

## 審査の結果の要旨

氏名 岡本 麻里

レトロウイルスは畜産衛生上、無視できない存在であるが、症状が顕在化せずにウイルスゲノムが宿主 DNA に組み込まれ、生涯感染が持続するといったユニークな特徴・動態のため、その病原性や性状については未解明の点も多い。日本で問題となっているレトロウイルスのひとつに、牛伝染性リンパ腫ウイルス (BLV) があり、全身性の悪性リンパ腫/白血病を主徴とする地方病性牛伝染性リンパ腫 (EBL) の原因となる。EBL 発症やプロウイルス量 (PVL) に関与する宿主要因のひとつとして BoLA と呼称されるウシ主要組織適合性遺伝子複合体 (MHC) がある。BoLA-DRB3 遺伝子アレルが BLV の PVL や病態に関与しているとされるが、母子感染との関係性は論じられてこなかった。また BLV と同じレトロウイルス科でスプーマウイルス亜科に分類される牛フォーミーウイルス (BFV) は、欧米諸国や中国、日本に存在するが、日本の BFV の疫学やゲノムの特徴は明らかにされていない。本研究では、BLV および BFV の感染や病原性に影響する因子の解明を目的として BLV の母子感染における感染動態、BFV の分子疫学や BLV との関連、また BFV の生体内および試験管内の動態を解析した。

第 1 章では母子感染した牛と妊娠牛における BLV 関連因子の動態を調査したところ、母子感染群では非母子感染群より分娩時の PVL、リンパ球数が有意に高かった。さらに、感受性アレルを持つ母牛では、感受性アレルを持たない母牛と比べて有意に高い確率で母子感染が見られ、抵抗性型の母牛では PVL にかかわらず母子感染が起こらなかった。1 歳齢以上で BLV に水平感染した陽転群とそれ未満で感染した早期感染群で BLV の動態を調査し、PVL 値を比較したところ、有意差は見られなかったものの、早期感染群でより増加率が高く、感受性型、中間型で抵抗性型の牛より PVL 増加率が高い傾向だったことから、早期感染牛が BLV 感染源となる可能性が考えられた。本章から、BoLA-DRB3 アレルは母子感染にも影響を及ぼすことが示唆されたと論じている。

第 2 章では、日本における BFV 疫学およびその塩基配列の特徴を調査し、BLV 感染状況との相関を解析した。茨城県、鹿児島県、北海道、宮城県の 4 農

場で全血サンプルを採材し、*env*領域のPCRで感染率を調査した。また、BFV感染牛の末梢血単核細胞をハムスター腎由来（BHK21）細胞と共培養することでBFVを分離し、全長ゲノムの塩基配列を決定した。その結果、BFVは地理的に離れた3農場で検出され、個体レベルでのBFV感染率は平均12.7%だった。*env*領域についての系統樹解析で、茨城株、鹿児島株、神奈川由来のNo.43株はアメリカ株や中国株と同じクラスターに分類されたが、北海道株はヨーロッパ株を含む別のクラスターに分類された。BLVとBFVでは感染の有無やPVLに相関は見られなかったが、どちらも年齢の増加とともに感染率が上がっていた。本章から、日本ではBFVが広い地域に分布し、国内のBFVゲノムにバリエーションが存在することが示されたと論じている。

第3章では、3頭のBFV陽性牛とその分離株についてBFVの動態を解析した。本研究で構築された定量リアルタイムPCRを用いてBFV陽性牛の末梢血中のBFVを定量した結果、2年半に渡ってPVLは低い値で維持されていた。培養細胞ではBHK21細胞の継代の過程でPVLの増加、CPEの出現に対応し、*env*から*bel-1*の一部領域の欠失が観察されたが、牛腎由来株化（MDBK）細胞と牛胎仔筋肉（BFM）細胞ではCPEは見られなかった。BFVは細胞への馴化により、急速に増殖し細胞を障害する能力を持ったこと、非自然宿主であるハムスター細胞でCPEとともに*env*から*bel-1*の一部領域の欠失が見られたことから、BFVの種を越えた感染や病原性の可能性が示唆されたと論じている。

本研究より、BLVの母子感染の頻度に*BoLA-DRB3*アレルが関与していることが示唆された。BLVに加えBFVも、日本において広く存在していることが証明され、様々なルートで侵入・浸潤していると考えられる。BFVは牛の生体内で安定し、低い値で維持されているが、BFVの種を越えた感染や病原性の可能性も論じている。これらのレトロウイルスに関する知見は今後のレトロウイルス研究の推進とともに畜産衛生管理の観点から有用であり、予防やレトロウイルスの病原性のメカニズム解明に寄与すると考察している。

これらの研究成果は、学術上・応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。