

平成22年2月

# 奥野啓介 学位論文審査要旨

主査 景山誠二  
副査 神崎晋  
同 林一彦

## 主論文

Epstein-Barr virus can infect rabbits by intranasal or peroral route: An animal model for natural primary EBV infection in humans

(Epstein-Barrウイルス[EBV]は経鼻/経口ルートでウサギに感染可能である:ヒトの自然なEBV初感染の動物モデル)

(著者:奥野啓介、高島一昭、金井亨輔、大橋誠、日向亮輔、杉原弘貢、桑本聡史、加藤雅子、佐野仁志、西連寺剛、神崎晋、林一彦)

平成22年 Journal of Medical Virology 掲載予定

# 学 位 論 文 要 旨

Epstein-Barr virus can infect rabbits by intranasal or peroral route: An animal model for natural primary EBV infection in humans

(Epstein-Barrウイルス[EBV]は経鼻/経口ルートでウサギに感染可能である:ヒトの自然なEBV初感染の動物モデル)

Epstein-Barrウイルス(EBV)は、ヒトにおいて、伝染性単核球症、血球貪食症候群、さらにはバーキットリンパ腫、鼻咽頭癌、移植後リンパ増殖性疾患等を惹起する。EBVは一部の希少な霊長類にしか感染しないとされていたため、動物モデルによる解析が進んでおらず、その初感染の詳細な機序は不明である。本研究では、自然な感染経路である経口および経鼻によるEBV投与を行い、その感染性とその後の経過について病態を検討した。

## 方 法

体重2~3 kgの雄性日本白ウサギを10羽用いた。EBV産生細胞株B95-8の培養上清を高速遠心にて濃縮後、経口/経鼻投与した。耳静脈から採血し、血液一般検査、肝機能検査(トランスアミナーゼ、乳酸脱水素酵素)を行った。また、末梢血単核球(PBMC; peripheral blood mononuclear cells)中のEBV-DNAコピー数、EBV関連遺伝子(mRNA)発現、EBV関連抗体をそれぞれ、リアルタイムPCR、RT-PCR、ELISAで解析した。PBMC中にEBV-DNAが検出された1羽について、EBV投与20日後に解剖し、病理組織学的検討を行った。EBV感染の指標として、*in situ* hybridizationによるEBER(EBV-encoded RNA)-1発現の検索を行い、EBER-1陽性であった組織については、免疫染色によるEBNA(EBV nuclear antigen)-2、LMP(latent membrane protein)-1の検出を、また、蛍光抗体法によるEA(early antigen)の検出を行った。

## 結 果

10羽中4羽で、EBV-DNAが末梢血に検出されたが、血液一般検査や肝機能検査では、異常を示した個体はなかった。経鼻群は4/4羽で感染が確認されたが、経口群は経鼻投与を追加した1羽以外では感染はみられなかった。経口/経鼻投与した1羽はEBV投与後200日以上にわたってEBV-DNAが検出され、経鼻投与した3羽は一過性にEBV-DNAが検出されたが、その後陰転化した。EBV-DNAが検出された個体では、EA-IgG抗体価の上昇が長期持続すること、VCA(viral capsid antigen)-IgM及びVCA-IgG抗体の上昇が一過性であること、EBNA-IgG抗

体の上昇がみられないことが確認された。EBV-DNA陽性の4羽のうち、3羽のPBMCにおいて、*EBNA-1*、*EBNA-2*、*BZLF1* (*BamHI Z Leftward reading Frame*) 1、*EA*のmRNAが検出され、特に*BZLF1*のmRNAは3羽とも確認された。解剖した1羽では、肉眼的検索、ヘマトキシリン-エオジン染色標本いずれにおいても、明らかな病変はなかった。しかし、脾臓及び腸間膜リンパ節からEBER-1陽性細胞が検出された。これらのリンパ球ではEBNA-2、LMP-1も検出され、脾臓のリンパ球からはEAも検出された。肝臓、扁桃、回腸末端については、EBER-1陽性細胞は検出されなかった。

## 考 察

PBMCでのEBV-DNAの検出、免疫組織化学的検討により、経口/経鼻投与でもEBVはウサギに感染することが示され、さらに、PBMC中でのEBV関連遺伝子発現とEBV関連抗体の詳細な検討により新たな知見を加えた。EBVの感染形式としては、組織でEBNA-2、LMP-1およびEA陽性のリンパ球が検出されたことから、潜伏感染Ⅱ型、Ⅲ型または一部の溶解感染の存在が確認された。PBMCでは*EBNA-1*、*EBNA-2*、*EA*発現に加えて、*BZLF1*発現がみられ、1羽では*BZLF1*発現持続がみられたことから、一部の感染リンパ球群はEBV初感染による溶解感染の持続または再活性化を反復していると考えられる。経口投与よりも、経鼻投与群の方が、よりEBV感染頻度(効率)が高かった。これは、経口投与ではウイルス液の吐き出しによるロスがみられたことと、解剖学的に経鼻の方が、直接扁桃にウイルス液が到達しやすかったことが要因と考えられる。EBV投与後のEBV-DNA検出パターンは、(1)長期間にわたって陽性のもの(持続感染型)、(2)一過性に検出されるが後に陰転するもの(一過性初感染後ウイルス排除型)、(3)全く検出されないもの(非感受型)の3種類が存在した。これは以前に報告された静注によるEBV感染のウサギモデルの3種類と同様の結果であった。EBV関連抗体からみたEBVへの免疫応答は、抗EA-IgG抗体価の上昇が長期持続すること等、一部でヒトの反応とは異なっていたが、EBVに対するウサギの特有の応答と考えられた。

## 結 論

EBVは経口/経鼻投与でもウサギに感染しうる。また、このウサギのモデルはヒトにおける自然なEBV初感染の病態解析に有用な実験動物モデルになると期待される。