

臨床分離株を活用した牛呼吸器病症候群 (BRDC) 原因ウイルスの病原因子解析

(国研)農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門動物感染症研究領域・主任研究員 安藤 清彦

■ 目的

牛の呼吸器病症候群(Bovine respiratory disease complex: BRDC)は、子牛において病傷事故原因の大きな割合を占める疾患であり、その制御は牛産業界における大きな課題の一つである。BRDCによる被害を軽減するためには、野外に流行するウイルスの性状解析を通じてその病態機構を明らかにするとともに、より有効なワクチン開発に向けた基盤的知見を蓄積する必要がある。

本研究では、BRDC原因ウイルスの一つである牛パラインフルエンザウイルス3型(BPIV3)の病態にかかわる分子基盤解明を目的として、当研究室でこれまでに収集したBPIV3臨床分離株を用いて、培養細胞におけるウイルスの増殖性や発現変動遺伝子の解析、ウイルスゲノムの変異解析を行った。

■ 方法

当研究室で過去に収集したBPIV3臨床分離株のうち、分離年度と遺伝子型に偏りなく7株を選抜し、multiplicity of infection(MOI)0.001又は1.0でMDBKに接種してウイルスの増殖性を解析した。また、ウイルス感染細胞のRNA-seqデータを取得し、トランスクリプトーム解析により発現変動遺伝子の解析を実施するとともに、インターフェロン(IFN)応答遺伝子である*ISG15*、*OAS1*、*Mx1*のmRNA発現量をリアルタイムPCRで測定した。さらに、トランスクリプトーム解析に用いたRNA-seqデータを活用してウイルス全ゲノム情報を取得し、特殊な表現型を示した株に特有のアミノ酸変異部位を探索した。

■ 結果および考察

培養細胞における増殖性を比較した結果、7株中1株が極めて低い増殖性を示すことが明らかとなった。トランスクリプトーム解析の結果、この低増殖性株に感染した細胞は自然免疫やアポトーシス誘導にかかわる遺伝子が強く誘導されていることが示唆された。リアルタイムPCRによる遺伝子発現解析においても、低増殖性株感染細胞はIFN応答遺伝子である*ISG15*、*OAS1*、*Mx1*のmRNAが高発現していることが確認された。ウイルスゲノム解析の結果、この特殊な表現型を示した株に特徴的なアミノ酸変異部位がN遺伝子に2カ所、P遺伝子に2カ所、HN遺伝子に6カ所、L遺伝子に3カ所見出された。培養細胞における増殖性や自然免疫及びアポトーシス誘導能は、感染個体における病態発現や組織障害性を反映している可能性があるため、これらのアミノ酸変異のいずれかが遺伝子機能に影響を与え、BPIV3の病態に関与している可能性が示唆された。今後は、見出されたアミノ酸変異が各遺伝子の機能に与える影響を分子生物学的に解析し、BPIV3の病態にかかわる分子基盤解明に向けた検討を継続する予定である。

■ 結語

本研究により、野外で流行しているBPIV3の中には感染細胞において自然免疫やアポトーシスを強く誘導する特殊な株が存在することが明らかとなり、これらの表現型を規定するウイルス遺伝子及び変異部位に関する知見が得られた。