

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 大嶋 貴寿

犬に感染するパルボウイルスとしては犬微小ウイルス(MVC)と犬パルボウイルス(CPV)2型の2種類が存在する。MVCは1967年に分離された最初の犬パルボウイルスで、4週齢以下の新生犬と胎子に病原性を示すが、ウイルス学的進化の詳細は不明である。これに対し、CPVは1978年頃に突如出現した出血性腸炎を主徴とする致死性感染症の原因ウイルスで、死亡率の高さから犬の臨床において重要な病原体である。CPVの起源は猫汎白血球減少症ウイルス(FPLV)ないしはその近縁種であると考えられているが、その種を超えた伝播の詳細は不明である。本論文では、これら2種の犬パルボウイルスのわが国における分子疫学および分子遺伝学的解析を行った。

第1章では、MVCの日本株と韓国株のゲノム構造解析を行い、既報のアメリカ株GA3との比較から、その進化を明らかにした。ゲノムには重なり合う3つのオープンリーディングフレーム(ORF)の存在が推定された。GA3株との塩基配列の相同性は96.4~98.5%であり、ORFの数、長さは全株で同一であった。分子系統樹解析により牛パルボウイルスとヒトパルボウイルスとの近縁関係が示されたが、その進化的距離は離れており、MVCは犬集団内で長期間独自の進化を続けてきたと考えられた。またMVC分離株5株の関係からMVCが地域内で独自に進化している可能性が考えられた。

第2章では、CPVの日本国内における進化を明らかにする目的でVP2遺伝子解析を行った。1980年から2006年に集めた55検体から得たDNAをPCR-RFLP解析および塩基配列決定に用いた。解析の結果、1983年以降、最初の抗原型である2型(CPV-2)は検出されず、1980年から1987年の検体にCPV-2の変異体であるCPV-2aとCPV-2bが検出された。1987年の検体からさらにVP2の297番目のアミノ酸が変異したnew CPV-2aが、1997年にはnew CPV-2bが検出され、2000年以降はnew CPV-2bのみであった。以上、国内においても海外と同様の抗原型、遺伝子型の置換があったことが確認され、同時に我が国における現在の流行株はnew CPV-2bであることが示された。海外で報告されている新しい抗原型であるCPV-2c(a)/(b)、Glu-426変異株は検出されなかった。しかし欧州や米国ではGlu-426変異株が流行していることから、今後も疫学調査の継続が必要であると考えられた。

また、ワクチンによって付与される抗体に対する最近の野外流行株の反応性をHI試験により比較した結果、初回ワクチン接種3週後の血清では、CPV-2ワクチンよりnew CPV-2bワクチン接種犬の方が野外株に対し高いHI抗体価を示し、両者の間には有意な差を認めた。これより最大のワクチン効果を与えるのは野外の抗原型と近い抗原型であると考えられた。

第3章ではCPV抗原型間での遺伝子組換えを明らかとし、さらにFPLV亜種であるCPVとFPLVの間で起きたと考えられる遺伝子組換えを検出した。この事実からCPVの進化における遺伝子組換えの意義について考察した。CPV感染を疑われた10頭の犬から、犬と猫の培養細胞によりウイルスを分離した。直前に生ワクチンの接種を受けていた犬から4株のCPV-2と2株の

CPV-2 類似株が分離された。それ以外は全て CPV-2b であった。2 株の CPV-2 類似株は抗原型別が不可能であったが、03-029/M は CPV-2 と CPV-2a の混合物、1887/f は CPV-2 と CPV-2b の組換え体であると考えられた。VP1 遺伝子解析の結果、03-029/M は CPV-2、CPV-2a、組換え体の混合物であり、1887/f は CPV-2 と CPV-2b の組換え体であった。培養細胞でウイルス分離を行うことにより、はじめて CPV の遺伝子組換えの証明がなされたことからウイルス分離の有用性が再認識された。

さらにデータベース解析から組換え体と考えられる配列を見出した。中国で報告されている XJ-1 株(登録番号: EF988660)は CPV と FPLV の組換え体と考えられ、そのゲノム構造は CPV 由来の NS1 と FPLV 由来の VP1 から成っていた。この発見から遺伝子組換えはこれまでの推定より高頻度に行われることが示唆され、FPLV 亜種の進化においても重要な要因であることが示唆された。今回の発見は種を超えたウイルス伝播の解明に重要な情報を提供し、パルボウイルス全般の今後の進化に遺伝子組換えが要因の一つである可能性を示したものである。

以上本論文は、犬パルボウイルスの進化の解明に寄与し、同ウイルス病の制御に道を開くもので、学術上、応用上貢献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)論文として価値あるものと認めた。