

学 位 論 文 題 名

Studies on the mechanism of persistent infection
of hantavirus in mice

（マウスにおけるハンタウイルス持続感染メカニズムの解析）

学位論文内容の要旨

ハンタウイルスは、げっ歯類媒介性の人獣共通感染症の原因ウイルスで、人に腎症候性出血熱やハンタウイルス肺症候群を引き起こす。ハンタウイルスに感染した自然宿主げっ歯類は、中和抗体が存在するにも関わらず持続感染状態となるが、この持続感染メカニズムに関しては不明な点が多い。これまでの研究で、ハンタウイルスのプロトタイプである Hantaan virus (HTNV; 自然宿主は *Apodemus agrarius*) を、致死量以下で Newborn BALB/c マウスに接種するとそのマウスは持続感染状態になることが知られている。このため、このマウスモデルにおける HTNV 持続感染状態を研究することにより、自然宿主げっ歯類でのハンタウイルス持続感染メカニズムを解析できると考えられる。また、HTNV 持続感染マウスは、人におけるウイルス性持続感染のモデルになる可能性も秘めている。そこで、本学位論文ではマウスでの HTNV 持続感染メカニズムについての研究を行った。

まず第1章では、HTNV 特異的 CD8⁺ T 細胞応答と持続感染の関係を調べるために、フローサイトメトリーを用いて HTNV 特異的 CD8⁺ T 細胞の測定方法を確立した。次に、生後 24 時間以内の Newborn BALB/c マウスに致死量以下の HTNV を接種し持続感染マウスを作製した。HTNV を接種されたすべてのマウスは、ウイルス接種後 30 日目には持続感染状態となり、その時には特異的 CD8⁺ T 細胞が欠損していることが明らかになった。その後、特異的 CD8⁺ T 細胞の出現に依存してウイルスが排除されるマウスも存在した。中和抗体は、持続感染の有無に関わらず検出された。また、ウイルス接種後 30 日以内の急性期では、IFN- γ を産生する HTNV 特異的 CD8⁺ T 細胞が 15 日目にのみ検出された。しかしながらそれらの特異的 CD8⁺ T 細胞では、TNF- α 産生や細胞傷害活性が検出されず機能不全状態になっており、このため HTNV は排除されなかった。これらのことは、機能的なウイルス特異的 CD8⁺ T 細胞応答の欠損がマウスにおける HTNV

持続感染のために重要であることを示唆している。

Newborn マウスでの HTNV 感染とは対照的に、Adult マウスでの HTNV 感染では非常に多くの HTNV 特異的 $CD8^+$ T 細胞が誘導され、一過性の感染でウイルスは消失した。そこで第 2 章では、より詳細にマウスの HTNV 特異的 $CD8^+$ T 細胞応答を理解するために、Newborn タイプの HTNV 特異的 $CD8^+$ T 細胞応答から Adult タイプの HTNV 特異的 $CD8^+$ T 細胞応答に変化する日齢に焦点をあてた。生後 0, 3, 7, 14, 35 日目のマウスに HTNV を接種し、ウイルス接種後 30 日目に HTNV 特異的 $CD8^+$ T 細胞を測定した。その結果、7 日齢を越えるマウスに HTNV を接種した場合は、Adult マウスとほぼ同様の HTNV 特異的 $CD8^+$ T 細胞応答が検出された。さらに、第 1 章と同様に HTNV 特異的 $CD8^+$ T 細胞の欠損と持続感染との間に強い相関関係が観察された。

しかしながら、Newborn マウスモデルでは免疫応答の操作が困難であったために、 $CD8^+$ T 細胞が HTNV の排除に必要であるという決定的な証拠をえることができなかった。そこで、免疫の正常なマウスの脾細胞を SCID マウスへ移入する実験系を用いて、新たな HTNV 持続感染モデルを作製した。その結果、 $CD8^+$ T 細胞が HTNV 排除に必要であることが証明された。更に、感染拡大の程度と宿主の免疫応答開始時期のバランスが、特異的 $CD8^+$ T 細胞の抑制および持続感染成立に重要であることが示唆された。

このように、マウスにおいて HTNV 特異的 $CD8^+$ T 細胞が HTNV 持続感染に重要な役割をはたしていることが明らかとなった。本学位論文からえられた結果は、自然宿主げっ歯類でのハンタウイルス持続感染が、 $CD8^+$ T 細胞免疫監視機構を逃れることによって成立していることを示唆している。更に、HTNV 持続感染 SCID マウスモデルは、免疫応答を容易に操作可能であるため、様々なウイルス感染の病態解析の有用なモデルになると考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 高 島 郁 夫

副 査 教 授 小 沼 操

副 査 教 授 有 川 二 郎 (医学研究科)

副 査 助 教 授 荻 和 宏 明

学 位 論 文 題 名

Studies on the mechanism of persistent infection of hantavirus in mice

(マウスにおけるハンタウイルス持続感染メカニズムの解析)

ハンタウイルスは、げっ歯類媒介性の人獣共通感染症の原因ウイルスであり、ハンタウイルスに感染した自然宿主げっ歯類は、中和抗体が存在するにも関わらず持続感染状態となる。しかしながら、この持続感染メカニズムに関しては不明な点が多い。そこで、本学位論文ではマウスを用いてハンタウイルス持続感染メカニズムについての研究を行った。

まず、生後 24 時間以内の Newborn BALB/c マウスに致死量以下の Hantaan virus (HTNV; ハンタウイルスのプロトタイプ)を接種し持続感染マウスを作製した。HTNV 持続感染マウスはウイルス特異的 $CD8^+$ T 細胞を欠損していたことから、ウイルス特異的 $CD8^+$ T 細胞応答の欠損がマウスにおける HTNV 持続感染のために重要であることが示唆された。また、Newborn マウスでの HTNV 感染とは対照的に、Adult マウスでの HTNV 感染では HTNV 特異的 $CD8^+$ T 細胞が誘導された。この HTNV 特異的 $CD8^+$ T 細胞応答の Newborn タイプから Adult タイプへの変化は、3 日齢以降のマウスで観察され、7 日齢を越えるマウスに HTNV を接種した場合は、Adult マウスとほぼ同様の特異的 $CD8^+$ T 細胞応答を示した。また、HTNV 感染重症複合免疫不全症マウスへの脾細胞移入実験から、 $CD8^+$ T 細胞が HTNV 排除に必要であることが証明された。更に、感染拡大の程度と宿主の免疫応答開始時期のバランスが、特異的 $CD8^+$ T 細胞の抑制および持続感染成立に重要であることが示唆された。

本学位論文から得られた結果は、自然宿主げっ歯類でのハンタウイルス持続感染が、 $CD8^+$ T 細胞の免疫監視機構から逃れることによって成立していることを示唆している。更に、HTNV 持続感染 SCID マウスモデルは、免疫応答を人

為的に操作可能であるため、様々なウイルス感染の病態解析の有用なモデルになると考えられる。よって、審査員一同は上記博士論文提出者荒木幸一氏の博士論文が北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規定による博士論文の審査に合格と認めた。