

ウイルス性神経・精神神経疾患の発症機序の解析 —ボルナ病ウイルス

Analysis of Virus-related neurological and psychiatric diseases—Borna disease virus infection

斑目広郎¹, 西野佳以², 代田欣二²

¹麻布大学大学院獣医学研究科, ²生物科学総合研究所

Hiroo Madarame¹, Yoshii Nishino² and Kinji Shiota²

¹Graduate School of Veterinary Science, Azabu University, ²Research Institute of Biosciences, Azabu University

Abstract. The clinical disease and histopathological changes of the central nervous system of rats infected with two related Borna disease virus (BDV) variants, CRP3 (rat-adapted prototype variant) or CRNP5 (mouse-adapted variant) in two different strains of newborn rats (Lewis rats and Fischer 344 rats) and adult immunodeficient nude rats were investigated. In addition, the clinical disease and histopathology of the central nervous system of the nursing mothers of the above mentioned infected pups were also observed. Compared to newborn rats inoculated with CRP3, newborn Lewis and Fischer 344 rats inoculated with CRNP5 had more severe and rapid neurological signs, with more severe histopathological changes, mainly in the hippocampus. There was no evidence of encephalitis in either CRP3 or CRNP5 infection. In CRNP5 infection, pyramidal neurons of the hippocampus showed severe degeneration by day 20 p. i.. In CRP3 infection, the dentate gyrus had been destroyed and replaced with the glial cells by 6 weeks after inoculation. While, the dentate gyrus was intact by day 20 p. i.. Nude rats also showed the same tendency as the infected newborn rats, in neurological signs and histopathology of the brain for CRP3 and CRNP5. CRNP5-inoculated nude rats showed severe neurological signs by day 35-36 p. i. with severe neurological lesions in the hippocampus. On the other hand, CRP3-inoculated nude rats showed no apparent neurological signs by day 53 p. i., but with the degeneration of the neurons in the dentate gyrus and the pyramidal neurons of the hippocampus. Only one nursing mother of the CRNP5 infected newborn rats had nonsuppurative meningoencephalitis by 8 weeks. BDV-infected cells were identified by immunohistochemistry for BDV antigens. The antigens were detected mainly in the nuclei of the neurons of the dentate gyrus and the pyramidal neurons of the hippocampus. In the brain sample, virus titers were 1.2×10^7 TCID₅₀/g.

1. 目 的

ボルナウイルス (BDV) は非分節型のマイナス1本鎖のRNAウイルスで多くの動物に感染可能であり, 宿主域が非常に広いと考えられ, 感染した動物に多彩な神経症状 (ボルナ病) を引き起こす。これまでに分離されているボルナウイルスはウイルス遺伝子が動物種間で高度に保存されていることから,

ボルナ病の多様性はウイルス側の要因よりも宿主側に起因すると考えられてきた。本研究ではアミノ酸変異を伴う2遺伝子に差異があり発症機序が異なると予測される二つのウイルス株 (CRNP5株 (強毒株) とCNP3株 (標準株)) を用いて, 1. ラットにおける系統差, 2. ノードラットを用いたボルナ病発症における免疫応答の意義と3. 脳内接種新生仔ラット保育母ラットの脳病変について, 主に病理学的に比

較・解析を行った。

2. 方法

1. ラットにおける系統差を調べるために Lewis ラットと Fischer ラット (F344) 新生仔に 2×10^3 Focus Forming Unit (FFU) の CRP3 株と CRNP5 株を脳内接種した。陰性コントロールとしては同量のラットまたはマウス脳乳剤を接種した。ウイルス感染後の臨床症状を経時的に評価し、感染後経時的に海馬領域の病変を中心に中枢神経系病変を解析した。Lewis ラットについては、ウイルス接種後 CRNP5 株接種では1週と2週で各5匹材料採取を実施し、CRP3株接種では3週と6週で各4匹材料採取を実施した。F344 ラットについてはウイルス脳内接種後4日目から20日目まで4日おきに各ウイルスにつき3-4匹材料を採取した。

2. 成ヌードラット脳内に 2×10^3 Focus Forming Unit (FFU) の CRP3 株と CRNP5 株を脳内接種し、ウイルス感染後、各ウイルス株について6-7匹の臨床症状を経時的に評価し、感染後経時的に海馬領域の病変を中心に中枢神経系病変を解析した。陰性コントロール (7匹) としては同量の健常脳乳剤を接種した。臨床症状を評価し、一般状態が悪化し一部が瀕死となった時点で材料を採取した。CRNP5 株投与群においてはウイルス脳内接種後35, 36日目で材料を採取した。CRP3 株脳内接種については、ウイルス投与後53日目で実験を終了した。

3. 脳内接種新生仔ラット保育母ラット (Lewis ラットと F344 ラット) 感染実験として、1. で脳乳剤を接種した新生仔を保育していた母ラット (Lewis ラット2匹と F344 ラット6匹) を8週間にわたって臨床症状を評価し、中枢神経系病変を解析した。

3. 結果と考察

1. Lewis ラットでは CRNP5 株 (強毒株) では2週目には、CRP3 株 (標準株) では6週目には組織病変がアンモン角領域を中心に認められた。病変は CRNP5 株では海馬皮質で、CRP3 株では歯状回でより顕著であった。脳炎は観察されなかった。F344 ラットでも Lewis ラットと同様に二つの BDV 株脳内接種によ

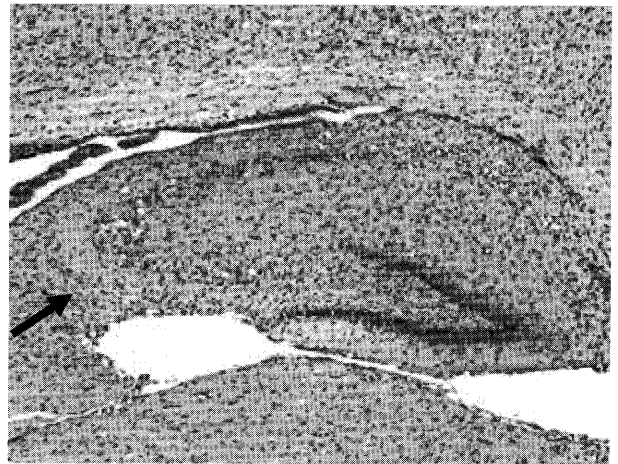


Fig. 1 CRNP5 infection, Lewis rat. Severe degeneration and loss of pyramidal neurons of the hippocampus (\uparrow). 14 d.p.i. H.E.

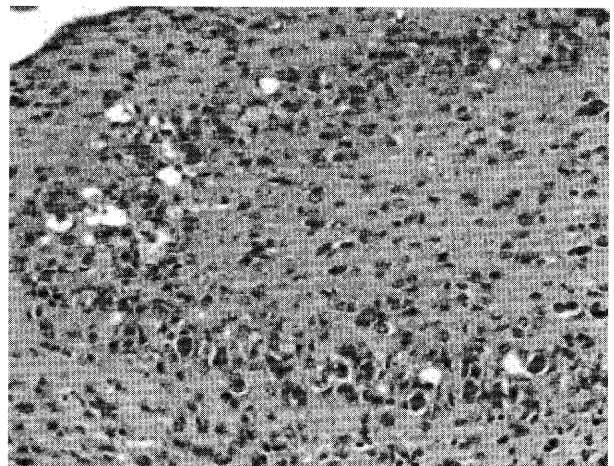


Fig.2 CRNP5 infection, Lewis rat. Severe degeneration and loss of pyramidal neurons of the hippocampus. 14 d.p.i. H.E.

り病原性に差異があることが確認された (1, 2)。CRNP5 株脳内接種 F344 ラット新生仔については2週間前後から運動障害が出現し、接種後20日目に症状の悪化により実験不可能と判断し全て採材した。一方、接種後20日目では CRP3 株接種群には明確な症状は出現していなかった。CRNP5 接種では組織病変はアンモン角領域を中心に認められた。海馬皮質神経細胞の障害が特に顕著であった (Fig.1 & 2)。脳炎は観察されなかった。接種後20日目までには CRP3 株接種では海馬を含め組織病変は明らかではなかった。

2. ヌードラットでは CRNP5 株投与群においては全個体がウイルス脳内接種後35, 36日目までに一般状

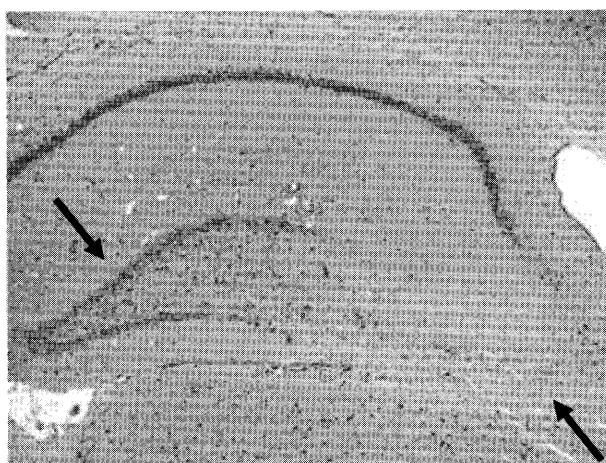


Fig. 3 CRNP5-inoculated nude rats, 35-36 d.p.i.. Degeneration and loss of the neurons in the dentate gyrus and the pyramidal neurons of the hippocampus (↑). H.E.

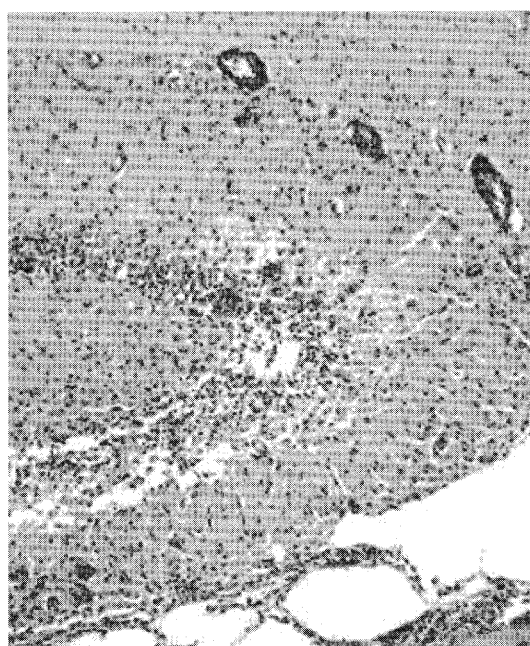


Fig. 4 Nursing mother of the CRNP5 infected newborn rats. Nonsuppurative meningoencephalitis. H.E.

態が悪化し一部は瀕死となった。一方、CRP3株脳内接種については、実験終了時点（ウイルス投与後53日）まで体重がコントロールと比較して少ない以外は重篤な症状を示さず、T細胞機能欠如ラットであるヌードラットにおいても両ウイルス株の病原性の差異が確認された。中枢神経系病変としては

CRNP5株では病変はアンモン角領域（海馬皮質、歯状回）を中心に認められ、脳炎は観察されなかった（Fig. 3）。CRP3株でも実験終了時点でアンモン角病変が認められ、病変は歯状回でより顕著であった。脳炎は観察されなかった。

3. CRNP5 ウイルスを脳内接種した仔ラットを保育していた母Lewisラット1例に新生仔ラット脳内にウイルス接種後、8週後に重篤な神経症状が発現した。ラットの脳病変は非化膿性髄膜脳炎であった（Fig. 4）。アンモン角領域での組織病変は歯状回でより重度であったが、海馬皮質と歯状回の神経細胞の核を主体に抗BDV抗体陽性所見が示された。脳材料から 1.2×10^7 TCID₅₀/g のウイルスが回収された。感染仔ラットの保育により母ラットに脳炎が起き、ウイルスが回収されることが確認された。尚、成ラットでは種々の投与ルートでのボルナウイルス感染実験が報告されているが、ウイルス鼻腔内接種による感染実験も報告されている。

4. 要 約

ボルナ病の症状の多様性に関連する宿主側とウイルス側の要因の存在が示された。

1. 系統の異なるラット（LewisラットとF344ラット）の新生仔脳内感染で、CRNP5株とCRP3株間で差異が認められた。
2. T細胞機能欠如ラットであるヌードラットにおいても両ウイルス株の病原性の差異が確認された。
3. CRNP5（強毒ウイルス株）を脳内接種した仔ラットを保育していた母ラット1例に非化膿性髄膜脳炎が認められた。

文 献

- 1) Nishino Y, Kobasa D, Rubin SA, Pletnikov MV and Carbone KM. J. Virol. 76: 8650-8658, 2002.
- 2) Carbone KM, Park SW, Rubin SA, Waltrip II RW and Vogelsang GB. J. Virol. 65: 6154-6164, 1991.
- 3) Gonzalez-Dunia D, Sauder C and De la Torre JC. Brain Res. Bull. 44: 647-664, 1997.