

学 位 論 文 題 名

Higher prevalence of Borna disease virus
infection in blood donors living near
thoroughbred horse farms

（サラブレッド牧場近辺に居住する献血者に
見られた高いボルナ病ウイルス陽性率）

学位論文内容の要旨

ボルナ病ウイルス（BDV）は、好神経性、非分節、（－）鎖、一本鎖RNAウイルスであり、ウマやヒツジに感染性の進行性脳炎を引き起こすボルナ病（BD）の原因ウイルスである。しかし、大部分の感染動物は不顕性に経過する事も知られている。これまでに、血清疫学調査において精神疾患患者で高い抗BDV抗体保有率を示すことが数多く報告されてきた。また最近、reverse transcriptase-polymerase chain reaction（RT-PCR）を用いた分子疫学調査からも、末梢血単核球（PBMC）中のBDV RNA陽性率がこれら精神疾患患者で高いことが報告されている。しかし一方では、健常者において、精神疾患患者や慢性疲労症候群（CFS）患者に比べて低率ながら、抗BDV抗体、及びBDV RNAが検出される例があることも報告されている。従ってBDVがヒトに病原性を示すのか、BDVに感染している動物から、ヒトへの伝播の可能性があるのかを検討することは重要であると考えられる。

我々は既に、北海道のサラブレッドにBDV陽性馬が高い割合で存在していることを報告している。今回我々は、いくつかの馬産地周辺の献血者についてBDV感染の広がりについて検討した。また、献血者とウマのPBMCから得られたRT-PCR産物の遺伝子配列を比較検討した。

北海道の4地域（門別、静内、浦河、札幌）から合計428名の献血者の血清を用い、抗BDV抗体の有無を、大腸菌で発現したBDV p24タンパク質を抗原として、ELISA法を用いて抗BDV抗体の有無を検討した。次に、新たに用意した門別の献血者57名とウマ54頭について、上記のELISA法で抗体の有無を検討した。また、陽性と判定した検体について、同じく大腸菌で発現、精製したBDV p24、および p40 タンパク質を抗原として用いてウェスタンブロット法により抗体の有無を検討した。また、陽性検体についてはPBMCから

RNAを抽出し、nested RT-PCRを行い、BDV p24遺伝子の検出を試み、得られたPCR産物はクローニング後、その遺伝子配列を決定した。

献血者428名のELISAによる比較検討から、大都市である札幌（1％）に比べ、馬産地の門別（14.8％）、静内（12.5％）、浦河（3.1％）では有意に抗体陽性率が高かった。次に、門別の57名の献血者、54頭のウマで新たにELISAを行った結果、7名の献血者、9頭のウマが陽性と判定された。この陽性検体についてp24、p40についてウエスタンブロットを行った結果、p24については全てが陽性であったが、p40については、献血者が4名、ウマは7頭陽性であった。またRT-PCRの結果は、献血者が4名とウマが7頭陽性であった。

北海道では、日本の約90％のサラブレッドが生産されているが、今回我々が馬産地の献血者でBDV感染について調査した結果、明らかに馬産地で、抗BDV抗体の保有率が高かった。このことは、既にイスラエルから報告されているダチョウからヒトへの水平感染の可能性と同様に、ウマからヒトへの水平感染が起こっている可能性を示唆している。しかし、抗体陽性者が必ずしもRNA陽性者ではなかった。このことは、他の組織、例えば脳に限局して感染が広がっている可能性が挙げられる。また、現在我々が用いている方法ではPBMC中のウイルス量が検出限界以下である事も考えられる。さらにPCR産物の遺伝子配列決定の結果から、ウマとヒトの配列の間に高い相同性が確認され、このことから、ウマからヒトへの水平感染が起こっている可能性が高いことが示唆された。しかし、現在得られている遺伝子配列がBDVゲノム全体に比べわずかであるため、今後さらにヒト、ウマ両方からウイルスを分離し、遺伝子配列全体で比較し、水平感染の可能性を明らかにする必要があると思われる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小野江 和 則

副 査 教 授 生 田 和 良

副 査 教 授 有 川 二 郎

学 位 論 文 題 名

Higher prevalence of Borna disease virus infection in blood donors living near thoroughbred horse farms

(サラブレッド牧場近辺に居住する献血者に
見られた高いボルナ病ウイルス陽性率)

ボルナ病ウイルス (BDV) は、好神経性、非分節、(－) 鎖、一本鎖RNAウイルスであり、ウマやヒツジに感染性の進行性脳炎を引き起こすボルナ病 (BD) の原因ウイルスである。これまでに、血清疫学調査において精神疾患患者で高い抗BDV抗体保有率を示すことが数多く報告されてきた。また最近、reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)を用いた分子疫学調査からも、末梢血単核球中 (PBMC)のBDV RNA陽性率がこれら精神疾患患者で高いことが報告されている。しかし一方では、健常者においても、精神疾患患者に比べて低率ながら、抗BDV抗体、及びBDV RNAが検出される例があることも報告されている。従ってBDVがヒトに病原性を示すのか、BDVに感染している動物からヒトへの伝播の可能性があるのかを検討することは重要と考えられる。既に、北海道のサラブレッドにBDV陽性馬が高い割合で存在していることが報告されているが、今回いくつかの馬産地周辺の献血者についてBDV感染の広がりについて検討した。献血者428名のELISAによる比較検討から、大都市である札幌 (1%) に比べ、日高地方の馬産地の門別 (14.8%)、静内 (12.5%)、浦河 (3.1%) では有意に抗体陽性率が高かった。次に、門別の57名の献血者、及び54頭のウマから新たに血液サンプルを入手し、ELISAを行った結果、7名の献血者、9頭のウマが陽性と判定された。この陽性検体についてp24、及びp40についてウエスタンブロットを行った結果、p24については全てが陽性であったが、p40については献血者が4名、ウマは7頭が陽性であった。またRT-PCR法では、献血者4名とウマ7頭で陽性反応が認められた。今回、馬産地の献血者でBDV感染について調査した結果、明らかに馬産地で抗BDV抗体の保有率が高かった事か

ら、ウマからヒトへの水平感染が起きている可能性が示唆された。実際、PCR産物の遺伝子配列決定の結果から、ウマとヒトの配列の間に高い相同性が確認され、このことから、ウマからヒトへの水平感染が起きている可能性が高いことが示唆された。

抗体陽性者が必ずしもRNA陽性者ではなかったが、他の組織、例えば脳に限局して感染が広がっている可能性が挙げられる。また、現在用いている方法ではPBMC中のウイルス量が検出限界以下である事も考えられる。

公開発表は14名の聴衆の前で行われ、副査の有川教授より、ELISAのrelative absorbanceの定義について、ウマ及びヒト由来のBDV配列における変異率について、陽性馬の輸入元からの疫学的追跡の可能性について、主査の小野江教授より、家族内感染例について、年齢による陽性率の変動について、抗体価がp40よりp24が高い理由について、BDVの最も感度の良い検出方法について、副査の生田教授より、病気とBDVとの関連性について、p24がp40より発現量が高い理由についてなどの質問がなされたが、いずれの質問にも申請者はおおむね妥当な回答をなし得た。

本論文はウマからヒトへのBDVの水平感染が起きている可能性を示唆した点で高く評価され、今後のBDV感染経路の解明に重要な知見をもたらすと期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、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。