



Title	Generation of bat-derived influenza viruses and detection of virus-specific antibody in African bats [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	佐藤, 匡浩
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第13502号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74779
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Masahiro_SATO_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨
Abstract of the dissertation

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：佐藤 匡浩

Name

学位論文題名
The title of the doctoral dissertation

Generation of bat-derived influenza viruses and detection of virus-specific antibody in African bats

（コウモリ由来インフルエンザウイルスの作出とアフリカのコウモリからの特異抗体検出）

< abstract >

A 型インフルエンザウイルスは、オルソミクソウイルス科に属し、ヒトを含む哺乳類と鳥類に感染する人獣共通感染症病原体である。A 型インフルエンザウイルスは、8 分節のマイナス一本鎖 RNA をゲノムに持ち、表面糖蛋白質であるヘマグルチニン（HA）およびノイラミニダーゼ（NA）の抗原性の違いにより亜型に分類される。16 種類の HA（H1-H16）と 9 種類の NA が自然宿主である野生水禽の中で維持されており、HA と NA の組み合わせによる多様な亜型のウイルスが自然界に存在する。

中南米の食果コウモリから新しい A 型インフルエンザウイルス様ゲノムが検出され、新しいインフルエンザウイルス（H17N10 および H18N11 亜型）として報告されたが、感染性ウイルス粒子が感染動物から分離されていないため、これらのコウモリインフルエンザウイルスの生物学的特性のおおく不明である。第 1 章ではリバースジェネティクス法を用いて H17N10 および H18N11 亜型のコウモリインフルエンザウイルスの感染性粒子を作出した。ウイルスゲノム合成プラスミドとウイルスポリメラーゼ発現プラスミドをトランスフェクションした HEK293T 細胞の細胞内ならびに培養上清中から HA、NA およびウイルスマトリックス蛋白質が検出されたことから、コウモリインフルエンザウイルスのポリメラーゼはヒト由来の細胞株である HEK293T 細胞内で機能することが確認された。培養上清中には球状とフィラメント状の異なる 2 種類の形態を有したウイルス粒子が透過型電子顕微鏡により観察された。作出したウイルス粒子を哺乳類ならびに鳥類由来の細胞株に接種したところ、ユビナガコウモリ属のコウモリ由来の細胞株にのみ感染性を示した。2 種のコウモリインフルエンザウイルス（H17N10 および H18N11）の間で HA および NA を入れ換えた遺伝子再集合体ウイルス（H17N11 および H18N10）の作出にも成功し、感受性を示すコウモリ由来細胞株への感染も

確認した。このことから、H17N10 および H18N11 コウモリインフルエンザウイルスは自然界で遺伝子再集合を起こす可能性が示唆された。

H17N10 および H18N11 ウイルスの RNA ゲノムは中南米の食果コウモリから検出されているが、コウモリを対象としたインフルエンザウイルス感染症の疫学調査の報告が限られていることから、その生態学的分布は不明である。第 2 章では、アフリカ南部のザンビア共和国で捕獲した合計 821 個体の食果および食虫コウモリから採取した血清を用いて、H17、H18 および H5 亜型のインフルエンザウイルスに対する抗体の検出を試みた。精製 HA を抗原とし、酵素標識したプロテイン A および G によって抗体を検出する ELISA 法を用いて 821 検体をスクリーニングした結果、合計 43 検体 (5.2%) が陽性となり、亜型ごとでは、H17、H18 および H5 に対してそれぞれ 20 検体 (2.4%)、8 検体 (1.0%) および 15 検体 (1.8%) が陽性であった。検出されたほとんどの抗体は亜型特異的であり、他の亜型との交差反応性を示さなかった。陽性血清の大多数は食果コウモリ (*Rousettus aegyptiacus* および *Eidolon helvum*) 由来であったが、食虫コウモリ (*Miniopterus schreibersii*) からも H17 に対する抗体が検出されたことから、食虫コウモリもインフルエンザウイルスに感染することが示唆された。これらの結果は、アフリカのコウモリにおける H17 および H18 亜型のインフルエンザウイルス感染を示唆するとともに、H5 亜型の鳥インフルエンザウイルスに抗原性が類似した HA を持つコウモリインフルエンザウイルスの存在を示唆している。

本研究では、遺伝子配列のみが知られていたコウモリインフルエンザウイルスの感染性粒子および遺伝子再集合体の作出に成功し、感受性を示す細胞株を特定した。また、ザンビア共和国で捕獲したコウモリの血清中にインフルエンザウイルスの HA に反応性を示す抗体が検出されたことから、アフリカ南部に生息するコウモリにインフルエンザウイルスが感染している可能性が示唆された。以上のことから、本研究はコウモリインフルエンザウイルスの生物学的特性と生態学的分布を理解するための重要な情報を提供した。しかし、本ウイルスの病原性、人獣共通感染症病原体としての可能性、宿主域、分布域および進化過程に関する情報は依然として限られるため、今後の更なる研究が必要である。