



Title	Studies on zoonotic viruses isolated from wild animals with an optimal isolation method for protease-dependent viruses [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	岸本, 麻衣
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第15520号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89969
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Mai_Kishimoto_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： 岸本 麻衣

審査委員	主査 教授	迫田 義博
	副査 教授	好井 健太朗（長崎大学）
	副査 教授	澤 洋文
	副査 講師	佐々木 道仁

学位論文題名

Studies on zoonotic viruses isolated from wild animals with an optimal isolation method for protease-dependent viruses

（プロテアーゼ依存性ウイルスの高効率分離法により分離された
野生動物由来ウイルスに関する研究）

人獣共通感染症の多くは野生動物からの伝播を経て出現したと考えられているため、野生動物の保有するウイルスの調査はワンヘルスの観点から重要である。近年、メタゲノム解析技術の普及に伴い、様々な新規ウイルスゲノムが検出されている。しかし、ほとんどの報告はゲノム解析に留まっており、ウイルス分離および性状解析の試みは十分ではない。特に、プロテアーゼ依存性ウイルスは、培養細胞での増殖時に無血清培地下でトリプシンを作用させる必要があるため、細胞傷害が生じやすく、ウイルス分離が困難である。これまで、宿主II型膜貫通型セリンプロテアーゼ（TTSP）発現細胞において、トリプシン非存在下でもプロテアーゼ依存性ウイルスの感染増殖が可能であることが示されているが、野生動物からの網羅的なウイルス分離に用いた例は少ない。そこで本研究では、TTSP発現細胞を用いて野生動物由来検体からウイルス分離を実施し、分離したウイルスの性状解析を実施することを目的とした。

第一章では、代表的なプロテアーゼ依存性ウイルスである SARS-CoV-2 の感染を促進する TTSP を検索した。SARS-CoV-2 は、TMPRSS2 などの TTSP を利用して、ウイルスのスパイクタンパク質を切断・活性化し細胞侵入効率を上昇させるが、TMPRSS2 以外の TTSP の役割については解明されていない。そこで、12 種類の TTSP を強制発現した細胞に対する SARS-CoV-2 の感染性を評価し、TMPRSS11D および TMPRSS13 が SARS-CoV-2 の感染増殖を促進することを明らかにした。

第一章で得られた知見と過去の報告を元に、様々な TTSP 発現培養細胞を用いて、ザンビアの野生動物検体からウイルス分離を実施した。第二章では、ザンビアで採取した齧歯類動物

(*Mastomys natalensis*) から分離した脳心筋炎ウイルス (EMCV) の性状解析を実施した。EMCV は多種の哺乳類動物に感染し、多様な症状を引き起こす。特に、養豚場における繁殖障害や、動物園や野生動物保護区等での希少動物の突然死は経済・環境の観点から重要な問題である。系統解析の結果、分離株は一部のゲノム領域で既知の EMCV 株と離れた系統に分類され、特徴的な進化系統を有することが示された。さらに、ザンビア各種齧歯類動物の RT-PCR スクリーニングと中和抗体測定を実施した結果、*M. natalensis* のみから EMCV ゲノムおよび中和抗体が検出され、RT-PCR 陽性、陰性検体どちらにおいても、高い中和抗体価が確認された。他種の齧歯類動物ではゲノムおよび中和抗体は検出されなかった。本章では、ザンビアで初めて EMCV を検出し、*M. natalensis* がレゼルボアの役割を担うことを示唆する結果を得た。今後ザンビアの養豚場や野生動物保護区における EMCV の調査が必要と考えられた。

第三章では、コウモリ (*Rousettus aegyptiacus*) およびマストミス (*M. natalensis*) から分離したロタウイルス A (RVA) の性状解析を実施した。RVA はヒトや多種の動物に下痢性疾患を引き起こす。近年、コウモリおよび齧歯類動物由来 RVA との遺伝子再集合を示唆するヒト RVA の検出について複数の報告が有る。しかし、非典型的遺伝子型を含むコウモリおよび齧歯類動物由来 RVA のウイルス学的性状はこれまでほとんど解明されていない。全ゲノム配列解析の結果、コウモリ由来 RVA 16-06 株およびマストミス由来 RVA MpR12 株は、非典型的遺伝子型構造を有していた。次に、RVA が細胞侵入する際の接着因子である細胞表面糖鎖と RVA の結合性を調べた結果、16-06 株はシアル酸依存的に、MpR12 株はシアル酸非依存的に細胞侵入することが明らかになった。さらに、乳飲みマウスへの経口接種により病原性を評価した結果、16-06 株および MpR12 株は乳飲みマウスに感染し、下痢を引き起こした。また、3次元再構築したヒト初代腸管上皮細胞に対する RVA の感染性を調べた結果、16-06 株および MpR12 株は、ヒト由来 RVA と同等の効率で感染増殖することが明らかになった。今回単離した RVA が実際にヒトへの感染を起こす可能性を調査するため、今後、多様な遺伝子型の RVA を標的としたザンビアのヒト検体の疫学調査の必要性が示された。

本研究は、プロテアーゼ依存性ウイルスに着目して野生動物検体からのウイルス分離を実施し、ザンビアにおける EMCV および RVA に関する重要な知見を得た。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者岸本麻衣氏の学位論文は、北海道大学大学院国際感染症学院規程第 10 条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。