

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 大屋 智香

B ウイルスは、マカカ属サルを自然宿主とする ヘルペスウイルスであり、初感染後、脊髄知覚神経節において潜伏感染を起こす。再活性化されると、宿主はウイルスが潜伏している知覚神経節支配領域下の粘膜分泌液中に感染性ウイルスを排出する。自然宿主での B ウイルス感染は通常不顕性であるが、ヒトでは上行性脳脊髄炎により約 50%が死に至る。

B ウイルスは近縁のヘルペスウイルス（ヒト単純ヘルペスウイルス 1 型、2 型：HSV-1、-2）と免疫学的および遺伝子学的に高い類似性を持ち、その分離培養には P3 以上の施設が必要であることから B ウイルス感染の診断は困難であった。他方、自然宿主であるカニクイザルは生物医学研究に広く用いられているマカカ属サルである。これらのことから、本研究では B ウイルスに特異的な DNA 診断法を確立し、カニクイザルにおける B ウイルス感染について調べることを目的としている。本論文は以下の 3 章からなる。

第 1 章：PCR-microplate hybridization法によるBウイルスゲノムの特異的検出及び同定

B ウイルスゲノム US 領域内に設計した A～F 領域のプライマーを用い B ウイルス、HSV-1、-2、ヒトおよびサルサイトメガロウイルス株 DNA について PCR を行った結果 A、C および E 領域プライマーセットで、B ウイルス DNA が特異的に増幅された。B ウイルス分離株および B ウイルス抗体陽性カニクイザル三叉神経節（TG）抽出 DNA の PCR 増幅産物が、プローブを用いた microplate hybridization 法により B ウイルス DNA であると同定された。以上から、B ウイルスの検出・同定に、PMH 法が有用であることが示された。

第 2 章：カニクイザルTGにおけるBウイルス感染

TG に B ウイルスを保有するサルは、ウイルスの再活性化により唾液中に感染性ウイルスを排出する危険性を持ち、ヒトへの主要な感染源となることから、抗体陽性カニクイザル TG における B ウイルスの保有状況およびその動態を検索した。

第 1 節 カニクイザル左右TGにおけるBウイルスゲノムの不均等な分布：PMH法により、

Bウイルス抗体陽性カニクイザルの左右TGにおけるBウイルス保有状況を調べた。Bウイルスゲノムは30頭中12頭(40%)のTGから検出された。12頭中5頭において両側TGから、また7頭では片側TGのみからBウイルスゲノムが検出された。本結果から、抗体陽性カニクイザルがTGにBウイルスを保有する潜在的リスクは最大40%であり、ウイルスは片側あるいは両側TGに分布することが示唆された。

第2節 カニクイザルTGに潜伏感染しているBウイルスゲノムコピー数の定量:Bウイルスの再活性化を調べるために、20頭の抗体陽性カニクイザルの末梢血単核球(PBMC)からBウイルスゲノムの検出を試みた。さらに、定量PMH法によりカニクイザルTG中のBウイルスゲノムコピー数を定量した。20頭のカニクイザルにおいて、PBMCからBウイルスゲノムは検出されず、TGにおけるBウイルスゲノムコピー数は、 $10^{4.8} \sim 10^{6.6}$ コピー/TGであった。以上から、これらの抗体陽性カニクイザルにおいてBウイルスの再活性化は起こり得ておらず、 $10^{4.8} \sim 10^{6.6}$ コピー/TGの範囲でBウイルスが潜伏感染していることが示唆された。

第3章：カニクイザルTG由来Bウイルス検体の塩基配列解析

カニクイザルTG由来13検体のBウイルスについて、US5の大部分とその3'側非翻訳遺伝子間領域の塩基配列を解析した。同一個体の左右TG由来Bウイルス検体の塩基配列はそれぞれ同一であること、および13検体が互いに近縁であることが示された。さらに、カニクイザルTG由来検体および既報のマカカ属サル由来Bウイルス株の塩基配列に基づいた系統樹より、カニクイザルTG由来検体は、既報のアカゲザル、ブタオザルのBウイルス株と異なりカニクイザル由来株と同じ遺伝子型に分類された。しかし、カニクイザル由来Bウイルス間にも、TG由来検体と既報の株間には遺伝的距離があることが示された。以上の結果は、Bウイルス遺伝子型が宿主マカカ属サル種に関連するという、Smithらの報告(1998)を支持した。さらに、カニクイザル由来Bウイルス間に宿主個体群の地理的分離による遺伝的差異が存在する可能性が示唆された。

本論文は獣医公衆衛生上、ウイルスの分子疫学上、獣医学領域での貢献が多岐である。よって、審査委員一同、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。