

審査の結果の要旨

氏名 大口 敦子

脳心筋炎ウイルス (Encephalomyocarditis virus, EMCV ; 現在は「カルディオウイルス A」
と呼称) はピコルナウイルス科カルディオウイルス属の一本鎖 RNA ウイルスで、自然宿主はマ
ウスやラットなどのげっ歯類とされているが、豚や非ヒト霊長類を初め様々な動物種に感染し心
筋炎を誘発する。EMCV はマウスにおける臓器親和性にもとづき E 株 (神経親和性) と M 株
(心筋親和性) に分けられ、M 株はさらに糖尿病誘発性の D 株 (EMCV-D) と非誘発性の B 株
に分けられる。EMCV-D 接種マウスはウイルス性糖尿病のモデルとして盛んに用いられている。
また、EMCV 感染は Type 1 Interferon (IFN) の発現を強く誘導することから、ピコルナウイ
ルスの臓器親和性は各臓器のウイルスレセプターに加え IFN 応答によっても規定されるともい
われている。一方、EMCV-D の標的臓器としては膵臓、中枢神経、心臓および精巣が知られて
いる。耳下腺と涙腺への感染の報告もあるが詳細は明らかではない。マウスの耳下腺と涙腺は漿
液性外分泌腺で、EMCV-D によって惹起される組織学的変化ばかりでなく IFN 応答などの抗ウ
イルス反応の比較検討に有用であると考えられる。本研究は、自然感染経路と考えられる経鼻接
種により惹起される耳下腺および涙腺の病変の詳細を明らかにし、両腺組織で抗ウイルス反応を
比較することで EMCV-D の臓器親和性に関する新たな知見を得ることを目的として行ったもの
である。

第 1 章では耳下腺を含む唾液腺および涙腺における病変発現様式について、EMCV-D 誘発糖
尿病感受性の異なる 3 系統のマウス (C57BL/6 : 低感受性、BALB/c : 中感受性、DBA/2 : 高感
受性) に、高用量 (10^5 PFU/mouse) または低用量 (10^2 PFU/mouse) の EMCV-D を接種し、
唾液腺 (耳下腺、顎下腺、舌下腺)、眼窩内/外涙腺、ハーダー腺の病理組織学的変化を検索した。
その結果、EMCV-D は耳下腺と涙腺の腺房細胞のみに病変を形成することが明らかになった。
マウス系統間の病変の程度差は EMCV-D 誘発糖尿病の感受性差と同様であった。したがって、
第 2 章以降の実験は耳下腺と涙腺の病変の差が最も明瞭であった低用量の EMCV-D 接種
DBA/2 マウスを用いた。

第 2 章では EMCV-D 接種 DBA/2 マウスの耳下腺及び涙腺におけるウイルス RNA 発現と病変
の推移について半定量 RT-PCR 法により経時的に検索した。その結果、ウイルス RNA の発現量
は接種後 4 日 (DPI) がピークで、涙腺が耳下腺より多かった。病理組織学的には、耳下腺では
2 DPI、涙腺では 3 DPI から腺房細胞の核濃縮が出現し、4 DPI にはその数が増加し、その程度
は涙腺が耳下腺より顕著であった。7~14 DPI には耳下腺では病変が収束したが、涙腺では腺房

が消失し管腔構造が観察された。以上のことから、EMCV-D 接種マウスのウイルス RNA の発現量と病理組織学的変化の程度は、涙腺が耳下腺より高度であることが明らかとなった。

第 3 章では、第 2 章で観察された腺房細胞の核濃縮というアポトーシスを示唆する所見の意義を明らかにするため、EMCV-D 接種 DBA/2 マウスの耳下腺および涙腺におけるウイルス RNA 発現分布及び組織学的変化を詳細に検索した。*in situ hybridization* の結果、EMCV-D の RNA は、耳下腺、涙腺ともに腺房細胞のみに発現し、病理組織学的変化の分布と一致していたことから、腺房細胞の病変は EMCV-D の感染により惹起されたことが確認された。病変部における腺房細胞の濃縮核は TUNEL 法、Cleaved-caspase3 の免疫染色に陽性で、電顕観察でもアポトーシス小体が認められた。腺房細胞のアポトーシスは耳下腺が涙腺より早期に出現した。以上のことから、耳下腺ではアポトーシスによる EMCV-D 感染細胞の早期排除がその後の病変を抑制したと考えられ、耳下腺および涙腺の病態の進展にアポトーシスが重要な役割を果たしていることが明らかになった。

感染細胞のアポトーシスは Type 1 IFN によって誘発されることを考慮し、第 4 章では EMCV-D 接種マウスの耳下腺と涙腺における Type 1 IFN 産生に関わる因子の変動を検索した。半定量 RT-PCR の結果、耳下腺では IFN-stimulated genes (ISGs) の発現が 2 DPI に誘導されたことから、これらがウイルス増殖抑制とアポトーシスによる感染細胞の排除に寄与したと考えられた。これに対し、涙腺では IFN α および β の mRNA が 1 DPI に発現した後、2 DPI には観察されず、3 DPI に再び発現した。ISGs の発現は 3 DPI 以降にのみみられた。以上のことから、涙腺では 2 DPI の IFN 産生の抑制が顕著なウイルス増殖と病理組織学的変化を引き起こすと考えられた。

以上、本研究の結果から、EMCV-D は耳下腺と涙腺の腺房細胞に親和性を有し、腺房細胞のアポトーシスを誘発すること、および耳下腺と涙腺の病変の差は両腺組織間の IFN 経路の活性化の差に起因することが想定された。本研究の成果は、ウイルス感染に対する臓器および細胞の感受性差を解明する上で極めて有用な情報を提供すると考えられ、IFN 産生経路の活性化によるウイルス性疾患の治療につながる可能性が期待される。よって、審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。