

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H05174

研究課題名(和文) マウスモデルを用いたウイルス感染病態の分子イメージングダイナミクス解析

研究課題名(英文) Molecular imaging of pathogenesis in a mouse model of viral infections

研究代表者

早坂 大輔 (HAYASAKA, DAISUKE)

山口大学・共同獣医学部・教授

研究者番号：10346926

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、マウスモデルを用いて、ウイルス感染病態解析における分子イメージングの有用性について検証を行った。ヒトで脳炎や熱性疾患の原因となる種々のウイルスを感染させたマウスにおいて、¹⁸F-FDGを用いたポジトロン断層法(PET)、¹²³I-IMPを用いた単一光子放射断層撮影法(SPECT)等により撮像を行い、体内におけるトレーサー集積の検証を行った結果、脳炎ウイルス感染において、非感染との脳での¹²³I-IMP取り込み量の違いや、腸管への特異的な¹⁸F-FDG取り込み等がみられた。本研究成果により、ウイルス感染における分子イメージングの活用につながる有用な情報が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、公衆衛生上重要な感染症の原因ウイルスを対象に、マウスモデルを用いて生体のまま体内病態を観察する手法として、分子イメージングの利点に着目し、その有用性を検証した点に意義がある。分子イメージング技術は、ウイルス感染応答に対しても有効となることが見込まれるが、国内外含め分子イメージング装置が設置されている病原体取扱施設が限られていることから、研究報告も限定的である。本研究において、あらたに数種のウイルス感染で病態部位のイメージングが確認された意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：In this study, we validated the molecular imaging technique in a mouse model of virus infections. Mice infected with encephalitic or febrile viruses were imaged the ¹⁸F-FDG uptake by positron emission tomography or the ¹²³I-IMP uptake by single photon emission computed tomography. As the result, specific uptakes of the ¹²³I-IMP in the brains and the ¹⁸F-FDG in the gastrointestinal tract were observed in encephalitic virus-infected mice. These data will provide the useful data of molecular imaging for the studies of infectious virus diseases.

研究分野：ウイルス学

キーワード：ウイルス感染 分子イメージング マウスモデル PET SPECT ¹⁸F-FDG

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生体におけるウイルス感染病態の基礎研究では、主に動物モデルが用いられ、一般的には感染と非感染の比較解析が基本となる。しかしながら、実際の臨床現場でのウイルス感染症では、軽症で済む場合と重症化で致死性を示す場合など、その病態進行度はばらつくため、感染・非感染の比較から得られる知見だけでは必ずしも十分でない。

実際、我々は、脳炎ウイルスの感染マウスモデルにおいて、同一条件でウイルスを感染させた場合でも、軽症個体と重症個体がみられるという現象に着目した独自の解析を進め、ウイルス感染後の個体に免疫病理的機序による感染応答のばらつきがみられること、軽症・重症経過ではその応答の違いが病態の度合いに関与することを示唆してきた。

また、一般的なウイルス感染動物の解析では、個体を安楽死させ病理解析や遺伝子発現解析などを行うが、安楽死の時点ではその後の転機が不明であり、応募者の示す脳炎ウイルス感染モデルのような場合、その後の病態経過の区別は不可能となる。そこで、より詳細な病態機序の把握には感染～発症～予後に至るまでの病態経過を、非侵襲的に生体内でリアルタイムにモニタリングする方法が求められた。

2. 研究の目的

ポジトロン断層法 (Positron emission tomography: PET)、単一光子放射断層撮影法 (Single photon emission computed tomography: SPECT) による分子イメージングは、生体内の分子プロセスを非侵襲的に画像化する技術であり、中枢神経疾患や腫瘍等の疾病を対象とした基礎、応用研究、臨床現場での診断等に活用されている。分子イメージングは、生体の代謝機能をターゲットとするため、生体のまま体内の代謝機能を指標とした病変部位のイメージングが出来ることから、ウイルス感染時の感染応答に対しても有効な解析技術となることが見込まれる。

しかしながら、ウイルス感染における分子イメージングの報告は限られており、その有用性については十分に検討されていなかった。そこで本研究では、ウイルス感染マウスモデルを用いて、分子イメージングによる感染病態解析を検証し、臨床応用につながる基礎情報を得ることを目的とした。

その際、ヒトで脳炎や熱性疾患の原因となる種々ウイルスを対象とし、それぞれの感受性マウスモデルを用いて、感染、発症後において分子イメージングを行い、病態経過に着目した各ウイルス感染マウスモデルの分子イメージング像の基礎情報を得ることを目指した。また、ウイルス感染病態に特異的なトレーサーを得る目的で、特異的抗ウイルス抗体に放射性標識したトレーサー作製を試みた。

3. 研究の方法

(1) ダニ媒介性脳炎ウイルス (Tick-born encephalitis virus: TBEV) Sofjin 株と Oshima 株 (マウスへの病原性が異なる) を C57BL/6j マウスに接種し、発症前、発症後において ^{18}F -FDG を尾静脈から投与し、頭部および腹部の PET 撮像により ^{18}F -FDG 集積イメージングを行った。

また、それぞれの株を感染させたマウスにおいて、脳血流量の指標とされる ^{123}I -IMP を投与し、SPECT 撮像を行った。さらに、Oshima 株を C57BL/6j マウスに経鼻感染させた後、 ^{18}F -FDG を投与し肺の PET イメージングを試みた。

(2) チクングニヤウイルス (Chikungunya virus: CHIKV) の S-27 株と M-30 株について、はじめに AG129 (I 型および II 型 IFNR KO) と A129 (I 型 IFNR KO) マウスを用いて病原性比較解析を行った。次いで、S-27 株および M-30 株を A129 マウスに接種後、 ^{18}F -FDG による PET 撮像を行った。また、CHIKV 感染 A129 マウスにおいて肝臓、脾臓に壊死像が多数みられた M-30 株感染マウスの病理切片を用いて、チクングニヤウイルスに対するポリクローナル抗体による免疫染色を試みた。

(3) デングウイルス 2 (Dengue virus: DENV2) について、はじめに AG129 マウスに感染させ、病原性、致死性の比較を行った。次いで、 ^{18}F -FDG 投与による全身性の PET イメージングを行い、感染病態の把握を試みた。

(4) ジカウイルス (Zika virus: ZIKV) を妊娠マウス (C57BL/6j) に感染させ、 ^{18}F -FDG 投与後全身性の PET イメージングを行い、胎児における ^{18}F -FDG 集積および感染病態の把握を試みた。

(5) ^{18}F -FDG を用いた PET イメージングにおいて、 ^{18}F -FDG はグルコースアナログであるため、マウスに ^{18}F -FDG を投与する際に、食餌によるグルコース代謝の影響を考慮する必要がある。そこで、マウスへ ^{18}F -FDG 投与する前に、絶食させるのが一般的であるが、ウイルス感染マウスでは絶食による病態への影響も考えられる。そこで、絶食による血糖値、脳の PET 画像変化から PET に最適な絶食時間の検討を行った。

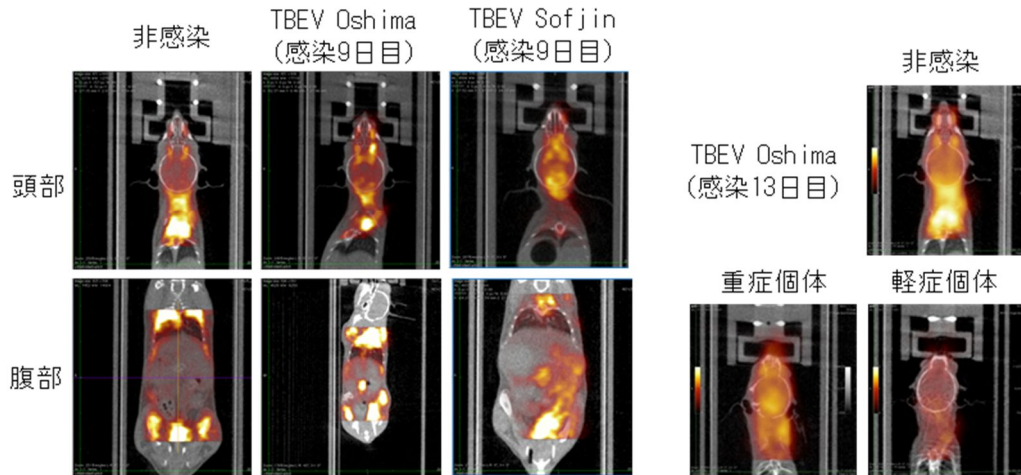
(6) 抗ウイルス抗体の分子イメージングトレーサーとしての有用性を検証するために、抗重症熱性血小板減少症候群ウイルス (Severe fever with thrombocytopenia virus: SFTSV) 抗体を用いて、DTPA-IgG の ^{111}In 標識、および DTPA 抗 SFTSV-IgG 合成を試みた。

4. 研究成果

(1) TBEV 感染マウスにおける ^{18}F -FDG PET イメージングの結果、感染後 9 日目において、脳の ^{18}F -FDG 集積は、Sofjin 株、Oshima 株感染マウスともに、非感染マウスと比較して顕著な差はみられなかった (図 1)。一方、Sofjin 株感染マウスで腸管に特異的な ^{18}F -FDG 集積がみられたが Oshima 株ではみられなかった (図 1)。Sofjin 株感染マウスでは腸管に特徴的な病変がみられることから、病変部位に ^{18}F -FDG が集積していることが確認された。

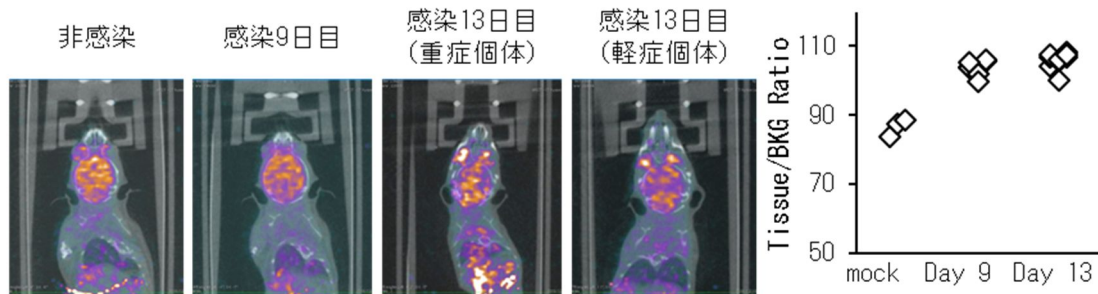
また、Oshima 株感染マウスにおいて、感染 13 日目の重症・軽症個体での ^{18}F -FDG PET イメージングの結果、頭部、腹部ともに非感染マウスとくらべて特徴的な ^{18}F -FDG 集積はみられず、重症・軽症個体間でも明らかな差はみられなかった (図 1)。

図1 TBEV感染マウスの ^{18}F -FDG PETイメージング像



TBEV 感染マウスにおける ^{123}I -IMP SPECT イメージングの結果では、Oshima 株感染では感染 9、13 日目において、非感染個体とくらべて ^{123}I -IMP の取り込み上昇がみられたが、13 日目の重症個体と軽症個体での差はみられなかった (図 2)。

図2 TBEV Oshima株感染マウスの ^{123}I -IMP SPECTイメージング像



一方、Sofjin 株感染では、非感染個体とくらべて取り込みの低下がみられた (図 3)。したがって、Sofjin 株感染では脳の血流量が低下していることが示唆された。

また、マウスに TBEV を経鼻感染させて、肺における ^{18}F -FDG PET イメージングを試みたが、 ^{18}F -FDG の顕著な取り込みは観察されなかった。

(2) CHIKV S-27 株と M-30 株を A129 および AG129 マウスに感染させて病原性解析を行った結果、M-30 株の方が S-27 株よりも高い病原性を示し、両株の致死性の違いに関して type I IFN 応答の関与が示唆された。また、両株の病態発現の違いが、餌の摂取量と体重変化に関係する代謝機能と関連する可能性が示唆された。

そこで、両株の感染マウスを用いて ^{18}F -FDG PET イメージングによる感染病態の把握を試みたが、特異的な ^{18}F -FDG の集積は確認されなかった (図 4)。したがって、CHIKV 感染マウスモデルにおいては、 ^{18}F -FDG PET イメージングによる病態観察の見込みは低いと思われる。

図3 TBEV Sofjin株感染マウスの ^{123}I -IMP SPECTイメージング像 (9日目)

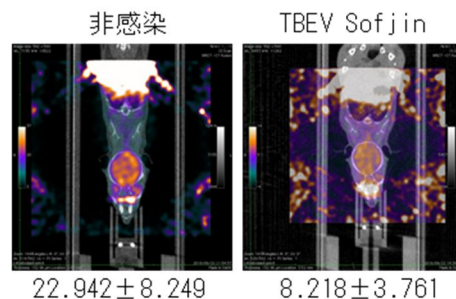
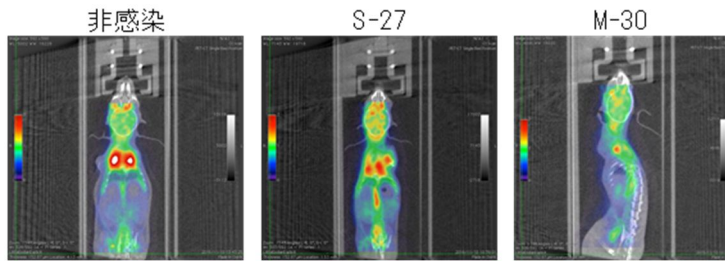
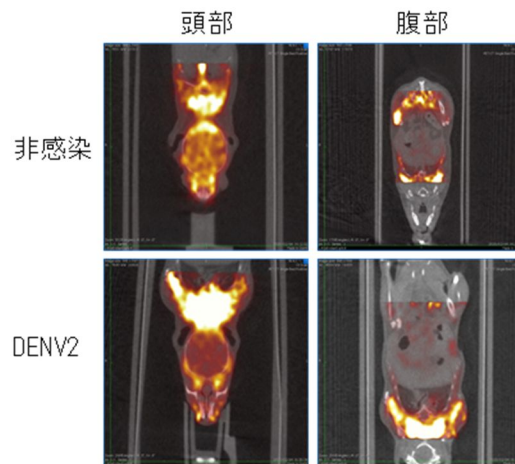


図4 CHIKV M-30株、S-27株感染マウスの¹⁸F-FDG PETイメージング像



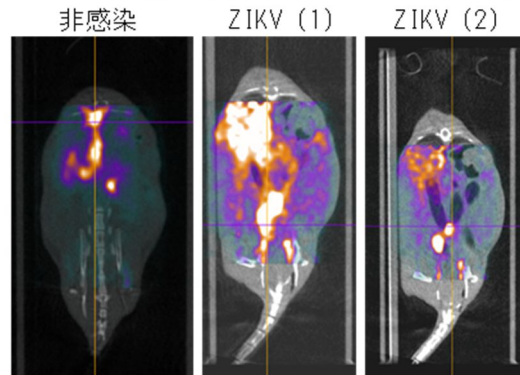
(3) DENV2 の複数株を AG129 マウスに感染させ、病態経過、致死性を観察したところ、感染 6-11 日目、感染 11-21 日目で死に至る株、致死性を示さない株が示された。そこで、いくつかの株について、感染マウスを用いて ¹⁸F-FDG PET イメージングによる感染病態の把握を試みたが、最終的に死に至る個体においても、非感染個体に比べて特異的な ¹⁸F-FDG の集積は確認されなかった (図 5)。

図5 DENV感染マウスの¹⁸F-FDG PETイメージング像



(4) ZIKV を妊娠マウス(C57BL/6j)に感染させ、¹⁸F-FDG PET イメージングを試みた結果、一部胎児において FDG 集積がみられたが、感染および非感染のそれぞれの個体間においてばらつきがみられたため、PET イメージングの有用性については今後のさらなる検討が必要となった (図 6)。

図6 ZIKV感染マウスの¹⁸F-FDG PETイメージング像



(5) 絶食による血糖値、脳の PET 画像変化を解析したところ、絶食時間を 4 時間とすることが適切であることを示唆する結果を得た。しかしながら、ウイルス感染マウスは食欲が減退するため、特に重症化が進んだ個体では絶食状態が数日続く可能性がある。そこで、補液による栄養供給を行うなど、絶食の影響を最小限に抑える工夫が必要と考えられた。

(6) 抗 SFTSV 抗体を用いて、DTPA-IgG の ¹¹¹In 標識、DTPA 抗 SFTSV-IgG 合成を試みたところ、動物実験に用いることのできる高純度な ¹¹¹In-DTPA-IgG の合成に成功した。また、DTPA が 2 分子結合したと考えられる DTPA 抗 SFTSV-IgG が得られた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Ngwe Tun Mya Myat, Muthugala Rohitha, Kyaw Kyaw Aung, Shimada Satoshi, Morita Kouichi, Hayasaka Daisuke	4. 巻 12
2. 論文標題 Pathogenetic Potential Relating to Metabolic Activity in a Mouse Model of Infection with the Chikungunya Virus East/Central/South African Genotype	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 169 ~ 169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/v12020169	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Fujikawa Keita, Koga Tomohiro, Honda Takahide, Uchida Toshihisa, Okamoto Momoko, Endo Yushiro, Mihara Tomo, Kondo Akira, Shimada Satoshi, Hayasaka Daisuke, Morita Kouichi, Mizokami Akinari, Kawakami Atsushi	4. 巻 98
2. 論文標題 Serial analysis of cytokine and chemokine profiles and viral load in severe fever with thrombocytopenia syndrome	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Medicine	6. 最初と最後の頁 e17571 ~ e17571
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.00000000000017571	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Fuchigami Takeshi	4. 巻 139
2. 論文標題 Development of Molecular Probes for Live Imaging of Cancer and Infectious Diseases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 YAKUGAKU ZASSHI	6. 最初と最後の頁 1531 ~ 1538
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/yakushi.19-00158	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Fuchigami Takeshi, Kawasaki Masao, Koyama Ryusuke, Nakaie Mari, Nakagaki Takehiro, Sano Kazunori, Atarashi Ryuichiro, Yoshida Sakura, Haratake Mamoru, Ono Masahiro, Nishida Noriyuki, Nakayama Morio	4. 巻 -
2. 論文標題 Development of Radioiodinated Benzofuran Derivatives for in Vivo Imaging of Prion Deposits in the Brain	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsinfecdis.8b00184	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fuchigami Takeshi, Fujimoto Noriko, Haradahira Terushi, Nojiri Yumiko, Okauchi Takashi, Maeda Jun, Suhara Tetsuya, Yamamoto Fumihiko, Nakayama Morio, Maeda Minoru, Mukai Takahiro	4. 巻 61
2. 論文標題 Synthesis and characterization of 11C-labeled benzyl amidine derivatives as PET radioligands for GluN2B subunit of the NMDA receptors	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals	6. 最初と最後の頁 1095 ~ 1105
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jlcr.3691	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ito Mayuko, Nishizawa Haruki, Tsutsumi Makiko, Kato Asuka, Sakabe Yoshiko, Noda Yoshiteru, Ohwaki Akiko, Miyazaki Jun, Kato Takema, Shiogama Kazuya, Sekiya Takao, Kurahashi Hiroki, Fujii Takuma	4. 巻 19
2. 論文標題 Potential role for nectin-4 in the pathogenesis of pre-eclampsia: a molecular genetic study	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BMC Medical Genetics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12881-018-0681-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kayesh Mohammad Enamul Hoque, Kitab Bouchra, Sanada Takahiro, Hayasaka Daisuke, Morita Kouichi, Kohara Michinori, Tsukiyama-Kohara Kyoko	4. 巻 51
2. 論文標題 Susceptibility and initial immune response of Tupaia belangeri cells to dengue virus infection	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Infection, Genetics and Evolution	6. 最初と最後の頁 203 ~ 210
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.meegid.2017.04.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takamatsu Yuki, Uchida Leo, Raekiansyah Muhareva, Luz Mark, Morita Kouichi, Hayasaka Daisuke	4. 巻 10
2. 論文標題 A Simple Mechanism Based on Amino Acid Substitutions is not a Critical Determinant of High Mortality of Japanese Encephalitis Virus Infection in Mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 62 ~ 62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/v10020062	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kyaw Kyaw Aung, Tun Mya Myat Ngwe, Buerano Corazon C., Nabeshima Takeshi, Sakaguchi Miako, Ando Tsuyoshi, Inoue Shingo, Mya Yi Yi, Hayasaka Daisuke, Thu Hlaing Myat, Thant Kyaw Zin, Morita Kouichi	4. 巻 247
2. 論文標題 Isolation and genomic characterization of Culex flaviviruses from mosquitoes in Myanmar	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Virus Research	6. 最初と最後の頁 120 ~ 124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.virusres.2018.01.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Luo Lan, Tang Junnan, Nishi Kodai, Yan Chen, Dinh Phuong-Uyen, Cores Jhon, Kudo Takashi, Zhang Jinying, Li Tao-Sheng, Cheng Ke	4. 巻 120
2. 論文標題 Fabrication of Synthetic Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Acute Myocardial Infarction in Mice Novelty and Significance	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Circulation Research	6. 最初と最後の頁 1768 ~ 1775
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCRESAHA.116.310374	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 棚原 悠介、淵上 剛志、安藤 豪、Mya Myat Ngwe Tun、早坂 大輔、吉田 さくら、中山 守雄
2. 発表標題 SFTSウイルス感染症のSPECTによる病態解析を目的とした111In標識抗体の開発
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西 弘大、工藤 崇
2. 発表標題 22Naを用いた密封線源型PET用ファントムの試作と有用性の検討
3. 学会等名 日本放射線安全管理学会 第18回学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名	Aung Min Soe, Mya Myat Ngwe Tun, Theingi Win Myat, Htin Lin, Mo Mo Win, Takeshi Nabeshima, Shingo Inoue, Kyaw Zin Thant, Futoshi Hasebe, Kouichi Morita, Sujun Shresta, Hlaing Myat Thu, Moi Meng Ling
2. 発表標題	Molecular Characteristics of Dengue Virus in Myanmar, 2017
3. 学会等名	第67回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	早坂 大輔
2. 発表標題	高度封じ込め実験施設における感染症研究
3. 学会等名	第14回小動物インピボイメージング研究会（招待講演）
4. 発表年	2018年

1. 発表者名	淵上 剛志
2. 発表標題	癌および感染症の生体イメージングを目的とした分子プローブの開発
3. 学会等名	第35回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年	2018年

1. 発表者名	Takeshi Fuchigami
2. 発表標題	Development of molecular probes and PET probe production techniques for in vivo imaging of emerging and re-emerging infectious diseases
3. 学会等名	The 4th Japan-Taiwan Joint Symposium for Pharmaceutical sciences (国際学会)
4. 発表年	2018年

1. 発表者名 淵上 剛志, 小野 北斗, 親泊 広大, 岩竹 真弓, 早坂 大輔, Akbari Masoud, 由井 克之, 西 弘大, 工藤 崇, 吉田 さくら, 原武 衛, 中山 守雄
2. 発表標題 新規68Ge/68Gaジェネレータシステムの開発と新興・再興感染症イメージングへの応用
3. 学会等名 第14回小動物インピボイメージング研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西 弘大
2. 発表標題 核医学を中心とした前臨床イメージング研究
3. 学会等名 第74回日本放射線技術学会学術大会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mya Myat Ngwe Tun, 安藤豪, 森田公一, 早坂大輔
2. 発表標題 デングウイルスのマウス感染モデルの検討
3. 学会等名 第53回日本脳炎ウイルス生態学研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mya Myat Ngwe Tun, 嶋田 聡, Rohitha Muthugala, Aung Kyaw Kyaw, 森田 公一, 早坂 大輔
2. 発表標題 マウスモデルを用いたチクングニヤウイルスの病原性解析
3. 学会等名 第54回日本ウイルス学会九州支部総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西 弘大、松田尚樹、工藤崇
2. 発表標題 小動物分子イメージングの新領域への展開と応用
3. 学会等名 日本放射線安全管理学会 第16回学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 早坂 大輔、Mya Myat Ngwe Tun、嶋田 聡、森田 公一
2. 発表標題 ウイルス感染の分子イメージング
3. 学会等名 第23回トガ・フラビ・ベスチウイルス研究会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	ヌグエ・トン ミヤ・ミヤツ (Mya Myat Ngwe Tun) (90772583)	長崎大学・熱帯医学研究所・助教 (17301)	
研究 分担者	西 弘大 (Nishi Koudai) (10719496)	長崎大学・原爆後障害医療研究所・助教 (17301)	
研究 分担者	淵上 剛志 (Fuchigami Takeshi) (30432206)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(薬学系)・准教授 (17301)	

