

ダニ媒介性ウイルス Jingmen tick virus が提起するウイルス学上の問題について

上村真子¹、矢田部佑紀¹、増田洋介¹、津田 涼¹、前原明衣³、松橋珠子^{2,3}、中西 章^{1,2}

要旨

非分節化ゲノムのフラビウイルスに分類されながら、分節化したウイルスゲノムを持つ Jingmenvirus は、昆虫及び脊椎動物に感染するアルボウイルスという性質のみならず、ゲノム構造の進化と粒子の多成分性による感染という、ウイルス学上重要な問題に対しても新しい視点を与えてくれるユニークな特徴を持っている。本稿では Jingmenvirus の中でも、このウイルス発見の端緒となった Jingmen tick virus を中心にウイルス学的な特徴について解説した。

キーワード：ダニ媒介性ウイルス、フラビウイルス、Jingmen tick virus、分節 RNA ゲノム

1. マダニによって感染が媒介されるウイルス

病原体を媒介する生物として蚊について重要なのがマダニである⁽¹⁾。重症熱性血小板減少症候群 (Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome ; SFTS) や、クリミア・コンゴ出血熱 (Crimean–Congo hemorrhagic fever ; CCHF) などは、いずれもマダニによってヒトへの感染が媒介され、特に SFTSV は発症後に死亡例の報告が相次いだことは記憶に新しい。それぞれの症状の原因ウイルスとなる SFTS ウイルス (SFTSV) やクリミア・コンゴ出血熱ウイルス (CCHFV)、また 2020 年に北海道で発見され、熱性疾患の原因となるエゾウイルス (Yezo virus ; YEZV)⁽²⁾ などは、いずれも分節化した複数の negative sense RNA をゲノムに持つブニヤウイルス目 (Bunyavirales) に属するウイルスである。日本においてはダニ媒介性ウイルスとしてこれら以外に、ダニ媒介性脳炎ウイルス (Tick-borne encephalitis virus; TBEV) や、オズウイルス (OZV) が知られている。それぞれフラビウイルス科 (Flaviviridae)、オルソミクソウイルス科 (Orthomyxoviridae) に属している (表 1 参照)。

2. Jingmenvirus の発見と分類

Jingmen tick virus (JMTV) は、TBEV と同じフラビウイルス科に属し、中国湖北省の荊門市で採取されたオウシマダニ (*Rhipicephalus microplus*) より見つかった⁽³⁾。この発見は、元々ブニヤウイルス科に属する Huaiyangshan virus の中国国内の分布を調べることを目的としたスクリーニングが 2010 年に実施され、その際偶然にもフラビウイルス属の 2 つの非構造タンパク質 NS2B/NS3 配列および NS5 配列と高度に類似する配列をコードするウイルス RNA 配列が発見された調査研究に由来する。注目されたのはその特異なゲノム構造である。本来、フラビウイルス科のゲノムは非分節の 1 本の positive sense RNA であり、1 種の ORF (Open Reading Frame) から翻訳される長大な polyprotein が切断されて、多種のウイルスタンパク質が生成される。一方、JMTV は 4 本の分節化した positive sense RNA ゲノムをもっており、それぞれの分節でコードするタンパク質は 1~2 種であり、1 つの分節に単一あるいは複数の ORF を持つ。その中の 1 番と 3 番の分節 RNA にはそれぞれ NS5 様タンパク質と NS2B/NS3 様タンパク質をコードしている。一方 2 番および 4 番の分節にはウイルス構造タンパク

原稿受付 2024 年 1 月 18 日

1. 近畿大学生物理工学部 遺伝子工学科, 〒649-6493 和歌山県紀の川市西三谷 930
2. 近畿大学先端技術総合研究所, 〒642-0017 和歌山県海南市南赤坂 14-1
3. 近畿大学生物理工学部食品安全工学科, 〒649-6493 和歌山県紀の川市西三谷 930

質がコードされており、これらの配列はフラビウイルス属ウイルスの構造タンパク質と類似性はない。

JMTV の発見により、これに類似するウイルスが次々と発見された。これらウイルスの共通の特徴は、positive stranded RNA ゲノムが 4~5 本分節化されていることであり、最大 7 個の構造タンパク質と 2 個の非構造タンパク質をコードしており、後者はいずれもフラビウイルスの非構造タンパク質 (NS2B/NS3 および NS5) と強い類似性を示している。これらは Jimgmenvirus として、未分類のフラビウイルス科 (Flaviviridae) にまとめられている^(4,5)。Jimgmenvirus は、マダニ、蚊、脊椎動物から見つかる系統群 (Clade) と、昆虫をふくむ節足動物および植物からみつかる系統群の 2 種類に分けることができる⁽⁶⁾。JMTV を含む、マダニ、蚊、脊椎動物から見つかる系統群を構成するウイルスは、ヒト病原体としての重要性が注目され、JMTV やその近縁種である Alongshan virus (ALSV)⁽⁷⁾ で研究が進められている。

表 1 ダニ媒介性感染症の原因となるウイルス

ウイルス名	科・属	感染症状	分布	保有 (媒介) 生物	参考文献
クリミア・コンゴ出血熱ウイルス (CCHFV)	ペリプニヤウイルス科 オルソナイロウイルス属	熱性疾患、 出血	アフリカ、東ヨーロッパ、中東、中央アジア	イボマダニ属、チマダニ属 など	(8)
重症熱性血小板減少症候群ウイルス (SFTSV)	フェヌイウイルス科 バンダウイルス属	熱性疾患、 血小板減少	中国、日本、朝鮮半島	フタトゲチマダニ、 タカサゴキララマダニなど	(9)
エゾウイルス (YEZV)	ペリプニヤウイルス科、 オルソナイロウイルス属	熱性疾患	北海道	ヤマトマダニ、シュルツエマダニ、ヒゲナガチマダニ など	(2)
オズウイルス (OZV)	オルソミクソウイルス科 トゴトウイルス属	熱性疾患、 心筋炎	日本	タカサゴキララマダニなど	(10,11)
ダニ媒介性脳炎ウイルス (TBEV)	フラビウイルス科 フラビウイルス属	熱性疾患、 髄膜脳炎	ヨーロッパ、ロシア、北海道	マダニ属、カクマダニ属、 チマダニ属など	(12)
Jingmen tick virus (JMTV)	フラビウイルス科 未分類属	熱性疾患?	アジア、ヨーロッパ、アフリカ、南アメリカ	マダニ属、イボマダニ属、 チマダニ属、カクマダニ属、 キララマダニ属など	(13)

3. JMTV の特徴

3.1. 分布と系統

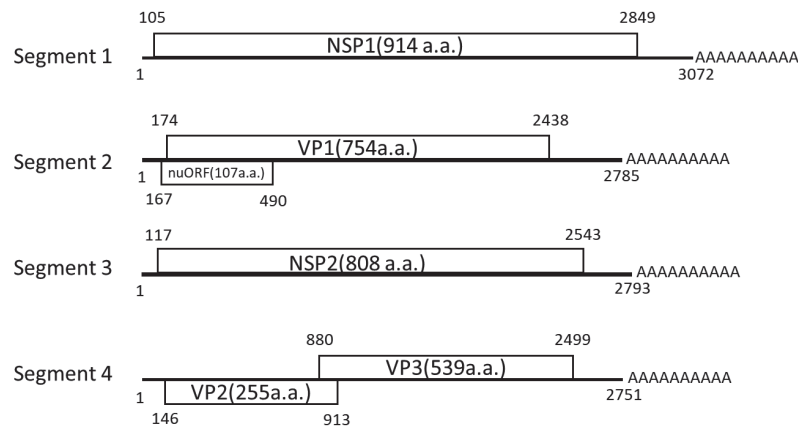
発見以来、JMTV は、アジア (中国、ラオス、日本)、ヨーロッパ (トルコ、イタリア、コソボ、ルーマニア、ロシア)、南アメリカ (ブラジル、トリニダード・トバゴ、フランス領アンティル、コロンビア)、アフリカ (ウガンダ、ギニア、ケニア) の広い範囲で検出されている⁽¹³⁾。塩基配列を用いた分子系統解析により、アジアを中心に確認されたウイルス、そしてアフリカおよび南アメリカで確認されたウイルス、ヨーロッパ (コソボ、トルコ) や中央アメリカ (西インド諸島) で確認されたウイルスの 3 つの系統に大別することができる⁽⁶⁾。これら 3 つの系統のうち、現在のところ明確な機能的な差異、例えば分子生物学的な性質、宿主域、伝播性などでの差は見つかっていない。

3.2. ウイルスゲノム

4 本の分節に分かれた positive sense RNA ゲノムの 5' 末端、3' 末端にはそれぞれ (5'-GCAAGUGCA-3') (5'-GGCAAGUGC-3') といった分節間で共通の配列が存在し、通常のフラビウイルスには見られない polyA 配列が 3' 末端に付加されている^(14,3) (図 1)。JMTV のコドン使用バイ

アスや塩基構成は、フラビウイルスと近似しており、かつアルボウイルス（節足動物内で増殖し、それらの吸血活動によって脊椎動物に伝播されるウイルス）の特徴を持つことが報告されている⁽¹⁵⁾。第1分節にコードされるタンパク質、NSP1のアミノ酸配列は、RNA依存性RNAポリメラーゼ（RNA-dependent RNA polymerase; RdRp）およびウイルスRNAのキャップ構造形成に関与するメチル転移酵素（methyltransferase）をコードする通常のフラビウイルスNS5タンパク質配列に類似しており、同様の機能をもつことが予想されている。第3分節にコードされるタンパク質であるNSP2のアミノ酸配列は、ウイルスプロテアーゼ（viral protease）およびRNAヘリケース活性を示唆するATPaseモチーフとRNA結合領域をもつ通常のフラビウイルスNS2B/NS3タンパク質の配列に類似している。ALSV NSP2タンパク質については構造機能解析が行われ、ヘリケースドメインについてATPase活性が存在する事が確認され、ATPase活性中心とRNA結合部位はフラビウイルスのNS3と構造的に保存されていることが結晶構造解析で示されている⁽¹⁶⁾。第2、4分節には粒子の形成に関わる構造タンパク質がコードされている。第2分節にはnuORFまたはVP4⁽¹⁷⁾とVP1がコードされており、nuORFのコード領域はVP1のコード領域の前半の一部と重なっているが、読み枠は異なる。JMTVと近縁のALSVではVP1コード領域が2分されておられ、VP1aおよびVP1bがコードされている。第2分節にコードされている構造タンパク質、JMTV VP1およびALSV VP1a/VP1b、の*in silico*解析によると、JMTV VP1およびALSV VP1aはクラスIIのFusion protein様のエンベロップタンパク質と予想されており、JMTVではVP1のC末端領域、ALSVではVP1bの膜貫通ドメインで膜状にアンカーされていると考えられている⁽¹⁸⁾。第4分節には、VP2およびVP3がコードされており、VP2にはシグナルペプチド領域が、VP3には糖鎖修飾が予想されるため、ともに膜タンパク質とされている。

Jingmen Tick Virus



Alongshan Virus

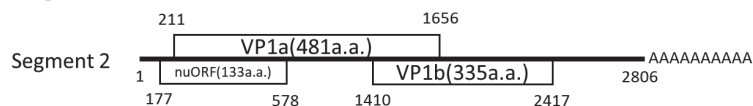


図1 Jinmenvirus のゲノム構造

Jingmenvirus のゲノム構造を、JMTV (Jingmen tick virus) SY84 株および ALSV (Alongshan virus) H3 株配列を例にして示す⁽¹⁹⁾。各分節 (Segment) に表記の数字は核酸番号であり、分節長や ORF の開始および終始位置を示す。

3.3. 粒子構造

JMTV はエンベロープを持つウイルスと考えられており、最初の報告では透過電子顕微鏡の観察によって 70~80nm 径の粒子像を確認している⁽³⁾。ALSV については、節足動物由来細胞を用いたものも含む感染増殖系の報告があり、粒子生成が観察されているが、80-100nm 径の粒子を観察した例と⁽⁷⁾、40nm 径と 13nm 径の 2 種の粒子を観察した例がある⁽¹⁷⁾。前者が中国株、後者がロシア株であることがその差につながったとも考えられるが、JMTV とは別の系統群 (clade) に属する Jingmenvirus である Guaico Culex virus (GCXV) では、30-35nm の粒子を観察している⁽²⁰⁾。ゲノムが分節化していることもあり、15~35nm サイズの粒子には分節 RNA ゲノムが 1~2 本パッケージされたもの、70~100nm サイズの粒子には全ての分節 RNA がパッケージされたものと解釈した報告もある (下記参照)。

3.4. 保有するマダニ種、有病率 (Prevalence) など

JMTV を保有するマダニ種は 25 種以上知られており⁽⁶⁾、コイタマダニ属 (*Rhipicephalus*)、キララマダニ属 (*Amblyomma*)、カクマダニ属 (*Dermacentor*)、チマダニ属 (*Haemaphysalis*)、イボマダニ属 (*Hyalomma*)、マダニ属 (*Ixodes*) に渡っている (図 2)。JMTV RNA が最も多く検出されているのはオウシマダニとされている。オウシマダニはウシに対する畜産害虫として最も重要なマダニ種であり、アナプラズム症となる *Anaplasma marginale* あるいはバベシア症の原因となる *Babesia* 原虫の感染を媒介することが知られている。例えばオウシマダニで JMTV RNA が検出できる割合は、中国 (53~63%)、ブラジル (25~67%)、トリニダード・トバゴ (6~46%)、フランス領アンティル (24~77%) であり^(21,22,19,15,23,3,24-27)、半数以上のオウシマダニが JMTV を保有している場合が多い。一方、フタトゲチマダニ (*Haemaphysalis longicornis*)、ツリガネチマダニ (*Haemaphysalis campanulata*)、ヤマアラシチマダニ (*Haemaphysalis hystrix*) での中国における JMTV RNA 保有率を調べた結果は、それぞれ 11~55%、75%、46% とそれなりに高く、オウシマダニの保有率に匹敵する場合もある。さらに、JMTV RNA はイエカ属 (*Culex*) やハマダラカ属 (*Anopheles*) の蚊^(28,3)からも検出されている。

脊椎動物では、コウモリ、齧歯類、ウシ、サル、ヒトから JMTV RNA が検出されている。コウモリからは、ホオヒゲコウモリ属 (*Myotis*)、キクガシラコウモリ属 (*Rhinolophus*) や、ユビナガコウモリ (*Miniopterus fuliginosus*)、ユーラシアヤマコウモリ (*Nyctalus noctula*)、アブラコウモリ (*Pipistrellus abramus*) などの 11 種の血液から、平均 11.8% (5.6~50%) の個体で検出されている⁽²²⁾。サルからはアカコロブス (*Procolobus rufomitratus*) の血漿⁽²⁰⁾で、ヤギおよびヒツジ血中ではそれぞれ 0.3% および 1.8% の個体⁽²⁹⁾で、ウシ血中からは 9.6%⁽²²⁾ あるいは 14%⁽²⁵⁾ の個体より、齧歯類からはセスジネズミ (*Apodemus agrarius*)、クマネズミ (*Rattus tanezumi*)、ドブネズミ (*Rattus norvegicus*)、ウラルアカネズミ (*Apodemus uralensis*)、ハツカネズミ (*Mus musculus*)、タマリスクスナネズミ (*Meriones tamariscinus*)、ユーラシアハタネズミ (*Microtus arvalis*)、オオスナネズミ (*Rhombomys opimus*)、リビアスナネズミ (*Meriones libycus*)、タビキヌゲネズミ (*Cricetulus migratorius*)、ホソガオハタネズミ (*Microtus gregalis*) の 11 種について^(22,30)、前半の 3 種は血液より平均 6.7% の個体で、後半の 8 種は肝臓より各種平均で 25.6% の個体より検出されている。また、ケニアのヒョウモンガメ (*Stigmochelys pardalis*) で 74.5% の個体⁽²⁹⁾で、ジャイアントパンダ⁽³¹⁾からも JMTV 配列の検出の報告がある。ヒトでは、コンゴでのクリミア・コンゴ出血熱患者の中から 2 人で JMTV RNA 配列が検出⁽³²⁾されており、また中国ではマダニ咬傷の疑いのある 16 人のうち 4 人から JMTV RNA を検出し、またマダニ咬傷歴がある TBEV 陰性患者の中で 1.6% (8/509) が JMTV 抗体をもつ事が報告されている⁽³³⁾。また、データが不確かながらマダニ咬傷歴のある 223 人のうち 1 人で JMTV 抗体が検出されている⁽²⁶⁾。ウシでは中国

の3地域を調べた結果では18~37%と高い割合で抗JMTV抗体が検出されている^(3,34)。

ASLVを保有する昆虫類は、JMTVと同様に多種にわたり、マダニ属をはじめ、カクマダニ属、チマダニ属、イエカ属、ハマダラカ属などが報告されている^(35,17,36,37,26,7)。中国北東部におけるウシ、ヒツジでのASLV RNAの検出割合は、26.3%、27.5%であり、また抗ALSV VP2抗体陽性は、ウシ、ヒツジそれぞれで4.6%、9.2%であり、それぞれ4.2%、1.7%で中和抗体が検出されている⁽³⁸⁾。また分離されたALSVの配列はヒトから発見されたALSV株H3⁽⁷⁾と98%ほど一致していた。同じ地域でダニ咬傷歴がある患者のうち23% (86/374) でALSV RNAが検出され、この陽性患者の中で、血清学的調査が可能であった19人すべてで抗ALSV抗体が見つかった⁽⁷⁾。

これらの報告を総合するとJMTVそしてALSVが既に軽症ながらヒト感染症をひきおこすダニ媒介性ウイルスとして定着し、かつ広く分布していることを示唆している。



図2 タカサゴキララマダニ (オス) 成虫

タカサゴキララマダニ (*Amblyomma testudinarium*) はイノシシに寄生する主要なマダニである。左部分は定規を示す(各メモリは1mm刻み)。生物理工学部遺伝子工学科 2021年度 卒業研究論文(矢田部佑紀)より。

3.5. 実験的な感染増殖系について

Jingmenvirus の基礎ウイルス学的な知見、すなわち感染・複製メカニズム、トロピズム、宿主域、異なる宿主における潜在的病原性などを調べるためには、実験室レベルでの感染・増殖の再現が不可欠である。さらにウイルス構造タンパク質の立体構造の解明は、宿主細胞への結合と侵入に関わるメカニズム、潜在的な免疫反応回避メカニズムや、緊急事態への備えという観点からワクチンや治療法の開発に有用である。これらの研究から得られた結果の機能的な意味を解析するためには逆遺伝学的アプローチ、すなわち核酸配列からウイルスを作り出す技術(リバースジェネティクス系)が欠かせない。以上の技術の基本となるのは、やはり培養細胞を用いた安定したJingmenvirus増殖系の構築である。

これまで、哺乳類・鳥類細胞を用いたJMTV増殖系の殆どは失敗に終わっており、BKH-21、LLC-PK1、PK-15、MDBK、HEK293、Vero、DF-1の各細胞では増殖は確認できていない^(15,39,34,25)。最初の報告ではイヌ球肉腫細胞(マクロファージ)株DH82を用いてJMTV増殖を報告している⁽³⁾。ヒ

トスジシマカ (*Aedes albopictus*) 由来 C6/36 細胞や オウシマダニ由来の BME26 細胞で増殖できた例⁽²⁵⁾、VeroE6 細胞を用いた例^(40,19)などがある。VeroE6 細胞を用いた例では細胞形状の伸長や空胞の形成を観察しているが、他の細胞も含めていずれも明確な細胞障害性 (Cytopathic effect) はみられず、3 継代程度で消失するというところも共通している。一方で、オウシマダニ胚由来細胞 BME/CTVM23 で 7 日間培養の結果 $10^{8\sim 11}/\text{mL}$ 程度まで増幅できたことが報告されており⁽³³⁾、この報告が現時点で最も高い増殖を示した例となる。

一方 ALSV については、複数の増殖系の報告がある。このウイルスをヒトより最初に分離した報告⁽⁷⁾では、Vero、SH-SY5Y、WISH、SMMC、THP-1 で感染増殖を観察し、Caco2、Hepa1-6、BHK-21、U-87MG、HFF 細胞では感染を観察できなかった。JMTV とは異なり、Vero 細胞での継代も可能で、感染 4 日後に明確な細胞障害性も観察され、同様な結果はウシ、ヒツジから分離された ALSV でも報告されている⁽³⁸⁾。一方、フィンランドのリシナスマダニ (*Ixodes ricinus*) から分離された ALSV は、Vero、SK-N-SH、CRL-2088 細胞を使った分離に失敗している⁽³⁶⁾。ロシア西部地域から採取されたリシナスマダニ、シュルツェマダニ (*Ixodes persulcatus*) から、リシナスマダニ由来 IRE/CTVM19 細胞や *Hyalomma anatolicum* 由来 HAE/CTVM8 細胞を用いて ALSV の分離に成功している。これらの細胞は、継代をあまり必要とせず、1 週間ごとの培地交換を続けるだけで細胞障害性もみられない特殊な培養だが、1 年間維持した後も ALSV を検出することができたとしている^(35,36)。

個体レベルでの感染増殖モデルについては、JMTV でジャワダニ (*Amblyomma javanense*) への接種により、中腸 (midgut) や唾液腺 (salivary gland) にウイルス RNA 陽性の細胞が確認できたことを報告している⁽³³⁾。ALSV では、ヒト分離株 H3 を用い Balb/c マウスに腹腔内接種 (10^7 RNA copies/個体) 14 日後には、肝臓、腎臓、脳に感染病理的变化を観察でき、脳、血中でのウイルス RNA 量は $10^4/\text{mL}$ 程度であったが、肝臓、脾臓、肺では $10^7/\text{mL}$ 、腎臓、心臓では $10^6/\text{mL}$ 程度を検出し、ウイルス増殖を確認できたとしている⁽⁷⁾。ALSV のヒト分離株での有望な結果を鑑みると、難培養性との認識がある JMTV についてもヒト分離株が入手できれば、実験室レベルでの感染増殖系及び動物モデルの確立への道筋が見えてくるかもしれない。

3.6. 伝播と媒介

マダニ間での Jingmenvirus の伝播は、他のダニ媒介性のフラビウイルスと同様に⁽⁴¹⁾、宿主の脊椎動物を介さずとも垂直感染がおこることが示唆されている。JMTV が検出された種々のマダニにおいて、雌雄や、幼虫、若虫、成虫の区別なく検出されており^(33,19,15,23)、とくに宿主での吸血を開始する以前の幼虫 (unfed larvae) からも見つかることから transovarial (卵巣経由)、transstadial (脱皮・変態後も感染状態が維持されること) でウイルスが受け継がれうると考えられている。

マダニと脊椎動物の間の伝播は、どちらのサンプルからも同じウイルスが検出されていることから、脊椎動物の宿主からマダニが吸血することを介したマダニと脊椎動物間の水平伝播が考えられる。しかしマダニのライフサイクルを考えると脊椎動物宿主との水平感染の時期・ステージを特定することは現段階では難しい⁽⁴²⁾。例えばオウシマダニのライフサイクルは一相性であり生涯にわたり単一の宿主個体に寄生して摂食 (吸血) する。つまり、孵化後の幼虫 (larvae)、続く脱皮後の若虫 (nymph) として、さらに脱皮して成虫となった後も同一の宿主にとどまり続けて吸血する。一方、クリミア・コンゴ出血熱ウイルスを媒介するチマダニ属の *Hyalomma marginatum*⁽⁴³⁾ は二相性であり、地表面で孵化し幼虫は小動物に寄生・吸血し、そのまま脱皮し若虫として吸血を続け、脱皮後の成虫では宿主と離れて冬眠し、春には新しい宿主に寄生する。ライム病を媒介するシュルツェマダニ (*Ixodes*

persulcatus) など、他の多くのマダニは三相性のライフサイクルであり、幼虫として宿主より吸血し、地上に落下して脱皮し、若虫として新たな宿主を探し、地上に落下して脱皮し、成虫として再び新たな宿主を探し、繁殖のために吸血というように生涯で必要とする宿主は幼虫、若虫、成虫の各ステージで異なる。JMTV および ALSV は一相性のオウシマダニや三相性のマダニなど多種にわたって保持されることが知られており、どの段階で媒介生物（マダニ）から脊椎動物の宿主にウイルスが伝播するか解明することが重要である。

4. Jingtivirus が提起するウイルス学上の問題について

通常のフラビウイルスに類似した非構造タンパク質をコードし、分節化したゲノムをもつ JMTV の発見は、ウイルスゲノム構造の進化について、重要な問題を再認識させてくれた。現存のウイルス遺伝子は多種多様であるが、ウイルスゲノム核酸の複製に必要な遺伝子（RdRp などの複製酵素）とウイルス粒子として他の宿主への伝播に必要な遺伝子（カプシドタンパク質などの構造タンパク質）は、各種のウイルスで異なってもウイルスとして成り立つために不可欠な遺伝子である。原初ウイルスもこの遺伝子を持つところからはじまったと考える研究者が多く、このため、それぞれを複製モジュール遺伝子、カプシドモジュール遺伝子とし、これらモジュール遺伝子がどのように獲得され進化して現在のウイルスとなったか、議論することが一般的となっている⁽⁴⁴⁾。RdRp は RNA ウイルスで不可欠の複製モジュール遺伝子と考えることができ、その配列あるいは構造モチーフを基にした分子系統解析により、現存の RNA ウイルスを 5 群に分け、各ウイルスの進化について議論した研究がある⁽⁴⁵⁾。この研究では、+鎖 ssRNA ウイルスが最初に生まれ、そして+鎖 ssRNA ウイルスより dsRNA ウイルスが少なくとも 2 回に分けて派生し、dsRNA ウイルスより-鎖 RNA ウイルスが誕生したとされている。最初のウイルスは RdRp とカプシドタンパク質のみをコードする+鎖 ssRNA ウイルスと考え、gene duplication からの新たな機能を持つ遺伝子の獲得や喪失、宿主・ほかのウイルスからの遺伝子の水平伝播によって、現在みられるウイルスへと適応進化したと想定している。フラビウイルスは第 3 群に含まれ、RNA の 5'末端修飾に必要なキャッピング酵素遺伝子を獲得したことが特徴となっている。フラビウイルスの基本型となる、非分節型ゲノムをもち単一の ORF にて polyprotein をコードするゲノム構造より、恐らくは分節化を経て JMTV を含む Jingtivirus が進化したと考えられている。非分節型で単一の ORF をコードするウイルスゲノムからおこるゲノム構造の変化は様々であるが、共通な利点とは各遺伝子の発現調節を個々に制御できることであり、分節化も例外ではない（図 3）⁽⁴⁶⁾。例えば、単一の ORF から翻訳された Polyprotein の切断から個々の遺伝子産物を産生させる方式は、個々の遺伝子産物の分子比を均一化することはできるが、構造タンパク質のように非構造タンパク質より多く産生する必要がある場合は、異なる遺伝子発現調節が必要になる。このため、単一の ORF より切り離してサブゲノム RNA としてほかの ORF とは異なった発現量を確保したり（図 3、①）、または逆に後半の ORF をフレームシフトでのみ発現させることで、発現量を抑制したり（図 3、②）、分節化して各 ORF を異なる遺伝子発現調節下に置いたりする方式（図 3、③）へと進化するパターンが考えられる。Jingtivirus は、③のパターンで分節化した RdRp などの遺伝子をフラビウイルスより取り込んで進化したものと想定されている。しかし、分節化のプロセスは明らかではなく、それ以上に、分節化、非分節化どちらの方向性が進化的に適正かは、実は定かではない。実験的には分節化も非分節化もそのウイルスへの選択圧によって変化することは知られている⁽⁴⁷⁾。手足口病の原因となる Foot-and-mouth disease virus (FMDV) は Picornavirus に属し、通常のフラビウイルスと同様、非分節で単一の ORF をもつ。細胞での増殖において高力価で継代を進める

と、ゲノム配列の一部を欠く DI 粒子 (Defective interfering particle) が発生してくる。これは高力価での感染条件により同じ細胞に複数のウイルスゲノムが導入されるため、その中の一つが不完全で短いゲノムであっても複製増殖でき、かつそのようなゲノムは完全長のゲノムより複製コストが低いいためより多く複製され、結果的により多くの DI 粒子が生成される結果になる (実際は複製コピー数の多さではなく、短い RNA をパッケージした粒子のほうが安定するために感染効率が上がったことが理由とされている⁽⁴⁸⁾)。このような継代を 200 回続けた結果、FMDV ゲノムの分節化が観察されたことが報告されている⁽⁴⁷⁾。しかし、その 2 つに分節化したウイルスを今度は低力価条件下で継代すると非分節ゲノムが再構成されることが観察されている⁽⁴⁸⁾。高力価下での感染が繰り返されることは、自然条件で考えにくく、FMDV の粒子構造が短い RNA をパッケージすると安定化するという偶然に支持された結果とも考えられるが、分節化・非分節化の過程を考える際の一つのモデルとして定着している。

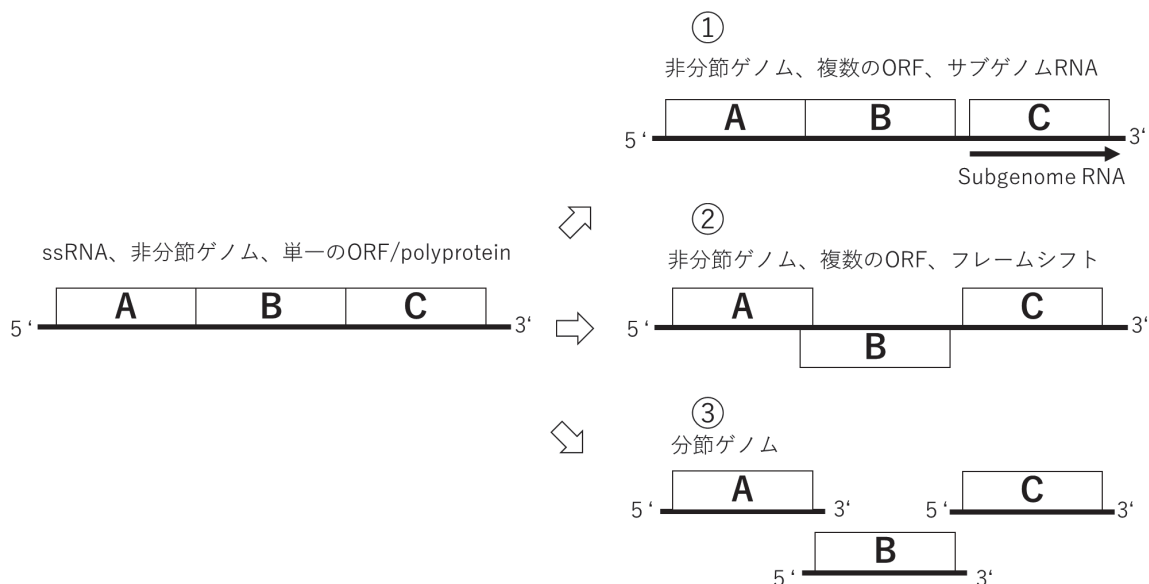


図3 +鎖 RNA、非分節ゲノム構造の仮想的な進化 (参照図⁽⁴⁶⁾より改変、本文参照)

分節化の利点とされる個々の遺伝子発現の制御について、Jingmenvirus で実際にそのような制御が行われているかどうかは明らかではない。しかし分節化によって個々の遺伝子が独立に変異する傾向があることは知られている。分子系統解析の結果、構造タンパク質 VP1~3 をコードする第 2、4 分節は、NSP1、NSP2 をコードする第 1、3 分節とは異なったクラスターに分類される傾向が報告されている⁽⁴⁹⁾。宿主免疫の選択圧をより強く受ける構造タンパク質のコード領域を分離することが進化的に有利だったのかもしれない。また、分節化のきっかけを与えるわけでは無いが⁽⁵⁰⁾、分節ゲノムの利点としてリアソートメント (Reassortment) がある。インフルエンザウイルスによくみられるようなリアソータントの形成により、分節間での組換えによる遺伝子変異の進行により、遺伝子変異の可能性は高くなる⁽⁵¹⁾。遺伝子単位での発現そして進化的適応、そして不連続的な遺伝的変異を獲得しうる分節化が、Jingmenvirus において発生した過程は、そのウイルスがどのような進化を経由したかも示唆するため、非常に興味深いテーマである。

もう一つ JMTV を含む Jingmenvirus が提示するウイルス学上の問題は、ウイルス感染を成立さ

せるために必要なウイルス粒子が複数必要である可能性が報告されていることである。このような多成分性 (Multicomponent あるいは Multipartite) ウイルスは、主に植物ウイルスに見られ⁽⁵²⁾、動物ウイルスでは一部の例外を除き見られない。例外の一つが、Guaico Culex ウイルス (GCXV)⁽²⁰⁾で、2008年から2013年にかけてトリニダード、ペルー、パナマで採集された6つの Culex 蚊プールから分離され、その後2010年にブラジルで採集された2つの Culex 属蚊プールからも分離された、JMTV や ALSV とは別の系統群に分類される Jimgmenvirus である。ゲノム配列は分離株によって異なるが、保存された末端配列をもち非ポリアデニル化された4~5個の分節からなるゲノム構造であり、第1、2分節はそれぞれフラビウイルス NS5、NS2B/3に関連する NSP1、NSP2 をコードし、第3、4、5分節はそれぞれ構造タンパク質 (VP1 から VP7) の可能性が高い4つの ORF をコードする。ヒトスジシマカ由来 C6/36 細胞で良く増殖し、プラークを形成するため、感染力価を計測したところ、1プラーク形成には 3.27 ± 0.37 力価が必要であり、多成分性ウイルスであることが明らかになった⁽²⁰⁾。多成分性のウイルス感染は感染対象が動き回る動物ウイルスでは不利であり、持続的に暴露できる植物への感染に適応した感染様式である⁽⁵³⁾。動物ウイルスで何故このような“不利な”感染様式を維持しているのかは明らかではないが、GCXV が含まれる Jimgmenvirus 系統群には、中国の2種のアブラムシから検出された推定ウイルス Wuhan aphid virus 2 も含まれ、この全ゲノム配列はヨーロッパのエンドウ豆 (*Pisum sativum*) から検出されている^(54,55)。このゲノム配列は、セグメントによって異なるものの、Wuhan aphid virus 2 と 90~97% のアミノ酸同一性を有し、このウイルスがアブラムシと植物の間で水平感染する可能性を示唆している。もし植物ウイルスとして Jimgmenvirus が定着しているのであれば、多成分性の性質はそこから受け継がれたものかもしれない。Jimgmenvirus と推定される配列は Wuhan aphid virus 2 以外にも、様々な節足動物、線虫、動物プランクトンより見つかっており⁽⁶⁾、潜在的に広範な宿主に適応した進化的にも“成功した”ウイルスモデルを提示しているのかもしれない。

参考文献

- 1 Shah, T., Li, Q., Wang, B., Baloch, Z. & Xia, X. (2023) Geographical distribution and pathogenesis of ticks and tick-borne viral diseases. *Front Microbiol* **14**, 1185829, doi:10.3389/fmicb.2023.1185829.
- 2 Kodama, F. *et al.* (2021) A novel nairovirus associated with acute febrile illness in Hokkaido, Japan. *Nat Commun* **12**, 5539, doi:10.1038/s41467-021-25857-0.
- 3 Qin, X. C. *et al.* (2014) A tick-borne segmented RNA virus contains genome segments derived from unsegmented viral ancestors. *Proc Natl Acad Sci U S A* **111**, 6744-6749, doi:10.1073/pnas.1324194111.
- 4 International Committee on Taxonomy of Viruses [ICTV]. (2022). Genus: Flavivirus – Flaviviridae – Positive-sense RNA Viruses – Available online at: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/w/flaviviridae/360/genus-flavivirus
- 5 Zhang, X., Wang, N., Wang, Z. & Liu, Q. (2020) The discovery of segmented flaviviruses: implications for viral emergence. *Curr Opin Virol* **40**, 11-18, doi:10.1016/j.coviro.2020.02.001.
- 6 Colmant, A. M. G., Charrel, R. N. & Coutard, B. (2022) Jingmenviruses: Ubiquitous, understudied, segmented flavi-like viruses. *Front Microbiol* **13**, 997058, doi:10.3389/fmicb.2022.997058.
- 7 Wang, Z. D. *et al.* (2019) A New Segmented Virus Associated with Human Febrile Illness in China. *N Engl J Med* **380**, 2116-2125, doi:10.1056/NEJMoa1805068.
- 8 Hawman, D. W. & Feldmann, H. (2023) Crimean-Congo haemorrhagic fever virus. *Nat Rev Microbiol* **21**, 463-477, doi:10.1038/s41579-023-00871-9.
- 9 Casel, M. A., Park, S. J. & Choi, Y. K. (2021) Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus: emerging novel phlebovirus and their control strategy. *Exp Mol Med* **53**, 713-722, doi:10.1038/s12276-021-00610-1.
- 10 Ejiri, H. *et al.* (2018) Characterization of a novel thogotovirus isolated from *Amblyomma testudinarium* ticks in Ehime, Japan: A significant phylogenetic relationship to Bourbon virus. *Virus Res* **249**, 57-65, doi:10.1016/j.virusres.2018.03.004. (In Japanese)
- 11 Tran, N. T. B. *et al.* (2022) Zoonotic Infection with Oz Virus, a Novel Thogotovirus. *Emerg Infect Dis* **28**, 436-439, doi:10.3201/eid2802.211270.
- 12 Yoshii, K. (2017) [Tick-borne encephalitis]. *Uirusu* **67**, 143-150, doi:10.2222/jsv.67.143.
- 13 Pang, Z. *et al.* (2022) Geographical distribution and phylogenetic analysis of Jingmen tick virus in China. *iScience* **25**, 105007, doi:10.1016/j.isci.2022.105007.
- 14 Litov, A. G., Okhezin, E. V., Kholodilov, I. S., Belova, O. A. & Karganova, G. G. (2023) Conserved Sequences in the 5' and 3' Untranslated Regions of Jingmenvirus Group Representatives. *Viruses* **15**, doi:10.3390/v15040971.
- 15 Maruyama, S. R. *et al.* (2014) Characterisation of divergent flavivirus NS3 and NS5 protein sequences detected in *Rhipicephalus microplus* ticks from Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* **109**, 38-50, doi:10.1590/0074-0276130166.

-
- 16 Gao, X. *et al.* (2020) Crystal structure of the NS3-like helicase from Alongshan virus. *IUCrJ* **7**, 375-382, doi:10.1107/S2052252520003632.
- 17 Kholodilov, I. S. *et al.* (2020) Isolation and Characterisation of Alongshan Virus in Russia. *Viruses* **12**, doi:10.3390/v12040362.
- 18 Garry, C. E. & Garry, R. F. (2020) Proteomics Computational Analyses Suggest That the Envelope Glycoproteins of Segmented Jingmen Flavi-Like Viruses are Class II Viral Fusion Proteins (b-Penetrenes) with Mucin-Like Domains. *Viruses* **12**, doi:10.3390/v12030260.
- 19 Kobayashi, D. *et al.* (2021) Detection of Jingmenviruses in Japan with Evidence of Vertical Transmission in Ticks. *Viruses* **13**, doi:10.3390/v13122547.
- 20 Ladner, J. T. *et al.* (2016) A Multicomponent Animal Virus Isolated from Mosquitoes. *Cell Host Microbe* **20**, 357-367, doi:10.1016/j.chom.2016.07.011.
- 21 Gondard, M. *et al.* (2020) RNA Viruses of *Amblyomma variegatum* and *Rhipicephalus microplus* and Cattle Susceptibility in the French Antilles. *Viruses* **12**, doi:10.3390/v12020144.
- 22 Guo, J. J. *et al.* (2020) Diversity and circulation of Jingmen tick virus in ticks and mammals. *Virus Evol* **6**, veaa051, doi:10.1093/ve/veaa051.
- 23 Pascoal, J. O., Siqueira, S. M., Maia, R. D. C., Juan Szabo, M. P. & Yokosawa, J. (2019) Detection and molecular characterization of Mogiana tick virus (MGTV) in *Rhipicephalus microplus* collected from cattle in a savannah area, Uberlandia, Brazil. *Ticks Tick Borne Dis* **10**, 162-165, doi:10.1016/j.ttbdis.2018.10.002.
- 24 Sameroff, S. *et al.* (2019) Viral Diversity of Tick Species Parasitizing Cattle and Dogs in Trinidad and Tobago. *Sci Rep* **9**, 10421, doi:10.1038/s41598-019-46914-1.
- 25 Souza, W. M. *et al.* (2018) Viral diversity of *Rhipicephalus microplus* parasitizing cattle in southern Brazil. *Sci Rep* **8**, 16315, doi:10.1038/s41598-018-34630-1.
- 26 Temmam, S. *et al.* (2019) Insights into the Host Range, Genetic Diversity, and Geographical Distribution of Jingmenviruses. *mSphere* **4**, doi:10.1128/mSphere.00645-19.
- 27 Xu, L. *et al.* (2021) Tick virome diversity in Hubei Province, China, and the influence of host ecology. *Virus Evol* **7**, veab089, doi:10.1093/ve/veab089.
- 28 Parry, R., James, M. E. & Asgari, S. (2021) Uncovering the Worldwide Diversity and Evolution of the Virome of the Mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Microorganisms* **9**, doi:10.3390/microorganisms9081653.
- 29 Ogola, E. O. *et al.* (2022) Jingmen Tick Virus in Ticks from Kenya. *Viruses* **14**, doi:10.3390/v14051041.
- 30 Yu, Z. M. *et al.* (2020) Identification and characterization of Jingmen tick virus in rodents from Xinjiang, China. *Infect Genet Evol* **84**, 104411, doi:10.1016/j.meegid.2020.104411.
- 31 Huang, L. *et al.* (2023) Identification of novel Jingmen tick virus from parasitic ticks fed on a giant panda and goats in Sichuan Province, southwestern China. *Front Microbiol* **14**, 1179173, doi:10.3389/fmicb.2023.1179173.
- 32 Emmerich, P. *et al.* (2018) Viral metagenomics, genetic and evolutionary characteristics of Crimean-Congo hemorrhagic fever orthonavivirus in humans, Kosovo. *Infect Genet Evol* **65**,

- 6-11, doi:10.1016/j.meegid.2018.07.010.
- 33 Jia, N. *et al.* (2019) Emergence of human infection with Jingmen tick virus in China: A retrospective study. *EBioMedicine* **43**, 317-324, doi:10.1016/j.ebiom.2019.04.004.
- 34 Shi, J., Shen, S., Wu, H., Zhang, Y. & Deng, F. (2021) Metagenomic Profiling of Viruses Associated with Rhipicephalus microplus Ticks in Yunnan Province, China. *Virologica Sinica* **36**, 623-635, doi:10.1007/s12250-020-00319-x.
- 35 Kholodilov, I. S. *et al.* (2021) Geographical and Tick-Dependent Distribution of Flavi-Like Alongshan and Yanggou Tick Viruses in Russia. *Viruses* **13**, doi:10.3390/v13030458.
- 36 Kuivanen, S. *et al.* (2019) Detection of novel tick-borne pathogen, Alongshan virus, in Ixodes ricinus ticks, south-eastern Finland, 2019. *Euro Surveill* **24**, doi:10.2807/1560-7917.ES.2019.24.27.1900394.
- 37 Stanojevic, M. *et al.* (2020) Depicting the RNA Virome of Hematophagous Arthropods from Belgrade, Serbia. *Viruses* **12**, doi:10.3390/v12090975.
- 38 Wang, Z. D. *et al.* (2019) Prevalence of the emerging novel Alongshan virus infection in sheep and cattle in Inner Mongolia, northeastern China. *Parasit Vectors* **12**, 450, doi:10.1186/s13071-019-3707-1.
- 39 Meng, F. *et al.* (2019) Virome analysis of tick-borne viruses in Heilongjiang Province, China. *Ticks Tick Borne Dis* **10**, 412-420, doi:10.1016/j.ttbdis.2018.12.002.
- 40 Dincer, E. *et al.* (2019) Survey and Characterization of Jingmen Tick Virus Variants. *Viruses* **11**, doi:10.3390/v11111071.
- 41 Mansfield, K. L. *et al.* (2009) Tick-borne encephalitis virus - a review of an emerging zoonosis. *J Gen Virol* **90**, 1781-1794, doi:10.1099/vir.0.011437-0.
- 42 Leal, B., Zamora, E., Fuentes, A., Thomas, D. B. & Dearth, R. K. (2020) Questing by Tick Larvae (Acari: Ixodidae): A Review of the Influences That Affect Off-Host Survival. *Ann Entomol Soc Am* **113**, 425-438, doi:10.1093/aesa/saaa013.
- 43 Bonnet, S. I. *et al.* (2022) The control of Hyalomma ticks, vectors of the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: Where are we now and where are we going? *PLoS Negl Trop Dis* **16**, e0010846, doi:10.1371/journal.pntd.0010846.
- 44 Botstein, D. (1980) A theory of modular evolution for bacteriophages. *Ann N Y Acad Sci* **354**, 484-490, doi:10.1111/j.1749-6632.1980.tb27987.x.
- 45 Wolf, Y. I. *et al.* (2018) Origins and Evolution of the Global RNA Virome. *mBio* **9**, doi:10.1128/mBio.02329-18.
- 46 Holemes, E. C. *The Evolution and Emergence of Rna Viruses*. (Oxford University Press, 2009).
- 47 Garcia-Arriaza, J., Manrubia, S. C., Toja, M., Domingo, E. & Escarmis, C. (2004) Evolutionary transition toward defective RNAs that are infectious by complementation. *J Virol* **78**, 11678-11685, doi:10.1128/JVI.78.21.11678-11685.2004.
- 48 Ojosnegros, S. *et al.* (2011) Viral genome segmentation can result from a trade-off between genetic content and particle stability. *PLoS Genet* **7**, e1001344, doi:10.1371/journal.pgen.1001344.

-
- 49 Li, W. *et al.* (2023) Genomics evolution of Jingmen viruses associated with ticks and vertebrates. *Genomics* **115**, 110734, doi:10.1016/j.ygeno.2023.110734.
- 50 Simon-Loriere, E. & Holmes, E. C. (2011) Why do RNA viruses recombine? *Nat Rev Microbiol* **9**, 617-626, doi:10.1038/nrmicro2614.
- 51 McDonald, S. M., Nelson, M. I., Turner, P. E. & Patton, J. T. (2016) Reassortment in segmented RNA viruses: mechanisms and outcomes. *Nat Rev Microbiol* **14**, 448-460, doi:10.1038/nrmicro.2016.46.
- 52 Sicard, A., Michalakis, Y., Gutierrez, S. & Blanc, S. (2016) The Strange Lifestyle of Multipartite Viruses. *PLoS Pathog* **12**, e1005819, doi:10.1371/journal.ppat.1005819.
- 53 Zhang, Y. J., Wu, Z. X., Holme, P. & Yang, K. C. (2019) Advantage of Being Multicomponent and Spatial: Multipartite Viruses Colonize Structured Populations with Lower Thresholds. *Phys Rev Lett* **123**, doi:ARTN 138101/10.1103/PhysRevLett.123.138101.
- 54 Gaafar, Y. Z. A. & Ziebell, H. (2020) Comparative study on three viral enrichment approaches based on RNA extraction for plant virus/viroid detection using high-throughput sequencing. *PLoS One* **15**, e0237951, doi:10.1371/journal.pone.0237951.
- 55 Shi, M. *et al.* (2016) Divergent Viruses Discovered in Arthropods and Vertebrates Revise the Evolutionary History of the Flaviviridae and Related Viruses. *J Virol* **90**, 659-669, doi:10.1128/JVI.02036-15.

英文抄録

Jingmen tick virus : a tick-borne virus with unique features.

Mako Uemura¹, Yuki Yatabe¹, Yosuke Masuda¹, Ryo Tsuda¹, Akie Maehara³, Tamako Matsuhashi^{2,3},
Akira Nakanishi^{1,2}

Abstract

The discovery of Jingmenvirus, which encodes closely related flavivirus-like enzymes but possesses segmented +ssRNA genomes, sparked significant debate regarding the evolutionary pathways leading to the creation of such viruses. This review outlines the distinctive features of Jingmenviruses, with a particular focus on the Jingmen tick virus—an arbovirus transmitted by ticks, posing potential risks as a human infectious agent.

Key words: Tick-borne virus, Flaviviruses, Jingmen tick virus, Segmented RNA genome

-
1. Department of Genetic Engineering, Faculty of Biology-Oriented Science and Technology (B.O.S.T.), Kindai University, Wakayama 649-6493, Japan
 2. Institute of Advanced Technology, Kindai University, Wakayama 624-0017, Japan
 3. Department of Genetic Engineering, Faculty of Biology-Oriented Science and Technology (B.O.S.T.), Kindai University, Wakayama 649-6493, Japan