

琉球大学学術リポジトリ

麻疹の動物モデルの作成

メタデータ	言語: 出版者: 琉球医学会 公開日: 2019-12-02 キーワード (Ja): キーワード (En): Measles, CD150, mouse model 作成者: 大野, 真治 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016894

麻疹の動物モデルの作成

大野 真治

琉球大学大学院医学研究科ウイルス学講座

(2017年8月29日受付, 2017年8月31日受理)

Development of mouse model for measles

Shinji Ohno

Department of Virology, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus

ABSTRACT

Measles virus (MV) causes feverous disease exclusively in human. Despite the availability of effective vaccine, measles is still a leading cause of mortality and morbidity among children mainly in developing countries. The virus does not infect laboratory mouse, because MV do not use mouse CD150 as a cellular receptor. In our previous data, the V domain of human CD150 is necessary and sufficient for MV infection. We developed a recombinant mouse expressing chimeric CD150 in which the V domain was replaced with that of human. MV infects the mouse on the condition that type I interferon system was abolished. In the MV-infected mouse, MV was detected in lymphoid organ and the number of the T cell in spleen was reduced. Furthermore, MV causes immune suppression in the model mouse, as observed in measles patients. We believe that our measles model is useful to analyze the pathogenicity of MV *in vivo*. *Ryukyu Med. J.*, 37 (1~4) 1~4, 2018

Key words: Measles, CD150, mouse model

1. 麻疹とその現状

麻疹はウイルスによって引き起こされる、発疹を伴う発熱性の疾患である。空気感染により伝播する代表的な感染症であり、伝染力が非常に強いことが知られている。呼吸器を介して体内に侵入すると、10-14日程度の潜伏期を経て発熱・咳・鼻水・結膜炎などの症状から始まり、口腔内のコプリック (Koplik) 斑や全身性の発疹が出現する。通常は予後良好の疾患であるが、一過性の免疫抑制を引き起こすことから細菌性中耳炎や肺炎などの二次感染症を合併しやすく、衛生状態の悪い環境下では死亡例が多くなる。中枢神経系

の合併症は重篤なものが多く、中でも亜急性硬化性全脳炎は発症すると回復が見込めないことから悪名高い合併症として知られている。ウイルスに特異的な治療薬はなく、対症療法が中心となる。栄養状態の悪い地域では、重症化の予防の為にビタミンA補充療法が推奨されている¹⁾。WHOなどの国際機関の連携による世界的なワクチン接種プログラムにより麻疹による死亡は劇的に減少したものの、2015年には13.4万人が死亡しており、いまだに重要な感染症の一つである。わが国は2015年3月に土着麻疹が排除されることが確認されたが、輸入麻疹による流行が度々おこっており、ワクチン接種を継続する必要性が改めて認識されている。

2. 麻疹ウイルス

麻疹ウイルスはパラミクソウイルス科モルビリウイルス属に分類されるウイルスで、近縁ウイルスにはイヌジステンパーウイルス、牛痘ウイルスなどがあり、感染動物の致死率が高いことが知られている¹⁾。牛痘に対して国連食糧農業機関などによるワクチン接種プロジェクトが推進され、2011年6月に撲滅宣言が発表された²⁾。モルビリウイルス属のウイルスは、一般的に感染する宿主域が狭く、麻疹ウイルスはヒトやサルなどにしか感染しない。このため、個体レベルでの病態解析は困難であった。麻疹ウイルスが細胞に感染する際には、リンパ球などの免疫細胞に発現しているCD150 (SLAM)³⁾ や呼吸上皮細胞などに発現しているNectin-4を利用することが知られている^{4,5)}。ワクチン株ウイルスは前述の2つに加えてCD46を利用できることが知られており⁶⁾、ワクチン株ウイルスはCD46を発現させたマウスの細胞で増殖可能であることが分かっていた⁷⁾。病原性麻疹ウイルスを用いた私たちの研究から、マウスのCD150 (SLAM) 分子は麻疹ウイルスの感染を仲介できないこと⁸⁾、その理由がウイルスタンパク質との相互作用に必要なアミノ酸残基がヒトのものとは異なるためであるということが明らかとなった⁹⁾。

3. 麻疹モデルマウスの作成

CD150分子はT細胞、B細胞、マクロファージ、樹状細胞などの免疫細胞に発現しており、T細胞活性化における補助刺激分子として機能する。また、CD150は免疫グロブリンスーパーファミリーに属する分子であり、細胞外領域は外側からV、C2と呼ばれるドメインにより構成され、麻疹ウイルスの感染にはヒトCD150のVドメインが必要である。ヒトおよびマウスのCD150分子はいずれも7つのエクソンによりコードされており、このうち2番目のエクソンにVドメインがコードされていることから、マウスのVドメインをヒトのものに置き換えるようにノックインベクターをデザインした。詳細は割愛するが、最終的にはヒトCD150のVドメインを持つが、それ以外はマウスCD150であるようなキメラ分子を発現するマウスが得られた。遺伝子改変マウスには外観上明らかな異常は認めなかった。また、キメラCD150分子を発現する細胞の種類・機能にも異常を認めなかった¹⁰⁾。

4. 麻疹モデルマウスの解析

遺伝子改変マウスが得られたことから、感染性ウ

イルスを用いて感染実験を行った。ウイルスが感染し、増殖するとEGFPを発現する組み換えウイルスを、脾臓細胞に試験管内で感染させた。通常、マウスの脾臓細胞は麻疹ウイルスに対して非感受性であるが、遺伝子改変マウスの細胞は麻疹ウイルスに感受性を示し、EGFPの発現を認め、感染性ウイルスの産生も確認することができた¹⁰⁾。次に、ウイルスを腹腔内投与することで個体感染について評価したが、EGFPの発現を認めなかった。インターフェロンの影響でマウス体内ではウイルスの増殖が抑えられている可能性を考え、1型インターフェロン受容体 (IFNAR) 欠損マウスと交配させ同様の感染実験をおこなった。IFNAR欠損により、組み換え麻疹ウイルス感染マウスではリンパ系臓器でのウイルスの増殖を確認することができた。リンパ節では麻疹ウイルス感染時に特徴的に見られる多核巨細胞を確認することができた。また、Tリンパ球、Bリンパ球のいずれにも感染可能であることが分かった¹⁰⁾。

麻疹には一過性の免疫抑制が伴うことが知られていることから、モデルマウスでも認められるかについて検討した。ウイルスに感染後、5日目に脾臓のTリンパ球が有意に減少することが分かった。リンパ節ではアポトーシスを起こした細胞が増加していたことから、Tリンパ球細胞減少の原因のひとつであると考えられた¹¹⁾。また、接触性皮膚炎モデルや抗体産生を用いて検討してみたところ、麻疹ウイルス感染により免疫応答が低下していることが分かった。接触性皮膚炎モデルでは、感染による免疫抑制状態がIL10に対する中和抗体の投与により部分的に解除された。このことから、麻疹に伴う免疫抑制にはIL10が関与していることが示唆された¹¹⁾。上記のことから、遺伝子改変マウスでも麻疹の病態を再現できるということが明らかとなり、麻疹の病態解明に有用なモデルとなりうることがわかった。

5. 謝辞

私が上記のことを明らかにすることができたのは九州大学大学院医学研究院ウイルス学教室の柳雄介教授のご指導と、古賀律子博士の多大なる協力のお陰です。この場をお借りして、深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Griffin DE. 2013. Measles virus, p 1042-1069. In Knipe DM, Howley PM (ed), Fields Virology, 6th ed., Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams

- & Wilkins Co, Philadelphia, PA.
- 2) **Njeumi F, Taylor W, Diallo A, Miyagishima K, Pastoret PP, Vallat B, Traore M.** 2012. The long journey: a brief review of the eradication of rinderpest. *Rev Sci Tech* **31**: 729-746.
 - 3) **Tatsuo H, Ono N, Tanaka K, Yanagi Y.** 2000. SLAM (CDw150) is a cellular receptor for measles virus. *Nature* **406**: 893-897.
 - 4) **Noyce RS, Bondre DG, Ha MN, Lin LT, Sisson G, Tsao MS, Richardson CD.** 2011. Tumor cell marker PVRL4 (nectin 4) is an epithelial cell receptor for measles virus. *PLoS Pathog* **7**: e1002240.
 - 5) **Muhlebach MD, Mateo M, Sinn PL, Prufer S, Uhlig KM, Leonard VH, Navaratnarajah CK, Frenzke M, Wong XX, Sawatsky B, Ramachandran S, McCray PB, Jr., Cichutek K, von Messling V, Lopez M, Cattaneo R.** 2011. Adherens junction protein nectin-4 is the epithelial receptor for measles virus. *Nature* **480**: 530-533.
 - 6) **Yanagi Y, Takeda M, Ohno S.** 2006. Measles virus: cellular receptors, tropism and pathogenesis. *J Gen Virol* **87**: 2767-2779.
 - 7) **Naniche D, Varior-Krishnan G, Cervoni F, Wild TF, Rossi B, Rabourdin-Combe C, Gerlier D.** 1993. Human membrane cofactor protein (CD46) acts as a cellular receptor for measles virus. *J Virol* **67**: 6025-6032.
 - 8) **Ono N, Tatsuo H, Tanaka K, Minagawa H, Yanagi Y.** 2001. V domain of human SLAM (CDw150) is essential for its function as a measles virus receptor. *J Virol* **75**: 1594-1600.
 - 9) **Ohno S, Seki F, Ono N, Yanagi Y.** 2003. Histidine at position 61 and its adjacent amino acid residues are critical for the ability of SLAM (CD150) to act as a cellular receptor for measles virus. *J Gen Virol* **84**: 2381-2388.
 - 10) **Ohno S, Ono N, Seki F, Takeda M, Kura S, Tsuzuki T, Yanagi Y.** 2007. Measles virus infection of SLAM (CD150) knockin mice reproduces tropism and immunosuppression in human infection. *J Virol* **81**: 1650-1659.
 - 11) **Koga R, Ohno S, Ikegame S, Yanagi Y.** 2010. Measles virus-induced immunosuppression in SLAM knock-in mice. *J Virol* **84**: 5360-5367.

