

平成22年5月21日現在

研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2006年度～2009年度  
 課題番号：18380179  
 研究課題名（和文） グリオーマ誘発レトロウイルスの神経病理性発現機構の解明  
 研究課題名（英文） Pathological and molecular biological analysis of nervous lesions caused by glioma-inducing retroviruses

研究代表者  
 落合 謙爾（OCHIAI KENJI）  
 北海道大学・大学院獣医学研究科・准教授  
 研究者番号：80214162

研究成果の概要（和文）：レトロウイルスの神経病理性発現機構を解明するためにトリ白血病ウイルス（ALVs）に属すトリのグリオーマ誘発ウイルス（FGV）、FGV 変異株および神経系腫瘍罹患鶏から得た別の ALVs の分子生物学的解析と神経病理性の比較を行った。本研究によって FGV の *env* は神経病理性の主な規定因子ではないことが推察された。また、LTR の機能解析に役立つ FGV-LTR 導入トランスジェニック鶏（G0 世代）を作出した。

研究成果の概要（英文）：In order to clarify the pathogenesis of nervous system disorders due to retrovirus infection, fowl glioma-inducing virus (FGV) belonging to avian leukosis viruses (ALVs), FGV-mutants, and another ALVs isolated from chickens affected with glioma or peripheral nerve tumors were examined by molecular biological analysis and their pathogenicity to nervous system was compared by experimental infections. The main results suggest that *env* gene may be not a major determinant for the induction of glioma. Also, one transgenic (Tg) chimera chicken (G(0)) carrying FGV-LTR obtained in this study is expected to be useful for analysis of the LTR function.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	7,700,000	2,310,000	10,010,000
2007年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2008年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2009年度	2,300,000	690,000	2,990,000
年度			
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学，応用獣医学

キーワード：ウイルス性腫瘍，神経系腫瘍，トリ白血病ウイルス，発癌，レトロウイルス

## 1. 研究開始当初の背景

ヒトレトロウイルスは AIDS 脳症や human T cell leukemia virus-1 (HTLV-1) 関連ミエロパチーなどの神経障害を引き起こす。また、ヒトの星状膠細胞に由来する腫瘍は頭蓋

内腫瘍の 1/4 を占め、神経外胚葉性腫瘍に限ればその 7 割を占めるほど発生頻度が高い。ひとたびこうした神経疾患に冒されると致命的となるか重篤な後遺症が残るため、これら疾患は医学分野で重要な課題となってい

る。

いわゆるトリのグリオーマ（神経膠腫あるいは星状膠細胞腫）so-called fowl glioma (astrocytoma) は 1930 年代から確認されていたものの、その病変性状と原因が不明であった疾患である。研究代表者は本疾患の国内初発例を日本鶏から発見した (Vet. Rec. 145:79-81, 1999)。その後、伝達実験を行い本疾患の原因がトリレトロウイルスに属する A 型トリ白血病ウイルス (ALV-A) であることを明らかにした (Avian Pathol. 31:193-199, 2002)。本疾患は研究代表者の知る限り自然界で発生する動物の脳腫瘍の中でウイルスとの因果関係が実験的に証明された初めてのグリオーマである。

ALV とこれが誘発するトリ白血病はこれまでヒトの発癌機構解明の有用な実験系として用いられてきた。既知の ALV は主に造血器系腫瘍を誘発するのに対し、研究代表者が分離した ALV は神経組織に対して病原性、腫瘍原性を持つことが明らかになってきた。本ウイルスは特に心臓と脳で活発に複製し、グリオーマ (Avian Pathol. 32:617-624, 2003) のほか、非化膿性脳炎・心筋炎 (J. Vet. Med. Sci. 64:395-399, 2002) と神経周膜腫を誘発する (Vet. Pathol. 42:176-183, 2005)。また、ALV-A 標準株 RAV-1 は非化膿性脳炎を誘発することが知られているが、本ウイルスは RAV-1 誘発性脳炎とは異なる小脳の発育異常 (低形成) を招来することがわかった (Vet. Pathol. 43:294-301, 2006 ; 主な発表論文等 [学会発表] ⑦)。

一方、分離ウイルスのゲノム解析では本ウイルスは数種の ALV ゲノムの組み換えにより新たに出現したものと推察された (Fowl glioma-inducing virus; FGV 株として登録; GenBank accession number No. AB112960 ; J. Gen. Virol. 85:647-652, 2004)。既知の ALV のゲノム構造と比較すると、本ウイルスの *gag* および *pol* 領域は A 亜群標準株と 96~98% と高い相同性を示したが、*env* 遺伝子の SU 領域、LTR U3、U5 領域の相同性は 84% 以下であった。さらに 3' 末端側の LTR 上流に既知のものとは異なる特異的な塩基配列が存在した。この成績から、これら相同性の低い領域が本ウイルスの神経病原性を規定していると推察された。

FGV の発癌機序を既知の成績にもとづいて考察すると以下ようになる。通常、ALV のウイルス RNA は感染後逆転写酵素によってプロウイルス DNA に変換される。この際プロウイルスの両端に LTR が形成される。この LTR はプロモーターおよびエンハンサー機能を染色体に供給しウイルス複製ばかりでなく LTR 組み込み部位近傍の遺伝子発現を活性化させることができる。このためプロウイルス DNA が *c-myc* などの細胞性癌遺伝子の上流

に挿入されるとシス作用により発癌が促進される。この機序を踏まえて研究代表者は FGV の持つユニークな腫瘍原性の説明として 3' 側 LTR の関与を疑った。すなわち、神経系細胞に特異的な転写因子 (蛋白質) が存在し、これにより神経系細胞でのみ LTR が発現する結果、グリオーマや末梢神経腫瘍が誘発されるのであろうと推察した。そこで上記仮説を検証するため、トランスジェニック (Tg) マウスを用いて FGV-LTR が持つプロモーター活性の臓器特異性を明らかにしようとしたが、マーカー蛋白である Green Fluorescent Protein (GFP) の発現は微弱であった。この一方で各種細胞への腫瘍原性を決定づける主な因子はウイルスエンベロープであると報告されたため (Chesters, PM *et al.* J. Gen. virol. 83:2553-2561, 2002), FGV の腫瘍原性解明には *env* の機能も考慮する必要が生じてきた。

以上の成績と考察から、FGV は既知の ALV ではなく組み換えによって出現したウイルスで、その病原性は主に神経組織を標的とし、グリオーマ、神経周膜腫、小脳低形成を誘発すること、主たる病原性である腫瘍原性には神経系細胞で産生される未知の蛋白質 (転写因子)、FGV の LTR、そして宿主細胞側の癌遺伝子がカスケードを形成して発癌に結びつくことが推察された。しかし、FGV の LTR は Tg マウスでは活性が低く癌遺伝子産物の検出は困難であった。上記の発癌機構をさらに追求するには鶏の実験系が必要である。また、*env* の腫瘍原性に関わる機能解析も新たな課題となってきた。

一方、野外では 2003 年ごろからわが国の採卵鶏の皮下に粘液腫や線維腫を誘発する ALV-A 感染症が多発するようになった。これら皮下腫瘍を示した採卵鶏の中にグリオーマが併発していることがわかった。疫学的にこれら採卵鶏に発生したグリオーマの原因は FGV とは異なる ALV の一株と考えられたが、その分子生物学的特徴は未解明のままであった。そこで、本研究課題では採卵鶏由来グリオーマ誘発 ALV と FGV との分子生物学的比較を行い、両者の共通点を浮き彫りにしようと考えた。

## 2. 研究の目的

以上の背景を踏まえ、本研究課題は (1) FGV の LTR を活性化させる神経系細胞特異的転写因子の同定、(2) Tg 鶏を用いた LTR の機能解析、(3) 採卵鶏由来グリオーマ原因 ALV の分離および感染実験による病原性の解析、(4) 採卵鶏由来 ALV と日本鶏由来 FGV との分子系統学的比較、(5) グリオーマ誘発 ALV の *env* 遺伝子と ALV-A 由来トリレトロウイルスベクター (RCAS(A) 株) の *env* を入れ換えたキメラウイルス (遺伝子組換え体) の腫瘍原性の変

化, 以上 5 項目を行うことで, レトロウイルスの神経病原性発現機構を解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) FGV の LTR を活性化させる神経系細胞特異的転写因子の同定

①本疾患の特徴病変であるグリオーマを癌遺伝子産物に対する抗体を用いて免疫組織学的に検索した。

②FGV 感染鶏線維芽細胞を用いてプロウイルス DNA の染色体上の位置を fluorescence *in situ* hybridization (FISH) 法により解析した。

③FGV の LTR と結合する転写因子を検出するために鶏の脳および末梢神経系組織を用いてゲルシフトアッセイにより解析した。

(2) Tg 鶏を用いた LTR の機能解析

FGV の LTR の機能を解析するため, レトロウイルスベクター法を用いて鶏胚に FGV の LTR を導入し, Tg 鶏の作出を試みた。

(3) 採卵鶏由来グリオーマ原因 ALV の分離および感染実験による病原性の解析

皮下腫瘍とグリオーマを併発した採卵鶏と同居鶏を病理学的に検索し, これらから ALV の分離を試みた。また, 分離されたウイルスのシーケンス解析を行うとともに, 本ウイルスの中樞神経系に対する病原性を明らかにするため, SPF 鶏を用いて感染実験を行い全身諸臓器について病理組織学的検索を行った。

(4) 採卵鶏由来 ALV と日本鶏由来 FGV との分子系統学的比較

①過去にグリオーマが見つかった 3 つの日本鶏群の鶏について nested PCR, RT-nested PCR および ELISA を用いて FGV の感染状況を調査し, 陽性鶏から FGV の分離を試み, 分離したウイルスの塩基配列を解析した。

②野外で飼育されていた日本鶏 1 羽に発生した神経周膜腫を病理学的, 分子生物学的に解析した。また, 別の日本鶏に発生した神経線維腫について病理学的, 分子生物学的解析を行った。

③上記 (3) で分離した採卵鶏由来 TymS\_90 のウイルスゲノムの塩基配列と FGV および新たに分離した ALVs のそれとを比較した。

④ALV の疫学調査を容易にするため, 材料採取後乾燥してどの程度の期間ウイルスゲノムが保持されているか検索した。

⑤研究の方法 (4) ①で新たに分離された FGV 変異株のウイルスゲノム全長を解析した後, これらの病原性を感染実験によって検索した。また, (4) ②で分離された神経線維腫由来 ALV の神経病原性を明らかにするため感染実験を行った。さらに Myeloblastosis associated virus-like virus (MAV-1 近縁株; ジョージア

大学 Zavala, G. 博士より分与) についても神経病原性の有無を感染実験によって解析した。

(5) グリオーマ誘発 ALV の *env* 遺伝子と ALV-A 由来トリレトロウイルスベクター (RCAS(A) 株) の *env* を入れ換えたキメラウイルスの腫瘍原性の変化

FGV-*env* 領域をトリレトロウイルスベクター RCAS(A) 株の対応する領域と入れ換えたキメラウイルスを作製し, このキメラウイルスの病原性を解析するために感染実験を行った。

### 4. 研究成果

(1) FGV の LTR を活性化させる神経系細胞特異的転写因子の同定

①免疫組織学的検索の結果, *c-myc* および *K-ras* 遺伝子が星状膠細胞の腫瘍化に関与することが推察された。

②FGV 感染鶏線維芽細胞ではプロウイルスは特定の染色体上に位置しなかったが, 2 番染色体長腕セントロメア近傍, または 5 番染色体長腕中間部に特異的なシグナルが観察されたことから, これら染色体に挿入される傾向が認められた。しかし, 特定の癌遺伝子との関連性は見出されなかった。今後は腫瘍化した星状膠細胞を単離するか, 培養化したうえでプロウイルスの局在を検索する必要がある。

③鶏胚線維芽細胞を用いた CAT (chloramphenicol acetyltransferase) アッセイでは FGV LTR のプロモーター活性は ALV 標準株 RAV-1 のそれと同等の高値を示した (J. Gen. virol. 85(3):647-652, 2004)。そこで, FGV の発癌に関わる神経系細胞特異的転写因子の存在を確かめるためにゲルシフトアッセイを行ったところ, 脳と末梢神経から LTR の DNA プローブと結合する蛋白質が検出された。次に South-western blot 法を用いて転写因子のクローニングを検討したが, 良好な成績が得られなかった。今後は磁気ビーズ法による蛋白質の精製・濃縮と質量分析法による解析を試みる予定である。

(2) Tg 鶏を用いた LTR の機能解析

鶏の生体内で LTR の機能を解析するため, LTR と GFP 遺伝子を組み込んだレトロウイルスベクターを作製後, これを鶏胚に導入し, Tg 鶏 G0 世代を作出した。この Tg 鶏の羽髄には PCR および southern-blot で目的の遺伝子が導入されていることが確認された。現在, この Tg 鶏の戻し交配を行っている。

(3) 採卵鶏由来グリオーマ原因 ALV の分離および感染実験による病原性の解析

採卵鶏に見出されたグリオーマの病理組織学的特徴とこれらの病原ウイルスを明ら

かにするため、皮下腫瘍罹患鶏 18 羽と同居鶏 222 羽の脳を検索した。検索した鶏 240 羽のうち 103 羽で非化膿性脳炎、4 羽でびまん性あるいは小結節性の星状膠細胞の増殖が認められた。さらに皮下腫瘍を形成していた 11 羽と同居鶏 3 羽にはグリオーマが認められ、これらのうち 2 羽に過去の報告例とは異なる小型円形細胞の増殖が観察された。しかし、nested PCR ではグリオーマ罹患脳から FGV は検出されなかった。そこで、これら罹患脳から 10 株の ALV を分離し、*env* と 3' UTR の塩基配列を解析した。分離株の *env* 内 SU コード領域は MAV-1 近縁株と最も相溶性 (99%) が高かったが、TM 領域は内因性レトロウイルスである *ev* locus との相溶性 (95%) が最も高かった。また、3' UTR は ALV-J との相溶性 (93~94%) が最も高かった。分離株の一つである TymS\_90 のゲノム全長を解析した結果、TymS\_90 はトリ白血球・肉腫ウイルスに由来する遺伝子領域を 4 つ持っていたが、これら以外の多くの部分は *ev* locus により構成されていた。以上の成績から、採卵鶏に発生したグリオーマは FGV によるグリオーマにはみられない小型円形細胞の増殖を誘発すること、分子生物学的には FGV とは起源の異なるリコンビナント ALV である TymS\_90 が関与していることが明らかとなり、グリオーマの原因 ALV は複数存在することが推察された(主な発表論文等〔雑誌論文〕③,〔学会発表〕④⑥)。

次に TymS\_90 の病原性を実験的に明らかにするため、孵卵 6 日目の鶏胚 (SPF, C/O) の卵黄嚢内に TymS\_90 を接種した。感染実験の結果、TymS\_90 は FGV 同様、グリオーマおよび小脳低形成を誘発する一方で、脳室周囲の小円形細胞の結節性増殖とクモ膜の増殖といった FGV とは異なる病原性を持つことが実験的に証明された。この成績から、TymS\_90 は FGV とは異なる第 2 のグリオーマ誘発 ALV であることが明らかになった(主な発表論文等〔学会発表〕②)。

#### (4) 採卵鶏由来 ALV と日本鶏由来 FGV との分子系統学的比較

①過去にグリオーマが見つかった 3 つの日本鶏群(検索総羽数 129 羽)の FGV 感染状況を調査した。3 つの鶏群の nested PCR 陽性率は 26~56%で、PCR 陽性鶏から 14 株の ALV が分離された。これらの塩基配列を解析した結果、3' UTR に含まれる PCR 検出領域の塩基配列は FGV と 92~93% 相同で、FGV と近縁であることが明らかになった。また、これらのうち 3 株の *env* には置換や欠失が頻繁に生じていることがわかった。これらの成績から、国内には FGV 変異株が蔓延していることが示唆された(主な発表論文等〔雑誌論文〕②,〔学会発表〕④)。

②日本鶏 1 羽に FGV との関連が推察されている神経周膜腫が発生した。本例には肉眼的に腕神経叢、腰仙骨神経叢と坐骨神経の高度腫大、脊髄神経節の多発性軽度腫大が見られ、組織学的にはこれら末梢神経に紡錘形細胞が軸索周囲に同心円状に増殖する onion-bulb 構造が認められた。脳および神経周膜腫の組織から FGV ゲノムは検出されなかったが、ALV 特異配列が増幅されたことから FGV 以外の ALV との関連が示唆された(主な発表論文等〔雑誌論文〕④,〔学会発表〕⑤)。野外例に本疾患が確認されたのは世界で初めてのことである。

一方、別の日本鶏 1 羽の頸部背側に脊髄と連絡する鶏卵大腫瘍が発生した。組織学的に腫瘍は細胞密度の高い領域と膠原線維に富む領域から構成され、楕円形から桿状の核を持つ紡錘形細胞が渦状、束状、花筈状あるいは観兵式配列様に増殖していた。また、まれにフェローカ小体が観察された。免疫組織化学的には、紡錘形細胞は GLUT1 およびビメンチンに陽性を示し、MBP、サイトケラチン、NFP、NSE に陰性であった。また、S-100 に陽性を示す細胞も散見された。一方、腫瘍組織内に残存する固有の末梢神経では、シュワン細胞が S-100 に陽性、髄鞘が MBP 陽性、軸索が NFP および NSE に陽性を示した。これら所見から、本腫瘍は神経線維腫と診断された。この神経線維腫からは内因性レトロウイルス *ev-1* に由来する変異ウイルス、CTS\_5371 が分離された(GenBank accession number AB522906; 主な発表論文等〔学会発表〕③)。

③採卵鶏由来グリオーマ誘発 ALV, TymS\_90 のウイルスゲノムの各領域の塩基配列を FGV と FGV 変異株のそれと比較した(研究成果(3)参照)。TymS\_90 と FGV (FGV 変異株を含む)は異なるクラスターに属し、*env* 遺伝子領域に共通の塩基配列は見出されなかった(主な発表論文等〔学会発表〕②)。

④研究成果(4)①で国内の日本鶏には FGV およびその変異株が蔓延していることが明らかになったことから、疫学調査の重要性が改めて認識された。疫学調査を行うにあたり、これまでは羽髄やクロアカ拭い液をすぐに冷蔵または冷凍していたが、簡便化、省力化を図るためこの材料採取法を見直して乾燥化した材料の有用性を検討した。その結果、採取した羽髄は乾燥させた状態で 30 日間保存しても目的の DNA, RNA は充分保持されており、これらを用いて PCR 解析が可能であることがわかった(主な発表論文等〔雑誌論文〕①)。

⑤上述の通り(研究成果(4)①)、国内の日本鶏には FGV およびその変異株が蔓延していることがわかった。そこで、*env* の変異に伴う FGV の神経病原性の変化を調べるため、FGV 変異株 4 株 (Tym-43, U-1, Sp-40 および Sp-53) のウイルスゲノム全長のシーケンス解析を行うとともに、感染実験により神経病原性を比較した。また、研究成果(4)②で得ら

れた神経線維腫由来 CTS\_5371 とアメリカから分与された MAV-1 近縁株の病原性を同様の方法で解析した。MAV-1 近縁株は日本で TymS\_90 の被害のあった 2004 年ごろアメリカで発生した類似の皮下腫瘍から分離された ALV で (Zavala, G *et al.*, *Avian Dis* 50:201-208, 2006), このウイルスが TymS\_90 のような神経系に病原性を示すかはいまだ明らかにされていない。

FGV 変異株のシーケンス解析では 3' LTR はどの変異株も FGV と 93% の相同性を示し、この領域に基づく分子系統樹ではこれら 5 株は同一のクラスターに属していた。一方、変異株の *env* SU は FGV のそれと 85~95% の相同性を示し、この領域の分子系統樹では Sp-40 と Sp-53 は Tym-43, U-1 および FGV とは別のクラスターに属することが明らかとなった。感染実験では FGV 変異株 4 株はいずれも脳の囲管性リンパ球浸潤、小脳外顆粒層の遺残、プルキンエ細胞の配列異常ならびにグリオーマを誘発した。これらのうち、Sp-53 接種鶏では早期に重度の脳病変が形成される傾向が認められた(主な発表論文等[学会発表]①)。また、CTS\_5371 接種鶏では脊髄神経節および坐骨神経に囲管性リンパ球浸潤と神経周膜細胞およびシュワン細胞の増殖が認められた。一方、MAV-1 近縁株接種鶏の脳には囲管性リンパ球浸潤と小脳外顆粒層の遺残が認められたが、星状膠細胞の増殖性変化は誘発されなかった。

(5) グリオーマ誘発 ALV の *env* 遺伝子と ALV-A 由来トリレトロウイルスベクター (RCAS (A) 株) の *env* を入れ換えたキメラウイルスの腫瘍原性の変化

FGV-*env* 領域を RCAS (A) 株の対応する領域と入れ換えたキメラウイルスを作製した。このキメラウイルスを用いて感染実験を行った結果、接種鶏の脳には軽度の囲管性リンパ球浸潤しか認められなかったことから、FGV-*env* は神経病原性の主な規定因子ではないことが示唆された。

上記の研究成果 (4)⑤ ならびに (5) から、*env* は FGV の神経病原性に大きく影響しないが、グリオーマや小脳低形成の頻度や程度に影響を与えること、Sp-53 は FGV より早期に重篤なグリオーマを誘発すること、ならびに CTS\_5371 は神経周膜細胞およびシュワン細胞の増殖を誘発することが明らかになった。また、アメリカで分離された MAV-1 近縁株は星状膠細胞の増殖を引き起こさないことが推察された(主な発表論文等[学会発表]①)。

(6) 総括

本研究課題では中枢神経系腫瘍の病原ウイルスとして唯一証明された ALV を対象に病理学的ならびに分子生物学的解析を行った。ヒト、動物を通じて自然界で中枢神経系

腫瘍を誘発するウイルスが分離されたのはこれまでに例がない。医学分野ではヒトレトロウイルス感染症に起因する神経障害が重要課題となっており、本ウイルスの神経病原性の解明はこうした疾患の理解の上でも意義深いと思われる。また、ALV の神経病原性発現機構の解明はさらなる癌化機構解明や治療法の開発に役立つと推察される。

ALV ゲノムには 3 つの遺伝子、*gag*, *pol*, *env* が含まれ、その両端を LTR が挟んでいる。*gag* はウイルス粒子形成に関わるグループ特異的抗原を、*pol* は逆転写酵素をコードしている。*env* はエンベロップ蛋白をコードして宿主細胞への吸着・侵入に関わり、細胞指向性やウイルス亜型を規定している。LTR には下流の遺伝子の転写を促す作用があり、5' 側 LTR はウイルス遺伝子の転写に使われるが、3' 側 LTR はその下流に癌遺伝子が存在すると細胞の癌化を引き起こしてしまう。

これまでに FGV は主に神経組織に病原性を示しグリオーマ、非化膿性脳炎、神経周膜腫と小脳低形成を誘発することがわかってきた。本研究課題によって、FGV の LTR とその転写因子の解析に有用な FGV LTR-GFP 導入 Tg 鶏を作製することができた。また、脳と末梢神経には FGV LTR と結合する転写因子 (蛋白質) が存在することを確認することができ、FGV 発癌に関与する転写因子や LTR の機能を解析する基礎を築くことができた。

*env* の機能についても新たな知見を得ることができた。Chesters, P *et al.* (*J. Gen. virol.* 83:2553-2561, 2002) はキメラウイルスの感染実験によって ALV 腫瘍の種類を決定づける主な因子はエンベロップ蛋白であることを報告した。本課題ではこの成績を検証するために FGV 変異株 4 株の感染実験ならびに FGV の *env*-SU 領域と RCAS (A) 株の同領域を入れ換えたキメラウイルスの感染実験を実施した。その結果、彼らとは異なる成績が得られ、FGV-*env* は神経病原性の主な規定因子ではないことが明らかになってきた。しかし、これら成績は Chesters, P *et al.* の説を完全に否定するものではなく、さらに遺伝子組換え体の数を増やして検証する必要がある。

これらのほか、本課題では FGV 変異株が野外で蔓延していること、FGV とは異なる神経病原性 ALV が複数株存在すること、採卵鶏由来グリオーマ誘発 ALV である TymS\_90 と FGV とは病原性に関与する分子生物学的共通点が見出されないことを明らかにした。

本課題で得られた成績は ALV が誘発する神経疾患の分子基盤は多様であることを示している。これら成果を踏まえ、今後はこれまで取り組んできた FGV 誘発腫瘍の解析を進展させるとともに、さらに複数の遺伝子組換え体の病原性解析を積み重ねることにより、レ

トロウイルスの神経病原性の分子基盤を明らかにしたいと考えている。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計4件)

① Hatai, H., Ochiai, K., Umemura, T. Detection of avian leucosis virus genome by a nested polymerase chain reaction using DNA and RNA from dried feather shafts, J. Vet. Diagn. Invest. 査読有, 21(4):519-522, 2009

② Hatai, H., Ochiai, K., Murakami, M., Imanishi, S., Tomioka, Y., Toyoda, T., Ohashi, K., Umemura, T., Prevalence of fowl glioma-inducing virus in chickens of zoological gardens in Japan and nucleotide variation in the env gene. J. Vet. Med. Sci. 査読有, 70(5):469-474, 2008

③ Hatai, H., Ochiai, K., Nagakura, K., Imanishi, S., Ochi, A., Kozakura, R., Ono, M., Goryo, M., Ohashi, K., Umemura, T., A recombinant avian leukosis virus associated with fowl glioma in layer chickens in Japan, Avian Pathol. 査読有, 37(2): 127-137, 2008

④ Ochi, A., Ochiai, K., Hatai, H., Umemura, T., Naturally occurring multiple perineuriomas in chickens (*Gallus domesticus*), Vet. Pathol. 査読有, 45(5): 685-689, 2008

〔学会発表〕(計7件)

①中村小百合, 落合謙爾, 畑井仁, 越智章仁, 寸田祐嗣, 梅村孝司, 新たに分離された神経膠腫誘発トリレトロウイルスの分子系統解析と神経病原性の比較, 第149回日本獣医学会学術集会, 2010年3月27日, 日本獣医生命科学大学, 東京

②唯野剛史, 落合謙爾, 畑井仁, 越智章仁, 小桜利恵, 大橋和彦, 寸田祐嗣, 梅村孝司, 採卵鶏の神経膠腫から分離されたトリ白血ウイルスの病原性, 第146回日本獣医学会学術集会, 2008年9月24日, ワールドコンベンションセンターサミット(シーガイア), 宮崎

③越智章仁, 落合謙爾, 畑井仁, 唯野剛史, 大橋和彦, 梅村孝司, 神経系に腫瘍原性を持つトリレトロウイルスの疫学的検索, 第145回日本獣医学会学術集会, 2008年3月29日, 麻布大学, 東京

④Hatai, H., Ochiai, K., Ochi, A., Ohashi, K., Umemura, T., Prevalence of fowl glioma in Japan and the causal avian leukosis viruses, Combined 58th and 42nd annual meeting of the American college of Veterinary Pathologists and the American Society for Veterinary Clinical Pathology,

November 11 -13, 2007, Savannah International Trade and Convention Center Savannah, Georgia, USA

⑤越智章仁, 落合謙爾, 畑井仁, 梅村孝司, 野外で発生した鶏の多発性神経周膜腫の病理学的検索, 第143回日本獣医学会学術集会, 2007年4月4日, つくば国際会議場, つくば

⑥畑井仁, 落合謙爾, 長倉克枝, 小桜利恵, 小野雅章, 御領政信, 大橋和彦, 梅村孝司, 採卵鶏に発生したいわゆるトリの神経膠腫の病理学的所見と疫学的考察, 第143回日本獣医学会学術集会, 2007年4月4日, つくば国際会議場, つくば

⑦豊田武士, 落合謙爾, 大橋和彦, 塚本徹哉, 立松正衛, 神経膠腫誘発トリレトロウイルスの神経病原性, 第65回日本癌学会学術総会, 2006年9月28日, パシフィコ横浜, 横浜

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

<http://www.vetmed.hokudai.ac.jp/organization/comp-pathol/daimoku-gli1.html>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

落合 謙爾 (OCHIAI KENJI)

北海道大学・大学院獣医学研究科・准教授  
研究者番号: 80214162

##### (2) 研究分担者

大橋 和彦 (OHASHI KAZUHIKO)

北海道大学・大学院獣医学研究科・教授  
研究者番号: 90250498

小野 悦郎 (ONO ETSURO)

九州大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号: 00160903

(H19→H20:連携研究者)

富岡幸子 (TOMIOKA YUKIKO)

北海道大学・遺伝子病制御研究所・助教  
(H20→H21:連携研究者)