前庭神経節におけるウイルス感染実験†

下 郡 博 明・関 谷 透・岡 崎 英 紀
遠 藤 史 郎

緒 言

我々は、前庭神経炎¹⁾の病態解明のため、これまで様々な検討を行ってきたが、その結果ウイルス感染の関与が示唆されている²⁾³⁾。なかでも知覚神経節に潜伏感染するⅠ型単純ヘルペスウイルス (HSV-Ⅰ) の、前庭神経節における再活性化の可能性を考えている。そこで我々は、ラットを用いて前庭神経節における様々な感染実験を行ってきた。今回その実験結果を呈示すると共に、今後の問題点について言及した。

方 法

実験動物には、ブライエル反射正常な Wistar 系ラットを使用した。ネンプタール腹腔内麻酔後、手術用顕微鏡下に右鼓膜を切開、HSV-Ⅰ (KOS 株) を注入した。

1) 接種後経時的に前庭神経節を摘出し、型どおりパラフィン切片作成後、蛍光抗体法でウイルス抗原を検索した⁴⁾。

2) 接種後無症状に経過したラットに対し 1 カ月以上経過の後、前庭神経節を摘出した。摘出した前庭神経節から DNA を抽出して Polymerase chain reaction (PCR) を用いてウイルス DNA を検索した⁵⁾。

3) 前項と同条件のラットを用いて前庭神経節から RNA を抽出して、Latency-associated transcripts (LAT) に対して Reverse transcript-PCR (RT-PCR) を施行して LAT の存在を検索した⁶⁾。

結 果

1) 図 1 に示すように、接種後 3 日目をピークとして前庭神経節細胞の胞体内にウイルス抗原を認めた。接種後 8 日目以降には、明らかなウイルス抗原は認められなかった。

2) 図 2 は接種後 7 日目に死亡したラットの組織から DNA を抽出し、PCR を施行した結果である。Positive control と同様 105 bp の部に、すべて特異的バンドが認められた。急性期には、神経節でウイルス DNA が盛

図 1 接種後 2 日目の前庭神経節。
節細胞胞体にウイルス特有の蛍光を認める。

んにつくられていると考えられた。

接種後 49 日無症状に経過したラットの組織から DNA を抽出し、PCR を施行した結果を図 3 に示した。接種側の前庭神経節には 105 bp のバンドを認めた。この症例では、肝、脾、肺、腎についても PCR を施行したが、いずれも negative で、全身臓器での持続感染は否定的と考えた。また血球成分にもウイルス DNA は negative で、viremia もないと判断した。すなわち潜伏感染と考えた。

3) 急性期には LAT は、前庭神経節でははっきりとは認められなかった (図 4)。しかし潜伏期の LAT の RT-PCR では、接種側の前庭神経節に弱いながらもバンドを認めた (図 5)。

考 察

三叉神経節のウイルス感染実験においては、今までさまざまな再活性化実験が行われてきた。しかし前庭神経節においては、HSV-Ⅰが感染するという報告はなかった。我々は、実験的に HSV-Ⅰが前庭神経節に感染すること、その後潜伏感染という形式をとること、更には潜伏期に LAT が発現されていることを証明した。LAT とは最近、三叉神経節、頸神経節において HSV-Ⅰ 潜伏感染時に特異的に転写される mRNA で、潜伏感染に深く関与していることが示唆されている。つまりこの LA

† Experimental Viral Infection in Vestibular Ganglia of Rats
Hiroaki Shimogori, Toru Sekitani, Hideki Okazaki and Shiro Endo
山口大学医学部耳鼻咽喉科学教室

図2 接種後7日目の DNA-PCR。
全てに特異的バンド (105 bp) を認める。

図3 接種後49日目の DNA-PCR。
接種側の前庭神経節 (RVG) にウイルス DNA を認める。

T が、潜伏感染時に三叉神経節と同様に前庭神経節内でも転写されていることを証明した訳である。

現在は、潜伏感染したウイルスを再活性化させることによって、前庭神経炎類似の症状の発現を見ることができると検討中である。再活性化の証明法としては、in vitro での共生培養が古典的な、かつポピュラーな方法である。しかし三叉神経節において、その支配領域の皮疹出現という形で臨床症状としてとらえられている報告も散見される⁷⁾。神経節内に潜伏したウイルスを再活性化するには神経終末の刺激、神経節への刺激の両者が必要と考えられている⁸⁾。我々は、サイクロフォスファミドを負荷し再活性化を試みたが、明らかな所見は得られなかった。サイクロフォスファミド負荷は、神経節への刺激と考えられているので、現在は末梢の刺激をあわせて行うために、1案として回転刺激負荷を行って。三叉神経節の場合、皮膚への擦過、キシレンなどの化学物

質による刺激が可能であるが、前庭神経節の場合、その様な刺激自体が内耳破壊となるので困難である。しかし、回転刺激は生理学的な刺激であり、従来行われている刺激法とまったく性格を異にするものであるため、さらに検討が必要であろう。

再活性化実験には、モデル動物の種の問題があろう。例えば現在用いているラットは末梢前庭障害の代償が非常に早いために、再活性化したとしても臨床症状をとることが難しい可能性があるということである。今後別の動物種を検討する必要があると考慮している。

まとめ

実験的に HSV-I を接種したラットに対して以下のことを証明した。

- 1) 前庭神経節に HSV-I が急性感染する。
- 2) 前庭神経節に HSV-I が潜伏感染する。
- 3) 潜伏期の前庭神経節内では LAT が発現される。

図4 接種後9日目のRT-PCR。
神経節では接種側の三叉神経節(RTG)以外にはLAT(195bp)を認めない。

図5 接種後61日目のRT-PCR。
接種側の前庭神経節(RVG)にLATを認める。

謝 辞

本研究の一部は厚生省特定疾患前庭機能異常調査研究班の研究費援助により行われた。

文 献

- 1) Sekitani T : Vestibular neuronitis—It's clinical characteristics. —Adv Otorhinolaryngol 29 : 111-123, 1983
- 2) Matsuo T : Vestibular neuronitis — Serum

and CSF virus antibody titer. Auris Nasus Larynx 13 : 11-34, 1986

- 3) 平田哲康, 関谷 透 : 前庭神経炎の血清ウイルス学的検討. 日耳鼻会報 91 : 835-846, 1988
- 4) 下郡博明, 関谷 透, 山下裕司, 岡崎英紀, 山本直樹 : 前庭神経節における単純ヘルペスウイルス感染の実験的研究. Ear Res Jpn 21 : 149-150, 1990
- 5) Shimogori H, Sekitani T, Koyanagi Y, et al : Latent HSV-I infection in rat vestibular ganglia. Acta Otolaryngol (Stockh) 111 : 1031-1036, 1991
- 6) Lynas C, Laycock KA, Cook SD, et al : Detection of herpes simplex virus type 1 gene expression in latently and productively infected mouse ganglia using the polymerase chain reaction. J virol 63 : 2345-2355, 1989
- 7) Harbour DA, Hill TJ, Blyth WA : Recurrent herpes simplex in the mouse—Inflammation in the skin and activation of virus in the ganglia following peripheral stimulation. Jgen Virol 64 : 1491-1498, 1983
- 8) 関沢 剛, Openshaw H, Cantin E, Puga A, Notkins AL : Herpes simplex virus の潜伏感染と再活動化の機構. 臨床とウイルス 12 : 419-424, 1984

Abstract

Viral infection has been suggested to be one of the causative agents of vestibular neuronitis. It is probable that reactivation of herpes simplex virus (HSV) in the vestibular ganglia may lead to vestibular dysfunction, causing vertigo and/or disequilibrium.

In this study, rats were inoculated with HSV-I through the middle ear. We first examined the vestibular ganglia in the acute phase with an immunofluorescent (IF) method. We detected viral antigens in some vestibular ganglion cells. Second, we used the polymerase chain reaction (PCR) to detect virus DNA in vestibular ganglia of rats in the latent phase. We found virus DNA in about 60% of vestibular ganglia on the inoculated side only. Third, we used reverse transcript-PCR (RT-PCR) to detect latency-associated transcripts (LAT), one of the mRNA of HSV-I. We found LAT in the vestibular ganglion on the inoculated side only in the latent phase.

These data indicate that HSV-I infects vestibular ganglia in the acute phase and establishes a latent infection. Only in the latent phase, LAT are transcribed in vestibular ganglia as in trigeminal ganglia.

Key words : vestibular neuronitis, HSV-I latent infection, PCR, RT-PCR, LAT

(原稿到着 : 平成 4 年 4 月 20 日
別刷請求先 : 下郡博明
〒755 山口県宇部市大字小串1144
山口大学医学部耳鼻咽喉科学教室)