

# 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 泉 屋 吉 宏

マレック病 (MD) は 1960 年頃から多くの国々で養鶏産業に大きな被害を及ぼしている鶏の伝染性悪性 T リンパ腫である。MD の原因となるのがマレック病ウイルス (MDV) であり、現在までに各国で数多く分離されている。その後 MDV と血清学的に交差するウイルス株が健康な鶏や七面鳥その他の鶉鶏類の鳥から分離され、3 つの血清型 (MDV1, MDV2, MDV3 = HVT : 七面鳥ヘルペスウイルス) に分類されている。現在はワクチンとして、培養細胞で継代し弱毒化した MDV1 や非腫瘍原性である MDV2、または HVT が単独もしくは混合して用いられている。

MDV は当初、その T 細胞親和性や自然宿主に対して T リンパ腫を引き起こすことから、腫瘍原性をもつヘルペスウイルスの多くが属する gammaherpesvirus に分類された。しかしその後の分子生物学的解析から、MDV は明らかな腫瘍原性は示さない alphaherpesvirus と系統発生的に近似し、一部の遺伝子を除いて gammaherpesvirus とは類似していないことが示唆された。現在では MDV は、その遺伝子構造から alphaherpesvirus に分類されている。このことは、腫瘍発生機構を解明するにあたって、遺伝子構造が異なるため gammaherpesvirus を比較対照とすることが難しいことを示している。これゆえ MDV1 の腫瘍原性を解明する 1 つの手段として、非腫瘍原性である MDV2 と腫瘍原性である MDV1 を比較解析する方法を着想した。本研究はこれら課題を解明することを最終目的として、2 部から構成されている。

## 第一部 MDV の遺伝学的研究

MDV の研究は他の alphaherpesvirus の研究に比べ、その引き起こす病気の重要性を考慮すると非常に遅れていると言えよう。これは、その遺伝子情報が部分的にしか明らかになっていないためであると考えられた。そこで著者は、MDV2 ゲノム完全長の塩基配列の解析を行い、MDV2 の全塩基配列の決定を完了することに成功した。MDV2 の遺伝子は 164,270bp より構成され、その G + C 含量は 53.6 % であることが明らかとなった。MDV2 ゲノムには合計 102 個の蛋白をコードし得る open reading frames (ORFs) が認められた。このうち 69 個の遺伝子は人単純ヘルペスウイルス (HSV-1) の相同領域に存在する遺伝子と相同性が認められた。そこで、これらの遺伝子は HSV-1 の遺伝子に準じて命名を行った。また、MDV に特異的な 5 つの遺伝子が保存されていた。興味深い領域として、Repeat long 領域には 9 つの ORF 様配列が存在していたが、それらの ORF の配置は他のすべてのヘルペスウイルスと全く異なり、その推定アミノ酸配列についても相同性は認められなかった。さらに、この領域だけは MDV1 と全く相同性が認められず、MDV1 において腫瘍の原因と考えられている meq の相同体も保存

されていなかった。このことは、なぜMDV2が非腫瘍原性であるのかを示唆するものであった。

第一部で得られた結果は、今後のMDVの研究に大いに役立つことが期待でき、特に、腫瘍発生機構の解明やMDVの特異的生物学的性状を理解する上で有用であると考えられた。

## 第二部 MDV特異的遺伝子産物の同定

第1部で得られた結果から、MDVには少なくとも5つの特異的な遺伝子が保存されている事が明らかとなった。これら遺伝子のうち、MDV2 ORF873 遺伝子の機能解析を行うために、まず、ORF873 遺伝子を部分的にクローニングし、大腸菌で組換え蛋白を発現させた。精製した組換え発現蛋白をマウスに免疫し、特異的な血清と1つのモノクローナル抗体を作出した。また、バキュロウイルス発現系を用いたORF873組換え蛋白も作製した。この蛋白は先の特異母体によって108kDaの蛋白として発現していることが確認されるとともに、特異抗体の有用性を確認した。次にマウスで作製した特異母体を用いたイムノブロット解析によって、このMDV特異蛋白はMDV2感染細胞中で108kDaの蛋白として発現していることが確認された。発現部位については作成したモノクローナル抗体を用いて間接蛍光抗体法で解析したところ、これらの蛋白は細胞質内で発現している可能性が示唆された。

MDV2の全塩基配列を決定することによって、MDV2にはMDV1において腫瘍発生の原因遺伝子であると考えられているmeq 遺伝子が認められなかった。この結果はMDV1の腫瘍を引き起こす原因がmeqである可能性を強く示唆するものである。また、MDVには血清型間に共通して保存されている特異的遺伝子が少なくとも5つ存在することが今回初めて明らかとなった。今後はこれらの遺伝子の機能とMDVに共通する特異的生物学的性状との関係についての研究が重要である。

以上本論文はMDVで最初に全塩基配列を明らかにしたもので、この基礎的研究成果は、今後のMDVの分子生物学的研究に大きく貢献するものであると考えられる。よって審査委員一同は、本論文が博士(獣医学)論文として価値あるものと認めた。