HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on molecular determinants for susceptibilities of bats to filoviruses [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	高舘, 佳弘
Citation	北海道大学. 博士(獣医学) 甲第14110号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/78576
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Yoshihiro_TAKADATE_review.pdf (審査の要旨)

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）　　氏名：高舘　佳弘

審査委員	主査　教授	高田　礼人
	副査　教授	澤　　洋文
	副査　教授	東　　秀明
	副査　教授	迫田　義博

学位論文題名

Studies on molecular determinants for susceptibilities of bats to filoviruses

（フィロウイルスに対するコウモリの感受性を決定する分子基盤に関する研究）

フィロウイルスは進化系統学的に 5 属に分類され、これまでに 9 種類のウイルスが見つかっている。その中で、Ebola virus (EBOV)および Marburg virus (MARV)はヒトを含む霊長類動物に重篤な出血熱を引き起こす。コウモリがフィロウイルスの自然宿主として有力視されているが、コウモリ種間でのフィロウイルスに対する感受性が大きく異なる事が示唆されている。しかし、感受性の違いを決定する因子は殆ど不明である。本学位論文ではフィロウイルスのレセプターの一つである Niemann-Pick C1 (NPC1)とウイルス粒子表面糖蛋白質(GP)との相互作用に着目し、フィロウイルスに対するコウモリの感受性を決定する分子機構を解析した。

第一章では、まず EBOV および MARV に対するコウモリの感受性を調べた。異なる 8 種のコウモリに由来する細胞を用いて、EBOV および MARV の GP を持つシュードタイプ水疱性口炎ウイルスならびに感染性の EBOV および MARV に対する感受性を比較した結果、ヤエヤマオオコウモリ由来の細胞株 FBKT1 およびストローオオコウモリ由来の細胞株 ZFBK13-76E が、それぞれ MARV および EBOV に対して殆ど感受性を示さない事が分かった。そこで、GP のレセプター結合部位が相互作用する NPC1 のドメイン C に存在する 2 つの loop 領域のアミノ酸配列をコウモリ間で比較したところ、FBKT1 および ZFBK13-76E には、他のコウモリにはみられない特徴的な配列が認められた。次に、EBOV および MARV の両方に対して高い感受性を示すヒト由来の細胞株 HEK293T の NPC1 にそれらの特徴的な配列を導入した NPC1 変異体を作出し、NPC1 をノックアウトした Vero E6 細胞に発現させ、EBOV および MARV に対する感受性を比較した。その結果、FBKT1 と ZFBK13-76E の配列を導入した NPC1 変異体を発現する細胞では、それぞれ MARV および EBOV に対する感受性が低下した。また、FBKT1 および ZFBK13-

76E の NPC1 に HEK293T 由来の配列を導入した NPC1 変異体を発現させた細胞では、MARV および EBOV の両方に感受性を示した。さらに、loop 領域と相互作用する GP のレセプター結合領域に、MARV と EBOV 間で異なるアミノ酸が存在する事から、それらを入れ換えたウイルスの FBKT1 および ZFBK13-76E への感染性を比較する事によって、EBOV および MARV の感染性の違いに関与するアミノ酸を特定した。以上の結果により、NPC1 および GP のアミノ酸配列の違いが MARV および EBOV に対するコウモリ細胞の感受性の違いを決定する重要な因子である事が明らかとなった。

第二章では、スペインの洞窟内に生息する食虫コウモリから検出された、EBOV および MARV とは進化系統学的に異なるフィロウイルス (Lloviu virus: LLOV) を解析した。まず、上述の 8 種のコウモリ由来細胞を用いて、EBOV および LLOV の GP を持つシュードタイプウイルスに対する感受性を比較した。その結果、ユビナガコウモリの近縁種由来の SuK12-08 細胞が LLOV に高い感受性を示すが、EBOV には殆ど感受性を示さない事が判明した。そこで、NPC1 の loop 領域のアミノ酸配列を、8 種のコウモリ間で比較したところ、SuBK12-08 の loop 領域の近傍には、他のコウモリにはみられないアミノ酸配列が確認された。次に HEK293T の NPC1 に SuBK12-08 のドメイン C 領域を導入したキメラ NPC1 を NPC1 ノックアウト Vero E6 に発現させ、EBOV および LLOV に対する感受性を比較した。その結果、SuBK12-08 由来の NPC1 ドメイン C を発現させた細胞では、LLOV に対する感受性の上昇および EBOV に対する感受性の低下が確認された。また、GP の NPC1 結合領域に EBOV および LLOV 間で複数の異なるアミノ酸配列が存在したため、それらを入れ換えたウイルスの感染性を比較する事によって、SuBK12-08 における LLOV の高い感染性に関与するアミノ酸を同定した。以上の結果により、第一章と同様に、NPC1 および GP のアミノ酸配列の違いが LLOV に対するコウモリ細胞の感受性を決定する因子である事が示唆された。

フィロウイルスの自然界における生態の解明は、野生動物からヒトへのウイルス伝播を未然に防ぐために重要である。したがって、フィロウイルスによる感染症の予防と制圧のためには、その自然宿主とヒトへの伝播を仲介する感受性動物の特定が必要となる。本研究によって、フィロウイルスの宿主域を決定する分子メカニズムの一端が明らかとなり、その成果はフィロウイルスの生態解明のための一助となる事が期待される。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者高舘佳弘氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。