

学 位 論 文 要 旨

氏名 渡部 伸也

題 目 : Genetic Diversity in Feline Leukemia Virus (FeLV) *env* Gene
(猫白血病ウイルス (FeLV) の *env* 遺伝子における遺伝的多様性)

論文要旨 :

猫白血病ウイルス (FeLV) は、感染した猫にリンパ腫、白血病をはじめとした腫瘍性疾患と同時に、貧血や免疫不全などの退行性疾患を引き起こすガンマレトロウイルスである。多様な疾患を規定する因子として、ウイルスゲノムの両端に存在する非コード領域 Long terminal repeat (LTR) 及び、ウイルスのエンベロープ蛋白をコードする *env* 遺伝子が注目されてきた。特に *env* 遺伝子は、僅かな変異や内在性 FeLV (enFeLV) と呼ばれる猫のゲノム上の配列との組み換えによって、用いるウイルス受容体が変化することが知られており、受容体の用い方及びウイルス干渉試験によって A, B, C, AC, T などのサブグループとして分類され、多様な疾患との関連が示唆されてきた。しかし、FeLV は他のレトロウイルス科ウイルスに比べると変異が遅く、遺伝的多様性に乏しいと考えられてきた。

第 1 章では日本全国規模の疫学調査を行い、国内に流行する FeLV の *env* 遺伝子領域の遺伝的多様性を解析したところ、FeLV は遺伝子一部の欠失・挿入の他、enFeLV との高頻度な組み換えなどの遺伝子構造的な変異により、様々な変異株が感染猫の体内で生じていることが示された。また、構造的な変異を除外した場合においても、日本に流行する FeLV が欧米の FeLV とは系統学的に大きく異なっており、遺伝子型 I~III (GI~GIII) に分類されることが明らかとなった。さらに、日本において優位に流行している GI はクレード 1~7 (GI/1~GI/7) に細分類され、それぞれが地理的に局在し、日本国内においても各地域で流行株が異なることが示された。ウイルス干渉試験を用いた解析では、欧米において報告されてきたのと同様に、サブグループ A 及び B が優位に流行していたが、これまで自然界における存在が不明であったサブグループ T や、猫の内在性レトロウイルスである ERV-DC との遺伝子組み替えによって生じるサブグループ D が発見されるなど [Anai et al., 2012]、多様な変異によって新規の感染指向性を持ったウイルス株が生じていることも明らかとなった。

リンパ腫や多発性繊維肉腫などを発症した感染猫においては、宿主の癌関連遺伝子をウイルスゲノムに取り込んだ FeLV がこれまでも報告されており、transduction と呼ばれている。第 2 章において、多中心型リンパ腫及び高カルシウム血症を呈した猫の詳細な解析から、*env* 遺伝子領域に *Notch2* という遺伝子の配列の一部が組み込まれた FeLV (*Notch2*-FeLV) が発見された。*Notch2*-FeLV は *Notch2* の細胞内領域と、フレームシフトした FeLV Env 蛋

(別紙様式第 3 号)

白のごく一部と融合した蛋白質 (v-Notch2) をコードしていた。v-Notch2 は Notch2 の細胞外領域を欠損しており、リガンド非依存的に単独で下流の遺伝子の転写を活性化することがレポーターアッセイにより確認された。このことから v-Notch2 が当該症例のリンパ腫発症に大きく寄与したことが考えられる。さらに近年、RANKL-RANK 依存的な破骨細胞の分化及び骨代謝において、Notch2 が重要な役割を担っていることが報告されていることから [Fukushima et al., 2008]、v-Notch2 が高カルシウム血症の発症に関与した可能性も示唆された。

本研究において、著しく多様な FeLV 変異株及び、その遺伝的多様性の獲得機構や疾患発症との関連性が明らかとなった。これらの知見は、ウイルス生態の理解による感染症制圧戦略に寄与するだけでなく、個別の疾患発症における分子メカニズムの解明においても大きく寄与することが期待される。

(和文 2,000 字又は英文 800 語程度)

学位論文審査の結果の要旨

氏名	渡部 伸也
審査委員	主査：山口大学 准教授 西垣 一男
	副査：山口大学 教授 音井 威重
	副査：鹿児島大学 教授 遠藤 泰之
	副査：山口大学 教授 水野 拓也
	副査：山口大学 准教授 清水 隆
題目	Genetic Diversity in Feline Leukemia Virus (FeLV) <i>env</i> Gene (猫白血病ウイルス (FeLV) の <i>env</i> 遺伝子における遺伝的多様性)

審査結果の要旨：

猫白血病ウイルス (FeLV) は、感染した猫にリンパ腫、白血病をはじめとした腫瘍性疾患と同時に、貧血や免疫不全などの退行性疾患を引き起こすガンマレトロウイルスである。多様な疾患を規定する因子として、ウイルスゲノムの両端に存在する非コード領域 Long terminal repeat (LTR) 及び、ウイルスのエンベロップ蛋白をコードする *env* 遺伝子が注目されてきた。特に *env* 遺伝子は、僅かな変異や内在性 FeLV (enFeLV) と呼ばれる猫のゲノム上の配列との組み換えによって、用いるウイルス受容体が変化することが知られており、受容体の使い方及びウイルス干渉試験によって A, B, C, AC, T などのサブグループとして分類され、多様な疾患との関連が示唆されてきた。しかし、FeLV は他のレトロウイルス科ウイルスに比べると変異が遅く、遺伝的多様性に乏しいと考えられてきた。

第 1 章では日本全国規模の疫学調査を行い、国内に流行する FeLV の *env* 遺伝子領域の遺伝的多様性を解析したところ、FeLV は遺伝子一部の欠失・挿入の他、enFeLV との高頻度な組み換えなどの遺伝子構造的な変異により、様々な変異株が感染猫の体内で生じていることが示された。また、構造的な変異を除外した場合においても、日本に流行する FeLV が欧米の FeLV とは系統学的に大きく異なっており、遺伝子型 I~III (GI~GIII) に分類されることが明らかとなった。さらに、日本において優位に流行している GI はクレード 1~7 (GI/1~GI/7) に細分類され、それぞれが地理的に局在し、日本国内においても各地域で流行株が異なることが示された。ウイルス干渉試験を用いた解析では、欧米において報告されてきたのと同様に、サブグループ A 及び B が優位に流行していたが、これまで自然界における存在が不明であったサブグループ T や、猫の内在性レトロウイルスである ERV-DC との遺伝子組み換えによ

て生じるサブグループ D が発見されるなど [Anai et al., 2012]、多様な変異によって新規の感染指向性を持ったウイルス株が生じていることも明らかとなった。

リンパ腫や多発性繊維肉腫などを発症した感染猫においては、宿主の癌関連遺伝子をウイルスゲノムに取り込んだ FeLV がこれまでも報告されており、transduction と呼ばれている。第 2 章において、多中心型リンパ腫及び高カルシウム血症を呈した猫の詳細な解析から、env 遺伝子領域に *Notch2* という遺伝子の配列の一部が組み込まれた FeLV (*Notch2*-FeLV) が発見された。*Notch2*-FeLV は *Notch2* の細胞内領域と、フレームシフトした FeLV Env 蛋白のごく一部と融合した蛋白質 (v-Notch2) をコードしていた。v-Notch2 は *Notch2* の細胞外領域を欠損しており、リガンド非依存的に単独で下流の遺伝子の転写を活性化することがレポーターアッセイにより確認された。このことから v-Notch2 が当該症例のリンパ腫発症に大きく寄与したことが考えられる。さらに近年、RANKL-RANK 依存的な破骨細胞の分化及び骨代謝において、*Notch2* が重要な役割を担っていることが報告されていることから、v-Notch2 が高カルシウム血症の発症に関与した可能性も示唆された。

本研究において、著しく多様な FeLV 変異株及び、その遺伝的多様性の獲得機構や疾患発症との関連性が明らかとなった。これらの知見は、ウイルス生態の理解による感染症制圧戦略に寄与するだけでなく、個別の疾患発症における分子メカニズムの解明においても大きく寄与することが期待される。

以上により、本論文は博士 (獣医学) の学位論文として十分な価値があり、優秀であることを認める。