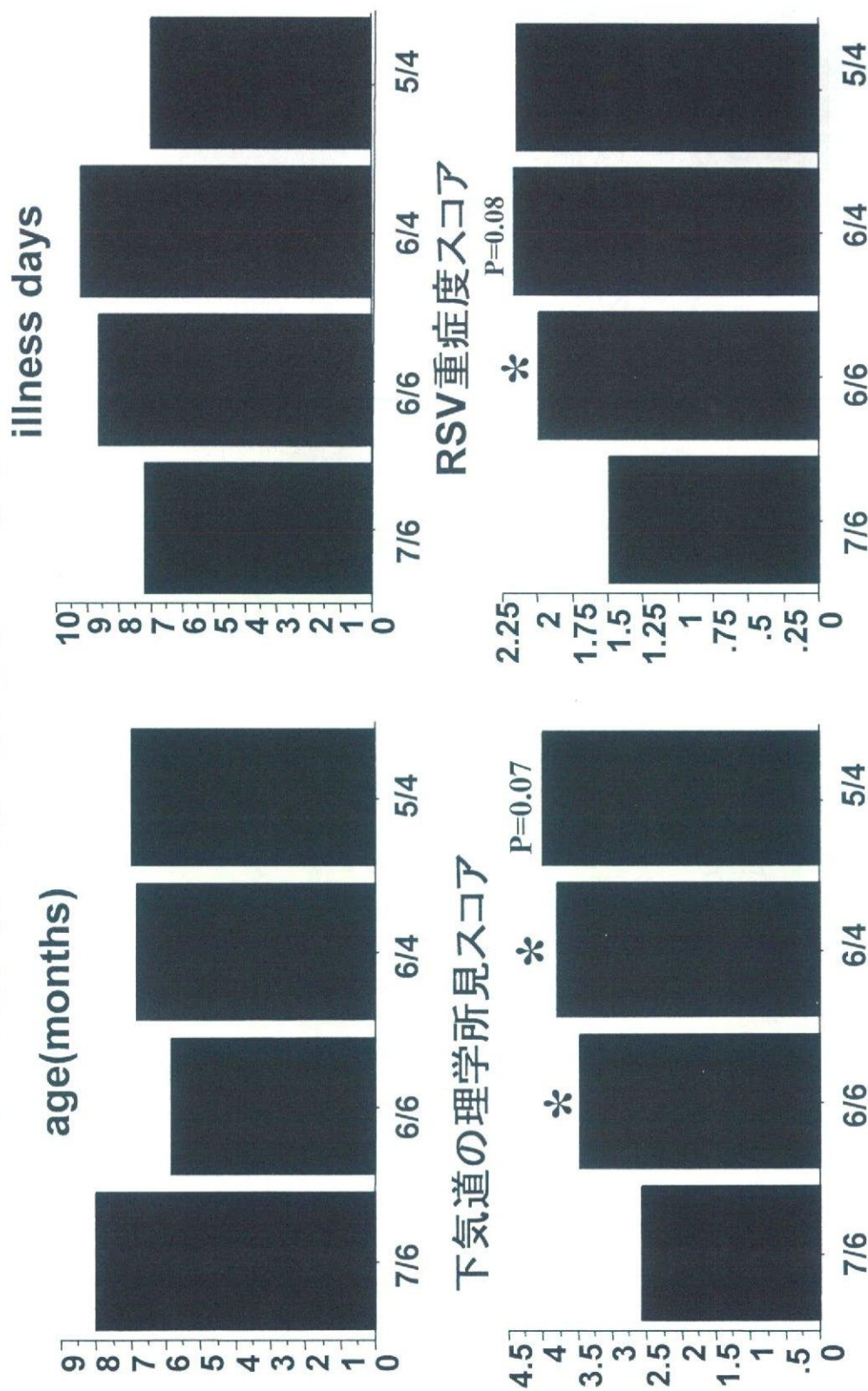
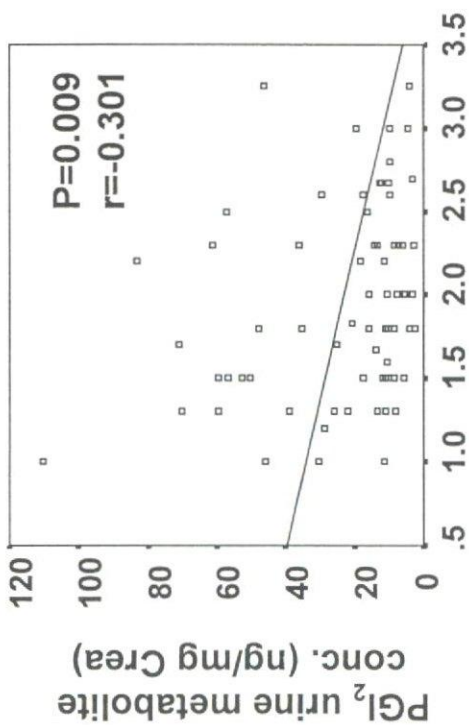
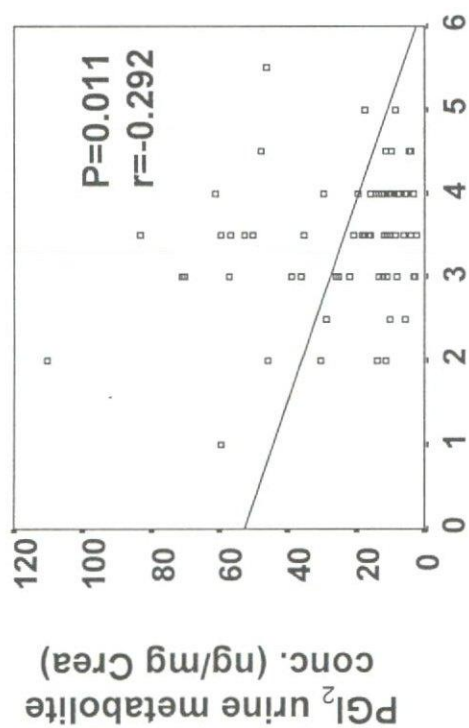


図3. PGI₂合成酵素の遺伝子型と RSV感染による症状の関連



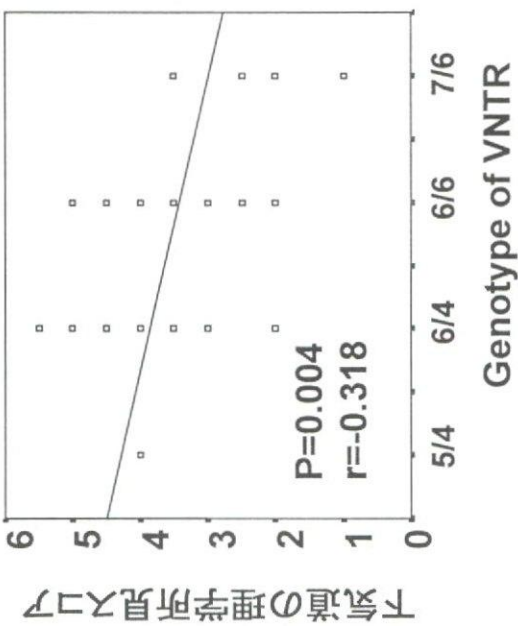
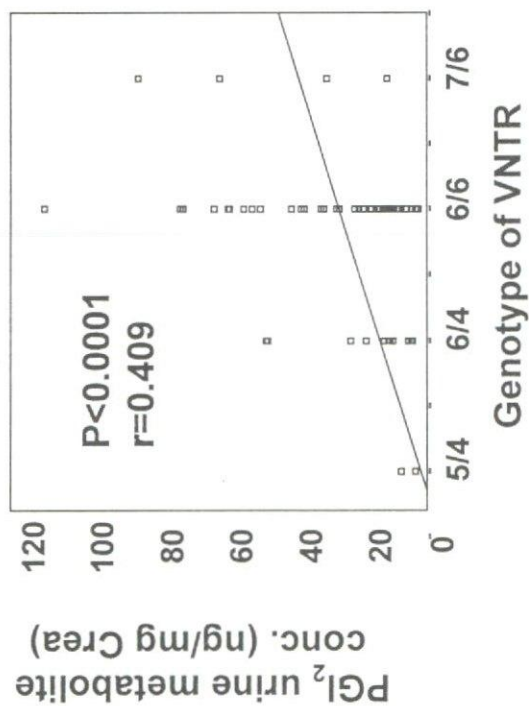
*: p<0.05, compared to the group of 7/6

図4. それぞれの因子との相関



下気道の理学所見スコア

RSV重症度スコア



デングウイルスワクチン評価のための小動物感染モデルの構築

分担研究者：倉根一郎（国立感染症研究所 ウイルス第一部）

協力研究者：濱野正敬（国立感染症研究所 ウイルス第一部）

高崎智彦（国立感染症研究所 ウイルス第一部）

研究要旨

デングウイルスはフラビウイルス科フラビウイルス属のウイルスで、現在実用化に向けてワクチンが開発中である。デングウイルスには 1 型、2 型、3 型、4 型が存在し、均等な免疫を誘導しない場合、ワクチン接種によりデング出血熱を来す可能性が生じる。そのため、ワクチンの評価のための動物モデルの開発が必要である。デングウイルス感染によりウイルス血症を来す動物としてサルが挙げられるが、取り扱える施設の制限およびコスト面でワクチン評価には適さない。我々は、マウスよりは大きい十分に扱いやすい小動物であり易感染性であるスナネズミに着目した。白色系・黒色系・褐色系の 3 系統のスナネズミを用いて検討し、白色系がデングウイルス感染により、ウイルス血症を来すことを見出した。この結果から、白色系スナネズミを用いてデングウイルス 2 型を接種した後、6 ヶ月後にデングウイルス 1 型を接種し、抗体依存性感染増強効果の再現性を検討した。しかし、デングウイルス皮下接種法では、抗体依存性感染増強効果は認められなかった。

A. 研究目的

デングウイルス研究において、マウスレベルの小動物を用いた感染実験は、飼育スペースや維持、経済的コスト、そして倫理的な問題を考慮する上で特に重要となる。1984 年、Nawa M. によりスナネズミ腎臓由来(GK)細胞でデングウイルスが増殖することが報告されている (Microbiol.Immunol. 28: 765-76)。17 年度よりこのことに着目しデングウイルスおよびデングウイルス感染 GK 細胞をスナネズミに腹腔内接種し、定期的に採血、観察を行った。その結果、白色系 (Mg-W) スナネズミにおいてウイルス血症を確認することができた。今年度は新たに白色系スナネズミ 10 頭を導入することができ

たため、ウイルス接種によるウイルス血症の有無を検討し、また抗体依存性感染増強効果の有無についても検討した。本実験・研究は、現在実用化に向けて開発中であるワクチンの評価のための実験感染モデル動物開発の目的で、微生物易感染性といわれるスナネズミが利用可能であるか検証することを目的として行った。

B. 研究方法

白色系 (Mg-W) のスナネズミ 6 匹に、デングウイルス (1 型 10^7 pfu/mL) 液を皮下接種した。経時的に眼窩静脈から採血し、ウイルス RNA を抽出し、ウイルス血症の有無をリアルタイム PCR (TaqMan RT-PCR 法)

により検査した。また、体重や体温を測定し、IgG ELISA により抗体上昇を測定した。初回ウイルス接種後、長期間観察を続け、6ヶ月後血中 IgG 抗体が低下したのを確認した後、デングウイルス 2 型を皮下接種した。再び経時的に採血し、TaqMan RT-PCR および IgG ELISA を実施した。さらに、4 ヶ月後デングウイルス 3 型感染 GK 細胞を再び腹腔内接種し、ウイルス血症の有無、体重や体温を測定した。

C. 研究結果

スナネズミを用いた *in vivo* 感染実験において、デングウイルス 2 型ウイルス液の皮下接種により明確なウイルス血症を確認することは出来なかったが、さらに異なる血清型（1 型）のデングウイルスを 6 ヶ月後に皮下接種したが TaqMan RT-PCR の結果は、Ct 値 39 以上であり、ウイルス血症は確認されなかった（表 1、表 2）。

さらに、4 ヶ月後にデングウイルス 3 型感染 GK 細胞を腹腔内接種した結果も、明確なウイルス血症は確認されなかった。

しかし、IgG ELISA の結果、ウイルスの感染後に有意にデングウイルスに対する抗体価は上昇していた（図 1、図 2）。また、デングウイルス 3 型感染 GK 細胞を接種した後、体温上昇を示したが、ウイルス血症は検出されなかった。

D. 考察

スナネズミを用いたデングウイルス感染実験において、今回、より自然の感染経路に近い皮下接種によりデングウイルスを感染させた。異なる型のウイルスを再感染させた場合、ウイルス血症が確認された。また、出

血熱症状は観察されなかったが、スナネズミはマウスよりはるかにデングウイルスに感受性が高いことは、17 年度の検討で明らかにした。しかし、接種ルートによっても左右されるのか、皮下接種では明らかなウイルス血症は検出できなかった。さらに、デングウイルス 3 型感染 GK 細胞を接種した後、体温上昇がデングウイルスによるものか GK 細胞によるものかは再度検討しなければならない。今回感染細胞接種によってウイルス血症が確認されなかったのは、デングウイルス 1 型、2 型接種による交差中和抗体が低下しきっていなかったことが原因であると考えられる。以上のことからデングウイルス感染症を研究する上で、スナネズミは接種ウイルス株や接種法を工夫することで重要な小動物感染モデルになりうると思われ、ワクチンの評価にも使用できる可能性が高く、今後さらに検討する必要があると思われる。

E. 結論

デングウイルス感染小動物モデル候補としてスナネズミ（特に白色系：Mg-W）は重要であるが、今後感染ウイルス株、感染方法等を検討することが必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産の出願・登録状況

なし

表1 初回デングウイルス（2型）接種後の TaqMan RT-PCR

D.P.I.	W1	W2	W4	W5	W6
2	39	39	(-)	(-)	(-)
4	39	(-)	(-)	(-)	(-)
7	(-)	(-)	(-)	(-)	38
9	(-)	(-)	39	(-)	(-)
14	(-)	(-)	39	(-)	39

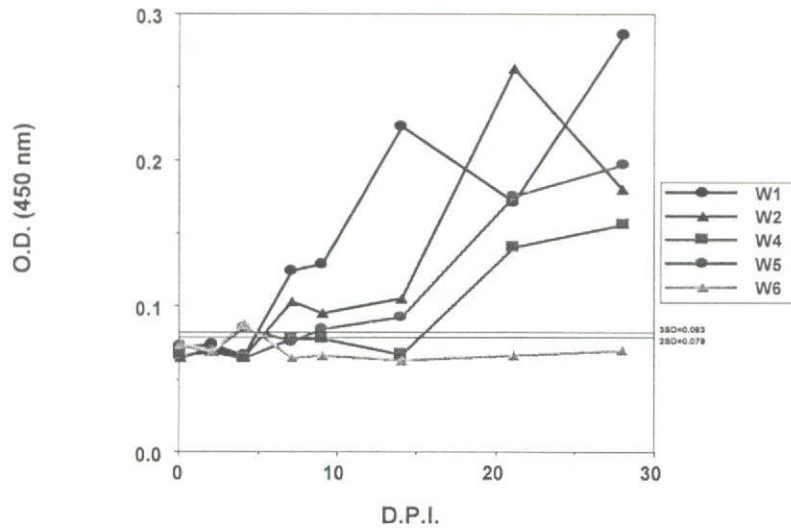
W1,W2 はオス。W4,W5,W6 はメス。W6 はウイルスを接種しなかった個体である。したがって、W1,W2,W4 でもウイルス血症を確認できなかった。

表2 2回目デングウイルス（1型）接種後の TaqMan RT-PCR

D.P.I.	W2	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W10
0	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	38	(-)	38
3	(-)	38	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
7	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
10	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
14	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

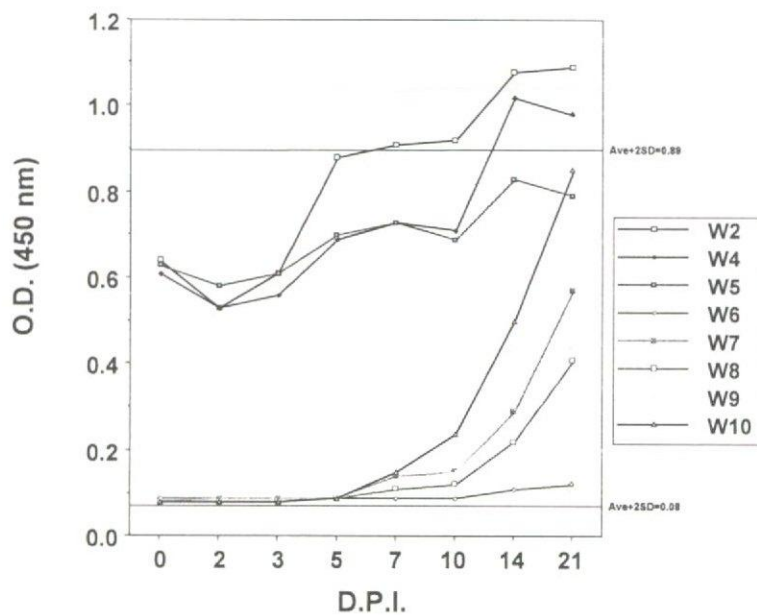
W7,8,9,10 は D1 virus 初感染、W2,4,5 は D2 virus 後にヘテロ感染させた。W4 の3日目、W8 の2日目、W10 の2日目で、低い陽性 CT 値を示したが、抗体依存性感染増強効果は認められなかった。

図1 初回デングウイルス（2型）接種後の抗デングウイルス抗体価



デングウイルスを接種した W1-W5 の個体は IgG 抗体上昇を示した。

図2 2回目デングウイルス（1型）接種後の抗デングウイルス抗体価



2回目の接種群（W2,W4,W5）はさらに抗体価上昇を示した。