

学 位 論 文 要 旨

氏名 山本 英次

題 目 : Molecular and epidemiological studies on avian viruses originated from wild and free-ranging birds in western Japan
(西日本における野生および半野生鳥類由来ウイルスの分子疫学的研究)

論文要旨 :

渡り鳥を含む野生鳥類がある種の鳥由来病原ウイルスの拡散伝播に重要な役割を果たしている可能性は以前から指摘されている。特に鳥インフルエンザウイルスにとっては、野生水禽類が自然宿主であり、ウイルスの家禽への流行伝播に関わっていることはよく知られている。しかしながら、鳥インフルエンザウイルス以外の鳥由来病原ウイルスの野生鳥類における生態はほとんど明らかとなっておらず、野生鳥類を対象とした広範囲な疫学調査も未だ十分には行われていない。鳥由来病原ウイルスの拡散や維持に野鳥が如何に関わっているのかを明らかにすることは当該ウイルスが野鳥から家禽に伝播する要因を理解し、それを防疫対策に役立てる上で極めて重要と考えられる。

そこで本研究では西日本において、野生および半野生（放し飼い）鳥類を対象とした疫学調査を実施し、そこで分離・検出された鳥パラミクソウイルス、ハトサーコウイルスおよび鳥レオウイルスについて、ウイルス学的、血清学および遺伝学的解析を実施した。

第 1 章では、野生のガンの糞便から分離された鳥パラミクソウイルス (APMV/Shimane67 株) の生物学的、血清学的及び遺伝学的性状を解析した結果、APMV/Shimane67 株は電子顕微鏡下で、典型的なパラミクソウイルスの粒子形態を持つことが確認された。また、赤血球凝集阻止試験において、本ウイルス株は他のいずれの鳥パラミクソウイルスとも交差反応性が低いことが明らかとなった。本ウイルス株の F 遺伝子は 1,638 塩基からなり、545 アミノ酸からなる F 蛋白をコードしていた。また、その F 蛋白の開裂部位には一对の塩基性アミノ酸が存在する典型的な弱毒型の配列 (VRENRL) が認められた。F 蛋白遺伝子の塩基配列およびそこから推定されるアミノ酸配列は他の鳥パラミクソウイルスのそれらと比較的低い相同性 (それぞれ 42.9-62.7% および

(別紙様式第 3 号)

28.9-67.3%) を示した。さらに、F 遺伝子の進化系統樹解析において本ウイルス株は NDV、鳥パラミクソウイルス 9 型および 12 型と比較的近縁であったが、異なる系統に属することが明らかとなった。これらの成績からわが国で野生のガンの糞便から分離された鳥パラミクソウイルス APMV/Shimane67 株は新たな血清型 (13 型) である可能性が示唆された。

第 2 章では、APMV/Shimane67 株の遺伝子性状をさらに詳細に解析するため、当該ウイルス遺伝子の全塩基配列を決定した。その結果、APMV/Shimane67 株の全ゲノムは 16,146 塩基からなり、6 つの遺伝子が他の鳥パラミクソウイルス同様 3' -N-P-M-F-HN-L-5' の順で構成されていた。しかし、全ゲノムサイズおよび 6 つのウイルス蛋白遺伝子の推定アミノ酸残基数等は他の鳥パラミクソウイルスのそれらと異なっていた。全ゲノム配列情報に基づく進化系統樹解析においても、本ウイルス株と他の既存の血清型のウイルスとの遺伝的距離が同一血清型内の株間の遺伝的距離よりも長かったことから、本ウイルス株が新たな血清型に属する可能性を支持した。

次に第 3 章では、西日本において下痢症状を呈したレース鳩から検出されたハトサーコウイルス (PiCV/Japan/2/2010) の遺伝学的性状を解析した。その結果、本ウイルスのゲノムサイズは 2,041bp であり、海外で検出されている他のハトサーコウイルスと同様、V1, C1 および C2 の 3 つのオープンリーディングフレームを含んでいた。C1 遺伝子の進化系統樹解析結果は、本ウイルスがアジア地域における他のハトサーコウイルスと異なる系統に属することを示しており、アジアにおけるハトサーコウイルス株間の遺伝的多様性が示唆された。

さらに第 4 章では野生鳥類における鳥レオウイルスの生態を明らかにする目的で陸生野鳥を対象とした疫学調査を実施した。その結果、四国地域で採取された一見健康なスズメの糞便から、3 株の鳥レオウイルスが分離された。分離ウイルス株 S1 遺伝子の性状を解析した結果、ゲノムサイズは 1650bp であり、他のレオウイルス同様、p10, p17 および sigma C の 3 つのオープンリーディングフレームが含まれていた。これらの遺伝子について進化系統学的解析を行った結果、本ウイルスはフィンランドにおいて神経症状を呈したカラスから分離された株と最も近縁であり、他の既存の鳥レオウイルスとは明らかに異なるグループに属することが判明した。これらの成績から、スズメなどの養鶏場周辺に多く生息する陸生野鳥の間にも鳥レオウイルスが循環、維持されている可能性が考えられた。

(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	山本英次
審査委員	主査：鳥取大学 教授 伊藤 壽啓
	副査：山口大学 教授 前田 健
	副査：鳥取大学 教授 山口 剛士
	副査：鳥取大学 教授 村瀬 敏之
	副査：鳥取大学 准教授 伊藤 啓史
題目	Molecular and Epidemiological Studies on Avian Viruses Originated from Wild and Free-Ranging Birds in Western Japan (西日本における野生および半野生鳥類由来ウイルスの分子疫学的研究)
審査結果の要旨： <p>渡り鳥を含む野生鳥類がある種の鳥由来病原ウイルスの拡散伝播に重要な役割を果たしている可能性は以前から指摘されている。特に鳥インフルエンザウイルスにとっては、野生水禽類が自然宿主であり、ウイルスの家禽への流行伝播に関わっていることはよく知られている。しかしながら、鳥インフルエンザウイルス以外の鳥由来病原ウイルスの野生鳥類における生態はほとんど明らかとなっておらず、野生鳥類を対象とした広範囲な疫学調査も未だ十分には行われていない。鳥由来病原ウイルスの拡散や維持に野鳥が如何に関わっているのかを明らかにすることは当該ウイルスが野鳥から家禽に伝播する要因を理解し、それを防疫対策に役立てる上で極めて重要と考えられる。</p> <p>そこで本研究では西日本において、野生および半野生（放し飼い）鳥類を対象とした疫学調査を実施し、そこで分離・検出された鳥パラミクソウイルス、ハトサーコウイルスおよび鳥レオウイルスについて、ウイルス学的、血清学的および遺伝学的解析を実施した。</p> <p>第1章では、野生のガンの糞便から分離された鳥パラミクソウイルス（APMV/Shimane67 株）の生物学的、血清学的及び遺伝学的性状を解析した。その結果、APMV/Shimane67 株は電子顕微鏡下で、典型的なパラミクソウイルスの粒子形態を持つことが確認された。また、赤血球凝集阻止試験において、本株は他のいずれの鳥パラミクソウイルスとも交差反応性が低いことが明らかとなった。本株のF蛋白遺伝子の塩基配列およびそこから推定されるアミノ酸配列は他の</p>	

鳥パラミクソウイルスのそれらと比較的低い相同性(それぞれ 42.9-62.7% および 28.9-67.3%)を示した。また本株の F 蛋白開裂部位には一対の塩基性アミノ酸が存在する典型的な弱毒型の配列 (VRENR/L) が認められた。さらに、F 遺伝子の進化系統樹解析において本株は NDV、鳥パラミクソウイルス 9 型および 12 型と比較的近縁であったが、異なる系統に属することが明らかとなった。これらの成績からわが国で野生のガンの糞便から分離された鳥パラミクソウイルス APMV/Shimane67 株は新たな血清型 (13 型) である可能性が示唆された。

第 2 章では、APMV/Shimane67 株の遺伝子性状をさらに詳細に解析するため、当該ウイルス遺伝子の全塩基配列を決定した。その結果、APMV/Shimane67 株の全ゲノムは 16,146 塩基からなり、6 つの遺伝子が他の鳥パラミクソウイルス同様 3'、-N-P-M-F-HN-L-5' の順で構成されていた。しかし、全ゲノムサイズおよび 6 つのウイルス蛋白遺伝子の推定アミノ酸残基数等は他の鳥パラミクソウイルスのそれらと異なっていた。全ゲノム配列情報に基づく進化系統樹解析においても、本株と他の既存の血清型のウイルスとの遺伝的距離が同一血清型内の株間の遺伝的距離よりも長かったことから、本株が新たな血清型に属する可能性を支持した。

次に第 3 章では、西日本において下痢症状を呈したレース鳩から検出されたハトサーコウイルス (PiCV/Japan/2/2010) の遺伝学的性状を解析した。その結果、本ウイルスのゲノムサイズは 2,041bp であり、海外で検出されている他のハトサーコウイルスと同様、V1, C1 および C2 の 3 つのオープンリーディングフレームを含んでいた。C1 遺伝子の進化系統樹解析結果は、本ウイルスがアジア地域における他のハトサーコウイルスと異なる系統に属することを示しており、アジアにおけるハトサーコウイルス株間の遺伝的多様性が示唆された。

さらに第 4 章では野生鳥類における鳥レオウイルスの生態を明らかにする目的で陸生野鳥を対象とした疫学調査を実施した。その結果、四国地域で採取された一見健康なスズメの糞便から、3 株の鳥レオウイルスが分離された。分離ウイルス株 S1 遺伝子の性状を解析した結果、ゲノムサイズは 1650bp であり、他のレオウイルス同様、p10, p17 および sigma C の 3 つのオープンリーディングフレームが含まれていた。これらの遺伝子について進化系統学的解析を行った結果、本ウイルスはフィンランドにおいて神経症状を呈したカラスから分離された株と最も近縁であり、他の既存の鳥レオウイルスとは明らかに異なるグループに属することが判明した。これらの成績から、スズメなどの養鶏場周辺に多く生息する陸生野鳥の間にも鳥レオウイルスが循環、維持されている可能性が考えられた。

本研究によって得られたこれらの成績は鳥類由来病原ウイルスの生態を理解し、今後それらを原因とした家禽の感染症の予防防遏策を考えていく上で、極めて重要な情報を提供するものと考えられた。以上により、本論文は博士 (獣医学) の学位を受けるにふさわしいものと判断された。