



HOKKAIDO UNIVERSITY

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_review.pdf, 審査の要旨



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：中 村 小百合

審査委員	主査 教授	木 村 享 史
	副査 教授	昆 泰 寛
	副査 教授	大 橋 和 彦
	副査 准教授	落 合 謙 爾（岩手大学）

学位論文題名

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)

鶏の神経膠腫 (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疾患である。国内では 1995 年に本疾患に罹患した日本鶏が初めて発見され、罹患脳から鶏白血病ウイルス A 亜群 (avian leukosis virus subgroup A; ALV-A) に属す鶏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。また、最近になって実験用鶏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、実験用鶏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1章では FGV の神経病原性に *env* 遺伝子 SU 領域 (*env*SU) の変異が影響を与えるかを明らかにするため、FGV 変異株 4 株 (Tym-43, U-1, Sp-40 及び Sp-53) のシーケンス解析を行い、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 *env*SU は FGV prototype のそれと 85~95% の相同性を示した。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 *env*SU 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た。一方、キメラウイルス接種鶏には神経膠腫は認められなかった。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、*env*SU は神経膠腫誘発能の決定因子ではないことが明らかとなった。

第2章では第1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、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、Sp-53 は RCAS (A) よりも早く増殖し、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 の産生により促進される可能性が示唆された。

第 3 章では実験用の鶏 7 羽に発生した小脳異常の特徴および 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に解析した。肉眼的に罹患鶏の小脳は小脳回の不規則な配列を示し、FGVs による小脳低形成と極めて類似していた。組織学的には異所性小脳皮質が主に小脳虫部髄質に形成され、この異所性皮質は分子層、プルキンエ細胞、および顆粒細胞の無秩序な混在からなっていた。免疫蛍光染色ではプルキンエ細胞の樹状突起が不規則に伸長し、異所性皮質を形成していた。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、本病変は遺伝性が疑われる小脳異形成と考えられ、FGV 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。

近年、ALVs 感染日本鶏にこれまでに報告の無い心筋異常が見出されたことから、第 4 章では、これら心筋病変を病理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、これら心筋細胞には有糸分裂像が認められた。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主に 2 つの異なるクラスターに分類された。2 つのクラスターからそれぞれ 1 株ずつ選出し、感染実験を行った結果、これら ALVs は野外例と同様の心筋病変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。

これらの一連の研究は、ALV の病原性とゲノムの多様性、神経病原性発現機構の一端を明らかにしたものであり、鶏白血病の新規制御法を確立する上で極めて重要な知見である。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者中村小百合氏の学位論文は、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。