マウスのサイトメガロウイルスの感染に関する研究 —中枢神経系におけるウイルスの増殖 と病理形態学的変化

大崎 雅己 千葉 峻三 中尾 亨

STUDIES ON THE MURINE CYTOMEGALOVIRUS INFECTION; VIRAL GROWTH AND HISTOPATHOLOGICAL CHANGES IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM.

Masami OHSAKI, Shunzo CHIBA and Tooru NAKAO
Department of Pediatrics, Sapporo Medical College

〔受付：5月18日，1970年〕

〔総括〕

マウスサイトメガロウイルスを用いて，脳内ウイルス接種実験を行ない次の所見を得た。

1) 生後3，4日目のマウス31匹の脳内にウイルス接種を行なった結果，接種後10日～9週の間に4匹死亡した。対照群15匹には死亡例を認めなかった。

2) ウイルス尿は接種後2日目，3日目に認めそれ以後は認められなかった。

3) 脳内のウイルス感染価は4日目に最高となり，以後徐々に低下し，3週目には陰性となった。

4) ウイルス接種群のマウスは体重増加不良，身体をまるめ不活発，体毛の光沢悪く，乱れている等の症状を呈し，それらは脳組織変化が著明となる2週後から明らかとなった。

5) 脳の組織学的変化は，脳底部に限局性に神経細胞の巨細胞化，および核内封入体形成，小脳の分子層にリンパ球浸潤，およびプルキンエ細胞の核内封入体形成を認めた。

〔序文〕

全身性巨細胞封入体症に脳炎が合併し，精神薄弱児，または小頭症などの後遺症を残すことは良く知られたことであり¹⁾²⁾，その病理形態学的所見についてはいくつ

かの報告がある³⁾⁴⁾。

今回，著者等は，マウスサイトメガロウイルスを新生児期のマウス脳内に接種し，経時的にウイルス学的，ならびに病理組織学的検索を行なったのでその成績を報告する。

〔材料と方法〕

細胞は，在胎約2週目のマウス胎児皮筋細胞の初代，または2代培養を用いた。ウイルス液は，マウスサイトメガロウイルス Smith 株を培養細胞に感染させ作製し，ウイルス液0.02ml (10⁵TCD 50) を，生後3，4日目の dd 系マウス31匹に，通常の方法で頭蓋内接種し，その後2，3，4，7，14，21日に脳組織を採出し，10%脳乳剤を作り，チューブ培養細胞でウイルス分離を試み，同時にその感染価を測定した。対照としてリン酸緩衝食塩液 (PBS) を頭蓋内接種したものを用いた。なお感染実験に先だち抗体 check によつて飼育コロニーにサイトメガロウイルスの感染がないことをあらかじめ確認した。対照マウスと実験マウスは厳密に隔離を行なった。病理組織学的検索は，10% PBS ホルマリンにて全身を固定後，脳を採出し，矢状方向に切片を作り，HE 染色標本について検索を行なった。

〔成績〕

臨床的要項：表1に示す様にウイルス接種群は，10日

表 1 ウイルス接種群および対照群における
体重および死亡数の比較

	PBS 接種群	MCMV 接種群
被 検 例 数	15	31
日 令	3 ~ 4 日	3 ~ 4 日
体 重 接種時 5 週目	2.0~2.5g 28.7g	2.5~3.0g 23.0g
死 亡 例 数	0	4

目 2 匹, 2 週, 9 週各 1 匹, 計 4 匹死亡した。ウイルス接種後, 毎日定期的に体重測定を行なうと共に運動状態等を観察したが, 死亡した以外のマウスには, 2 週目まで特別な症状は認めなかった。しかし, 10 日目に死亡した 2 匹は, それぞれ左片麻痺様およびころがる運動失調様症状, 2 週および 9 週目に死亡したものは, 体重増加不良が著明で身体をまるめ不活発で身体をまるめた状態で歩行し, 体毛の光沢が悪く乱れていた。5 週目では写真 1 に示す様に, ウイルス接種群は対照に比し未だ群

写真 1 ウイルスおよび PBS 接種群の 5 週目の状態

表 2 脳および尿からのウイルス分離成績

接種後日数	2	3	4	7	14	21
脳*	—	+	+	+	+	—
尿	+	+	—	—	—	—

* 10% homogenate

をなす傾向にあり, 不活発で体毛の光沢も悪く乱れており, 体重増加も明らかに不良である。これ等の所見はウイルス接種後 2 週目頃から明らかとなったが, 痙攣, 麻痺その他重篤な症状を呈するものはなかった。

ウイルス分離: 脳および尿からのウイルス分離成績は表 2 のごとく接種 2 日目に既に尿中に出現している。表 3 は脳内ウイルスの感染価を示したものである。脳からのウイルス分離は, ウイルス接種後 3 日目から陽性とな

図 1 脳内ウイルス感染価の推移

写真 2 マウス皮筋初代培養細胞

写真 3 MCMV 接種 4 日目の培養細胞
巨細胞化および核内封入体形成が著明である

り, 4 日目で感染価が最も高く, 以後 7, 14 日とその値は低下し, 3 週目ではウイルス分離陰性である。ウイルス未接種培養細胞は写真 2 のごとくであり, 上記細胞にウイルス接種後 4 日目のものが写真 3 である。核の変形, 核内封入体が明らかである。

病理組織学的変化: ウイルス接種後のマウス脳の組織学的変化は, ウイルス接種 4 日目から明らかとなり, 写真 4 に示す様に脳底部で限局性に神経細胞の変化を認める。変性部位の強拡大は写真 5 に示す様に, 神経細胞はエオジンに強く染色され, 巨大化し一部の細胞は核内封

写真 4 ウイルス接種 4 日目の脳底部, 限局性に神経細胞の変化を認める (10×10倍)

写真 7 ウイルス接種 2 週目の小脳. 分子層のリンパ球浸潤を認める (10×10倍)

写真 5 変性部の強拡大 (10×40倍)
神経細胞の巨細胞化と核内封入体形成を認める

写真 8 ウイルス接種 2 週目の小脳. プルキンエ細胞の核内封入体形成を認める (10×40倍)

写真 6 ウイルス接種 7 日目, 脳底部の神経細胞の変化は更に著明になっている (10×40倍)

入体を形成している。小脳では一部のプルキンエ細胞に変化を認めたが著明でなかった。7日目にはやはり脳底部に写真6に示す様に神経細胞の巨大傾向及び核内封入体形成も更に明らかになっている。2週目には脳底部の変化は7日目とあまり著変は認めないが、写真7に示す様に小脳の一部分子層にリンパ球の浸潤を認め、強拡大では写真8に示す様に、プルキンエ細胞の変化も顕著で、核内封入体の形成も認める。この様なマウス脳の病理組織学的変化は、脳からのウイルス分離陰性となる3週後

にもなお認められた。

考 察

サイトメガロウイルスの動物実験に関する報告は、Medearis^{5,7)}らのマウスを用いての腹腔内、静脈内その他種々の感染経路による感染実験に関する一連の報告があるが、未だ中枢神経系における本ウイルスの増殖および、それに起因する病理組織学的変化について検索を行なった報告は見当たらない。

しかし、人のサイトメガロウイルス感染症の、脳炎組織像については剖検例から壊死、石灰化、脳室上衣血管周囲の炎症、神経膠結節形成などが^{8,9,10)}認められている。

今回の脳内ウイルス接種の実験では、脳組織の破壊及び広範囲のリンパ球浸潤等の強い炎症像は認めなかったが、脳底部に限局性に神経細胞の巨細胞化と核内封入体形成、および小脳の分子層の一部にリンパ球浸潤、プルキンエ細胞の核内封入体形成が著明であり、その他大脳皮質にも散在性に神経細胞の巨細胞化を認めた。ウイルス接種後死亡した4匹の脳組織所見も、同様の変化だけで特に強い炎症像は認めなかった。これ等の脳組織変化はウイルス増殖に遅れ、脳底部の変化は7日目に、また小

脳の変化は更に遅れて2週目に最も著明となつている。ウイルス接種群のマウスの不活発、体重増加不良、体毛の乱れ等の症状がウイルス増殖が低下するに反し、特に小脳の組織変化が最も著明となるウイルス接種後2週目に一致することは興味深い問題である。なお、接種後、2, 3日目のウイルス尿については、脳内接種初期にだけ、わずかに分離陽性であり、その腎組織に病理組織学的な変化は全く認めないことから、このウイルスは血行を介して腎から濾過された接種ウイルスと推定される。

今後更に他の接種ルートによる検討、あるいは接種動物の長期成長後の組織像などについて検索する予定である。

Summary

This is the preliminary report of the experimental infection in central nervous system of mouse with murine cytomegalovirus.

In the present study, newborn mice were inoculated intracerebrally with the Smith strain of murine cytomegalovirus. The infected mice were then studied clinically, virologically and histopathologically in comparison with the control mice inoculated with phosphate buffered saline.

The results obtained were briefly as follows.

1. Four deaths occurred in 31 infected mice between 10 days and 9 weeks inoculation, while none occurred in 15 non-infected mice.

2. Viruria was observed on the 2nd and 3rd day of infection and ceased thereafter.

3. Virus recoveries from the brain were possible after the third day of infection. Infective titers in 10 per cent brain homogenates were maximum at the 4th day, gradually decreased and became negative after 21th day of infection.

4. The infected mice generally showed underdevelopment of body weight, dull movement and

lusterless fur. These symptoms were observed obviously 2 weeks after infection, at the stage when the histopathological changes in the brain were prominent. Convulsions and ataxia were observed only in the two cases of death.

5. Histopathological change of the brain was appropriate for localized encephalitis. Cytomegalic change with intranuclear inclusion body was observed in the population of nerve cells in the basilar region of the brain and in Purkinje's cells of cerebellum. Lymphoid cell infiltration was observed in a slight degree.

文 献

- 1) Medearis, D.N. Jr. (1964) : Observations concerning human cytomegalovirus infection and disease. *Bull. Johns. Hopkins Hosp.* 114 : 181-211.
- 2) Weller, T. H. and Hanshaw, J. B. (1962) : Virologic and clinical observations on cytomegalic inclusion disease. *New Engl. J. Med.* 266 : 1233-1244.
- 3) Seifert, G. (1954) : Zur Pathologie der Cytomegalie. *Virchows Arch.* 325 : 596-623.
- 4) Vortel, V., and Plachy, V. (1968) : Glial-Nodule encephalitis associated with generalized cytomegalic inclusion body disease. *Am. J. Clin. Path.* 49 : 319-324.
- 5) Mannini, A., and Medearis, D. N. Jr., (1961) : Mouse salivary gland virus infections. *Am. J. Hyg.* 73 : 329-343.
- 6) Medaris, D. N. Jr., (1964) : Mouse cytomegalovirus infection. II. Observations during prolonged infections. *Am. J. Hyg.* 80 : 103-112.
- 7) Medearis, D. N. Jr., (1964) : Mouse cytomegalovirus infection III. Attempts to produce intrauterine infections. *Am. J. Hyg.* 80 : 113-120.