

学位論文題名

マレック病ウイルス強毒株のガンカモ類における 分布調査およびその強毒化因子に関する研究

学位論文内容の要旨

マレック病ウイルス（MDV）はヘルペスウイルス科に属し、血清型1（MDV1）の強毒株のみが鶏に悪性リンパ腫をひき起こす。近年、血清型1マレック病ウイルスは強毒化する傾向にあり、野外におけるワクチンブレイクが問題となってきている。また、それまで知られていなかった野鳥におけるマレック病（MD）の発生が2001年に天然記念物であるマガンに確認された。そのため強毒化したMDV1によるワクチンブレイクに加え、野鳥による強毒MDV1の伝播拡大、さらには野鳥におけるアウトブレイクが懸念される。そこで本研究では、野鳥におけるMDV1の汚染状況の調査を行った。加えて、MDV1の病原性を規定する要因と疑われているMDV EcoRI Q（Meq）における多型や挿入による、Meqの機能への影響を検討し、以下のような成績を得た。

野鳥でも採材が容易な羽材料を用い、MDV1特異的である*meq*、*L-meq*遺伝子の構造の差に注目して、MDV1強毒株の選択的診断法の確立を行った。その結果、MDV1強毒株（Md5株）感染鶏群ではウイルス接種後1週目から*meq*遺伝子、MDV1弱毒株（CVI988株）感染鶏ではウイルス接種後2週目から*L-meq*遺伝子が観察期間を通して優勢に検出され、Md5株とCVI988株の混合感染鶏においては、*meq*遺伝子がウイルス接種後2週目から実験期間を通じて優勢に検出された。そのため、羽材料を用いた本診断法はMDV1強毒株感染の選択的な診断に適していると考えられたので、野外での応用に供した。調査対象とした野生ガンカモ類のうち、マガンとシジュウカラガンにMDV1が高頻度に感染していることが確認された。またヒシクイについては、羽材料から*meq*遺伝子を検出することはできなかったが、血液材料から検出され、MDV1感染の拡大が示唆された。このように、野生ガンカモ類においても強毒MDV1の広範囲な感染が明らかになった。

病原性の高いMDV1では、Meqの転写活性化調節領域に共通した変異が見られ、それら変異が病原性を規定している可能性が考えられる。Meqは転写因子として様々な遺伝子の発現を調節し腫瘍化に寄与することから、このような変異による転写活性機能への影響を解析した。その結果、転写活性化調節領域内における変異、特にプロリンリッチリピートにおける変異に依存してMeqの転写活性機能の増加が見られた。そのため、Meqにおける変異が強毒化の一因であることが示唆された。

Meqに60アミノ酸の挿入を含むL-MeqをコードするMDV1は、CVI988株を含めこれまでに4株報告されている。いずれの病原性もmild MDVまたはvirulent MDVに属し、低い病原性を示す。そこで、L-Meqと低病原性との関連を検討するため、L-Meqの機能解析を行った。その結果、L-Meqの転写活性機能はMeqよりも低く、さらに形質転換能についてもMeqよりも劣ることが明らかとなった。以上の研究より、L-Meqの腫瘍原性はMeqよりも極めて低く、L-MeqをコードするMDV1の低病原性に寄与していることが示唆された。

以上の成績から、Meqにおける多型や挿入はMDV1の病原性と深く関わっていると考えられた。また、野生ガンカモ類を対象とした分子疫学調査により検出された*meq*遺伝子の塩基配列は、強毒MDV1と一致しており、野生ガンカモ類に分布しているMDV1は強毒株である可能性が高い。したがって、野生ガンカモ類や家禽に分布するMDV1の性状解析を今後も継続して行い、MD発生動向を監視していくことが必要である。

学位論文審査の要旨

主 査	准教授	大 橋 和 彦
副 査	教 授	梅 村 孝 司
副 査	教 授	喜 田 宏
副 査	名誉教授	小 沼 操

学 位 論 文 題 名

マレック病ウイルス強毒株のガンカモ類における 分布調査およびその強毒化因子に関する研究

血清型 1 に分類されるマレック病ウイルス(MDV1)の強毒株は、鶏に悪性リンパ腫を引き起こす。近年、MDV1 は野外で強毒化する傾向にあり、ワクチンブレイクが問題となっている。また、野鳥(マガン)におけるマレック病の発生が確認され、野鳥による強毒 MDV1 の拡散や野鳥でのアウトブレイクが懸念される。本研究では、MDV1 強毒株特異的診断法を樹立して、野鳥における MDV1 の汚染状況の調査を行った。さらに MDV1 の病原性を規定する要因である Meq の多型や挿入による Meq の機能への影響を解析した。

最初に採材が容易な羽材料を用いて、MDV1 特異的な *meq*、*L-meq* 遺伝子の構造の差に注目して、MDV1 強毒株の選択的診断法を確立した。この方法により、強毒株と弱毒株(CVI988 株など)が混合感染した鶏でも MDV1 強毒株感染を選択的に診断できることが示された。そこでこの診断法を用いて野生ガンカモ類を対象とした疫学調査を行った結果、マガンなどが MDV1 に高頻度に感染していることが確認され、強毒 MDV1 が野生ガンカモ類に広く分布していることが示された。

野鳥や国内の鶏から検出される MDV1 を含めて、病原性が高い MDV1 では、Meq の転写活性化調節領域に共通した変異がみられ、それらの変異が病原性を規定する可能性が考えられる。Meq は転写活性化因子として種々の遺伝子発現を調節し腫瘍化に寄与するので、このような変異による転写活性化能への影響を解析した。その結果、転写活性化調節領域内における変異、特にプロリンリッチリピートにおける変異に依存して Meq の転写活性化能が増加し、Meq における変異が強毒化の一因であることが示唆された。

Meq に 60 アミノ酸の挿入を含む L-Meq をコードする MDV1 は、CVI988 株を含め、いずれも低い病原性を示す。そこで、L-Meq と病原性との関連を検討するため、L-Meq の機能解析を行った。その結果、L-Meq の転写活性化能は Meq よりも低く、さらに形質転換能についても Meq より劣ることが明らかとなり、L-Meq が MDV1 の低病原性化に関与していることが示唆された。

以上の成績より、野鳥や国内の鶏から検出される MDV1 ではウイルス発癌遺伝子産物 Meq に多型や挿入が見られ、それらの変化が Meq の機能に影響し、MDV1 の病原性変化に関与することが示唆された。

本研究により、MDV1 の病原性に Meq におけるアミノ酸配列の置換や挿入が関連することが明らかになった。よって、審査委員一同は、村田史郎君の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第6条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。