



Title	Genetic and pathogenetic diversity of fowl glioma-inducing viruses [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	中村, 小百合
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第11604号
Issue Date	2014-12-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/57743
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Sayuri_Nakamura_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨
Abstract of the dissertation

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：中村 小百合

Name

学位論文題名
The title of the doctoral dissertation

Genetic and pathogenetic diversity of fowl glioma-inducing viruses
(鶏のグリオーマ誘発ウイルスの遺伝子および病原性の多様性)

トリの神経膠腫 (fowl glioma) は非化膿性髄膜脳炎を背景に星状膠細胞が多発性結節性に増殖する鶏の疾患である。この疾患は 1935 年にスペインで初発例が報告されて以来、様々な疾患名で報告されてきたが、その原因や病態に関する詳細は不明のままであった。こうした中、国内では 1995 年に本疾患に罹患した日本鶏 (*Gallus gallus domesticus*) が初めて発見された。さらにその後の実験的研究によって、罹患脳からトリ白血病ウイルス A 亜群 (avian leukosis virus sub-group A; ALV-A) に属すトリの神経膠腫誘発ウイルス (fowl glioma-inducing virus prototype; FGV prototype) が分離され、本ウイルスが本疾患の原因であること、ならびに本ウイルスは神経膠腫のほか、小脳低形成ならびに神経周膜腫を誘発することが証明された。これら成績は FGV prototype が神経膠腫やほかの神経系疾患を引き起こすユニークな ALV であることを示している。また、疫学的研究により FGV prototype と FGV 変異株を含む FGVs は国内の日本鶏に蔓延していることが明らかにされている。

ALV の腫瘍原性と組織親和性を規定する因子として long terminal repeat (LTR) と *env* 遺伝子が重要な役割を果たしており、誘発腫瘍の種類を規定する主な因子は *env* であることが示唆されている。しかし、*env* に塩基の置換や欠損を持つ FGV 変異株が神経親和性と神経膠腫誘発能の両者、あるいはいずれか一方を保持しているかは未だ不明である。一方、最近になって Specific-Pathogen-Free (SPF) 白色レグホン種の小脳異常や日本鶏の心筋異常といった、FGVs や他の ALV 株との関連が疑われる稀な病態が新たに見出された。以上の背景を踏まえ、本研究では FGVs の病原性やその規定因子をより明確にするため、FGV 変異株の病原性ならびに感染初期の脳内サイトカインと脳病変との関連を解析した。また、白色レグホンの小脳異常および日本鶏の心筋異常の病理学的ならびに分子生物学的解析を実施した。

第 I 章では FGV 変異株 4 株 (Tym-43, U-1, Sp-40 および Sp-53) の脳病変誘発能を調べるため、これら変異株のウイルスゲノム全長のシーケンス解析を行い、さらに実験感染鶏の脳病変を比較した。シーケンス解析では変異株の *envSU* は FGV prototype のそれと 85~95% の相同性を示し、同領域の分子系統樹では Tym-43,

U-1 および FGV prototype は同じクラスターに分類されたが、Sp-40 と Sp-53 は別のクラスターに分類された。次にこれら 4 株とトリレトロウイルスベクター RCAS (A) に FGV prototype の envSU を組み込んだキメラウイルスを用いて感染実験を行った。組織学的には いずれの変異株も小脳低形成と神経膠腫を誘発し、Sp-53 が最も顕著な病変を誘発した。一方、キメラウイルス接種鶏では脳に軽度の囲管性リンパ球浸潤が認められたのみであった。以上の成績から、FGV 変異株には FGV prototype と同様の神経病原性が保持されていること、ならびに envSU は神経膠腫誘発能の決定因子ではないことが明らかになった。

第 II 章では第 I 章で最も強い病変を誘発した Sp-53 を用いて感染実験を行い、感染初期の脳内ウイルス量と星状膠細胞の増殖との関連性を解析した。まず初めに Sp-53 と RCAS (A) の脳内ウイルス増殖量を 35 日齢時の鶏で比較した。その結果、Sp-53 は RCAS (A) よりも早く増殖し、Sp-53 の脳内ウイルス RNA 量が増加するにつれて脳病変スコアと脳内の IL-1 β mRNA 発現量が増加することが判明した。また、IL-1 β の発現量増加は Sp-53 を感染させた初代鶏星状膠細胞内でも確認された。以上の成績から、感染初期にみられる星状膠細胞の増殖は星状膠細胞内でのウイルス複製とこれに続く IL-1 β の産生がオートクライン・パラクライン的に作用して促進される可能性が示唆された。

上述の通り、FGVs は鳥類ではまれな小脳低形成を誘発する。第 III 章では SPF 白色レグホン種の鶏 (*Gallus gallus domesticus*) 7 羽に発生した小脳異常の病理学的特徴および ALV 感染との関連を明らかにするため、罹患鶏の小脳を病理学的および分子生物学的に解析した。肉眼的に罹患小脳は小脳回の無秩序な配列を示し、FGVs による小脳低形成ときわめて類似していた。組織学的には異所性小脳皮質が小脳虫部の皮質深部から髄質にかけて島状に分布し、これら特徴的な病巣はプルキンエ細胞の細胞体と樹状突起、および顆粒細胞を含む皮質成分の無秩序な混在からなっていた。免疫蛍光染色標本では異所性皮質内に放射状に伸びた樹状突起を持つプルキンエ細胞が確認されたが、GFAP 陽性となる Bergmann グリア線維は観察されなかった。また、鶏パルボウイルスおよび ALVs は PCR により検出されなかった。以上の成績から、本病変は小脳異形成と考えられ、FGVs 感染に起因する小脳病変とは大きく異なることが明らかとなった。本成績は遺伝性が原因として疑われる鶏の小脳異形成に関する初めての記載である。

近年、ALVs 感染日本鶏の心臓に通常認められない心筋細胞の肥大と有糸分裂像が認められた。第 IV 章では、これら心筋病変を病理学的および免疫組織学的に解析するとともに、分離した ALV 株のシーケンス解析と感染実験を行った。組織学的には検索した心臓には筋形質内基質封入体を伴う非化膿性心筋炎と筋形質の肥大と巨大な異型核を有する異常心筋細胞が認められた。また、これら心筋細胞には核鎖、有糸分裂像と基質封入体が頻繁に認められた。検索した野外例すべてから ALVs が分離され、envSU に基づく分子系統樹では分離株は 2 つの異なるクラスターに分類された。分離株のうち 2 株を卵黄嚢内接種した感染実験により、これら ALVs は 70 日という短い期間で野外例と同様の心筋炎と心筋細胞の肥大、さらに心臓過誤腫（心臓横紋筋腫）を誘発することが証明された。以上の成績から、ALVs は心筋の形態異常をも誘発することが明らかとなった。本成績はこれら心筋異常の発生にはプロモーター挿入以外の発生機序が関与すること、また、レトロウイルス

感染症は心疾患の原因となりうることを示していると思われる。

以上の成績をまとめると、本研究によって FGV 変異株には FGV prototype と同様の神経病原性が保持されていること、ならびに感染初期の星状膠細胞の増殖は感染細胞に由来する IL-1 β に関連して生じることが示唆された。さらに、本研究によって日本鶏由来 ALVs の中には心筋細胞の増殖活性を促進し、細胞の肥大を引き起こすウイルスが存在することが明らかになった。これら成績はわが国の日本鶏に蔓延している FGVs や これらと近縁な ALVs 間には遺伝子および病原性の多様性がみられることを示している。