

Title	Characterization of a Borna disease virus field isolate which shows efficient viral propagation and transmissibility
Author(s)	渡邊, 洋平
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47465
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	わた なべ よう へい 渡 邊 洋 平
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 20943 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Characterization of a Borna disease virus field isolate which shows efficient viral propagation and transmissibility (効率的なウイルス増殖および伝播を示すボルナ病ウイルス野外分離株の性状解析)
論文審査委員	(主査) 教授 生田 和良 (副査) 教授 松浦 善治 教授 塩田 達雄

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

ボルナ病ウイルス (BDV) の自然感染は、多くの温血動物に認められ、その宿主域はきわめて広いと考えられている。また、その感染は世界中に分布していることも明らかとなりつつある。一方、BDV は脳内に持続感染を成立させるため、感染個体の同定とウイルス分離が困難である。そのため、世界各国における BDV 研究は、長期にわたり培養細胞や実験動物の脳で継代された同一由来のごく限られた実験室株で行われてきた。

多くのウイルス種において、実験室で長期に培養されたウイルスの性状は自然界に蔓延している野外株とは大きく異なることが示されている。これまでの研究から、培養細胞における BDV の伝播効率ならびに感染性粒子の放出量はきわめて低いことが示されている。しかし、現在解析されている BDV 実験室株が BDV 本来の性状を保持しているかの確証はない。また、自然界で広がっている BDV を研究材料に、その増殖性や病原性あるいは遺伝子配列の解析を行った研究もない。そこで本研究では、我が国で発見されたボルナ病発症牛から分離された BDV 野外分離株の詳細な性状解析を行った。

〔 方法ならびに成績 〕

わが国で発見されたボルナ病発症牛の脳乳剤より野外分離株 (Bo/04w) を分離し、汎用されている実験室株 (huP2br/HE80) との比較をおこなった。初代培養を含む神経系細胞で伝播・増殖能力およびウイルス粒子産生能を Immunofluorescence assay および focus forming 法を用いて解析した。その結果、Bo/04w は huP2br と比較して効率良く伝播することが明らかとなった。また、huP2br 感染細胞では、持続感染期になるとウイルス産生が低下するのに対して、Bo/04w 感染細胞では感染時期を通じて高いウイルス産生が維持されていることが示された。同様の傾向はスナネズミ脳内でも観察され、Bo/04w では早期伝播と高いウイルス産生が認められた。

最近の BDV minireplicon system による解析から BDV polymerase 活性には、ウイルス蛋白質の厳密な発現制御が必要であることが分かっている。特に BDV phosphoprotein (P 蛋白質) はきわめて重要な役割を果たしており、過剰量の P 蛋白質は著しく BDV polymerase 活性を抑制することが明らかとなっている。そこで、感染細胞内のウイ

ルス蛋白質発現レベルを Western blotting および ELISA を用いて解析した。その結果、Bo/04w 感染細胞では、持続感染期になっても P 蛋白質発現が低く保たれていることが明らかとなった。また、病態に脳内における P 蛋白質蓄積の関与が示唆されている新生仔スナネズミへの接種試験では、脳内 P 蛋白質発現レベルの低い Bo/04w において、神経症状の遅延と緩和が観察された。さらに、BDV 複製・転写について Northern blotting を用いて検討したところ、Bo/04w は huP2br と比較して高い複製・転写効率を示した。

次に、Bo/04w のゲノム全長について塩基配列を決定し、実験室株との比較をおこなった。興味深いことに、明らかなウイルス学的性状の違いに関わらず、Bo/04w と huP2br は全長にわたってきわめて高いゲノム相同性を示した。この結果は、BDV は数アミノ酸変異で病原性が変化するという近年の報告と一致した。また、系統樹解析を用いた分子疫学的検索において、Bo/04w は huP2br と同じく strain V group に属することが明らかとなった。

[総 括]

BDV 野外分離株である Bo/04w は、神経系細胞およびスナネズミのいずれにおいても、多くのウイルス粒子を産生し、野外分離株における性状の違いを示唆した。これらの結果は、BDV がこれまで考えられてきた以上に効率良く感染伝播し、感染を成立させる可能性を示した。また、BDV 増殖機構および病態機序における細胞内 P 蛋白質の重要性が示唆された。さらに、明らかな性状の違いに関わらず、Bo/04w のゲノム塩基配列は実験室株ときわめて高い相同性を示すことも明らかとなった。本結果は、BDV 研究における株間の詳細な性状解析の重要性を示しており、BDV 本来の病原性を探る上でさらなる BDV 野外株の分離・解析が必要であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

ボルナ病ウイルス (BDV) は感染個体の同定とウイルス分離が困難であるため、世界各国における BDV 研究は、長期にわたり継代されたごく限られた実験室株で行われてきた。しかし、多くのウイルス種において、実験室で長期に培養されたウイルスの性状は野外株とは大きく異なることが示されている。そこで本研究では、新しく分離された BDV 野外株の詳細な性状解析を行った。

BDV 野外分離株は、神経系細胞およびスナネズミのいずれにおいても、多くのウイルス粒子を産生した。また、BDV のウイルス活性に重要な役割を果たすと考えられているウイルス蛋白質の感染細胞内発現レベルが低く保たれていた。以上の結果は、BDV 野外分離株における明らかな性状の違いを示唆した。

渡邊洋平君の研究で示唆された BDV 野外分離株の高いウイルス産生効率と速い脳内伝播は、BDV 本来の病原性を探る上で重要な情報である。また、本研究は野外に分布するウイルス株の性状が実験室株と大きく異なる可能性を示しており、さらなる BDV 野外株の分離・解析が必要であることを提起している。そのため、申請者の渡邊洋平君は学位の授与に値すると考えられる。