



|                     |                                                                                                                                                                         |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 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             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/74779">https://hdl.handle.net/2115/74779</a>                                                                                       |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/</a>                                                     |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                                                                         |
| File Information    | Masahiro_SATO_review.pdf, 審査の要旨                                                                                                                                         |



## 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：佐藤 匡浩

|      |       |       |
|------|-------|-------|
| 審査委員 | 主査 教授 | 高田 礼人 |
|      | 副査 教授 | 澤 洋文  |
|      | 副査 教授 | 伊藤 公人 |
|      | 副査 教授 | 迫田 義博 |

## 学位論文題名

### 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)

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、ヒトを含む哺乳動物と鳥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）および 9 種類の NA（N1-N9）が本ウイルスの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。

近年、中南米の食果コウモリ（*Sturnira lilium* および *Artibeus planirostris*）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、新しい亜型のインフルエンザウイルス（H17N10 および H18N11）として報告された。しかし、感染性ウイルス粒子がコウモリ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性状の多くは不明である。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。ウイルスゲノム供給用プラスミドとウイルスポリメラーゼおよび核蛋白質 NP 発現プラスミドを HEK293T 細胞に導入した結果、細胞内ならびに培養上清中に HA、NA およびウイルスマトリックス蛋白質がウェスタンブロット法で検出された。また、培養上清中には異なる 2 種類の形態（球状およびフィラメント状）の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様々なコウモリ由来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。また、2 種のコウモリインフルエンザウイルス（H17N10 および H18N11）の間に HA および NA を入れ換えた遺伝子再集合体（H17N11 および H18N10）の作出にも成功したことから、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 コウモリインフルエンザウイルスの RNA ゲノムは中南米の食果コウモリから検出されたが、その他の地域のコウモリを対象としたインフルエンザウイルスの保有調査が限られていることから、その生態および分布域は不明である。第2章では、アフリカ南部のザンビア共和国で捕獲した 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 および鳥インフルエンザウイルス由来の 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。分泌型に改変した HA を発現するプラスミドを培養細胞に導入し、培養上清から HA を精製し抗原とした。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、計 43 検体 (5.2%) からインフルエンザウイルス HA 特異抗体が検出された。亜型毎の抗体陽性数は、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%) 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。一方、食虫コウモリ (*Miniopterus schreibersii*) から 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対して感受性を示す可能性が示唆された。これらの結果から、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ならびに 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が示唆された。

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がインフルエンザウイルスを保有している可能性が示唆された。これらの研究成果によって、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。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者佐藤匡浩氏の学位論文は、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。