





論文審査の要旨および担当者

学位申請者	君付 和範 (DV14002 獣医病理学)
学位論文題目	街上毒狂犬病ウイルス(1088 株)に感染したマウス の中枢神経系に関する病理組織学的研究
担当者	<div>主査 北里大学教授 胡 東良 </div> <div>副査 北里大学准教授 高野 友美 </div> <div>副査 北里大学准教授 吉岡 一機 </div> <div>副査 鳥取大学准教授 寸田 祐嗣 </div>

論文審査の要旨 (3,000 字以内)

狂犬病は狂犬病ウイルスに起因する人獣共通感染症である。狂犬病ウイルスは咬傷部位から体内に侵入し、その後軸索を利用して逆行性に中枢神経系 (CNS) に到達する。罹患動物は激しい神経症状を示して死に至る。また、近年、狂犬病患者の中に発病後に後遺症を残して生残する事例が報告されているが、これら狂犬病患者にみられる臨床症状や死を規定する要因については解明されていない。

狂犬病ウイルスは大きく固定毒と街上毒に大別される。固定毒は街上毒に比べヒトに対する感染リスクが低く、街上毒に類似した神経病原性を示すため、これまで多くの研究に用いられてきた。しかし、固定毒を利用した動物実験の成績は街上毒の病原性を直接的に反映するものではなく、狂犬病の病理発生機序を解明するためには街上毒を用いた実験病理学的アプローチが必須である。

そこで著者は、1970 年代にウッドチャックから分離された街上毒（1088 株）とその継代株（1088・N30 株および 1088・N4#14 株）を用いて感染実験を実施し、以下の成績を得た。

第 I 章 街上毒（1088 株）を末梢感染させたマウスの中樞神経系に関する病理組織学的研究

1088 株を *ddY* マウスに筋肉内接種し、経日的な臨床症状、中和抗体の推移および病理組織学的変化について調べた。その結果、感染初期に接種部位の筋線維に炎症とウイルス抗原陽性像が観察され、その後、主に知覚神経路を伝って CNS に到達することが明らかになった。CNS と脊髄神経節における主な組織変化は T リンパ球の浸潤、グリア細胞の活性化、神経細胞の変性壊死であった。特に、脊髄背根神経節（知覚神経）の神経節細胞において変性壊死や軸索の膨化・断片化が顕著であった。ウイルス抗原は脊髄背根神経節を始め、知覚神経路に沿って顕著に検出された。以上のことから、1088 株は知覚神経路を利用して CNS に到達した後、同部位に炎症や細胞死を引き起こしながらマウスを死に至らしめることが示唆された。

第 II 章 街上毒（1088 株）および継代株（1088・N30 株）感染マウスにおける中樞神経系病変に関する比較病理学的研究

狂犬病ウイルスは末梢感染により CNS で致死性の脳脊髄炎を引き起こすが、致死性はウイルス株により異なる。そこで、致死に関連する組織病変を明らかにするため、接種 11 日までに瀕死に陥る 1088（N0）株と接種 11 日後以降も生残する 1088・N30（N30）株をマウスの筋肉内に接種し、両者の組織病変の違いを比較検討した。その結果、いずれの接種群においても脊髄神経節細胞の変性、軸索の膨化・断片化などの組織変化が認められたが、N30 株接種群では接種 5 日後より脊髄神経節にリンパ球浸潤が認められた。接種 8 日後以降のウイルス感染細胞は N0 株

接種群の方が顕著に多く、接種 5 日後の T リンパ球浸潤は N30 株接種群の方が強いことが明らかになった。アポトーシスを呈する細胞は N0 株接種群の方が顕著であった。以上のことから、病原性の発現には CNS 内のウイルスの増殖、アポトーシス細胞の増加と感染初期のリンパ球浸潤が深く関与している可能性が示唆された。

第Ⅲ章 街上毒（1088 株）感染 BALB/c マウスおよびヌードマウスの中 枢神経系に関する比較病理組織学的研究

1088 株は感染初期に CNS への T リンパ球の浸潤を抑制しており、このことがその後の感染拡大と致死に深く関与していることが示唆された。そこで、T リンパ球が CNS におけるウイルスの増殖と組織病変に及ぼす影響を明らかにするために、免疫正常マウス（BALB/c）と免疫不全マウス（BALB/c *nu/nu*, ヌードマウス）を用いて両群における組織病変の違いを比較検討した。その結果、両群ともに、接種 7 日後から明瞭な神経症状がみられ、生存率に有意な違いは認められなかった。ウイルス抗原陽性細胞数は接種 5、8 日後のヌードマウスにおいて有意に増加していた。頭部組織におけるウイルス抗原の局在は、BALB/c では三叉神経節のみに、ヌードマウスでは三叉神経節のほか、洞毛、表皮、口腔粘膜から多数検出された。また、ウイルスに感染した脊髄背根神経節細胞は変性・壊死し、一部では神経食現象が観察された。以上の結果より、T リンパ球の欠損が CNS と末梢組織における感染を増強させていることが示唆された。

第Ⅳ章 1088・N4#14 株感染後に耐過したマウスの麻痺症状に関する組織 病理学的研究

狂犬病は致死率 100% の感染症として理解されているが、これまで 13 例が発病後に後遺症を残して生存している。後遺症は主に麻痺症状である。生残出来た理由や後遺症に関連した組織病変については分かってい

ない。1088 株から作出した弱毒株（1088・N4#14）をマウスの後肢筋肉に接種すると約半数が麻痺症状を残しながら耐過することが報告されている。そこで、麻痺症状を残して耐過したマウスと麻痺症状を残さず耐過したマウスの組織病変の違いについて比較検討した。CNS におけるウイルス抗原は接種 5 日後から 11 日後まで観察されたが、接種 30、63 日後では認められなかった。麻痺症状を発現した群の組織病変は知覚神経線維、脊髄、延髄、橋、中脳、視床における空胞形成と軸索変性であった。また、これらの病変部にはアストログリアが増生していた。また、麻痺症状群では、T リンパ球、B リンパ球の浸潤が強く、中和抗体価が上昇していた。以上のことから神経症状の原因は末梢神経と CNS における軸索損傷とその後の炎症反応が深く関与していることが示唆された。

以上、ウッドチャック由来の街上毒およびその継代株の感染実験を通して、①街上毒ウイルスに感染したマウスでは、主要な組織病変は知覚神経路に沿って形成される、②感染初期において CNS への T リンパ球浸潤がその後の感染拡大を抑制している、③T リンパ球の欠損が CNS および末梢組織への感染拡大に深く関与している、④耐過例にみられる麻痺症状は知覚神経線維、延髄、橋、中脳、視床における軸索損傷と炎症反応に起因する可能性がある、の病理発生機序に関する 4 点の成果が得られた。これらは狂犬病の臨床面に貢献できる基礎データとして注目されるものである。

著者のこれまでの研究に対する真摯な姿勢と高い学識が読み取れ、研究者として十分な資質を備えていると判断された。よって、本論文は博士(獣医学)の学位論文として価値あるものと認め、審査委員一同は合格と判定した。