

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 蘇 維 萍

脳心筋炎ウイルス（EMCV）は幼豚の致死性心筋炎および妊娠豚の胎仔死亡や流産の原因として重要である。小型げっ歯類も感受性を示すが、成熟ラットだけは感受性を示さない。申請者はこれまでに新生ラットはEMCV-D株（EMCV-D）に感受性があることを示している。そこで、本研究では、まず、ラット由来神経系培養細胞株のEMCVに対する感受性の有無を検討し、ついで、ラット脳のEMCV感染に対する感受性の日齢に伴う変化を調べた。

1) EMCVに対するPC12細胞とC6細胞の感受性

ラット副腎褐色細胞腫由来PC12細胞と神経膠細胞腫由来C6細胞のEMCVに対する感受性を調べた。PC12細胞はNGF処置により神経細胞の特性を発現する。NGF処置または無処置の細胞にEMCV-Dを接種し、ウイルス力価および細胞の形態変化を検索した。その結果、NGF無処置PC12細胞ではウイルス増殖および細胞形態変化が認められなかったのに対し、NGF処置PC12細胞ではウイルス力価が増加して細胞内にウイルス抗原が認められ、細胞の変性壊死もみられた。C6細胞では、NGF処置の有無に拘わらず、ウイルス力価はごく軽度に増加し、細胞内ウイルス抗原も散見された。したがって、NGF処置PC12細胞およびC6細胞はEMCV-Dに感受性を示すことが示された。

2) EMCVに対するラット脳の感受性

若齢ラットにEMCV-Dを接種し、病変とウイルス増殖を検索した。腹腔内接種すると、2日齢接種群のすべての動物および4日齢接種群の25%の動物が接種6日後までに死亡した。14日齢以前の接種群では、脳にウイルス増殖と病変が観察され、ウイルスRNAも検出された。14日齢接種群の脳病変は7日齢以前の接種群と比較して軽度であった。28および56日齢接種群ではウイルス増殖も病変形成も観察されなかった。これに対し、脳内接種では7日齢以前の接種群で接種6日後までにすべての動物が死亡し、14日齢以前接種群の全個体および28日齢接種群の一部の脳で、ウイルス増殖および病変形成が認められた。56日齢接種群では、接種3日後まで一部の個体の脳でウイルスの増殖が認められたが、病変は観察されなかった。こうした日齢に伴うラット脳のEMCVに対する感受性の低下は神経系の成熟に伴う神経細胞自体の性状の変化に起因する可能性が高いことが示された。

3) EMCVに対するラット海馬培養組織片の感受性

若齢のラットの海馬組織片培養系を用い、EMCV感受性について検討した。ウイルス増殖は1～28日齢の海馬組織で認められ、ウイルス力価は1日齢の組織および培地で最も高かった。ウイルス力価のピークは日齢に伴って減少し、56日齢ではウイルス増殖はほとんど認められなかった。1～28日齢由来海馬組織で神経細胞の変性壊死が見られ、ウイルスRNAと抗原が海馬組織で認められたが、これらも日齢に

に伴い減少した。以上の結果から、ラット脳におけるEMCV感受性の日齢依存性低下は神経細胞自体の成熟と関連することが確認された。

4) EMCVに対する初代培養海馬神経細胞の感受性

若齢のラット初代培養海馬神経細胞のEMCV-Dに対する感受性を検索した。10⁶PFUと10⁵PFUの両接種群でウイルスRNAおよび抗原陽性細胞の数と染色強度はラットの日齢に伴い減少した。10⁶PFU接種群は10⁵PFU接種群より陽性細胞の出現が早く、その数と染色強度も増加した。また、10⁶PFUを接種した1日齢と56日齢海馬細胞を比較したところ、感染1~2時間後の細胞内ウイルス力価は前者で高く、培地のウイルス力価は後者で高かった。また、前者では1時間後に神経細胞体の表面にウイルスRNAのシグナルが認められ、2.5時間後に胞体内にウイルスRNAが認められたが、後者では1時間後のウイルスRNAシグナルは認められなかった。ただし、感染後期には後者でも前者と同様のウイルス増殖が観察された。これらの所見から、日齢に伴うEMCVに対する神経細胞の感受性の低下は、ウイルス増殖能の低下によるのではなく、神経細胞表面のウイルス受容体の数と親和性の低下によるものであると思われる。

本研究の結果から、ラットの神経細胞はEMCVに対する感受性を有してはいるものの、その感受性は日齢がすすむにつれ低下することが示された。この現象は神経細胞の成熟に伴ってウイルス受容体の数と親和性が減少するためと考えられた。本研究はEMCVの神経細胞に対する感受性と日齢との関係を明確にし、本ウイルスの防御において極めて有用な成果であると考えられた。したがって、審査委員一同は申請者が博士（獣医学）の学位を授与されるにふさわしいと判断した。