

## 学位論文題名

## Immunomodulative effects of bovine immunodeficiency - like virus in experimentally infected animals

(ウシ免疫不全様ウイルス実験感染動物における免疫応答の変化)

## 学位論文内容の要旨

ウシ免疫不全様ウイルス(bovine immunodeficiency-like virus; BIV)は持続性のリンパ球増多症を呈したウシから分離されたレンチウイルスである。しかしBIVの病原性、特に感染動物に免疫不全を引き起こすのかどうかについては不明である。そこでまずBIVの実験感染系を確立するために、ウサギならびにヒツジへBIVを感染させ、感染に伴う免疫応答の変化を解析した。

BIV-R29株感染ウシ胎仔脾臓(BESP-BIV)細胞をウサギ(日本白色種)に接種したところ、全例の末梢血単核球(PBMC)からBIVの *gag*領域に特異的な配列を示すウイルスDNAが遺伝子増幅法(PCR)により検出された。またその血中にBIVのp26蛋白に対する抗体がWestern blottingにより検出された。ウイルス接種後270~282日目のウサギの脾臓からBIVが分離され、更に脾臓、リンパ節、肺と肝臓からウイルス DNAが検出された。これらの成績はウサギの体内でウイルスが増殖していることを示す。BIV接種後2か月目と4か月目のウサギのPBMCのconcanavalin A (Con A) 刺激に対する幼若化反応は非感染対照群と異ならなかった。BIV感染群および対照群に牛血清アルブミンならびにヒツジ赤血球をウイルス接種後4週目、9週目にそれぞれ免疫し、酵素抗体法(ELISA)によって抗体価の推移を比較した結果、感染群においてこれらの異種蛋白に対する抗体応答の抑制が認められた。感染ウサギは臨床症状を示さなかったが、リンパ節においてリンパ球の脱落が見られた。以上の成績は、ウサギがBIVの実験モデル動物として有用であること、ならびにBIV感染がウサギの免疫応答に影響を及ぼすことを示している。

BIVを接種したヒツジのPBMCからもウイルスDNAが検出され、またその血中に抗BIV抗体が検出された。また感染ヒツジのリンパ球数は増加したが、PBMC中のCD4陽性とCD8陽性T細胞の比に変化は認められなかった。BIV接種後3~4か月目に感染ヒツジPBMCのCon Aに対する幼若化反応が一過性に低下した。BIV感染に

伴う免疫応答の変化が、ウシ白血病ウイルス(BLV)の増殖と腫瘍発現にどのような影響を及ぼすかを調べるために、BIV感染ヒツジにBLVを接種して重感染させた。BLV接種後6ヶ月目を経過してからBLV単独感染ヒツジと比較してリンパ球数の著しい増加を示す個体が見られた。BIVとBLVの重感染ヒツジの抗BLV抗体価ならびにPBMC中のBLV価は、ともにBLVを単独で感染させたヒツジの場合より高かった。この所見はBIV感染がBLVの増殖を促進する可能性を示唆する。BIVとBLVの重感染ヒツジではウサギで見られたような異種蛋白質に対する抗体産生の抑制は認められなかった。

牛群におけるBIVとBLVの抗体保有状況と白血球数の変化との関連を調べるために、BLVに対して高い抗体陽性率の認められた北海道の3牧場の牛120頭についてBIVに対する抗体調査を行った。その結果約半数が抗BLV抗体を、7.5%が抗BIV抗体を保有していた。抗BLV抗体陽性牛では白血球の増多例が高率に見られたが、抗BLV抗体陰性で抗BIV抗体陽性の牛にはそれが認められなかった。また牛におけるBIVとBLVのそれぞれの抗体陽性例間の相関は認められなかった。

血清胸腺因子(FTS)は各種哺乳類の血清や胸腺から検出されるペプチドで、T細胞やNK細胞機能の賦活化作用などの生物活性を示すことが知られている。そこでFTSをBIV感染牛とBIV感染ウサギに連続的に投与し、免疫応答の回復を試みた。BIV感染牛ではマクロファージのケミルミネッセンス(CL)反応の低下と異種蛋白質に対する抗体産生の遅延が、またBIV感染ウサギでも異種蛋白質に対する抗体産生の抑制が認められた。しかしこれらのBIV感染牛と感染ウサギにおいてFTS投与によって抗体産生とCL反応の回復が認められた。

以上の結果、本来の宿主ではないウサギとヒツジにBIVが感染し、その免疫応答に影響を及ぼすことが示された。またヒツジへのBIVの感染がBLVの増殖を促進する可能性が示唆された。野外における抗体調査では、BIVとBLVのそれぞれの感染例の相関ならびにBIV感染に伴う白血球数の増加はともに認められなかった。BIV感染牛と感染ウサギでは、FTSの投与によって免疫応答を回復が認められた。

## 学位論文審査の要旨

主査 教授 小沼 操  
副査 教授 橋本 信夫  
副査 教授 喜田 宏  
副査 助教授 杉本 千尋

### 学位論文題名

Immunomodulative effects of bovine immunodeficiency - like virus in experimentally infected animals

(ウシ免疫不全様ウイルス実験感染動物における免疫応答の変化)

ウシ免疫不全様ウイルス(BIV)は持続性のリンパ球増多症を呈したウシから分離されたレンチウイルスであるが、その病原性、特に感染動物に免疫不全を引き起こすのかどうかは不明である。本研究はBIVの実験感染系を確立するために、ウサギならびにヒツジへBIVを感染させ、感染に伴う免疫応答の変化を解析した。

BIVをウサギに接種すると感染が成立し、全例の末梢血単核球(PBMC)から遺伝子増幅法(PCR)によりBIVのウイルスDNAが、またWestern blottingによりBIVのp26蛋白質に対する抗体が検出された。感染ウサギは臨床症状を示さなかったが、リンパ節でのリンパ球の脱落がみられ、異種蛋白質に対する抗体応答の抑制が認められた。以上の成績は、ウサギがBIVの実験モデル動物として有用であること、ならびにBIV感染がウサギの免疫応答を抑制していることを示している。

BIVを接種したヒツジのPBMCからもウイルスDNAが、またその血中に抗BIV抗体が検出された。BIV接種後3～4か月目にコンカナバリンAに対するリンパ球幼若化反応が一過性に低下した。BIV感染に伴う免疫応答の変化が、ウシ白血病ウイルス(BLV)感染にどのような影響を及ぼすかを調べるために、BIV感染ヒツジにBLVを重感染させた。その結果、BIVとBLVの重感染ヒツジの抗BLV抗体価ならびにPBMC中のBLV価は、ともにBLV単独感染させたヒツジの場合より高く、リンパ球数の著しい増加を示す個体が認められた。この所見はBIV感染がBLVの増殖を促進する可能性を示唆している。

BLVに対して高い抗体陽性率の認められた北海道の3牧場のウシ120頭についてBIVに対する抗体調査を行った。その結果、7.5%のウシが抗BIV抗体を保有していたが、BIVとBLVのそれぞれの抗体陽性例間の相関は認められなかった。

血清胸腺因子(FTS)は各種哺乳類の血清や胸腺から検出され免疫機能の賦活化作用を示すペプチドである。FTSをBIV感染動物に連続的に投与したところ、抗体産

生とマクロファージのケミルミネッセンス反応の回復が認められた。

この成績は、BIVが本来の宿主ではないウサギとヒツジに実験感染が成立し、その免疫応答を抑制すること、ならびにこの抑制はFTSの投与により回復することを示したものである。この研究は動物レンチウイルス感染の病態解明に重要な知見を提供するものである。よって審査員一同は平井伸明氏が博士（獣医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。