

令和 6 年度 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究		
研究課題名		新型コロナウイルスの持続感染メカニズムの解明		
新規・継続の別		新規		
研究代表者	所属	北海道大学大学院医学研究院	40 歳 以下○	35 歳 以下○
	職名・氏名	講師・田村 友和	○	
研究分担者 (適宜行を追加し て下さい)	所属	北海道大学大学院医学研究院	/	/
	職名・氏名	助教・鈴木 理滋		○
	所属	北海道大学大学院医学研究院	/	/
	職名・氏名	博士研究員・辻野 修平		○
受け入れ教員	職名・氏名	准教授・吉松 組子		
概要 (100～150 字程度)		本研究では、通常急性感染する SARS-CoV-2 が持続感染する機構の解明を目的とし、マウスでの持続感染モデルを作製した。マウス順化株を免疫状態の異なる 4 種のマウスに接種した結果、持続感染モデルとして適したマウスを見出すことができた。今後はモデルを活用し、分子機序の解明に向けた研究を推進する予定である。		
研究目的 (300 字程度)		本研究では、通常は免疫によって排除される SARS-CoV-2 が一部で持続感染する理由を解明するため、持続感染モデルの開発と関連因子の同定を目指す。SARS-CoV-2 は肺以外の中枢神経や感覚器官、腸管などでも持続感染し、免疫不全者では長期間にわたり変異を蓄積することがあるが、その機構は未解明である。我々は CD4 陽性細胞の減少と抗 CD20 抗体薬投与が持続感染に関与することを実臨床で見出し、ウイルス遺伝子変異の経時的解析も行った。さらに、マウスに感染可能な組換え SARS-CoV-2 の開発に成功しており、これらの基盤をもとに、持続感染の分子機構の解明に貢献するモデルの構築を目指す。		
研究内容・成果 (1000 字程度・Web 会議の回数 も記載)		まず、通常急性感染する SARS-CoV-2 が持続感染する動物モデルの作製を行った。野生株はマウスで増殖しないことが知られている。そこで、Leist ら (2020) の報告を元にマウスでの増殖に必要な変異を持つ組換えウイルスを、当研究室で開発した迅速組換えウイルス作製技術にて人工合成した。 次に、作出したマウス順化組み換えウイルスを野生株である BALB/cAJel および 3 系統の免疫不全マウス BALB/cAJel-nu/nu (T 細胞欠損)、C.B17/Icr-scid/scidJel (T 細胞および B 細胞欠損)、NOD/ShiJic-scidJel (T 細胞および B 細胞欠損、さらに NK 細胞と補体の機能が低下) に経鼻接種し、臨床症状と体重変化を		

	14日まで観察した。また、接種 7、14、21 および 56 日後にマウスから肺を採材し、ウイルス量を測定した。さらに感染性ウイルスを認めた検体を用いて、ウイルス RNA を精製し、ウイルス全長の配列を Long-Read 次世代シーケンサーにて遺伝子を決定して、変異と 1 ウイルス RNA 分子の多型の検出を試みた。 マウス順化株を接種した全てのマウスで一過性の体重減少を認め、その後体重は増加した。回収した肺のウイルス量を定量したところ、BALB/cAJcl、BALB/cAJcl-nu/nu および NOD/ShiJic-scidJcl では、接種 21 日後までウイルス RNA を認めた。一方で、C.B17/Icr-scid/scidJcl では接種 56 日までウイルス RNA を認めた。 マウス順化 SARS-CoV-2 と C.B17/Icr-scid/scidJcl を使用することで、持続感染する動物モデルを作製することができた。現在、持続感染したマウスから回収したウイルスの遺伝子を詳細に解析している。また、C.B17/Icr-scid/scidJcl よりも重度に免疫機能が不全な NOD/ShiJic-scidJcl でのウイルスの持続を認めなかったことから、その差異を規定する因子を解析する予定である。 Web 会議の回数：0 当時は北海道大学に所属しており、Web 会議の必要はなかった。
成果	【学会発表】 参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと 田村 友和、市川 貴也、辻野 修平、鈴木 理滋、鈴木 紗織、福原 崇介、新型コロナウイルス感染症の持続感染動物モデルの開発、第 167 回日本獣医学会学術集会、帯広市、2024 年 9 月 12 日 【論文発表】 著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ、IF 入力のこと 投稿準備中 【新聞報道】 該当なし 【学位取得者】 学部名・学年または職名・氏名入力のこと 該当なし