



# 岐阜大学機関リポジトリ

## Gifu University Institutional Repository

Title	Molecular Pathogenesis of Equine Herpesvirus Type 1 (EHV-1)( 内容の要旨(Summary) )
Author(s)	YASSER, MOHAMED ABDEL RAHAMAN GHANEM
Report No.(Doctoral Degree)	博士(獣医学) 甲第225号
Issue Date	2007-03-13
Type	博士論文
Version	
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/21408">http://hdl.handle.net/20.500.12099/21408</a>

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

氏名(国籍)	YASSER MOHAMED ABDEL RAHAMAN GHANEM (エジプト・アラブ共和国)		
学位の種類	博士(獣医)		
学位記番号	獣医博甲第225号		
学位授与年月日	平成19年3月13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 Pathogenesis of Equine Herpesvirus Type 1 (EHV-1) (ウマヘルペスウイルス1型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	福士秀人
	副査	帯広畜産大学 教授	猪熊 壽
	副査	岩手大学 教授	品川 隼 汎
	副査	東京農工大学 教授	本多 英 一
	副査	岐阜大学 教授	山田 章 雄

### 論文の内容の要旨

この学位論文はウマヘルペスウイルス1型 (EHV-1) の病原性に関して比較ウイルス学的な視点から責任遺伝子の同定を試みたものである。ウマヘルペスウイルス1型 (EHV-1) はアルファヘルペスウイルス亜科に属し、世界的にウマの主要な病原体となっている。EHV-1感染症は呼吸器疾患、流行性流産および神経疾患として知られる。EHV-1ゲノムは直鎖状2本鎖DNAである。イギリスの分離株、Ab4p、について全DNA配列が解読されている。ゲノムは150,223塩基対からなり、80翻訳可能領域 (ORF) を含んでいる。4つのORFが重複していることから少なくとも76遺伝子が含まれる。IR6、糖タンパク質 (g) B, gD, gM, gp2およびgE遺伝子がEHV-1の病原性に関与する遺伝子であるとして示唆されている。

EHV-1の病原性や毒力に関する研究はRacL11およびKentucky Dという2株を用いて行われてきた。これらの株がハムスターに引き起こす肝炎は病原性や毒力の指標のひとつとされている。しかしながら、以前の我々の研究室による報告では、日本のEHV-1分離株はハムスターの実験感染において脳炎を引き起こすが、肝炎は起こさなかったとされている。このように2つのモデル株と他の毒力株には矛盾が観察されている。

一方、EHV-1はアジアノロバ (*Equus hemionus onager*) 流産胎児およびシマウマ (*Equus grevyi*) 流産胎児から分離されている。また、急性神経疾患により志望したトムソンガゼル (*Gazella*

thomsoni) からもEHV-1が分離された。これらのEHV-1はタンクローン性抗体によりEHV-1であるとして同定されたが、DNA制限酵素切断像解析によりウマ由来EHV-1とは遺伝学的に異なることが示された。

本論文では、EHV-1の病原性および分子生物学的な特徴について以下の項目について研究した：ハムスターモデルにおいて肝炎を引き起こすRacL11およびKentucky D株と肝炎を起こさない日本分離株およびAb4p株との相違を制限酵素切断像多型解析 (RFLP) および数種類の糖タンパク質遺伝子およびテグメントタンパク質遺伝子塩基配列解析による同定 (第1章) ならびにウマ以外の動物 (アジアノロバ, シマウマおよびガゼル) 由来のEHV-1とウマ由来EHV-1の分子生物学的相違に関する検索 (第2章) である。

第1章においては、RacL11, Kentucky DおよびAb4pのハムスターにおける病原性を比較するとともにDNAゲノムの相違を制限酵素切断解析および糖タンパク質遺伝子gB, gDおよびgEならびにテグメントタンパク質遺伝子ORF11, ORF46, ORF51およびORF76の塩基配列を比較し、これらの遺伝子産物がRacL11およびKentucky D株における肝炎発現に関与している可能性を検索した。制限酵素切断像は8種類の制限酵素を用いて実施したが、各制限酵素切断点は検索したEHV-1いずれにおいても保存されており、病原性の相違との関係を見いだすことはできなかった。糖タンパク質遺伝子 (gB, gDおよびgE) ならびにテグメントタンパク質遺伝子 (ORF11, 46, 51および76) 塩基配列をRacL11, Kentucky D, 日本分離株97c5およびAb4p株について比較したところ、株に特異的な塩基の相違が見いだされたもののORF46をのぞき高い相同性がみられた。今回の解析ではRacL11およびKentucky D株が引き起こす肝炎に関与する遺伝子を同定することはできなかったが、gE遺伝子は検索したすべての株で同一の配列であったため、少なくともgEは関与していないことが示唆された。また、gBおよびgDが関与するとしてもRacL11およびKentucky Dが肝炎を引き起こす機構は必ずしも同一ではなく、また、複数の遺伝子が関与している可能性が示唆された。

第2章の目的はアジアノロバ, シマウマおよびガゼル分離EHV-1の遺伝学的関連性および分子生物学的特徴を糖タンパク質遺伝子およびテグメントタンパク質遺伝子の塩基配列解析により明らかにすることであった。PCR-RFLP解析によりアジアノロバ, シマウマおよびガゼル分離EHV-1は互いに関連していることが示された。これら3株に加え日本分離株の糖タンパク質gB, gIおよびgE遺伝子およびテグメントタンパク質ORF8, ORF15およびORF68遺伝子塩基配列を解読し系統発生的に比較した。日本分離株は検索した遺伝子においてORF68遺伝子をのぞき、Ab4pとほとんど同一であったが、アジアノロバ, シマウマおよびガゼル株の各遺伝子はAb4pと異なっていた。系統発生的にはアジアノロバおよびガゼル分離株は互いによく類似していたが、シマウマ分離株はこれら2株に近縁だが離れた位置にあることが示された。また、系統発生的にこれら3株はウマ由来株とは異なっていた。以上の結果からアジアノロバ, シマウマおよびガゼル由来株はEHV-1の亜型であることが示唆された。

EHV-1の病原性および毒力の相違はおそらく塩基置換, 塩基欠損および塩基挿入などヌクレオチドレベルの相違により生じており制限酵素切断点多型解析のような大局的な解析では検出できない可能性が示された。これらの解析にはゲノム塩基配列解析および網羅的なプロテオミクスが有効であると考えられた。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本論文は馬産業に多大な経済的被害を及ぼす原因の一つであるウマヘルペスウイルス1型 (EHV-1) および関連ウイルスの性状を分子生物学的およびウイルス学的に解明したものである。

第1章においては、標準的なEHV-1として研究されてきたRacL11, Kentucky DおよびAb4p株のハムスターにおける病原性を比較するとともにDNAゲノムの相違を制限酵素切断解析および糖タンパク質遺伝子ならびにテグメントタンパク質遺伝子の塩基配列を比較した。制限酵素切断像は8種類の制限酵素を用いて実施したが、各制限酵素切断点は検索したEHV-1いずれにおいても保存されており、病原性の相違との関係を見いだすことはできなかった。糖タンパク質遺伝子ならびにテグメントタンパク質遺伝子塩基配列に株間で高い相同性がみられた。今回の解析ではRacL11およびKentucky D株が引き起こす肝炎に関与する遺伝子を同定することはできなかったが、複数の遺伝子が関与している可能性を示唆した。

第2章の目的はアジアノロバ, シマウマおよびガゼル分離EHV-1の遺伝学的関連性および分子生物学的特徴を糖タンパク質遺伝子およびテグメントタンパク質遺伝子の塩基配列解析により明らかにすることであった。PCR-RFLP解析によりアジアノロバ, シマウマおよびガゼル分離EHV-1は互いに関連していることが示された。糖タンパク質gB, gIおよびgE遺伝子およびテグメントタンパク質ORF8, ORF15およびORF68遺伝子塩基配列を解読し系統発生的に比較したところ, アジアノロバおよびガゼル分離株は互いによく類似していたが, シマウマ分離株はこれら2株に近縁だが離れた位置にあることが示された。また, 系統発生的にこれら3株はウマ由来株とは異なっていた。以上の結果からアジアノロバ, シマウマおよびガゼル由来株はEHV-1の亜型であることが示唆された。

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： Molecular characterization of the equine herpesvirus 1 strains RacL11 and Kentucky D  
著 者 名： Ghanem, Y. M., Ibrahim, E. S. M., Yamada, S., Matsumura, T., Osterrieder, N., Yamaguchi, T., and Fukushi, H.  
学術雑誌名： Journal of Veterinary Medical Science  
巻・号・頁・発行年： (印刷中), 2007