

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20657

研究課題名(和文) ウイルスによる宿主行動変容の分子機構と感染維持への意義の解明

研究課題名(英文) Altering Host Behavior with Persistent Infectious RNA Viruses

研究代表者

酒井 まどか (Sakai, Madoka)

京都大学・医生物学研究所・研究員

研究者番号：80910025

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：脳に持続感染するボルナ病ウイルス(BoDV-1)の個体間伝播機構は明らかにされておらず、同ウイルスの生存戦略としての宿主の行動変化を調査した。そのために、新生ラットにBoDV-1を接種させ行動を評価した。同腹仔で集まる習性であるハドリング行動において、非感染群と比較して感染群では時間を要した。対個体への行動変化として攻撃性を評価したが、その異常性は確認できなかった。以上から、嗅覚刺激がハドリング行動に関与することから、BoDV-1感染が宿主の嗅覚器官に影響するのではないかと考えられた。今後、BoDV-1の生存戦略として、嗅覚変化に伴う宿主の行動操作を解明する研究につながる成果となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

BoDV-1は持続感染を特徴とし、同宿主内で複製し生存できる。その一方で、産生する子孫ウイルス粒子が極めて少ないにもかかわらず、自然界においてトガリネズミの25~100%に感染し効率的な個体間伝播を果たし、生存の場を拡大している。しかしながら、どのように個体間の感染伝播を果たしているかわかっていない。そこで、これまでにラットやマウスにおいてBoDV-1の実験的感染により観察された行動変化に注目し、ウイルスの生存戦略を解明することを目指した。本研究においてははじめて、感染による嗅覚への影響が示唆され、BoDV-1の個体間伝播機構を明らかにする端緒となる成果になった。

研究成果の概要(英文)：As a survival strategy for Borna disease virus (BoDV-1), we researched the changes in infected host behavior. The virus infects the brain of its host, and there is limited information available on how it spreads. To this end, newborn rats were intracerebrally inoculated with BoDV-1, and their behavior was evaluated. Our findings revealed that infected rats took significantly longer to gather for huddling behavior compared to their non-infected counterparts. Additionally, aggression was evaluated as a behavioral change toward conspecifics, but the abnormality was not observed. These results suggest that BoDV-1 infection may affect the host's olfactory function since its stimulation is involved in huddling behavior. Our study provides valuable insights into how BoDV-1 manipulates host behavior and will serve as an essential guide for future research in this area.

研究分野：ウイルス学

キーワード：行動操作 ウイルス 感染伝播 生存戦略

1. 研究開始当初の背景

寄生体が宿主の行動を操作することがある。ハリガネムシは宿主の入水を誘導する。また、トキソプラズマ原虫は宿主を捕食者へと誘引する。これらの行動操作は、寄生体の個体間伝播に有利な環境に宿主を誘導しており、生存戦略のひとつといえる。

ボルナ病ウイルス (BoDV-1) はウマやヒツジの中枢神経に持続感染して非化膿性脳脊髄炎を引き起こす病原体として発見された。このウイルスの特徴は、持続感染し、子孫ウイルス粒子の産出が極めて低いことである。この特徴は、個体内での感染維持には効果的だと考えられるが、個体間の伝播には不利である。しかしながら、自然界において共生する宿主 (自然宿主) であるトガリネズミの 25~100%に感染し、効率的な個体間伝播を果たしているが、伝播経路は明らかにされていない。

これまでに、BoDV-1 を実験的に感染させたラットにおける感染分布は、行動や感情を制御する大脳辺縁系の海馬や扁桃体や、嗅覚に関与する嗅球であった。さらに、感染個体での行動変化が報告された。そこで、子孫ウイルス粒子の産出能が低い BoDV-1 が個体間伝播を効率化する生存戦略として、感染宿主の行動変化を採用しているのではないかと仮説をたてた。

2. 研究の目的

仮説を検証するために、持続感染ラットモデルの幼生期からの行動変化を評価することで、感染伝播を有利にする行動を調査する (1)。また、個体間伝播の実験方法について確立を目指し、継続飼育による感染伝播の有無を評価する (2)。

3. 研究の方法

(1) 新生ラットに脳内接種することで、持続感染ラットモデルを作出する。その後、幼生期 (14、16、20 日齢) に、生後すぐから観察されるハドリング行動に要する時間を測定する。他個体への行動変化を評価するために、青年期において侵入者居住者テストを用いて攻撃異常性を観察した。

(2) 感染伝播を確かめるために、新生時期に脳内接種したラットと同ケージで未処理ラットを 11 週間飼育し、脳におけるウイルス力価とウイルス RNA を評価した。また、感染経路を検証するために、自然宿主で報告された唾液におけるウイルス力価とウイルス RNA を評価した。

4. 研究成果

(1) 持続感染ラットモデルを作出するために、生後 24 時間以内の新生ラットの右脳に 1.7×10^5 感染価の BoDV-1 を接種した。継続的に体重変化を測定したところ、オスで感染群のほうが有意に低かったが、メスでは有意な差はなかった (マン・ホイットニー検定 それぞれ $p = 0.002$, $p = 0.7$) (図 1A)。また、オスとメスの間に、感染による体重変化の差は検出されなかった (二元配置分散分析 $p = 0.22$)。

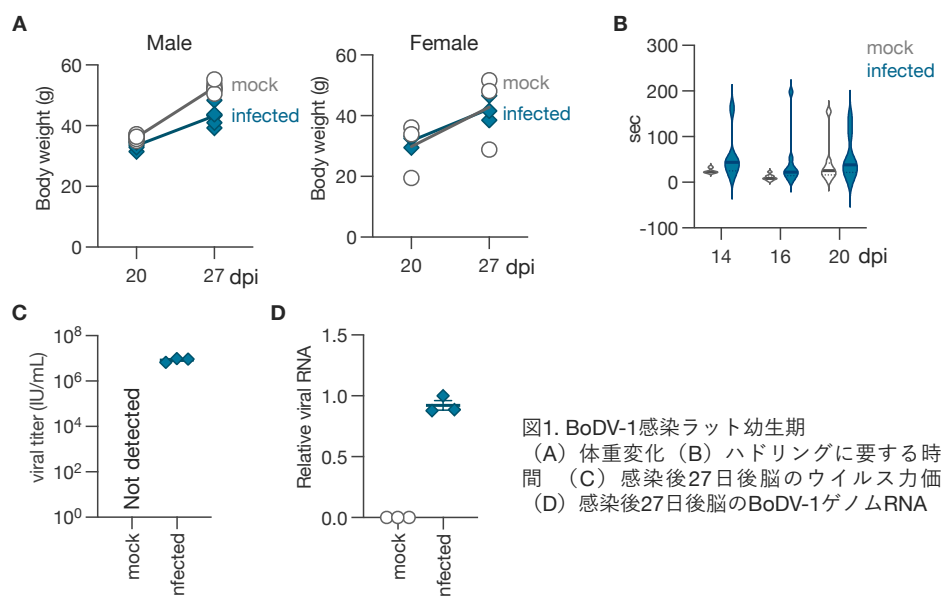


図1. BoDV-1感染ラット幼生期
(A) 体重変化 (B) ハドリングに要する時間 (C) 感染後27日後脳のウイルス力価 (D) 感染後27日後脳のBoDV-1ゲノムRNA

ハドリング行動は、生後すぐに始まり成体期まで維持され、集団行動の現れとされる。そこで、幼生期（14、16、20日齢）において、同腹仔で形成される集団から1個体を引き離し、その集団に戻るまでの時間を測定した。非感染個体と比較して、感染個体は集団に戻るまでに時間を要する傾向にあった（図1B）。また、集団に戻れない個体も観察された。15日齢以降の幼生期において、嗅覚刺激が優勢となりハドリング行動がおこなわれることから、感染による嗅覚機能に影響があるのではないかと考えられた。

27日齢時に非感染、感染群でそれぞれランダムに3匹を選出し、感染を確認した。脳を摘出し、ウイルス力価およびウイルスゲノムRNAを評価した。ウイルス力価は、ウイルス蛋白質のひとつであるリン酸化蛋白質（P）に対する免疫蛍光染色法にて検出し、すべて 10^6 感染価以上であった（図1C）。また、RT-qPCR法にてウイルスゲノムRNAを検出した（図1D）。

これまでに、BoDV-1の攻撃性上昇が報告されていたが、その異常性については検証されていなかった。そこで、Koolhaasらの報告をもとに先行実験をおこなった。（Koolhaas et al., JoVE, 2013）居住者-侵入者テストをもとに、侵入者としてメスもしくはイソフルランの吸入麻酔をさせたオスを被験体オスと同ケージにいれ、攻撃（クリンチ）があれば攻撃行動の異常性として評価する。しかしながら、非感染と感染個体どちらもクリンチは観察されなかったことから、感染による攻撃行動の異常性は、今回の実験では確認されなかった。

(2) 感染伝播を評価するために、感染個体と同ケージでレシピエント個体を生後すぐから83日間飼育し続けた。レシピエント群は、感染群と同腹仔で未処理個体である。BoDV-1の感染分布は主に脳であることから、83日目に脳を摘出した。上記と同様の方法でウイルス力価およびウイルスゲノムRNAを検出した。感染群ではどちらも検出されるが、レシピエント群では非感染群と同じく検出されなかった（図2A, B）。

自然宿主であるトガリネズミにおいて、継続的に唾液から感染性ウイルスが検出されたとの報告があるため、感染伝播経路の検討として脳摘出の前日82日目に唾液を回収していた。ピロカルピン（5 mg/kg）を皮下投与することで、唾液の分泌を誘導した。同様にウイルス力価およびウイルスゲノムRNAの検出を試みたが、非感染およびレシピエント群とともに感染群でも検出されなかった（図2C, D）。今回の実験において、個体間の感染伝播は確認できず、感染伝播実験の確立にはいたらなかった。また、体外分泌物である唾液に、感染性ウイルスおよびウイルスRNAは検出されなかった。これまでに、3ヶ月以上持続感染したラットからの個体間伝播が報告されている。個体内での感染期間が、体外へのウイルス排出に影響する可能性が考えられた。

本研究においてはじめて、感染による嗅覚への影響が示唆され、BoDV-1の個体間伝播機構を明らかにする端緒となる成果になった。

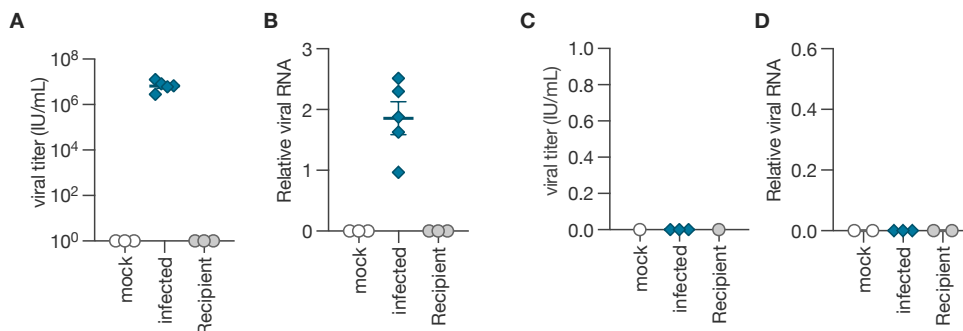


図2. BoDV-1の感染伝播実験

(A, B) 感染82日後の脳におけるウイルス力価 (A) とウイルスゲノムRNA (B)

(C, D) 感染82日後の唾液におけるウイルス力価 (C) とウイルスゲノムRNA (D)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------