

氏 名 (本 籍)	奥 田 恭 之 (東京都)
学 位 の 種 類	博士 (獣医学)
学 位 記 番 号	獣医博甲第 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 6 年 3 月 1 4 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	Virological and Pathological Studies on Reactivation of Canine Herpesvirus
審 査 委 員	主査 岐 阜 大 学 教 授 平 井 克 哉 副査 帯広畜産大学 教 授 後 藤 仁 副査 岩 手 大 学 教 授 岡 田 幸 助 副査 東京農工大学 教 授 甲 野 雄 次 副査 岐 阜 大 学 教 授 上 田 雄 幹
審 査 協 力 者	橋 本 晃 (北海道大学教授)

論 文 の 内 容 の 要 旨

犬ヘルペスウイルス (canine herpesvirus 以下CHVと略す) はヘルペスウイルス科の α -ヘルペスウイルス亜科に分類されているが、属の分類はいまだ明らかではない。本ウイルスは、新生子犬では全身性の出血と壊死を特徴とする致死性の疾病を引き起こす。幼犬および成犬では軽度の呼吸器症状を示す非致死性の感染にとどまるが、いわゆるkennel coughの一因とも考えられている。一方、妊娠犬では、胎児の流産や死産を引き起こすことが最近明らかにされた。CHVは、1965年Carmichaelらによって全身性の出血と壊死を呈して死亡した新生子犬の腎臓培養から最初に分離された。以後本ウイルスは世界各国で分離され、本感染症が広範に分布していることが知られるようになった。わが国では、1978年橋本らが新生子犬の出血と壊死を特徴とする致死性の感染症からCHVを分離し、わが国においても本感染症の存在が知られるようになった。

著者は我々の研究室の一連の研究結果、1) CHVによると推定される再発性の死・流産、2) CHVによる死・流産耐過犬の腔病変、3) 妊娠犬における実験的垂直感染の成立などから、他のヘルペスウイルスと同様にウイルスの性質として潜伏感染しうることを推測してきた。

今回、著者は潜伏感染状態からウイルスを再活性化させ、再排出経路や潜伏部位などを明らかにするため、また、その再活性化が他のヘルペスウイルス同様に繰り返されるか否かを明らかにするため、以下の実験を行った。

1. 自然感染の死・流産耐過成犬におけるウイルスの再排出

某ビーグル犬繁殖コロニーにおいてCHV感染による死・流産が一時期に頻発する症例に遭遇した。これらの雌成犬は流産後何ら症状を示すことなく、実験開始前の6ヵ月間にわたり、ウイルスは分離されなかった。入手した7頭のうち、5頭に600mgのプレドニゾロンを5日間連続投与し、ウイルスの分離を試みた。その結果、いずれの犬もCHVによると考えられる症状は示さなかったが、5頭中4頭においてプレドニゾロン投与開始後5日から21日の間の数日間に鼻粘膜、口腔粘膜、眼粘膜および腔粘膜の分泌物からウイルスが検出された。また、剖検材料の鼻粘膜および扁桃からも分離された。病理組織学的には

ウイルスの排出部位と考えられる鼻粘膜および扁桃の単核細胞浸潤、また、延髄に軽微な囲管性細胞浸潤、延髄カンヌキにグリア細胞による小結節が観察された。また、神経細胞の変性および脱落が三叉神経節および腰仙神経節に観察されたことから、これらがウイルスの潜伏部位あるいは増殖部位の一つであると推察した。

2. 実験感染させた成犬および幼犬におけるウイルスの反復排出

ビーグル成犬5頭および雑種幼犬5頭を用い、実験的にCHVを接種し潜伏感染後、それぞれ3頭にプレドニゾロンを連続投与しウイルスの再排出を試みた。さらに、この再排出が繰り返し起こりうるか否かを確認するため、ウイルスの再排出停止から1ヵ月あるいは3ヵ月後、潜伏感染状態にあると考えられる犬に再びプレドニゾロンを連続投与し、ウイルスの反復排出の検索を行った。その結果、初回および2回目のプレドニゾロン処理後に、3頭中2あるいは3頭にウイルスの排出を認め、潜伏感染したウイルスは反復して再活性化され、再排出することを明らかにした。高力価のウイルス排出はいずれも鼻粘膜から得られ、処理2回目のウイルス力価は1回目の力価よりも低く、排出期間も短い傾向を示した。

これまで、神経系への潜伏感染およびウイルスの再排出が起こるヘルペスウイルスとして、家畜のAujeszky's disease virus, infectious bovine rhinotracheitis virus, feline herpesvirus, およびequine rhinopneumonitis virusが、ヒトのherpes simplex virusやvaricella and zoster virusなどが知られている。しかし、CHVでは、今まで感染発症後回復した動物からのウイルスの再活性化および再排出は知られていなかった。今回、著者は初めて免疫抑制作用を持つプレドニゾロン投与によりウイルスを再排出させ、潜伏感染の状態を明らかにした。組織学的観察から増殖部位は扁桃あるいは鼻粘膜、潜伏部位は三叉あるいは腰仙神経節であることが考えられた。また、潜伏感染におけるウイルスの再活性化は成犬のみならず幼若犬においても同様に成立すること、また、その再活性化は反復繰り返しされることも明らかにした。

成犬のCHV感染症は、多くの場合軽度の呼吸器症状あるいは無症状に終わるが、新生子犬あるいは妊娠犬が感染した場合には新生子犬の死亡や胎児の死・流産を起こすため、愛玩犬ブリーダーや実験用犬繁殖コロニーにおける経済的な損失は甚大になる。今回の生体レベルの研究成績は、本疾病の予防、治療および制御に役立つとともに、将来の分子レベルでの潜伏感染機序の解明のための基礎データとして極めて重要であると考えられる。

審 査 結 果 の 要 旨

犬ヘルペスウイルス (canine herpesvirus 以下CHVと略す) はヘルペスウイルス科の α -ヘルペスウイルス亜科に分類されているが、属の分類はいまだ明らかではない。本ウイルスは、新生子犬では全身性の出血と壊死を特徴とする致死性疾患を引き起こす。幼犬および成犬では軽度の呼吸器症状を示す非致死性感染にとどまるが、いわゆるkennel coughの一因とも考えられている。一方、妊娠犬では、胎児の流産や死産を引き起こすことが最近明らかにされた。CHVは、1965年Carmichaelらによって全身性の出血と壊死を呈して死亡した新生子犬の腎臓培養から最初に分離された。以後本ウイルスは世界各国で分離され、本感染症が広範に分布していることが知られるようになった。わが国では、1978年橋本らが新生子犬の出血と壊死を特徴とする致死性感染症からCHVを分離し、わが国においても本感染症の存在が知られるようになった。

岐阜大学家畜微生物学講座および家畜病院における一連の研究結果、1) CHVによると推定される再発性の死・流産、2) CHVによる死・流産耐過犬の腔病変、3) 妊娠犬における実験的垂直感染の成立などから、他のヘルペスウイルスと同様にウイルスの性質として潜伏感染しうることを推測してきた。

本研究では潜伏感染状態からウイルスを再活性化させ、再排出経路や潜伏部位などを明らかにするため、また、その再活性化が繰り返されるか否かを明らかにするため、以下の実験を行った。

1. 自然感染の死・流産耐過成犬におけるウイルスの再排出

某ビーグル犬繁殖コロニーにおいてCHV感染による死・流産が一時期に頻発する症例に遭遇した。これらの雌成犬は流産後何ら症状を示すことなく、実験開始前の6ヵ月間にわたり、ウイルスは分離されなかった。入手した7頭のうち、5頭に600mgのプレドニゾロンを5日間連続投与し、ウイルスの分離を試みた。その結果、いずれの犬もCHVによると考えられる症状は示さなかったが、5頭中4頭においてプレドニゾロン投与開始後5日から21日の間の数日間に鼻粘膜、口腔粘膜、眼粘膜および腔粘膜の分泌物からウイルスが検出された。また、剖検材料の鼻粘膜および扁桃からも分離された。病理組織学的にはウイルスの排出部位と考えられる鼻粘膜および扁桃の単核細胞浸潤、また、延髄に軽微な囲管性細胞浸潤、延髄カンヌキにグリア細胞による小結節が観察された。また、神経細胞の変性および脱落が三叉神経節および腰仙神経節に観察されたことから、これらがウイルスの潜伏部位あるいは増殖部位の一つであると推察した。

2. 実験感染させた成犬および幼犬におけるウイルスの反復排出

ビーグル成犬5頭および雑種幼犬5頭を用い、実験的にCHVを接種し潜伏感染後、それぞれ3頭にプレドニゾロンを連続投与しウイルスの再排出を試みた。さらに、この再排出が繰り返し起こりうるか否かを確認するため、ウイルスの再排出停止から1ヵ月あるいは3ヵ月後、潜伏感染状態にあると考えられる犬に再びプレドニゾロンを連続投与し、ウイルスの反復排出の検索を行った。その結果、初回および2回目のプレドニゾロン処理後に、3頭中2あるいは3頭にウイルスの排出を認め、潜伏感染したウイルスは反復して再活性化され、再排出することを明らかにした。高力価のウイルス排出はいずれも鼻粘膜から得られ、処理2回目のウイルス力価は1回目の力価よりも低く、排出期間も短い傾向を示した。

これまで、神経系への潜伏感染およびウイルスの再排出が起こるヘルペスウイルスとして、家畜のAujeszky's disease virus, infectious bovine rhinotracheitis virus, feline herpesvirus, およびequine rhinopneumonitis virusが、ヒトのherpes simplex virusやvaricella and zoster virusなどが知られている。しかし、CHVでは、感染発症後回復した動物からのウイルスの再活性化および再排出は知られていなかった。本研究は初めて免疫抑制作用を持つプレドニゾロン投与によりウイルスを再排出させ、潜伏感染の状態を明らかにした。組織学的観察から増殖部位は扁桃あるいは鼻粘膜、潜伏部位は三叉あるいは腰仙神経節であることが考えられた。また、潜伏感染におけるウイルスの再活性化は成犬のみならず幼若犬においても同様に成立すること、また、その再活性化は反復繰り返されることも明らかにした。

本研究による生体レベルでの成績は、本疾病の予防、治療および制御に役立つとともに、将来の分子レベルでの潜伏感染機序の解明のための基礎データとして極めて重要であると考えられる。

平成6年1月25日における発表会および提出論文、ならびに基礎となる学術論文（2編）および既発表論文（6編）を5人の学位論文審査委員が慎重審議した結果、岐阜大学連合獣医学研究科の学位論文としてふさわしいことを認めた。