

学位論文題名

強毒インフルエンザウイルス感染による
脳炎／脳症の実験病理学研究

学位論文内容の要旨

1918年に世界中で大流行したインフルエンザウイルス(スペイン風邪)は世界各地で猛威を振るい、2000万人以上の命を奪った。また、1997年香港ではニワトリの間でインフルエンザウイルスが大流行し、その後、同じ亜型(H5N1)のウイルスがヒトからも分離され、トリからヒトへの直接伝播が疑われるようになった。これらの強毒インフルエンザウイルスは何れも病原性が高いが、トリと哺乳動物の間では全く異なる病態を示す。つまり、トリでは全身感染を起こすのに対して、ヒトを含む哺乳動物では肺炎と脳炎が主な病理所見である。何れの感染例においても甚急性の経過を示し、死亡率が高いため予防および治療は難しい。また、その病変発生機序については十分に研究されていない。本研究では、まず、強毒インフルエンザウイルスをニワトリ胚およびマウスに感染させ、ウイルスのターゲット細胞並びに脳炎の発生機序の違いを比較した。また、神経病原性インフルエンザウイルスがCNSで持続感染能力を獲得できるかどうかについて検討した。

第I章では、病原性の異なる強毒ウイルス A/tern/South Africa/61 (H5N3), A/whistling swan/Shimane/499/83 (H5N3; 24a5b), A/Hong Kong/483/97 (H5N1), A/Hong Kong/156/97 (H5N1) と弱毒ウイルス A/duck/Pennsylvania/10128/84 (H5N2) をニワトリ胚の尿膜腔内に接種し、感染初期のターゲット細胞並びにニワトリ胚の死因について調べた。その結果、強毒ウイルスは最初に血管内皮細胞で増殖し、その後、全身の実質細胞に感染していた。これに対して、弱毒ウイルスは尿膜上皮細胞には感染したが、血管内皮細胞および実質細胞には増殖しなかった。また、強毒ウイルスに感染したニワトリ胚に尿膜の破綻や播種性血管内凝固を示唆する病理所見がみられなかったことから、強毒ウイルスに感染したニワトリ胚の直接的な死因は、血管内皮細胞への初期感染後急速に拡大した全身性ウイルス感染が原因であると考えられた。

第II章では、神経病原性インフルエンザウイルス A/Hong Kong/483/97 (H5N1; HK483) を用いて BALB/c マウスの CNS への侵入経路について検索した。ウイルス感染マウスの主な病理組織学的所見は、気管支炎、気管支間質性肺炎、神経節炎および脳幹部と胸髄に主座する非化膿性脳炎および非化膿性脊髄炎であった。ウイルス抗原は中枢神経組織より先に、あるいは同時期に翼口蓋神経節、三叉神経節および迷走神経近位神経節に検出された。この結果から、HK483 が呼吸器粘膜で増殖した後、遠隔に存在する三叉神経、迷走神経の両者またはいずれか一方の求心性神経を上行して脳に侵入することが示唆された。さらに、脊髄ではウイルス抗原が胸髄前部に最も早く検出されたほか、近隣の交感神経幹神経節および

脊髄背根神経節にもウイルス抗原が検出されたことから、肺で増殖したウイルスが心肺内臓神経を上行し、交感神経幹神経節および脊髄背根神経節を經由して胸髄前部に到達すると推察された。また、感染初期の嗅粘膜並びに嗅球においてウイルス抗原が検出されたことから、嗅神経を經由した脳内侵入経路も存在した。この実験によって、これまで報告された迷走・舌咽神経を經由して脳幹に侵入する経路に加えて、新たに嗅神経、心肺内臓神経または交感神経を上行して胸髄に侵入する経路が存在することがわかった。

第 III 章では、神経病原性インフルエンザウイルス A/whistling swan/Shimane/499/83 (H5N3; 24a5b) がマウスの CNS で持続感染するか否かについて検討した。ウイルス接種 20 日後の感染耐過マウスをデキサメタゾン (DEX) 投与群と DEX 非投与群に分け、ウイルス接種後 48 日目まで経時的に病理組織学的検索を実施した結果、軽度の間質性肺炎および非化膿性脳脊髄炎が認められたほか、脳幹と脊髄においてウイルス抗原がウイルス接種 48 日まで少数例から検出された。また、RT-PCR 法では DEX 投与群において、ウイルス遺伝子 (HA, M, NP, NS, PA) が脳脊髄から持続的に検出された。一方、DEX 非投与群ではウイルス接種 20 日後の脳脊髄から M および NS 遺伝子が各 1 例で検出されたのみであった。以上の結果から、強毒インフルエンザウイルス感染マウスでは感染耐過後も中枢神経系にウイルス抗原、遺伝子および病変が残存し、免疫抑制状態ではウイルス遺伝子が高率に残存することが示唆された。

本研究の結果、強毒インフルエンザウイルスはニワトリ胚では最初に血管内皮細胞に増殖し、血行性に CNS に侵入するのに対し、マウスでは血管内皮細胞での増殖はみられず、神経向性に CNS へ侵入することが明らかになった。前者は、インフルエンザウイルスの関連が示唆されている小児型脳炎 / 脳症の病理発生に部分的に類似していた。また、後者では呼吸器粘膜で増殖したウイルスが嗅神経および末梢神経 (三叉神経、迷走神経、舌咽神経、心肺内臓神経) を經由して嗅球炎、脳幹脳炎並びに脊髄炎を起こしており、特に、病変の分布が脳幹領域に局在していたことからヒトの嗜眠性脳炎または von Economo 脳炎および脳炎後パーキンソン病にみられる脳幹部主座型の非化膿性脳炎に似ていることが推察された。また、神経病原性インフルエンザウイルスの抗原、ウイルス遺伝子の一部、および病変が感染耐過後免疫抑制したマウスの CNS で持続的に検出されたことから、インフルエンザウイルス感染と関連が疑われている脳炎後脳症の病理発生を検討するうえで貴重な実験モデルになりうると思われた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 梅 村 孝 司
副 査 教 授 喜 田 宏
副 査 教 授 岩 永 敏 彦
副 査 助 教 授 中 山 裕 之 (東京大学)

学位論文題名

強毒インフルエンザウイルス感染による 脳炎／脳症の実験病理学研究

強毒インフルエンザウイルスはニワトリとマウスに異なった中枢神経 (CNS) 病変を惹起するが、それらの病変発生機序は十分に研究されていない。本研究では、強毒インフルエンザウイルスをニワトリ胚およびマウスに感染させ、ウイルスのターゲット細胞並びに脳炎の発生機序の違いを比較した。また、強毒インフルエンザウイルスが持続感染するか否か検討した。

まず、ニワトリ胚では強毒ウイルスは血管内皮細胞で最初に増殖し、その後、全身の実質細胞に感染した。強毒ウイルスに感染したニワトリ胚の直接的な死因は、血管内皮細胞への感染後急速に拡大した全身性ウイルス感染であった。これらの所見は、血行性に脳へ到達した強毒インフルエンザウイルスが血管内皮細胞で増殖して脳血管関門を破壊し、その後、脳実質を冒すというニワトリでの成績とほぼ一致していた。

つぎに、強毒インフルエンザウイルスを用いて BALB/c マウスの CNS への侵入経路について検索した。ウイルス抗原は中枢神経組織より先に、あるいは同時期に翼口蓋神経節、三叉神経節および迷走神経近位神経節で検出された。脊髄ではウイルス抗原が前部胸髄に最も早く検出されたほか、近隣の交感神経幹神経節および脊髄背根神経節にもウイルス抗原が検出された。また、感染初期の嗅粘膜並びに嗅球においてウイルス抗原が検出された。この実験によって、これまで報告された迷走・舌咽神経を経由して脳幹に侵入する経路に加えて、嗅神経、心肺内臓神経および交感神経を上行して胸髄に侵入する経路が存在することが新たにわかった。

最後に、強毒インフルエンザウイルスがマウスの CNS において持続感染するか、また、持続感染はマウスへの免疫抑制に影響されるか否かを検討した。その結果、免疫抑制群と非抑制群において、脳幹と脊髄に軽度の非化膿性脳脊髄炎およびウイルス抗原が接種後 48 日まで認められ、また、RT-PCR 法では HA, M, NP, NS, PA および PB1 遺伝子が脳脊髄から検出された。以上の結果、免疫抑制処置をしなくても、強毒インフルエンザウイルスがマウスの CNS に持続感染することが明らかになった。

本研究により、強毒インフルエンザウイルスのニワトリ胚およびマウスに対する病原性発現機序の一端が明らかにされた。また、強毒インフルエンザウイルスがマウスの CNS で持続感染することが示された。本研究は、強毒インフルエンザウイルスの病原性に関する新しい知見を含んでおり、インフルエンザ脳炎/脳症の研究の進歩に貢献した。よって、審査員一同は朴 天鎬氏が博士(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る。