

単純ヘルペスウイルスによる顔面神経麻痺マウスモデル

脇坂 浩之 高橋 宏尚 木崎 久喜

羽藤 直人 暁 清文

愛媛大学耳鼻咽喉科

Mouse Facial Paralysis Model Induced by Herpes Simplex Virus Type 1 Infection

Hiroyuki WAKISAKA, Hirotaka TAKAHASHI, Hisanobu KISAKI,

Naohito HATO and Kiyofumi GYO

Department of Otolaryngology, Ehime University School of Medicine, Ehime, Japan

In order to investigate the mechanism of Bell's palsy, we developed an animal model of facial nerve paralysis induced by the primary infection and the reactivation of herpes simplex virus type 1 (HSV-1). Eight weeks after recovery from facial nerve paralysis caused by inoculation with HSV, the mice were treated with auricular skin scratch at the site of the previous inoculation, or with intraperitoneal injection of anti-CD3 or anti-CD4 monoclonal antibody (mAb), or combination of both procedures. No mice developed facial nerve paralysis when they were treated with either auricular scratch or mAbs injection alone. In contrast, 15% of mice developed facial nerve paralysis in the combined treatment group with auricular scratch and anti-CD3 mAb. Furthermore, 44% of mice developed facial nerve paralysis with auricular scratch and anti-CD4 mAb treatment group. Histopathological findings of the paralyzed mice with the auricular scratch and anti-CD4 mAb treatment showed noted demyelination in the cytoplasm of infected Schwann cells and some axonotomesis in the facial motor nerve area in the geniculate ganglion. Mononuclear cell infiltration with noted cell debris was also found around vessels in the geniculate ganglion. These findings suggest that both viral cytotoxicity and immuno-reaction against infected cells might be the cause of facial nerve paralysis induced by HSV infection.

緒 言

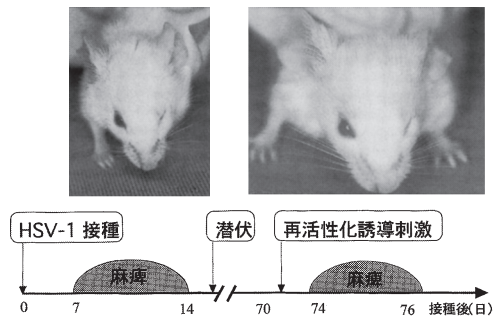
近年、ベル麻痺の病因は膝神経節での単純ヘルペスウイルス I 型 (HSV-1) の再活性化とする説が有力となって来ている。一方で、HSV-1 が顔面神経麻痺を起こすメカニズム、

すなわちウイルスが顔面神経においてどのように増殖しどのような神経障害をもたらすのかについては不明な点が多い。従来より当科では、HSV による顔面神経麻痺動物モデルの開発に取り組み、1995 年には HSV-1 初感染によるマ

ウス顔面神経麻痺モデル¹⁾, 2001年にはHSV-1再活性化によるマウス顔面神経麻痺モデル²⁾を報告して来た。そこで今回、この両動物モデルの検討結果を通して考えられるHSV-1による顔面神経麻痺発症のメカニズムについて若干の考察を加えて報告する。

顔面神経麻痺モデルの作成

Fig. 1に顔面神経麻痺モデルの経過を示す。動物は生後4週齢のBalb/c系マウスを用いている。杉田らの方法¹⁾に従い、ヒトHSV-1型KOS株(4.5×10⁶pfu/ml)を25ml右耳介に接種すると、接種7日後には、約70%のマウスが一側性の顔面神経麻痺を発症する(初感染モデル)。これらの麻痺は約7日間継続した後に全例で自然治癒し、ウイルスは膝神経節で潜伏



Facial nerve paralysis was seen for 1week from 7days after inoculation. Eight weeks after recovery from facial paralysis, the mice developed facial nerve paralysis again when they were treated with some procedures for inducing reactivation of HSV-1.

Fig. 1 HSV-1 顔面神経麻痺モデル

Table 1 HSV-1 再活性化刺激方法

再活性化刺激方法	麻痺発現率
耳介擦過	0% (0/10)
anti-CD3	0% (0/10)
anti-CD4	0% (0/10)
耳介擦過+ anti-CD3	15% (3/20)
耳介擦過+ anti-CD4	44% (11/25)

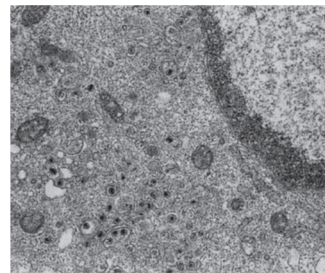
感染状態となる^{2,3)}。これらのマウスを用い、麻痺治癒後8週間経過した時点でウイルスの再活性化刺激を行い、ウイルス再活性化を惹起させると再び同側に顔面神経麻痺が発現する(再活性化モデル)。

ウイルス再活性化刺激の方法と麻痺発現率

Table 1に様々なウイルス再活性化刺激方法とそれによる顔面神経麻痺発現率を示す。耳介擦過のみによる刺激や抗CD3抗体あるいは抗CD4抗体の単独投与(100μg腹腔内投与)による免疫抑制刺激では麻痺を発現するマウスは認められなかった。一方で、耳介擦過刺激に免疫抑制刺激を併用すると、抗CD3抗体併用群で15%、抗CD4抗体併用群で44%のマウスに顔面神経麻痺の発現を認めた。

再活性化モデルの組織学的検討

耳介擦過刺激と抗CD4抗体併用により顔面神経麻痺を発現したマウスをPBSで灌流し、4%ホルムアルデヒド及び4%グルタルアルデヒドで固定した。これより顔面神経膝神経節部を摘出しマイクロスライサーにて100μm厚に薄切した後、4%オスミウムで後固定後、アルコール系列で脱水、ウラン染色を行い、エポキシ樹脂に包埋した。これを700Å厚で超薄切し、ウランおよび酢酸鉛で染色した後、透過型電子顕微鏡で観察した。膝神経節の神経細胞内で再



HSV-1 were replicated remarkably in the cytoplasm of neuron of the geniculate ganglion.

Fig. 2 TEM showed HSV-1 in the Cytoplasm of the geniculate ganglion neuron

活性化した HSV-1 は活発に増殖していた (Fig. 2). また運動神経領域では, シュワン細胞へのウイルス感染によるシュワン細胞質内の空胞変性とそれに伴う脱髄を認めた (Fig. 3). また一部の線維では軸索変性も認められた (Fig. 3). 血管の周囲には, 単核細胞の浸潤を認め, それに伴う感染細胞の貪食像や死滅した細胞の debris を認めた (Fig. 4).

考 察

ウイルス感染による組織障害には, ウイルス自身による感染細胞への直接的な障害やウイルス感染により活性化された免疫系細胞による組織障害等が知られている. 今回の我々の検討では, “耳介擦過と抗 CD 3 抗体併用群” で 15% のマウスに顔面神経麻痺の発現を認めた. この

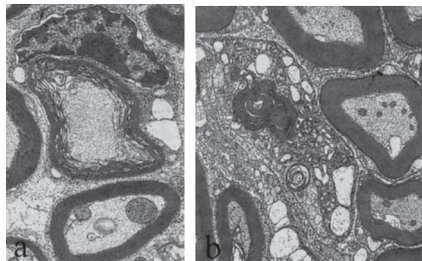
群のマウスでは, すべての T 細胞は抗 CD 3 抗体により排除されており, 免疫系細胞によるウイルス感染細胞への障害は起こり得ない. つまり, この群のマウスに生じた顔面神経麻痺は, 膝神経節にて再活性化した HSV-1 が運動神経領域のシュワン細胞を直接障害することで生じたと考えられる. また, “耳介擦過と抗 CD 4 抗体併用群” では, 顔面神経麻痺を 44% に認め, “耳介擦過と抗 CD 3 抗体併用群” に比して麻痺の発現率が有意に多かった. さらにこの群の組織学的検討では, 免疫系細胞の浸潤やそれに伴うと思われる軸索変性等も認められた. これらのことより, “耳介擦過と抗 CD 4 抗体併用群” では, HSV-1 による運動神経領域のシュワン細胞への直接障害に加えて, 免疫系細胞による運動神経への組織障害も麻痺の原因となっていることが示唆された.

ま と め

今回の検討により, HSV-1 による顔面神経麻痺の発生メカニズムとして, HSV-1 によるシュワン細胞への直接障害と HSV-1 感染細胞に対するホストの免疫反応による障害が明らかとなった. しかしながら, 従来から麻痺の発生メカニズムの一つとして報告されている, 顔面神経管内における顔面神経の絞厄が, HSV-1 による顔面神経麻痺の発生メカニズムに関わっているかは現時点では不明であり, この解明が今後の課題であると考えられる.

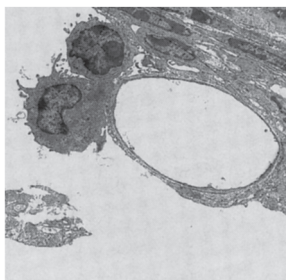
参 考 文 献

- 1) Sugita T, Murakami S, Yanagihara N., Fujiwara Y, Hirata Y.: Facial nerve paralysis induced by herpes simplex virus in mice: an animal model of acute and transient facial paralysis. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 104, 574-81, 1995
- 2) Takahashi H, Hitsumoto Y, Honda N, Hato N, Mizobuchi M, Murakami S, Kasaki H,



3a; Demyelination were seen in the cytoplasm of infected Schwann cells in the facial motor nerve area of the geniculate ganglion.
3b; Axonotomesis (B) were also observed in the facial motor nerve area in the geniculate ganglion.

Fig. 3 TEM showed Demyelination (a) and Axonotomesis (b)



Mononuclear cell infiltration with noted cell debris was found around vessels in the geniculate ganglion.

Fig. 4 TEM showed Mononuclear Cell Infiltration

Wakisaka H, Gyo K. Mouse model of Bell's palsy induced by reactivation of herpes simplex virus type 1. J Neuropathol Exp Neurol 60; 621-627, 2001

Kisaki H, Murakami S, Gyo K, Mominoki K, Kobayashi N, Matsuda S. Demyelination Associated With HSV-1-Induced Facial Paralysis. Experimental Neurology 178, 68-79, 2002

3) Wakisaka H, Hato N, Honda N, Takahashi H,

質 疑 応 答

質問 新井寧子（東京女子医大）

- 1) ウイルスを接種していない側の皮膚刺激で対側の麻痺は生じるか。
- 2) 人間でウイルスは両側に潜伏していると思われるが、麻痺が一側性なのはなぜか。

応答 脇坂浩之（愛媛大）

- 1) ウイルスが潜伏している側に刺激が無いと生じない。
- 2) さまざまな刺激でウイルスの再活性化は起こるが、麻酔を来たす側の再活性化が先行した場合には免疫応答により外側のウイルス増殖神経障害等は抑制されるものと思われる。

連絡先：脇坂 浩之

〒791-0295

愛媛県温泉郡重信町志津川 454

愛媛大学医学部耳鼻咽喉科学教室

TEL 089-960-5366 FAX 089-960-5368

E-mail wakisaka@m.ehime-u.ac.jp