

日本における家畜の下痢原因コロナウイルス に関する研究

(Studies on coronaviruses causing enteric infections in
domestic animals in Japan)

学位論文の内容の要旨

日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科
獣医学専攻博士課程平成25年入学

Md. Taimur Islam
(指導教授：高橋公正)

要旨

コロナウイルスは家畜に多様な病気を引き起こし、その中のいくつかの疾病は家畜産業や畜産経済の脅威となっている。本邦では2013年に、それまで7年間発生を見なかった豚流行性下痢（PED）の大流行が勃発し、多くの子豚が感染し、その致死率は極めて高かった。一方、牛トロウイルス（BToV）は、子牛に軽度から中程度の下痢を引き起こす。下痢便から分離された BToV は、完全長の血球凝集素-エステラーゼ（HE）遺伝子を有するが、培養細胞で数代継代すると HE 遺伝子内に終止コドンができ、完全長の HE 蛋白は作られなくなる。本研究では、新しく分離された PED ウイルス（PEDV）の遺伝学的、抗原的特徴に関して明らかにした。更に、BToV の HE 蛋白の生物学的活性についても解析を行った。

日本では殆どの母豚は PED ワクチン接種を受けている。そのような状況下での2013年の日本における PED 大流行の発生機構について検証するため、発症子豚の小腸から PEDV 2 株を分離し遺伝子解析したところ、これら2株は日本のワクチン株（グループ1）より2013年にアメリカで分離された株（グループ2）と近縁であることが判明した。そこで、分離2株と日本ワクチン株の抗原性を幾つかの PED 発生農場の豚血清を用いて、中和試験により比較検討したところ、これらのウイルス間には抗原的に有意差は見られなかった。これまで、多くの豚の感染血清を使用して、グループ1と2間における高い相同性を示した報告はない。これらの結果から、日本における PED の大流行は

ワクチンが功を奏さなかったというより、流行した新しい PEDV の極めて高い病原性に依ることが考えられた。

子牛の下痢原因ウイルスである BToV は、感染牛の糞便からの分離時には HE 蛋白をエンベロープ上に有するが、培養細胞で数代継代することによりウイルス粒子から消失する。このことは、HE 蛋白は動物体内での増殖や病原性に重要であるが、培養細胞における増殖には必須ではないことを示している。本研究では、HE 蛋白の生物活性を明らかにするために研究を行った。HE を有する (HE+) Nig-3 株を HRT-18 細胞を用いて分離し、更に HE (+) の Nig-3-3 と HE を持たない (HE-) Nig-3-8 株をクローニングし、これらのウイルスの培養細胞での増殖を比較したところ、Nig-3-8 株が Nig-3-3 株と比べ優位に高い増殖性を示した。このことは、HE 蛋白が培養細胞での増殖に抑制的に働く可能性を示している。更に、インターフェロン (IFN) - α は (HE+) Nig-3-3 株の増殖抑制はしないが、(HE-) Nig-3-8 株増殖を抑制すること、また、IFN- β にはこの作用がないことが明らかとなった。このことは、HE 蛋白は IFN- α に対して拮抗的に働くことを示している。以上のことから、HE 蛋白は自然免疫 IFN の拮抗因子として、BToV 感染の発症機構に関して大きな役割を果たしていることが示唆された。