

## 博士論文要約

平成 31 年 4 月入学 獣医学研究科 共同獣医学専攻

氏 名 西浦 颯

論文題目 神経病原性鳥白血病ウイルスとその分子クローンの分子生物学的ならびに病理学的解析  
(Molecular Biological and Pathological Studies on Neuropathogenic Avian Leukosis Viruses and the Molecular Clones)

鳥白血病ウイルス (avian leukosis virus; ALV) はレトロウイルス科に分類され、鶏にリンパ性白血病などの造血器系腫瘍を主に誘発するほか、間葉系腫瘍、骨化石症、免疫抑制といった様々な病態を引き起こす。ALV A 亜群 (ALV-A) に属する鶏の神経膠腫誘発ウイルス fowl glioma-inducing virus (FGV) は神経系および心筋細胞に病原性を示し、FGV を鶏胚 6 日目に接種すると、孵化後 35 日 (接種して 50 日) で神経膠腫や小脳低形成、心筋異常、心臓横紋筋腫を誘発する。これら短期間に形成される病変は既知の ALV 発がんの分子機構 (プロウイルス挿入変異) では説明できず、異なる分子機構が存在すると考えられる。そこで本研究では、ALV の多様な腫瘍原性の分子基盤の解明を目指し、神経膠腫と間葉系腫瘍 (粘液肉腫、心臓横紋筋腫) の両方を誘発する FGV の分子生物学的ならびに病理学的解析を実施した。なお、これまでに多数の FGV 変異株が分離されていることから、本稿では国内初発例の同居鶏から分離された ALV 株を FGV prototype (FGVp)、その後分離された株を FGV 変異株、両者を合わせて FGV と記述する。

第I章では、神経膠腫の国内初発例と血縁のない岐阜の実用鶏に発生した神経膠腫と骨化石症・皮下腫瘍の併発例を検索した。骨化石症は古くから ALV との関連が示唆されているが、神経膠腫との併発例の前例はない。罹患鶏から分離された ALV 4 株 (GifN\_001, 002, 004, 005) は、ウイルス粒子の表面に存在するエンベロープタンパクをコードする *envSU* (高度可変領域を含む) に基づいた分子系統樹解析の結果、既知の 3 つのクラスター (MAV-1, FGVp, Km/Oki) には属さず、Rous sarcoma virus strain Schmidt-Ruppin B と高い相同性 (94.9~95.9%) を示した。一方で、GifN\_001 の *envTM* は、FGVp のそれと高い相同性 (94.5%) を示したことから、GifN\_株は FGVp とその他の外来性 ALV の組換えにより出現したと考えられる。さらに実験感染によって、GifN\_001 は神経膠腫と小脳低形成を誘発することが証明された。

第II章では、神経膠腫と心筋異常を誘発する Km\_5666 株の感染状況を明らかにするため、2017~2020 年にかけて熊本の肥後ちゃぼを対象に疫学調査を実施した。その結果、4 羽 (5.6%) に心筋異常が確認された。しかし、これらの罹患鶏では同一個体内に複数の ALV 株が混在していることがわかった。また、Km\_5666 のストックでもわずかながら複数の ALV 株が混在していることが判明した。そこで、感染性分子クローン作製法を確立し、野外例から KmN\_77\_clone\_A, KmN\_77\_clone\_B を作出し、Km\_5666 ストックから Km\_5666\_clone を作出した。ゲノム解析の結果、KmN\_77\_clone\_A と KmN\_77\_clone\_B の *envSU* 以外の領域はいずれも内在性ウイルス *ev-1* に由来する ALV 株、Km\_6249 と近縁なゲノム構造を持っていた。しかし、*envSU* の塩基配列をみると、KmN\_77\_clone\_B の *envSU* が Km\_6249 のそれと高い相同性 (>99.2%) を示したのに対し、KmN\_77\_clone\_A の *envSU* は Km\_5666 のそれと高い相同性 (94.1%) を示した。また、実験感染により Km\_5666\_clone は神経膠腫と心筋の異常の両者を誘発することが証明された。以上の成績から、Km\_5666 の *envSU* およびそれと類似した *envSU* が心臓病原性に関与することが示唆され

た。本研究で確立した分子クローンの作製法は、複数の ALV が共感染する罹患鶏を対象とした病原性解析に有用な手法と考えられる。

第III章では、野外例に感染している心臓病原性 ALV 株をさらに探索するとともに、リアルタイム PCR 法により心筋異常とプロウイルス量との関連を解析した。これまでの研究から ALV による心筋異常の出現頻度と心臓内ウイルス量との相関性が疑われている。そこで、罹患鶏の心臓と脳の核 1 個当たりの proviral load (プロウイルス量) と 神経膠腫および心筋異常の発生頻度を比較した。病理学的に検索した 22 羽中 4 羽 (18.2%) に神経膠腫と心筋異常の併発が確認された。さらにこれら個体の心臓では、心臓病変のない個体の心臓 ( $0.4 \pm 0.4$  コピー/核) に比べて高い proviral load ( $10.3 \pm 2.7$  コピー/核) を示したことから、心臓における proviral load は心筋異常の頻度と相関していることが示唆された。これは proviral load が心臓病原性規定因子となりうることを示している。したがって、本章ではレトロウイルス性心疾患の病理発生を解明する上で有用なプロウイルス定量法を確立することができた。

以上の成績より、神経膠腫の病理発生は、古典的な ALV 関連疾患と異なること、および *envSU* だけに依存するわけではないことが示唆された。一方で、心筋異常の病理発生は *envSU* が関与すること、および心臓の proviral load が病変形成に関与していることが示唆された。本研究により得られた成果は ALV の多様な病原性と分子進化を理解する上で有用な知見を提供するものである。