

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 朴 商鎮

ノロウイルスはカリシウイルス科ノロウイルス属に属するプラス鎖 single strand RNA ウィルスで、ウィルス粒子は正 20 面体で、直径は約 30nm の小さなウィルスである。5つの genogroup に分類されており、ヒト、ウシ、ブタ、マウスからウィルスが分離、報告されている。ヒトノロウイルス (HNV) は、非細菌性急性胃腸炎の主要な原因として知られ、全世界で流行している。死に至ることはほとんど無いが、激しい下痢や嘔吐は公衆衛生上の問題となっている。まだ薬やワクチンがなく、その理由は培養細胞で HNV が増殖できないこと、および HNV 感染症の動物モデルがないためと言われている。

マウスノロウイルス (MNV) は 2003 年に初めて分離、報告された比較的新しいウィルスである。血清学的疫学調査で実験動物用マウスの約 22% から特異抗体が検出されており、マウスの新たな病原体として注目されている。また、MNV と HNV の生化学的性状や遺伝子構成は似ており、しかも MNV は培養細胞株で増殖可能なため、MNV は HNV 感染症モデルになるのではないかと期待されている。本研究では日本で分離された MNV-S7 株を用いて、MNV の性状について検討した。

第 1 章では MNV-S7 のマウスに対する病原性について、野生型 C57BL/6 マウス、interferon- γ 欠損 (IFN- $\gamma^{-/-}$) マウス、interferon regulatory factor-3/7 欠損 (IRF-3/7 $^{-/-}$) マウスを用いて検討した。まず感染マウスの致死率を経口接種、脳内接種、および腹腔内接種について検討したが、死亡個体は認められなかった。次に感染マウスの病理組織学的変化とウィルス抗原の発現について検討した。その結果、MNV-S7 感染野生型 C57BL/6 マウス、IFN- $\gamma^{-/-}$ マウスおよび IRF-3/7 $^{-/-}$ マウスでは著明な病理組織学的変化は認められなかった。軽微な変化として、腸管粘膜固有層の水腫およびパイエル板の活性化が観察された。ウィルス抗原の発現は、感染 3 日後、5 日後、7 日後の IRF-3/7 $^{-/-}$ マウスの腸管膜リンパ節で認められた。ウィルス抗原陽性細胞は、その形態から樹状細胞であろうと考えられた。

MNV 感染が動物実験に及ぼす影響に関していろいろな報告がなされているが、概して MNV 感染の影響は少ないと言われている。第 2 章では、マウス肝炎ウィルス A59 (MHV-A59) 株腹腔内接種による急性肝炎モデルに対する影響について検討した。7 週齢、雌の C57BL/6 マウス

を MHV 単独感染グループと MNV と MHV の共感染グループに分け、1 週後に両方グループに MHV-A59 株 2,000PFU を腹腔内接種した。両グループ間の致死率には有意差は認められなかった。次に、肝炎の程度について比較した。感染 3 日後の両群のマウス肝臓のウイルス力価に有意差は無かったが、5 日後には MHV 単独感染グループの値は共感染グループよりも有意に高かった。MHV 単独感染グループの肝臓では、肝臓全体に炎症が広がっており、抗 MHV 抗体を用いた MHV 抗原の検索では肝臓の抗原陽性細胞の割合は 50%を超えていた。一方、共感染グループの肝臓の炎症は巣状であり、抗原陽性細胞の割合は 25%以下だった。

両群で差が生じた原因を検討するために、血清中の IFN α 量を測定したが、有意差は認められなかった。血清中の MHV 中和抗体活性を測定したところ、感染 5 日後の共感染グループの血清中の MHV 中和活性は単独感染のそれより有意に高かった。これらの結果から、MNV-S7 感染マウスでは、MHV 誘発肝炎の病態が軽くなることが示された。これまで、いろいろなマウスのウイルス感染症モデルに対する MNV の影響が検討されたが、ほとんど影響はないと報告されていた。本研究は MNV が他のウイルス感染症の病態を修飾することを初めて示した。

第 3 章では MNV-S7 の肥満細胞における増殖性について検討した。これまで、MNV はマクロファージや樹状細胞に感染すると報告されているが、繊維芽細胞などの他の細胞は MNV に対して感受性がないと報告されていた。本研究では MNV-S7 が肥満細胞で増殖するか 2 つの肥満細胞株を用いて検討した。IC-2 細胞は未分化肥満細胞株であり、P-815 細胞は分化肥満細胞株である。これらの細胞株、および陽性対照である RAW 264 細胞に MNV-S7 を接種し、培養上清中のウイルス力価を経時的に測定した。その結果、MNV は 2 種類の肥満細胞株で増殖した。特に IC-2 細胞では、RAW 264 細胞と同程度によく増殖した。また、間接蛍光抗体法により感染肥満細胞株で特異蛍光が認められた。これらの結果から MNV が肥満細胞に感染することが示唆された。HNV が肥満細胞に感染するか不明であるが、この結果は HNV の発症メカニズムを考える上で非常に興味深い。

以上の結果は、MNV-S7 の virulence は低いこと、しかしながら MHV によるウイルス性肝炎モデルの病態を軽くすること、また今まで報告されていなかった肥満細胞への感染の可能性を示した。これらの研究成果は獣医学学術上貢献するところが少なくない。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。