

(第3号様式)

学 位 論 文 要 旨

氏 名 藤原崇志

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

【背景・目的】顔面神経麻痺は表情筋が麻痺することにより生じるが、口角下垂にともなう摂食時の流涎などの物理的症狀に加え、顔の非対称などにより精神面への影響も生じ、生活の質が大きく低下する。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、また脳炎にともない顔面神経を含めた神経障害を生じる。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異なるが、これまでに HSV-1 による顔面神経を検討した研究では 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 系ラットに単純ヘルペスウイルス (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、0.1ml) 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。顔面神経麻痺についてはHSV-1 接種後1日、3日、5日、7日に瞬目反射を確認した。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 ± 15.3 と有

氏名 藤原崇志

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が神経変性が目立たないのに対して、今回の Wister ラットでは神経障害を認めた。顔面神経の末梢神経切断モデルとした顔面神経損傷では顔面神経核においてマイクログリアの活性化が認められるが、今回の Wister ラットに HSV-1 (KOS 株) を接種した顔面神経麻痺では活性化したマイクログリアは認められなかった。マイクログリアの活性・不活性を変化させることで、今後 HSV-1 接種による顔面神経麻痺の機序解明が期待されるものと考えられた。

キーワード (3~5)	単純ヘルペスウイルス 顔面神経麻痺 Bell麻痺 ヘルペスウイルス脳炎
-------------	--