

平成20年7月

高島一昭 学位論文審査要旨

主 査 井 上 幸 次
副主査 林 一 彦
同 西 連 寺 剛

主論文

A new animal model for primary and persistent Epstein-Barr virus infection: Human EBV-infected rabbit characteristics determined using sequential imaging and pathological analysis

(Epstein-Barrウイルスの初感染および持続感染の新しい動物モデル：経時的な画像および病理解析によるEBV感染ウサギモデルの特徴)

(著者：高島一昭、大橋誠、北村幸郷、安藤健介、長島賢典、杉原弘貢、奥野啓介、西連寺剛、林一彦)

平成20年 Journal of Medical Virology 80巻 455頁～466頁

学 位 論 文 要 旨

A new animal model for primary and persistent Epstein-Barr virus infection: Human EBV-infected rabbit characteristics determined using sequential imaging and pathological analysis

(Epstein-Barrウイルスの初感染および持続感染の新しい動物モデル：経時的な画像および病理解析によるEBV感染ウサギモデルの特徴)

Epstein-Barr ウイルス (EBV) は、ヘルペスウイルス科ガンマヘルペスウイルス亜科に属するウイルスで、世界で初めて発見されたヒトの癌ウイルスである。EBVは、ほとんどの成人に感染しており、通常は初感染で伝染性単核球症を起こし、潜伏感染により、様々な新生物や血液疾患を起こすとされている。EBVは、ヒト以外ではごく一部の希少なサルにしか感染が認められていないウイルスであるため、*in vivo*での研究は非常に困難であり、取り扱いが容易な実験動物を用いたEBVの感染モデルの開発が求められてきた。

今回、サルのEBVによる血球貪食症ウサギモデルの“陰性コントロール”として、ヒトEBVを投与したウサギのエコー等の画像と血液検査による経時的観察により、脾腫やリンパ球増加や血中のEBVの長期検出等の予想外の所見が認められたため、多数例のEBV投与ウサギを解析した。その結果、高頻度にEBVがウサギに初感染後、多様な宿主反応を示すことを見出した。EBV感染ウサギは、ヒトでの初感染とその後の反応によく類似しており、EBVのヒト初感染および持続感染のよい実験モデルになることを初めて明瞭に示した。

方 法

日本白ウサギの雄、7羽にEBV (B95-8株由来) を静脈内投与し、経時的な病変検索を行った。検査として、超音波検査またはCT検査による脾臓を中心とした画像診断と血液検査や抗EBV-VCA抗体価やEBV-DNAの測定および生検肝臓や摘出脾臓のH. E. 染色と免疫組織検査、*in situ* hybridization (ISH) やEBVクローナリティ解析等を実施した。

結 果

EBV投与ウサギの7羽中6羽に、超音波検査などの画像診断にて一過性の脾腫や脾臓内腫瘍の形成が認められ、抗EBV-VCA抗体価の上昇 ($\times 10 \sim \times 2560$) や末梢血中のEBV-DNA ($3.3 \times 10^2 \sim 4.5 \times 10^4$ copies/ 10^6 cells) の上昇が認められた。6羽の初感染脾腫後、2羽は末血EBV

が持続的に非検出となり、2羽は検出と非検出を交互に示し、1羽は持続的にEBVを検出し、また1羽は14日目に剖検を行った。脾腫を生じた1年後でも、3羽のウサギの末梢血中にEBV-DNAが検出された。また、EBV投与後14日目に脾腫がみられた2羽の脾臓を病理組織検査したところ、著明に腫大した白脾髄には多数のEBER-1陽性大型異型リンパ球の浸潤が認められた。同部には、多数の核分裂像やアポトーシスがみられ、一部で島状の壊死巣を認めた。また、多くの反応性組織球や大型リンパ球の増生が観察された。免疫染色で、EBV遺伝子産物のLMP1の発現が大型もしくは異型性リンパ球の細胞質内に認められ、EBNA2やZEBRA発現はリンパ球の核内に散見された。脾臓の凍結切片を用いた二重染色で、核内にEBNA2を発現する細胞の胞体はB細胞マーカーが、また稀にT細胞マーカーが陽性になった。脾臓のサザンブロット解析では、EBVのオリゴクローナルバンドが認められた。

考 察

EBV投与したウサギ7羽中6羽に脾腫や脾臓の腫瘤病変が観察され、抗EBV-VCA抗体の上昇や末血や組織にEBV-DNAまたはEBV-RNAが検出されたため、ウサギがEBVに感染することが確認できた。摘出した脾臓の検査にてEBER-1陽性リンパ球様細胞のEBV遺伝子発現パターンは、ウイルス遺伝子産物のLMP1やEBNA2さらにZEBRA陽性を示し、潜伏感染のⅡ型かⅢ型もしくは早期の溶解感染に合致し、ヒトのEBVの初期感染に類似した病態であることが示された。EBV投与ウサギの宿主反応は、以下の4つに分類することができた；①初期感染と脾腫後に末血にEBV-DNAが検出されないもの、②初期感染または脾腫後に長期間にわたってEBV-DNAが検出と非検出をくり返すもの、③初期感染後にEBV-DNAを持続的に長期間検出できるもの、④EBVに感染しないもの。

EBVがウサギに高頻度に初感染後、多様な宿主反応を示す事実は、ヒトでの初感染とその後の宿主反応によく類似しており、EBV感染ウサギが、EBVのヒト初感染および持続感染のよい実験モデルになることが示された。

結 論

従来、EBVはウサギには感染しないと考えられていたが、本研究によりウサギへの感染性が初めて明瞭に証明され、EBV感染ウサギがヒトのEBV感染のよい動物モデルとなることを示した。