

令和 2 年 7 月 3 日現在

機関番号：30110

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K08060

研究課題名(和文) 地方病性牛白血病制御のための開発研究～予後診断法の改良とワクチン開発～

研究課題名(英文) Developmental study for the control of enzootic bovine leukosis~Improvement of prognosis method and development of vaccine~

研究代表者

岡崎 克則 (OKAZAKI, Katsunori)

北海道医療大学・薬学部・教授

研究者番号：90160663

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：地方病性牛白血病の病因である牛白血病ウイルスのTax蛋白質223番アミノ酸がProである晩発(P)型ウイルス感染牛と同アミノ酸がLeuであるL型ウイルス感染牛では、血中ウイルスコピー数に有意差はなかったが、後者では生後間もなくに高値を示す個体が認められた。感染拡大及び発症を制御するため、これらの優先的な淘汰が重要である。Tax発現細胞が血管内皮誘引因子アネキシンA3を大量に産生することを示し、これに対する単クローン性抗体を作出した。新たな予後診断法として、これらを用いたサンドイッチELISAを確立した。ワクチンシーズを得るため、P型ウイルスの感染性クローンを樹立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、国内の地方病性牛白血病症例数は急増している。経済的損失が大きく、その制御が急務であるが、原因ウイルス感染後の発症メカニズムは未解明である。本研究では、TaxによるアネキシンA3の産生誘導が白血病の発症に重要な役割を果たすことを示した。また、血中アネキシンA3濃度の測定を可能にするサンドイッチELISAは予後診断法として極めて有用である。L型ウイルス感染高コピー牛の優先淘汰によってEBL防除のみならず感染拡大が抑制される。さらに、P型ウイルスを基礎とする生ワクチンは、少なくともEBLの発症を遅延させることが期待できるため、経済損失の回避には有用と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Bovine leukemia virus is a causative agent of enzootic bovine leukosis (EBL). Cattle infected with the virus carrying Tax with Pro at aa233 (P-type virus) has prolonged incubation time for developing tumors, comparing to the animal infected with the virus carrying Leu (L-type virus). In this study, no difference of provirus load in blood was observed between the animals infected with P-type virus and those with L-type virus. However, some of the latter exhibited extremely higher load in neonatal period, suggesting that they should develop tumors. In order to control EBL, it is important to preferentially slaughter such animals. Tax-expressing cells were found to produce annexin A3, which attracts vascular endothelial cells. Monoclonal antibodies against bovine annexin A3 were prepared to be used in prognosis for the virus-infected animals. We also prepared infectious clones of P-type virus to provide novel vaccine seeds.

研究分野：ウイルス学

キーワード：地方病性牛白血病 牛白血病ウイルス Tax蛋白質 アネキシンA3 予後診断 ワクチン

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 家畜の届出伝染病である牛白血病は牛白血病ウイルス(BLV)を病因とする地方病型(EBL)と原因不明の散発型に大別されるが、その大部分は EBL が占める。ウイルス感染牛の多くは無症状であり、約 3 割がリンパ球増多症を呈する。さらに、感染牛全体の 2-3%が 5-7 歳をピークとして B 細胞性の白血病を発症し、諸臓器にリンパ肉腫を形成する。日本の症例の現状は 7 割近くが食肉検査時の摘発例であり、この場合は全廃棄処分となるため経済的な被害が大きい。

(2) EBL に対する有効なワクチンは存在しないが、デンマーク、ドイツなどのヨーロッパ諸国では、抗体調査に基づく感染牛の摘発・淘汰によって BLV の清浄化に成功した。一方、我が国における牛白血病の報告数は平成 10 年の 96 頭から平成 27 年の 2869 頭と急激に増加していた。さらに、平成 21-23 年度に実施された全国調査の結果、抗体陽性率は 6 ヶ月齢以上の乳用牛で 40.9%、肉用繁殖牛で 28.7%を示し、BLV が国内にまん延していることが明らかとなっている。そのため、ウイルス感染牛の淘汰による BLV の清浄化は困難になりつつあり、新たな対策の構築が急務となっていた。

(3) 平成 24-27 年度の科学研究費補助金事業によって、①BLV はウイルス転写活性化因子である Tax の 233 番アミノ酸によって L 型と P 型に大別されること、②P 型ウイルス感染牛の EBL 発症月齢は L 型ウイルスのそれに比べ有意に高いこと、③L 型 Tax を発現するラット線維芽細胞は P 型 Tax 発現細胞に比べヌードマウス皮下に有意に大きな腫瘍を形成することを示した。

2. 研究の目的

(1) BLV による白血病発症機構を明らかにする。

(2) 食肉検査における摘発を防止するため、BLV 感染牛の EBL 発症前出荷を可能とする簡便な感予後診断法を確立する。

(3) EBL の発症予防あるいは発症遅延を目的としたワクチンを開発する。

(4) EBL 発生制御のための飼養管理方法を策定する。

3. 研究の方法

(1) 疫学調査：2016 年～2019 年、北海道内の 15 農場において 4393 個体のウシから採血し、血清および全血総 DNA を得た。血清を抗 BLV 抗体検出キット(Takara)に供し、陽性検体の末梢血ウイルスコピー数をリアルタイム PCR (Takara)により測定した。さらに、Inoue et al.の方法 [1]に従いウイルス DNA 陽性検体の Tax 型を判別した。

(2) Tax 発現細胞培養上清の血管新生誘導能評価：L-Tax および P-Tax 持続発現 Rat-1 細胞[1]ならびに pcDNA3.1(+)(Invitrogen)により G417 耐性を獲得した対照 Rat-1 細胞を 80%コンフルエントになるまで培養し、PBS で洗浄後、無血清培地に交換した。37°C 48 時間培養して得たコンディションドメディウム(CM)にヒト臍帯静脈血管内皮細胞(HUVEC)を懸濁し、 μ -Slide Angiogenesis (ibidi)内の Matrigel (BD Biosciences) 上に播種した。20 時間培養後、ゲル上に形成されたチューブの長さを Image-J により計測した。

(3) Tax 発現細胞培養上清の血管内皮細胞誘引能評価：HUVEC を m-Slide Chemotaxis 3D (ibidi)の観察領域に付着させ、第 1 槽に L-Tax 発現細胞、P-Tax 発現細胞あるいは対照細胞 CM を、第 2 槽に未処理培養液を満たした。37°C で細胞の位置を 1 時間毎記録した (10 回)。

(4) Tax 発現細胞培養上清のマススペクトロメーター解析：L-Tax 発現細胞、P-Tax 発現細胞あるいは対照細胞 CM を分画分子量 3000 の限外濾過によって濃縮した。還元、アルキル化、トリプシン消化後、iTRAQ 試薬で標識し、LC-MS/MS 解析に供した。還元-LC-MS/MS 解析はアプロサイエンスに委託した。

(5) ウシアネキシン A3 の精製：化学合成したウシアネキシン A3 遺伝子 (ファスマック) を pCold ProS2 (Takara)にクローニングし、大腸菌を形質転換した。OD₆₀₀=0.2 まで培養後、15°C に移し、1 mM IPTG 存在下 24 時間震盪した。集菌し、溶菌後の遠心上清をヒスチジンカラムに添加した。500mM NaCl、20mM イミダゾールで洗浄後、500mM NaCl、500mM イミダゾールで溶出した。分画分子量 10000 の限外濾過による脱塩・濃縮後、HCV 3C protease (Takara)を加え、His-ProS2-タグを除去した。タグ混合物をヒスチジンカラムに添加して素通り画分を得、精製アネキシン A3 とした。

(6) モノクローナル抗体の作出：精製アネキシン A3 を Freund の完全アジュバントと混合後、2 週間隔で 2 度 Balb/c マウスの筋肉内に投与した。さらに 2 週後、アネキシン A3 のみを静脈内に投与し、3 日後に脾臓を摘出した。マウス骨髄腫由来 SP2/O 細胞と融合させ、HAT 培地で選択してハイブリドーマを得た。ハイブリドーマ培養上清をタグ付きアネキシン A3 を抗原とした ELISA に供し、抗体のスクリーニングを行った。

(7) 交差結合競合試験：モノクローナル抗体産生ハイブリドーマ培養上清からプロテイン G を用いて IgG を精製し、Peroxidase Labeling Kit-NH₂ (Dojindo)により HRP で標識した。上述の ELISA に 2 倍階段希釈したハイブリドーマ培養上清を反応させた後、一定濃度の標識抗体を反応させ、洗浄後、基質を加えた。競合%は $100 \times (\text{標識抗体のみの吸光度} \cdot \text{競合抗体存在下の吸光度}) / (\text{標識抗体のみの吸光度} \cdot \text{抗原なし時の標識抗体のみの吸光度})$ により求めた。

(8) BLV 感染性クローンおよびウイルス持続産生細胞の作出：白血病肉腫検体から抽出した

DNA を鋳型とし、Murakami et al.の方法[2]に準じて BLV プロウイルス全長をクローニングした。即ち、プライマー対 5'-GATATCTAGAGAATTTGTATGAAAGATCATGCCG-3'/5'-ATATCAAGCTTGAATCCGGTTAGGAATAGGTCGAT-3'および 5'-GATATCTAGAGAA TTAGGGCGGAGAAACACCCAAGGGCTCTGAT-3'/5'-ATATCAAGCTTGAATGTTTGGC GGTCTCTCCT-3'を用いた PCR により各々BLV-F 断片および BLV-L 断片を得、In-Fusion HD cloning kit (Takara)を用いて pSMART-LCAMP (Lucigen)にクローニングした。両プラスミドを制限酵素 *PvuI* で消化し、各々に由来する 8.6kb 断片と 2.1kb 断片を連結して BLV プロウイルス全長を含む感染性クローン pSMART-BLV を得、塩基配列を確認した。ついで、pcDNA3.1(+)を鋳型に PCR で増幅した Neo 耐性遺伝子を pSMART-BLV の *SwaI* 切断部位に挿入して pSMART-BLV-NeoR を得た。これをリポフェクトアミン 3000 (Invitrogen)によりブタ腎由来 CPK 細胞に導入し、G418 添加培地で薬剤耐性細胞を選択、クローニングした。

4. 研究成果

(1) 疫学調査：2016 年～2019 年、北海道内の 15 農場において採取された 4393 個体のウシ血液中 1442 検体 (32.8%) に BLV 遺伝子が検出された。これらについて Tax タンパク質のアミノ酸型別を行ったところ、1321 検体 (91.7%) が L 型であり、51 検体 (3.5%) が P 型であった。黒毛和種 1 検体からは両型のウイルスが検出された。一方、69 検体 (4.8%) は型別不能であった。交雑種、肉専用種およびジャージーから検出されたウイルスは全て L 型であった。ホルスタイン 2 検体から P 型ウイルスが検出された (0.2%)。黒毛和種から検出された 462 検体では 49 検体 (10.6%) が P 型であった。また、P 型はあり、それらは黒毛和種専門の牧場でのみ検出された (表 1)。一方、ホルスタインおよび交雑種と一緒に飼養されていた黒毛和種のウイルスは全て L 型であった。また、異なる Tax タンパク質のアミノ酸型間において、BLV に感染した黒毛和種の月齢とウイルスコピー数の分布を比較したところ、L 型ウイルス感染では極端に末梢血ウイルスコピー数の高い若齢個体が存在することが示された(図 1)。

表 1. 牛種別のアミノ酸型別

	L 型 (%)	P 型 (%)	不明 (%)	計 (%)
ホルスタイン	805 (97.0)	2 (0)	23 (2.8)	830 (100)
交雑種・他	144 (96.0)	0 (0)	6 (4.0)	150 (100)
黒毛和種	372 (80.7)	49 (10.6)	40 (8.7)	461* (100)
計	1321 (91.7)	51 (3.5)	69 (4.8)	1441* (100)

*他に L/P 両型に感染した 1 個体あり

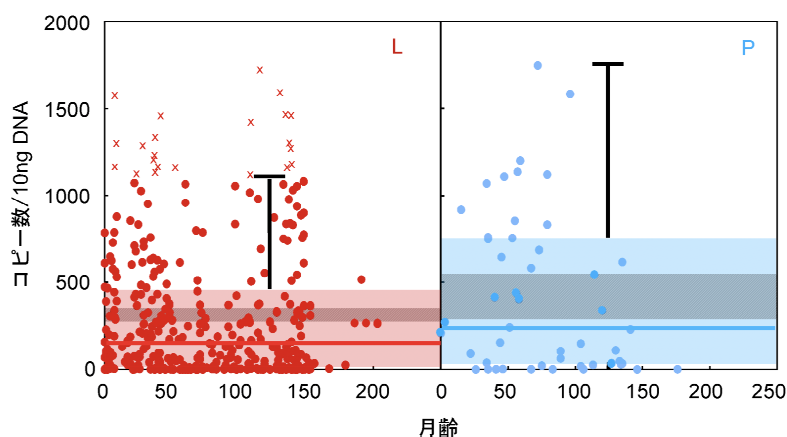


図 1. 黒毛和種の月齢とプロウイルスコピー数

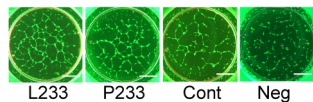
左パネル (赤) は L 型ウイルス感染牛、右パネル (青) は P 型ウイルス感染牛の成績を示す。箱 (着色部) の上端は第 3 四分位点、下端は第 1 四分位点、内部の直線は中央値、斜線部は平均値の 95% 信頼区間を示す。また、ヒゲの上端は最大値または第 3 四分位点に四分位範囲の 1.5 倍を加えた値を示し、後者を上回るものを外れ値 (x) とした。

(2) Tax 発現細胞培養上清の血管新生誘導能および血管内皮細胞誘引能：L 型 Tax 発現ラット線維芽細胞は、P 型 Tax 発現細胞および対照細胞に比べヌードマウス皮下に有意に大きな腫瘍を形成したことから、HUVEC を用いたチューブ形成試験に各々の培養上清(CM)を供し、血管新生誘導能を調べた。その結果、HUVEC はいずれの CM 中においても網状のチューブを形成したが、未処理培養液中ではほとんどチューブを形成しなかった (図 2A)。さらにチューブ長を計測したところ、3 種の CM 間では有意差は認められなかった (図 2B)。これらの成績から、

両 Tax 発現細胞間のみならず対照のラット線維芽細胞も血管新生誘導因子を分泌し、その能力には有意差がないことがわかった。

ついで、各 CM の血管内皮細胞誘引能を調べるため HUVEC を標的とした走化性試験を行った。図 3 に示すように、L 型 Tax 発現細胞 CM に対しては 32 細胞中 21 細胞 (65.5%) が正の走化性を示したのに対し、P 型 Tax 発現細胞および対照細胞のそれに対しては各々 14/35 (40.0%) および 22/41 (53.7%) であった。L 型 Tax と P 型 Tax 間では Fisher の正確確率検定で有意差が認められた ($p < 0.05$)。したがって、少なくとも L 型 Tax 発現細胞は HUVEC に対する誘引物質を培養液中に放出していることが示唆された。

A



B

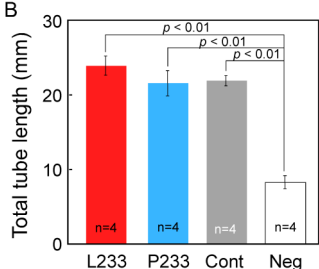


図 2. Tax 発現細胞培養上清の HUVEC チューブ形成誘導能

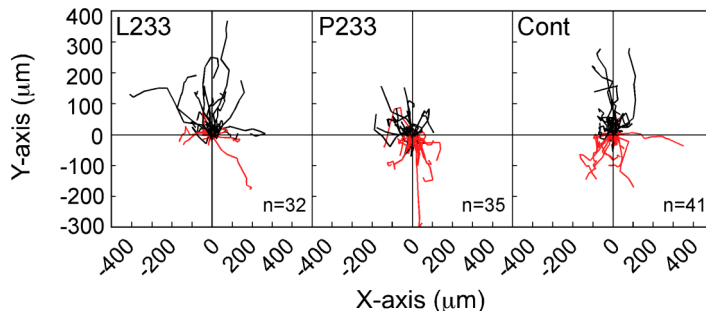


図 3. Tax 発現細胞培養上清の HUVEC に対する走化性試験

(3) Tax 発現細胞 CM に含まれるタンパク質の相対定量: Tax 発現細胞が産生する HUVEC 誘引物質を同定するため、L および P 型 Tax 発現細胞ならびに対照細胞の CM を濃縮し、トリプシン消化後、iTRAQ 試薬で標識して LS/MS/MS 解析に供した。その結果、各細胞の CM 中には各々 2442 種 (L 型 Tax 発現細胞)、2440 種 (P 型 Tax 発現細胞) および 2452 種 (対照細胞) のラットタンパク質が検出された。L 型 Tax 発現細胞 CM のみに HUVEC 誘引作用が認められたことから、L 型 Tax 発現細胞と他の 2 細胞間で CM 中のタンパク質濃度を比較した。その結果、血管内皮細胞誘引活性の知られるアネキシン A3[3]が L 型 Tax 発現細胞 CM で P 型 Tax 発現細胞および対照細胞 CM の各々 12.2 倍および 6.2 倍濃度で検出されたことから、L 型 Tax 発現細胞が分泌する HUVEC 誘引物質はアネキシン A3 であることが示唆された。また、calcium homeostasis modulator protein 5 および dmX-like protein 1 isoform X2 は L 型 Tax 発現細胞 CM にのみ含まれることがわかった。その他、plasminogen activator inhibitor 2 type A および extracellular matrix protein 1 precursor を含む 24 種のタンパク質が L 型 Tax 発現細胞 CM で他の 2 倍以上の濃度を示した。一方、8 種のタンパク質が L 型 Tax 発現細胞 CM で他の 1/2 以下の濃度を示した。興味深いことに、collagen alpha-1 (I) chain precursor の CM 中濃度は L 型 Tax 発現細胞 : P 型 Tax 発現細胞 : 対照細胞 = 11.2 : 51 : 100 であった。

(4) アネキシン A3 が BLV による白血病発症に関与する可能性が示されたことから、BLV 感染牛の血中アネキシン A3 濃度をモニタリングする目的でモノクローナル抗体を作出した。大腸菌で発現したウシアネキシン A3 をマウスに免疫してハイブリドーマを得、その培養上清を免疫原でスクリーニング後、MDBK 細胞ライセートを抗原としたウエスタンブロットに供した。その結果、5 クローンのハイブリドーマ培養上清が MDBK 細胞のアネキシン A3 (矢印) と反応した。

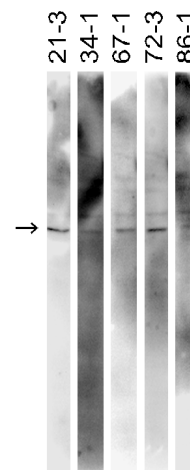


図 4. MDBK 細胞を抗原としたウエスタンブロット

(5) ウシアネキシン A3 のエピトープ解析: 得られたモノクローナル抗体を用いてウシアネキシン A3 の定量サンドイッチ ELISA を確立するため、抗体の交差結合競合試験を実施した。図 5 に示すように、競合抗体 21-3 および 34-1 は標識抗体 21-3 の結合は阻害したが、その他の標識抗体の結合はほとんど抑えなかった。一方、抗体 67-1、72-3 および 86-1 は相互に各標識抗体の結合を阻害したのみならず、標識抗体 21-3 の結合も阻害した。以上の成績から、抗体 21-3 と 34-1 は重複するエピトープを認識すること、抗体 67-1、72-3 および 86-1 が認識するエピトープも重複することがわかった。また、抗体 21-3 および 34-1 の阻害パターンから、これらの認識するエピトープと抗体 67-1、72-3 および 86-1 が認識するエピトープは重複しないものと考えられた。

(6) ウシアネキシン A3 定量サンドイッチ ELISA の構築: 抗体 21-3 が標識抗体 67-1 の結合を阻害しなかったことから、抗体 21-3 を捕捉抗体、抗体 67-1 を検出抗体とした。捕捉抗体を吸

着後、3% BSA でブロックし、 $10^{0.5}$ 倍階段希釈した精製ウシアネキシン A3 (大腸菌由来) を加えた後、検出抗体を反応させた。その結果、5ng/ml 程度が検出限界であった。
 (7) BLV 感染性クローンおよびウイルス持続産生細胞の作出：L 型ウイルス 3 株および P 型ウイルス 1 株の感染性クローンを樹立した。これらをヒツジに実験感染して病原性を検討し、弱毒生ワクチンの開発に繋げる予定であったが、分担研究者の死去により中止した。

5. 考察

疫学調査の結果、北海道における BLV 感染ホルスタインおよび交雑種の大部分が L 型ウイルスに感染していることがわかった。一方、黒毛和種ではその約 10% が P 型ウイルスによるものであり、黒毛和種専門の牧場でのみ検出された。さらに、ホルスタインおよび交雑種と一緒に飼養されていた黒毛和種のウイルスは全て L 型であった。したがって、L 型ウイルスがホルスタインから黒毛和種に浸潤してきていることが示唆される。早期発症のリスクファクターを除くため、BLV 感染の有無のみならずウイルスの型にも配慮した防疫対策が望まれる。

黒毛和種について Tax タンパク質のアミノ酸型別に月齢とウイルスコピー数の関係を調べた。その結果、P 型ウイルス感染牛が有意に高いコピー数を示した。P 型ウイルス感染は L 型のそれに比べ白血病の発症が遅いことから、P 型ウイルス感染黒毛和種では発症に到るコピー数の閾値が高い可能性がある。一方、L 型ウイルス感染牛では一般的な感染牛に比べ極端にコピー数の多い個体が存在することがわかった。これらの個体は発症リスクのみならず感染源となる危険性が高いことから、その摘発・優先淘汰が重要である。

L 型 Tax 発現細胞が産生する HUVEC 誘引物質を同定するため、L および P 型 Tax 発現細胞ならびに対照細胞の CM を濃縮して LC/MS/MS に供し、含有タンパク質の相対定量を行った。その結果、アネキシン A3 が HUVEC 誘引物質の本態と考えられた。アネキシン A3 はヒトの乳がん等でも血中濃度が上昇することから、BLV による白血病発症のバイオマーカーとして有用と考えられる。また、plasminogen activator inhibitor 2 type A および extracellular matrix protein 1 precursor が L 型 Tax 発現細胞 CM で他の 2 倍以上の濃度を示した。前者はアポトーシスの抑制 [4]、後者は血管内皮細胞の分化と血管新生を促進する [5] ことから、これらも BLV による白血病発症に関与している可能性が高い。一方、collagen alpha-1 (I) chain precursor の CM 中濃度は L 型 Tax 発現細胞 < P 型 Tax 発現細胞 < 対照細胞であった。コラーゲンの分泌抑制によって腫瘍組織の張力が低下し、転移ならびに成長が助長されるのかもしれない。

アネキシン A3 が BLV による白血病発症に大きな役割を果たすことが示唆されたことから、モノクローナル抗体を作出してウシアネキシン A3 の定量系を構築した。異なるエピトープを認識する抗体 21-3 および 67-1 を用いたサンドイッチ ELISA では、これまでのところ 5ng/ml 程度が検出限界であった。今後、用いる抗体の組合せや標識方法の再検討あるいはイムノ PCR [6] を適用するなどによって検出感度を上げる必要がある。

6. 参考論文

- [1] Inoue, E., Matsumura, K., Soma, N., Hirasawa, S., Wakimoto, M., Arakaki, Y., Yoshida, T., Osawa, Y., Okazaki, K. (2013) L233P mutation of the Tax protein strongly correlated with leukemogenicity of bovine leukemia virus. *Vet. Microbiol.* 167, 364-371.
- [2] Murakami, H., Uchiyama, J., Nikaido, S., Sato, R., Sakaguchi, M., Tsukamoto, K. (2016) Inefficient viral replication of bovine leukemia virus induced by spontaneous deletion mutation in the G4 gene. *J. Gen. Virol.* 97, 2753-2762.
- [3] Park, J.E., Lee, H., Lee, J.A., Park, S.G., Kim, N.S., Park, B.C., Cho, S. (2005) Annexin A3 is a potential angiogenic mediator. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 337, 1283-1287.
- [4] Medcalf, R.L., Stasinopoulos, S.J. (2005) The undecided serpin: The ins and outs of plasminogen activator inhibitor type 2. *FEBS J.* 272, 4858-4867.
- [5] Campbell, N.E., Kellenberger, L., Greenaway, J., Moorehead, R.A., Linnerth-Petrik, N.M., Petrik, J. (2010) Extracellular matrix proteins and tumor angiogenesis. *J. Oncol.* 2010, 586905.
- [6] Mweene, A.S., Ito, T., Okazaki, K., Ono, E., Shimizu, Y., Kida, H. (1996) Development of immuno-PCR for diagnosis of bovine herpesvirus 1 infection. *J. Clin. Microbiol.* 34, 748-750.

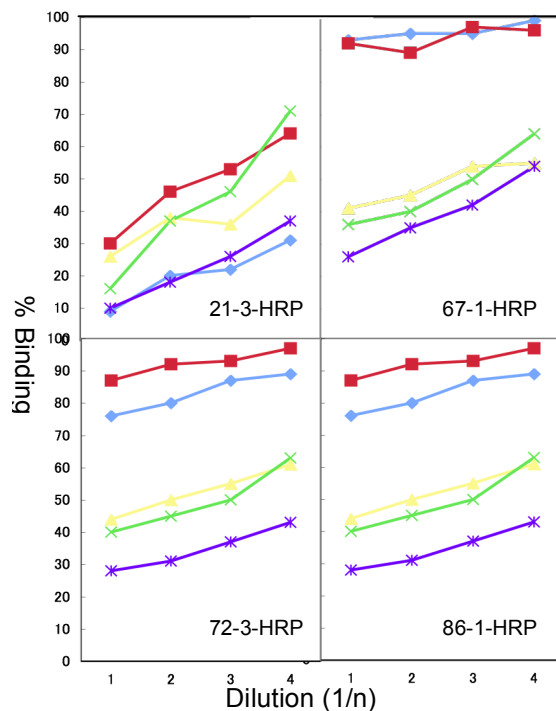


図5. 抗ウシアネキシン A3 モノクローナル抗体による交差結合競合試験
 青、21-3；赤、34-1；黄、67-1；緑、72-3；紫、86-1

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Mitake H, Fujii Y, Nagai M, Ito N, Okadera K, Okada K, Nakagawa K, Kishimoto M, Mizutani T, Okazaki K, Sakoda Y, Takada A, Sugiyama M.	4. 巻 97
2. 論文標題 Isolation of a sp. nov. Ljungan virus from wild birds in Japan.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of General Virology	6. 最初と最後の頁 1818-1822
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1099/jgv.0.000508	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Torii S, Matsuno K, Qiu Y, Mori-Kajihara A, Kajihara M, Nakao R, Nao N, Okazaki K, Sashika M, Hiono T, Okamatsu M, Sakoda Y, Ebihara H, Takada A, Sawa H	4. 巻 10
2. 論文標題 Infection of newly identified phleboviruses in ticks and wild animals in Hokkaido, Japan indicating tick-borne life cycles.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ticks and Tick-borne Diseases	6. 最初と最後の頁 328-335
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ttbdis.2018.11.012.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Mori H, Tomiyasu T, Nishiyama K, Matsumoto M, Osawa Y, Okazaki K	4. 巻 164
2. 論文標題 L233P mutation in the bovine leukemia virus Tax protein depresses endothelial cell recruitment and tumorigenesis in athymic nude mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Archives of Virology	6. 最初と最後の頁 1343-1351
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00705-019-04191-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Lo C-W, Borjigin L, Saito S, Fukunaga K., Saitou E, Okazaki K, Mizutani T, Wada S, Takeshima S, Aida Y	4. 巻 12
2. 論文標題 BoLA-DRB3 polymorphism is associated with differential susceptibility to bovine leukemia virus-induced lymphoma and proviral load.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 352-
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/v12030352	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 富安貴史, 森宏, 岡崎克則
2. 発表標題 牛白血病ウイルス (BLV) Tax蛋白質のL233P変異は血管内皮細胞誘導因子であるアネキシンA3の産生誘導を低下させる
3. 学会等名 第67回 日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 富安貴史, 森宏, 岡崎克則
2. 発表標題 牛白血病ウイルス(BLV)Tax蛋白質が 白血病発症に果たす役割
3. 学会等名 第162回 日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤亜結喜, 森宏, 富安貴史, 大澤宜明, 岡崎克則
2. 発表標題 牛白血病ウイルスによる白血病発症機構の解析
3. 学会等名 第161回 日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森宏, 柴田香奈, 富安貴史, 大澤宜明, 岡崎克則
2. 発表標題 黒毛和種における地方病性牛白血病の分子疫学
3. 学会等名 第161回 日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐野 豊, 伊藤 直人, 西山 祥子, 岡田 和真, 高橋 龍樹, 岡崎 克則, 高田 礼人, 迫田 義博, 小澤 真, 正谷 達膳, 杉山 誠
2. 発表標題 渡り鳥におけるロタウイルスAの分子疫学的研究
3. 学会等名 第161回 日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Mori , Takafumi Tomiyasu , Yoshiaki Osawa , Katsunori Okazaki
2. 発表標題 L233P mutation of bovine leukemia virus (BLV) Tax protein depressed endothelial cell recruitment
3. 学会等名 第66回 日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松本舞子、富安貴史、森宏、大澤宜明、岡崎克則
2. 発表標題 牛白血病ウイルス(BLV)Taxタンパク質のP233L変異と血管新生
3. 学会等名 第160回日本獣医学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 刀禰谷悠真、森宏、富安貴史、大澤宜明、岡崎克則
2. 発表標題 牛白血病ウイルス(BLV)Taxタンパク質の 233番アミノ酸と腫瘍原性
3. 学会等名 第160回日本獣医学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岡崎克則
2. 発表標題 牛白血病ウイルスTaxタンパク質の変異と病原性
3. 学会等名 北海道獣医師会十勝支部公衆衛生講習会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西山加那子、森宏、富安貴史、大澤宜明、岡崎克則
2. 発表標題 牛白血病ウイルス(BLV) Taxタンパク質のP233L変異は腫瘍原性を増強する
3. 学会等名 第159回日本獣医学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 西山加那子、森宏、富安貴史、大澤宜明、岡崎克則
2. 発表標題 牛白血病ウイルス(BLV) Taxタンパク質のP233L変異は腫瘍原性を増強する
3. 学会等名 第64回日本ウイルス学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 大澤宜明、富安貴史、森宏、岡崎克則
2. 発表標題 牛白血病ウイルス (BLV) 変異型Taxタンパク質の性状解析
3. 学会等名 第64回日本ウイルス学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 岡崎克則
2. 発表標題 牛白血病ウイルスTaxタンパク質のL233P変異と病原性
3. 学会等名 理研シンポジウム「革新的技術で牛白血病ウイルス（BLV）から牛を守る」（招待講演）
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	大澤 宜明 (OSAWA Yoshiaki) (20415558)	北海道医療大学・薬学部・准教授 (30110)	
研究分担者	菅野 徹 (KANNO Toru) (80355205)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・動物衛生研究部門・主席研究員 (82111)	2018年11月8日削除
研究分担者	森 宏 (MORI Hiroshi) (90825126)	北海道医療大学・薬学部・助教 (30110)	2018年5月10日追加