

学 位 論 文 要 旨

氏名 黒田 雄大

題 目 : Studies on treatment and diagnostic method for infectious diseases among domestic animals

(愛玩動物における感染症の治療法と診断法の研究)

論文要旨 :

近年、イヌ・ネコ・フェレットといった様々な動物が愛玩動物として飼育されており、ヒトと同様に多様な感染症に罹ることが知られている。愛玩動物における感染症の治療法や診断法を確立することは One Health の観点でも重要で、ヒトの健康の維持に直結するような公衆衛生上重要な課題である。ネコヘルペスウイルス 1 (FHV-1) は猫ウイルス性鼻気管炎の原因となるヘルペスウイルスとして知られ、上部呼吸器症状や流産などを引き起こす。インフルエンザ A ウイルス (IAV) はヒトにおいて呼吸器症状を引き起こす季節性のウイルスとして知られ、イヌ・ネコ・ブタといった様々な動物に感染することが知られている。季節性の IAV 以外にも、動物の体内で生まれる遺伝子再集合体のパンデミックも問題となる。本研究では、愛玩動物に感染が認められる上記の 2 種類のウイルスを解析し、FHV-1 の新規治療薬の提案と IAV の診断法の確立を目的とし、全 2 章で構成された。

第 1 章 核酸系抗生物質シネフンギンの *in vitro* における抗 FHV-1 活性

シネフンギンは、ウイルス・細菌・原虫・真菌など様々な病原体に効果のある核酸系抗生物質である。そこで我々はいくつかの動物ウイルスに対する抗ウイルス活性を検討した。

猫において主要なウイルスであるネコカリシウイルスと猫伝染性腹膜炎ウイルスと FHV-1、FHV-1 と同じバリセロウイルス属である仮性狂犬病ウイルスとウマヘルペスウイルス 1 を用いたところ、FHV-1 にのみ特異的な抗ウイルス活性が認められた。また、この抗ウイルス活性は顕著な細胞毒性なしでシネフンギンの濃度依存的に見られ、ウイルスの侵入後に作用することがわかった。その 50%効果濃度 (EC₅₀) は、局所投与で FHV-1 に対して効果があるとされる抗ヘルペスウイルス薬のアシクロビルと同程度であることが分かった (シネフンギンの EC₅₀ : 9.5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ 、アシクロビルの EC₅₀ : 18 $\mu\text{g ml}^{-1}$)。

第 2 章 飼育フェレットにおける IAV 感染の疫学調査

フェレットは IAV 感染に高感受性動物で、症状もヒトの場合と似ていることからモデル動物として用いられている。飼育フェレットにおける自然感染例はいくつか報告されているが、血清疫学調査の報告はない。したがって、ELISA による抗 HA 抗体検出系を確立し、抗体保有率を調べた。そうしたところ H1 亜型に対して 79 頭中 19 頭 (24.1%)、H3 亜型に対して 77 頭中 4 頭 (5.2%) が抗体陽性であった。しかし、H5 及び H7 亜型に抗体陽性となる個体はいなかった。

(別紙様式第 3 号)

次に、中和試験によって中和抗体の検出を試みた結果、H1 亜型陽性 9 検体はすべて H1N1pdm に対する中和抗体陽性となり、飼育フェレットは H1N1pdm に感染していたことが強く示唆された。H3 亜型に関しては ELISA と中和試験に相違が認められる個体があったが、H3 亜型内の抗原性の違いを反映していると考えられた。

また、飼い主がインフルエンザ A ウイルス陽性と診断され、くしゃみなどの呼吸器症状を呈したフェレット 2 頭から HA 遺伝子と NA 遺伝子のほぼ全長の塩基配列を決定した。2 頭由来の HA 及び NA 遺伝子の塩基配列は完全に一致し、HA 遺伝子の系統解析の結果、これらの配列はヒトで流行が見られていたクレード 6B.1 に属していた。したがって、これらのフェレットは、飼い主から IAV に感染したことが強く疑われた。さらに、これらのフェレットのうち 1 頭のスワブからは IAV の分離に成功した。このことは、IAV 感染フェレットが感染性のあるウイルスを排出していることを示唆し、獣医医療関係者への感染リスクとなりえることを表している。

本研究では、FHV-1 や IAV といった愛玩動物に病原性のあるウイルスの治療法や診断法確立に貢献した。シネフンギンの抗 FHV-1 効果の発見のような新規治療薬候補の探求は、他薬剤との併用や類似化合物の開発によるさらなる効果的な治療法の提供を可能にするであろう。また、IAV のようなウイルス感染症の診断法の確立は、動物に対する感染リスクだけではなく、ヒトに対する感染リスクを評価するために非常に重要であるといえる。

学位論文審査の結果の要旨

氏 名	黒田 雄大
審査委員	主 査： 国立感染症研究所獣医科学部 獣医科学部長 前田 健
	副 査： 山口大学 教授 水野 拓也
	副 査： 鹿児島大学 教授 遠藤 泰之
	副 査： 山口大学 教授 早坂 大輔
	副 査： 山口大学 准教授 下田 宙
題 目	Studies on treatment and diagnostic method for infectious diseases among domestic animals (愛玩動物における感染症の治療法と診断法の研究)
<p>審査結果の要旨：</p> <p>近年、イヌ・ネコ・フェレットといった様々な動物が愛玩動物として飼育されており、ヒトと同様に多様な感染症にかかることが知られている。愛玩動物における感染症の治療法や診断法を確立することは One Health の観点でも重要で、ヒトの健康の維持に直結するような公衆衛生上重要な課題である。ネコヘルペスウイルス 1 (FHV-1) は猫ウイルス性鼻気管炎の原因となるヘルペスウイルスとして知られ、上部呼吸器症状や流産などを引き起こす。インフルエンザ A ウイルス (IAV) はヒトにおいて呼吸器症状を引き起こす季節性のウイルスとして知られ、イヌ・ネコ・ブタといった様々な動物に感染することが知られている。季節性の IAV 以外にも、動物の体内で生まれる遺伝子再集合体のパンデミックも問題となる。本研究では、愛玩動物に感染が認められる上記の 2 種類のウイルスを解析し、FHV-1 の新規治療薬の提案と IAV の診断法の確立を目的とし、全 2 章で構成される。</p> <p>第 1 章 核酸系抗生物質シネフンギンの <i>in vitro</i> における抗 FHV-1 活性</p> <p>シネフンギンは、ウイルス・細菌・原虫・真菌など様々な病原体に効果のある核酸系抗生物質である。そこでは黒田氏いくつかの動物ウイルスに対する抗ウイルス活性を検討した。</p> <p>猫において主要なウイルスであるネコカリシウイルスと猫伝染性腹膜炎ウイルスと FHV-1、FHV-1 と同じヘルペスウイルス科バリセロウイルス属である仮性狂犬病ウイルスとウマヘルペスウイルス 1 を用いたところ、FHV-1 にのみ特異的な抗ウイルス活性が認められた。また、この抗ウイルス活性は顕著な細胞毒性なしで濃度依存的に見られ、ウイルスの侵入後に作用することが判明した。その 50%効果濃度 (EC₅₀) は、局所投与で FHV-1 に対して効果があるとされる抗ヘルペスウイルス薬のアシクロビルと同程度であることが判</p>	

明した (シネフンギンの EC_{50} : 9.5 $\mu\text{g/ml}$ 、アシクロピルの EC_{50} : 18 $\mu\text{g/ml}$)。

第 2 章 飼育フェレットにおける IAV 感染の疫学調査

フェレットは IAV 感染に高感受性動物で、症状もヒトの場合と似ていることから感染実験モデル動物として用いられている。飼育フェレットにおける自然感染例はいくつか報告されているが、血清疫学調査の報告はない。したがって、ELISA による抗 HA 抗体検出系を確立し、抗体保有率を調べた。その結果 H1 亜型に対して 79 頭中 19 頭 (24.1%)、H3 亜型に対して 77 頭中 4 頭 (5.2%) が抗体陽性であった。しかし、H5 及び H7 亜型に抗体陽性となる個体はいなかった。次に、中和試験によって中和抗体の検出を試みた結果、H1 亜型陽性 9 検体はすべて H1N1pdm に対する中和抗体陽性となり、飼育フェレットは H1N1pdm に感染していたことが強く示唆された。H3 亜型に関しては ELISA と中和試験に相違が認められる個体があったが、H3 亜型内の抗原性の違いを反映していると考えられた。

また、飼い主がインフルエンザ A ウイルス陽性と診断され、くしゃみなどの呼吸器症状を呈したフェレット 2 頭から HA 遺伝子と NA 遺伝子のほぼ全長の塩基配列を決定した。2 頭由来の HA 及び NA 遺伝子の塩基配列は完全に一致し、HA 遺伝子の系統解析の結果、これらの配列はヒトで流行が見られていたクレード 6B.1 に属していた。したがって、これらのフェレットは、飼い主から IAV に感染したことが強く疑われた。さらに、これらのフェレットのうち 1 頭のスワブからは IAV の分離に成功した。このことは、IAV 感染フェレットが感染性のあるウイルスを排出していることを示唆し、獣医医療関係者への感染リスクとなりえることを表している。

本研究では、FHV-1 や IAV といった愛玩動物に病原性のあるウイルスの治療法や診断法確立に貢献した。シネフンギンの抗 FHV-1 効果の発見のような新規治療薬候補の探求は、他薬剤との併用や類似化合物の開発によるさらなる効果的な治療法の提供を可能にするであろう。また、IAV のようなウイルス感染症の診断法の確立は、動物に対する感染リスクだけでなく、ヒトに対する感染リスクの評価に貢献すると期待された。

以上により、本論文は博士 (獣医学) の論文として、妥当なものであると判断された。