

審査の結果の要旨

氏名 北村(小林) 知也

コウモリは哺乳綱翼手目に分類される哺乳類の総称で約 1,300 種が知られている。これは全哺乳類種のうちの約 20%を占め、げっ歯目に次いで 2 番目に大きなグループである。コウモリは重症急性呼吸器症候群 (SARS) コロナウイルスやニパウイルスなどヒトや家畜に重篤な病原性を示すウイルスを保有し、新興・再興感染症の発生源母体として注目されている。海外において、様々なコウモリ種を対象として保有するウイルスが調査され、多くの種類のウイルスが検出されている。一方、わが国には 35 種類のコウモリ在来種が生息するが、これらが保有するウイルスに関してほとんど調べられていない。本研究では、ブラックボックスである日本のコウモリが保有するウイルス叢の一端を解明するとともに、その公衆衛生学的な重要性について考察した。

第 1 章では、ヒトに重篤な感染症を引き起こす SARS や中東呼吸器症候群 (MERS) 近縁ウイルスの存否を探るため、まずはコロナウイルスを標的に調査した。野生のコウモリから糞検体を採取し、特異的プライマーを用いた RT-PCR 法によって、236 検体中 62 検体からコロナウイルス RNA を検出した。塩基配列を決定し進化系統樹解析したところ、12 検体がアルファコロナウイルス属、26 検体がベータコロナウイルス属 lineage B、24 検体がベータコロナウイルス属 lineage C に分類され、日本産コウモリは様々な種類のコウモリコロナウイルスを保有することが明らかとなった。Lineage B および C には、それぞれ SARS や MERS コロナウイルスが属するが、今回検出されたウイルスはこれらとは異なっていた。次に、81 検体中 3 検体からへペウイルス RNA を検出した。これらはヒトの E 型肝炎ウイルスとは異なる *Orthohepevirus D* 種に属することが示された。

第 2 章では、236 の糞検体のうち 163 検体を哺乳動物種由来の 11 種類の培養細胞に接種し、ウイルス分離を試みたところ、モモジロコウモリおよびヒナコウモリの検体からウイルスの分離に成功した。これらは粒子形状やゲノム性状

からコウモリアデノウイルス (BtAdV) であることが分かった。DNA polymerase の配列に基づく進化系統樹解析で、両ウイルスは *Mastadenovirus* 属に属した。モモジロコウモリから分離した BtAdV-Mm32 はコウモリマストアデノウイルス A に分類されたが、ヒナコウモリから分離した BtAdV-Vs9 は新種の BtAdV であることが分かった。分離ウイルスは進化系統学的にイヌアデノウイルスに近縁であったが、抗原性には差異が認められた。いずれの分離ウイルスも広い培養細胞指向性を有していた。また、分離ウイルスは BALB/c マウスに経鼻感染させると、弱い病原性を示した。

第 3 章では、BtAdV の広い細胞指向性のメカニズムを探索するために、複数の AdV の受容体として知られるコクサッキー・アデノウイルス受容体 (CXADR) の BtAdV の細胞侵入における役割を調べた。まず、分離ウイルスが効率よく増殖するイヌ由来 MDCK 細胞から CRISPR-Cas9 システムを用いて CXADR をノックアウトした細胞を作製したところ、BtAdV の感染性や増殖性が有意に低下した。一方、組換えレンチウイルスでイヌ CXADR を再導入した細胞を作製したところ、BtAdV の感染性や増殖性は野生型細胞と同様なレベルまで回復した。したがって、イヌ CXADR が MDCK 細胞における BtAdV の感染性や増殖性を規定していることが示された。さらに、ヒトやコウモリの CXADR を導入した MDCK 細胞においても、BtAdV の感染性や増殖性が同様のレベルまで上昇した。これらの結果から、BtAdV は複数の哺乳類 CXADR を機能的な受容体として利用することにより他の哺乳類細胞へ感染するというメカニズムが考えられた。

以上、本研究によって、日本に生息する在来コウモリが保有するウイルス叢の一端が初めて解明され、さらに新種ウイルスの分離にも成功した。また、本研究で明らかにされた BtAdV が CXADR を介してヒトに伝播しうる潜在性は、公衆衛生学的な見地からも重要な知見となる。これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士 (獣医学) の学位論文として価値あるものと認めた。