

学 位 論 文 の 要 約
(研 究 成 果 の ま と め)

氏 名 藤原崇志

学位論文名 単純ヘルペスウイルス 1 型による顔面神経麻痺ラットの作成と病態解明

学位論文の要約

【背景・目的】顔面神経は顔面に分布し主に表情筋の運動を支配する。顔面神経麻痺が生じると表情筋の動きが制限され、口角下垂にともなう摂食時の流涎といった物理的症状に加え、顔の非対称などによる精神面への影響も生じ、生活の質が大きく損なわれる。顔面神経麻痺は中枢性および末梢性に生じるが、単純ヘルペスウイルス 1 型(HSV-1)は末梢性顔面神経麻痺の大半をしめるベル麻痺の原因であり、また脳炎の原因として顔面神経を含めた多発神経障害を生じる。HSV-1 と顔面神経麻痺に関して、これまでに balb/c マウスに HSV-1 (KOS 株) を接種することで生じる顔面神経麻痺マウスをもちいてその病態解明が行われてきた。HSV-1 による神経障害はウイルス株や動物種によって重症度が異なることが脳炎の研究でわかっているが、顔面神経麻痺に関するこれまでの研究では balb/c マウスに HSV-1 (KOS 株) を接種した顔面神経麻痺マウスでのみ評価されてきた。今回 Wister 系ラットに HSV-1 (KOS 株) を接種することで生じる顔面神経麻痺の疾患モデル動物を作成し、電気生理学的、組織学的検討等を行った。

【方法】3 週齢 Wister 系ラット (SLC 社) をセボフルレン吸入麻酔下に HSV-1 (KOS 株) の接種を行った。右耳介後面を 27 ゲージ針で擦過したのち HSV-1 (KOS 株、 1.0×10^4 pfu/ml、0.1 ml) を接種した。HSV-1 の感染を確認するため、HSV-1 接種後 24 時間、48 時間、72 時間に側頭骨内顔面神経を採取し、qRT-PCR 法を用いて HSV-1 の検出を行った。耳介擦過で顔面神経麻痺が生じていないことを確認するため、コントロール群としてリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) を HSV-1 の代わりに右耳介後面に接種するコントロール群を作成した。顔面神経麻痺の評価は HSV-1 接種後 1 日、3 日、5 日、7 日に瞬目反射で確認した。また 7 日目に瞬目反射を確認したのち、吸入麻酔下に側頭骨外顔面神経本幹を露出し、眼輪筋の Electroneuronography (ENoG) value を測定した。組織学的検討を加えるため、HSV-1 接種後 5 日目に 4%ホルマリン灌流固定後、側頭骨外顔面神経を採取し、また顔面神経核評価のため全脳を採取した。

【結果】顔面神経麻痺は HSV-1 接種後 2-3 日目に生じ、麻痺の程度は 3-5 日かけて徐々に増悪した。瞬目反射での閉眼動作は HSV-1 接種 3 日では閉眼は不全麻痺程度であったが、HSV-1 接種

5日になると完全麻痺を生じた。これらの顔面神経麻痺は PBS 接種したコントロール群では生じず、HSV-1 接種群の HSV-1 接種側のみで生じた。ENoG による顔面神経麻痺の程度評価では、PBS 接種群では ENoG 値は 110.0 ± 18.0 と正常値であったが、HSV-1 接種群では $33.0 \pm 15.3\%$ と有意に低値をしめした。HSV-1 の感染を確認するため qRT-PCR を行ったが、HSV-1 接種 24 時間後より徐々に HSV-1 を認め、72 時間後には HSV-1 の DNA 量は顕著に増大を認め、HSV-1 の感染が確認された。組織学的検討では側頭骨外顔面神経において脱ミエリン化が認められた。顔面神経が損傷した場

合に顔面神経核でマイクログリアの活性化が認められることが多いが、今回の HSV-1 接種による顔面神経麻痺モデルでは、マイクログリアの活性化は認められなかった。

【考察】今回の研究では HSV-1 (KOS 株) により Wister 系ラット 3 週令に顔面神経麻痺を生じた。従来の balb/c マウスを用いた顔面神経麻痺モデル動物と比べると ENoG 値は低く、より重症の顔面神経麻痺が生じたと考えられた。側頭骨外顔面神経の組織像は従来の balb/c マウスと類似した所見であったが、顔面神経核では balb/c マウスと比べて神経変性が強く生じていた。側頭骨外顔面神経は脱ミエリン化を生じ、従来の balb/c マウスを用いた HSV-1 (KOS 株) による顔面神経麻痺マウスと類似した所見を認めた。一方で顔面神経核では従来の balb/c マウスでは HSV-1 ウイルスは確認されるものの神経変性が目立たないのに対して、今回の Wister ラットでは顔面神経核の障害を認め、今回のモデルでは末梢神経障害に加え中枢神経障害が生じることで従来の balb/c マウスよりも重症の顔面神経麻痺が生じたと考えられた。なお、この学位論文の内容は以下の原著論文に既に公表済みである。

主論文 : Takashi Fujiwara, Seiji Matsuda, Junya Tanaka, Naohito Hato: Facial paralysis induced by ear inoculation of herpes simplex virus in rat. *Auris Nasus Larynx* 44:58-64, 2017 DOI: 10.1016/j.anl.2016.04.002.