

5) アカバネウイルスによる仔牛の先天性多発性関節拘縮症と動物接種実験

佐藤 猛*

研究協力者 尾田 進** 鍋谷 政広**
 本間 穂積** 大谷 明***

目 的

昭和47年8月下旬から50年春にかけて九州から関東さらに新潟県内に牛の異常産が流行した。四肢の関節拘縮，大脳欠損を主症状とし，*Arthrogryposis-Hydranencephaly* と呼ばれている。本症の原因は流産胎児からアルボウイルスに属するアカバネウイルスが分離されたこと，異常産仔牛と母牛の血清中にこのウイルスが認められたことなどから，アカバネウイルスの胎内感染によることが明らかにされた^{1), 2)}。

本症では病理学的に大脳の欠損，炎症所見，脊髄前角細胞変性，骨格筋萎縮がみられている。この病像はヒトの先天性多発性関節症(AMC)に類似している²⁾。またAMCの病因として胎生期前半のウイルス感染説も挙げられている³⁾。そこでウイルス感染によるAMCの病像成立機転を明らかにするため異常産仔牛の神経病理学的検索をし，さらにアカバネウイルスを乳のみハムスターに接種し，電顕で観察したので報告する。

材料と方法

異常産仔牛は新潟県家畜中央保健所(所長

宮田萬司)の御好意により検索を許可されたもので，新潟県下越地区および佐渡で発生した6頭である。発生時期，肉眼所見は同所ですでに報告されたものを引用し，表にまとめ

表 検索した異常産仔牛

仔牛No.	異常産 年月日	在胎日数	臨床症状
K-34	49.11.18	188	前肢屈曲
K-85	50.2.14	267	前肢屈曲，脳欠損
K-87	50.2.19	275	前肢屈曲
N-16	49.12.2	272	顔，四肢奇形
N-17	50.1.9	280	前肢腕関節X状， 脳一部欠損
N-20	50.1.30	269	関節湾曲， 脳一部欠損

K：新潟県下越地方

N：佐渡地方 (正常牛満期出産270日以上)

た。なおK-85以外は骨格筋が採取されていなかったため，典型例の骨格筋だけは他の異常産仔牛の材料を検索した。なお抗体陰性の早産牛1頭を対照とした。

アカバネウイルス(以下AVと略)(NB-45株)は佐渡で採取された流産胎児より尾田進博士が分離したものを分与された。Vero細胞でよく増殖し，titerは 10^4 TID 50/mlであった。

ハムスターは，生後3日目のゴールデンハムスターを用い，脳内あるいは筋肉内に 10^4

*新潟大学脳研究所神経病理

**新潟県中央家畜保健所

***国立予防衛生研究所

倍に稀釈した AV を 0.02ml 接種した。

組織培養：新生ハムスター脳を細切後、0.25%トリプシンで処理し、プラスチック瓶中に培養し、1週間後ウイルスを接種、さらに3日後電顕で観察した。

ウイルス定量：Vero細胞を用い、tube法によった。

蛍光抗体法：予研大谷明博士より分与を受けた抗 AV マウス血清（抗体価 $>10^{3.5}$ ），および FITC ラベル抗マウス IgG を用いて間接法で行った。

電顕：培養細胞はグルタルアルデヒドとオスmium酸にて固定後エボン包埋した。なお動物組織はエボン・アラライト包埋した。超薄切片はクエン酸ナトリウム、酢酸ウランにて二重染色後電顕にて観察した。

結 果

1. 異常産仔牛の神経病理学所見

肉眼的には仔牛 K-85 は大脳皮質はほとんど欠損し、基底核、脳幹部と萎縮した小脳のみ残存、肥厚した髄膜で覆われていた。N-16 は髄膜の癒着と共に、側頭葉皮質の一部が欠損していた。N-20 は大脳および小脳の融解がつよく、側頭葉皮質の一部が同様に欠損していた。N-17 は側頭葉の主に皮質下白質に深さ約 1 cm 大の嚢胞性空隙が形成されていた（図 1A）。この空隙は前頭葉から後頭葉にまで及んでおり、外側に大脳皮質第一層まで侵されているところもみられた。

脊髓では硬膜外表から後根神経節および脊髄神経近位部の被膜がキサントクロミーを呈していた。

主要な光学顕微鏡所見は次のごとくである。(1) 嚢胞状空隙周辺、脳室周辺、脳幹部などの血管周囲の小円形細胞浸潤や少数グリア結節（図 1B）。(2) 脳室上皮細胞の限局性壊死と剝離。(3) 髄膜の線維性肥厚、癒着、滲出

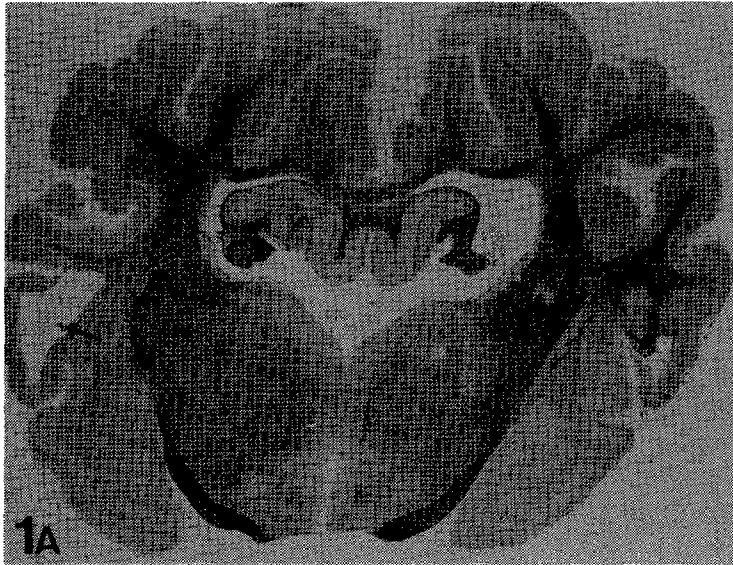


図 1A N-17. 尾状核後縁の前額断、両側頭葉の皮質下の白質における嚢胞状空隙(矢印) (K. B 染色)

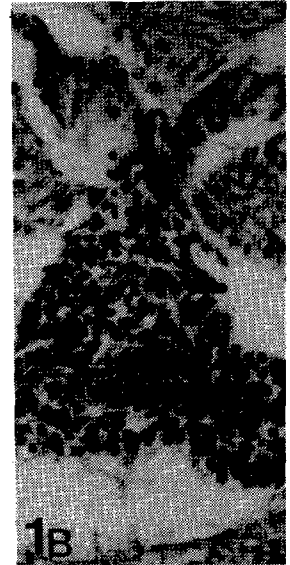


図 1B N-16. Pons の tegmentum における血管周囲の小円形細胞浸潤 (H. E)

性出血, (4) 大脳全般にわたる小血管のうっ血, 滲出性出血, 神経細胞の変性, 萎縮, 血管周囲組織の粗しょう化, 小軟化巣, (5) 脳幹部では神経細胞の変性, 壊死とグリオーシス, (6) 小脳では皮質および白質の粗しょう化, (7) 脊髄の両側錐体路変性, 灰白質における著明なグリオーシス, 前角細胞の変性, 脱落, K-34では neuronophagia グリア結節を伴っていた (図2), (8) 脊髄前根の有髓

神経線維の著明な脱落, (9) 骨格筋では小神経線維群より成る神経原性変化と比較的直径の太い筋線維の硝子様, 顆粒状変性 myophagia などが認められ, 筋原性変化の混在と考えられた, また間質の膠原線維が増加していた.

以上の神経病理学的所見は, ウイルス性脳脊髄炎と二次的な循環障害や anoxia による変化と診断した. 特に重要なのは脊髄前角細胞の著明な変化である.

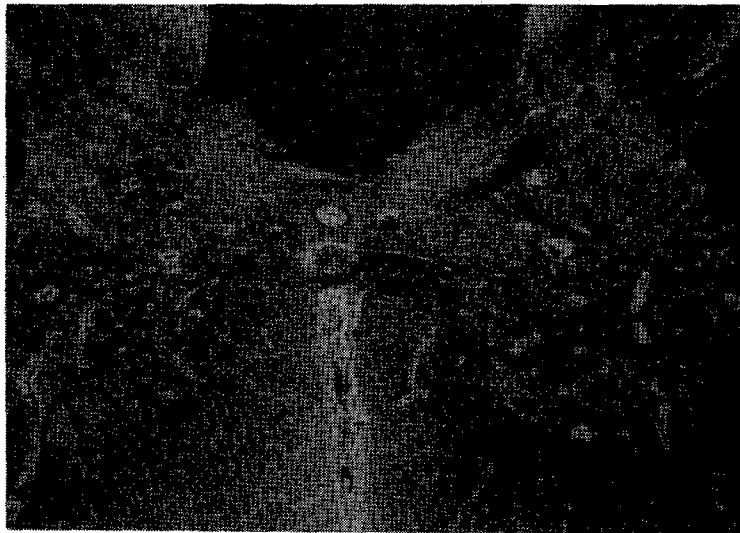


図2A N-16. 頸髄下部, 左前角における神経細胞の著明な減少 (K. B)

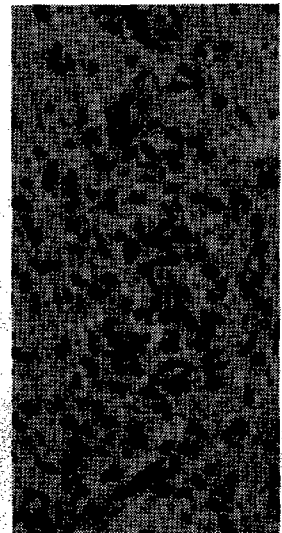


図2B K-34. 前角細胞の neuronophagia と著明なグリア細胞の増加 (H. E)

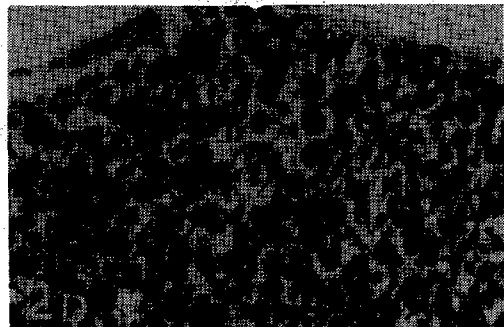
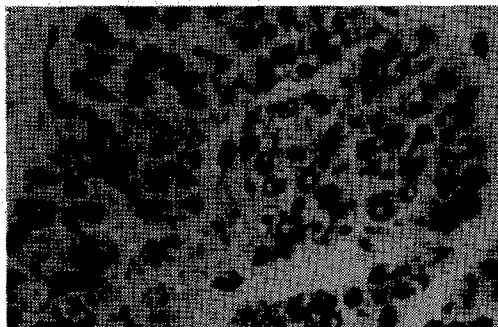


図2C, D N-16. 胸髄下部前根における有髓線維の著明な脱落 (C), 後根 (D) は比較的よく保たれている (K. B).

2. AV 感染細胞の電顕

新生ハムスターの脳組織培養に AV ウイルスを接種し、3日後に電顕で観察した。細胞表面に多数のウイルス粒子が認められた。

Coreとそれを覆う envelope とからなり envelope の表面には spike 状の突起がみられた。細胞内では異常に発達したゴルジ装置の小空胞と共に少数のウイルス粒子が出現していた。

3. 乳のみハムスターへの AV 接種実験

生後3日目のハムスターの脳内に AV を接種した。約2/3が1週間後に発症、四肢麻痺および呼吸麻痺にて死亡した。ウイルス定量では接種後3日目および5日目に大脳、脊髄、骨格筋内に表のごときウイルスがみられた。

蛍光抗体法では大脳の第3脳室周囲、大脳皮質の neuropil 部に微弱な特異蛍光を認めた。脊髄ではほとんどすべての前角細胞の胞体およびその突起内に顆粒状の強い特異蛍光があり、後角細胞にも同様の蛍光が出現して

いたが前角よりはるかに微弱であった(図3)。脊髄髄膜にも中等度の蛍光がみられた。骨格筋では接種3日後の乳のみハムスターでは神経筋接合部と思われる部位に強い蛍光を認め、5日後のハムスターでは骨格筋内に瀰漫性に弱い蛍光が発現していた。

光学顕微鏡ではなお検索中であるが、髄膜に細胞浸潤がみられた。

電顕では大脳皮質の neuropil において細胞間隙が拡大し、神経細胞の表面に少数のウイルスが付着していた。胞体内のゴルジ装置の cisternae および vesicle はよく発達し、少数のウイルス様粒子が認められた。またシナプス終末部に異様なリンゾーム様粗大顆粒が形成されており、内部にはウイルスの粒子状のものが多数含まれていた。

脊髄では前角細胞内に異常に発達したゴルジ装置の cisternae 内や小空胞内に多数のウイルス粒子が見出された(図4)。ウイルス粒子は Core のみのもの、逆に envelope 様小空胞のみのものなどが混在していた。胞体内にはリボゾームが著明に増加していたが、ミトコンドリアの形態は比較的よく保たれていた。しかし、無構造のもやもやした物質が出現しており、この中には少数のウイルス粒子が含まれていることもあった。なかには著明に萎縮している前角細胞もあり、星状膠細胞が増生していた。その内部にはグリアフィラメントが増加していた。

後角細胞では、ゴルジ装置の cisternae が前角細胞と同様に発達していたが、軽度でありウイルス粒子は極く少数であった。

腓腹筋肉内に接種したハムスターでは散在性に骨格筋は著明な変性、壊死に陥っており、リンパ球、大食細胞などの細胞浸潤を伴っていた。筋原線維は崩壊し、hypercontraction、

ミオフィラメントの解離、糸屑状の変性などが起っていた。かかる変性したミオフィラメントと共に多数の空胞あるいは細管状構造が形成され、この内部にウイルス様粒子が認められた。

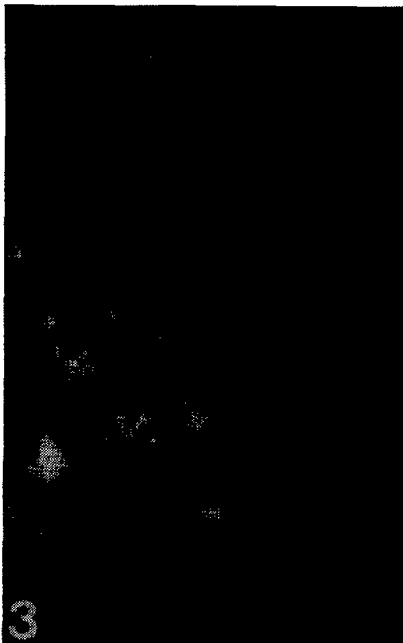


図3 AVを乳のみハムスターの脳内に接種、5日後の脊髄前角細胞の間接蛍光抗体法。後角(右上)の蛍光は弱い。

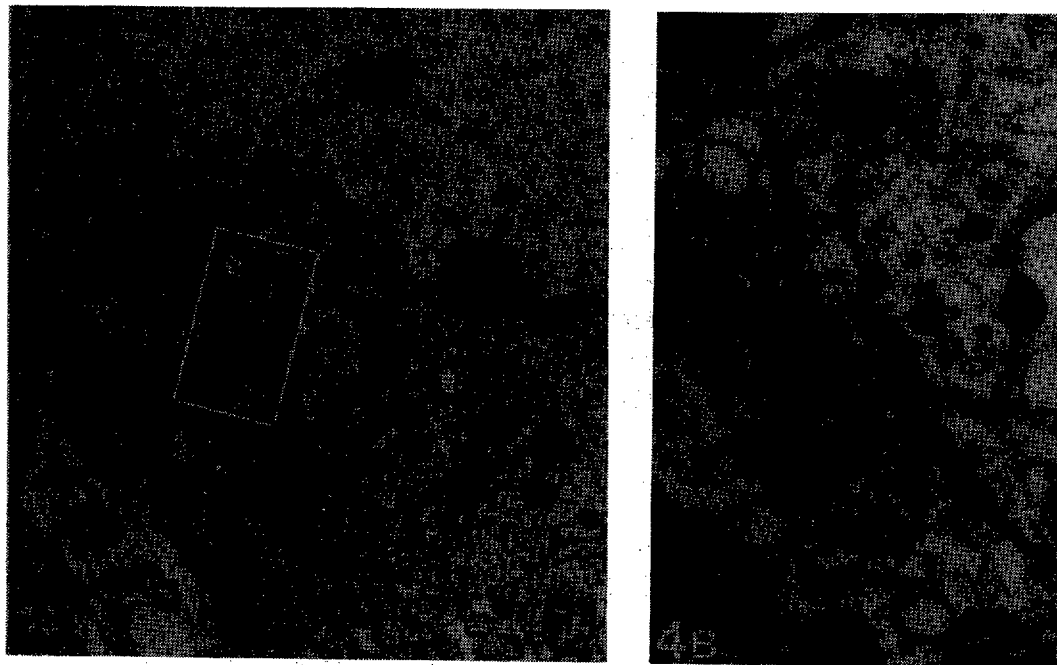


図4 A, B 乳のみハムスターの脳内接種4日後の脊髓前角細胞、ゴルジ装置内に多数のウイルス粒子がみられ、(B)は強拡大(×10,000, ×38,000)。

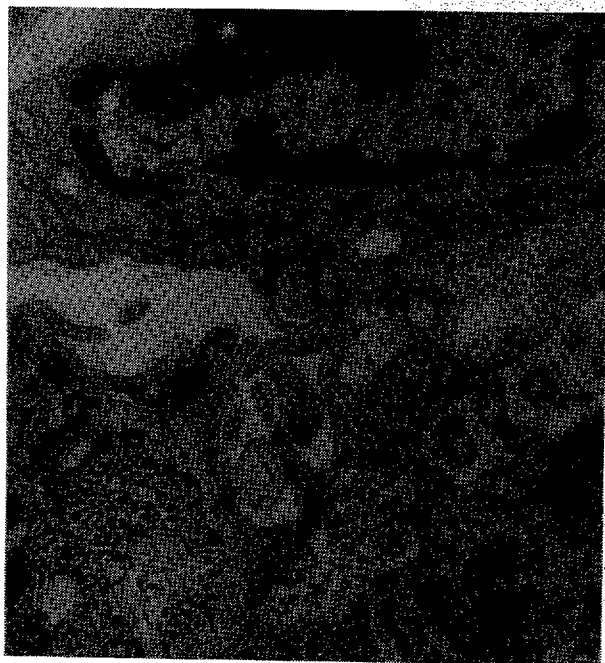


図5 乳のみハムスターの腓腹筋内接種5日後、神経筋接合部の神経終末(P)内に多数のグリコーゲン顆粒が蓄積している(×25,000)。

神経筋接合部(NMJ)では筋線維側の変性がまだそれほど進行していない時期に神経終末部の presynaptic terminal にはミトコンドリアの変性, グリコーゲン顆粒の蓄積, さらに presynaptic terminal の萎縮と, NMJ からの解離などがみられた(図5).

NMJに近い末梢神経終末部では Schwann 細胞内にウイルス粒子様小空泡の出現と強い変性に陥っている少数の Schwann 細胞が認められた.

考察と結論

ヒトの AMC の病因として, (1)胎生期初期における脊髄前角細胞障害, (2)骨格筋の変性あるいは形成不全, (3)脊髄前根の障害, (4)大脳や脳幹部における一次運動ニューロンの障害などが挙げられている.

異常産仔牛の神経病理学的検索結果と分離されたアカバネウイルスのハムスターへの接種実験の結果, 仔牛の AMC の成立機序を次のようにまとめることができる. (1)胎生期におけるアカバネウイルスの感染による脊髄前角細胞の障害, (2)骨格筋の支配神経(二

次ニューロン)の障害による神経原性萎縮と形成不全, さらに筋肉内の直接ウイルス増殖による筋線維の変性, (3)脊髄前角細胞変性とおそらく髄膜炎のための二次的影響も加味された結果の前根障害, (4)ウイルス性脳脊髄炎や髄膜炎さらに二次的な血流循環障害による大脳, 脳幹病変, (5)大脳病変のための二次的な錐体路変性, などである.

以上のような機序により胎生期ウイルス感染の結果, 骨格筋の運動制限と骨格筋自体の変性と発育障害が加って AMC が成立するものと考えた.

今後ヒトの AMC の病因も胎生期におけるウイルス感染という観点から検討する予定である.

文 献

- 1) 尾田進ら: 新医学会誌90: 614-621, 1976
- 2) 本間穂積ら: 昭和50年度新潟県中央家畜保健衛生所業務報告書 pp26-33
- 3) 瀬川昌也: 小児の神経筋疾患, 「筋肉病学」南江堂, 1973年, pp510-571

↓ **検索用テキスト** OCR(光学的文字認識)ソフト使用 ↓
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります

目的

昭和 47 年 8 月下旬から 50 年春にかけて九州から関東さらに新潟県内に牛の異常産が流行した。四肢の関節拘縮，大脳欠損を主症状とし，Arthrogryposis-Hydranencephaly と呼ばれている。本症の原因は流産胎児からアルボウイルスに属するアカバネウイルスが分離されたこと，異常産仔牛と母牛の血清中にこのウイルスが認められたことなどから，アカバネウイルスの胎内感染によることが明らかにされた 1), 2)