

論文審査の結果の要旨

申請者名 西根 薫

牛ウイルス性下痢ウイルス (bovine viral diarrhea virus: BVDV) は、フラビウイルス科ペスチウイルスに分類される一本鎖+鎖 RNA ウイルスであり、世界的に広くまん延する牛ウイルス性下痢・粘膜病の病原体として知られる。本感染症には、軽症から重症まで様々な症状を示す急性感染や、致死的な粘膜病を予後とする持続感染がある。一方、BVDV は非細胞病原性 (noncytopathogenic: NCP) と細胞病原性 (cytopathogenic: CP) の 2 つの生物型に大別され、持続感染や粘膜病などの病態と一定の関連性があることが判明している。また、NCP は更に 2 種のウイルス (準種) に細分され、Exaltation of Newcastle disease virus (END) 現象を示す END⁺ウイルスと END 現象を示さず異種ウイルス干渉を示す END⁻ウイルスが知られる。しかし、これらウイルス準種の調査はほとんど実施されておらず、野外における実態は不明である。従って、ウイルス準種の野外分布や動態が明らかになれば、BVDV が多様な病態を示すプロセスが理解されるばかりでなく、本病の早期診断につながる重要な知見になると考えられる。

そこで、本研究は特にウイルス準種に焦点をあて、野外流行、培養細胞継代および牛体内における分布と動態についてウイルス学的に解析している。各章の要約は次のとおりである。

第 1 章では、都道府県 A で分離された野外流行 39 株に含まれる END⁺、END⁻及び CP ウイルスのそれぞれを検出定量し、当該ウイルスが野外に広く分布している可能性が高いことを示唆した。さらに、都道府県 B の野外流行 45 株を追加した合計 84 株におけるウイルス準種の株内構成について都道府県間及び都道府県内地域間で解析し、野外流行株におけるウイルス準種の分布と構成に地域差があることを示した。

第 2 章では、野外流行ウイルスを分離した際の培養細胞継代歴 1 代が明らかな野外流行 4 株 (NCP 株) を培養細胞で 20 代まで継代し、各継代時におけるウイルス準種構成の変動について解析した。培養直後から END⁺及び END⁻ウイルスが共に検出されことから、それらが既に牛体内に存在している可能性が高いことを示した。また、培養継代数が少なければウイルス準種構成は大きく変動しないことを明らかにし、第 1 章で得られた野外流行株の調査結果が体内分布と現している可能性を支持した。一方で、培養継代 10 代を超えるような野外流行株の長期継代では継代当初のウイルス準種構成が変化し、END⁺ウイルスが優勢になって安定することを示した。

第3章では、野外で BVDV 検査により摘発された未発症の持続感染牛の血清 26 検体を用いて END⁺、END⁻及び CP ウイルスの直接検出を試み、各ウイルス準種、特に END⁻ウイルスが既に体内に様々な割合で存在していることを直接証明した。また、END 現象や異種ウイルス干渉などの生物現象を応用した既存の BVDV 検出法では検出することが困難なウイルス株を 3 株発見し、新たな生物型のウイルスの存在の可能性、あるいはウイルス準種間の生物現象の相殺が存在することを示した。

第4章では、持続感染牛の経過血清を用いて、同一個体におけるウイルス準種構成の変動を連続的に解析し、個体によって各ウイルス準種の動態が大きく異なること、長期生存個体では END⁻ウイルスが優勢になることを明らかにした。また、経過血清中に含まれる BVDV について、END 現象又は異種ウイルス干渉に関与するウイルス蛋白 N^{pro}の遺伝子を、次世代シーケンサーを用いて解析し、136 番目のアミノ酸が END⁻ウイルスにみられるアミノ酸（アスパラギン）に置換したウイルス準種の割合が月齢とともに増加していることを示した。

以上のように、本論文は、牛ウイルス性下痢ウイルスのウイルス準種、特に END⁻ウイルスが野外に広く分布していることを初めて報告するとともに、野外におけるウイルス準種の分布の多様性、*In vitro*におけるウイルス準種の動態、持続感染牛体内におけるウイルス準種の存在と動態を解析したことにより、BVDV 感染症の多様な病態を理解する上で極めて重要な情報と新しい視点を提供するものである。また、BVDV 検査法の選択や改良の動機となる有用な情報を含み、動物保健衛生においても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（獣医保健看護学）の学位論文として十分な価値を有するものと認め、合格と判定した。