

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：17301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2013～2014

課題番号：25893180

研究課題名（和文）SFTS病態モデルマウスの探索と病態発現メカニズムの解明

研究課題名（英文）A mouse model for SFTS and the mechanisms underlying its pathogenicity

研究代表者

坂部 沙織（SAKABE, Saori）

長崎大学・熱帯医学研究所・助教

研究者番号：10707384

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,000,000 円

研究成果の概要（和文）：近年初めて報告された新興感染症である、重症熱性血小板減少症候群（SFTS）のモデル動物の確立およびその病態発現メカニズムを解明するため、異なる9種類の近交系マウスにSFTSウイルスを感染させ、その病態を比較した。結果、C3H/HeJマウスにおいて、ヒトでの臨床症例で報告されている血小板や白血球の減少、ASTやALTの上昇が顕著に認められたことから、SFTSのモデル動物としての有用性が示唆された。さらに、抗ウイルス効果が期待されるリバビリンおよびT-705の個体レベルでの効果を、C3H/HeJを用いたマウスモデルを用いて検討した結果、T-705が高い抗ウイルス効果を示した。

研究成果の概要（英文）：SFTS virus causes systemic infection accompanied by thrombocytopenia and leukocytopenia in humans, with high mortality rate. The pathogenesis of SFTS virus in humans is poorly understood, and it is desired to establish the animal model and effective antiviral therapies for SFTS. We inoculated SFTS virus to various strains of mice, and evaluated the susceptibility of each mouse strain to SFTS virus infection. Among mouse strains we tested, C3H mice showed remarkable thrombocytopenia and leukocytopenia, especially when infected with SFTS virus intradermally. SFTS virus grew well in spleens of C3H mice, and virus antigen was detected in macrophages of splenic white pulp, showing a "starry sky" appearance. Furthermore, we examined the efficacies of favipiravir (T-705) and ribavirin against SFTS virus infection in this C3H mouse model. T-705 effectively inhibited the virus growth in mouse spleens, whereas, ribavirin showed little antiviral effect against SFTS virus infection in vivo.

研究分野：ウイルス学

キーワード：SFTSウイルス マウスモデル 病態 抗ウイルス療法

## 1. 研究開始当初の背景

近年、中国において、発熱を伴う血小板減少を主徴とした原因不明の感染症「重症熱性血小板減少症候群」の発生が初めて報告された。この感染症の原因として、リフトバレー熱と同じブニヤウイルス科フレボウイルス属に分類される、重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルスが同定された。SFTS ウイルスは、フタトゲチマダニやオウシマダニといったマダニを宿主とし、マダニによる咬傷からヒトを含め他の動物に感染すると考えられている。日本においても、2013 年 1 月に初めて SFTS ウイルスのヒトへの感染例が報告され、その後も感染および死亡事例が相次いで報告されている。SFTS ウイルスに感染したヒトは、6 日～2 週間の潜伏期の後、発熱や下痢、出血といった症状を呈し、重症の場合死に至る。その致死率は 10% 以上にも上る。検査所見としては、血小板減少や白血球減少、血清酵素の異常値などを示す。現在までのところ効果的な治療法は確立されていない。

SFTS ウイルスは、発見されて間もないウイルスであることから、組織指向性などのウイルス学的特徴やその病態についてはあまり明らかになっていない。これらを明らかにする上で、また効果的な治療法を検討する上で、病態を反映するモデル動物を用いた感染実験が最も有効な手段であり、早急に動物モデルの確立が求められている。

## 2. 研究の目的

本研究では、ヒトにおける重症熱性血小板減少症候群の病態を反映する最適なモデル動物の探索とともに、SFTS ウイルス感染による病態発現および特に血小板減少に関わる宿主因子の同定およびそのメカニズムの解明を目標とする。また、動物モデルを用いて、SFTS に対する抗ウイルス療法の検討を行うことを目的とする。

## 3. 研究の方法

(1) 異なる 9 種類の近交系およびクローズドコロニーのマウスに、SFTS ウイルスを感染させ、全身組織中のウイルス増殖、血小板および白血球数の変化を比較した。また、ウイルス感染ルートによる違いについても検討した。その中で、SFTS の主徴である血小板の減少が最も顕著に認められる系統のマウスおよび感染ルートを用いて、さらに詳細に SFTS ウイルス感染時の病態 (血清酵素値、血球貪食像の有無、サイトカイン産生等の宿主免疫応答) を解析し、ヒトでの病態と比較した。(2) さらに、ヒトの病態を最も反映するマウスモデルを用いて、抗ウイルス効果が期待される薬剤の個体レベルにおける効果を検討した。

## 4. 研究成果

(1) 実験に用いたマウスの中で、C3H/HeJ マウスに SFTS ウイルスを経皮感染させた時、

最も顕著な血小板の減少が認められた (図 1)。また、多くの系統のマウスで、感染後一過性の体重減少と、脾臓における高いウイルス増殖が確認された。

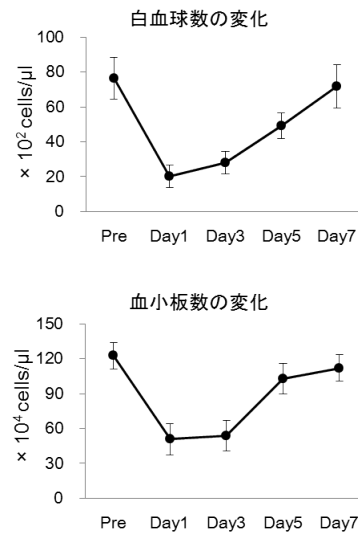


図1. SFTSウイルス感染時の血液検査結果 (C3H/HeJ)

次に、C3H/HeJ マウスを用いて、SFTS ウイルス感染時の血清酵素 (AST および ALT) の動態、ウイルスの増殖が確認された脾臓の病理解析および脾臓におけるウイルス感染細胞の検索、および免疫応答について、詳細に解析した。結果、SFTS ウイルス感染後、AST や ALT の一過性の上昇が認められ、脾臓およびリンパ節では、異常なリンパ球を貪食している像と考えられている「Starry sky 像」およびリンパ球の核の断片化が認められた。さらに、これらの組織のマクロファージからウイルス抗原が検出された。ウイルス抗原が検出されたマクロファージは、病理解析において貪食像を示しているマクロファージと一致していた。また、SFTS ウイルス感染マウスの血中および脾臓中のサイトカイン応答を解析した結果、マウス血中では、感染後一過性に様々な種類の炎症性サイトカインおよびケモカインの減少が認められたが、ウイルスの増殖が確認された脾臓では、炎症性サイトカインおよびケモカインの上昇が認められた。血中サイトカインの減少は、SFTS ウイルス感染による血中の白血球減少によるものであると考えられた。

(2) 次に、C3H/HeJ マウスを用いた SFTS ウイルス感染モデルおよび、SFTS ウイルスによって致死的な感染を引き起こされることが報告されている I 型インターフェロンレセプターノックアウトマウス (IfnarK0 マウス) を用いて、細胞レベルでウイルス増殖抑制効果が認められ、抗ウイルス効果が期待されるリバビリンおよび T-705 の個体レベルにおける抗ウイルス効果を検討した。T-705 は、C3H/HeJ

マウスモデルにおいて、高いウイルス増殖抑制効果が認められ(図2)。IfnarK0 マウスにおいては、体重減少抑制効果が認められた(図3)。しかし、C3H/HeJ マウスモデルにおいて、白血球および血小板減少に対する抑制効果は認められなかった(図4)。

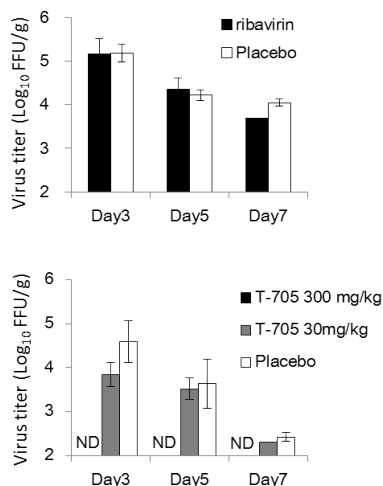


図2. リバビリンとT-705の抗ウイルス効果 (C3H/HeJ, ウイルス増殖)

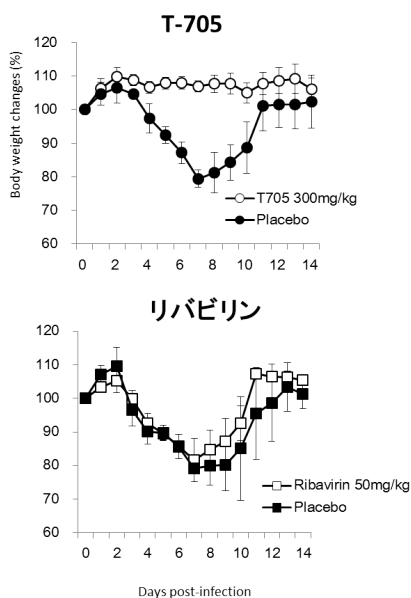


図3. リバビリンとT-705の抗ウイルス効果 (IfnarK0, 体重変化)

一方、リバビリンは、C3H/HeJ および IfnarK0 マウスどちらのマウスを用いた場合にも、抗ウイルス効果は認められなかった(図1および2)。

以上の結果から、C3H/HeJ マウスを用いた SFTS ウイルス感染モデルは、ヒトでの病態と比較的類似しており、また、SFTS に対する抗ウイルス療法を検討する上で、有用なモデルであると考えられた。

今後は、C3H/HeJ マウスを用いて、SFTS の主徴である血小板および白血球減少メカニズムを明らかにしていきたい。

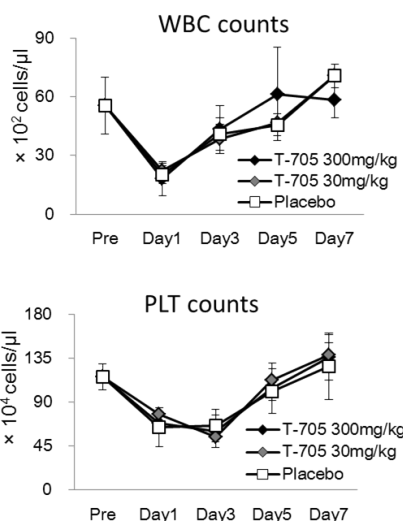


図4. T-705の抗ウイルス効果 (C3H/HeJ, 白血球および血小板数)

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

Saori Sakabe, Jiro Yasuda. A mouse model for severe fever with thrombocytopenia syndrome, The NSV meeting in Italy, 2015 年 6 月 14-19 日, シエナ(イタリア)

坂部沙織, 安田二郎 「重症熱性血小板減少症候群(SFTS)マウスモデルの探索」 第 51 回ウイルス学会九州支部総会、2014 年 9 月 5-6 日、城山観光ホテル(鹿児島県鹿児島市)

坂部沙織, 安田二郎 「重症熱性血小板減少症候群(SFTS)マウスモデルの探索」 第 157 回日本獣医学会、2014 年 9 月 9-12 日、北海道大学(北海道札幌市)

坂部沙織, 安田二郎 「重症熱性血小板減少症候群(SFTS)マウスモデルの探索」 第 62 回日本ウイルス学会、2014 年 11 月 10-12 日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6．研究組織

##### (1)研究代表者

坂部 沙織 (SAKABE, Saori)  
長崎大学・熱帯医学研究所・助教  
研究者番号：10707384