

ラットポリオーマウイルス2感染症

田中美有

大阪府立大学生命環境科学研究科獣医学専攻

要約

2016年、米国のX連鎖重症複合免疫不全症(XSCID)ラットのコロニーにおいて、ラットポリオーマウイルス2(*Rattus norvegicus polyomavirus 2*: RatPyV2)感染症が報告された。RatPyV2は免疫正常ラットでは不顕性に持続感染するが、免疫不全ラット系統であるXSCIDラットでは、様々な程度の呼吸器症状や消瘦、繁殖悪化、全身状態の悪化を呈する。RatPyV2は上皮向性ウイルスであり、唾液腺やハーダー腺、眼窩外涙腺、呼吸器、生殖器/副生殖器の上皮細胞が主な標的臓器である。病理組織学的には、過形成および異形成を呈する標的上皮細胞における、大型の好塩基性核内封入体の形成が特徴である。唾液腺やハーダー腺、眼窩外涙腺では、線維化や単核球浸潤を伴った腺組織の萎縮および消失も観察される。特に耳下腺は重度かつ広範囲に傷害される傾向にあり、1か月齢の時点でも比較的重度の病変がびまん性に形成される。また、重篤な呼吸器症状を呈する個体では、重度の間質性肺炎が認められる。標的となる上皮組織の中でも、耳下腺はRatPyV2に対する感受性がより高い可能性があり、RatPyV2感染症が疑われた際には、耳下腺を含む唾液腺組織を用いた病理学的検査やPCR検査が必須であると考えられる。本稿では、RatPyV2感染症の特徴、診断方法、発生状況について、筆者らのこれまでの研究成果と米国の研究グループの報告から、最新の知見をご紹介します。

1. ポリオーマウイルスとポリオーマウイルス感染症について

ポリオーマウイルス(PyV)は、ポリオーマウイルス科(*Polyomaviridae*)に分類される、エンベロープを有さない全長約5,000 bpの環状2本鎖DNAウイルスである。国際ウイルス分類委員会のサイトでは、2020年2月現在、ポリオーマウイルス科として、4つの属(アルファ、ベータ、ガンマ、デルタポリオーマウイルス属)と102の種ならびに9の未分類種が記載されている[1, 2]。ヒト以外に感染するPyV種の学名は、宿主の学名にpolyomavirusおよび数字を加えて構成される(ヒトに感染する場合は、宿主名にhumanを用いる)。PyVは、1953年、白血病を自然発症するマウスの肝臓・脾臓・リンパ組織からの濾過抽出物を新生マウスに接種すると、唾液腺など多臓器に腫瘍が形成される、という実験から発見された(マウスポリオーマウイルス、*Mus musculus polyomavirus 1*: MPyV)[3, 4]。PyVは、“複数の(poly-)腫瘍(-oma)”という語源が示すように、宿主の腫瘍発生に関与する。各PyV種は哺乳類・鳥類・魚類など様々な動物を自然宿主とする。哺乳類では不顕性感染するが、宿主が免疫不全または抑制状態に陥ると発症する。

表1にラット、マウスおよびヒト(抜粋)のポリオー

マウイルス種を列挙した。ヒトポリオーマウイルス(アルファ、ベータ、デルタポリオーマウイルス属に14種が知られている)では、悪性腫瘍やHIV感染によるエイズ発症患者、臓器移植や自己免疫疾患に対する免疫抑制療法中の患者などにおいて、腎炎(HPyV1あるいはBKPyV)や脳症(HPyV2あるいはJCPyV)、肺炎(HPyV4あるいはWUPyV)、メルケル細胞癌(HPyV5あるいはMCPyV)といった、各PyV種に起因する疾患が報告されており、日和見感染症として医学上の問題となっている[3, 5]。

実験動物に関しては、マウスでは3種のPyV(*Mus musculus polyomavirus 1*~3)が報告されているが、実験用マウスコロニーでは、PyV感染の有病率は極めて低いとされている[6]。自然感染では無症状であるが、ヌードマウスを用いたMPyVの実験感染では、肺や腎臓、脳など様々な臓器における炎症や壊死病変、乳腺癌などの腫瘍性病変を形成することが知られている[5-7]。ラットでは、1984年、消耗性疾患を示したヌードラット(NIH-Foxn1^{nu})において、唾液腺炎、気管・気管支・細気管支炎、肺炎の原因としてPyVが初めて報告された[8-10]。本例では、抗SV40(Simian virus 40)抗体によってウイルス抗原が検出され、ポリオーマウイルスであることが示唆されたが[8]、当時はウイルスのゲノム配列は決定されていなかった。2015年には、野生または野生由来コ

ロニーの Norway ラットから検出された, *Rattus norvegicus polyomavirus 1* (RnorPyV1)が報告されたが, 本ウイルスに感染したラットは, 明らかな異常所見を示さなかったとされている [11]。さらに, 2016 年には, Rigatti らが, 米国の X 連鎖重症複合免疫不全症 (XSCID) ラットコロニーにおいて, ラットポリオマウイルス 2 (*Rattus norvegicus polyomavirus 2*: RatPyV2, RnovPyV2,) 感染症を報告した [12]。ウイルスゲノム塩基配列を用いた系統発生解析により, RatPyV2 は RnorPyV1 (アルファポリオマウイルス属) とは異なるウイルスであり, ベータポリオマウイルス属に分類されること, ヒトの WUPyV と近縁であることが示された [12]。2017 年には, Wistar Han ラットでの免疫抑制剤を用いた慢性毒性試験において, 病理学的検査から PyV 感染が関連すると考えられる前立腺炎の症例が報告されが, 当時の PCR 検査では PyV 遺伝子の検出には至っていなかった [13]。

2. ラットポリオマウイルス 2 感染症の特徴

ここでは, 筆者らが 1 ~ 8.5 か月齢の XSCID-TALEN ラット系統 (計 25 匹) を対象に実施した RatPyV2 感染症の病変解析の結果 [14] と, 米国の研究グループの報告 [12, 15] にもとづいて, RatPyV2 感染症の特徴について述べる。

(1) 臨床徴候

我々が調べた限り, RatPyV2 は免疫正常ラット系統では不顕性に持続感染し, 臨床的に確認しうる徴候をとくに認めない。一方で, RatPyV2 に感染した XSCID-TALEN ラット系統は, 衰弱および消瘦, 呼吸器症状, 雌の繁殖成績悪化や紅涙 / 色素涙を呈し, 6 か月齢以降で死に至る個体が増える傾向にある (表 2) [14]。臨床徴候の程度は, ラットの月齢や個体によって様々であり, 特に乳子や若齢個体では, RatPyV2 に感染していても明らかな臨床徴候を示さ

表 1 ラット, マウスおよびヒトのポリオマウイルス

宿主/学名	略称	通称・別称	属
ラット			
<i>Rattus norvegicus polyomavirus 1</i>	RnorPyV1	ラットポリオマウイルス 1	<i>Alpha polyomavirus</i>
<i>Rattus norvegicus polyomavirus 2</i>	RatPyV2	ラットポリオマウイルス 2, RnorPyV2, RPyV2	<i>Beta polyomavirus</i>
マウス			
<i>Mus musculus polyomavirus 1</i>	MPyV	マウスポリオマウイルス 1, MmusPyV1	<i>Alpha polyomavirus</i>
<i>Mus musculus polyomavirus 2</i>	MptV	マウスポリオマウイルス 2, MmusPyV2	<i>Beta polyomavirus</i>
		Mouse pneumotroic virus (マウス向肺性ウイルス)	
		Kilham ウイルス, K ウイルス	
<i>Mus musculus polyomavirus 3</i>	MPoV3	マウスポリオマウイルス 3, MmusPyV3	<i>Beta polyomavirus</i>
ヒト (全 14 種から抜粋)			
<i>Human polyomavirus 1</i>	1BKPyV	HPyV1, BK ポリオマウイルス	<i>Beta polyomavirus</i>
<i>Human polyomavirus 2</i>	JCPyV	HPyV2, JC ポリオマウイルス	<i>Beta polyomavirus</i>
<i>Human polyomavirus 4</i>	WUPyV	HPyV4, WU ポリオマウイルス	<i>Beta polyomavirus</i>
<i>Human polyomavirus 5</i>	MCPyV	HPyV5, Merkel cell ポリオマウイルス	<i>Alpha polyomavirus</i>

国際ウイルス分類委員会 (ICTV) のサイトに記載されているウイルスを列記した。

https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/dsdna-viruses/w/polyomaviridae/628/genus-alphapolyomavirus

https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/dsdna-viruses/w/polyomaviridae/629/genus-betapolyomavirus

表 2 RatPyV2 に感染した XSCID-TALEN ラットの臨床徴候 (文献 14 を改変)

	月齢			
	1 か月齢	2-3 か月齢	4-5 か月齢	>6 か月齢
検査数 ^{注)}	3 (♂:2, ♀:1)	9 (♂:7, ♀:2)	6 (♂:4, ♀:2)	7 (♂:3, ♀:4)
呼吸困難	—	—	—	中等度~重度
繁殖悪化	—	3 ~ 4 ヶ月齢を過ぎた ♀ で繁殖悪化する傾向	—	—
衰弱・消瘦	—	—	—	中等度~重度
紅涙 / 色素涙	—	—	—	軽度~重度

注) 文献 14 において, 剖検および病理組織学的検査を実施した動物数

— : 異常所見なし

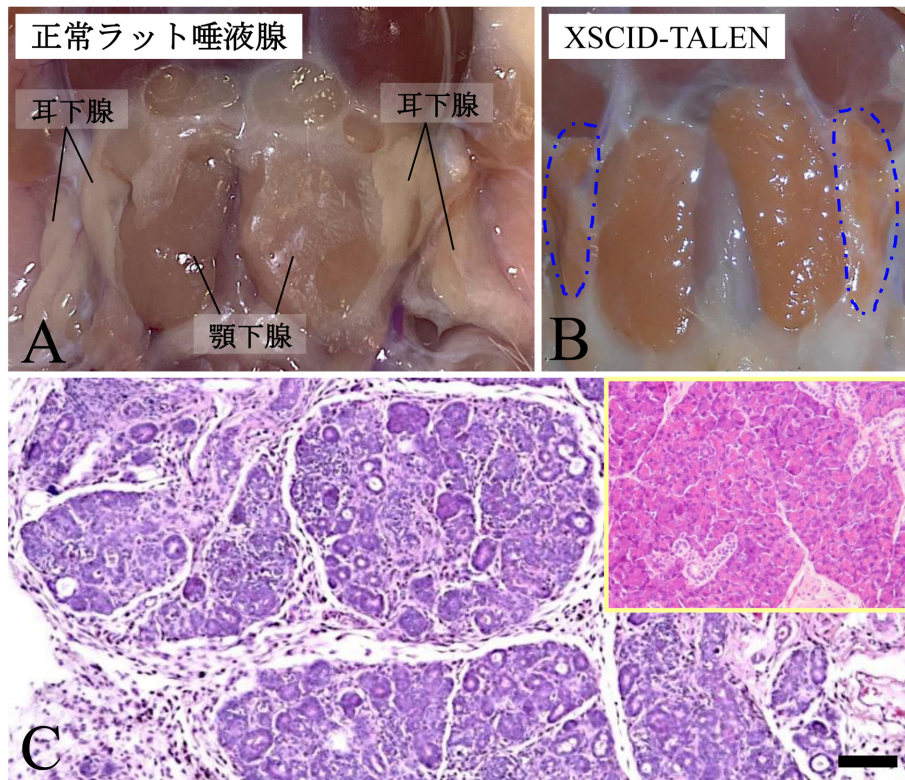


図1 唾液腺の肉眼像および耳下腺の低倍率の病理組織像（2.5 か月齢）。RatPyV2 に感染していない免疫正常ラットの唾液腺（A）と比較すると、RatPyV2 に感染した XSCID-TALEN ラットの唾液腺（B）は萎縮を呈し、その程度は特に耳下腺（青破線で囲んだ組織）で顕著である。組織学的にも、耳下腺の顕著な萎縮、単核球浸潤および線維化が観察される（C：HE 染色，Scale bar: 100 μm）。C の挿入図は、同倍率での正常な耳下腺の組織像を示す。

ない。米国の研究グループの報告では、RatPyV2 と *Pneumocystis carinii* (*P. carinii*) の複合感染個体で呼吸困難を呈するとされている [12]。しかし、筆者らは、*P. carinii* 陰性の RatPyV2 感染個体であっても、6 か月齢以上の個体において重篤な呼吸器症状を呈する症例を経験している。繁殖成績の悪化については、XSCID-TALEN ラット系統の雌は 1 産目では良好に繁殖するが、3～4 か月齢を過ぎると繁殖しなくなることが多く、2 産目以降では産子を得にくいことや、6 か月齢以上の雌ラットは妊娠を維持できないことが報告されている [12, 14]。

(2) 病理学的所見

剖検時には、唾液腺（図 1）やハーダー腺、眼窩外涙腺の様々な程度の萎縮が観察される。特に耳下腺とハーダー腺では、1～3 か月齢の時点で中等度の萎縮が認められる。また、呼吸器症状を呈する 6 か月齢以上の個体では、肺は赤色と桃色のまだらな色調を呈し、様々な程度の暗赤色の硬化・充実性病巣が観察される。

病理組織学的には、主に唾液腺（図 1C および図 2A）、ハーダー腺（図 2B）、眼窩外涙腺、呼吸器（図

2C および D）、生殖器/副生殖器（子宮、前立腺や精巣上体、精管）において各種病変が認められるが、病変の形成時期や程度、範囲は臓器により異なる。RatPyV2 に感染した XSCID-TALEN ラット系統での、各臓器における病理組織学的所見を表 3 にまとめた [14]。RatPyV2 感染症における最も特徴的な病理組織学的所見は、ウイルスが感染した上皮細胞における、大型の好塩基性～両染色核内封入体の形成である。核内封入体には、その周囲にハローを有するもの（Cowdry A 型：図 2 黒色矢頭）と有さないもの（full 型：図 2 黄色矢頭）とが観察される。RatPyV2 が感染した上皮細胞が、過形成（増生）および異形成（dysplasia：細胞および核の大きさや形態、配列の異常を呈する細胞の増殖性病変）を呈することも特徴的所見の 1 つである。さらに、唾液腺やハーダー腺、眼窩外涙腺では、線維化や単核球（リンパ球・形質細胞主体）浸潤を伴う腺組織の萎縮や消失、変性および壊死も認められる。唾液腺では、粘液腺である舌下腺と比較して、漿液性の腺細胞を有する耳下腺と顎下腺において病変はより重度である。耳下腺病変が最も顕著であり、1 か月齢の時点で組織の広範囲において重度の病変が確認できる（図 2A）。顎下腺では耳下

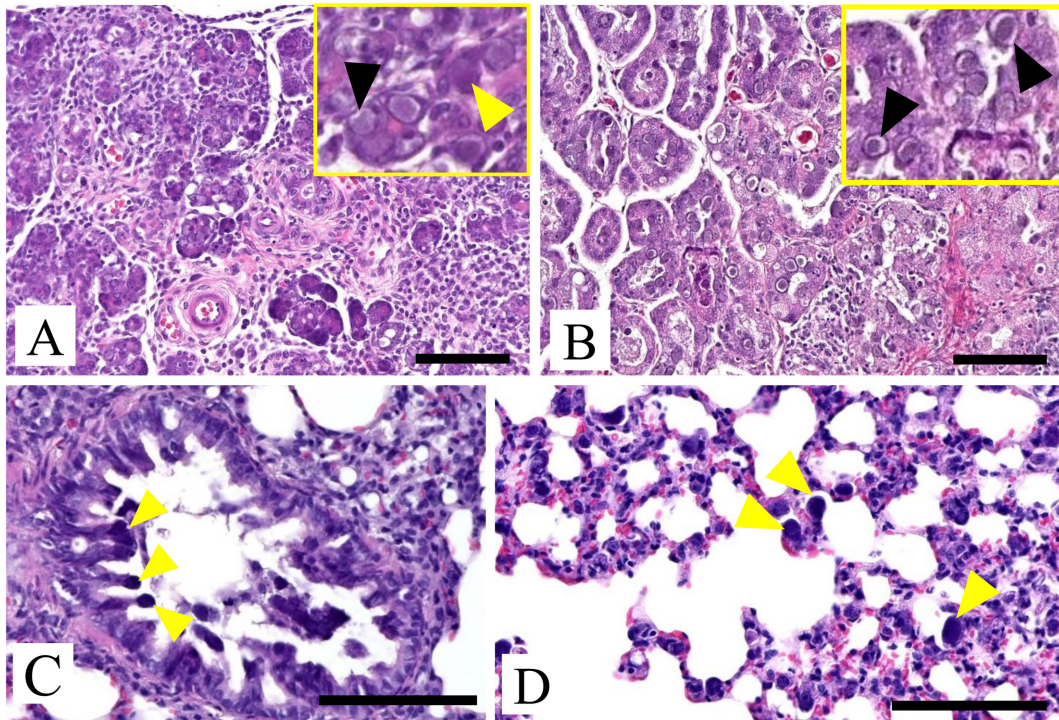


図2 RatPyV2に感染したXSCID-TALENラットの病理組織像(HE染色)。唾液腺の腺房および導管上皮細胞(A)、ハーダー腺の腺上皮細胞(B)、気管支や細気管支粘膜上皮細胞(C)、肺胞上皮細胞(D)において、好塩基性で大型の核内封入体が認められる(挿入拡大図および矢頭)。核内封入体には、ハローを有するもの(黒色矢頭)と有さないもの(黄色矢頭)が観察される。(A)耳下腺, 1か月齢, (B)ハーダー腺, 2.5か月齢, (C)肺, 1か月齢, (D)肺, 7か月齢。(Scale bar: 100 μm)

腺よりもやや遅い時期から、多病巣性～局所広範囲に病変が形成される(表3)。舌下腺では、3～4か月頃から軽度の病変が比較的限局した範囲に形成される傾向にあり、腺組織の全体の萎縮や消失はみられない。ハーダー腺では、2～3か月齢の時点で、軽度～中等度の腺上皮細胞の過形成や異形成、腺組織の萎縮が認められ、6か月齢以降では組織全体が線維化を伴って重度の萎縮に至る。眼窩外涙腺では、腺組織の萎縮や単核球浸潤に加えて、雌雄ともに2か月頃頃から腺上皮細胞の核の顕著な大型化(カリオメガリー)が認められる。肺では、気管支から細気管支、さらに肺胞上皮へと病変が広がっていき、6か月齢以上の個体では重度の間質性肺炎の像を呈する。生殖器/副生殖器病変は6か月齢前後から認められ、それより若い個体では上皮細胞内に核内封入体は検出されない。前立腺と子宮では、上皮の過形成や異形成が目立ち、前立腺は重度の萎縮に至る。精管と精巢上部尾部では、上皮細胞にカリオメガリーがみられる。なお、RatPyV2感染個体では、腫瘍性病変の発生はこれまでに報告されていない。上述したような病変の形成時期や程度、範囲を考慮すると、RatPyV2の標的上皮組織の中でも、耳下腺はRatPyV2に対する感受性がより高い可能性がある。

RatPyV2のウイルス抗原は、ポリオーマウイルスマーカーである抗SV40 large T antigen抗体(clone PAb416)で検出可能であり[12, 14]、免疫組織化学染色では、RatPyV2が感染した上皮細胞の核において強い陽性所見を確認することができる(図3)。ウイルス抗原の検出が報告されている組織としては、唾液腺、ハーダー腺、眼窩外涙腺、気管粘膜上皮、気管支/細気管支粘膜上皮および肺胞上皮(肺)、喉頭および鼻腔粘膜上皮、子宮内膜、乳腺、前立腺、精巢上部尾部、精管、腎臓の尿細管上皮があげられ、筆者らはこれら臓器がRatPyV2の標的臓器であると考えている。透過型電子顕微鏡観察では、ウイルス感染細胞の核内において、約40～50 nmの正二十面体のウイルス粒子が多数観察される(図4)。

(3) 感染様式

ウイルス抗原が検出される臓器を考慮すると、RatPyV2は水平感染と垂直感染のいずれによっても伝播して、感染が広がりうると考えられる。主には、感染個体の唾液や鼻汁、気道分泌物、尿などの直接接触や、呼吸器経路を介して感染が成立する[12, 15]。また、糞口感染や交配による感染、母乳を介した母子感染も起こりうる[12, 15]。そのため、

表3 RatPyV2に感染したXSCID-TALENラットの病理組織学的所見（文献14を改変）

		1か月齢 3(♂:2, ♀:1) ^{注)}	2-3か月齢 9(♂:7, ♀:2) ^{注)}	4-5か月齢 6(♂:4, ♀:2) ^{注)}	>6か月齢 7(♂:3, ♀:4) ^{注)}
耳下腺	核内封入体形成	あり*	あり*	あり*	あり*
	上皮の過形成および異形成	びまん性, 中等度	びまん性, 中等度~重度	びまん性, 重度	びまん性, 重度
	腺組織の萎縮および消失, 壊死	びまん性, 中等度	びまん性, 中等度~重度	びまん性, 重度	びまん性, 重度
	単核球浸潤	びまん性, 中等度~重度	びまん性, 中等度~重度	びまん性, 中等度~重度	びまん性, 中等度~重度
	線維化	軽度	びまん性, 中等度	びまん性, 中等度~重度	びまん性, 重度
顎下腺	核内封入体形成	—	あり*	あり*	あり*
	上皮の過形成および異形成	—	多病巣性, 軽度	多病巣性~局所広範囲, 中等度	多病巣性~局所広範囲, 中等度
	腺組織の萎縮および消失, 壊死	—	多病巣性, 軽度	多病巣性~局所広範囲, 中等度	多病巣性~局所広範囲, 中等度
	単核球浸潤	—	多病巣性, 軽度	多病巣性~局所広範囲, 中等度	多病巣性~局所広範囲, 中等度
	線維化	—	—	軽度	軽度
舌下腺	核内封入体形成	—	あり*	あり*	あり*
	上皮の過形成および異形成	—	限局性, 軽度	限局性~多病巣性, 軽度	限局性~多病巣性, 軽度
	腺組織の萎縮および消失	—	—	—	—
	単核球浸潤	—	—	限局性~多病巣性, 軽度	限局性~多病巣性, 軽度
ハーダー腺	核内封入体形成	—	あり*	あり*	あり*
	上皮の過形成および異形成	—	多病巣性, 中等度	びまん性, 中等度~重度	びまん性, 重度
	腺組織の萎縮および消失, 壊死	—	多病巣性, 中等度	びまん性, 中等度~重度	びまん性, 重度
	単核球浸潤	—	多病巣性, 中等度	びまん性, 中等度~重度	びまん性, 中等度~重度
	線維化	—	軽度	びまん性, 中等度	びまん性, 重度
眼窩外涙腺	核内封入体形成	—*	あり*	あり*	あり*
	単核球浸潤	限局性, 軽度~中等度	限局性~多病巣性, 中等度	多病巣性, 中等度	多病巣性, 中等度~重度
	腺組織の萎縮および消失	—	限局性~多病巣性, 軽度~中等度	多病巣性, 中等度	びまん性, 中等度~重度
	核の大型化 (karyomegaly)	—	あり*	あり*	あり*
肺	核内封入体形成: 気管支/細気管支	あり*	あり*	あり*	あり*
	核内封入体形成: 肺胞	—	—	—	あり*
	気管支粘膜の過形成	軽度~中等度	中等度	中等度	中等度
	間質性肺炎	軽度~中等度	軽度~中等度	中等度	重度
前立腺	核内封入体形成	—	—	あり*	あり*
	上皮の過形成および異形成	—	—	中等度	重度
	腺組織の萎縮および変性	—	—	軽度~中等度	重度
精管	核内封入体形成	—	—	—	あり*
精巢上体	核内封入体形成	—	—	—	あり*
	核の大型化 (カリオメガリー)	—	—	—	あり*
子宮	核内封入体形成	—	—	—	あり*
	上皮の過形成および異形成	—	—	軽度~中等度	中等度~重度
	上皮の壊死	—	—	—	中等度

—: 病変は検出されず, *: 全ての検査動物において, 免疫組織化学染色でSV40陽性所見あり

注) 文献14において, 剖検および病理組織学的検査を実施した動物数

RatPyV2感染動物のクリーニングの際には, 妊娠・哺育期間中の垂直感染に十分に注意する必要があると考えられる。なお, 福島県立医科大学の小澤らは胚移植法によるXSCID-TALENラット系統におけるRatPyV2のクリーニング化を行い, 繁殖成績の改善およびRatPyV2陰性のXSCID-TALENラットコロニーの維持を報告している(第46回国動協総会施設長・教員・事務職員懇談会, 2019年)。

Besch-Willifordらは, スードラットを用いた感染実験を実施し, ウイルス曝露経路による標的臓器ご

とのウイルス量や病変形成部位の違いについて報告している[15]。詳細については, 文献15を参照していただきたい。

3. ラットポリオマウイルス2感染症の診断方法

RatPyV2感染症は, 臨床徴候のみでの確定診断は難しい。免疫不全ラット系統ではPCR検査および死後の病理学的検査が, 免疫正常ラット系統では血清学的検査とPCR検査が有用である。

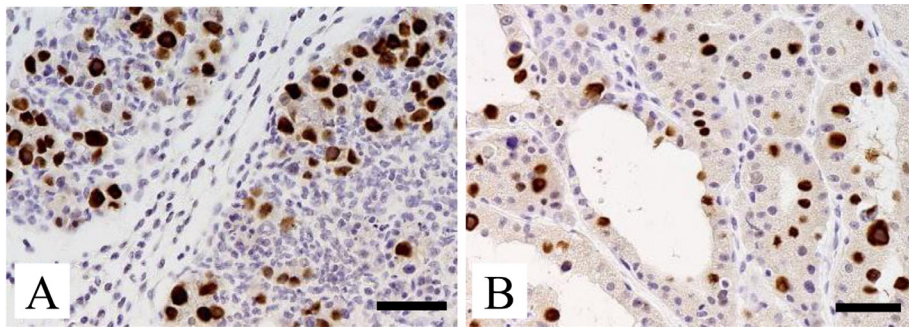


図3 免疫組織化学による RatPyV2 のウイルス抗原の検出 (XSCID-TALEN ラット). (A) 耳下腺 (1 か月齢) および (B) ハーダー腺 (2.5 か月齢) の組織像を示す. RatPyV2 に感染した腺房上皮細胞の核内封入体は抗 SV40 large T antigen 抗体 (clone: PAb416) で強陽性に染まる (Scale bar: 50 μ m).

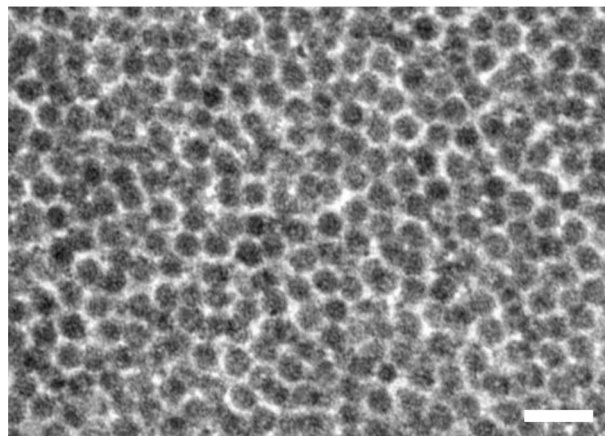


図4 RatPyV2 に感染した XSCID-TALEN ラットの肺組織の透過型電子顕微鏡像. 気管支粘膜上皮細胞の核内に認められたウイルス粒子の像を示す. 約 40~50 nm の正二十面体のウイルス粒子が多数観察される (Scale bar: 100 nm).

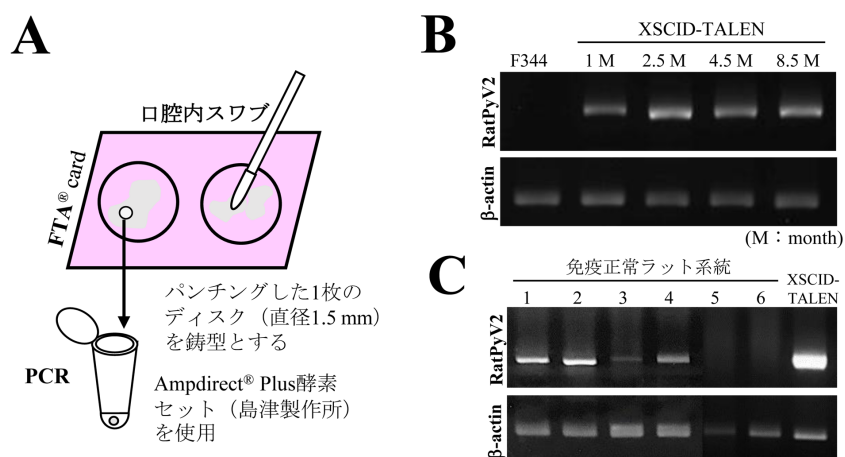


図5 口腔内スワブを用いた FTA-Amp 法による RatPyV2 遺伝子の検出. (A) 検出方法の概略: 詳細は文献 14 を参照のこと. (B, C) XSCID-TALEN ラット (B) および免疫正常ラット系統 (C) における RatPyV2 VP1 遺伝子 (431 bp) の検出. XSCID-TALEN ラットでは, 1 か月齢 (1 M) の時点から RatPyV2 VP1 遺伝子が検出された. (C) では, 個体 1~4 が RatPyV2 陽性 (不顕性感染個体), 個体 5 と 6 は RatPyV2 陰性と判定される (コントロール遺伝子: b-actin, 199 bp).

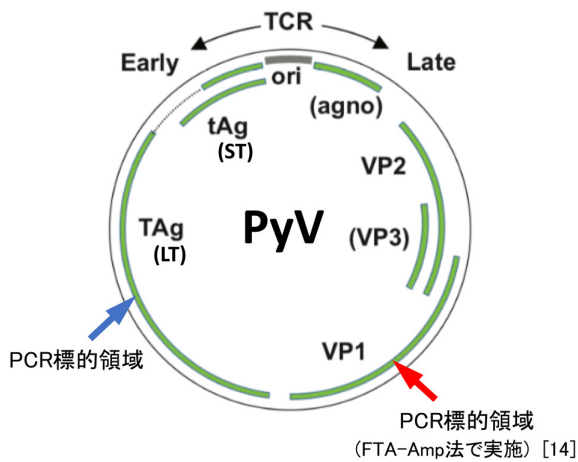


図 6 Polyomavirus の基本的なゲノム構造 (文献 16 の図 1 を改変). TCR: Transcriptional control region, TAg: Large T antigen, tAg: small T antigen.

(1) PCR 検査

RatPyV2 ゲノムは、他のポリオーマウイルスと同様に、VP1 などの構造遺伝子と T antigen 遺伝子を保有する、全長約 5,000 bp の環状構造を持つ(図 6) [16]。RatPyV2 の検出法として、Rigatti らは RatPyV2 の VP1 遺伝子や Large T antigen 領域に対するプライマーを用いた PCR 法を報告した [12]。RatPyV2 の標的臓器 (特に唾液腺やハーダー腺) の新鮮組織、凍結組織やパラフィン包埋組織、または糞便から抽出したゲノム DNA が検体として利用できる。環境試料や排気ガスも検体となりうる [17]。筆者が調べた限り、国内では、実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンターや日本チャールス・リバー社にて、RatPyV2 の PCR 検査が実施可能となっている。

糞便検体を用いた RatPyV2 の PCR 検査には、非侵襲的かつ簡便というメリットがある一方で、免疫正常個体での RatPyV2 陽性検出率が、唾液腺組織を用いた PCR 検査と比較して低く [12]、安定した増幅が得られないなどのデメリットがある。そこで筆者らは、迅速で正確、簡便、低侵襲な PCR 検査法として、唾液検体 (口腔内スワブ) と FTA-Amp 法に着目した [14]。FTA-Amp 法は、PCR 阻害物質を中和する PCR 緩衝液 Ampdirect Plus (島津製作所) と FTA カード技術を組み合わせた PCR 法であり、ゲノム DNA 抽出を必要としない [18]。口腔内スワブを用いた PCR 検査 (FTA-Amp 法) による RatPyV2 VP1 遺伝子の検出手順の概要は、図 5A に示すとおりで、具体的な手法については文献 12 をご参照いただきたい。本手法は免疫不全ラット系統での RatPyV2 感染症の診断法として有用である (図 5B) だけでなく、免疫正常ラット系統においても、RatPyV2 を不顕性に持続感染している個体を安定して検出することが可能であ

る (図 5C)。データは示さないが、FTA カードに塗布した免疫不全ラットの血液検体でも、RatPyV2 の VP1 遺伝子が検出可能であることも確認している。

(2) 病理学的検査

筆者らが RatPyV2 に感染した免疫不全ラット系統 (XSCID-TALEN ラット) で認めた病理学的所見は 2 (2) で述べた。病理学的検査においては、ウイルスの標的臓器をよく理解した上で、マクロ・ミクロレベルで検出される病変の形成部位 (臓器) や程度が、発症個体の月齢や感染後の期間によって異なる可能性がある点を考慮しておくことが重要である (表 3)。また、臨床徴候が明らかでない若齢個体では、唾液腺、ハーダー腺および眼窩外涙腺病変の程度に明瞭な左右差を認める症例も経験しているため、筆者らは必ず両側の組織を採材し、どちらも病理組織学的な評価を実施するようにしている。

病理組織学的には、標的臓器の上皮細胞における特徴的な核内封入体形成や、唾液腺やハーダー腺、眼窩外涙腺の萎縮病変を検出することができれば、病理組織学的診断および他のウイルス感染症との鑑別は比較的容易であると考えられる。ただし、性成熟後の雄ラットの眼窩外涙腺では、腺房細胞の核の大型化 (カリオメガリー) や核内偽封入体 (pseudoinclusions) の形成が一般的にみられ、加齢とともに発生率や病理組織学的重症度が高くなることが知られているため [19-21]、それらをウイルス性封入体と見間違えないよう注意が必要である。ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色標本の評価のみでは封入体形成の判別が難しい場合には、抗 SV40 large T antigen 抗体を用いた免疫組織化学染色が有用である。なお、ウイルス性封入体を形成しうる他の感染症とは、封入体の形成部位 (細胞の種類および細胞内での局在) や形、色調から病理組織学的に鑑別することができる。また、唾液腺涙腺炎ウイルス (ラットコロナウイルス) 感染症でも唾液腺が標的となるが、臨床徴候の違い (唾液腺涙腺炎ウイルス感染症では、顎下腺の腫脹や涙腺腫脹による眼球突出が認められる) や、コロナウイルス感染症では封入体形成が認められない点などから鑑別することが可能である。

(3) 血清学的検査

筆者らが知る限り、米国 IDEXX 社と米国チャールス・リバー社にて、RatPyV2 の血清学的検査が実施されている。筆者らは、RatPyV2 の血清学的検査を米国 IDEXX 社に依頼している [22] (国内の IDEXX 社は本検査には対応していない)。凍結した血清 (数十 μ l) または乾燥塗抹血液を検体として提出する。後者では、Opti-Spot card (米国 IDEXX 社から無償提供される) 上の、1 cm^2 程度の円形の検体エリア内を埋めつくすように血液を塗布して乾燥させるだけで検体準備が完了する。検体採取方法が簡便

で、必要な血液量も少なく、日本からでも室温で検体輸送が可能である。

以上、RatPyV2の検査方法の概略を述べた。なお、対応可能な検査や検体の種類は検査会社によって異なるため、検査会社にRatPyV2の検査を依頼する際は、各検査会社にお問い合わせいただきたい。

4. ラットポリオマウイルス2感染症の発生状況

一部の免疫不全ラット系統(XSCIDラットおよび関連系統)では、米国と日本の複数の研究機関/施設において、RatPyV2感染症が確認されている。免疫正常ラット系統については、Besch-Williford(米国IDEXX社)らが北米での汚染状況調査を実施し、免疫正常ラット系統の32%(480/1,500検体)が血清学的検査に陽性、0.7%(7/1,000検体)が糞便検体を用いたPCR検査に陽性であったと報告した(2017年)[15]。日本で研究に利用される免疫正常ラット系統コロニーにおいても、RatPyV2不顕性感染個体が一定の割合で存在することが報告されている。筆者らは、計121匹(37系統)の免疫正常ラット系統を対象に、RatPyV2の血清学的検査と口腔内スワブを用いたPCR検査(FTA-Amp法)を行った。その結果、37.7%(46/121個体)が血清学的検査に陽性、41.1%(37/90個体)がPCR検査に陽性となった。RatPyV2陽性となった系統には、一部のF344、WistarやSD系統のほか、いくつかの疾患モデル系統が含まれていた。また、山本ら[23]が実験動物中央研究所ICLASモニタリングセンターにて実施した大規模な調査(271施設由来の746個体を対象)では、国内の免疫正常ラット系統の4.6%(個体数)がPCR検査陽性となり、11.8%の機関/施設においてRatPyV2陽性ラットが検出されたと報告されている。国内で報告されたRatPyV2陽性の免疫正常ラットでは、明らかな臨床兆候はみられず、病理組織学的検査でも明らかな異常所見は検出されていない。しかし、RatPyV2に不顕性感染した免疫正常ラットは免疫不全/抑制動物への汚染源となるだけでなく、免疫不全ラット系統を用いた研究や免疫抑制処置を要する研究および毒性試験などへの影響[13]も懸念される。

5. おわりに

以上、RatPyV2感染症の概略について、主に筆者らがXSCID-TALENラットを用いた病変解析によって得られた知見にもとづいてご紹介した。標的となる上皮組織の中でも、耳下腺はRatPyV2に対する感受性がより高い可能性があり、RatPyV2感染症が疑われた際には、耳下腺を含む唾液腺組織を用いた病理学的検査やPCR検査が必須であると考えられる。筆者らが確立した、口腔内スワブを用いたFTA-Amp

法は、RatPyV2感染症の簡便かつ迅速な診断法として有用である。

現在、がん研究や再生医療研究、移植研究、創薬研究など医学・生命科学分野の研究を推進する上で、各種の免疫不全ラット系統は必要不可欠なツールとなっている。一方で、日本の免疫正常ラット系統コロニー中には、RatPyV2不顕性感染個体が一定の割合で存在することが報告されており、免疫不全ラット系統を用いた研究への影響が懸念される。RatPyV2感染症の病変について理解することや、RatPyV2を不顕性に持続感染している個体を確実に検出して汚染状況を把握することは、RatPyV2感染症に対する対策を講じていく上で重要であると考えられる。本稿がRatPyV2感染症についての理解を深めるの一助となれば幸いである。

なお、ナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」(NBRP-Rat)では、現在、XSCID-TALENラット系統の生体維持および提供は行っておらず、分担機関である東京大学より、F344-*Il2rg^{em11exas}*を含む3種類の免疫不全ラット系統が提供されています(<https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/animal-genetics/scid/index.html>)。これらの免疫不全系統は、RatPyV2陰性が証明されていることを申し添えておきます。

謝辞

本稿で紹介した内容の一部は、JSPS科研費18K14610(若手研究)の助成を受けた研究により得られたものです。RatPyV2感染症の病変解析にあたり、ご協力ならびにご助言をいただきました、京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設 庫本高志先生(現所属:東京農業大学)、中西聡先生、山崎賢一氏、根小田祐基氏、萩原和美氏、大阪府立大学 桑村充先生に心より感謝いたします。なお、筆者らが病変解析に用いたXSCID-TALENラット(NBRP Rat No. 0694: F344-*Il2rg^{em7kyo}*)は、NBRP-Ratより提供を受けました。最後に、本稿の執筆にあたり、校閲をいただいた大阪府立大学 桑村充先生と国立研究開発法人理化学研究所 池郁生先生にお礼を申し上げます。

参考文献

1. Moens U, Calvignac-Spencer S, Lauber C, Ramqvist T, Feltkamp MCW, Daugherty MD, et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: Polyomaviridae. J Gen Virol. 2017; 98(6): 1159–1160.
2. Polyomaviridae [Internet]. International Committee on Taxonomy of Viruses HP. [cited 2020 Oct 18]. Available from: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/dsdna-viruses/w/polyomaviridae

3. Buck CB, Van Doorslaer K, Peretti A, Geoghegan EM, Tisza MJ, An P, et al. The Ancient Evolutionary History of Polyomaviruses. *PLoS Pathog.* 2016; 12(4): e1005574.
4. Gross L. A Filterable Agent, Recovered from Ak Leukemic Extracts, Causing Salivary Gland Carcinomas in C3H Mice. *Exp Biol Med.* 1953; 83(2): 414–421.
5. Dalianis T, Hirsch HH. Human polyomaviruses in disease and cancer. *Virology.* 2013; 437(2): 63–72.
6. Percy DH, Barthold SW. Mouse. In: Percy DH, Barthold SW, editors. *Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits.* Third Edit. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing Professional; 2007. p. 21–23.
7. Gottlieb K, Villarreal LP. The distribution and kinetics of polyomavirus in lungs of intranasally infected newborn mice. *Virology.* 2000; 266(1): 52–65.
8. Ward JM, Lock A, Collins MJ, Gonda MA, Reynolds CW. Papovaviral sialoadenitis in athymic nude rats. *Lab Anim.* 1984; 18(1): 84–89.
9. Elias T Gaillard CBC. Chapter 7 - Common Diseases. In: George Krinke, editor. *The Laboratory Rat (Handbook of Experimental Animals).* 1st Editio. London: Academic Press; 2000. p. 106–107.
10. Percy DH, Barthold SW. Rat. In: Percy DH, Barthold SW, editors. *Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits.* Third Edit. Ames: Blackwell Publishing Professional; 2007. p. 127.
11. Ehlers B, Richter D, Matuschka F-R, Ulrich RG. Genome Sequences of a Rat Polyomavirus Related to Murine Polyomavirus, *Rattus norvegicus* Polyomavirus 1. *Genome Announc.* 2015; 3(5): e00997-15.
12. Rigatti LH, Toptan T, Newsome JT, Moore PS, Chang Y. Identification and Characterization of Novel Rat Polyomavirus 2 in a Colony of X-SCID Rats by P-PIT assay. Imperiale MJ, editor. *mSphere.* 2016; 1(6): e00334-16.
13. Masek-Hammerman K, Brown TP, Bobrowski WF, Tomlinson L, Debrue M, Whiteley L, et al. Polyomavirus-associated Prostatitis in Wistar Han Rats Following Immunosuppression in a Chronic Toxicity Study. *Toxicol Pathol.* 2017; 45(5): 589–592.
14. Tanaka M, Kuramochi M, Nakanishi S, Kuwamura M, Kuramoto T. Rat polyomavirus 2 infection in a colony of X-linked severe combined immunodeficiency rats in Japan. *J Vet Med Sci.* 2018; 80(9): 1400–1406.
15. Besch-Williford C, Pesavento P, Hamilton S, Bauer B, Kapusinszky B, Phan T, et al. A Naturally Transmitted Epitheliotropic Polyomavirus Pathogenic in Immunodeficient Rats: Characterization, Transmission, and Preliminary Epidemiologic Studies. *Toxicol Pathol.* 2017; 45(5): 593–603.
16. Sawa H, Kobayashi S, Suzuki T, Orba Y. Epidemiological and basic research activity targeting polyomaviruses. *Virus.* 2014; 64(1): 25–34. (In Japanese)
17. Charles River Laboratories HP. Rat Polyomavirus-2 (RPyV2) [Internet]. Charles River Laboratories HP. 2018 [cited 2020 Oct 18]. Available from: <https://www.criver.com/sites/default/files/resource-files/RM-TS-rat-polyoma-2-RPyV2.pdf>
18. Nakanishi S, Kuramoto T, Serikawa T. Simple genotyping method using Ampdirect plus and FTA technologies: application to the identification of transgenic animals and their routine genetic monitoring. *Lab Anim Res.* 2009; 25(1): 75–78.
19. Lacrimal Gland - Karyomegaly [Internet]. National Toxicology Program HP. [cited 2020 Oct 18]. Available from: https://ntp.niehs.nih.gov/nl/special_senses/lacrimal/karyomegaly/gallery/index.htm
20. Gancharova OS, Mansikh VN. Age-related changes in the rat lacrimal gland: Impressive morphology and enigmatic nature New strategies for improving regeneration of eye tissues and their protective qualities under conditions of iatrogenic injuries View project. *Russ J Dev Biol.* 2014; 45(5): 235–242.
21. Ramos MF, Baker J, Atzpodien E-A, Bach U, Brassard J, Cartwright J, et al. Nonproliferative and Proliferative Lesions of the Rat and Mouse Special Sense Organs (Ocular [eye and glands], Olfactory and Otic). *J Toxicol Pathol.* 2018; 31(3 Suppl): 97S-214S.
22. IDEXX BioAnalytics HP. New pathogenic virus discovered by IDEXX BioAnalytics - 32% of rat models affected [Internet]. IDEXX BioAnalytics HP. 2016 [cited 2020 Oct 18]. Available from: <https://www.idexxbioanalytics.eu/updates/2016/11/7/new-virus-discovered>
23. Yamamoto M, Uchida R, Yasuda M, Goto M, Takahashi R, Hayashimoto N. PCR screening of Rat Polyomavirus2 in immunodeficient rats. (The 66th Annual Meeting of Japanese Association for Laboratory Animal Science). *Exp Anim.* 2019; 68(Supplement): S250.