

氏名	西 角 光 平
学位（専攻分野の名称）	博 士（畜産学）
学位記番号	甲 第 868 号
学位授与の日付	令和 4 年 3 月 21 日
学位論文題目	牛伝染性リンパ腫ウイルスの系統進化学的研究
論文審査委員	主査 教 授・博士（農芸化学） 多 田 耕太郎 教 授・博士（獣医学） 鳥 居 恭 司 准 教 授・博士（理学） 米 澤 隆 弘 准 教 授・博士（医学） 小 林 朋 子

論文内容の要旨

牛伝染性リンパ腫（EBL）は、牛伝染性リンパ腫ウイルス（BLV）の感染に起因する牛の疾病で、悪性腫瘍を主徴とする。発症した牛は、死亡または出荷不可による全部廃棄が適用されることから、畜産農家における経済的損失は極めて大きい。本疾病は 1871 年にドイツで初めて報告されて以降、急速に世界中へ拡大していった。日本では、1927 年の初報告からしばらくは局所的な発生が続いていたが、その後急速に日本各地に広がり、現在では約 40%の牛が BLV に感染している。パンデミック化の様相を呈している本疾病は、効果的なワクチンや治療法がないことから、今後さらなる被害拡大が予想される。感染症の急速な国際化は、畜産業だけでなく公衆衛生的にも大きな問題になると考えられる。感染症の流行に対策を講じる際、まず初めに「どんな病原体」が「いつから」どういった「経路」で感染を広げているのかを解明することが重要である。家畜感染症の原因ウイルスの地理的分布、拡散時期・経路、集団動態などの知見は、動物防疫や効果的な防除方法開発などの発展に貢献することが期待される。本研究では、BLV のゲノム情報を用いた系統進化学的アプローチにより、BLV の時間尺度と拡散経路を推定し、発生と拡散の歴史を明らかにした。

日本における流行初期の BLV 配列情報を得るために、1972 年から 2000 年の間に EBL と診断された牛の病理組織標本（FFPE 標本）28 検体から BLV ゲノムの増幅を試み、8 検体において *env*-gp51 全長配列を決定することができた。データベースに登録されている BLV *env*-gp51 領域 192 配列と合わせた 200 配列を用いて分子進化的に解析した。時間尺度（分岐年代）および拡散経路については、配列情報と疫学情報（そのウイルスの検体採取年および採取場所）を組み合わせて推定を試みた。分子系統解析の結果から、本ウイルスは 1-10 型の遺伝子型に分類され、世界的に流行している 1 型以外には地域特異性がみられた。BLV は約 200 年前に、共通の祖先と考えられる集団から分岐し、アジアおよび南米に分布する 6,10 型、ヨーロッパに分布する 4,7,8 型、そして、それらの少し後に世界的に流行し

ている1型とアジア・北南米の2,3,9型に広がっていることが明らかとなった。特に1型は1900年代初頭に出現し、1900年代中頃にアメリカから世界各国に拡散していることがわかった。1800年代は、ヨーロッパにおいて品種改良が活発に行われており、1900年代に入るとその中心はアメリカへと移った。第二次世界大戦後の1950年代以降には、牛の輸出入が活発化した。このことから、貿易や品種改良に伴う牛の移動により、BLVが世界中へ拡大していったことが示唆された。

FFPE 標本から得た配列を解析した結果、現在日本で流行しているBLVは1型で、1930年代から1980年代の間に国外から複数回持ち込まれたことが示唆され、アメリカおよび中南米と祖先を同じくすることがわかった。さらに、1970年代から日本のBLVにおける集団サイズが増加していたことから、この時期に牛の輸入に伴い国外からBLVが侵入し、日本中に広がったと思われる。実際に、1970年代以降には牛の生体輸入の自由化によりアメリカから牛の輸入数が増加しており、国外から家畜を導入することは、常に日本に感染症を蔓延させるリスクになると示唆された。

遺伝子型が地域特異性を示しており、BLVの流行や拡散経路における重要な情報をもつことが本研究で明らかとなった。近年、安価で迅速な遺伝子型判別方法として、PCR-RFLP法を用いたBLVの分子疫学的解析が行われているが、最近報告された7型-10型までは網羅されていない。本研究では、BLV遺伝子型1型から10型を対象とし、新規PCR-RFLP法による遺伝子型判別方法について検討した。まず、データベースに登録されているBLV *env*-gp51 領域(444bp)の配列を用いて、ML系統樹を推定した。それを基に、各遺伝子型について194種類の制限酵素による切断パターンを*in silico*で解析した。次に、遺伝子型判別に有効なものを数種類抽出し、遺伝子型判別のためのフローチャートを作成した。最後に、抗体陽性牛のDNAを用いて、*in vivo*で検証実験を行なった。その結果、遺伝子型判別に有効な制限酵素は7種類あり、10型全てを分類することができた(系統解析との一致率92%)。本方法は、塩基配列を決定する必要がなく、安価で迅速かつ正確性に優れているため、家畜保健衛生所などの現場において大規模なスクリーニングを実施することが可能である。また、BLVの流行動態や伝播経路を把握することに活用できる。

以上の結果から、本研究ではBLVの時間尺度と拡散経路を初めて明らかにした。また、BLVの流行と進化は、近代における畜産の発展や政治的・社会的背景と関連していることを明らかにした。感染症の国際化が進む中、病原体は宿主動物の移動とともに分布域を拡大させていくことから、防除対策としてサーベイランスの強化や防疫の重要性を示す。

審査報告概要

本研究では、系統進化的解析手法により、日本および世界的に流行している牛伝染性リンパ腫ウイルス（BLV）の分岐年代と拡散経路を明らかにした。感染症の原因となるウイルスは野生動物を起源としていることが多く、BLVの場合は東南アジアのゼブウシを起源としていることがわかった。また、系統地理学的解析からBLVは1800年代から宿主域を拡大させ、品種改良および貿易によって世界中へ拡散したと推定された。家畜が移動（輸出入）するということは、常に感染症を蔓延させるリスクになることを示した。さらに、褐毛和種はBLVに感染しても他の品種に比べて体内におけるウイルスの増殖を抑えることがわかり、BLV抵抗性MHCの保有率も高かったことから、BLV抵抗性集団であることが明らかとなった。以上より、家畜感染症の発生と拡散過程を理解する上で、非常に重要な知見となる研究であり、抵抗性機構の解明や抵抗性育種に貢献することが期待できると考えられた。よって、審査委員一同は博士（畜産学）の学位を授与する価値があると判断した。