HOKKAIDO UNIVERSITY

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
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第11287号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56203
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Hiroki_Yamaguchi_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）　　氏名：山口　宏樹

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。

ポリオーマウイルス（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 感染状況を調査することを目的とした。

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。系統学的解析の結果、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、VMPyV1（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（ΔC）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、ΔC 両者において直径約 50 nm 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、形態に違いは認めなかったが、WT の VLP 数は ΔC 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。

本研究では、ザンビア共和国における霊長類動物の PyV 感染状況を調査した。その結果、計 200 検体のうち 7 検体（脾臓 5 検体、腎臓 2 検体）（3.5%）から PyV ゲノムを検出した。また、VM から新規 PyV として VmPyV1 を同定した。さらに、新規 VmPyV1 の VLP を作製し、VP1 の C 末端領域が、粒子形成効率に関与していることを明らかにした。今後も、PyV のヒト−動物間伝播についての情報を収集する為、サーベイランスを継続することが必要である。