

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：12605  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2020～2022  
課題番号：20K06389  
研究課題名(和文)ネコモルビリウスの病原性に関する研究

研究課題名(英文)Studies of feline morbillivirus pathogenesis

研究代表者

古谷 哲也 (Furuya, Tetsuya)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：60647676

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本課題において、ネコの腎臓組織切片を用いて、抗FeMV抗体による免疫染色とアポトーシス細胞を検出するTUNELアッセイを用い、FeMV陽性検体が有意にアポトーシス細胞数が多く、FeMVの腎臓組織における病原性発現機構にはアポトーシスが関与していることが明らかになった。漢方薬ライブラリーから、猫のコロナウイルスに対して抗ウイルス作用を持つものが発見され、現在、FeMVに対する効果について、タイとの共同研究によって、FeMV感染猫を用いた研究を計画中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題は、猫の慢性的な腎臓病の可能性を増加させる猫モルビリウイルス(FeMV)感染症について、その病原性と予防や治療の可能性を研究するものである。今回、FeMV感染腎臓組織において、アポトーシス細胞が増加していることが明らかになり、FeMVの腎臓病への関与がより明らかになった。漢方薬ライブラリーから発見された抗ウイルス作用を持つ漢方植物抽出薬を始め、今後は、FeMVに対する治療と予防効果について、より研究を進めて行く予定である。

研究成果の概要(英文)：In this study, using feline kidney tissue sections, immunostaining with an anti-FeMV antibody and TUNEL assay to detect apoptotic cells were performed. Apoptosis was involved in the mechanism of FeMV's pathogenesis. Antiviral activity against feline coronavirus was discovered in the Chinese herbal medicine library, and currently, we are planning to conduct research using FeMV-infected cats in collaboration with Thailand regarding its effect on FeMV. Recombinant N proteins of FeMV and canine distemper virus were produced and used to detect sero-cross reactivity between the N proteins, and some cat plasma samples contained antibody that react both FeMV and CDV N proteins, suggesting need of attention to such cross reactivity upon antibody test for FeMV infection.

研究分野：感染症学

キーワード：猫モルビリウイルス 病原性 抗体検査 腎臓病 予防

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ネコは、特に高齢個体において非常に高率に腎炎を発症するが原因が明らかでない。ネコモルビリウイルス (FeMV) は 2012 年の発見時 (PNAS 109:5435)、ネコの尿細管間質性腎炎との関係が示唆され、ネコ腎臓病の原因因子として注目されたが、その後、病原性が明らかでなかった。申請者は、ネコの腎臓組織の免疫染色を用い、FeMV 感染とネコ腎臓組織の病理的变化の相関を世界で初めて統計的データを用いて示し (Vet Microbiol. 2019. 228:12) さらに、FeMV 感染腎臓組織において、有意により多数のアポトーシス細胞が存在することを発見した。しかし、このようなネコの疾患における重要性にも関わらず、感染様式と病原性発現メカニズムを含めた FeMV の生物学はほとんど解明されておらず、感染経路、初期感染細胞、臓器感受性、潜伏期間、各種臓器における病原性等について、ほとんどが不明であり、特に、感染レセプターと病原性発現機構については、感染予防や疾病治療のために非常に重要であり、今後の研究は必須である。FeMV はウイルス分離が一般的に困難であり、培養細胞においてウイルス増殖がしにくいという特徴があり、多くの研究者が研究室で培養して研究できるウイルス株が存在しないことが、このウイルスを研究するうえで、大きな障害となっている。

### 2. 研究の目的

本課題では上記の状況を鑑み、リバーシジェネティクスにより組換え FeMV の作製を行うことで、FeMV の感染と病原性発現の仕組みと、ネコにおける感染経路と各臓器の指向性と病原性発現について、世界で初めて解明することを目的とする。本研究の最も重要な「問い」は、FeMV が、どのような分子を介して宿主細胞に感染し、どのような作用によって宿主細胞の防衛反応を阻害し、どのように最終的に感染細胞でアポトーシスを誘導するのか、そして、ネコの慢性腎臓疾患の予防と改善のため、どのようにして、FeMV 感染の予防と治療を行うことができるかという事であり、感染培養細胞とネコへの実験感染、そして薬剤スクリーニングによって、それぞれの問いに取り組むことを目的とする。

### 3. 研究の方法

FeMV の感染様式と病原性発現機構を解明するため、リバーシジェネティクスによる組換えウイルスの作製を利用する。作製した GFP-FeMV により、宿主細胞感染レセプターの同定と宿主応答阻害因子の解明を行い、ウイルスの感染経路、各臓器への指向性と病原性を解明するために、SPF ネコの実験感染を用いる。また、ネコの腎臓病を改善する薬剤発見のため、組換えウイルスを用いたアッセイにより、海洋生物ライブラリーからの抗ウイルス薬スクリーニングを用いる。

### 4. 研究成果

FeMV のリバーシジェネティクス (RG) 法による組換えウイルスの遺伝子組み換え大臣申請を行い承認を受けた。RG 法の実施に必要な FeMV 遺伝子について、クローニングを実施した。L、P、N、遺伝子を発現するプラスミド pCAGGS を入手し、T7 を恒常的に発現する培養細胞 (BHK-T7) を入手し、ゲノム RNA の発現に必要なベクターを MTA によって入手している。ネコの腎臓組織切片を用いて、抗 FeMV 抗体による免疫染色とアポトーシス細胞を検出する TUNEL アッセイを用い、FeMV 陽性検体が有意にアポトーシス細胞数が多く、FeMV の腎臓組織における病原性発現機構にはアポトーシスが関与していることが明らかになった。漢方薬ライブラリーから、猫のコロナウ

ウイルスに対して抗ウイルス作用を持つものが発見され、現在、FeMV に対する効果について、タイとの共同研究によって、FeMV 感染猫を用いた研究を計画中である。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nishijima R, Endo T, Gankhuyag E, Khin STMM, Jafar SM, Shinohara Y, Tanaka Y, Sawakami K, Yohda M, Furuya T	4. 巻 85
2. 論文標題 Detection of anti-feline infectious peritonitis virus activity of a Chinese herb extract using geneLEAD VIII, a fully automated nucleic acid extraction/quantitative PCR testing system	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Vet Med Sci	6. 最初と最後の頁 443-446
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1292/jvms.22-0185	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 Zhang Wenjing, Kataoka Michiyo, Doan Yen Hai, Oi Toru, Furuya Tetsuya, Oba Mami, Mizutani Tetsuya, Oka Tomoichiro, Li Tian-Cheng, Nagai Makoto	4. 巻 166
2. 論文標題 Isolation and characterization of mammalian orthoreovirus type 3 from a fecal sample from a wild boar in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Archives of Virology	6. 最初と最後の頁 1671 ~ 1680
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00705-021-05053-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Abdelmageed Hend A., Mandour Ahmed S., El Gedawy Attia A., Fawzy Mohamed, Furuya Tetsuya, Ezzat Mahmoud	4. 巻 77
2. 論文標題 Characterization of Campylobacter jejuni isolated from dogs and humans using flaA-SVR fragment sequencing in Ismailia, Egypt	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 101675 ~ 101675
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cimid.2021.101675	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Endo Takuro, Nakagomi Yuki, Kawaguchi Eri, Hayakawa Eri Saki H., Vu Hoai Nam, Takemae Hitoshi, Shinohara Yuta, Yang Da, Usui Tatsuya, Mizutani Tetsuya, Nakao Yoichi, Furuya Tetsuya	4. 巻 87
2. 論文標題 Anti-malarial activity in a Chinese herbal supplement containing Inonotus obliquus and Panax notoginseng	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102532 ~ 102532
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.parint.2021.102532	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Endo Takuro, Takemae Hitoshi, Sharma Indu, Furuya Tetsuya	4. 巻 11
2. 論文標題 Multipurpose Drugs Active Against Both Plasmodium spp. and Microorganisms: Potential Application for New Drug Development	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular and Infection Microbiology	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) 10.3389/fcimb.2021.797509	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 69.Sutummaporn K, Suzuki K, Machida N, Mizutani T, Park ES, Morikawa S, Furuya T.	4. 巻 165
2. 論文標題 Increased proportion of apoptotic cells in cat kidney tissues infected with feline morbillivirus. Increased proportion of apoptotic cells in cat kidney tissues infected with feline morbillivirus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Archives of virology	6. 最初と最後の頁 2647-2651
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00705-020-04782-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計2件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 遠藤太一郎、川口絵梨、早川枝季、臼井達哉、篠原祐太、楊達、中込雄貴、中尾洋一、古谷哲也
2. 発表標題 熱帯熱マラリア原虫を用いた植物由来成分スクリーニングによる抗マラリア化合物同定の試み
3. 学会等名 第90回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 遠藤太一郎、中込雄貴、早川枝季、竹前等、篠原祐太、Ha My, Tamakloe Esther Afi Dzigmordi、臼井達哉、水谷哲也、中尾洋一、古谷哲也
2. 発表標題 動物用に市販されている漢方薬に見られた抗マラリア原虫作用について
3. 学会等名 第91回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2022年～2023年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 特許権	発明者 古谷哲也	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、200016JP01	取得年 2021年	国内・外国の別 国内

〔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	田中 良和  (Tanaka Yoshikazu)  (50291159)	日本獣医生命科学大学・獣医学部・教授   (32669)	
研究 分担者	中尾 洋一  (Nakao Yoichi)  (60282696)	早稲田大学・理工学術院・教授   (32689)	

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
---------	---------