



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on the genetic recombinations in the enteric RNA viruses detected from cattle and pigs in Japan [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	山本（伊藤），美加
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	乙第7047号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70478
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Mika_ITO-YAMAMOTO_abstract.pdf, 論文内容の要旨



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：山本（伊藤）美加

学位論文題名

Studies on the genetic recombinations in the enteric RNA viruses detected from cattle and pigs in Japan

（日本の牛及び豚から検出された腸内 RNA ウイルスにおける遺伝子組換えに関する研究）

家畜保健衛生所で実施するウイルス感染症の診断は、培養細胞を用いてウイルスを分離することを基本とする。しかし、腸内ウイルスは分離方法が確立されていないものが多く、遺伝子検査に依存することが多い。また、RNA ウイルスは遺伝子の変異や組換えによる遺伝的多様な集団（quasispecies）と考えられており、分離されたウイルス株は quasispecies を代表する 1 株にすぎない。近年、特異的なプライマーを使用せず、病原体の遺伝子情報を直接決定する次世代シーケンスの技術が普及してきた。この技術を用いることにより、野外診断材料に含まれる培養細胞で増殖が困難または不可能な RNA ウイルスの遺伝学的な同定が可能となってきた。本研究では次世代シーケンス技術を用いて、感染症の診断のために収集された牛及び豚の糞便に含まれる RNA ウイルスのメタゲノム解析を行い、ウイルス遺伝子の多様性やウイルスの種間伝播の解明を目指した。

本研究は 2 章から成る。牛トロウイルスは、コロナウイルス科トロウイルス亜科に属し、牛の腸疾患の原因となる。第 I 章では、分離ウイルス 1 株を含む野外糞便材料由来の、牛トロウイルス 2 株の全ゲノム及び 2 株の部分ゲノム、豚トロウイルス 1 株の部分ゲノムのシーケンス解析を実施した。塩基配列の比較及び系統樹解析では、日本の牛トロウイルス間に高い相同性が認められ、S、M 及び HE コード領域は牛トロウイルス Breda1 株と、ORF1a、ORF1b、N コード領域、非翻訳領域の 5' 端及び 3' 端は豚トロウイルス NPL/2014 株及び SH1 株と相同性が高く、日本の牛トロウイルスは、既報の牛及び豚トロウイルスの、種間組換え体であると考えられた。また、相同性プロット解析により、組換えを生じている箇所（ブレイクポイント）を、ORF1b 領域の 3' 端及び HE コード領域の 3' 端と予測した。この組換えは、抗原性状に関与する S コード領域が牛トロウイルス Breda1 株と同じ型であるため血清型に関わらないこと、また、自然界で牛トロウイルスと豚トロウイルスが同一宿主に重感染したことを示している。

豚アストロウイルスはアストロウイルス科に属し、世界中の豚に遍在する腸内ウ

ウイルスである。健康な豚からもウイルスが頻繁に検出されるため、感染の臨床的意義は不明である。そのため、国内の豚における豚アストロウイルスの疫学も、現在までほとんど知られていない。第Ⅱ章では、野外糞便材料を由来とする豚アストロウイルス 36 株の、ほぼ全ゲノムのシーケンス解析を実施した。塩基配列の比較及び系統樹解析により、10 株が豚アストロウイルス 2 型に、5 株が豚アストロウイルス 3 型に、15 株が豚アストロウイルス 4 型に、6 株が豚アストロウイルス 5 型に分類された。また、8 頭の豚で、2 ないし 3 つの型のウイルスに重感染していた。ORF2 領域の系統樹解析から、豚アストロウイルス 2 型はさらに 2 系統に、4 型は 4 系統に分類される。豚アストロウイルス 2 型及び 4 型の、ORF1a 及び ORF1b 領域の系統樹のトポロジーは、ORF2 領域の系統樹と異なっており、相同性プロット解析から、2 型及び 4 型内において遺伝子型内及び遺伝子型間の組換えが複数発見された。さらに、豚アストロウイルス 3 型及び 5 型内のそれぞれ 1 株で、ORF2 領域の塩基配列に多様性が認められた。しかし比較可能なシーケンス情報の不足により、これ以上は言及できなかった。また、抗原性状に關与する ORF2 領域の相同性は、各遺伝子型間で 28.4%以下、系統間で 65.4%以下であり、同じ遺伝子型であっても抗原性に差があることが示唆された。このことは、同一宿主に複数株の同時感染を可能とし、組換えを容易にさせ、遺伝的多様性を促進するものと考えられた。

以上、本研究で明らかになった知見は、腸内 RNA ウイルスである牛トロウイルス及び豚アストロウイルスの遺伝子多様性や種間伝播の解明に寄与するものである。