda, Hiroki Kawabata, Shuetsu Fukushi, Yoshiharu Kaku, Masayuki

- | | |
|---|--|
| Shimojima, Shuji Ando, Ken Maeda, | なし |
| Hiromi Fujita, Masayuki Saijo, Shigeru Morikawa, Tomoyuki Yoshikawa, Aya Niikura, Sawabe Kyoko. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in ticks in Japan. XVIth International Congress of Virology, Montreal (Canada), 27July-1Aug 2014. | 1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし |
| 26. Yu Ikeyama, Satoru Arai, Bazartseren Boldgiv, Bazartseren Boldbaatar, Kazuko Araki, Hiroshi Satoh, Keiko Tanaka-Taya, Shigeru Morikawa, Richard Yanagihara, Kazunori Oishi. Co-circulation of two distinct divergent hantaviruses in Sorex species in Mongolia. XVIth International Congress of Virology, Montreal (Canada), 27July- 1Aug 2014 | |
| 27. Shigeru Morikawa, Akihiko Uda, Masanobu Kimura, Kawabata, Hiroki, Shuetsu Fukushi, Aiko Fukuma, Yoshihiro Kaku, Unsil Paku, Hideki Tani, Tomoyuki Yoshikawa, Aya Niikura, Shuji Ando, Sawabe Kyoko, Hiromi Fujita, Koichi Imaoka, Masayuki Shimojima, Masayuki Saijo, Ken Maeda. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in animals and ticks in Japan. The 10 th China-Japan International Conference of Virology, Changchun, China, Aug25-28 2014. | |

H. 知的財産権の出願・登録状況

図1 . モルビリウイルスとCDV の宿主域拡大

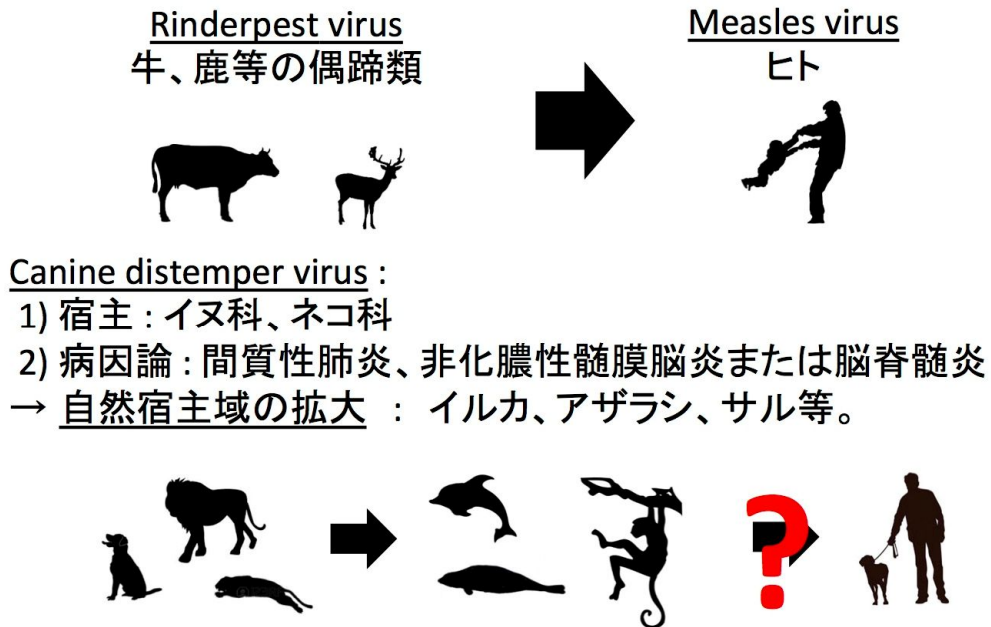


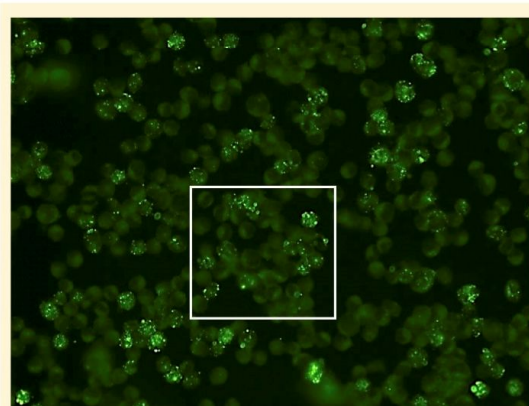
図2 . 国内のネコにおけるネコモルビリウイルスの遺伝子陽性率と抗体陽性率

		Virus in urine (n=100)	
		-	+
Virus in Kidney tissue (n=100)	-	78	4
	+	5	13

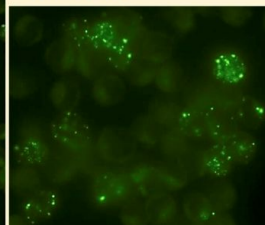
尿または腎組織におけるnested RT-PCR 陽性率 : 22/100 (22%)

尿 : 17/100 (17%)

組織 : 18/100 (18%)



No. N045



IFA 陽性率
IgG : 21/100 (21%)

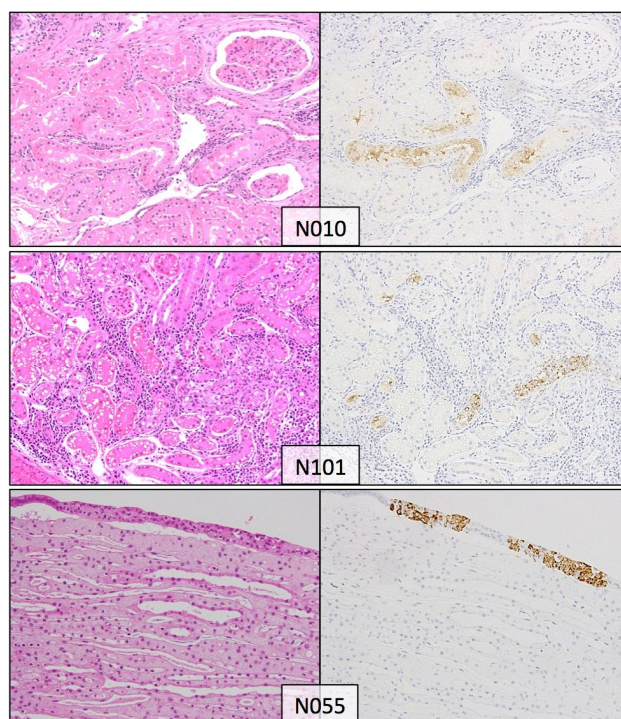
表 1. ネコモルビリウイルス遺伝子または抗体陽性ネコにおける間質性腎炎

FmoPVと間質性腎炎の関連

症例番号	病理学所見	PCR		IFA (IgG)	IHC	症例番号	病理学所見	PCR		IFA (IgG)	IHC
		尿	腎					尿	腎		
N001						N001		+	+	-	++
N007		+	+	10240	++	N003		+	+	-	+++
N010		+	+	>20480	+++	N055		+	+	-	+++
N101		+	+	5120	+++	N073		+	+	-	+
N110		+	+	1280	++	N076		+	+	-	++
N134		+	+	160	++	N109		+	+	-	+
N141		+	+	2560	+	N063		-	+	-	++
N153		+	+	640	+++	N065		+	-	-	++
N020	石灰化	+	-	5120	+	N024		-	-	2560	+
N050		+	-	640	++	N064		-	-	2560	++
N104		+	-	1280	++	N131		-	-	320	+
N028		-	+	5120	++	N136		-	-	640	+
N040	石灰化	-	+	1280	++	N138		-	-	320	++
N045		-	+	2560	+	N140		-	-	640	+
N144	壊死	-	+	640	+	N148		-	-	2560	++

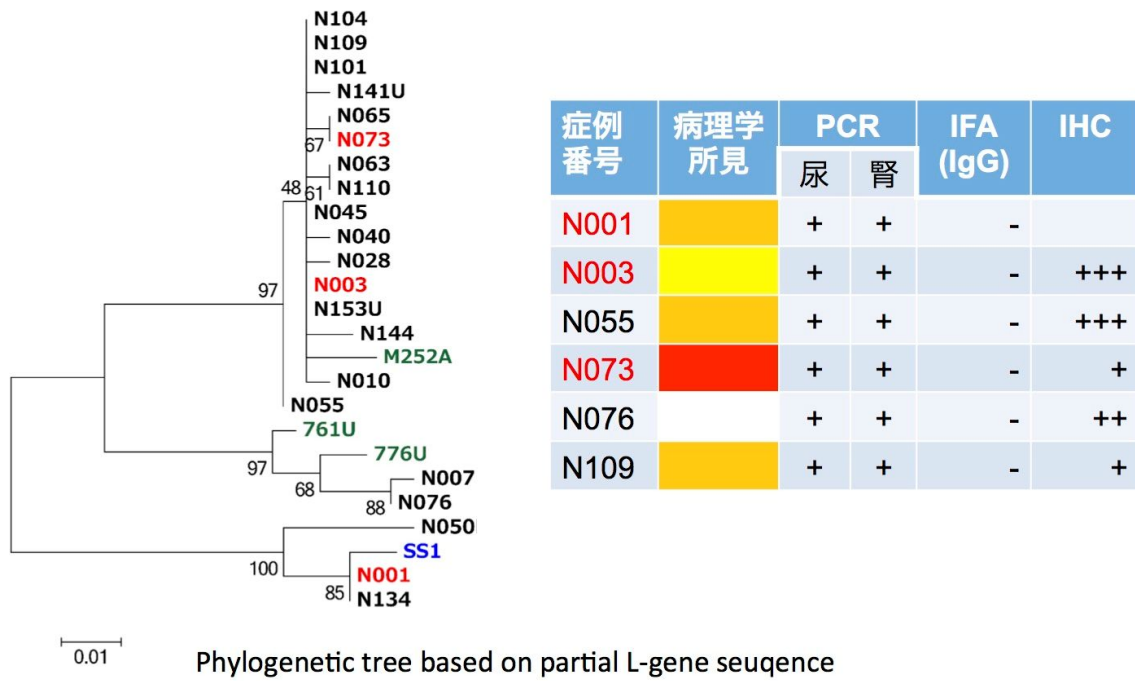
■ 軽度炎症細胞浸潤 ■ 中度間質性腎炎 ■ 重度慢性間質性腎炎
 + 腎盤 軽 陽性 ++ 腎盤 重 陽性 +++ 病変部 陽性

図 3. 慢性間質性腎炎の腎組織中の FMoV 抗原の分布



N010, N101 では病変部位の尿細管に、N055 では移行上皮細胞に FMoV 抗原が分布する。

図4. FMoVの日本株と香港株の分子系統樹



香港株 FMoV 3 株 (M252A, 761U, 776U) と日本株 (その他全て) は3つの遺伝子型を形成するが地理的分布と遺伝子型は一致しない。

