
シアル酸結合レクチン可溶性分子による ニューカッスル病ウイルス感染抵抗性付与の検証

鳥取大学 農学部附属鳥由来人獣共通感染症疫学研究センター・特命助教 富岡 幸子

■ 目的

ニューカッスル病 (ND) はパラミクソウイルス科のニューカッスル病ウイルス (NDV) に起因し、高い死亡率と強い伝染力から最も恐れられている鳥類感染症の一つである。NDV のエンベロープには赤血球凝集とシアリダーゼ活性を持つ HN (hemagglutinin-neuraminidase) と細胞融合活性を持つ F (Fusion) の 2 種類の糖タンパク質スパイクが存在する。NDV が宿主細胞に感染するには、まず HN が細胞表面の糖鎖レセプターであるシアル酸に結合する必要がある。したがって、シアル酸と HN との結合を妨げる分子はウイルス感染を防御すると考えられる。本研究では、HN のシアル酸への結合を競合的に阻害すると考えられるシアル酸結合レクチン Siglec-9 可溶性分子 (Sig9Ig) を動物生体で発現させ、NDV に対する感染抵抗性が付与されるか検証し、ND 抵抗鶏開発への足掛かりを築くことを目的とする。

■ 方法

助成者が作出した Sig9Ig 発現トランスジェニックマウス (Sig9Ig Tg マウス) は、CAG プロモーター制御下で Sig9Ig を発現する。6～7 週齢の Sig9Ig Tg マウスおよび同腹の non-Tg マウスの両眼結膜および鼻腔に、深麻酔下で、合わせて 1 匹当たり 4.7×10^7 EID₅₀ の NDV を接種した。ウイルス接種後、7 日目まで毎日一般状態を観察した。また、3、5、7 日後に安楽死させた後、眼球、眼球付属器 (ハーダー腺・眼瞼)、気管、肺、鼻甲介、唾液腺、脾臓を採取し、常法により組織標本を作製した。これらの組織について、HE 染色ならびに Sig9Ig および NDV 抗原に対する免疫染色を実施して病態を評価し、Sig9Ig が感染抵抗性を付与するか検証した。

■ 結果および考察

哺乳動物は NDV 感染により結膜炎と軽度のインフルエンザ様症状を起こすことが知られているが、NDV 接種後 7 日目までの観察期間中に眼の掻痒・涙目や呼吸器症状などの臨床症状は Tg、non-Tg いずれにおいても認められなかった。また、解剖時に肉眼病変は認められなかった。組織学的に眼瞼および鼻腔の粘膜固有層、肺の細気管支周囲に時折ごく軽微なリンパ球浸潤が認められた。抗 Ig 抗体を用いた免疫染色では、Sig9Ig Tg マウスの肺胞上皮、気管支上皮、鼻腔粘膜細胞、鼻腺上皮、眼瞼の上皮および眼瞼の皮脂腺細胞など多種の細胞で Sig9Ig の発現が確認された。ウイルス抗原は脾臓や肺に浸潤したリンパ球およびマクロファージで少数散見された。しかしながら、Tg と non-Tg で、病変やウイルス抗原の量・局在に明らかな差異は見いだせなかった。Sig9Ig は Tg マウスの呼吸器系の各種上皮細胞や眼球付属器の細胞など NDV の標的となりうる細胞で発現しており、NDV 感染抵抗性を付与する可能性があると考えられた。しかしながら、NDV 感染はごく軽微であり、Sig9Ig が実際に NDV 感染抵抗性を付与するという証明には至らなかった。

■ 結語

Sig9Ig Tg マウスにおいて、導入遺伝子は NDV の標的となりうる細胞で発現しており、NDV 感染抵抗性を付与する可能性がある。しかしながら、今回の実験条件では、NDV 感染がごく軽微で、Sig9Ig が実際に NDV 感染抵抗性を付与するという証明には至らなかった。今後、より高い力価のウイルス接種、感染後早期の材料での検討、*in vitro* での検証などを継続し、ND 抵抗鶏開発に繋げたい。