

氏名（本（国）籍）	Samy Gomaa Ahmed Kasem（エジプト・アラブ共和国）
主指導教員名	岐阜大学 教授 福士 秀人
学位の種類	博士（獣医）
学位記番号	獣医博甲第317号
学位授与年月日	平成22年9月14日
学位授与の要件	学位規則第3条第1項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学位論文題目	Molecular Biological Studies on the Pathogenesis of Equine Herpesviruses (ウマヘルペスウイルスの病原性に関する分子生物学的 研究)
審査委員	主査 岐阜大学 教授 杉山 誠 副査 帯広畜産大学 教授 猪熊 壽 副査 岩手大学 教授 原澤 亮 副査 東京農工大学 教授 本多 英一 副査 岐阜大学 教授 福士 秀人

論文の内容の要旨

ウマヘルペスウイルス1型（EHV-1）感染症は、馬における流産および呼吸器疾患ならびに神経疾患を主徴とする感染症である。EHV-1は、神経疾患の原因ともなる。これら疾患は、世界中の馬産業に深刻な影響をあたえている。EHV-1の神経病原性に関する知見は乏しく、その分子機序に関しては不明の点が多い。本博士学位論文の4章よりなる。

第1章では、EHV-1 遺伝子産物の、ウイルス増殖および病原性への寄与について調べた。野生型 EHV-1 と ORF37 欠損変異株間では、培養細胞における増殖環に相違がないことが報告されていた。しかしながら、マウス神経細胞においては、Ab4pDORF37 株の増殖は他株（Ab4p, Ab4p attB, Ab4pDORF37R）と比較して10倍低下していた。ORF37 欠損は、近傍およびその他の遺伝子の転写には影響していなかった。Ab4pDORF37 株をマウスに接種したところ、神経症状、死亡、体重減少いずれの症状も示さなかった。すなわち本章では、EHV-1 の ORF37 が、EHV-1 の神経病原性に関与する因子の一つであることを示した。

第2章では、EHV-1 チミジンキナーゼの、ウイルス増殖および病原性への寄与について調べた。培養細胞における Ab4pDORF38 株の増殖曲線およびプラーク形態は、親株（Ab4p attB）やリバートント株と同様であった。一方、海馬由来マウス神経細胞および馬胎仔細胞における EHV-1 チミジンキナーゼ欠損株の増殖能は著しく減退していた。ORF38 の欠損は、ORF39 の転写に影響を与えなかったが、感染8時間後

における ORF37 の転写量は増加していた。Ab4pDORF38 株をマウスに接種したところ、神経症状、死亡、体重減少いずれの症状も示さなかった。すなわち、ORF38 は EHV-1 の神経病原性に重要な役割を担っていることが明らかとなった。

第 3 章では、EHV の分離および研究のために有用な新規細胞株の樹立を試みた。結果、馬ヘルペスウイルスの分離および増殖に使用可能な FEB 細胞を樹立した。FEB 細胞は、40 回までは分裂可能であった。

第 4 章では、米国の動物園においてアミメキリンから最近分離されたヘルペスウイルスについて解析した。分離されたウイルスは EHV-1 であった。解析の結果、キリンより分離されたウイルスは、EHV-1 のバリエーションの一種であり、馬ヘルペスウイルス 9 型 (EHV-9) の可能性が高いことを示した。分離したウイルスの、DNA polymerase (ORF30), glycoprotein B (ORF33), gp2 (ORF71) および D

(ORF72) の塩基配列は、EHV-1 よりも EHV-9 に近縁であった。すなわち、キリンから分離されたウイルスは、EHV-9 と同じ遺伝子群に属することが明らかとなった。

以上の結果から、ウマヘルペスウイルス 1 型の神経病原性に関与する遺伝子の同定をすることができた。これらの成果はウマヘルペスウイルス感染症の制御に有用な情報を提供すると考えられる。

審 査 結 果 の 要 旨

本学位論文はウマヘルペスウイルス 1 型 (EHV-1) の神経病原性発現に関与する遺伝子解析ならびにウマヘルペスウイルス 9 型 (EHV-9) の自然界における病原性を解析することにより、ウマヘルペスウイルスの神経病原性発現機構を研究したものである。

本論文は 4 章から構成されている。

第 1 章では、EHV-1 ORF37 遺伝子産物のウイルス増殖および病原性への寄与について調べた。野生型 EHV-1 と ORF37 欠損変異株間では、培養細胞における増殖は同様であった。マウス神経細胞における Ab4p Δ ORF37 株の増殖は他株 (Ab4p, Ab4p attB, Ab4p Δ ORF37R) と比較して 10 倍低下していた。ORF37 欠損は隣接する 2 遺伝子およびその他の遺伝子の転写には影響しなかった。Ab4p Δ ORF37 株をマウスに接種したところ、神経症状、死亡、体重減少いずれの症状も示さなかった。EHV-1 の ORF37 は EHV-1 の神経病原性因子の一つであることが示された。

第 2 章では、EHV-1 チミジンキナーゼ (TK) のウイルス増殖および病原性への寄与について調べた。上皮細胞における TK 欠損株 (Ab4p Δ ORF38) の増殖曲線およびプラーク形態は、親株 (Ab4p attB) や復帰株と同様であった。マウス神経細胞および馬胎仔神経由来細胞における Ab4p Δ ORF38 の増殖能は著しく減退していた。Ab4p Δ ORF38 をマウスに接種したところ、神経症状、死亡、体重減少いずれの症状も示さなかった。TK は EHV-1 の神経病原性に重要な役割を担っていることが明らかとなった。

第3章では、EHVの分離および研究のために有用な新規細胞株の樹立を試みた。ウマヘルペスウイルスの分離および増殖に使用可能なFEB細胞を樹立した。FEB細胞は、40回までは分裂可能であった。

第4章では、米国の動物園のアミメキリンから分離されたヘルペスウイルスについて解析した。分離されたウイルスはEHV-1であった。解析の結果、キリンより分離されたウイルスは、ウマヘルペスウイルス9型（EHV-9）と同じ遺伝子群に属することが明らかとなった。

以上、全4章の結果は、EHV-1 および 9 の神経病原性の解明に貢献すると考えられた。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Equine herpesvirus type 9 in giraffe with encephalitis
著 者 名 : Kasem, S., Yamada, S., Kiupel, M., Woodruff, M., Ohya, K.
and Fukushi, H.
学 術 雑 誌 名 : Emerging Infectious Diseases
巻・号・頁・発行年 : 14(12): 1948-1949, 2008
- 2) 題 目 : The ORF37 (UL24) is a neuropathogenicity determinant of
equine herpesvirus 1 (EHV-1) in the mouse encephalitis model
著 者 名 : Kasem, S., Yu, M., Yamada, S., Kodaira, A., Matsumura, T.,
Tsujimura, K., Madbouly, H., Yamaguchi, T., Ohya, K. and
Fukushi, H.
学 術 雑 誌 名 : Virology
巻・号・頁・発行年 : 400(2): 259-270, 2010