



気道上皮炎症応答が可能な SARS-CoV-2 感染モデルマウスの作製

研究代表者：川口 敦史（筑波大学医学医療系）

1) 研究期間

中期型（2020年5月25日～2021年3月31日）

2) 応募時の目的・目標・達成イメージなど

新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）を原因とする感染症（COVID-19）は、多くの感染者で無症候キャリアもしくは軽症であるものの、高齢者や基礎疾患があるハイリスク群では、過剰な炎症（サイトカインストーム）が誘導されて重症ウイルス性肺炎となり、死に至ることがある。現在、その病態発現機構の解析や抗ウイルス薬の開発が必要とされているが、一般的に用いられる近交系の実験用マウスは、SARS-CoV-2 は感染できず、新たな感染動物モデルの構築が必要とされている。本研究では、SARS-CoV-2 が受容体とするヒト hACE2 を発現するマウスを構築する。加えて、ヒトと同様な炎症応答や重症化要因となる疾患背景をもつ遺伝子改変マウスとかけあわせ、SARS-CoV-2 が感染でき、ヒトと同様な病態を再現する遺伝子改変マウスの構築をめざす。

3) 本プログラムで実施した研究の内容と成果

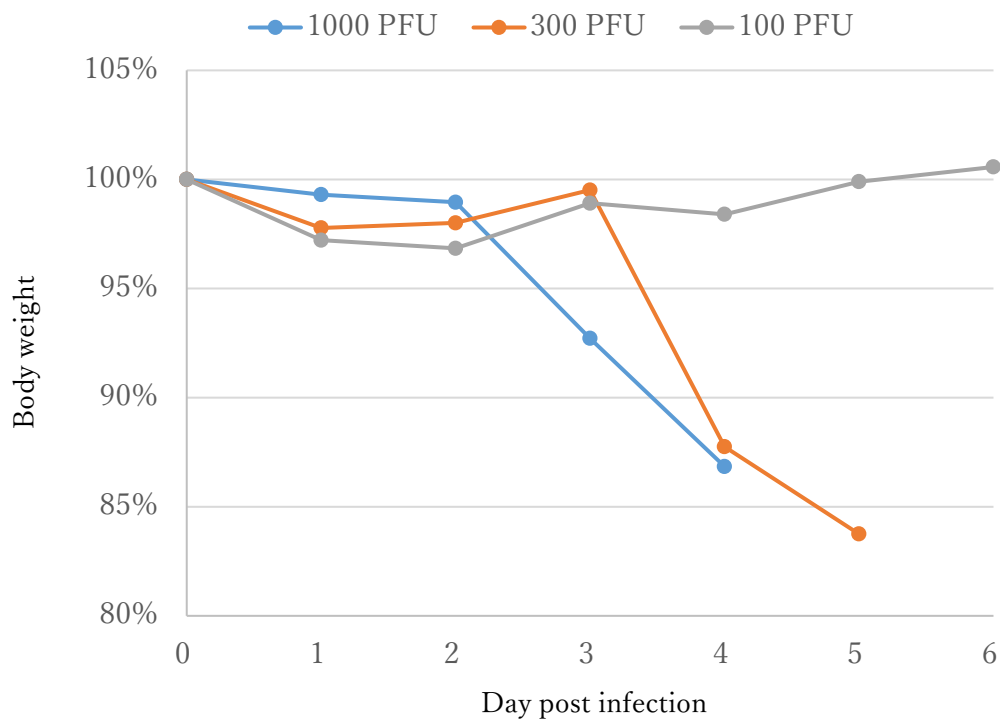
本研究では、チキンβアクチンプロモーターで発現制御される恒常発現型ヒト ACE2 遺伝子トランスジェニックマウス（GGs-hACE2-Tg）と内在性マウス ACE2 遺伝子をヒト ACE2 遺伝子に組換ええたノックインマウス（hACE2-KI）を筑波大学生命科学動物資源センターで作製した。GGs-hACE2-Tg マウスは全身性にヒト ACE2 遺伝子が発現するのに対し、hACE2-KI マウスは本来の ACE2 遺伝子と同様な組織特異的な発現パターンを示す。いずれのマウスもウイルス感染性を促進する遺伝子導入であるため、大臣確認実験として承認された拡散防止措置のうえで組換え実験を行った。

GGs-hACE2-Tg マウスは、過去に作製された系統が医薬基盤・健康・栄養研究所生物資源バンクに保存されていたため、その凍結胚を分与いただき作製した。一方、hACE2-KI マウスは、CRISPR-Cas9 法を用いて内在性のマウス ACE2 遺伝子を切断し、ヒト HBB イントロン配列及びヒト IGF イントロンを挿入したヒト ACE2 cDNA をウサギ β グロビン polyA 付加シグナルとともに組換えることで作製した。

ABSL3 施設内で GGs-hACE2-Tg マウスに SARS-CoV-2 を鼻腔接種したところ、投与量依存的なマウスの体重減少を観察することができ、300 PFU（plaque forming unit：感染性ウイルス価）及び 1000 PFU の SARS-CoV-2 を接種した群では、感染5日目までに全頭死亡した。よって、GGs-hACE2-Tg マウスでは、非常に強い病原性を再現することができ、これはヒト ACE2 の恒常発現により、脳を含む、多くの組織でウイルス感染が成立しているためと考えられる。一方、GGs-hACE2-Tg マウスは、致死性の感染実験系には有用であると考えられるのに対し、抗ウイルス薬のスクリーニングには病原性が強すぎると推測された。現在、hACE2-KI マウスの F0 世代を構築したところであり、今後、SARS-CoV-2 に対する病原性評価を進めていく予定である。また、hACE2-KI マウスに、炎症



応答を再現できるモデルマウス等との掛け合わせを進め、ヒトの病態に近い感染症状を再現できる小動物モデルを構築していく予定である。



4) 研究業績・研究広報

5) 最新の成果・情報

筑波大学「知」活用プログラムウェブサイト>川口 敦史

https://www.osi.tsukuba.ac.jp/fight_covid19/kawaguchi/

インタビュー記事

https://www.osi.tsukuba.ac.jp/fight_covid19_interview/kawaguchi/