

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670216

研究課題名(和文) ハムスターにおけるインフルエンザ飛沫伝播モデルの確立

研究課題名(英文) Hamsters as a novel animal model for influenza virus transmission via airborne

研究代表者

野田 岳志 (Noda, Takeshi)

東京大学・医科学研究所・准教授

研究者番号：00422410

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：インフルエンザは主としてA型およびB型インフルエンザウイルスを起因とする呼吸器疾患である。飛沫を介してヒトからヒトへと効率よく伝播することが最大の特徴であり、毎年、人口の5～10%がインフルエンザに罹患する。ヒトインフルエンザの研究においては様々な動物モデルが使用されているが、小型で効率の良い飛沫伝播を再現する動物モデルは存在しない。

本研究ではインフルエンザの新たな飛沫伝播動物モデルを確立するため、ハムスターを用いた実験を行った。その結果、ウイルス株によって、飛沫伝播を起こすものと起こさないものが存在することが明らかになった。2009年に出現したH1N1ウイルスは、効率よく個体間を伝播した。

研究成果の概要(英文)：Influenza A and B viruses cause contagious respiratory diseases. One of the most important features of influenza viruses is efficient transmission via airborne droplet among individuals. Until now, there is no animal model, which supports efficient virus transmission via airborne droplet. Here we employed Syrian hamster as a novel animal model. We found that some influenza A and B strains were transmittable among individuals probably via airborne, but the others were not. A(H1N1)2009 virus efficiently transmitted among individuals, suggesting that there are not-yet identified genetic factors, which are responsible for airborne transmission among hamsters.

研究分野：ウイルス学

キーワード：インフルエンザウイルス

1. 研究開始当初の背景

インフルエンザは、主として A 型および B 型インフルエンザウイルスを起因とする呼吸器疾患である。飛沫を介してヒトからヒトへと効率良く伝播することがインフルエンザウイルスの最大の特徴であり、毎冬、人口の約 5 - 10% がインフルエンザに罹患することが報告されている。

ヒトインフルエンザの研究においては、これまで、1. 霊長類、2. フェレット、3. モルモット、4. マウス、を用いた 4 種類の動物モデルが確立されている。各動物モデルは、呼吸器に対する障害性・個体に対する病原性・個体から個体への飛沫伝播能・adaptation の必要性、などの観点から一長一短であり、すべてを満たす動物モデルは存在しない。特に、インフルエンザに特徴的な「効率の良い飛沫伝播」を再現するモデルは、フェレットモデル(Smith et al, 1933, Lancet)とモルモットモデル(Lowen et al, 2006, PNAS)に限られている。しかし、フェレットは約 1.0kg の大きさがある大型モデル動物であり、特殊な大型飼育施設が必要であること、購入・飼育費用が高額であること、その大きさのため(特に P3A 施設内において)扱いが困難であることから、最適なモデル動物とは言い難い。また、モルモットは、350g 程度の大きさではあるが、ウイルス感染時に症状を示さないこと、組織障害性がヒトと大きく異なることから、良いモデルとは言い難い。そこで申請者は、より良い小型の飛沫伝播動物モデルの確立を目的として、シリアンハムスター(Syrian Hamster)に着目した。

2. 研究の目的

申請者はこれまでに、ハムスターの気道におけるウイルスレセプターの分布が、ヒトの気道におけるウイルスレセプターの分布に近いことを明らかにしている。また、現在ヒトで流行する H1N1 ウイルスがハムスターの

上部気道で効率良く増殖し病変を示すこと、さらに、ウイルス感染個体とウイルス非感染個体を同一ケージで飼育すると、感染個体から非感染個体にウイルスが接触伝播することを明らかにしている(以上、未発表データ)。そこで本研究では、様々なウイルス株を用いて、1. ハムスターにおいてどのようなウイルス株が飛沫伝播するか、2. ウイルスが飛沫伝播した場合には、どのようなウイルス因子(遺伝子配列・レセプター特異性)および環境因子(温度・湿度)がハムスターにおける飛沫伝播に重要なのかを明らかにし、新たな飛沫伝播動物モデルの確立を目指す。

3. 研究の方法

ヒトで流行する H1N1 ウイルスをモデルとして用いて、飛沫伝播実験を行う。飛沫伝播実験用ケージを作製し、感染ハムスターと非感染ハムスターをメッシュの壁で隔てて飼育する。非感染ハムスターの鼻腔洗浄液を毎日回収し、ウイルスが飛沫伝播するかどうかを調べる。

さらに、種々のウイルス株を用いて上記の実験を行い、どのようなウイルス因子(レセプター特異性・遺伝子配列)が飛沫伝播に影響を与えるかを調べる。また、温度と湿度をコントロールできる専用コンテナを作製し、どのような環境因子(温度・湿度)が飛沫伝播に影響を与えるかを調べる。

上記の実験用に、飛沫伝播実験用の飼育ケージを作製する。飼育ケージの中央にはメッシュの壁を 2 枚設ける。この 2 枚の壁の間隔は、2-20cm 程度まで調節可能にする。A 群の部屋には、感染ハムスターを 2 匹入れる。B 群の各部屋には、非感染ハムスターを 1 匹ずつ入れる。非感染ハムスター同士で接触伝播を起こさないように、B 群の部屋の間にはメッシュの壁に対して垂直に 2 枚の壁を設け、2 匹を完全に隔てる。気流を確保するため、ケージ周囲の 4 つの壁にはメッシュの窓を設置する。チップ屑を介した伝播を防ぐため、

プラスチック製のチップを用いる。

4. 研究成果

複数の A 型インフルエンザウイルス（および B 型インフルエンザウイルスを用いて、ハムスター個体間における直接伝播実験および飛沫伝播実験を行った。直接伝播を確認する実験では、ウイルス接種ハムスターとウイルス非接種ハムスターを同一ケージ内に飼育し、ハムスター同士が直接接触することでウイルスが伝播するかどうかを確認した。飛沫伝播実験では、2 つの個別ケージの間に 2 枚の金網でスペースを設けた特殊ケージを作製して実験を行った。

初めに、ハムスターの呼吸器におけるインフルエンザウイルスの増殖能を解析し、ヒトインフルエンザウイルス A/California/04/09 (H1N1) (Ca104) 株は効率よく増殖するが、鳥由来ウイルス A/duck/Mongolia/301/01/ (H3N2) はあまり増殖しないことを明らかにした。続いて、Ca104 接種ハムスターと非接種ハムスターを同一ケージで飼育したところ、非接種ハムスターからもウイルスが検出されたことから、Ca104 が直接的な接触を介して個体間伝播を示すことを明らかにした。さらに、特殊ケージを用いてウイルスがハムスター間を飛沫伝播するかどうかを確認したところ、ウイルス非接種ハムスターにおいてウイルスが分離されたことから、Ca104 はウイルス接種ハムスターから非接種ハムスターへと飛沫伝播を起こすことが明らかになった。一方、鳥インフルエンザウイルスを接種した群では、ウイルス非接種ハムスターからウイルスが分離されず、血中の抗体も検出できなかったことから、鳥由来ウイルスは飛沫伝播を起こさないことが明らかになった。

複数のウイルス株について実験を行ったところ、A 型インフルエンザウイルスでも B 型インフルエンザウイルスでもハムスターにおいて飛沫伝播を起こす株と起こさない

株が存在したことから、ウイルス学的要因がハムスターにおける飛沫伝播能力に影響を与えていることが示唆された。

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 2 件)

Muramoto Y, Shoemaker JE, Le MQ, Itoh Y, Tamura D, Sakai-Tagawa Y, Imai H, Uraki R, Takano R, Kawakami E, Ito M, Okamoto K, Ishigaki H, Mimuro H, Sasakawa C, Matsuoka Y, Noda T, Fukuyama S, Ogasawara K, Kitano H, Kawaoka Y. Disease severity is associated with differential gene expression at the early and late phases of infection in nonhuman primates infected with different H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses. *J Virol.* 88; 8981-97 (2014).

Watanabe T, Kiso M, Fukuyama S, Nakajima N, Imai M, Yamada S, Murakami S, Yamayoshi S, Iwatsuki-Horimoto K, Sakoda Y, Takashita E, McBride R, Noda T, Hatta M, Imai H, Zhao D, Kishida N, Shirakura M, de Vries RP, Shichinohe S, Okamatsu M, Tamura T, Tomita Y, Fujimoto N, Goto K, Katsura H, Kawakami E, Ishikawa I, Watanabe S, Ito M, Sakai-Tagawa Y, Sugita Y, Uraki R, Yamaji R, Einfeld AJ, Zhong G, Fan S, Ping J, Maher EA, Hanson A, Uchida Y, Saito T, Ozawa M, Neumann G, Kida H, Odagiri T, Paulson JC, Hasegawa H, Tashiro M, Kawaoka Y*. Characterization of H7N9 influenza A viruses isolated from humans. *Nature* 501; 551-5 (2013).

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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 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 野田 岳志
(Noda Takeshi)
東京大学・医科学研究所・准教授
研究者番号：00422410

(2)研究分担者
()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

研究者番号：