
家畜の流行性脳炎ウイルスの宿主および感染組織指向性の解明

九州大学大学院医学研究院・准教授 田村 友和

■ 目 的

フラビウイルス感染症は、節足動物が媒介するジカ・デング・ダニ媒介性脳炎・日本脳炎ウイルスなどを原因とする人獣共通感染症である。地球温暖化と人の移動範囲の拡大に伴い、デング熱が毎年世界で流行し、日本でもジカウイルス感染症とデング熱の報告が年々増加している。また、北海道で高い致死性のダニ媒介性脳炎が断続的に発生している。しかし、効果的な抗ウイルス薬は未開発である。さらに、家畜においてフラビウイルス感染症は家畜伝染病予防法で指定されている流行性脳炎の病原体である。日本脳炎のワクチンプログラムが施行されているものの、毎年発生を認めている。したがって、日本の公衆・家畜衛生上、フラビウイルス感染症の制御が求められている。

フラビウイルス感染症の制御が難しい要因の1つに、フラビウイルスは感染する組織と病態がウイルスごとに異なり、その分子機構が不明であることが挙げられる。デングウイルスは免疫細胞に、ジカウイルスは生殖器官の細胞に、日本脳炎ウイルスは神経細胞に感染するが、その指向性を規定する因子は不明である。さらに、脳炎を引き起こす日本脳炎ウイルスとダニ媒介性脳炎ウイルスでは、脳への到達経路と指向性が異なる。そこで本研究では、感染宿主と指向性の分子機構を明らかにすることを目指し、企図された。

■ 方 法

本研究では、ウイルスの生体での感染動態を評価する実験系の開発を試みた。すなわち、種々のフラビウイルスにレポータータンパク質遺伝子を挿入し、自立増殖する組換えウイルスを得る。作製した組換えウイルスをモデル動物に感染させ、レポーターを指標に経時的に動物を観察して解析する。しかし、全長のレポーター遺伝子をフラビウイルスに搭載することは困難であるため、申請者が開発したスプリットのレポーターを日本脳炎ウイルスに搭載する技術を活用した。スプリットの蛍光タンパク質遺伝子をコードしたレポーター搭載ウイルスを作製し、培養細胞での増殖性と遺伝子の安定性を評価した。その後、モデル動物であるマウスに感染させて、野生株と同等の病原性を示すのかを検証した。また、片割れのスプリット蛍光タンパク質遺伝子をコードしたアデノ随伴ウイルス(AAV)を作製し、同様にマウスへ感染させた。作出したAAVと組換え日本脳炎ウイルスを感染後、蛍光タンパク質が発現するか否かを解析した。

■ 結果および考察

緑色蛍光タンパク質 mNeonGreen のペプチド断片をウイルス遺伝子に搭載し、自立増殖可能な組換え日本脳炎ウイルスの作製に成功した。また、片割れの蛍光タンパク質遺伝子を搭載したAAVベクターを作製し、組換えウイルスとともにマウスへ感染させた。その結果、ウイルス感染後に脳での蛍光タンパク質の発現領域が拡大した。以上から、本研究で開発した実験系で緑色蛍光タンパク質を指標にモデル動物であるマウスでのウイルス感染動態を評価し、解析することが可能であることが示された。

■ 結 語

本研究により、フラビウイルスの感染動態を解析できる基盤が開発された。今後は、宿主および組織指向性が異なる様々なフラビウイルスを用いて比較解析することで、鍵となるウイルスおよび宿主因子を同定する研究を実施する予定である。