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_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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：山本（伊藤）美加

審査委員

主査	教授	迫田　義博
副査	教授	大橋　和彦
副査	教授	苅和　宏明
副査	准教授	岡松　正敏

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クエ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、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野外診断材料から可能となってきた。本研究では、家畜腸内 RNA ウイルスの遺伝子の多様性や種間伝播の解明を目的に、次世代シークエンス技術を用いて、牛トロウイルス（BToV）分離株 1 株と、診断のために収集された牛及び豚の糞便から遺伝子を検出した BToV 3 株、豚トロウイルス（PToV）1 株、及び豚アストロウイルス（PoAstV）36 株について遺伝子解析を実施した。

BToV は、コロナウイルス科トロウイルス亜科に属し、牛の消化器疾患の原因となる。分離ウイルス 1 株を含む野外糞便材料由来の BToV 4 株及び PToV 1 株のシークエンス解析を実施し、BToV 2 株の全ゲノム配列を得た。塩基配列の比較及び系統樹解析では、日本の BToV 間に高い相同性が認められ、S、M 及び HE コード領域は BToV Breda1 株と、ORF1a、ORF1b、N コード領域、非翻訳領域の 5’ 端及び 3’ 端は PToV NPL/2014 株及び SH1 株と相同性が高く、日本の BToV は、既報の BToV 及び PToV 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 BToV 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 BToV と PToV が同一宿主に重感染していたことを示している。

PoAstV はアストロウイルス科に属し、世界中の豚に常在する腸内ウイルスである。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 PoAstV の疫学も、現在までほとんど知られていない。今回野外糞便材料を由来とする PoAstV 36 株の、ほぼ全ゲノムのシークエ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 PoAstV 2 型、5 株が PoAstV 3 型、15 株が PoAstV 4 型、6 株が PoAstV 5 型に分類された。また、8 頭の豚で、2 つないし 3 つの株のウイルスに重感染していた。ORF2 領域の系統樹解析から、PoAstV 2 型はさらに 2 系統に、4 型は 4 系統に分類された。PoAstV 2 型及び 4 型の、ORF1a 及び ORF1b 領域の系統樹の樹形（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同定された。また、抗原性状に関与する 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、遺伝子組換えを容易にさせ、ウイルスの遺伝的多様性を促進させるものと考えられた。

本研究により、家畜の腸内 RNA ウイルスである BToV 及び PoAstV の遺伝子組換えを明らかにした。これは、感染個体における腸内 RNA ウイルスの疫学的根拠の評価、さらにこれらのウイルスの遺伝的進化を理解するのに重要な成績である。また、本成績は分離が困難な他の RNA ウイルスの遺伝的特徴を理解するのにも重要な知見と考えられる。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 山本（伊藤）美加 氏が博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。