

学位論文要旨

街上毒狂犬病ウイルス(1088 株)に感染したマウスの中樞神経系  
に関する病理組織学的研究

Histopathological Study on Central Nervous System in Mice  
Infected with Street Rabies Virus (1088 Strain)

北里大学大学院獣医学系研究科

獣医学専攻 博士課程

君付 和範

Kazunori KIMITSUKI

指導教授 小山田敏文

平成 29 年度

2017

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。

今回、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 中枢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、同部位において炎症や細胞死を引き起こしながら死に至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枢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、第Ⅱ章では、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内でのウイルスの増殖、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、第Ⅲ章では、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*, ノードマウス) 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 日後のノ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、ノ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明らかとなった。

#### 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、第Ⅳ章では、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。

以上の成果から、①街上毒ウイルスに感染したマウスでは、主な組織病変が知覚神経路に沿って形成されること、②感染初期に 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こと、③ T リンパ球の欠損が CNS 並びに末梢組織への感染拡大に深く関与すること、④耐過例にみられる麻痺症状が知覚神経線維、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示唆された。本研究によって、ウッドチャック由来の街上毒 1088 株の病理発生機序が明らかとなった。