

学位論文題名

Establishment and Pathology of a Murine Model of Influenza Virus-Associated Encephalopathy

(インフルエンザ脳症マウスモデルの確立と病態解析)

学位論文内容の要旨

インフルエンザ脳症 (IAE) はインフルエンザウイルス感染に伴う致死的な中枢神経疾患の一つである。本疾患の死亡率は約30%と高く、神経学的後遺症が遺残すること多いため、効果的な治療・予防法の確立が急務である。IAEの特徴的な臨床所見はインフルエンザによる発熱の直後に現れる左右対称性の急性脳浮腫である。患者剖検例の病理組織学的検査では、脳血管の障害による血液脳関門 (BBB) の破綻が明らかであるため、急性経過での血管障害がIAEの基盤病変であると考えられている。しかし、IAEの発症メカニズムに関しては解明されていない点が多く、動物モデルもこれまでに報告されていない。患者の中枢神経系からはインフルエンザウイルスが分離されないことから、ウイルス感染による直接的な脳組織傷害が本疾患の原因である可能性は低いと考えられる。一方、患者の血液中にはTNF- α 、IL-1 β 、IL-6などの炎症性サイトカインの上昇が認められ、これら炎症性サイトカインの血中濃度とIAEの重篤度が比例することから、サイトカイン血症による急性の血管障害がIAEの原因であるという説が有力である。

インフルエンザ脳症の病理組織学的所見がエンドトキセミアによる脳症と類似することから、本論文の第1章では、インフルエンザAウイルス (IAV) 感染乳のみマウスへのリポポリサッカライド (LPS) 投与によるIAEモデルの作出を試みた。IAVとLPSを接種したマウス (IAV+LPS群) ではLPS単独接種群のマウスに比べ、神経病原性と脳血管透過性の亢進がより重度に発現することが分かった。病理組織学的検索では、IAV+LPS群の脳に微小出血、浮腫および好中球浸潤が認められ、同群マウスはIAEと同様の血管障害による脳症を示していた。同群マウスの血漿ではTNF- α 、IL-6の有意な上昇が見られ、これはIAE患者の血清学的検査所見に一致していた。また、IAV+LPS群マウスの脳にIAVの感染は認められなかった。以上のことから、IAV感染乳のみマウスはLPS接種によりIAE類似脳症を示し、IAEの病態モデルとなることが明らかにされた。

本論文の第2章では、IAV+LPS接種マウスにおけるIAE様脳病変の形成メ

カニズムを病理学的に解析した。IAV+LPS群マウスの脳ではIAVまたはLPS接種群と比べ、アポトーシス細胞の増加がみられた。アポトーシスは主に脳の血管周囲で見られ、その一部は血管内皮様の紡錘形細胞だった。また、アポトーシス陽性細胞の一部はアストロサイトのマーカーに対して陽性を示した。アストロサイトと血管内皮細胞はBBBの機能と密接に関係しており、これらの細胞のアポトーシスがIAE様脳病変を引き起こす一因になっていることが示唆された。IAE患者の脳グリア細胞や血管内皮細胞においてもアポトーシスの増加は観察されており、IAV+LPS接種マウスの脳症様病変はIAEと共通のメカニズムにより形成されることが示唆された。

本論文では、乳のみマウスにおいてIAVの肺感染がLPS誘発性の脳症および炎症性サイトカイン産生を増強させることを示した。同処置を行ったマウスの脳の病理組織像、血中サイトカイン動態およびウイルス分布はIAEの特徴に一致した。また、その脳症病変の形成には脳血管内皮細胞とアストロサイトのアポトーシスが関与しており、本実験のIAV+LPSマウスはIAEと共通のメカニズムにより脳症が形成されていると考えられた。IAV+LPSマウスでは血中サイトカイン濃度の上昇が脳におけるアポトーシス誘導の引き金となっていると考えられ、ヒトにおいても高サイトカイン血症による脳血管内皮細胞とアストロサイトのアポトーシスがIAEの原因となる可能性が示された。本マウスモデルはIAEの早期診断法と有効な治療法の開発に役立つことが期待される。

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 澤 洋 文
副 査 准教授 迫 田 義 博

学 位 論 文 題 名

Establishment and Pathology of a Murine Model of Influenza Virus-Associated Encephalopathy

(インフルエンザ脳症マウスモデルの確立と病態解析)

インフルエンザ脳症 (IAE) はインフルエンザウイルス感染に伴う小児の致死的な中枢神経疾患の一つである。IAE の発症メカニズムには不明な点が多く、動物モデルも報告されていない。本研究において申請者は IAE モデルマウスの作出とその病態解析を行った。

初めに、高サイトカイン血症が IAE の発症に関与するという疫学的なデータと、IAE の病理組織所見がエンドトキセミアによる脳症と類似することに基づき、インフルエンザ A ウイルス (IAV) 感染乳のみマウスへのリポ多糖体 (LPS) 接種により IAE モデルの作出を行った。本モデルマウスは IAE の特徴とされる血管傷害を伴う脳浮腫を示したことに加え、IAV が脳から検出されず、IAE の特徴に一致する病変を示した。また、同処置を行ったマウスは TNF- α 、IL-6 などのサイトカイン血症を示しており、これらサイトカインの誘導が IAE 様脳病変の原因となった可能性が考えられた。次に、この IAE 様脳病変における脳血管傷害の発生にサイトカイン血症を介したアポトーシスまたは血管内皮タイトジャンクション (TJ) の機能低下が関与している可能性を検討した。その結果、同マウスでは血管内皮細胞とアストロサイトのアポトーシスが有意に増加していたのに対し、TJ の機能低下を示唆する所見は見られなかった。このことから、血管内皮細胞とアストロサイトのアポトーシスによる脳血管透過性の亢進が IAE 様脳病変の形成に関与していると考えられた。アポトーシスの増加は IAE 患者でも観察されており、本モデルマウスの脳病変は IAE と共通のメカニズムにより形成されることが示唆された。

IAE に対する有効な予防法・治療法は現在まで確立されていない。本研究の IAE 様病態を示すモデルマウスは IAE の発症メカニズムの解明や新たな治療法の効果

を検討するのに有意義である。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者田中智久氏が博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。