

# 結核研究における動物モデルの特徴と重要性

結核研究所生体防御部

研究員 引地 遥香, 中村 創

動物モデルとは、ヒトの疾患を実験的に再現した動物である。動物モデルを利用した研究は、ヒトの疾患への理解を深め、予防・診断・治療に役立つ。現在世界では結核の動物モデルとしてマウス、モルモット、ウサギ、サルが主に用いられている。本稿では、これらの動物モデルの特色を紹介する。

### マウスモデル

マウスは取り扱いの簡便さ、低コスト、小規模な飼育スペースなど、多くの実用的な理由で結核研究の最初期から用いられている。尾静脈、経鼻、経気道、エアロゾルなどの手法で感染させる。マウスには多くの系統が存在するが、結核菌感染に対する感受性は系統間で異なる<sup>1</sup>。免疫研究によく利用されているC57/BL6マウスやBALB/cマウスに結核菌を感染させても、感染後の生存期間が長く、結核菌に抵抗性を示す。一方、C3HマウスやDBA/2マウスは感染後の生存期間も短く、感受性を示す<sup>1</sup>。C3Hマウスの亜種であるC3HeB/FeJマウスも結核感受性を示す<sup>2</sup>。上記した系統の交雑マウスの解析により、結核感受性に関与する遺伝子座が特定された<sup>3,4</sup>。

一般的なマウスモデルでは、結核菌感染後も乾酪壊死や空洞化などのヒト結核における病理的特徴は観察されない<sup>5</sup>。しかし、C3HeB/FeJマウスでは乾酪壊死を伴う肉芽腫が形成される<sup>6</sup>。また、同マウスでは薬剤の抗結核菌活性が他系統マウスと比べて著しく減衰することが明らかになっている<sup>7,8,9</sup>。このことから、ヒト結核病態の再現性が高いC3HeB/FeJマウスモデルを用いることで、結核菌の治療薬やワクチン開発の効率化が期待されている。

### モルモットモデル

モルモットは結核菌に高感受性であり、ヒトに類似の進行性病変の形成を示すため、古くから結核治療薬やワクチン開発の前臨床モデルとして用いられている。主な感染モデルは、非近交系のDunkin-Hartley系に対する低用量エアロゾル感染である<sup>10</sup>。ほかにも結核菌抵抗性の近交系であるStrain 2、結核菌感受性の近交系であるStrain 13が用いられる。菌体数が1~2

コロニー形成単位 (CFU: 生菌数を示す) の超低用量のエアロゾル感染でも発症することが明らかとなっている<sup>11</sup>。病理学的特徴としては、ヒトに類似した乾酪壊死を伴う肉芽腫や、ごく稀に空洞化が観察される<sup>10,12-15</sup>。

このようにモルモットモデルには多くの利点があるが、定量的・定性的評価のための免疫学的試薬が不足していること、マウスより導入・飼育コストが高いこと、適切な飼育設備を有する施設が少ないことなどから、モデル改善が非常に緩やかである。しかし、モルモットはマウスと異なり、ヒトと同様に脂質の抗原提示に関与するCD1分子群を有するため、評価可能な種類のワクチンが多いなどの利点から、ワクチン開発において非常に重要な役割を担っている<sup>16,17</sup>。また、ヒト結核と同様の病変を示すことから、新規の化合物や治療レジメンの持続感染菌に対する活性評価の際に非常に重要である<sup>18</sup>。以上のことから、モデル改善のための研究が望まれている。

### ウサギモデル

1950年代、Lurieは結核感受性と抵抗性のウサギの近交系を確立し<sup>19,20</sup>、LurieとDannenbergrらの貢献により、結核のウサギモデルの病理学的、生化学的な詳細が明らかになった<sup>21</sup>。同時期に、山村らはウサギを用いた実験的結核性空洞の形成に成功し、結核病態において遅延型過敏反応と細胞性免疫の誘導が重要であることを示した<sup>22</sup>。しかし、Lurieのウサギの近交系はすでに途絶えており、現在は非近交系のニュージーランドホワイト種が実験に用いられている。

ウサギは結核菌感染により、ヒト結核と同様の肉芽腫をつくり、空洞形成を含む肺結核の進行をステージごとに再現することができる<sup>21,23</sup>。近年、Dartoisらは質量分析イメージング技術の併用により、肉芽腫内の薬剤、菌体、免疫細胞の空間分布を可視化することによって、新規薬剤やレジメンの探索におけるウサギモデルのさらなる可能性を示した<sup>24,25</sup>。また、菌株により異なる感受性を示すことから、空洞形成を含む活動性結核のほか、潜在性結核感染症 (LTBI)、脊髄結核、

結核性髄膜炎のウサギモデルも確立されている<sup>26-28</sup>。

## サルモデル

ほかのどの動物種よりもヒトに類似するサルは、感染症研究において重要な動物である<sup>29</sup>。1970年代に、アカゲザルにBCGを静脈投与することによって結核の進行を抑制した報告があり<sup>30</sup>、さかんにサルを用いたBCGワクチンの効果に関する研究がなされた。一時は下火になった結核サルモデルは、Walshらの研究により再び注目され<sup>31</sup>、ワクチン開発だけでなく免疫学的病態の理解へとその価値を広げた。

結核サルモデルには、マカク属カニクイザルまたはアカゲザルが用いられる。菌株、用量、感染経路などでいずれのサルも、さまざまな病態の結核を再現する<sup>32</sup>。乾酪壊死病巣やまれに線維化、空洞化も見られ、ヒト結核で見られるほとんどすべての肉芽腫病変を再現することができる<sup>30-35</sup>。Capuanoらは、カニクイザルを用いて、初めてLTBI動物モデルを確立した<sup>36,37</sup>。このモデルでは、低用量（~25 CFU）の結核菌を気管支鏡で感染させると、臨床症状は示さなくとも感染後3週間で壊死を伴う肉芽腫が形成された。また、活動性結核群とLTBI群の間に結核免疫において最も重要なサイトカインであるIFN- $\gamma$ の放出量に有意な差が確認された。アカゲザルはカニクイザルに比べ比較的感受性のため、活動性結核の研究に使われることが多い。

サルモデルは、咳や体重減少など一般的な結核の臨床症状を示し、特異的抗原反応の指標としてツベルクリン反応、サル専用IFN- $\gamma$ 放出試験（PRIMAGAM）を利用することができる<sup>38</sup>。また、胸部エックス線、CT、MRIなどヒト医療で用いられるイメージング技術の併用により感染動物のモニタリングが容易である<sup>39</sup>。さらに、サル免疫不全ウイルス（SIV）を感染させたマカク属は古くからHIV/AIDSモデルとしても研究されている。結核菌感染後にSIVを感染させると、再燃が誘導されることが報告された<sup>40,41</sup>。このTB/HIVモデルにより再燃メカニズムの解明がすすみ、再燃を抑制できる新規LTBI治療法と予防的治療薬の開発が期待されている。🐒

## 参考文献

1. Medina E, et al. *Immunology*. 1998;93 (2) :270-4.
2. Kamath AB, et al. *Infect Immun*. 2003;71 (7) :4112-8.
3. Pan H, et al. *Nature*. 2005;434 (7034) :767-72.
4. Marquis J, et al. *J Immunol*. 2009;182 (6) :3757-67.
5. Rhoades ER, et al. *Tuber Lung Dis*. 1997;78 (1) :57-66.
6. Irwin SM, et al. *Dis Model Mech*. 2015;8 (6) :591-602.
7. Rosenthal IM, et al. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56 (8) :4331-40.
8. Irwin SM, et al. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58 (7) :4026-34.
9. Lanox JP, et al. *Dis Model Mech*. 2015;8 (6) :603-10.
10. Smith DW, et al. *Am J Pathol*. 1977;89 (1) :273-6.
11. Smith DW, et al. *J Bacteriol*. 1966;91 (2) :718-24.
12. Turner OC, et al. *Infect Immun*. 2003;71 (2) :864-71.
13. Basaraba RJ, et al. *Tuberculosis (Edinb)*. 2006;86 (5) :386-94.
14. Palanisamy GS, et al. *Tuberculosis (Edinb)*. 2008;88 (4) :295-306.
15. Kato-Maeda M, et al. *Clin Vaccine Immunol*. 2012;19 (8) :1227-37.
16. Dascher CC, et al. *Int Immunol*. 2003;15 (8) :915-25.
17. Shang S, et al. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55 (1) :124-31.
18. Lenaerts AJ, et al. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51 (9) :3338-45.
19. Lurie MB, et al. *J Exp Med*. 1952;95 (2) :119-34.
20. Lurie MB. *Resistance to Tuberculosis*. 1964.
21. Lurie MB, et al. *Bacteriol Rev*. 1965;29 (4) :466-76.
22. Yamaguchi M, et al. *Kekkaku*. 1958;33 (1) :12-6.
23. Dannenberg AM Jr, et al. *Tuberculosis and Nontuberculous Mycobacterial Infections*. 4th ed. 1999:17-47.
24. Blanc L, et al. *Anal Chem*. 2018;90 (10) :6275-82.
25. Blanc L, et al. *Elife*. 2018;7:e41115.
26. Manabe YC, et al. *Tuberculosis (Edinb)*. 2008;88 (3) :187-96.
27. Liu X, et al. *J Infect Dis*. 2015;68 (2) :89-97.
28. Tsenova L, et al. *J Infect Dis*. 2005;192 (1) :98-106.
29. Carlsson HE, et al. *Am J Primatol*. 2004;63 (4) :225-37.
30. Barclay WR, et al. *Infect Immun*. 1970;2 (5) :574-82.
31. Walsh GP, et al. *Nat Med*. 1996;2 (4) :430-6.
32. Francis J, et al. *Tuberculosis in animals and man: a study in comparative pathology*. 1958.
33. Thoen CO. *The American Society for Biology*. 1994:157-62.
34. Good RC. *Academic Press*. 1973:39-60.
35. Capuano SV 3rd, et al. *Infect Immun*. 2003;71 (10) :5831-44.
36. Lin PL, et al. *Infect Immun*. 2009;77 (10) :4631-42.
37. Sharpe SA, et al. *PLoS One*. 2017;12 (3) :e0171906.
38. Dutta NK, et al. *J Infect Dis*. 2010;201 (11) :1743-52.
39. Lewinsohn DM, et al. *Microbes Infect*. 2006;8 (11) :2587-98.
40. Foreman TW, et al. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016;113 (38) :e5636-44.
41. Diedrich CR, et al. *Plos one*. 2010;5 (3) :e9611.