

マウスロタウイルス

渡邊利彦
中外製薬株式会社

1. 病原体（ウイルス）

マウスロタウイルス（MRV）は伝染性マウス幼仔下痢症（Epizootic diarrhea of infant mice: EDIM）の原因ウイルスであり、レオウイルス科ロタウイルス属に属するエンベロープを持たない2本鎖RNAウイルスである。

ロタウイルス属は外殻と内殻の2層のカプシドに覆われたコアシェルの中にウイルスゲノムが収められた3層構造をしている。ウイルスゲノムは11分節に分かれ、ウイルス粒子を形成する6種の構造タンパク（VP1~6）と感染した細胞内で作られるがウイルス粒子には取り込まれない6種の間非構造タンパク（NSP1~6）をコードしている。

ロタウイルス属は内殻を構成するVP6の抗原性によってA~H群に分類され、MRVはヒトを含む種々の脊椎動物を宿主とするA群に属している[26]。

MRVは56℃30分の加熱では完全に失活しないが、70℃15分で失活する[24]。低pH溶液、非イオン性洗剤、タンパク分解酵素、エーテル、クロロホルム、デオキシコール酸に抵抗性があり、フェノール、塩素あるいはエタノールを含む消毒剤によって失活する[9, 13]。

MRVにはEB, EW, EC, EL, EHP, YR-1など数種の株が報告されており[7, 20]、株によって病原性に違いが認められている[12]。

2. 宿主

MRVはマウスにのみ感染し、実験用マウスの感染はよく知られているが、野生マウスでの感染も報告されており、オーストラリアで捕獲されたイエハツカネズミ（*Mus domesticus*）では74%がMRV抗体陽性であったことが報告されている[19]。

ラットからもロタウイルス様のウイルスが分離された報告があるがよくわかっていない。各動物種には固有のロタウイルスが存在すると考えられており、

病態も共通点が多い[27]。

3. 感染様式

下痢を発症したマウスの糞便中には大量（糞便1g中に 10^{11} 個以上）のウイルス粒子が含まれ、糞便を介して経口感染する[9]。感染個体との直接接触による感染の他、ウイルスに汚染された浮遊塵埃や床敷きも感染源となる。MRVの感染力は非常に強く、施設内で急速に広がる。一方、胎盤を介した垂直感染は認められていない[1, 2]。

4. 発生状況

ロタウイルスは、世界中で普遍的に見られる、下痢症の原因ウイルスの一つである。ヒトの場合、特に、小児に対して重篤な下痢を引き起こし、罹患患者の10%は入院となる[25]。

MRVの発生状況は、Charles River Laboratories International, Inc.が、北アメリカと東ヨーロッパの2つの研究施設で受託した各地域の研究機関からの血清サンプル（N=466,572）を解析した報告がある[15]。その結果、北アメリカ:0.56%、東ヨーロッパ:0.35%であった。日本国内の発生状況は極めて低いと考えられている[27]。

5. 臨床症状

MRVに対する感受性は生後2週までのマウスが最も高く、水溶性黄色下痢、活動性低下（元気消失）、腹部膨大、被毛の汚れ等の症状を呈する[1, 5]。一方、成熟したマウスでは明らかな臨床症状は見られない。MRVの罹患率が高いが、発症しても乳仔は母乳を飲み続けることができ、死亡することはほとんどない。死亡する例は、乾燥した糞便による肛門閉塞と関連していると考えられている。下痢は発症後2週以内に回復する[9]。

6. 病変

下痢を発症したマウスの胃内には母乳が貯留し、腸内には大量の黄色粘液状消化物とガスが充満し膨張する。病変は主に空腸と回腸の絨毛先端部の成熟上皮細胞に認められ、陰窩の変化は少ない。絨毛の粘膜上皮細胞は空砲化し、リンパ管の拡張、血管の鬱血により絨毛先端部が球状に膨らむ [1, 2, 18]。感染上皮細胞内には粗面小胞体由来する小胞が認められ、多数のウイルス粒子、電子密度の高い顆粒状物質および脂質が含まれる。ウイルスは小腸と大腸何れの上皮細胞内にも認められるが、小腸では絨毛の基部から先端に向かってウイルスに対する感受性が高くなる。感染細胞の崩壊、剥離によってウイルスが腸管内に放出される [2]。

MRV の感染は年齢に関係なく起こるが、感染後の経過は年齢によって異なる。生後1週未満のマウスにウイルスを経口接種すると3時間後に胃、小腸、大腸、22時間後に血中、肝、脾、肺、30時間後には腎、膀胱、尿、脳からウイルスが検出される。糞便からは接種3週間までウイルスが検出されるがその後消失する。下痢は接種40時間後から始まり、11日後には回復する。ウイルスの複製は胃を除く十二指腸から肛門の上皮細胞内で起こる。ウイルス血症は6日後でも確認される [2]。また、成熟マウスは下痢を発症しないが少なくとも感染17日後までウイルスを糞便中に排出し [9]、血清中からもウイルス抗原が検出されている [3]。

ヌードマウスはウイルスに対する感受性が通常マウスと差がなく、Eidenらの報告 [8] ではヌードマウス、正常マウスとも下痢は感染後3日目から認められ13日目までに消失した。一方、SCID マウスは感受性が高く Riepenhoff-Talty らの報告 [21] では、下痢の持続期間が15.5日と正常マウスの約2倍長く、軟便は16日目以降も継続した。また、糞便中のウイルスは正常マウスが24日後に消失したのに対し、SCID マウスでは36日後以降も検出された。さらに、SCID マウスでは哺乳行動の減少も認められ臨床症状はより重度であった。また、T cell と B cell を欠損している Rag-1 欠損マウスと Rag-2 欠損マウスでも持続感染が成立する [21]。

7. ロタウイルスの感染と下痢発症機構

ロタウイルスは外殻のスパイクタンパク VP4 が細胞表面レセプターに吸着し、その後 VP4 と VP7 を脱殻して細胞内に侵入する [26]。細胞表面のレセプターは O- 結合型シアル酸を含む糖タンパク質と言われて

いる [22]。

ロタウイルス感染による下痢の発症メカニズムとして、①小腸絨毛上皮細胞の破壊による吸収不良、②感染細胞内で産生され細胞外へ放出された NSP4 による細胞膜の透過性亢進（細胞外に放出された NSP4 は細胞膜上のホスホリパーゼ C - イノシトール三リン酸経路を活性化し、小胞体からの Ca^{2+} の放出を促す。その結果、細胞膜の Cl^- 透過性が増大し、 Cl^- と水分の分泌が亢進する）、③腸管神経系の活性化による水分と電解質の分泌亢進、④絨毛の虚血により上皮細胞の機能障害等が報告されている [16]。MRV に感染した乳仔マウスでは腸管運動が亢進するとの報告があり [11]、腸管神経系が関与している [16]。

8. 実験への影響

ロタウイルスは宿主の生理機能に種々の変化を及ぼし、MRV に感染した哺育マウスでは病原性大腸菌による死亡が増加するとの報告がある [14]。また、腸の酵素活性 [6] や吸収能 [10] が影響受けるとの報告もあるため、幼若マウスを用いた研究に影響する。

一方、ロタウイルスに感染したマウスはヒトのロタウイルス性下痢症モデルとして利用され、病原性発現機序の解明やワクチン開発に貢献している。

9. 検査方法

臨床診断と抗体検査により確定診断を行う。ウイルス抗原は、糞中や、感染3から7日目に血中に現れる。スクリーニング検査としては、multiplexed fluorometric immunoassay (MFIA)、確定診断には、Indirect fluorescent antibody (IFA) が有効とされている [4, 15]。また、サル腎初代培養細胞や MA104 細胞を用いてトリプシン加培養液による回転培養により、腸内容物からウイルス分離が可能である [22]。

10. 感染対策

感染を予防するために、野生マウスを動物施設から排除することや、定期的な抗体検査が有効とされている。また、胚移植か子宮摘出術が、新生児の感染防御に有効との報告がある。この他、動物に接触する器具等のオートクレーブ滅菌や、洗剤・酸化剤による徹底した消毒も感染予防として重要である [5]。

11. 最後に

海外では MRV 感染の発生報告があるが、日本国内の実態はよくわかっていない。感染しても致死に至ることは無いが、その後の生育などに影響を与えることから、特に自家繁殖のコロニーを持つ施設にとっては重要な感染症の一つである。免疫不全動物はもとより、遺伝子改変動物の繁殖生産については予期せぬ影響が懸念される。日本国内の感染状況について調査を進める必要があると思われる。

文 献

- Baker, D.G. 1998. Natural Pathogens of Laboratory Mice, Rats, and Rabbits and Their Effects on Research Digestive System, Viruses, (iii) Mouse rotavirus. *Clin. Microbiol. Rev.* 11: 237.
- Barthold, S.W. 1997. Murine Rotavirus Infection, Intestine, Mouse. Jones, T.C. et al. (eds.) Digestive System (sec. ed.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg. p. 384.
- Blutt, S.E., Fenaux, M., Warfield, K.L., Greenberg, H.B., and Conner, M.E. 2006. Active Viremia in Rotavirus-Infected mice. *J. Virol.* 80: 6702–6705.
- CDC. [Internet]. Rotavirus, In: Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases, The Pink book, Course Textbook 13th ed. [Cited 11 Jan. 2016]. Available at <http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/downloads/rota.pdf>
- Charles river. [Internet]. Technical sheet: Mouse Rotavirus. [Cited 11 Jan. 2016]. Available at http://www.crriver.com/files/pdfs/infectious-agents/rm_ld_r_mouse_rotavirus
- Collins, J., Starkey, W.G., Wallis, T.S., Clarke, G.J., Worton, K.J., Spencer, A.J., Haddon, S.J., Osborne, M.P., Candy, D.C., and Stephen, J. 1988. Intestinal enzyme profiles in normal and rotavirus-infected mice. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 7: 264–272.
- Dunn, S.J., Burns, J.W., Cross, T.L., Vo, P.T., Ward, R.L., Bremont, M., and Greenberg H.B. 1994. Comparison of VP4 and VP7 of five murine rotavirus strains. *Virology* 203: 250–259.
- Eiden, J., Lederman, H.M., Vonderfecht, S., and Yolken, R. 1986. T-cell-deficient mice display normal recovery from experimental rotavirus infection. *J. Virol.* 57: 706–708.
- Held, N., Hedrich, H.J., and Bleich, A. 2011. Successful sanitation of an EDIM-infected mouse colony by breeding cessation. *Lab. Anim.* 45: 276–279.
- Ijaz, M.K., Sabara, M.I., Frenchick, P.J., and Babiuk, L.A. 1987. Assessment of intestinal damage in rotavirus infected neonatal mice by a D-xylose absorption test. *J. Virol. Methods.* 18: 153–157.
- Istrate, C., Hagbom, M., Vikström, E., Magnusson, K.E., and Svensson, L. 2014. Rotavirus infection increases intestinal motility but not permeability at the onset of diarrhea. *J. Virol.* 88: 3161–319.
- McNeal, M.M., Belli, J., Basu, M., Choi, A.H., and Ward, R.L. 2004. Discovery of a new strain of murine rotavirus that is consistently shed in large quantities after oral inoculation of adult mice. *Virology* 320: 1–11.
- Much, D.H. and Zajac, I. 1972. Purification and characterization of epizootic diarrhea of infant mice virus. *Infect. Immun.* 6: 1019–1024.
- Newsome, P.M. and Coney, K.A. 1985. Synergistic rotavirus and Escherichia coli diarrheal infection of mice. *Infect. Immun.* 47: 573–574.
- Pritchett-Corning, K.R., Cosentino, J., and Clifford, C.B. 2009. Contemporary prevalence of infectious agents in laboratory mice and rats. *Lab. Anim.* 43: 165–173.
- Ramig, R.F. 2004. Pathogenesis of Intestinal and Systemic Rotavirus Infection. *J. Virol.* 78: 10213–10220.
- Riepenhoff-Talty, M., Dharakul, T., Kowalski, E. Michalak, S., and Ogra, L.P. 1987. Persistent rotavirus infection in mice with severe combined immunodeficiency. *J. Virol.* 161: 3345–3348.
- Rodriguez-Toro, G. 1980. Natural epizootic diarrhea of infant mice (EDIM): a light and electron microscope study. *Exp. Mol. Pathol.* 32: 241–252.
- Smith, A.L., Singleton, G.R., Hansen, G.M., and Shellam, G. 1993. A serologic survey for viruses and Mycoplasma pulmonis among wild house mice (Mus domesticus) in southeastern Australia. *J. Wildl. Dis.* 29: 219–229.
- Ushijima, H., Morikawa, S., Mukoyama, A., and Nishio, O. 1955. Characterization of VP4 and VP7 of a murine rotavirus (YR-1) isolated in Japan. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* 48: 237–247.
- VanCott, J.L., McNeal, M.M., Flint, J., Bailey, S.A., Choi, A.H., and Ward, R.L. 2001. Role for T cell-independent B cell activity in the resolution of primary rotavirus infection in mice. *Eur. J. Immunol.* 31: 3380–3387.
- Willoughby, R.E. 1993. Rotaviruses preferentially

- bind O-linked sialylglycoconjugates and sialomucins. *Glycobiology* 3: 437-445.
23. 有川次郎. 2000. ウイルス性疾患. pp. 156. 実験動物感染症の対応マニュアル(前島一淑監修), アドスリー, 東京.
 24. 岩井 法. 1985. マウスロタウイルス性腸炎. pp. 196-198. 実験動物感染病学(藤原公策編), ソフトサイエンス社, 東京.
 25. 河島尚志, 渡邊知愛子, 五百井寛明. 2006. ロタウイルスの最近の話題. *モダンメディア* 52: 371-376.
 26. 河本聡志, 谷口孝喜. 2014. 1. ロタウイルス. *ウイルス* 64: 179-190.
 27. 公益法人日本実験動物協会編. 2015. マウスロタウイルス. pp. 44-45. 実験動物の感染症と微生物学的モニタリング. アドスリー, 東京.