

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 伊藤 寿浩

トロウイルス属はコロナウイルス科に属する、エンベロープを有するプラス一本鎖 RNA ウィルスで、宿主別にヒト、牛、豚及び馬トロウイルスに分類され、このうちヒトと牛、馬のトロウイルスは腸炎との関わりが報告されている。しかしトロウイルス属のウィルスは、培養細胞を用いたウィルス分離が困難であることから、ウィルス性状の解析はコロナウイルス属に比べて遅れている。

本研究の対象である牛トロウイルス (Bovine torovirus、以下 BToV) は 1982 年にアメリカで発生した子牛の集団下痢の原因ウィルスとして同定された。BToV はウィルス分離が困難であるため、糞便からのウィルス検出による浸潤調査が進められており、これまでに欧米を中心に 7 カ国で BToV の検出報告がなされている。また、抗原性状との関わりが考えられるスパイク (S) 遺伝子を指標に BToV の野外検体間で相違が見られることから、抗原性状の多様性が示唆されているが、その検証は行われていない。一方、日本を含むアジア地域では BToV の広域な浸潤調査は行われておらず、その感染実態や欧米で検出された BToV との異同については不明である。そこで、申請者は国内での BToV の浸潤状況調査と遺伝学的多様性の検討を行った。また、その過程で得られた 4 株の細胞増殖性 BToV の血清学的交差性及び牛での病原性を調査するとともに、野外での血清疫学調査を行った。本研究は以下の 5 章より構成される。

第 1 章：糞便を用いた BToV の疫学調査

1 道 11 県より採取した牛の糞便 231 検体を用いて BToV の疫学調査を行った結果、1 道 3 県より得た 15 検体 (6.5%) から BToV 特異遺伝子が検出されたが、正常便由来のものが 1.6%であったのに対し、下痢便では 8.4%と高い検出率を示し、BToV 感染と下痢との疫学的関連が示唆された。S 遺伝子の塩基配列解析の結果から、国内の BToV は海外の BToV に類似する一方で、地域毎にある程度の差異が認められ、少なくとも 3 種類のクラスターに分類された。以上の結果から、日本国内で BToV は牛の下痢症の一因として広く浸潤し、また、地域毎に独自の分化が進んでいる可能性が示唆された。

第 2 章：鼻汁を用いた BToV の疫学調査

BToV は牛の消化器官だけでなく呼吸器官に対する病原性も予想されることから、1 道 15 県より採取した牛の鼻汁 311 検体を用いて BToV の疫学調査を行った。その結果、鼻汁 311 検体のうち呼吸器症状を示した若齢子牛 7 検体 (2.3%) から BToV 特異遺伝子が検出され、BToV の呼吸器疾病との疫学的な因果関係が示唆された。S 遺伝子の塩基配列解析の結果、鼻汁由来ウィルスと糞便由来ウィルスとの間に本質的な差異は認められなかった。

第 3 章：新規に分離した BToV 4 株のウィルス性状及び抗原性状と遺伝子性状との相関

BToV 特異遺伝子が検出された牛の下痢便を HRT-18 細胞に接種・継代することで 4 株の細胞増殖性 BToV の分離に成功した。分離ウィルス 4 株は S 遺伝子の特徴から、Gifu-2007 株を除い

て同一あるいは近縁のクラスターに位置づけられた。分離ウイルスについて血清学的交差性を調べた結果、Gifu-2007 株でのみ若干の抗原性の違いが認められた。以上の結果から、分離株間で少なくとも 2 種類の BToV 血清型が存在し、また、それは S 遺伝子の特徴と関わっている可能性が示された。

第 4 章: BToV 分離ウイルスを用いた感染試験

BToV 分離株を用いて牛での実験感染を行った結果、体温や元気、食欲に異常は認められなかったものの、軽度の消化器症状と呼吸器症状を呈し、糞便と鼻汁中へのウイルス排泄が観察された。以上の結果から BToV が消化器経路と呼吸器経路の双方へ感染性を有することが実験感染により確認された。

第 5 章: BToV の野外牛における血清疫学調査

1 道 16 県 48 農場より採取した牛のペア血清について、BToV 分離ウイルスを用いて抗体測定を行った。その結果、健康牛群の多くは時間経過とともに抗体価は低下したのに対し、疾病牛群の約半数では臨床症状観察後に抗体の上昇が確認され、特に呼吸器症状が見られた牛群でその程度は顕著であった。以上の結果から、BToV は牛の疾病に関わる一因子として広く浸潤していることが、血清疫学的に示された。

BToV が初めて分離報告されたのは 2007 年で、牛の下痢症に関わる病原体として認識されたのはごく最近であり、本ウイルスの感染と病原性等については検討すべき課題が多く残されている。本研究は、今後重要性を増すであろう BToV の疫学研究と防除対策確立の一助となると考えられる。

以上本論文は、牛の呼吸器病および消化器病における病原因子としての BToV について詳細な研究を行い、従来困難であったウイルス分離に成功し、日本における浸潤状況を明らかとしたものであって、学術上、応用上貢献することが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（獣医学）論文として価値のあるものと認めた。