

ヒト SCARB2 発現量に依存して EV71 に対する感受性が高まることが示唆されている。そこで、EV71 毒力検定法やワクチン検定法に利用可能なマウスモデルを樹立するため、より hSCARB2 発現量が高く、感受性が強く、かつホモ化可能で系統維持が有利である hSCARB2-Tg マウスの作製を行った。

B. 研究方法

これまで作製したホモ化可能な hSCARB2-Tg マウスの hSCARB2 遺伝子コピー数はそれぞれ Tg10:2 コピー、Tg22:2 コピー、Tg49:3 コピーである。hSCARB2 遺伝子のコピー数を増やせば hSCARB2 発現量も高くなると考えられる。そこで Tg10、Tg22、Tg49 マウスを多重交配した。

C. 研究結果

Tg マウスの多重交配により、ヒト SCARB2 遺伝子のコピー数を増やした Tg10x22、Tg22x49 マウスの作製を終えた。Tg10x22 は 4 コピー、Tg22x49 は 6 コピーを有している。Tg10x49 マウスは目的の 6 コピーを持つマウスが生まれる確立が低いことおよび 6 コピー持つ個体が発育異常で死亡する確立が高いことから系統維持困難と判断し、作製を中断した。

D. 考察

多重交配により得られた Tg10x22 と Tg22x49 マウスは高い hSCARB2 発現が期待され、EV71 により強い感受性を示すと

考えられる。

E. 結論

Tg10x22 と Tg22x49 マウスを系統維持し、hSCARB2 発現量の解析及び EV71 感受性試験を進めて行く。

H. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Fujii K, Nagata N, Sato Y, Ong KC, Wong KT, Yamayoshi S, Shimanuki M, Shitara H, Taya C, Koike S: Transgenic mouse model for the study of enterovirus 71 neuropathogenesis. Proc Natl Acad Sci. 110:14753-14758, 2013
2. Ng CS, Jogi M, Yoo JS, Onomoto K, Koike S, Iwasaki T, Yoneyama M, Kato H, Fujita T: Encephalomyocarditis virus disrupts stress granules, the critical platform for triggering antiviral innate immune responses. J Virol. 87:9511-9522, 2013

2. 学会発表

1. Fujii K and Koike S: A SCARB2-transgenic mouse model for the study of enterovirus 71 pathogenesis. The XIIth Awaji

- International Forum on Infection and Immunity. Awaji Hyogo. 2013年9月
2. Ohka S, Fujii K, Kaneda S, Nakamura H, Fujii T, Koike S. Analysis of Enterovirus infection in motor neuron using microfluidic culture platform. The XIIth Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji Hyogo. 2013年9月
 3. 小池智：エンテロウイルス71受容体の解析 第61回日本ウイルス学会学術集会 神戸市 2013年11月
 4. 藤井健、永田典代、小池智：hSCARB2-Tgマウスを用いたEV71標的組織決定機構の解析 第61回日本ウイルス学会学術集会 神戸市 2013年11月
 5. 大岡静衣、藤井健、金田祥平、中村寛子、藤井輝夫、小池智：運動神経初代培養細胞の軸索終末側からのみの感染を可能にするマイクロ流体デバイスを用いたエンテロウイルス感染機構解析 第61回日本ウイルス学会学術集会 神戸市 2013年11月
- 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

表 1 EV71 接種後のサル血中における中和抗体価*

接種 ウイルス	サル 個体 No	接種後日数				
		0	1	3	7	10
Isehara	5174	<4	<4	16	1012	1012
	5175	<4	<4	8	1012	1012
BrGr	5176	<4	<4	8	16	128
	5177	<4	<4	<4	8	16

*5174 と 5175 は Isehara 株、5176 と 5177 は BrGr 株に対する中和抗体価を測定した。

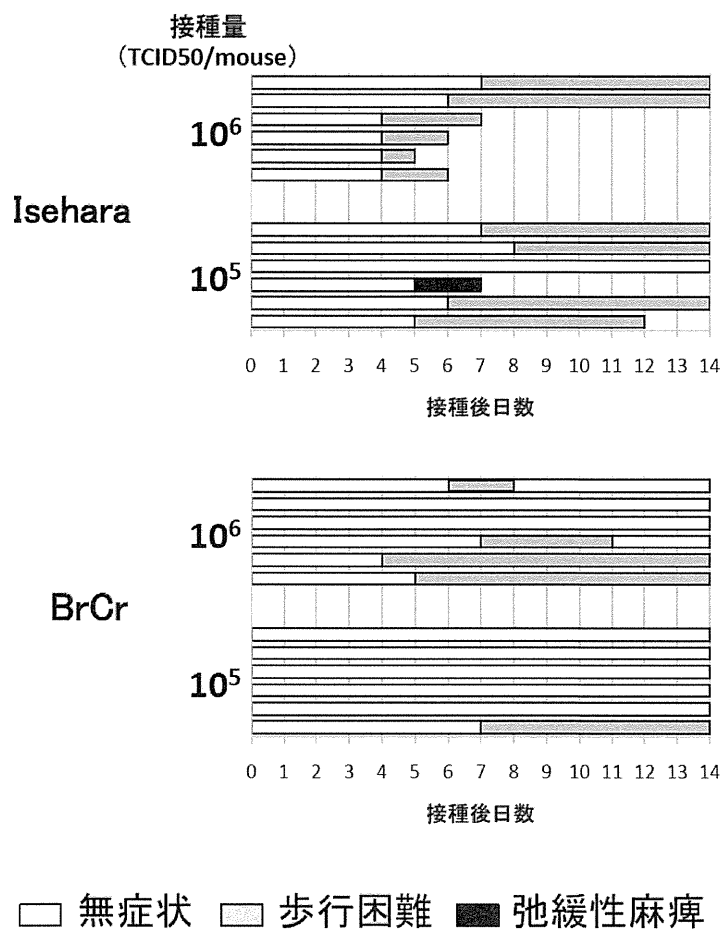


図1 Tg10 マウス (6 週令) における Isehara 株と BrCr 株の毒力比較
 それぞれのウイルス株を 1×10^6 、 1×10^5 TCID₅₀/mouse で脳内接種し、14 日間病態を観察した。

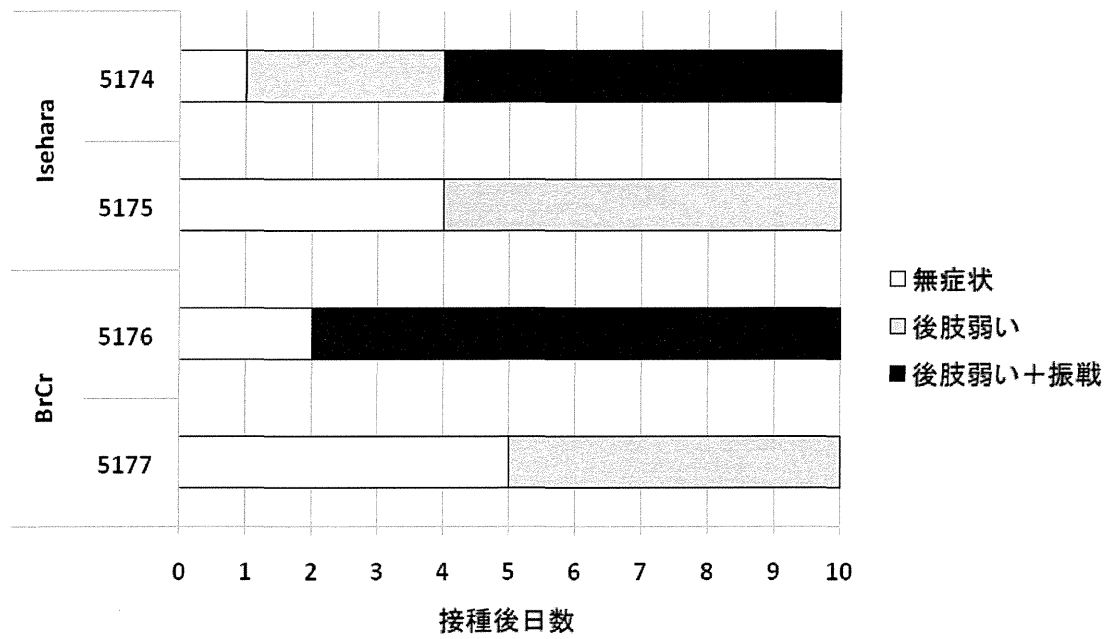


図2 カニクイザル（3年齢）における Isehara 株と BrCr 株の病態比較
 それぞれのウイルス株を 1×10^6 TCID₅₀/mouse で静脈内接種し、10日間病態観察を行った。

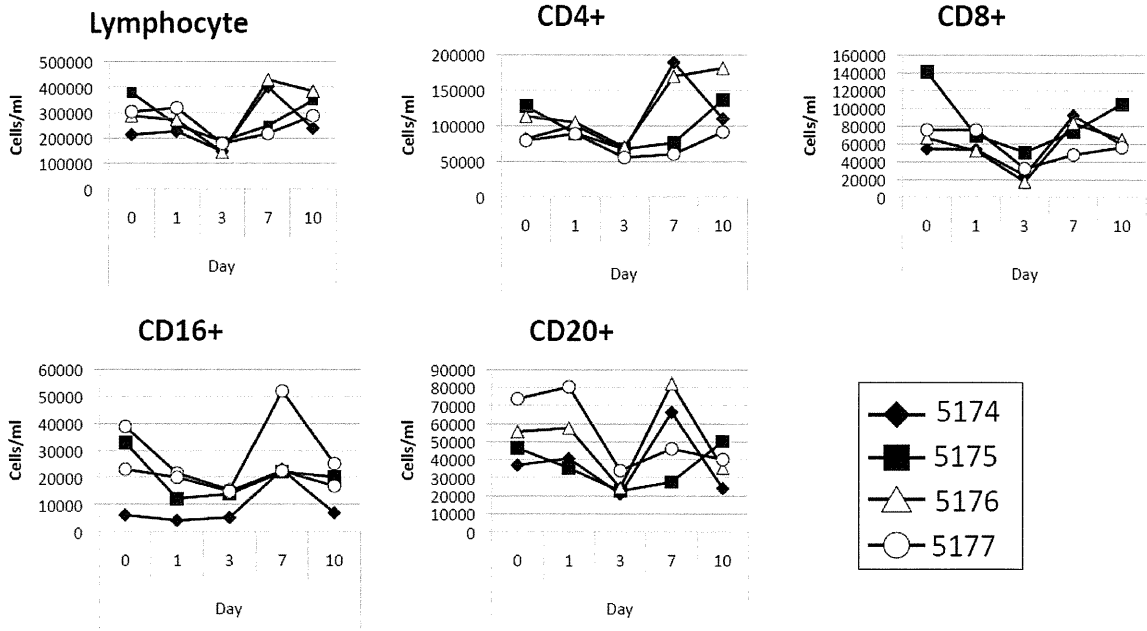


図3 EV71 接種後におけるサル血中免疫細胞の動態解析

EV71 接種後、フローサイトメータにより血中の免疫細胞数を測定した。

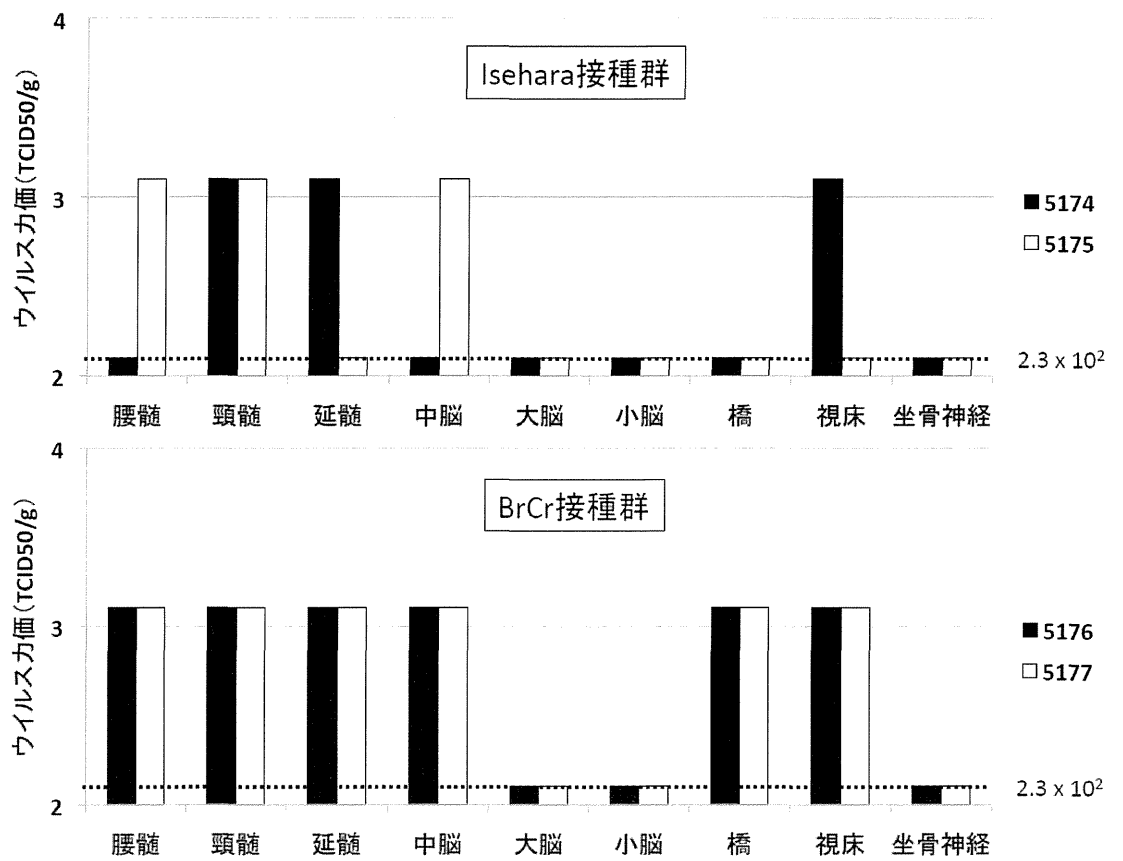


図4 EV71 接種 10 日目の神経系におけるウイルス増殖
 点線は検出限界 (2.3×10^2 TCID₅₀/g) を示す。

研究成果の刊行に関する一覧表

- 1) Shimizu H, Nakashima K. Surveillance of hand, foot, and mouth disease for a vaccine. *Lancet Infect Dis.* ([http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70342-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70342-6)) 2014
- 2) Lee H, Cifuentes JO, Ashley RE, Conway JF, Makhov AM, Tano Y, Shimizu H, Nishimura Y, Hafenstein S. A Strain-Specific Epitope of Enterovirus 71 Identified by Cryo-Electron Microscopy of the Complex with Fab from Neutralizing Antibody. *J Virol* 87: 11363-11370, 2013
- 3) Nishimura Y, Lee H, Hafenstein S, Kataoka C, Wakita T, Bergelson JM, Shimizu H. Enterovirus 71 Binding to PSGL-1 on Leukocytes: VP1-145 Acts as a Molecular Switch to Control Receptor Interaction. *PLoS Pathog* 9: e1003511, 2013
- 4) Hovi T, Paananen A, Blomqvist S, Savolainen-Kopra C, Al-Hello H, Smura T, Shimizu H, Nadova K, Sobotova Z, Gavrilin E, Roivainen M. Characteristics of an Environmentally Monitored Prolonged Type 2 Vaccine Derived Poliovirus Shedding Episode that Stopped without Intervention. *PLoS One* 8: e66849, 2013
- 5) Burns CC, Shaw J, Jorba J, Bukbuk D, Adu F, Gumedé N, Pate MA, Abanida EA, Gasasira A, Iber J, Chen Q, Vincent A, Chenoweth P, Henderson E, Wannemuehler K, Naeem A, Umami RN, Nishimura Y, Shimizu H, Baba M, Adeniji A, Williams AJ, Kilpatrick DR, Oberste MS, Wassilak SG, Tomori O, Pallansch MA, Kew O. Multiple Independent Emergences of Type 2 Vaccine-Derived Polioviruses during a Large Outbreak in northern Nigeria. *J Virol* 87: 4907-4922, 2013
- 6) Arita M, Kojima H, Nagano T, Okabe T, Wakita T, Shimizu H. Oxysterol-binding protein (OSBP) family I is the target of minor enviroxime-like compounds. *J Virol* 87: 4252-4260, 2013
- 7) Zheng H, Lu J, Zhang Y, Yoshida H, Guo X, Liu L, Li H, Zeng H, Fang L, Mo Y, Yi L, Chosa T, Xu W, Ke C. Prevalence of Non-polio Enteroviruses in the Sewage of Guangzhou City, China, from 2009 to 2012. *Appl Environ Microbiol* 79: 7679-83, 2013
- 8) Tao Z, Zhang Y, Liu Y, Xu A, Lin X, Yoshida H, Xiong P, Zhu S, Wang S, Yan D, Song L, Wang H, Cui N, Xu W. Isolation and Characterization of a Type 2 Vaccine-Derived Poliovirus from Environmental Surveillance in China, 2012. *PLoS ONE* 8: e83975. doi:10.1371/journal.pone.0083975, 2013
- 9) Li TC, Yang T, Shiota T, Yoshizaki S, Yoshida H, Saito M, Imagawa T, Malbas

- F, Lupisan S, Oshitani Hi, Wakita T, Ishii K Molecular detection of Hepatitis E virus in rivers in the Philippines. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2014 (in press)
- 10) Arita M. 2013. Development of poliovirus extraction method from the stool extracts by using magnetic nanoparticles sensitized with soluble poliovirus receptor. *Journal of Clinical Microbiology* 51: 2717-2720, 2013
 - 11) Kobayashi M, Makino T, Hanaoka N, Shimizu H, Enomoto M, Okabe N, Kanou K, Konagaya M, Oishi K, Fujimoto T: Clinical manifestations of coxsackievirus A6 infection associated with a major outbreak of hand, foot, and mouth disease in Japan. *Jpn J Infect Dis* 66: 260-261, 2013
 - 12) Yasui Y, Makino T, Hanaoka N, Owa K, Horikoshi A, Tanaka A, Suehiro Y, Shimizu H, Kanou K, Kobayashi M, Konagaya M, Fujimoto T: A case of atypical hand-foot-and-mouth disease caused by coxsackievirus A6: differential diagnosis from varicella in a pediatric intensive care unit. *Jpn J Infect Dis* 66: 564-566, 2013
 - 13) Miyata I, Hanaoka N, Okabe N, Fujimoto T, Sakamoto S, Kasahara M, Saitoh A: Echovirus 3 as another enterovirus causing life-threatening neonatal fulminant hepatitis. *J Clin Virol*. Dec 7. pii: S1386-6532(13)00511-8, 2013
 - 14) Kitajima M, Hata A, Yamashita T, Haramoto E, Minagawa H, Katayama H: Development of a reverse transcription-quantitative PCR system for detection and genotyping of Aichi viruses in clinical and environmental samples. *Appl Environ Microbiol* 79: 3952-3958, 2013
 - 15) Hara S, Kawada J, Kawamoto Y, Yamashita T, Minagawa H, Okumura N, Ito Y: Hyperferritinemia in neonatal and infantile human parechovirus-3 infection in comparison with other infectious diseases. *J Infect Chemother* 20: 15-19, 2014
 - 16) Himeda T, Hosomi T, Okuwa T, Muraki Y, Ohara Y: Saffold virus type 3 (SAFV-3) persists in HeLa cells. *PLoS ONE* 8: e53194, 2013
 - 17) Fujii K, Nagata N, Sato Y, Ong KC, Wong KT, Yamayoshi S, Shimanuki M, Shitara H, Taya C, Koike S. Transgenic mouse model for the study of enterovirus 71 neuropathogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 14753-14758, 2013
 - 18) Ng CS, Jogi M, Yoo JS, Onomoto K, Koike S, Iwasaki T, Yoneyama M, Kato H, Fujita T: Encephalomyocarditis virus disrupts stress granules, the critical platform for triggering antiviral innate immune responses. *J Virol*. 87:9511-9522, 2013

- 19) 高山直秀, 崎山 弘, 清水博之, 梅本哲. 経口生ポリオワクチン1回目および2回目接種の全国累積接種率 : 2012 年調査結果. 日本医学会雑誌 142: 597-601, 2013
- 20) 清水博之. ライノウイルスの分類と疾患への関与. 日本医事新報 4689: 53-55, 2014
- 21) 清水博之: 手足口病の大規模流行と原因ウイルス. 日本医事新報 4673, 56-57, 2013
- 22) 清水博之: 不活化ポリオワクチンの現状、ファルマシア 49, 211-216, 2013
- 23) 清水博之: 東アジア地域を中心とした手足口病流行の現状、感染症 43, 50-51, 54-59, 2013
- 24) 清水博之: 不活化ポリオワクチン導入の現状と今後の課題. Bio Clinica 28, 19-24, 2013
- 25) 清水博之: ポリオ流行のリスクとポリオワクチン. モダンメディア 54, 85-92, 2013
- 26) 清水博之: わが国のポリオ流行とポリオワクチンの歴史. 小児内科 45 増刊号「予防接種 Q&A 改訂第3版」, 286-290, 2013
- 27) 清水博之: わが国と世界のポリオの現状と問題点. 小児内科 45 増刊号「予防接種 Q&A 改訂第3版」, 291-295, 2013
- 28) 清水博之: 生ワクチンの存続. 小児内科 45 増刊号「予防接種 Q&A 改訂第3版」, 300-301, 2013
- 29) 伊藤 雅、山下照夫、廣瀬絵美、安達啓一、平松礼司、皆川洋子: 愛知県で2000年~2011年に検出されたエンテロウイルス71型の遺伝子解析、愛知県衛生研究所報 63:1-7, 2013
- 30) 大原義朗, 長山成美: 5. 感染症疾患「ウイルス性脳炎」今日の神経疾患治療指針第2版 (水澤英洋他編), 医学書院, p388-390, 2013
- 31) 大原義朗, 姫田敏樹: 新しいピコルナウイルス感染症—ヒトカルジオウイルスを中心に—. 小児感染免疫 25: 446-451, 2013
- 32) 榎本美貴, 高井伝仕, 押部智宏, 藤本嗣人, 近平雅嗣, 吉田昌史: 兵庫県の感染症発生動向調査において検出されたエンテロウイルス (2008~2012年). 兵庫県立健康生活科学研究所 研究報告; No.4: 13~18, 2013
- 33) 藤本嗣人: 手足口病. 化学療法の領域(新興・再興感染症 up to date). 増刊号: 176~181, 2013
- 34) 中野貴司: 新しく国内に導入された不活化ポリオワクチン. 医薬ジャーナル 49: 1925-1934, 2013
- 35) 中野貴司: ポリオ根絶に向けた世界の現状と不活化ポリオワクチンの導入. 公衆衛生 78: 109-115, 2014

- 36) 中野貴司：子どものときに接種しなかったワクチン；ポリオワクチン．渡辺彰、尾内一信 編集 そこが知りたい！ 成人の予防接種パーフェクト・ガイド．診断と治療社，東京：40-44，2014

