

「増感 *in situ* hybridization 法によるアルボウイルス感染細胞・組織における特異遺伝子検出法の確立」

農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所九州支所
田中省吾、山川 睦、梁瀬 徹、佐藤真澄

増感 *in situ* hybridization (ISH) 法により、イバラキウイルスなど流行性牛異常産の原因となるアルボウイルス特異遺伝子を感染培養細胞や異常産牛胎子組織で検出する手法を確立し、牛胎子への実験的アカバネウイルス接種で感染が確認されたことや生後アカバネウイルス自然感染症例から、アカバネウイルス特異遺伝子を指標として牛胎子内におけるウイルス増殖機序や伝搬経路について検索が可能になった。

【研究の背景・ねらい】

牛の新興・再興アルボウイルス感染症に対する新たな診断法や予防法の開発に資するため、アルボウイルス特異遺伝子を感染細胞あるいは感染牛胎子・異常子牛組織内で検出する方法を確立し、アルボウイルス感染に対する生体防御機構が関与する病変形態の構築機序を明らかにする。

【研究の成果】

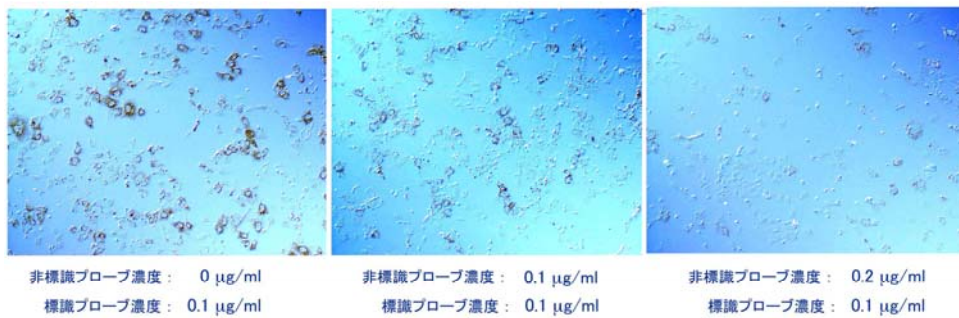


図 増感 *in situ* hybridization 法によるイバラキウイルス特異遺伝子検出

(1) イバラキウイルス (IBAV) 特異遺伝子が、実験感染細胞において増感 ISH 法により検出された (図)。特異遺伝子シグナルには、FITC 標識プローブと非標識

プローブの段階的の混在で競合が認められたことから、プローブの特異性が確認された。

(2) アカバネウイルス (AKAV) 実験感染牛胎子 (n=2) の中枢神経組織から AKAV が分離された。ウイルスが分離された小脳や延・頸髄では、1 頭のみで軽度な非化膿性髄膜脳脊髄炎が認められ、他 1 頭では軽度のグリア細胞増加とリンパ球浸潤がみられた。

(3) FITC 標識ピートシウイルス (PEAV) プローブは、PEAV mRNA を鋳型する cDNA の一部と同一の塩基配列を有する PCR 産物とのみ特異的にハイブリッドを形成し、Simbu 群ウイルスの識別にも使用可能であった。また、PEAV 感染培養細胞を用いた ISH 法でシグナルが観察された。

(4) 生後野外感染アカバネ病発症牛では、AKAV 抗原が中脳や橋など脳幹部の神経軸索や囲管性細胞浸潤を構築するマクロファージ、あるいは脊髄灰白質の神経線維に認められた。一方、AKAV 特異遺伝子は、脳幹部の神経細胞体や神経突起部、神経軸索を主体に微細顆粒状シグナルとして観察された。

「形態・整理」課題名： ウイルス性牛異常産におけるアルボウイルス特異遺伝子の組織内局在と病変形態の構築機序の解明

問い合わせ先：動物衛生研究所九州支所ヨーネ病研究チーム (http://niah.naro.affrc.go.jp/question/q_form.html)

主要論文等：1) Yamakawa, M. et al (2007) Molecular epidemiological analyses of the teratogenic Aino virus based on the sequences of a small RNA segment. 129:40-47. 2) Kono, R. et al (2008) Bovine epizootic encephalomyelitis caused by Akabane virus in southern Japan. BMC Vet. Res. (投稿中)