

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：ニホンザル血小板減少症の原因となる SRV のウイルス学的解析

研究分担者 三浦智行 ( 京都大学ウイルス研究所附属感染症モデル研究センター霊長類モデル研究領域 准教授 )

研究協力者 宮沢孝幸 ( 京都大学ウイルス研究所細胞生物学研究部門信号伝達学研究分野 准教授 )

研究要旨：最近、京都大学霊長類研究所にてニホンザルが血小板減少症により大量死した。これまでの次世代シーケンサーなどの研究からサルレトロウイルス 4 型 (SRV-4) との関連が示唆された。昨年度においては、SRV-4 をニホンザルに実験感染した際に、同様の症状を再現できたことを報告した。このことから、京都大学霊長類研究所におけるニホンザルが血小板減少症の原因ウイルスは SRV-4 であることを確定した ( 発表論文 、 )。最近、京都大学霊長類研究所とは異なる自然科学研究機構生理学研究所の動物施設にて同様の症状を呈しニホンザルが死亡する事例があった。しかし、これらのニホンザルにおいて SRV-4 の感染は確認できなかった。そこで、メタゲノム解析を行ったところ、発症個体特異的に SRV-5 に相同性の高い核酸配列が検出され、SRV-5 もしくは SRV-5 に類似したウイルスがニホンザルの血小板減少症の発症に関与していると考えられた。今年度は、発症個体より SRV-5 を分離し、その全塩基配列を確定した。さらには感染性クローンの作製に成功した。

A. 研究目的：

2001 年から 2010 年の間に 2 度、京都大学霊長類研究所にてニホンザルが急性血小板減少症を呈して大量死する事例があった。SRV-4 が原因ウイルスであることを確定したことを昨年度に報告した。今回、新たに霊長類研究所とは異なる動物施設 ( 自然科

学研究機構生理学研究所関連施設)にてニホンザルが同様の症状を呈し死亡する事例があった。まず、最初に SRV-4 を疑い、SRV-4 の感染を PCR で調査した。しかし、SRV-4 の核酸配列は検出できなかった。そこで、メタゲノム解析を行ったところ、発症個体特異的に SRV-5 に相同性の高い核酸

配列が検出され、SRV-5 もしくは SRV-5 に類似したウイルスがニホンザルの血小板減少症の発症に関与していると考えられた。今回、我々は SRV-5 核酸陽性個体よりウイルスを分離し、ウイルスの塩基配列の決定及び感染性クローンの作製を試みた。

#### B. 研究方法：

6 頭の SRV-5 核酸陽性のニホンザルの血漿を、ヒト胎児腎臓由来株化細胞 (293T 細胞) に接種し、25 日間培養した。その後、ゲノム DNA を抽出し、SRV-5 特異的プライマーを用いて PCR を行った。さらに、SRV-5 特異的プライマー及び SRV 共通プライマーを用いて全長をクローニングし、全塩基配列を決定、感染性クローンを作製した。クローンの感染性は PCR 及び LacZ マーカーレスキューアッセイを用いて確認した(図 1)。

#### C. 研究結果：

ニホンザル 6 頭中 2 頭よりウイルス分離に成功した(図 2)。ニホンザルより分離された SRV-5 は既存の SRV-5(AB611707)と塩基配列で 99% 相同であった。また、作製したクローンは感染性であることが確認できた(図 3)。

#### D. 考察：

今回、血小板減少症ニホンザルより SRV-5 の分離に成功した。SRV-5 は SRV-4 と非常に近縁なウイルスであることが知ら

れている。このことから、SRV-5 は SRV-4 と同様にニホンザルに急性に血小板減少症を引き起こすことが強く示唆される。加えて、今回作製に成功した SRV-5 の感染性クローンは、SRV-5 のウイルス学的性状の解析に役立つと考えられる。

#### E. 結論

SRV-5 はニホンザルに感染し、増殖しうることがわかった。

#### F. 健康危険情報

現在のところ、国内において SRV4 及び 5 がヒトに感染した事例はない。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Yoshikawa R, Okamoto M, Sakaguchi S, Nakagawa S, Miura T, Hirai H, Miyazawa T. Simian Retrovirus 4 Induces Lethal Acute Thrombocytopenia in Japanese Macaques. *Journal of Virology* 2015 (in press).
- 2) Okamoto M, Miyazawa T, Morikawa S, Ono F, Nakamura S, Sato E, Yoshida T, Yoshikawa R, Sakai K, Mizutani T, Nagata N, Takano J, Okabayashi S, Hamano M, Fujimoto K, Nakaya T, Iida T, Horii T, Miyabe-Nishiwaki T, Watanabe A, Kaneko A, Saito A, Matsui A, Hayakawa T, Suzuki J, Akari H, Matsuzawa T, Hirai H. Emergence of infectious malignant

thrombocytopenia in Japanese macaques  
(*Macaca fuscata*) by SRV-4 after  
transmission to a novel host. *Scientific  
Reports* 2015 (*in press*)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 特許取得

なし

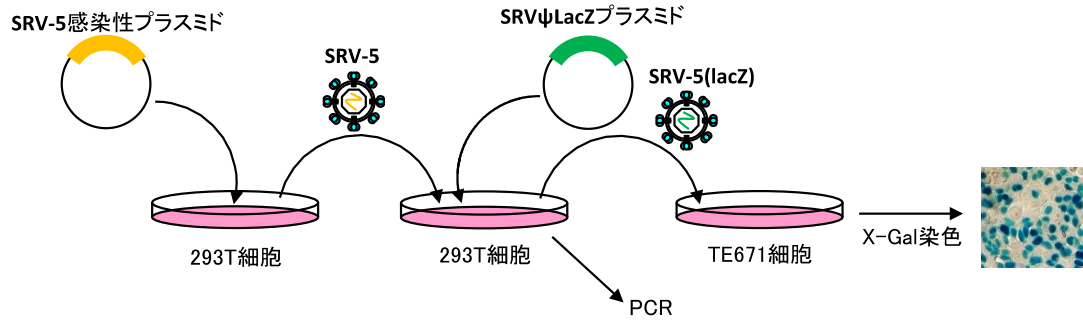
2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図1:SRV-5プラスミドの感染性確認方法



293T細胞: ヒト胎児由来腎臓株化細胞  
TE671細胞: ヒト横紋筋肉腫株化細胞

SRV $\psi$ LacZプラスミド: SRVパッケージングシグナルとLacZ遺伝子の融合プラスミド  
SRV-5(lacZ): LacZ遺伝子を取り込んだSRV-5

図2:病態個体血漿からのSRV5の分離

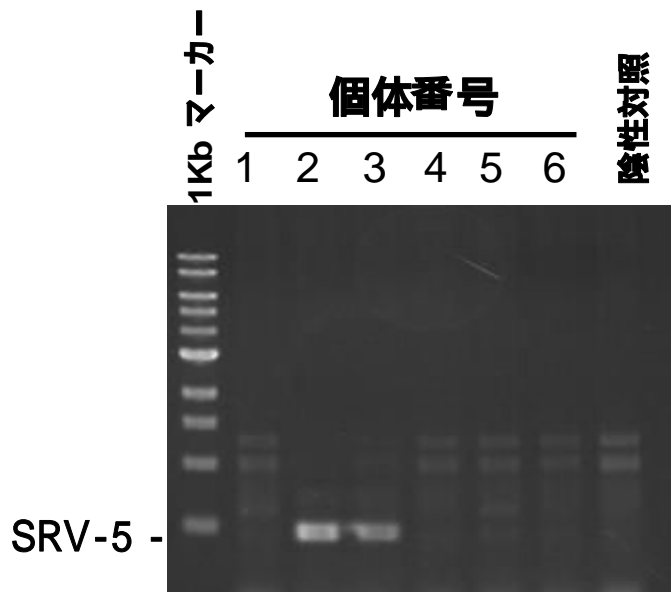


図3: SRV-5プラスミドの感染性確認

