

学 位 論 文 題 名

Varied prevalence of Borna disease virus infection in Arabic,
thoroughbred and their cross-bred horses in Iran

(イランにおけるアラブ, サラブレッド

およびその交雑種間で異なるボルナ病ウイルス感染率)

学位論文内容の要旨

ボルナ病ウイルス(BDV)は、18世紀後半にドイツで発生したウマに散在性の進行性脳炎をもたらすボルナ病の原因ウイルスである。BDVは、ウマ以外にもウシ、ヒツジ、ネコおよびダチョウに自然感染することが報告されている。また、BDVは鳥類から哺乳類まで、幅広い実験感染が可能であることも明らかにされている。ラットを用いた実験感染では、脳脊髄炎を引き起こすことが証明され、ボルナ病を研究する上での有力な動物モデルとなっている。BDVは、好神経性のエンベロープウイルスであり、約9000塩基の1本鎖RNAをゲノムとするnonsegment negative strand (NNS) ウイルスである。BDVは少なくともヌクレオプロテイン (p40)、ポリメラーゼコファクター (p24)、マトリックス (gp18)、エンベロープ (gp56) およびポリメラーゼ (p180) の5つのタンパク質をコードすることが報告されており、ゲノム構造の相同性からラブドウイルス科の狂犬病ウイルスや水疱性口内炎ウイルスとの類似性が認められる。しかしながら、BDVは球状(約100 nm)のウイルスであり、核内で複製するなどラブドウイルスとは異なる点もあることから、現段階では未分類である。

これまで主に血清学的診断によりBDVの疫学調査が行われてきた。昨年我々とドイツのBode博士らのグループは、末梢血単核球(PBMC)より抽出したRNAを鋳型とするRT-PCRによりBDVの遺伝子を検出することに成功した。このことにより、従来の血清学的診断と併わせ遺伝子診断によるBDV感染の、より総合的かつ詳細な調査が可能となった。これらの検出系を用いて北海道におけるサラブレッドについて検査したところ、約30%のウマがBDV陽性であることが明らかとなった。またその遺伝子配列の比較から日本由来の遺伝子型がヨーロッパ由来の配列と違いはあるものの近縁であることが示唆された。このことは、日本国内の競争馬は欧米等から輸入される場合も多く、様々な形で日本と欧米間のウマの交流は進んでいる現状を考えると理解できる。一方、イラン国においては外国とのウマの交流は少なくとも15年以上行われていない。そこで本研究では、イランのウマにおけるBDVの分布状況およびその遺伝子型を明らかにするために、テヘランの72頭のウマ[アラブ(28頭)、サラブレッド(17頭)および両者の混血ウマ(27頭)]について、BDVの血清学的および分子疫学的検査を行った。血清学的検査は、p40およびp24のGST融合タンパク質を抗原とするイムノブロット法により、分子疫学的検査はp24領域の

nested RT-PCRにより行った。

検査の結果、抗BDV抗体あるいはBDV遺伝子が陽性であった割合は、アラブ（41.2%）、サラブレッド（23.5%）および両者の混血ウマ（33.3%）であり、抗BDV抗体およびBDV遺伝子が共に陽性であった割合は、アラブ（17.9%）、サラブレッド（5.9%）および両者の混血ウマ（11.1%）であった。混血ウマでは、牝のみに抗BDV抗体が検出され、また、アラブの牡およびサラブレッドの牝に有意な陽性率の上昇が認められた。一方、BDV陽性率と加齢との間に関連性は見られなかった。さらにPCR産物の塩基配列を決定し、その予測されるアミノ酸配列を比較した結果、イランの3種のウマ間では、ほぼ一致しているのに対し、ヨーロッパ、日本由来のウマのBDV配列および日本由来の精神疾患患者由来の配列とは若干の差異が認められた。しかし、精神分裂病や慢性疲労症候群患者由来BDVと比べると、これらウマ由来BDV間の塩基配列の相同性は高かった。イランのウマにおいて検出された2塩基の欠失は、日本国内の慢性疲労症候群患者由来のBDV塩基配列にも認められた。

以上の結果から、イランのウマでは性別および種間でBDV陽性率の違いがみられること、および、イラン国内のウマのBDV遺伝子型は、国内では相同性が高く、その他（ヨーロッパおよび日本）の国のウマ由来あるいはヒト由来のBDVの遺伝子型とは異なることが明らかとなった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 柿 沼 光 明

副 査 教 授 小 山 司

副 査 教 授 生 田 和 良

学 位 論 文 題 名

Varied prevalence of Borna disease virus infection in Arabic,
thoroughbred and their cross-bred horses in Iran

(イランにおけるアラブ、サラブレッド

およびその交雑種間で異なるボルナ病ウイルス感染率)

ボルナ病ウイルス(BDV)は、ドイツで発生したウマの進行性脳炎をもたらすボルナ病の原因ウイルスとして分離されたウイルスである。BDVは、ウマ以外にもウシ、ヒツジ、ネコおよびダチョウに自然感染することが報告されている。これらの動物では、感染しても、必ずしもボルナ病を発症するとは限らず、むしろ発症例は稀と考えられている。一方、抗BDV抗体陽性率から、ヒト、特に精神分裂病やうつ病などの精神疾患との関連性が示唆されている。これまで主に血清学的診断によりBDVの疫学調査が行われてきた。昨年我々とドイツのBodeらのグループは、末梢血単核球(PBMC)より抽出したRNAを鋳型とするRT-PCRによりBDVの遺伝子を検出することに成功した。このことにより、従来の血清学的診断と併わせ遺伝子診断によるBDV感染の、より総合的かつ詳細な調査が可能となった。これらの検出系を用いて北海道におけるサラブレッドについて検査され、約30%のウマがBDV陽性であることが報告されている。そこで本研究では、外国とのウマの交流が少なくとも過去15年以上にわたって行われていないイランにおいて、ウマにおけるBDVの分布状況およびその遺伝子型を明らかにするために、テヘランの72頭のウマ[アラブ(28頭)、サラブレッド(17頭)および両者の混血ウマ(27頭)]について、BDVの血清学的および分子疫学的検査を行った。血清学的検査は、p40およびp24のGST融合タンパク質を抗原とするイムノブロット法により、分子疫学的検査はp24領域のnested RT-PCRにより行った。

検査の結果、抗BDV抗体あるいはBDV遺伝子が陽性であった割合は、アラブ(25%)、サラブレッド(23.5%)および両者の混血ウマ(33.3%)であり、抗BDV抗体およびBDV遺伝子が共に陽性であった割合は、アラブ(17.9%)、サラブレッド(5.9%)および両者の混血ウマ(11.1%)であった。混血ウマでは、牝のみに抗BDV抗体が検出され、また、アラブの牡およびサラブレッドの牝に有意な陽性率の上昇が認められた。一

方、BDV陽性率と加齢との間に関連性は見られなかった。さらにPCR産物の塩基配列を決定し、その予測されるアミノ酸配列を比較した結果、イランの3種のウマ間では、ほぼ一致しているのに対し、ヨーロッパ、日本由来のウマのBDV配列および日本の精神疾患患者由来の配列とは若干の差異が認められた。しかし、精神分裂病や慢性疲労症候群患者由来BDVと比べると、これらウマ由来BDV間の塩基配列の相同性は高かった。イランのウマにおいて検出された2塩基の欠失は、日本国内の慢性疲労症候群患者由来のBDV塩基配列にも認められた。

以上の結果から、イランのウマでは性別および種間でBDV陽性率の違いがみられること、および、イラン国内のウマのBDV遺伝子型は、国内では相同性が高く、その他（ヨーロッパおよび日本）の国のウマ由来あるいはヒト由来のBDVの遺伝子型とは異なることが明らかとなった。従って、今後、イランの精神疾患患者におけるBDV陽性率を検討するとともに、その遺伝子配列を検討することにより、感染動物からヒトへの伝播の可能性を明らかにする良いモデルになると考えられる。

公開発表にあたり、副査の小山（司）教授より、イランにおけるウマボルナ病の報告、末梢血細胞におけるウイルスRNAの検索は脳内ウイルスを反映するのか、抗体とウイルスRNAの検索結果が異なる例の解釈、イランの精神疾患における本ウイルスの関与の可能性について、細川教授から本ウイルスの感染伝播方式について、主査の柿沼教授からイランにおけるBDVの由来について、末梢血中に認められるウイルスの変異について、末梢血と脳内のBDV間で性状が異なる可能性、免疫科学研究所細菌感染部門の岸助教授から母子感染の可能性、副査の生田教授からイランにおけるウマ由来BDV塩基配列が高い保存性を示す理由、などについて質問がなされたが発表者はおおむね妥当な回答を行った。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。