



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on Mechanisms of Enhanced Virulence of Oncogenic Marek' s Disease Virus
Author(s)	SATO, Jumpei
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第16696号
Issue Date	2025-12-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16696
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/98670
Type	doctoral thesis
File Information	Jumpei_Sato_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



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：佐藤 純平

審査委員	主査 教授	迫田 義博
	副査 教授	木村 享史
	副査 教授	今内 寛
	副査 准教授	村田 史郎

学位論文題名

Studies on Mechanisms of Enhanced Virulence of Oncogenic Marek's Disease Virus
(腫瘍原性マレック病ウイルスの病原性増強機構に関する研究)

マレック病ウイルス (Marek's disease virus, MDV) は、悪性リンパ腫、免疫抑制、脚麻痺や斜頸などの神経症状を特徴とするマレック病 (MD) を引き起こす。弱毒生ワクチンの開発・普及により、MD の発生は制御されてきたが、野外株の病原性増強に伴い、近年ワクチン接種鶏における MD の発症例 (ワクチンブレイク) が世界各地で報告されている。MDV のオンコプロテインである Meq は、CD4⁺T 細胞の形質転換に必須であり、病原性に応じて多型や挿入/欠失配列を有することが知られている。実際に、実験感染により Meq のアミノ酸多型が病原性を変化させることが示された。しかし、その詳細な分子機構や関与するアミノ酸残基については十分に解明されていない。そこで本研究では、Meq のアミノ酸配列と MDV の病原性との関係を解析し、病態形成に関与する分子機構を明らかにすることを目的とした。

第 I 章では、Meq の転写活性化調節領域内の挿入配列が病原性を増強する分子機構を解析した。挿入配列が、Meq タンパク質の安定性を向上させ、さらに、レポーターアッセイにより、MDV の腫瘍化に関連するプロモーター活性を増強することを明らかにした。RB-1B 株由来の L-Meq を持つ組換え MDV (rRB-1B_LMeq) を使った感染試験では、MDV の腫瘍細胞と同じ表現型を示す CD4⁺T 細胞の早期増殖が観察され、腫瘍形成の加速が示唆された。一方で、フローサイトメトリー解析では、腫瘍内の細胞構成に顕著な差は認められず、さらに RNA-sequencing 解析でも腫瘍組織のトランスクリプトームに強い正の相関が示された。これらの結果から、挿入配列は転写標的を変化させず、Meq の安定性と転写活性化能を向上させることで腫瘍形成を促進させることが示唆された。

第 II 章では、Meq の塩基性領域のアミノ酸多型に着目し、ワクチン株 CVI988 に認められる 71 番目と 77 番目のアミノ酸多型の組み合わせ (Meq71/77) 、および近年のアジア、アフリカ、ヨーロッパ分離株に共通する 77 番目と 80 番目の組み合わせ (Meq77/80) を解析した。レポーターアッセイでは、これらの塩基性領域に認め

られるアミノ酸置換が, Meq の転写調節能を低下させることが確認された。さらに, これらの配列を導入した組換え MDV (rRB-1B_Meq71/77, rRB-1B_Meq77/80) を用いた感染実験において, rRB-1B_Meq71/77 感染鶏では MD の発症や Meq 陽性細胞の増殖が観察されず, さらに病理学的検査においても MD の発生を示す所見は認められなかった。一方, rRB-1B_Meq77/80 感染では死亡率および腫瘍発生率が低下したものの, 開口呼吸などの RB-1B-Meq を持つ組換え MDV とは異なる症状を呈し, 病理学的解析により気管支関連リンパ組織の過形成が認められた。これらの結果から, 塩基性領域における 2 つのアミノ酸配列の組み合わせにより, Meq の転写調節能や MDV の病原性が変化し, さらに病態の表現型にも影響を及ぼす可能性が示された。

第 III 章では, 上述の感染実験の病態後期に観察された CD8⁺ T 細胞および gamma-delta ($\gamma\delta$) T 細胞の減少への programmed death-1 (PD-1) / programmed death-ligand 1 (PD-L1) 経路による免疫抑制の関与を検討した。MD 発症鶏の脾臓および腫瘍組織内で, CD4⁺, CD8⁺, $\gamma\delta$ T 細胞いずれにおいても PD-1 陽性細胞の割合が増加していた。特に CD4⁺ T 細胞では Meq 陽性細胞で PD-1 発現が高かった。PD-1 陽性 CD8⁺ T 細胞では interferon-gamma (IFN- γ) 産生能の亢進が認められなかった。腫瘍組織由来の $\gamma\delta$ T 細胞では刺激培養後も IFN- γ 産生上昇が観察されなかった。さらに, 非感染鶏の脾臓由来の $\gamma\delta$ T 細胞では PD-1 陰性細胞に比べ, PD-1 陽性細胞に IFN- γ が高発現していたが, MD 発症鶏の脾臓由来の $\gamma\delta$ T 細胞では, PD-1 陽性および陰性細胞間における IFN- γ 産生の差が認められなかった。これらの結果から, PD-1 陽性 T 細胞の機能不全による MD の病態後期の免疫抑制への関与が示唆された。

本研究は Meq の転写活性化調節領域における挿入配列がタンパク質安定性と転写活性化能を増強し MDV の病原性を高めること, 塩基性領域のアミノ酸多型が病原性や病態を変化させること, さらに PD-1/PD-L1 経路が MDV の免疫抑制に関与することを明らかにした。これらの成果は, MDV の病原性進化や免疫回避機構に関する理解を深め, 将来的な高病原性株の出現予測や, 効果的なワクチン開発に貢献する重要な知見である。よって, 審査委員一同は, 上記学位論文提出者佐藤純平氏の学位論文は, 北海道大学大学院国際感染症学院規程第 10 条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。