

バイオテロに使用される可能性のある病原体等の新規検出法の確立，  
及び細胞培養痘そうワクチンの有効性，安全性に関する研究

分担報告書

痘そうワクチンの安全性評価における病理学的研究

所 属 国立感染症研究所感染病理部  
研究分担者 永田典代

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。サル痘ウイルスのマウス感染実験系において，BALB/c マウスに対しサル痘ウイルスは明らかな病変を起こさなかったが，抗 Ly6G 抗体投与による好中球枯渇により，ウイルス増殖と病変形成を亢進することが判明した。よって，好中球の減少は宿主側の重症化因子の一つと考えられた。

研究協力者

岩田（吉河）奈織子・国立感染症研究所感染病理部・主任研究官

佐藤由子・国立感染症研究所感染病理部・主任研究官

長谷川秀樹・国立感染症研究所感染病理部・部長  
福土秀悦・国立感染症研究所ウイルス第一部・主任研究官

吉河智城・国立感染症研究所ウイルス第一部・主任研究官

西條政幸・国立感染症研究所ウイルス第一部・部長

A. 研究目的

昨年度に引き続き，サル痘感染個体における好中球の減少が重症化に与える影響を明らかにするために，好中球枯渇後のサル痘ウイルス感染マウスの病理について検索を行った。

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）を準備し，国立感染症研究所のバイオリスク管理委員会規定に従い，ABSL3 施設にて感染実験を行った。ウイルスは，Monkeypox virus の Zr-599 株を用いた。好中球枯渇のため，抗マウス Ly6G 抗体（1A8，BioXcell 社）を，また，アイソタイプコントロールとして rat IgG2a（BioXcell 社）を用いた。これらの抗体をマウスの腹腔内に投与し，半日後にウイルス液（一匹あたり  $10^6$  PFU ウイルス量/100  $\mu$ l）を頸背部に皮下接種し

た。対照群には細胞培養液を接種した（各群 10 匹，合計 4 群）。その後，4 日に 1 回の間隔で合計 3 回の抗体投与を行った。ウイルス接種 7 日目と 16 日目に動物を安楽殺し，病理学的解析を行った。

【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い行った。

C. 研究結果

いずれの群においても体重変化，皮膚所見，臨床症状の点で，明らかな変化は認められなかったが，接種 7 日目の病理学的解析の結果，好中球枯渇-ウイルス接種群で副腎の皮質壊死がみられ，病変部に一致してウイルス抗原が陽性であった（図 1）。また，副腎周囲の脂肪組織に単球，好酸球を主体とした炎症性細胞浸潤を認めた。好中球は見られなかった。4 匹中 4 匹の肺の間質にわずかな炎症性細胞浸潤を認め，そのうちの 1 匹の肺の結合織に炎症性細胞浸潤をみとめたが，いずれもウイルス抗原は陰性であった。

D. 考察

サル痘ウイルス臨床分離株は，BALB/c に対して感染性を有したが，明らかな病原性を発揮しなかった。そのうち，マウスに白血球減少を引き起こした株を使用して，好中球枯渇実験を行ったところ，好中球枯渇-ウイルス接種群で副腎の皮質壊死がみられた。しかしながら，その他の臓器

にはウイルスの明らかな増殖像は認められなかった。本動物感染モデルにおいて、感染初期の好中球枯渇が病態になんらかの影響を与えることは判明したが、好中球枯渇のための抗体投与の回数を増やす必要がある。具体的には、4日間隔のところを2日間隔とする予定である。さらに好中球枯渇実験を行い、ウイルス感染動態と病変形成機序を明らかにし、サル痘ウイルス感染の重症化における好中球の役割を考察する。

#### E. 結論

感染初期の好中球減少は宿主側の重症化因子の一つと考えられた。

#### F. 健康危険情報

特記事項なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Iizuka I, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N,

Fukushi S, Ogata M, Morikawa S, Hasegawa H, Mizuguchi M, Kurane I, Saijo M. A Single Vaccination of Nonhuman Primates with Highly Attenuated Smallpox Vaccine, LC16m8, Provides Long-term Protection against Monkeypox. Japanese Journal of Infectious Diseases. 2016. Doi 10.7883/yoken.JJID.2016.417.

#### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

該当なし

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

該当なし

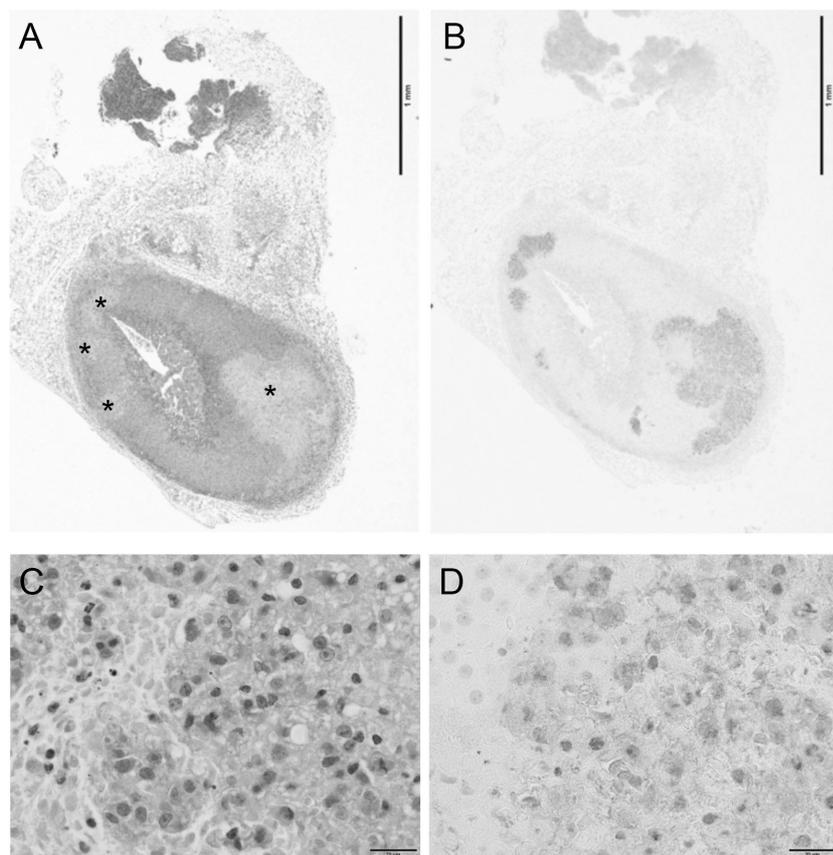


図1. サル痘ウイルス皮下接種後の好中球枯渇マウスの副腎 .A, 副腎皮質に巣状の壊死部が認められる (\*). 又, 副腎周囲の脂肪組織に炎症性細胞浸潤が認められた. B, 壊死部に一致してウイルス抗原が検出された. C, D 壊死部の拡大. 壊死部に残存する細胞の核と細胞質は好酸性を呈し, いずれもウイルス抗原陽性であった. A, C, ヘマトキシリン・エオジン染色. B, D, 免疫組織化学法によるウイルス抗原の検出.