

学 位 論 文 題 名

鶏における高度病原性トリインフルエンザ
ウイルス感染症の病理形態学的研究

学位論文内容の要旨

トリインフルエンザウイルスはA型インフルエンザウイルスに属し、エンベロープに埋め込まれた2種の異なる糖蛋白、すなわち、赤血球凝集素（HA）およびノイラミニダーゼ（NA）の抗原特異性に基づいて、それぞれH1～14およびN1～9の亜型に分類される。これまでに発生のみられた高度病原性トリインフルエンザウイルス感染症の原因ウイルスは、H5あるいはH7亜型に限られている。高度病原性トリインフルエンザウイルスの病原性については、ウイルス学的あるいは分子生物学的に良く研究されている。*in vitro*ではトリプシン無添加条件下におけるウイルスHAのHA1とHA2への開裂能がその病原性と関連する。すなわち、開裂部位のアミノ酸配列とその近傍の構造に病原性は依存している。しかしながら、高度病原性トリインフルエンザウイルス感染症の宿主体内での病理発生は明確にされていない。また、高度病原性トリインフルエンザウイルス感染症の病理発生を、免疫組織学的手法を用いて検討した少数の報告では、すべてH5亜型のウイルスのみが使用され、H7亜型の高度病原性トリインフルエンザウイルスを用いた検討はなされていない。

高度病原性トリインフルエンザウイルス感染鶏および七面鳥では、中枢神経系の障害が共通する組織病変の1つとされている。この病変は巣状壊死、血管周囲リンパ球浸潤、血管—グリア反応、および神経細胞の変性・壊死を特徴としている。しかしながら、高度病原性トリインフルエンザウイルス感染に起因する中枢神経障害の、病理発生に関する研究は乏しい。

本研究では、H5およびH7亜型の高度病原性トリインフルエンザウイルスを鶏に接種し、中枢神経系を含めた全身の病態と、その病理発生を形態学的に明らかにした。

第1章では、高度病原性トリインフルエンザウイルス A/turkey/England/50-92/91 (H5N1) 株を鶏に接種し、その病態を明らかにした。実験はこのウイルスを6週齢のSPF鶏10羽に経鼻・経口接種し、これらを病理学組織学的ならびに免疫組織学的に検索した。

実験鶏は、ウイルス接種後25および39時間の甚急性の経過でそれぞれ1羽が死亡した。これらの症例では、組織学的に肺の鬱血水腫、全身性鬱血、多発性出血、血栓形成および核崩壊産物の血管壁への付着を伴う全身の血管、特に毛細血管および小血管の内皮細胞の腫大が認められた。ウイルス抗原は、主に肺の呼吸毛細管上皮／毛細血管内皮細胞、全身の血管の内皮細胞および心筋細胞に認められた。他の8羽は、接種後2日ないし5日の間に急性経過で死亡した。これらの症例における病変は、ウイ

ルス抗原を伴う内臓諸臓器・組織，中枢神経系，骨格筋および肉冠・肉垂を含む皮膚における変性・壊死性変化および炎症性変化であった。また，これらの症例においては，甚急性の経過で死亡した症例と同様の血管病変に加え，血管周囲組織の変性・壊死性変化および炎症性変化がウイルス抗原の血管周囲組織への波及に伴って所見された。さらに，ウイルス抗原は全症例の心筋細胞に広範に検出された。以上の結果から，鶏における A/turkey/England/50-92/91 (H5N1) 株感染症では，心臓血管系の障害が本症の病理発生として極めて重要であることが指摘された。また，甚急性の経過で死亡した症例においては，心臓血管系の障害とウイルスによる直接的な肺実質障害の結果として誘発された肺の鬱血水腫が，致死要因として注目された。

第2章では，鶏における H7 亜型の高度病原性トリインフルエンザウイルス A/chicken/Victoria/1/85 (H7N7) 株感染症の病態を明らかにした。実験は，このウイルスを6週齢の SPF 鶏 10 羽に経鼻・経口接種し，これらを病理学組織学的ならびに免疫組織学的に検索した。

ウイルス接種後2日から5日の間に全実験鶏が死亡した。病変は血管病変と内臓諸臓器・組織，リンパ性器官，中枢神経系，骨格筋，および肉冠・肉垂を含む皮膚の様々な程度の変性・壊死性変化ならびに炎症性変化からなっていた。血管病変は毛細血管および小血管で特に顕著な内皮細胞の腫大，全身性鬱血，多発性出血および血栓形成で構成され，これらは全症例の全身諸臓器・組織で様々な程度に所見された。接種後2日ないし3日に死亡した症例では，ウイルス抗原が血管内皮細胞の核内および細胞質内に認められたが，接種後4日ないし5日に死亡した症例では，ウイルス抗原が血管周囲組織へ波及し，これに伴って血管内皮細胞の陽性反応は著しく減弱していた。また，ウイルス抗原は全症例の心筋細胞に広範に検出された。その他の諸臓器・組織の変性・壊死性および炎症性変化は，ウイルス抗原に概ね関連して認められ，それらは接種後日数に比例して強くなる傾向を示した。以上の結果から，H7 亜型のウイルス感染症においても，ウイルスの血管内皮細胞および心筋細胞への感染に起因する直接的な心臓血管系の障害，および血管のウイルス感染に引き続いて起こるウイルスの血管周囲組織への波及が，本症の病理発生として重要視された。

第3章では，高度病原性トリインフルエンザウイルス感染症に共通して認められる，中枢神経系障害の病理発生を検討した。実験は6週齢の SPF 鶏に高度病原性トリインフルエンザウイルス A/turkey/England/50-92/91 (H5N1) 株，A/chicken/Victoria/1/85 (H7N7) 株，ならびに A/tern/South Africa/61 (H5N3) 株を経鼻・経口接種し，これらの中枢神経系病変を病理組織学的ならびに免疫組織学的に比較，検討した。

3 株のウイルス接種鶏群すべてにおいて，接種後7日以内に大部分の症例が死亡した。生存鶏は接種後2週目に安楽殺された。組織病変およびウイルス抗原の中枢神経系内発現様式は，3種類のウイルス接種群とも類似していた。すなわち，組織学的には，ウイルス接種後3日以内に死亡した症例においてさえ，多発性ミクログリア結節および巣状壊死が認められた。ウイルス接種後4日ないし7日に死亡した症例では，これらの病変に加えて脳室炎が顕著であった。この脳室炎は脳室周囲脳実質の壊死性および炎症性変化を伴って所見された。多発性ミクログリア結節および巣状壊死は，中枢神経系にランダムに分布し，ときに血管に近接して認められた。免疫組織学的には，ウイルス接種後3日以内に死亡した症例の血管内皮細胞，ミクログリア結節および壊死巣を構成する細胞ならびに血管周囲の脳実質細胞にウイルス抗原が発現してい

た。また、感染の比較的早期から脳室上皮細胞にウイルス抗原が発現し、これに後続して脳室上皮下の神経細胞およびグリア細胞にウイルス抗原が認められた。以上の結果より、血管内皮細胞へのウイルス感染と、これよりやや遅れて起こる脳室上皮細胞へのウイルス侵襲が、高度病原性トリインフルエンザウイルス感染症の中樞神経系障害の病理発生として重要であると解された。

学位論文審査の要旨

主査	教授	板倉	智敏
副査	教授	橋本	晃
副査	教授	喜田	宏
副査	教授	岩永	敏彦

学位論文題名

鶏における高度病原性トリインフルエンザ ウイルス感染症の病理形態学的研究

申請者は、H5 および H7 亜型の高度病原性トリインフルエンザウイルスを鶏に接種し、中枢神経系を含めた全身の病態と、その病理発生を明らかにした。

H5 亜型の高度病原性トリインフルエンザウイルス A/turkey/England/50-92/91 (H5N1) 接種鶏のうち、甚急性の経過で死亡した症例は、肺の鬱血水腫、全身性鬱血、多発性出血、血栓形成およびウイルス抗原を伴った血管内皮細胞の腫大を示した。接種後 2 ～ 5 日の間に死亡した症例では、血管周囲組織の変性・壊死性変化および炎症性変化がウイルス抗原の血管周囲組織への波及に伴って所見された。また、ウイルス抗原は全例の心筋細胞においても検出された。以上の結果から、心臓血管系の障害が本症の病理発生として重要であることが指摘された。

H7 亜型の高度病原性トリインフルエンザウイルス A/chicken/Victoria/1/85 (H7N7) 接種鶏も、前述の H5 亜型ウイルス接種鶏と基本的には同様の病変を示した。

以上の 2 株および A/tern/South Africa/61 (H5N3) 株のインフルエンザウイルスを接種した鶏の中枢神経系における病変とウイルス抗原の発現様式は類似していた。すなわち、病変は多発性ミクログリア結節、巣状壊死、脳室炎を特徴としていた。ウイルス抗原は、接種後 3 日以内の死亡例では、血管内皮細胞、ミクログリア結節および壊死巣の構成細胞、血管周囲の脳実質細胞に主座して観察された。また、感染の比較的早期から脳室上衣細胞にウイルス抗原が発現し、これに後続して脳室上衣下の実質細胞にウイルス抗原が認められた。以上の結果より、血管内皮細胞へのウイルス感染と、これよりやや遅れて起こる脳室上衣細胞へのウイルス感染が、本症の中枢神経系障害の病理発生として重要視された。

以上のように、申請者は本症の病態を明らかにするとともに、その病理発生的一端を明らかにした。この成果は、本症の本態の究明に大きく貢献する。よって審査員一同は、古林与志安氏が博士（獣医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。