

学 位 論 文 題 名

神経病原性トリレトロウイルスのゲノム多様性と出現経緯

学位論文内容の要旨

トリの神経膠腫 (fowl glioma) は非化膿性髄膜脳炎を背景に星状膠細胞が多発性結節性に増殖する鶏の疾患である。この疾患は 1935 年にスペインで初発例が報告されて以来、ヨーロッパ、南アフリカ、オーストラリアおよびアメリカ合衆国で散発していた。しかし、その原因や病態に関する詳細は不明のままであった。一方、国内では 1995 年に某動物園で飼育されていた富山産の日本鶏チャボ (*Gallus gallus domesticus*) から本疾患が初めて発見された。その後、罹患脳からトリ白血病ウイルス A 亜群 (avian leucosis virus subgroup A; ALV-A) に属すトリの神経膠腫誘発ウイルス (fowl glioma-inducing virus; FGV) が分離され、このウイルスが本疾患の原因であることが明らかになった。これまでに FGV は国内初発例と血縁のある鶏に蔓延していること、FGV は神経膠腫のほか、小脳低形成ならびに神経周膜腫の発生に関与することが明らかになっている。しかし、本来造血器系に病原性をもつ ALV の一株である FGV がどのようにして神経病原性を獲得したのか、その出現経緯は未だ明らかにされていない。こうした中、国内の採卵鶏にも神経膠腫が発見され、FGV とは異なる ALV-A, TymS_90 株が分離された。TymS_90 は内在性レトロウイルス *ev-1* と外因性 ALV の組換えによって出現した新たな神経病原性 ALV と考えられている。以上の背景を踏まえ、本研究では神経病原性 ALV のゲノム多様性と FGV の出現経緯を明らかにするために、鶏の末梢神経腫瘍の病理学的解析ならびに分子生物学的検索を行うとともに FGV の疫学調査を実施した。

鶏の末梢神経鞘腫瘍 (peripheral nerve sheath tumor; PNST) の発生は稀で、これらの原因は未だ明らかにされていない。神経周膜腫は神経周膜細胞に由来する稀な腫瘍で、獣医学領域ではイヌ 4 例、ウマ 1 例および FGV 実験感染鶏 11 例でしか報告されていない。第 I 章では野外で発見された日本鶏の多発性神経周膜腫を病理学的に検索した。症例は日本鶏、小地鶏 (*Gallus gallus domesticus*)、雄、2 歳で、斜頸、歩行困難および食欲廃絶といった臨床症状を示した。肉眼的に本例の腕神経叢、腰仙骨神経叢および脊髄神経節は両側性高度に腫大していた。組織学的にはこれら末梢神経病変は神経線維間における紡錘形細胞の増殖からなり、残存する軸索を同心円状に取り囲む特徴的な onion-bulb 様構造の形成が認められた。神経周膜細胞のマーカーとし

て新たに報告された glucose transporter 1 (GLUT1) を用いて免疫組織化学的検索を行ったところ、正常末梢神経組織では神経周膜細胞、血管内皮細胞、血管平滑筋および神経節細胞が GLUT1 に陽性、シュワン細胞が GLUT1 に陰性を示した。一方、本例の紡錘形細胞は GLUT1 に陽性を示し、さらに S-100 α/β およびビメンチンに陰性を示したことから、この紡錘形細胞は神経周膜細胞由来であることが示された。以上の成績から、本例は鶏の多発性神経周膜腫と診断された。本症例から ALV は分離されなかったが、腫瘍組織から ALV env-3' long terminal repeat (LTR) の R 領域までのフラグメントが増幅され、このフラグメントと FGV および ev-1 の対応領域との相同性が各々 79.8% および 99% であったことから、本腫瘍の発生には FGV とは異なる ALV が関与している可能性が示唆された。

第 II 章では野外で見つかった鶏の PNSST を病理組織学的に検索し、腫瘍組織から分離した ALV の分子生物学的特徴および病原性を解析した。症例は国内で飼育されていた日本鶏、尾曳、雄、2 歳で、剖検に供されるまでの 6 ヶ月間跛行を示した。本例の左頸部皮下には鶏卵大の硬い腫瘤が形成されていた。腫瘤は脊髄と連絡し (C9-14)、硬膜内に侵入して脊髄実質を圧排していた。病理組織学的には腫瘍組織は紡錘形の腫瘍細胞が渦状、束状、花筵状に増殖して、ときおりフェローカ小体の形成を伴う細胞密度に富む領域と細胞密度が低く膠原線維に富む領域からなっていた。免疫組織化学的には紡錘形細胞の約 50% が GLUT1 に陽性かつ S-100 α/β に陰性を示し、残りの約 50% が S-100 α/β に陽性かつ GLUT1 に陰性を示した。以上の成績から、本腫瘍はシュワン細胞、神経周膜細胞ならびに線維芽細胞に由来する神経線維肉腫と診断された。ゲノム解析ならびに分子系統樹解析によって、腫瘍組織から分離された CTS_5371 株は新たなリコンビナントウイルスであることが明らかになった。さらに実験感染によって CTS_5371 はシュワン細胞および神経周膜細胞の増殖を誘発することが明らかになった。以上の成績から、新たに分離された CTS_5371 は神経線維肉腫誘発能を持つことが明らかになった。

日本ではトリの神経膠腫の発生が現在も確認されている。しかし、FGV がどのように出現したのか、その出現経緯は明らかにされていない。また、過去に海外で発生したトリの神経膠腫と FGV との関連も不明のままである。そこで、第 III 章では国内初発例と血縁のない国内の鶏、日本鶏の渡来経路上のアジア 3 カ国の在来鶏および過去にトリの神経膠腫が散発していたヨーロッパの在来鶏計 470 羽を対象に FGV の疫学調査を行った。日本を除くアジアおよびドイツの鶏 163 羽中 46 羽 (28%) が FGV 特異的 nested polymerase chain reaction (PCR) に陽性を示したが、いずれの鶏からも FGV は分離されなかった。国内の鶏 307 羽中 80 羽 (陽性率 26%) が FGV 特異的 nested PCR に陽性を示し、3' untranslated region (UTR) に FGV 特異配列

を持つ FGV 変異株 11 株が分離された。また、神経膠腫と小脳低形成の両者またはその一方に罹患した日本鶏から FGV 特異配列を持たない 4 株の ALV が分離された。これら分離株は既知の ALV 株とは異なるゲノム構造を持ち、FGV 変異株と内在性・外因性レトロウイルス間の組換えにより出現した ALV 株と考えられた。以上の成績から、FGV 変異株ばかりでなく FGV とは異なる ALV 株が国内の日本鶏に拡散していること、ならびに FGV は日本国内の日本鶏の中で未知の内在性レトロウイルスを含むトリレトロウイルス間の組換えにより出現した可能性が高いことが示唆された。

以上の成績をまとめると、本研究によって国内の日本鶏には FGV および TymS_90 以外にも PNSTs と関連する ALV が存在し、新たに分離された CTS_5371 は神経線維肉腫を誘発し得ることが明らかになった。また、本研究によって FGV は国内の日本鶏の中で出現した可能性が高いこと、ならびに FGV とこの変異体はこれらと内在性レトロウイルス間との組換えを主な基盤としてゲノム多様性を示しながら今もなお日本鶏の中で拡散していることが示唆された。