



Title	Identification of novel virus from vervet monkey in Zambia and analysis of its viral assembly [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	山口, 宏樹
Citation	北海道大学. 博士(獣医学) 甲第11287号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/56203
Rights(URL)	http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Hiroki_Yamaguchi_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：山口 宏樹

審査委員	主査 教授	澤 洋文
	副査 教授	高田 礼人
	副査 教授	東 秀明
	副査 教授	木村 享史

学位論文題名

Identification of novel virus from vervet monkey in Zambia and analysis of its viral assembly

(ザンビアのバーベットモンキーからの新規ウイルスの同定と粒子形成機構の解析)

近年、新興・再興感染症が世界各地で発生し、公衆衛生上の問題となっている。地球環境の変化や貿易のグローバル化などにより、ヒトと野生動物との接触が増加し、自然界に由来する微生物がヒトに伝播する機会が増えた結果、人獣共通感染症が多発している。

ポリオマウイルス (PyV) は小児期に無症候性に感染し、リンパ節などで初期増殖後、血行性に播種して諸臓器で持続感染する。その後、AIDS や臓器移植後などの免疫抑制状態において、PyV は再活性化して増殖し、BK ウイルス腎症や進行性多巣性白質脳症などに代表される病気を惹起する。野生動物が保有する PyV がヒトに伝播し、ヒトにおいて感染症を惹起するか否かに関しては結論が出ておらず、PyV の生活環については未だ不明な点が多い。このことから、自然界における既知及び未知の PyV を調査することは重要と考えられる。本研究は、アフリカのザンビア共和国における霊長類動物の PyV の疫学調査及び PyV の性状解析を目的とした。

第一章では、PCR 法を用いてザンビア共和国の霊長類動物における PyV の感染状況を調査した。ザンビア野生動物保護局の許可の下、2009 年に Mfuwe 地域の Yellow baboon (YB) および Vervet monkey (VM) それぞれ 50 頭の脾臓・腎臓計 200 検体を採集し、各検体から DNA を抽出した。PyV の後期タンパク質である VP1 に対する broad-spectrum PCR 法を行い、PyV 遺伝子断片を検出し、断片の塩基配列を解読した。その結果、200 検体中 7 検体 (3.5%) において、既存の PyV と相同性を有する遺伝子断片を確認した。これら PCR 陽性 7 検体において、Inverse PCR 法を用いてウイルスゲノム全長の単離を試み、5 種類の PyV ゲノム全長を単離した。系統的解析の結果、4 種類は既知の PyV である African green monkey PyV と Simian agent 12 に近縁であることが判明した。しかしながら、VM の脾臓検体から検出し

た1種類のPyVは、Chimpanzee PyVと低い相同性(74%)を有することを確認したため、新規PyV、Vervet monkey PyV 1 (VmPyV1)として報告した。また、既知のPyVとのアライメントの結果から、VmPyV1はVP1が既知のPyVと異なり、C末端側に約150アミノ酸残基付加されていることが明らかになった。

第二章では、新規PyVとして同定したVmPyV1に着目し、詳細な解析を実施した。VmPyV1ゲノム全長を培養細胞に導入し、ウイルスタンパク質の産生を確認した。RT-PCR法により前期タンパク質であるTAg、及びVP1のmRNAを確認し、免疫蛍光抗体法、ウエスタンブロット法にてVP1が発現することを確認した。次に、VmPyV1の粒子形成におけるVP1の影響を、培養細胞を用いたウイルス様粒子(VLP)産生系を用いて、電子顕微鏡下で確認した。また、野生型(WT)のVLPだけでなく、C末端領域を欠失させた変異体(Δ C)のVLPも同様に作製し、両者間におけるVLPの形態学的相違等を比較した。その結果、WT、 Δ C両者において直径約50nmのVLPの形成を培養細胞の核内に認めた。両者間におけるVLPの大きさ、形態の違いは認めなかったが、WTのVLP数は Δ Cと比較して顕著に多く、C末端領域は粒子形成効率に関与することが示唆された。

以上、本研究は、新規のPyVを発見し、さらにそのウイルスの粒子形成機構を解明することにより、PyVについての重要な情報を残した。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者山口宏樹氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第6条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。