

抗体は接種後 14 日目もしくは 15 日目より上昇が認められた。

臨床症状の指標として体温変動について検索を行った。活動による影響が少ないと考えられる暗期の体温について検索した結果、 10^5 pfu 接種群および 10^4 pfu 接種群においては、4 個体全てで体温上昇が認められた。特に #1 では接種後 2、4、5、7、8、9 日目に、#4 では接種後 1、2、3、4、7 日目に有意な体温上昇が認められた。一方、 10^3 pfu 接種群においては、#6 で接種後 7 日目に僅かな体温上昇が認められたが、#5 においては有意な変化は認められなかった。

血球および生化学値の変動について経時的に検索を行った結果、血小板減少は 10^5 pfu 接種群の 2 個体 (#1, #2)、 10^4 pfu 接種群の 2 個体 (#3, #4) で認められたが、 10^3 pfu 接種群においては認められなかった。白血球減少は 10^5 pfu 接種群の 2 個体 (#1, #2)、 10^4 pfu 接種群では 1 個体 (#4)、 10^3 pfu 接種群では 1 個体 (#6) で確認された。 Dengue ウイルス感染患者において認められる肝酵素値の上昇は、AST は 10^5 pfu 接種群の 2 頭 (#1, #2)、 10^4 pfu 接種群の 1 頭 (#4)、 10^3 pfu 接種群の 1 頭 (#5) の 4 頭、ALT は全 6 頭で確認された。LDH については、#1, #2, #4, #5 で認められた。また、腎酵素である BUN については #2, #3, #4, #6 で認められた。

D. 考察

本研究の目的は、Dengue ワクチン開発において有用となるワクチン評価系をマーマセットで構築する事である。これまでの研究において、マーマセットがワクチン評価系として利用可能である事が示唆されてい

たが、本研究においてワクチン評価系の確立を目的としてワクチン評価における接種量の検討を行った。本実験の結果から、接種量に依存せずウイルス血症のピークは接種後 4 日目に認められた。ピーク時のウイルス血症レベルは容量依存的に変化し、 10^5 pfu 接種において最も高いウイルス RNA 量を検出した。一方で、 10^3 pfu 接種においても接種後 2、4、7 日目の血中よりウイルス RNA が検出された。また、Dengue ウイルス特異的 IgM および IgG 抗体は接種量に依存せずほぼ同様な推移を示した。また、Dengue ウイルスがマーマセットに感染し増殖した事の指標である NS1 抗原は全ての個体の血中より検出された。これらの結果は、 10^3 pfu という低用量接種においてもマーマセット体内で感染が成立しウイルスが増殖するという事を示唆するものであり、マーマセットが Dengue ウイルスに対して高い感受性を有する事を裏付けるものであった。

ウイルス接種により誘導された臨床症状として、体温変動、血球・生化学値の変化について検索を行った。 10^5 pfu 接種においては、発熱、血小板減少、白血球減少、肝酵素値の上昇など Dengue ウイルス感染症で特異的に認められる変化が観察されたが、 10^4 pfu 接種群ではその変化の程度が減少し、 10^3 pfu 接種群においてはウイルス血症が認められたものの、臨床症状を呈さない個体も認められた。これらの結果は、Dengue ウイルス感染症における臨床症状の発現がウイルス血症レベルに依存して発現する可能性を示唆するものであると考えた。

今後は、本ワクチン評価系の確立を進めると共に、様々なパターンの再感染実験を実施し感染防御のメカニズムを明らかにす

る事で、ワクチン開発に必要となる基礎情報を蓄積していく予定である。

E. 結語

10³ pfu 接種においてもマーモセット体内でウイルス血症が認められマーモセットが高いデングウイルス感受性を有する事が明らかになったと共に、ワクチン評価を行う上で適した接種ウイルス量が明らかとなった。今後は本モデルを用いて、ワクチン評価系の確立を進めていく。

F. 健康危機管理情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会等発表

1) 国際学会

なし

2) 国内学会

大松勉、高崎智彦、片貝祐子、濱野正敬、岩崎優紀、吉田友教、飯島沙幸、中村紳一朗、明里宏文、倉根一郎：マーモセットのデングワクチン評価系としての有用性. 第57回日本ウイルス学会学術集会（東京）. 平成20年10月26日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

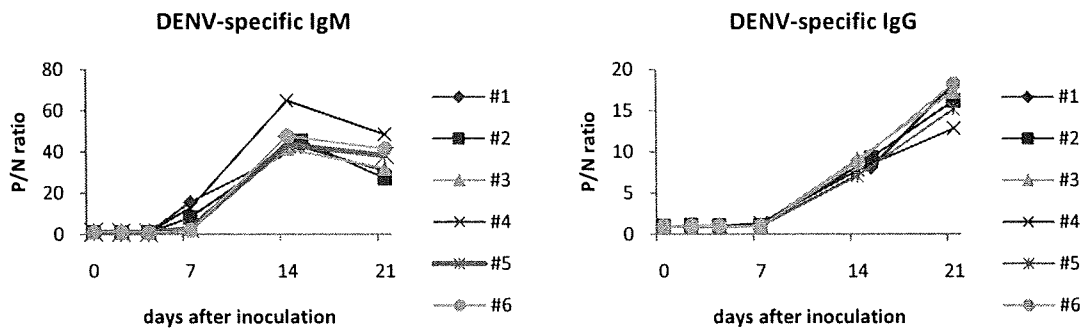


図1. デングウイルス特異的抗体の経時的変化

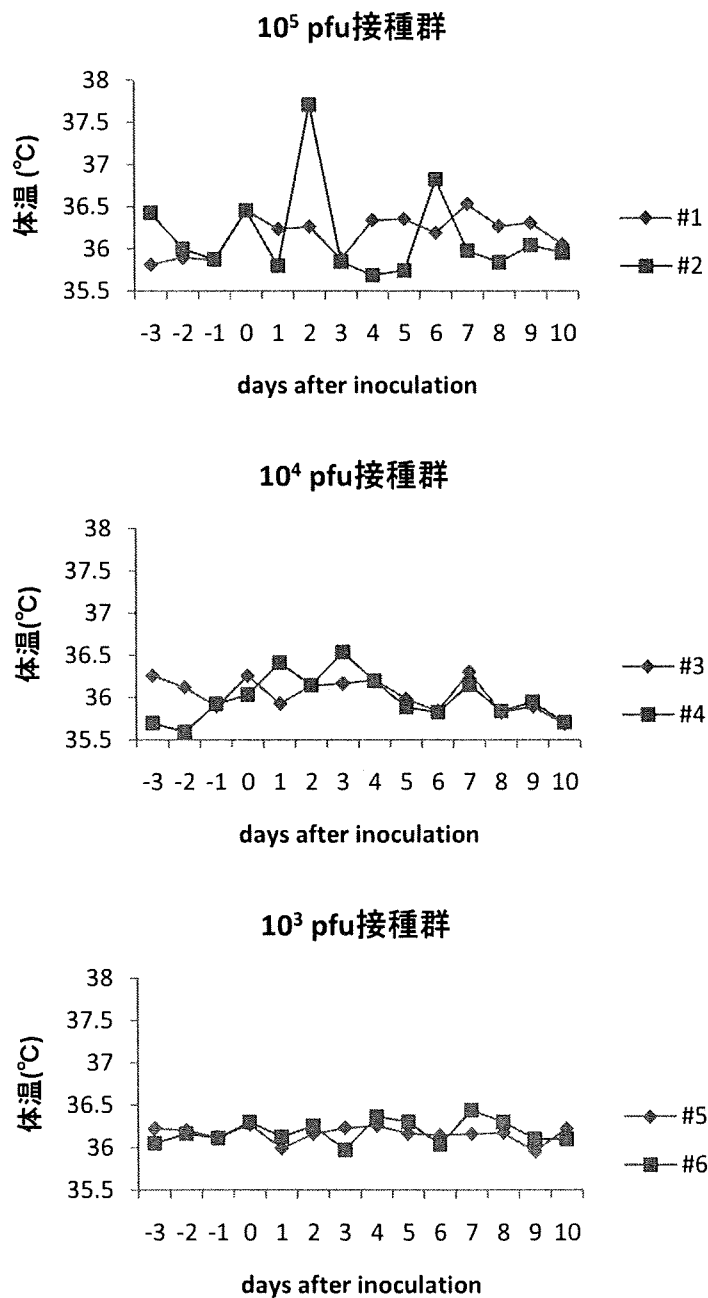


図2. 暗期の体温変動の経時的変化

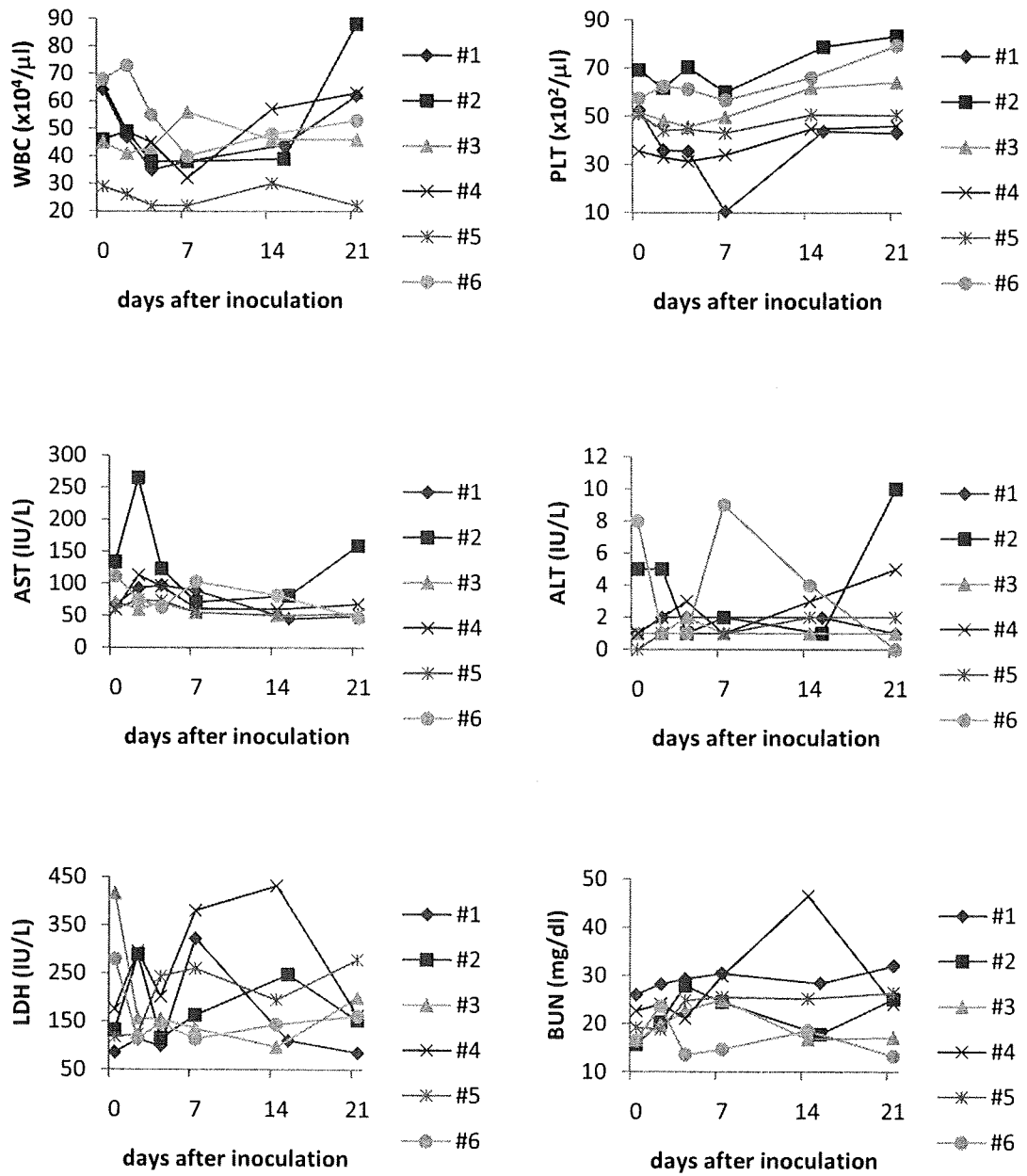


図3. 血球・生化学値の経時的変化

表1. 2型デングウイルス接種マーマーモセット由来血中ウイルスRNA量

Animal ID	Inoculation titer (pfu/dose)	Levels of dengue vRNA copies/ml in plasma													
		0	2	4	7	14	15	days after inoculation							
#1	1.8x10 ⁵	-	3.5x10 ⁴	1.0x10 ⁶	1.1x10 ⁴	NT	-								
		-	-	+	+	-	-								
#2	1.8x10 ⁵	-	1.2x10 ⁵	2.2x10 ⁶	1.5x10 ⁴	NT	-								
		-	-	+	+	-	-								
#3	1.8x10 ⁴	-	3.4x10 ³	2.0x10 ⁴	5.1x10 ²	-	NT								
		-	-	+	+	-	-								
#4	1.8x10 ⁴	-	3.8x10 ³	9.4x10 ³	2.8x10 ²	-	NT								
		-	-	+	+	-	-								
#5	1.8x10 ³	-	2.2x10 ²	3.7x10 ³	1.4x10 ²	-	NT								
		-	-	-	+	-	-								
#6	1.8x10 ³	-	6.2x10 ²	6.9x10 ³	2.2x10 ²	-	NT								
		-	-	-	+	-	-								

-: Not detected

Nt: Not tested

表2. 2型デングウイルス接種マーマーモセット由来尿中ウイルスRNA量

Animal ID	Inoculation titer (pfu/dose)	Levels of dengue vRNA copies/ml														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
#1	1.8x10 ⁵	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
#2	1.8x10 ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
#3	1.8x10 ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
#4	1.8x10 ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
#5	1.8x10 ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
#6	1.8x10 ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-: Not detected

Nt: Not tested

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
分担研究報告書

デング実験感染モデルの臨床的、病理学的検討

研究分担者 明里宏文 京都大学霊長類研究所・教授

研究要旨

我々はこれまでの研究において、コモンマーモセットがデングウイルス（DENV）に対して非常に感受性が高く、これまでのマカク属サルでの結果と比較して非常に効率良く DENV が感染増殖することを見出した。今年度は、本モデルを用いて DENV 感染初期過程における細胞性免疫担当細胞のダイナミクスについて検討した。その結果、DENV 感染により生じる高いウイルス血症後に、特異抗体のみならず naïve, effector memory CD8 陽性 T 細胞の顕著な活性化が同時に誘導され、これらが DENV 増殖制御に寄与していることが示唆された。本結果は DENV 病態解明およびワクチン開発評価研究において重要な知見と考えられた。

A. 研究目的

デング熱は熱帯・亜熱帯の海外において年間推定 2000 万人の罹患者が発生しているとされ、さらにその内数万人程度が致死率の高い出血熱・ショック症候群を呈する。現在、デングウイルス（DENV）に有効な抗ウイルス薬は未開発である。一方デングワクチンは現在数種類の生ワクチンが開発中であり、一部はマカク属サルを用いた動物モデルでの有効性評価を経て臨床試験段階である。このマカク属サルモデルによる DENV 実験感染では、ヒトでの場合と比較してウイルス複製効率が悪くウイルス血症レベルが顕著に低いため、ヒトと同様の臨床症状を呈さない。このため、候補ワクチンの有効性、安全性評価システムとしては不十分と言わざるを得ない。さらに既感染者に存在する抗ウイルス抗体が、異なる型の DENV 再感染時に感染増強作用を呈することがデング出血熱の要因とされていることから、特にリスクの高い小児へのワクチン接種による病態増悪化が危惧されている。

こうした理由から、ヒトにおける DENV 感染に近似したモデル動物の開発が長い間求められて

きた。我々は、昨年度までに新世界ザルであるコモンマーモセットやタマリンが、DENV に高感受性を示すことを報告した。今年度は、上述の霊長類モデルを用いてこれまで臨床分野で解析があまり進んでいない DENV 感染初期における細胞性免疫担当細胞のダイナミクスについて検討を行なった。

B. 研究方法

サル攻撃接種用ウイルスとして、臨床分離株 DENV 2 型（DHF0663 株）を用いた。実験用サルはコモンマーモセットを用い、独立行政法人医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センター感染症施設にて飼育管理および感染実験を行なった。上記 DENV 2 型を、コモンマーモセットにケタミン麻酔下で静脈内接種および皮下接種した。接種 1, 3, 7, 14, 21, 28 日にそれぞれ採血し、各種 CD マーカーに対する蛍光標識モノクローナル抗体にて染色後、FACS CantoII にて解析を行なった。血中抗デング抗体は、IgM および IgG について ELISA 法により測定した。また、デングウイルス抗原 NS1 蛋白を ELISA 法にて測定した。

(倫理面への配慮)

全ての動物実験は、倫理面も含めて、医薬基盤研究所の動物実験委員会の審査を受け、その承認を得て同研究所・霊長類医科学研究センター感染症実験施設にて実施した。

C. 研究結果

まず正常（非感染）コモンマーモセットのリンパ球サブセットに関して解析を行なった（図1）。ヒトやアカゲザル等と同様に、リンパ球はCD3陽性T細胞およびCD20陽性B細胞に分画され、このT細胞サブセットはさらにCD4およびCD8陽性T細胞サブセットに分画されることを確認した。次に、6種類の異なる蛍光標識モノクローナル抗体を用いてマルチカラー解析を行なった。その結果、(i)上記同様にCD3陽性T細胞をCD4およびCD8陽性T細胞サブセットに分画、(ii)CD62LおよびCD95特異的抗体によりCD4およびCD8陽性T細胞をそれぞれnaïve, central memory, effector memoryサブポピュレーションに分画、さらに(ii)Ki-67抗体を用いて上記サブポピュレーションに関して活性化（分裂増殖期にある）細胞率を定量することが可能であることを確認した（図2）。

そこで、確立したマーカー解析手法を用いてDENV感染マーモセットにおける経時的な変動を解析した。以下、代表的結果を示す（図3）。DENV感染後、リンパ球サブセット割合およびCD4, CD8陽性T細胞におけるnaïve, central memory, effector memoryサブポピュレーションの割合は観察期間中で特に顕著な変動は見られなかった。ところが、naïve, effector memory CD8陽性T細胞においてKi-67陽性率は感染14日で劇的な増加を示すことが明らかとなった。この際、それぞれの時点におけるKi-67標識細胞における蛍光強度をヒストグラムで解析したところ、naïve, effector memoryサブポピュレーション共に非常に強い蛍光シフトが認められた（図4）。このことは、これらのCD8T細胞サブポピュレーションがDENV感染により強い活性化誘導を起こしたことを意味する。

最後に、上述のリンパ球活性化とウイルス動態および抗体価との相関関係について検討を行なった（図4）。血中DENV NS1抗原量および特異抗体（IgM, IgG）の推移を見ると、感染7日後でNS1抗原量がピークとなり、その後低下するとともに感染14日後でIgM抗体価がピークとなった。また、それに引き続きIgG抗体価が上昇した。以上のことから、DENVの強い増殖がCD8T細胞を中心とする細胞性免疫および液性免疫を同時に誘導し、これらがDENV増殖制御に寄与していることが示唆された。

D. 考察

これまでコモンマーモセット等新世界ザルのリンパ球サブセットに関しては、その解析がほとんど進んでいないのが実情であり、まして本研究成果のようなマルチカラーフローサイトメトリーによる詳細な解析は全くと言って良いほど報告がない。他方、DENV感染者における免疫担当細胞の変動を経時的に解析した知見はほとんど知られていない。今回の研究成果により、DENV感染時における免疫担当細胞の機能的動態を経時的に解析可能となったことは意義深い。特に、以前の研究では、中和抗体がDENV感染制御に寄与する主要な免疫応答であるものと考えられてきたが、本結果から中和抗体およびCD8T細胞を主体とする細胞性免疫誘導がその制御に関わっていることが示唆された。今後は、今回確立された技術を基盤として、さらに活性化CD8T細胞のDENV制御における機能的意義を実証していきたい。

ところで、DENV感染におけるデング出血熱といった重篤化のメカニズムには不明な点が多いが、単球・マクロファージやNK細胞といった自然免疫担当細胞からのさまざまなサイトカイン産生が寄与しているものと考えられている。他方、一般的にウイルス制御には自然免疫が重要な役割を担っているとされているが、DENV感染制御における自然免疫の役割はよく判っていない。今後は、本霊長類モデルを用いてDENV感染における自然免疫の意義を明らかにしていきたい。

世界的に非常に多くのDENV感染者およびデン

グ熱・デング出血熱罹患者がいるにも関わらず、DENV 関連疾患への有効な抗ウイルス薬、治療薬は未開発である。一方 DENV ワクチンは現在数種類の生ワクチンが開発中であり、一部はマカク属サルを用いた動物モデルでの有効性評価を経て臨床試験段階である。このマカク属サルモデルによる DENV 実験感染では、ヒトでの場合と比較してウイルス複製効率が悪くウイルス血症レベルが顕著に低いため、ヒトと同様の臨床症状を呈さない。このため、候補ワクチンの有効性、安全性評価システムとしては不十分と言わざるを得ない。さらに既感染者に存在する抗ウイルス抗体が、異なる型の DENV 再感染時に感染増強作用を呈することがデング出血熱の要因とされていることから、特にリスクの高い小児へのワクチン接種による病態増悪化が危惧されている。こうしたことを踏まえ、我々が新たに開発した新世界ザル DENV 感染モデルにより液性・細胞性免疫誘導の意義を詳細に解明することによって、DENV ワクチン開発の最適化、迅速化への貢献が期待される。

E. 結論

今年度は、本モデルを用いて DENV 感染初期過程における細胞性免疫担当細胞のダイナミクスについて検討した。その結果、DENV 感染により生じる高いウイルス血症後に、特異抗体のみならず naïve, effector memory CD8 陽性 T 細胞の顕著な活性化が同時に誘導され、これらが DENV 増殖制御に寄与していることが示唆された。今後は、本霊長類モデルを用いて DENV 感染における自然免疫の意義を明らかにしていきたい。

G. 研究発表

1. 学会発表

大松勉、高崎智彦、片貝祐子、濱野正敬、岩崎優紀、吉田友教、飯島沙幸、中村紳一朗、明里宏文、倉根一郎

マーモセットの抗デングウイルスワクチン評価系としての有用性

第 57 回ウイルス学会（東京）平成 21 年 10 月 25-27 日

2. 論文発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図 1. Analysis of lymphocyte subsets in marmosets (1)

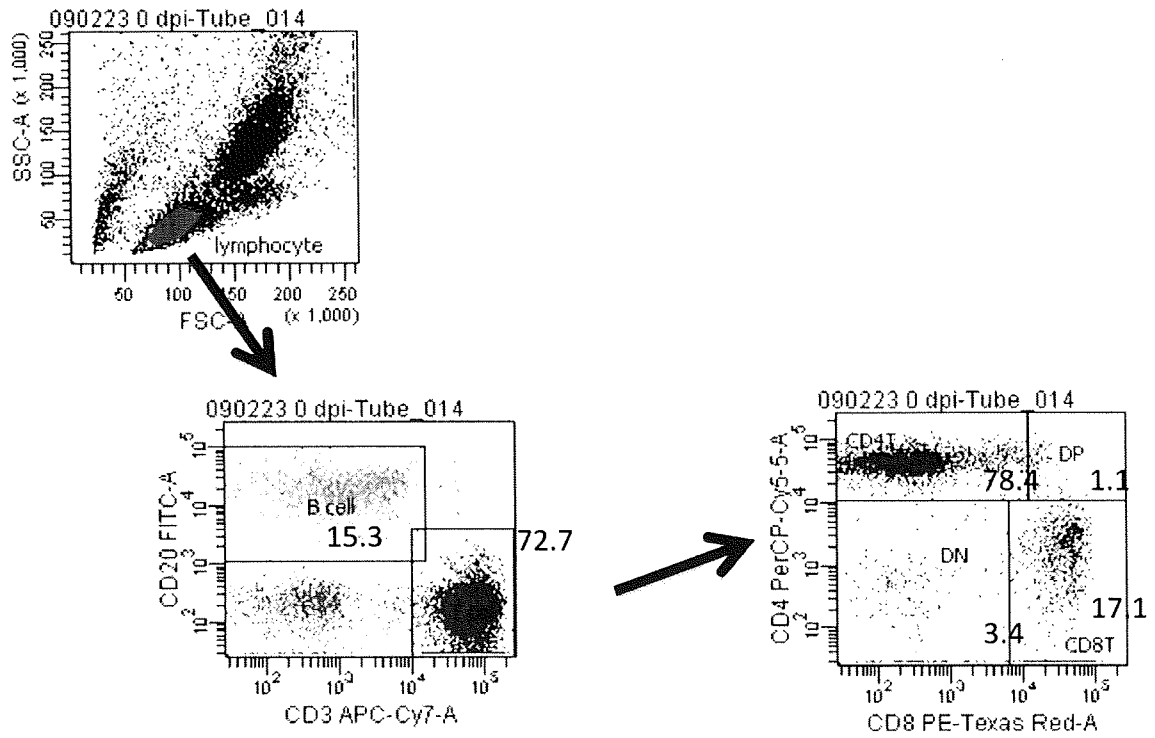


図 2. Analysis of lymphocyte subsets in marmosets (2)

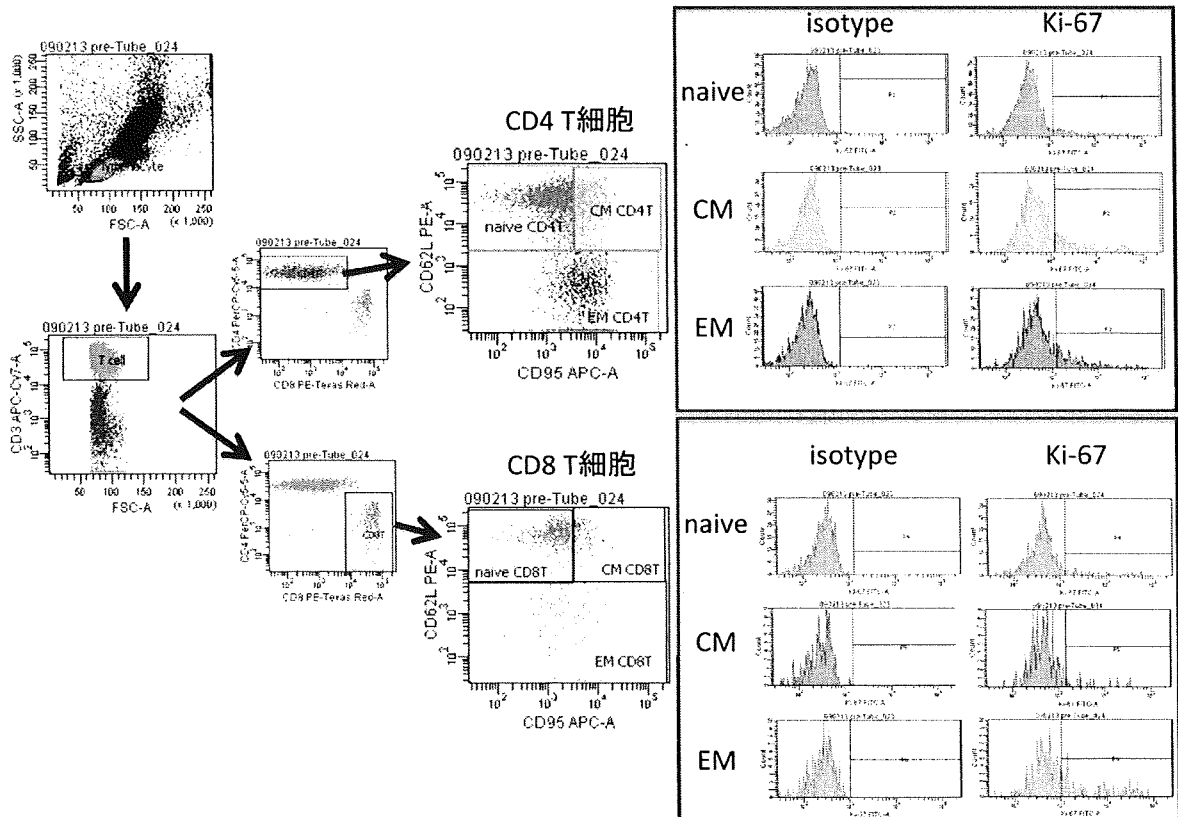


図 3. Kinetics of naïve/memory T cell subsets in a DENV-infected marmoset

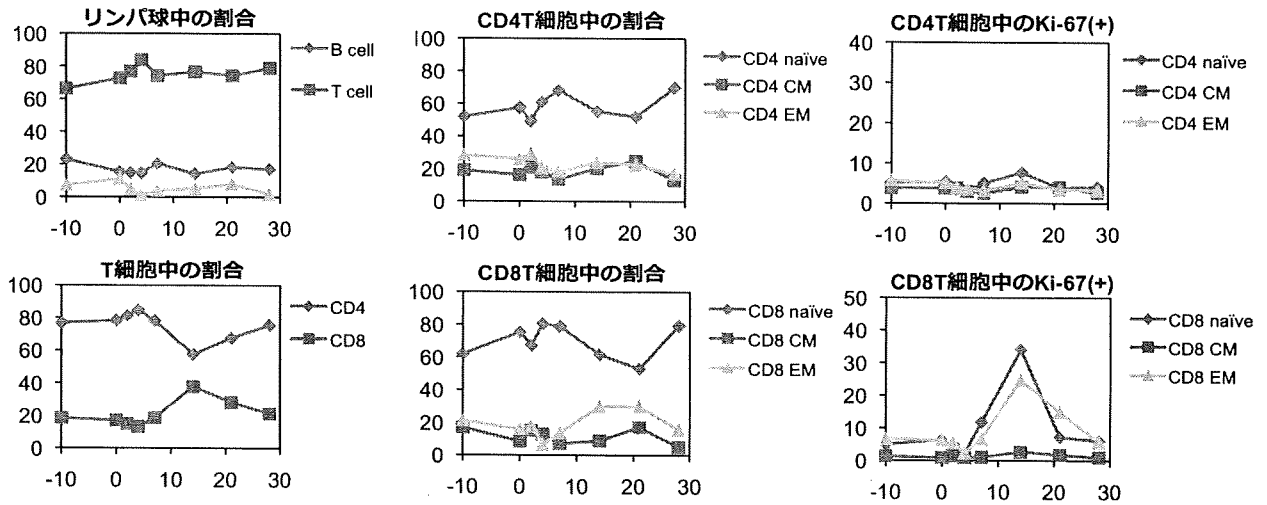
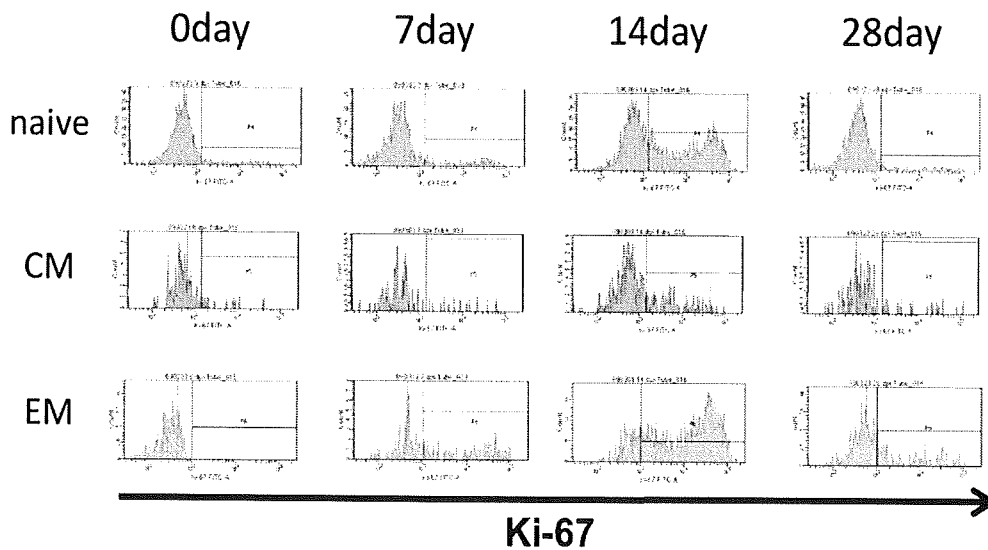
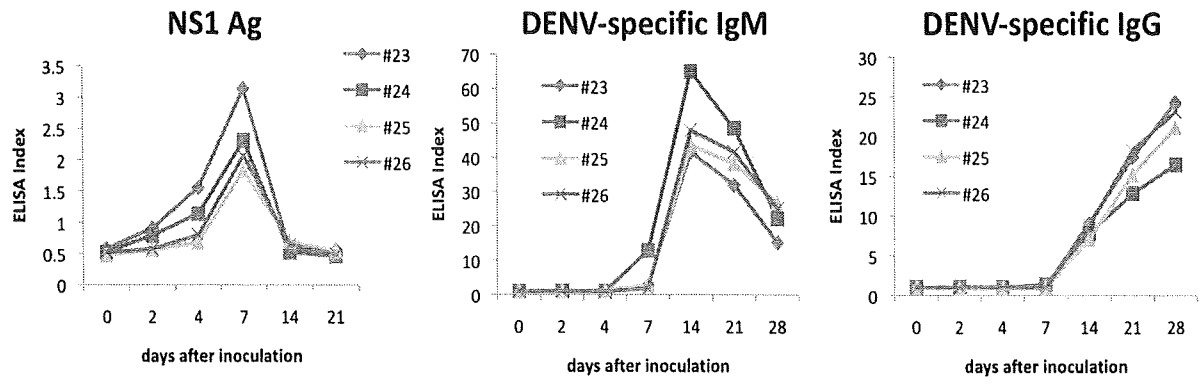


図 4. Expression of Ki-67 in CD8 T cells of a marmoset infected with DENV-2



5. Kinetics of NS1 Ag and DENV-specific Igs in DENV-infected marmosets



厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
分担研究報告書

新世界ザルを用いたデング熱ウイルス感染・発症動物モデル開発に関する研究：
病理組織学的検索（デング熱ウイルス抗原の組織学的検出について）

研究分担者 中村 紳一郎 滋賀医科大学准教授

研究要旨 新世界ザルをデング熱ウイルス（DENV）の適切な動物モデルとして確立するため、病理組織学的な解析を行っている。コモンマーモセットには間質性腎炎を中心とした泌尿器系の病理組織学的変化が現れたが、これまでに組織病変内にウイルス抗原を見いだすことができなかった。今年度、新たにいくつかの抗 DENV 抗体を用いた免疫染色を行ったところ、DENV2 が複数回接種されたマーモセットから得られた血清が明瞭な陽性像を示した。脾臓、リンパ節のリンパ系細胞またはマクロファージ、肝臓のクッパー細胞が感染後 5 日で明らかな陽性像を示し、8 日目に最も多数の陽性細胞を認め、14 日目にはやや減少していた。組織学的な検出系を確立できたことによって、ウイルスの挙動を組織学的に追うことが可能となったとともに、この動物モデルの病態発症機序の一部が解明できた。

A. 研究目的

デング熱患者の死亡例の典型的な肉眼像は、全身性の水腫と出血、血様の腹水や胸水の貯留を主徴とする。病理組織像としては各種臓器での水腫と出血、類洞でのクッパー細胞およびリンパ球の増数、各臓器の血管周囲でのリンパ球浸潤、骨髓低形成などが見られている。ウイルスのターゲットは主に免疫系ならびに血管系の細胞と考えられている。

昨年までに、コモンマーモセットへの DENV2 の実験的接種によって、腎臓に間質性腎炎を中心とする病変を確認したが、先述したヒトの病態とは若干異なっていた。それぞれの種が示す病態の違いは、ウイル

ス抗原の分布の違いに起因することが考えられ、ヒトとの親和性違いが予想された。

詳細を明らかにするためには、このコモンマーモセットの動物モデルにおいて、有効な免疫組織化学的ウイルス抗原の検出系を確立することが必要である。これまでにいくつかの抗 DENV 抗体を用いて染色を行ったが、DENV 感染 vero 細胞では明瞭な陽性像を示すが、DENV 感染マーモセットでは非特異反応が見られるなど、明らかな陽性像が得られなかった。今年度は新たなモノクローナル抗体 2 種と DENV 感染マーモセットの抗血清を用いた免疫染色を行った。

B.研究方法

(材料) DENV2 が播種された Vero 細胞を回収し、遠心後にペレットを作製、パラホルムアルデヒド固定を行い、パラフィン包埋材料を作製した。これを陽性対照材料とした。

オス、コモンマーモセット 4 例に DENV2 を感染させ、それぞれ 3、5、8、14 日後に病理解剖を行い、脾臓、リンパ節、肝臓、腎臓を採取した。それぞれの臓器をホルマリン固定またはパラホルムアルデヒド固定し、パラフィン包埋材料を作製した。

それぞれ、4 μ m の切片を作製し、免疫染色に供した。

(免疫染色) DENV に対する免疫染色の一次抗体として、抗 DENV マウスモノクローナル抗体 (6B6C および 12D11/7E8) 2 種、DENV 2 接種後の約 1 年間の間に再度 DENV2 とその不活化抗原が接種されたコモンマーモセット由来の抗血清 (#17)、ならびに DENV2 の接種後の約 1 年間の間に DENV3 と DENV4 が再接種されたコモンマーモセット由来の抗血清 (#18) を用いた。マウスモノクローナル抗体については HRP 標識抗マウスグロブリン抗体を反応させ DAB で発色した。コモンマーモセット血清はグロブリンを精製、HRP を直接標識する処置を行った。この精製血清を DAB で発色した。

C.研究結果

DENV2 が播種された Vero 細胞に対して、6B6C、12D11/7E8 および #17 は陽性だったが、#18 は陰性だった (図 1)。6B6C と #17 は 12D11/7E8 より多くの陽性細胞を検出した。6B6C は #17 より強い陽性像を示し

た。

DENV2 が接種されたマーモセットに対し、6B6C は 14 日目の腎臓間質の一部リンパ球が陽性だったが、他の臓器に陽性像は見られなかった。12D11/7E8 は腎臓の近位尿細管上皮細胞と肝臓の胆管上皮細胞の細胞質に顆粒状の陽性像を認めたが、これらは非特異反応だった。

#17 抗体が最も適切な陽性反応を示し、脾臓では 5 日目から陽性細胞が出現し、8 日目に最も多くなり、14 日では陽性細胞は減少、5 日目とほぼ同等となった (図 2)。陽性細胞は主に白脾髄の辺縁帯のリンパ球、樹状細胞ないしはマクロファージ系の細胞で (図 3)、8 日目には胚中心のリンパ球にも陽性像が見られた。

リンパ節では、14 日目に皮質の辺縁帯に相当する部分のリンパ球、樹状細胞ないしはマクロファージ系の細胞が陽性となったが、それ以前の時期に陽性細胞は見られなかった。

肝臓では、3 日目からクッパー細胞に陽性像が見られ、5、8 日目と陽性細胞は増加し、14 日になるとやや減少した (図 4)。

腎臓では 8 および 14 日目の炎症巣内のリンパ球およびマクロファージに陽性像が見られた (図 5)。

#18 はすべての組織に対して陰性だった。

D.考察

昨年度まで免疫組織学的検索にて、多くの抗体を用いてきたが、DENV2 感染 vero 細胞には明瞭な陽性像を示すものの、感染マーモセットで良好な染色結果を示す抗体は見つからなかった。またいくつかの抗体は腎臓の近位尿細管上皮細胞および肝臓の

胆管上皮細胞に非特異反応を示し、的確な抗原局在の判断を妨げる要因となっていた。

今回、DENV2 とその不活化抗原をそれぞれ 2 回接種されたマーモセット由来の抗血清を用いたところ、DENV2 接種マーモセットの脾臓や肝臓に特異的かつ強い陽性反応を認めた。一方で DENV2 と他の血清型の接種によって得られた抗血清では明確な陽性像が得られなかった。ヒトでは異なる血清型の DENV に感染すると病態の増悪に働くが、同じ型の再感染は防御的に働くとされている。後者は液性免疫の介在で惹起されると考えられている。#17 を得た際の DENV2 の再接種は、このメカニズムと同様のことが起こり、マーモセットに強い液性免疫が誘導された結果、高い抗体価が得られ、免疫染色の良好な結果に繋がったと考えられた。

マーモセットでは、主にリンパ系臓器やクッパー細胞に親和性があり、ヒトで知られている感染細胞と一致していた。しかし血管系細胞への親和性のないことが、マーモセットで出血熱等が起こらない、ヒトとの大きな病態の違いとして現れる要因と考えられた。

腎臓に病変が惹起された理由について、この動物モデルでウイルスは静脈から接種され、ウイルス RNA は血中に検出されていた。さらに、病態のひどい動物は血尿を示し、尿中にもウイルス RNA が検出された。尿中のウイルスは尿の生成過程の中、尿細管上皮と血管との間で物質交換とともにウイルスの交換ないしは移行も起こっていたものと考えられた。移行に際しては、尿細管上皮細胞と血管を介在する間質があり、同部分に存在するウイルスに対して強

い炎症が惹起されたものと考えられた。#17 の免疫染色によってこの炎症巣に陽性細胞が検出されたことは、この仮説を支持する一つの事実でもあった。

E. 結論

マーモセットを用いたデング熱ウイルス感染の動物モデルでは、ウイルスのターゲットは免疫系細胞であり、主に脾臓、リンパ節のリンパ球、マクロファージ、肝臓のクッパー細胞にウイルス抗原が検出された。また腎病変のリンパ球にもウイルス抗原が検出され、病変形成に関与していることが推測された。組織学的にウイルス抗原の分布を明確にすることによって、ウイルスの挙動と表現される病変との関連、この動物モデルにおける病態発症の機序が明確になってきた。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

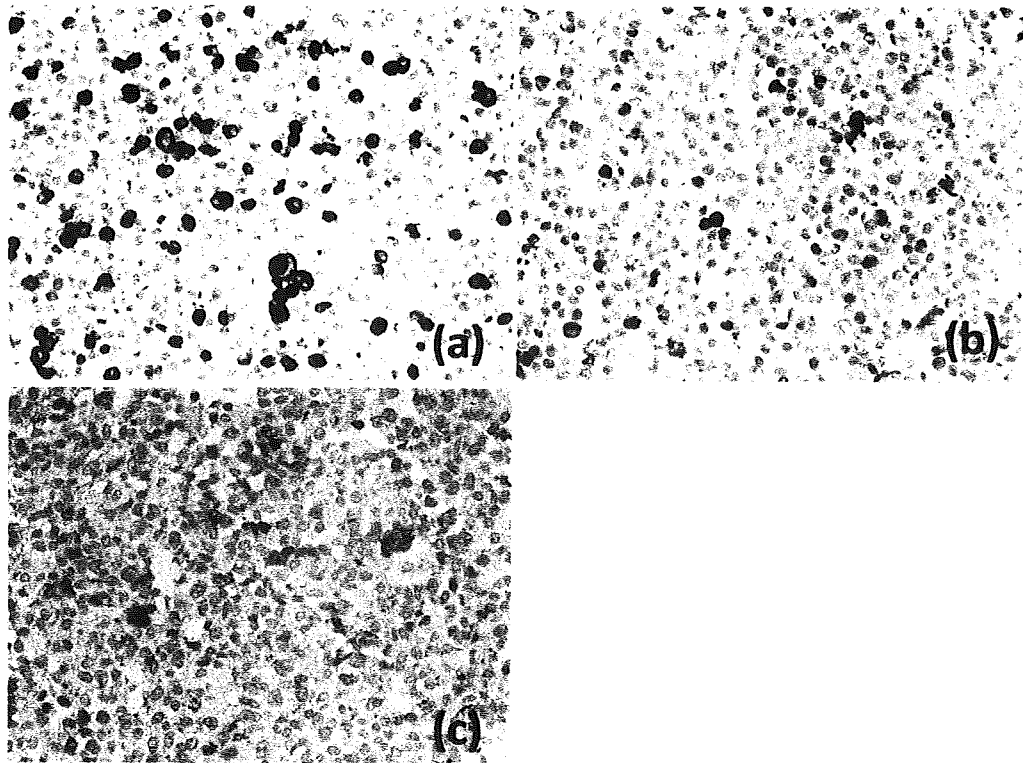


図1: DENV2感染vero細胞での各抗体の反応性。6B6C (a)、12D11/7E8 (b)、#17 (c)。

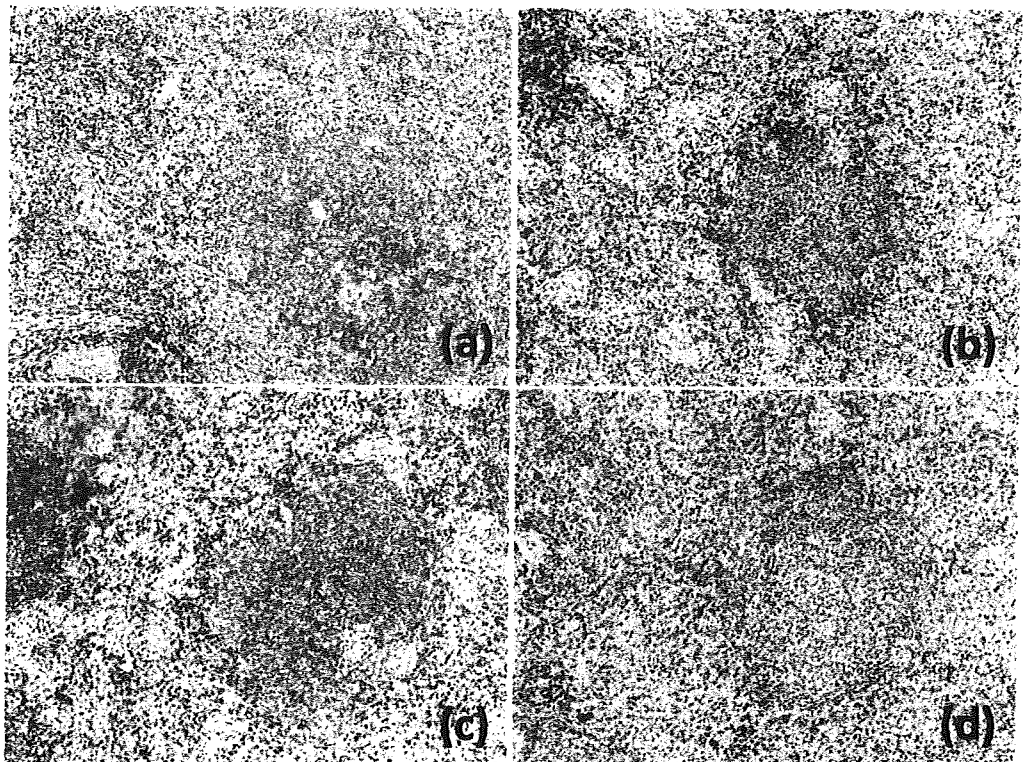


図2: DENV2感染マーマーモセットの脾臓。3日目 (a)、5日目 (b)、8日目 (c)、14日目 (d)。

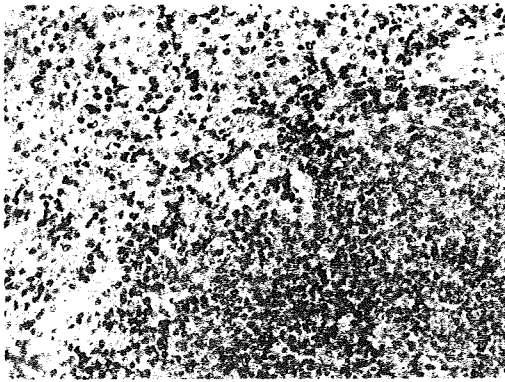


図3: DENV2感染マーモセットの脾臓、8日目、強拡大。

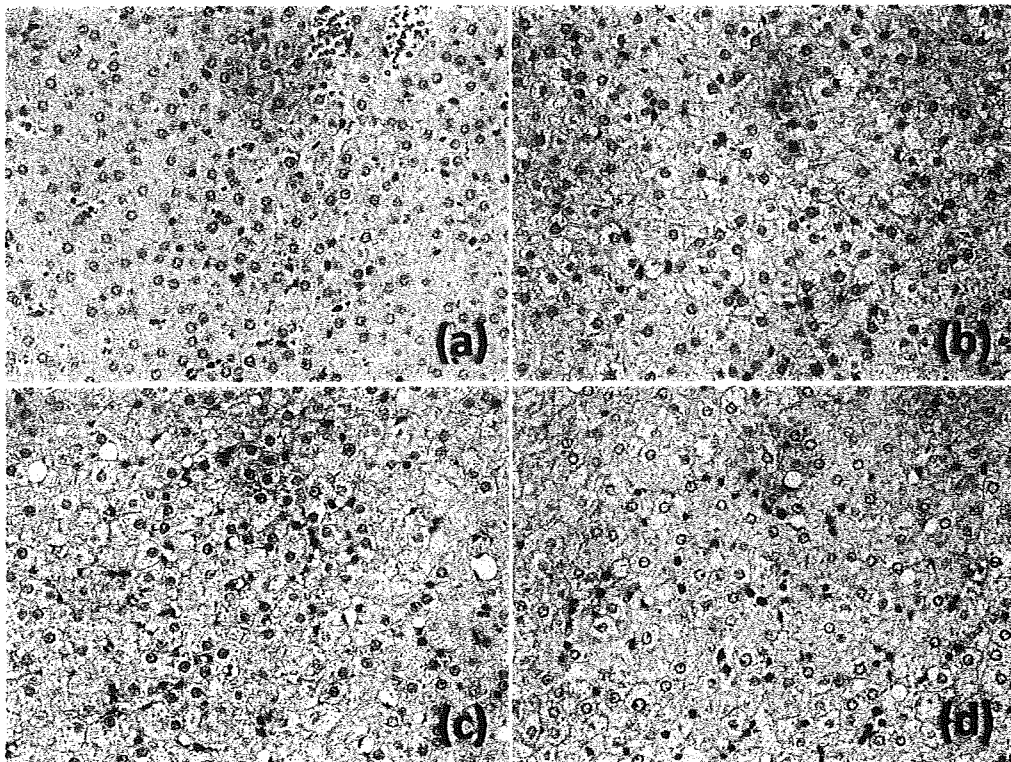


図4: DENV2感染マーモセットの肝臓。3日目 (a)、5日目 (b)、8日目 (c)、14日目 (d)。

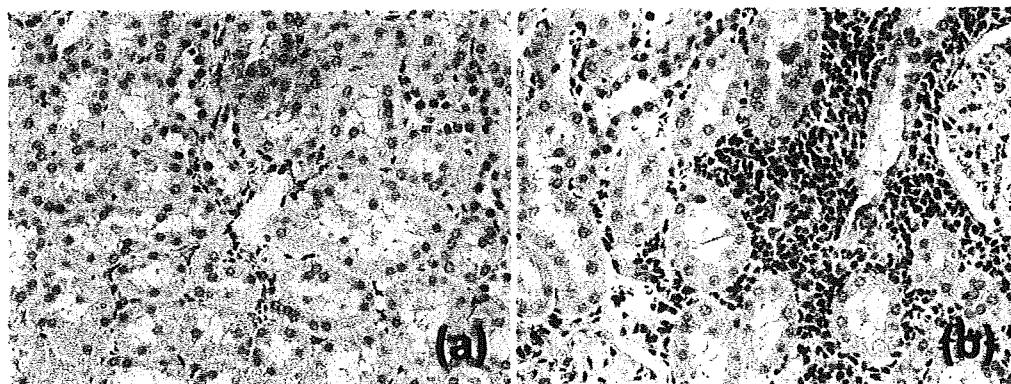


図5: DENV2感染マーモセットの腎臓。8日目 (a)、14日目 (b)。

