

# コモンマーモセットを用いた 感染症モデル

伊藤豊志雄

公益財団法人実験動物中央研究所

本シンポジウムでは、ヒト感染症の専門家からそれぞれの疾患モデル動物の役割が紹介されたが、自分の分担は実験動物が主体で、コモンマーモセットがどのような感染症研究に使われているのかを紹介したため、他のシンポジストと構成が異なります。

## 1. 感染症の状況

先進国では政治的安定、科学技術の進歩、そして衛生環境の整備によって多くの感染症を駆逐できた。一方で、発展途上国ではこのような感染症コントロールの恩恵に浴していない多くの人々が存在することも事実である。最近の人口増加や家畜の大量飼育はそこに一旦病原体が侵入すると集団内に速やかに伝播し、疾患の集団発生となり易い。先年来のアフリカ西海岸諸国で猛威をふるったエボラ出血熱、最近では韓国での中東呼吸器症候群（MERS）に見るごとく、航空網の発達による短時間での大勢な人の国家間移動は、パンデミック発生機会を増大させ、これまでの検疫を主体とした防疫を困難にしている。なお現在も世界に目を向ければ、デング熱、結核、ペスト、マラリアなどウイルス、細菌あるいは寄生虫による感染症は依然として人類の大きなリスクファクターになっている。その上に、国際的監視が行われている新型インフルエンザなどといった新興感染症の発生も危惧されている。

これら感染症の被害を最小限にするためには、それぞれの感染症を今以上に理解し、有効な対策を構築する必要がある。感染症理解のためには病原体や感染経路を特定し、発病病理を解明しなくてはならない。そのことによって診断・治療・予防が可能となる。実験動物に病原体を感染させ、ヒトやペットあるいは家畜と同様な疾患を再現させる感染実験は、発病病理の解明だけでなく、診断や治療法の開発、さらには予防としてのワクチン開発にきわめて有用な情報をもたらすことは多くの人が理解するところであろう。

## 2. 感染モデル動物の必要性

今ここで敢えて説明する必要はないと考えるが、感染症とその研究材料となるモデル動物の必要性を簡単に述べておく。

感染症は病原体である微生物が、ヒトや動物といった宿主に口、気道あるいは皮膚の傷口などから体内に侵入・定着・増殖することによって宿主が何らかの異常（症状）を示すことである。感染症は、病原体と宿主であるヒトやモデル動物の2要因の他に、3番目の要因として両者をつなぐ感染経路があれば成立する。さらに、感染症の流行には宿主の生活様式だけでなく、その宿主が所属する国の社会体制、社会資本、防疫体制など多岐にわたる社会的要因も関与してくる。

よって、感染症研究には病因と宿主そして感染経路の研究が不可欠である。特にヒト感染症研究において、感染者から得られる情報だけでなく、もしもその病原体がヒト以外の実験動物でもヒトと同様な疾患を引き起こすことが確認できれば、その動物での感染実験（感染モデル動物）によって、感染経路、病態、経過、感染防御に関わる宿主要因などの解明・理解が進むと同時に、感染症対策に力強い武器となるワクチンの開発と評価にも活用できる。

## 3. コモンマーモセットの紹介

コモンマーモセット (*Callithrix jacchus*, 以下マーモセット) は霊長目、広鼻下目、オマキザル科、マーモセット属のブラジル東部の海岸林など人の生活圏に近い地域にも生息する動物で、成体重が300～400 g、胴体長20～25 cm、胴と同じ長さの尾を有す



る。樹上生活, 昼行性, ファミリー単位で縄張りを持って行動する。食餌であるが, 野生では樹液, 樹脂, 昆虫や果実を, 飼育下では専用の固形飼料を食する。カステラなど甘い物を好むようである。飼育下での寿命は10~15年とされている。性成熟は雌雄とも1.5年, 妊娠期間は145~147日, 哺乳中であっても出産後11~13日に排卵し, 妊娠が成立する。産子数は2~3匹であり, よって1年に4~6匹の子を得ることができる。小鳥のさえずりのような多様な鳴き声でコミュニケーションをし, 好奇心は旺盛である。

実験動物としてのマーモセットをみると, 小型のサル類であること, 高い繁殖力, そして後述するように人獣共通感染症が殆どみられないという点が, この動物の利点となる。すなわち, 実験動物として汎用されているサル類であるアカゲザルやカニクイザルに比べ小型(体重がおおよそ1/10)であるということは, 取り扱いが容易であること以外に, 治療評価に用いる投与薬物や細胞が少量で済む。高い繁殖力は遺伝子操作動物といったヒト疾患モデルサル類の短期間入手を可能とさせ, 実際に複数の遺伝子操作マーモセットが作出されている[1]。人獣共通感染症のない動物の提供は飼育者や実験者への危険回避をもたらす。これまで30年以上にわたってわが国で維持されている実験動物としてのマーモセットが原因となった飼育者や実験者の感染事故発生事例は聞かない。

現在, 日本のマーモセットは, 1983年に英国の製薬企業から実中研に導入された30ペアがオリジンで, 1991年に生産を日本クレア株式会社に移管され, 今日に至っている。実験動物として外界と隔離された室内で30年以上, 数世代維持されていることになる。移管後, 日本クレア株式会社では1990年代に米国の繁殖施設からの種動物の導入も行い, これら動物はクローズドコロニーとして遺伝的偏りを少なくすべく維持されている。微生物学的品質としては, 定期検査によって, 外部寄生虫, 消化管内寄生虫(原虫を除く), サルモネラ, 赤痢菌, 結核菌そして仮性結核菌汚染のないことが確認されている。なお, 消化管内原虫については2/3の糞便から非病原性原虫である *Pentatrichomonas hominis* が検出されている[2]。

#### 4. コモンマーモセットの感染症(自然例)

これまでマーモセットで認められた感染症を表1に示した。ここで示す感染症例の大半は動物園などで維持された動物での報告例であり, 実験動物として維持されているマーモセットの症例は極めて少な

い。

マーモセットの大量死をもたらした感染症例としては, リスザル由来と推察される Herpesvirus tamarinus 感染, ヒト由来と推察される Herpes simplex 1 や Mobilivirus (麻疹ウイルス) 感染, そして蚊媒介黄熱, げっ歯類由来と思われる Parainfluenza virus type 1 (Sendai virus), そして Callitrichid hepatitis virus (LCMV 様) が報告されている。

その他コモンマーモセットで見いだされた感染症として, 赤痢菌, サルモネラ, *Bordetella bronchiseptica*, *Clostridium perfringens*, *C. difficile*, Enteropathogenic *E. coli*, *Entamoeba histolytica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica* が報告され, それぞれ, 呼吸器疾患や消化器疾患などを引き起こす。本報告はマーモセットの感染症紹介が主旨でないため, この程度で留めることとする。

#### 5. コモンマーモセット実験感染 ①海外

感染実験によってマーモセットで感受性が確認された主要ヒト感染症を表2に示した。ここで試験に供された病原体の多くはヒトに重篤な疾患を引き起こす感染症として一類や二類に分類される微生物である。ここではエボラ出血熱, ラッサ熱そしてA型肝炎について紹介する。

##### 5-1. エボラ出血熱 (Filovirus 感染)

ヒトに致死的な出血性疾患を引き起こす Filovirus には Ebolavirus と Marburgvirus がある。前者は昨年度に西アフリカ諸国さらに治療に当たった医師や看護師合わせて10,000人以上の感染死を出した感染症で, 中央アフリカも含め, タイプの若干異なる株の存在が知られている。アフリカでの株はゴリラやチンパンジーにも感染発病させることが知られている。媒介宿主(reservoir)はフルーツコウモリと考えられている。一方フィリピン由来カニクイザルの死亡例から分離された Reston virus 株はアジアに分布し, アフリカの株より病原性が低く, ヒトでは感染するも発病しない。媒介宿主はブタとされている。

後者の Marburgvirus は1967年ヨーロッパの3施設に導入されたミドリサルから34名が出血熱症状を示し, 7名が死亡した。その後も実験室感染や, アフリカ諸国での散発的な発生が認められている。媒介宿主はコウモリである。

英国のBSL4施設でアイソレータを用いたマウスとマーモセットを用いた感染実験が報告されている。この報告では, BSL4施設でのアイソレータを用いたサル類の感染実験ではその感受性と実験スペースの

表 1. コモンマーモセットで認められている感染症

	病原体	保有宿主・汚染源	症状
ウイルス	Herpesvirus tamarinus	リスザル	口腔粘膜潰瘍, 高死亡率
	Herpes simplex 1	ヒト	高死亡率
	Mobilivirus (麻疹ウイルス)	ヒト	間質性肺炎, 高死亡率
	Poxvirus		丘疹性紅斑, 高死亡率
	Yellow fever virus		肺炎
	Parainfluenza virus type 1 (Sendai virus)	げっ歯類	間質性肺炎, 高死亡率
	Callitrichid hepatitis virus (LCMV like)	げっ歯類	肝炎, 急死
細菌	赤痢菌	ヒト?	血便
	サルモネラ菌	汚染飼料	大腸炎
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	ウサギ, モルモット	敗血症
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	不顕性感染	化膿性肺炎, 敗血症
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ヒト?	化膿性肺炎, 髄膜炎
	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	ヒト?	気管支肺炎
	<i>Clostridium perfringens</i> <i>Clostridium difficile</i>	不顕性感染	抗生物質投与後の下痢, 血便, 急死
	Enteropathogenic <i>E. coli</i> (EPEC)	不顕性感染	血便
寄生虫	<i>Entamoeba histolytica</i>	ヒト?	壊死性出血性大腸炎

表 2. 感染実験によってコモンマーモセットで感受性が確認されたヒト感染症 (この報告で紹介した感染症は削除)

	病原体	病気
ウイルス	Marburg virus	マールブルグ出血熱 (感染症法一類感染症)
	Epstein-Barr virus (Human herpesvirus 4)	伝染性単核球症 (多くは不顕性感染)
	Herpesvirus saimiri	悪性リンパ腫
	Influenza A virus	インフルエンザ肺炎。パンデミックの懸念
	Junin virus	アルゼンチン出血熱 (感染症法一類感染症)
	SARS Co-V (SARS コロナウイルス)	重症急性呼吸器症候
		プリオン病 (伝達性海綿状脳症)
	<i>Bacillus anthracis</i>	炭疽 (感染経路によって症状は多様)
	<i>Francisella tularensis</i>	野兔病 (急性熱性疾患)
プリオン	<i>Legionella pneumophila</i>	レジオネラ症 (気管支肺炎, まれに重症化)
細菌	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	結核 (慢性の呼吸器病)
	<i>Toxoplasma gondii</i>	致死
寄生虫		



関係からマーマセツが適切であるとしていた [3]。

#### 5-2. ラッサ熱 (Arenavirus 感染)

Arenavirus には Lassa 熱と LCMV 感染の 2 タイプが知られている。

前者のラッサ熱は西アフリカで毎年 30 万人の感染者発生が発生し、死亡率は 1～2% である。旅行者によって欧米に持ち込まれることがある。症状は発熱、衰弱、嘔吐、下痢、腹痛や出血をみるが、80% が不顕性感染とされている。媒介宿主はマストミスである。治療薬として Ribavirin が知られているが、オーソライズされたワクチンはない。コモンマーマセツを用いた感染実験では 7～18 日の潜伏期を経て、脱力、アルブミン減少、体重減少を招来し、肝病変を主徴とする病気の再現が可能で、リンパ球減少も観察されるとしている。

後者のヒトの LCMV 感染では感冒様症状を呈し、免疫抑制剤を投与された臓器移植患者で死亡例が観察されている。コモンマーマセツによる感染実験の報告は無いが、近縁ウイルスによる感染死の報告がある。

#### 5-3. A 型肝炎 (Hepatovirus 感染)

A 型肝炎はアジア・アフリカ南米に 50 億人の感染者がいるとされている。感染者は一過性の急性肝炎を示した後で、強い免疫を獲得する。ウイルスに汚染された食材の経口摂取で感染する。衛生環境の整った国では抗体保有率が低いことから集団発生が起こり易い。ワクチンが入手可能であり、ワクチンの効果検定でマーマセツが用いられた。

### 6. コモンマーマセツ実験感染 ②国内

わが国では BSL4 施設が稼働していないため、BSL3 施設で取り扱える病原体の感染実験が行われてきた。現在、国内でのマーマセツを用いた対象疾患としては Dengue 熱、チクングニア熱、C 型ウイルス肝炎、成人 T 細胞白血病そして腸管病原性大腸菌感染である。

#### 6-1. Dengue 熱

アジア・アフリカに広く分布する蚊媒介ウイルス (Flaviviridae) 疾患で、4 種類の血清型の存在が知られている。ワクチンや治療薬評価系の確立が望まれている。わが国では国立感染症研究所による Dengue 出血熱の発症機序の解明や Dengue ウイルス再感染時の出血発症 (抗体依存性感染増強) モデルの研究がすすんでいる。

#### 6-2. チクングニア熱

Dengue 熱と類似した蚊媒介ウイルス (Togaviridae) 疾患で、高熱、斑状丘疹、関節痛が主徴となる。国立感染症研究所ではマーマセツ皮下投与によるウイルス血症や抗体産生をといった感染成立が確認されている。

#### 6-3. C 型ウイルス肝炎

ヒトでは慢性肝炎から肝硬変や肝がんへと進む疾患である。サル類の中でヒトとチンパンジーしか感染しないとされている。そこで、京都大学ではコモンマーマセツに感染させるべく近縁ウイルスに手を加えたサロゲートモデルを用い、マーマセツに慢性 C 型肝炎様症状を作出している。

#### 6-4. 成人 T 細胞白血病

垂直感染を引き起こすウイルス性疾患であり、日本人では 100 万人が罹患している。多くは不顕性感染に終始し、発症者は多くない。患者血液から採取した白血球を静脈内や腹腔内に投与し、免疫抑制剤を投与することによって病原体である HTLV-1 のプロウイルスは検出され続けるも、発症には至っていない。東大医科研で取り掛かった研究が今では実中研に引き継がれている。

#### 6-5. 腸管病原性大腸菌感染

出血性大腸炎を呈していたマーマセツの糞便から eae 遺伝子保有 *Escherichia coli* が分離された。本菌はヒトでの病原性大腸菌とされており、感染実験によって、マーマセツでの病原性が確認された [4]。その報告によると、予め本菌汚染のないことが検査によって確認された 10 匹のコモンマーマセツに高濃度菌液と低濃度菌液を投与し、2 週間観察した結果、高濃度群では一過性の血便と投与菌の排菌が、低濃度群では血便や下痢は観察されなかったが、排菌は観察され、本菌のマーマセツへの病原性が確認された。

### 7. 感染症モデル研究の今後 (最近の動向も含め)

これまでわが国ではバイオセーフティーレベル 4 (BSL4) 施設が稼働していなかったため、BSL4 に分類される高度病原微生物の取り扱いが困難で、感染症研究者の多くは欧米の施設で研究を進めるしか方法はなかった。特に近年、高度病原微生物によるアウトブレイクや、それら感染者の航空機を用いた移動に対する検疫体制が追いつかないことによる先進国への感染症の持ち込みや病院といった医療機関の

対応の不備による二次感染者が発生した。さらには昨年わが国でのデング熱発生といった再興感染症の発生も見た。このように、重篤な病気を引き起こす可能性が高い微生物のわが国への侵入はいつ起こっても不思議ではない。このような状況で、国内で高度病原体の感染症研究が国内でできず、病気の診断から対策まで、海外に依存するということは国民の健康を守るといった国策遂行上大きな問題である。最近のBSL4施設の稼働容認は、国民の健康維持のための若手感染症研究者の育成といった意味からも大いに歓迎できる決定である。

その中で、マーモセットを含む複数のサル類を用いた感染症研究の進展が大いに期待できると考える。特に小型のサル類は感染実験実施にあたって場所をとらないというだけでなく、少量の新規検討薬剤や少数の細胞移植で済むといった利点が考えられる。マーモセットを用いた感染症研究領域における今後の研究の活発化と進展を期待する。

## 謝 辞

本講演内容のニュースへの投稿機会を与えていただいた山田靖子先生、喜多正和先生に深謝いたします。

## 引用文献

1. Erika Sasaki, et al. 2009. Generation of transgenic non-human primates with germline transmission. *Nature* 459: 523–528.
2. Takashi Inoue, Nobuhito Hayashimoto, Masahiko Yasuda, Erika Sasaki, Toshio Itoh. 2015. *Pentatrichomonas hominis* in laboratory-bred common marmosets. *Exp Anim.* in press.
3. Sophie J. Smither and Mark S. Lever. 2012. A review of Filovirus work and facilities at the defence science and technology laboratory Porton Down. *Viruses*, 4: 1305–1317.
4. Nobuhito Hayashimoto, Hanako Morita, Takashi Inoue, Masahiko Yasuda, Masafumi Yamamoto, and Toshio Itoh. 2015. Draft genome sequence of Enteropathogenic *Escherichia coli*, isolated from the bloody stool sample of a common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Genome Announcement* 3: 1–2

## 参考文献

### 重症急性呼吸器症候 (SARS)

1. Thomas C. Greenough, Angela Carville, Lames Corderre, Mohan Somasundaran, John L. Sullivan, Katherine Luzuriaga, and Keith Mansfield. 2005. Pneumonitis and multi-organ system disease in common marmosets (*Callithrix jacchus*) infected with the severe acute Respiratory syndrome-associated coronavirus. *Am. J. Pathol.*, 167: 455–463.

### A型肝炎

1. Marcia L. Baptista, Renato S. Marchevsky, Albanita V. Oliveira, Clara F.T. Yoshida, and Hermann G. Schatzmayr. 1993. Histopathological and immunohistochemical studies of hepatitis A virus infection in marmoset *Callithrix jacchus*. *Exp. Toxicol. Pathol.* 45: 7–13.

### 結核

1. Lura E. Via et al. 2013. Differential virulence and disease progression following *Mycobacterium tuberculosis* complex infection of the common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Infect. Immun.*, 81: 2909–2919.

### 総説

1. Stephen Potkey. 1992. Diseases of the Callitrichidae: A review. *J. Med. Primatol.* 21: 189–236.
2. Ricardo Carrion Jr., and Jean L. Patterson. 2012. An animal model that reflects human disease: the common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Curr. Opin. Virol.* 2: 357–362.

### 成書

- Susanne Rensing, Ann-Kathrin Oerke. 2005. Husbandry and Management of the New World Species: Marmosets and Tamarins. In *The Laboratory Primate*, Elsevier