

学 位 論 文 要 旨

氏名 Md Abul Hashem

題 目 : Characterization of koala retrovirus impact on koala health in
Japanese Zoos

(日本の動物園コアラにおけるレトロウイルス感染の影響に関する研究)

論文要旨 :

コアラレトロウイルス(Koala retrovirus; KoRV)は、野生並びに飼育下のコアラにとって脅威となっている。KoRV は、内在性(KoRV-A 型)もしくは外来性(KoRV-B[~]J, K 型)の形式で感染し、コアラのリンパ腫や癌、免疫抑制と関連すると考えられている。本研究では、KoRV 感染の性状を解析し、日本の動物園コアラの健康に及ぼす影響を明らかにする事を主な目的としている。

始めに、KoRV の主なサブタイプとして KoRV-A 型と B 型があるが、このうち KoRV-B 型は、病気との関連があり、コアラの健康に脅威となっている。そこで私は、KoRV-A 型と B 型の共感染の可能性をサブタイプ特異的な PCR とシーケンスで解析し、日本の 3 動物園のコアラにおける状況を検討した。また、コアラの末梢血リンパ球のゲノム中に組み込まれているプロウイルスの量も測定し、その組み込み量が一定ではないことを明らかにした。さらに、全ての動物園コアラが KoRV-A 型に感染しており、B 型には 6 割程度が共感染している事も明らかにした。KoRV-A 型の遺伝子配列は高度に保存しているが、B 型は個体によって変異がより多く入っていた。興味ふかい事に、子供のコアラの 1 例に父親の KoRV-B 型と良く似た遺伝子配列の KoRV-B が見つかった。一方、コアラの末梢血リンパ球(PBMC)をコンカナバリン A と培養し、細胞ゲノムや上清中ウイルス量の経時的な変化も解析した。KoRV はツパイ細胞にも感染したことから、ツパイを用いた KoRV 感染動物モデルの作成が可能であると考えられた。

次に、日本の動物園コアラにおいて KoRV の単数もしくは複数のサブタイプが共感染した場合にどのような影響を及ぼすかを検討した。解析した 6 頭のコアラは全て KoRV-A 型に感染しており、このうち、KoRV-B, C 型と共感染していた 1 例は末梢血リンパ球における KoRV-RNA 量とウイルス量が最も高かった。KoRV-A と B 型に感染した個体では、ゲノム中のプロウイルス量は最も高かったが、PBMC や血漿中の KoRV-RNA 量は最も低かった。これらの PBMC を培養して調べたところ、培養後 7 日~14 日目に細胞や培養上清に KoRV-RNA が検出された。複数の KoRV サブタイプに感染したコアラは KoRV-A 型のみに感染したコアラよりも白血球数が多く、その後リンパ腫で死亡した。このことから、複数の KoRV サブタイプに感染するとより病気になりやすいと考えられた。シーケンス解析より、KoRV-A 型は保存しているが、KoRV-B や C のエンベロープ遺伝子はより変異が多くみられる事も明らかとなった。

さらに、日本全国の動物園（合計7動物園）におけるコアラでの KoRV 感染の状況について、血液検査をして解析を行った。日本の動物園で飼育されているコアラのうち、37 頭について解析を行った。また、KoRV の検出は、pol, LTR, env 遺伝子領域で実施した。その結果全てのコアラが KoRV-A 型を持っており、このうち 91.89%が pol 遺伝子 RNA を持っていた。一方で、ゲノム DNA 中の env 遺伝子でサブタイプを決定したところ、KoRV-B, C, D, F 型はそれぞれ 94.59, 27.03, 67.57, 54.05%であった。7つの動物園のうち、淡路イングランドの丘動物園のコアラだけ、プロウイルス DNA 量($p < 0.0001$)や RNA 量($p < 0.001$)が他の動物園に比べて有意に少なく、KoRV が外来性に感染している可能性を示唆していた。これは、おそらく他の動物園のコアラがオーストラリア北部のクイーンズランド州から由来しているのに対し、淡路のコアラはオーストラリア南部から導入された為と考えられた。また、KoRV RNA 量($p < 0.05$)や total RNA 量($p < 0.001$)はより若い個体（幼獣）で有意に多い事も明らかとなった。

最後に、KoRV の感染様式を調べた。死亡した子供のコアラ（生後半年、♂）を調べたところ、子供は KoRV-A と C 型が陽性で B 型は陰性であったが、両親は A, B, C 型共に陽性であった。また、子供の KoRV の配列は父親のものにより相同性が見られた。また、KoRV-A や C 型が子供の臓器でどの様に分布しているかも解析した。子供コアラにおける KoRV-C 型のウイルス量は両親よりも多かった。

以上の解析から、本研究により日本で飼育されるコアラにおける KoRV と病原性との関連への理解が進み、将来の研究につながる事が期待される。