

令和 3 年度 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究		
研究課題名		神経向性フラビウイルスの脳内侵入部位および機構の解明		
新規・継続の別		継続		
研究代表者	所属	北海道大学大学院獣医学研究院	40 歳 以下○	35 歳 以下○
	職名・氏名	准教授・小林進太郎	○	
研究分担者 (適宜行を追加し て下さい)	所属	北海道大学・遺伝子制御研究所	/	/
	職名・氏名	助教・長谷部理絵		
	所属	北海道大学・獣医学研究院	/	/
	職名・氏名	学部 5 年・福田幸音		○
受け入れ教員	職名・氏名	教授・村上正晃		
概要 (100～150 字程度)		神経向性フラビウイルスの脳組織の侵入部位を特定することが目的である。ウイルスを脳組織に接種したマウスを透明化し、ウイルス抗原の染色により、全脳組織レベルにおいてウイルス感染細胞を検出することができた。今後、末梢組織にウイルスを接種した際のウイルス抗原の分布を観察することで脳内侵入部位を特定する。		
研究目的 (300 字程度)		世界中で流行しているウエストナイルウイルス (WNV) などの神経向性フラビウイルスは、末梢組織で増殖後、血行性に脳組織に到達し、重篤な脳炎を起こす。ウイルスなどの病原体が脳組織に侵入するためには、脳血管の血液脳関門を通過する必要があるが、神経向性フラビウイルスによる血液脳関門の通過の分子機構や侵入部位についてはほとんど明らかになっていない。本研究では WNV が脳内に侵入する分子機構を明らかにするために、透明化した WNV 感染マウスの中枢神経組織を用いてウイルスの侵入部位を特定する。さらに特定した WNV の侵入部位の組織について病理組織学的に解析することで、ウイルスの脳内侵入機構を解明する。		
研究内容・成果 (1000 字程度・Web 会議の回数 も記載)		透明化した脳組織内で WNV の感染部位を特定するために、感染細胞で蛍光タンパク質である mCherry を発現する遺伝子組換え WNV (mCherry-WNV) を作製し、マウスに感染実験を実施した。mCherry-WNV を脳内接種したマウスの脳組織の凍結切片を用いた解析では、mCherry のシグナルがウイルス抗原陽性細胞と同じ細胞において認められたが、透明化処理を実施した全脳組織では mCherry のシグナルを認めることができなかった。mCherry-WNV は野生型 WNV と比較して、培養細胞およびマウスにおける増殖性が低かったことから、透明化した全脳組織を用いた観察には感度が不十分であることが示唆された。 続いて脳内に野生型 WNV を接種したマウスの透明化脳組織にお		

	けるウイルス抗原について免疫染色による検出を試みた。野生型 WNV を接種したマウスは感染 5 日後に神経症状を示した。これらのマウスの脳組織では、大脳皮質の外顆粒層に局在する神経細胞全域において、ウイルス抗原陽性像が認められた。これらの結果は組織切片を用いた解析結果と一致しており、透明化処理した全脳を用いて、ウイルス抗原を検出できることが明らかになった。今後は野生型 WNV を末梢組織に接種し、経時的に脳組織中のウイルス抗原の分布を観察することで、WNV の中枢神経組織の侵入部位の特定する予定である。 また WNV の脳内侵入の分子機構の解明のために、ウイルスを末梢組織に接種し、脳組織における免疫細胞の浸潤や活性化について解析した。WNV を末梢組織に接種したマウスの 7 日後の脳組織においてウイルスゲノムや抗原が検出された。ウイルス接種 3 および 5 日後のマウスの脳組織では、脳組織の血管周囲にミクログリアマーカーである Iba 1 陽性細胞の集簇および形態学的変化が認められた。これらの病態変化は脳幹部において顕著に認められ、以上の結果から、WNV の脳内侵入前に血管炎が形成されている可能性が示唆された。今後、WNV の侵入部位の血管とこれらの免疫細胞の変化との関連について明らかにする予定である。 Web 会議の回数：なし
成果	【学会報告】 福田幸音、好井健太郎、荻和宏明、小林進太郎、感染細胞内で mCherry をレポーターとして発現するウエストナイルウイルスの作製、第 164 回日本獣医学会学術集会、江別市（オンライン）、2021 年 9 月 7 日～13 日 【論文発表】 なし 【新聞報道】 なし