

リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス

高木利一^{1,2}, 大沢一貴¹

¹長崎大学先端生命科学研究支援センター・比較動物医学分野

²日本エスエルシー (株) バイオテクニカルセンター・品質管理部

要 約

リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (Lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV) は、1934年に初めてアメリカで分離された人獣共通感染性のウイルスである。LCMVは、現在も免疫学研究の進展に貢献している一方、実験動物分野においては、排除されるべき病原体と考えられている。国内の実験動物における感染報告例は少ないものの、近年でも、輸入後に交配維持されていた野生由来近交系マウスで汚染が確認された事例がある (2005年)。垂直感染したマウス個体は、免疫寛容に陥り抗体検出が困難とされること、帝王切開を実施してもウイルスを排除できないリスクを伴うこと、ヒトもウイルス感受性動物であることなどを考慮すると、動物実験施設において適切なモニタリングを行い、マウスコロニー内に絶対には持ち込ませないため、監視の不可欠な病原体のひとつといえよう。

1. ウイルスと自然宿主

リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (Lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV) は、アレナウイルス科に属する人獣共通感染性のウイルスである。アレナウイルス科には旧世界アレナウイルスとして LCMV やラッサウイルスなど、ならびに新世界アレナウイルスとしていわゆる南米出血熱ウイルスが含まれており、概ね各ウイルスは固有のげっ歯類を自然宿主としている。一方、感受性動物として、マウスやヒトのほか、ハムスター、モルモット、イヌ、ブタ、サル類など多くの動物種が知られている。

ウイルスの形状は、球形または不定形 (直径 50–300 nm) でエンベロープを有している。ウイルスゲノムは 1 本鎖のアンピセンス RNA で、約 3.4 kb からなる S-RNA と 7.2 kb からなる L-RNA の 2 分節から構成され、各分節には各 2 つの ORF が存在する。すなわち、S-RNA にはヌクレオカプシドタンパク質と糖タンパク質、L-RNA には RNA 依存性 RNA ポリメラーゼと zinc フィンガータンパク質がコードされている。

LCMV は、1934年に Armstrong らによってセントルイス脳炎の患者から最初に分離され、マウスからは 1935年に Traub により分離された [2, 13]。日本でも 1937年に笠原らによりウイルスが分離されている

[5]。これまでに、北米やヨーロッパ、中国大陸など複数の地域で抗体保有動物の存在が確認されており、近年では、LCMV 抗体保有率は、イタリア ('02–06年) で 8.3%、スペイン ('03–06年) で 3.8% との報告がある [6, 11]。国内でも、森田らにより 1990年に横浜港、1991年に大阪港に生息する野生ハツカネズミの抗体調査が行われ (7.0–25.9%)、1998～2001年には吉川らにより名古屋港 (6.1%) や神戸港 (30.0%) でも行われている [7, 8]。これらは海外と直接交流のある限られた港湾地区での調査であり、国内全般の抗体保有野生ハツカネズミの分布状況は不明である。

2. 実験動物とウイルス

実験動物分野における LCMV 感染状況については、1986年に佐藤らにより抗体検査が行われ、マウス (SPF を含む) やシリアンハムスターなどで 2～6% の抗体保有率であることが確認されている [10]。また最近の話題として、2005年に理化学研究所がフランスのパスツール研究所より導入した野生由来近交系マウスから、このウイルス感染が検出されたことがあげられる [4, 14]。帝王切開を経てこれらマウスを導入したものの、垂直感染した LCMV をコロニーから排除できなかったという。免疫機能の不完全な新生仔期に LCMV が感染した場合、免疫寛容状態を

マウスに引き起こすことが知られており、パスツール研究所でも8年間に亘り発見されなかったのも抗体産生が微弱であったためと推察される。これらを踏まえると、LCMVがマウスコロニーに侵淫した場合、血清学的に検出することはそれほど容易ではない可能性がある。この分離ウイルス株などを用いた感染実験データが、徐々に蓄積されつつある[14, 15]。

このウイルスは、国立感染症研究所病原体等安全管理規程においてはバイオセーフティレベル (BSL) 2に分類され、感染動物実験の場合 ABSL3 とされている。米国 CDC/NIH の Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL), 5th Edition においては [16], 原則 BSL2, エアロゾル発生リスクが高い場合や高濃度使用の場合、ヒト以外の霊長類で致死性が明らかな株については BSL3, マウスの脳で継代されたウイルス株を用いたマウス感染実験は ABSL2, ハムスターの感染実験は ABSL3 と実験内容に応じて細分化されている。

3. 感染様式と臨床症状

LCMV の自然宿主はハツカネズミ (*Mus musculus*), すなわちマウスであり、実験的にマウスの脳内にウイルスを接種した場合に、いわゆるリンパ球性脈絡髄膜炎を惹起し、接種後約1週間で立毛、円背、間代性痙攣を起こし死亡する。またマウスの場合、水平感染では抗体産生を認め多くは無症状に推移するが、垂直感染の場合は抗体が産生されにくい免疫寛容状態となり、持続感染して唾液や尿中にウイルスを排出するといわれている。前述のように、一旦持続感染系が成立すると、例え感染動物を帝王切開法で清浄化しようとしても、ウイルスを排除することは難しいと考えられる。

一方、ヒトでの LCMV 感染例では、無症状の場合も多いが、発症した場合は発熱、頭痛、筋肉痛、倦怠感を伴うインフルエンザ様症状を示す。また、妊娠中の感染では、流産や新生児の先天性水頭症、脈絡網膜炎、精神障害を起こすことがある。近年、臓器移植ドナーの LCMV 感染に起因するレシピエントの死亡例が複数報告されているが、臓器移植を除きヒト-ヒト感染の報告はない。免疫抑制状態に誘導する場合は重篤になる傾向にあり、今後わが国でも注意を払うべきであろう [1, 3, 9]。

4. 検査方法

検査方法には、抗体検査や遺伝子検査のほか、ウイルス培養検査や Mouse/Hamster Antibody Production (MAP/HAP) テストがある。血清中の抗体検査法として、国内ではおもに間接蛍光抗体法が用いられている。抗体検査については、ICLAS モニタリングセンターに委託することができる。また、バキュロウイルス組換え LCMV 抗原を用いた ELISA 法が確立されているが、現在までに検査キットの市販には至っていないようである [12]。

抗体産生が微弱な場合、遺伝子検査に頼らざるを得ないであろう。複数の機関で解析・設計されたプライマーを用いた RT-PCR 法が報告されているが、LCMV 株間の塩基配列の相同性はそれほど高くなく、どのウイルス株でも検出可能なユニバーサルプライマーの設計は極めて困難と考えられる [4, 15]。

ウイルス培養検査や MAP/HAP テストは、検査期間が長く、感度がやや低い欠点はあるものの、陽性信頼度が高く優れたウイルス検出方法といえる。脾臓、腎臓ないし肺の10%臓器乳剤を培養細胞 (Vero 細胞, BHK 細胞, L 細胞) に播種する、あるいはマウスやハムスターの腹腔に接種し抗体価上昇の有無を検査する。いずれも古典的な方法ではあるが、使用する RT-PCR 検査の LCMV 検出スペクトルの内か外か不確実な場合、信頼度の高い方法である。

5. 今後の展望

近年、スペイン産モリアカネズミ (*Apodemus sylvaticus*) から LCMV が分離され、このウイルスの系統樹解析によれば、既知のウイルス株とは異なるクラスターを形成した [6]。このことは、未知の LCMV 株が多数存在していること、そして将来 LCMV の再定義が必要になる可能性を示唆している。

遺伝子組換え動物の授受が頻繁に行われている現状を顧みると、ほとんどの研究機関で事故経験のない LCMV などのげっ歯類の人獣共通感染性病原体の検索は決して疎かにしてはならない。LCMV の場合、持続感染系が一旦成立すると、通常の微生物モニタリングによる抗体検出が困難となり、コロニーからのウイルス排除が後手に回り被害が甚大となりかねない。コロニー内に LCMV を絶対に持ち込まない、細心の導入時検疫体制が肝要といえる。

参考文献

- Amman, B.R., Pavlin, B.I., Albariño, C.G., Comer, J.A., Erickson, B.R., Oliver, J.B., Sealy, T.K., Vincent, M.J., Nichol, S.T., Paddock, C.D., Tumpey, A.J., Wagoner, K.D., Glauer, R.D., Smith, K.A., Wipisinger, K.A., Parsely, M.S., Wyrick, P., Hannafin, C.H., Bandy, U., Zaki, S., Rollin, P.E., and Ksiazek, T.G. 2007. Pet rodents and fatal lymphocytic choriomeningitis in transplant patients. *Emerg. Infect. Dis.* 13: 719–725.
- Armstrong, C. and Lillie, R.D. 1934. Experimental lymphocytic choriomeningitis of encephalitis epidemic. *Public Health Rep.* 49: 1019–1027.
- Fischer, S.A., Graham, M.B., Kuehnert, M.J., Kotton, C.N., Srinivasan, A., Marty, F.M., Comer, J.A., Guarner, J., Paddock, C.D., DeMeo, D.L., Shieh, W.J., Erickson, B.R., Bandy, U., DeMaria, A. Jr., Davis, J.P., Delmonico, F.L., Pavlin, B., Likos, A., Vincent, M.J., Sealy, T.K., Goldsmith, C.S., Jernigan, D.B., Rollin, P.E., Packard, M.M., Patel, M., Rowland, C., Helfand, R.F., Nichol, S.T., Fishman, J.A., Ksiazek, T., and Zaki, S.R. 2006. Transmission of lymphocytic choriomeningitis virus by organ transplantation. *N. Engl. J. Med.* 354: 2235–2249.
- Ike, F., Bourgade, F., Ohsawa, K., Sato, H., Morikawa, S., Saijo, M., Kurane, I., Takimoto, K., Yamada, Y.K., Jaubert, J., Berard, M., Nakata, H., Hiraiwa, N., Mekada, K., Takakura, A., Itoh, T., Obata, Y., Yoshiki, A., and Montagutelli, X. 2007. Lymphocytic choriomeningitis infection undetected by dirty-bedding sentinel monitoring and revealed after embryo transfer of an inbred strain derived from wild mice. *Comp. Med.* 57: 272–281.
- Kasahara, S., Hamano, R., Yamada, R., and Tsubaki, S. 1937. Choriomeningitis virus isolated in the course of experimental studies on endemic encephalitis. *Tras. Soc. Pathol. Jpn.* 27: 581–585.
- Ledesma, J., Fedele, C.G., Carro, F., Lledó, L., Sánchez-Seco, M.P., Tenorio, A., Soriguer, R.C., Saz, J.V., Domínguez, G., Rosas, M.F., Barandika, J.F., and Gegúndez, M.I. 2009. Independent lineage of lymphocytic choriomeningitis virus in wood mice (*Apodemus sylvaticus*), Spain. *Emerg. Infect. Dis.* 15: 1677–1680.
- Morita, C., Matsuura, Y., Kawashima, E., Takahashi, S., Kawaguchi, J., Iida, S., Yamanaka, T., and Jitsukawa, W. 1991. Seroepidemiological survey of lymphocytic choriomeningitis virus in wild house mouse (*Mus musculus*) in Yokohama port, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 53: 219–222.
- Morita, C., Matsuura, Y., Fujii, H., Joh, K., Baba, K., Kato, M., and Hisada, M. 1991. Isolation of lymphocytic choriomeningitis virus from wild house mice (*Mus musculus*) in Osaka port, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 53: 889–892.
- Paddock, C., Ksiazek, T., Comer, J.A., Rollin, P., Nichol, S., Shieh, W.J., Guarner, J., Goldsmith, C., Greer, P., Srinivasan, A., Jernigan, D., Kehl, S., Graham, M., and Zaki, S. 2005. Pathology of fatal lymphocytic choriomeningitis virus infection in multiple organ transplant recipients from a common donor. *Mod. Pathol.* 18: 263–264A.
- Sato, H. and Miyata, H. 1986. Detection of lymphocytic choriomeningitis virus antibody in colonies of laboratory animals in Japan. *Exp. Anim.* 35: 189–192.
- Tagliapietra, V., Rosà, R., Hauffe, H.C., Laakkonen, J., Voutilainen, L., Vapalahti, O., Vaheri, A., Henttonen, H., and Rizzoli, A. 2009. Spatial and temporal dynamics of lymphocytic choriomeningitis virus in wild rodents, northern Italy. *Emerg. Infect. Dis.* 15: 1019–1025.
- Takimoto, K., Taharaguchi, M., Morikawa, S., Ike, F., and Yamada, Y.K. 2008. Detection of the antibody to lymphocytic choriomeningitis virus in sera of laboratory rodents infected with viruses of laboratory and newly isolated strains by ELISA using purified recombinant nucleoprotein. *Exp. Anim.* 57: 357–365.
- Traub, E. 1935. A filterable virus recovered from white mice. *Science* 81: 298–299.
- 池 郁生, Bourgad, F., 大沢一貴, 高木利一, 佐藤 浩, 森川 茂, 酒井宏治, 水谷哲也, 西條政幸, 倉根一郎, 滝本一広, 山田靖子, Jaubert, J., Berard, M., 中田初美, 平岩典子, 目加田和之, 高倉 彰, 伊藤豊志雄, 小幡裕一, 吉木 淳, Montagutelli, X. 2010. 輸入マウスに感染していたリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス. *獣医畜産新報* 63: 205–207.
- 高木利一, 大沢牧子, 森田千春, 池 郁生, 佐藤 浩, 大沢一貴. 2009. 国内分離リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV) 2株におけるマウス病原性比較. *九州実験動物雑誌* 25: 37–42.
- <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmb15/BMBL.pdf>