

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業
（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業））

分担研究報告書

痘そうワクチンの安全性評価における病理学的研究

永田 典代 国立感染症研究所 感染病理部 第二室長

研究要旨：オルソポックスウイルス感染症の重症化の宿主側要因を明らかにすることを目的とする。
今年度はサル痘ウイルスのマウス感染実験系の基礎検討を開始した。

研究協力者：

国立感染症研究所 感染病理部
岩田奈織子、佐藤由子、原嶋綾子、長谷川秀樹
国立感染症研究所 ウイルス第一部
福士秀悦、西條政幸
国立感染症研究所 獣医科学部
森川 茂

A. 研究目的

サル痘ウイルスは、ポックスウイルス科オルソポックスウイルスに属し、アフリカ中央部から西部に分布するガンビアンラットなどのげっ歯類を宿主としている。愛玩動物としてアフリカから輸入されたげっ歯類からの感染事例が2003年に米国にて報告されており、免疫抑制状態のヒトでは天然痘類似の全身性疾患（ヒトサル痘）を引き起こす。

われわれは、劇症型サル痘の発症機序を明らかにする目的で、サル痘ウイルス実験的感染カニクイザルの死亡例2頭と回復サル2頭の病態病理を解析した。その結果、劇症型では免疫中枢組織における強い壊死を伴う病変形成が、病態に大きく関与することが推察された(Nagata *et al.*, 2014)。劇症型サル痘発症の要因は、脾、免疫不全状態、特に骨髓低形成による好中球低下症が関連していると推察している。

そこで、好中球の重症化における役割を明らかにするために、サル以外の病態動物モデルの確立を試みることにした。まず、今年度は、サル痘ウイルスのマウス感染実験系の基礎検討を開始した。

（倫理面への配慮）本動物実験は、国立感染症研究所の動物実験委員会に承認された実験計画に従って行った。

B. 研究方法

動物は、日本エスエルシーより購入したBALB/c マウス（接種時、14 週齢メス）を用いた。ウイルスは、Monkeypox virus の Liberia 株および Zr-599 株を用い、ウイルス液（一匹あたり 10^6 PFU ウイルス量/50 μ l）を頸背部に皮下接種し、臨床症状と体重変化を16日間観察した（一群6匹）。接種7日目には、一群あたり4匹を過麻酔殺し、心臓採血と病理解剖を行った。採取した血液は、ヘパリンを添加し、動物用血球計数装置 ベトスキャン HM II（Avaxis 社）で白血球数、リンパ球数、単球数、顆粒球数を測定し、比較した。

C. 結果

体重変化、皮膚所見、臨床症状の点で、いずれの株も皮下接種後の BALB/c マウスに対して明らかな病原性を発揮しなかった（図1）。接

種 7 日目の末梢血中の白血球数は、対照群に比べてウイルス接種群で有意に少なく、それは、リンパ球数と顆粒球数の減少によるものであった(図 2)。病理学的解剖を行ったところ、Zr-599 株接種群の脾の軽度の腫大がみられ、光顕的に T 細胞領域の軽度の拡大が確認された(データは示さない)。その他の腹腔、胸腔内臓器に著変は認められなかった。

D. 考察

我々は、オルソポックスウイルス感染後の重症化の宿主側因子を明らかにして、最終的には、痘瘡ワクチン(弱毒株)接種者における重篤な副反応要因を明らかにすることを目標としている。さらに、サル痘サルモデルに代わる、小動物感染モデルの作出が望ましい。マウス痘の原因となるエクトロメリアウイルスは、BALB/c マウス等、一部の近交系マウスに対して強い病原性を発揮する。よって、我々の研究目的の第一選択とするウイルスとしては不相当と考え、比較的、弱い毒力を発揮するウイルスを選択することとした。

Hutson らは、2003 年にアメリカ合衆国でおきたサル痘アウトブレイクと同年にコンゴでのアウトブレイクでそれぞれ分離されたサル痘ポックスウイルスを BALB/c マウスと C57BL/6 マウスの足蹠皮下あるいは経鼻接種を行い、いずれも致死性ではなかったものの、一時的な足蹠の腫脹(皮下接種)、体重減少(経鼻接種)と中和抗体価の上昇がみられたことから近交系マウスでもサル痘ウイルス感染が成立し、マウスモデルとして使用できると結論づけた(Hutson et al., 2009)。

今回使用したサル痘ウイルスは、Hutson らの報告と同様、BALB/c に対して強い病原性を発揮しなかった。しかしながら、血球像、脾の変化が認められたことから、感染は成立していることが予想される。今後、接種 28 日目の血清中

和抗体価の測定、ウイルス感染、増殖について解析する。その後、重症化モデルの作出を試みる予定である。

E. 結論

サル痘ウイルスのマウス感染実験系の基礎検討を開始した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Nagata N, Saijo M, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Sato Y, Iwata-Yoshikawa N, Ogata M, Kurane I, Morikawa S, Sata T, Hasegawa H. Pathogenesis of fulminant monkeypox with bacterial sepsis after experimental infection with West African monkeypox virus in a cynomolgus monkey. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014. 7:4359-4370

2. 学会発表

なし

G. 知的財産の出願・登録状況

該当なし

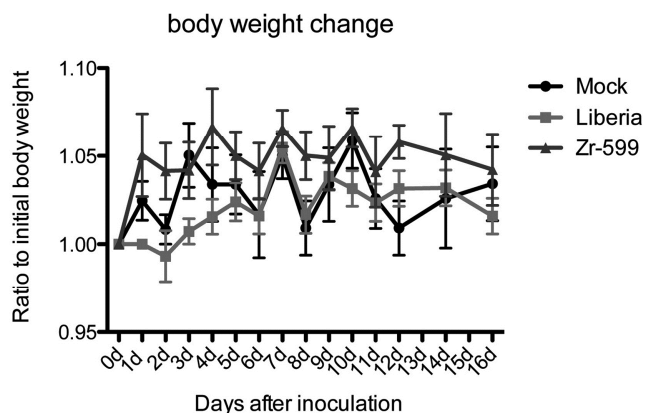


図 1. サル痘ウイルス皮下接種後のマウスの体重変化。各群 n=6。各群間で有意差はみられない。

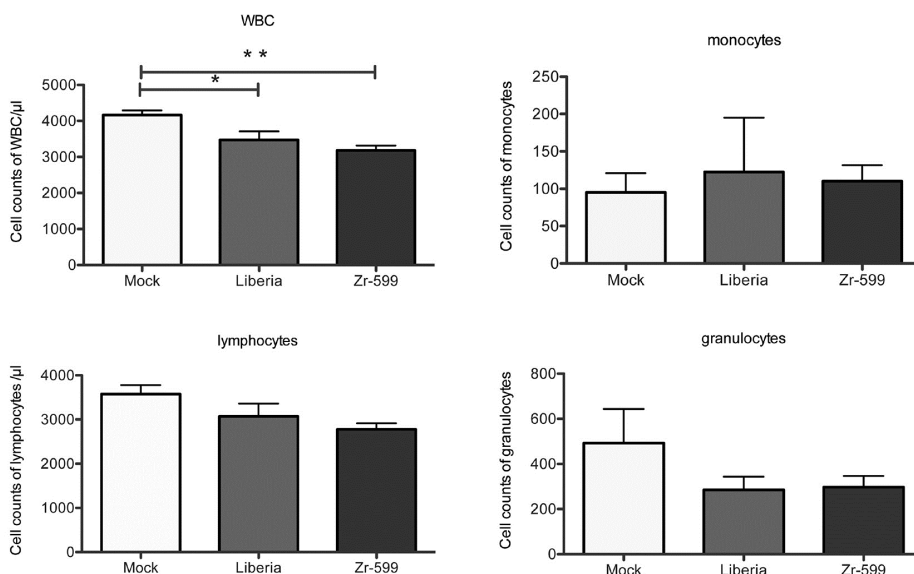


図 2. サル痘ウイルス皮下接種後 7 日目の血球数の比較。各群 n=4。白血球数に有意差がみられ、それは主にリンパ球数と顆粒球数の減少によるものであった。