



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Molecular and virological studies of viruses isolated from bats [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Intaruck, Kittiya
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(感染症学)
Dissertation Number	甲第16161号
Issue Date	2024-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/93828
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Kittiya_Intaruck_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（感染症学）

氏名：Kittiya Intaruck

審査委員	主査 教授	荻和 宏明
	副査 教授	澤 洋文
	副査 准教授	松野 啓太
	副査 准教授	佐々木 道仁

学位論文題名

Molecular and virological studies of viruses isolated from bats
(コウモリから単離されたウイルスのゲノムおよびウイルス性状に関する研究)

近年、エボラウイルス病、マールブルグ病、ニパウイルス感染症等、コウモリが媒介するウイルス性人獣共通感染症は、国際社会に深刻な影響を与えている。現在、ハイスループットシーケンシング法に代表されるゲノム解析技術の進歩により、コウモリ由来の検体からウイルスゲノムを探索・同定する研究は容易になり、新規ウイルスゲノムの発見、ウイルスゲノムの多様性、および進化系統解析によるウイルス進化の研究が加速している。一方、現在でも、伝統的なウイルス単離、単離したウイルスを用いた病原性の解析研究は重要である。

本研究の第1章では、2013年にインドネシアで採集した食果コウモリの糞便検体を対象としたPCRスクリーニングを実施、PCR陽性検体を培養細胞に接種することにより、レオウイルス科オルソレオウイルス属のネルソンベイオルソレオウイルス種に分類されるパグヤマンオルソレオウイルス：PgORVを分離し、その性状を解析した。ウイルスゲノム解析の結果、PgORVはインドネシアとマレーシアの患者から分離された株（MB/07とSikamat）と、フィリピンでコウモリから分離された株（Samal-24とTalikud-80）との間で、リアソートメント（遺伝子再集合）により出現したことが示唆された。また、各種哺乳類動物由来の細胞株での増殖性を比較した結果、PgORVはハムスター由来のBHK-21細胞、またサル由来のVero E6細胞に比較して、ヒト由来のA549、Caco-2、HEK293T細胞株で、Multiplicity of Infection: moi=0.01で接種後、24時間で、 $10^4 \sim 10^{5.5}$ Plaque-Forming Unit: pfu/mLで高率に増殖する事が判明した。次に、PgORVを4週齢のBALB/cマウスに経鼻接種すると、肉眼的、および組織学的に重度の肺炎が認められ、PgORVは哺乳類動物に感染した際には、病原性を有する可能性が示された。さらに、インドネシアで採集した食果コウモリの血清133検体を用いて、PgORVに対する中和活性を測定した結果、133検体中、108検体において中和活性が認められた。以上の結果

から、PgORV はインドネシアの食果コウモリにおいて、感染が蔓延していること、PgORV が他の動物やヒトへの感染リスクを有することが示唆された。

第2章では、第1章と同様に、2013年にインドネシアで採集した食果コウモリ由来の検体を乳剤にし、直接哺乳類動物由来の培養細胞に接種することによりウイルスを分離し、その性状解析を実施した。分離されたウイルスが感染することにより、細胞には細胞変性効果 (Cytopathic effect : CPE) が観察された、CPEを呈した細胞の上清を濃縮して、電子顕微鏡でウイルス粒子を確認した結果、単離されたウイルスは特徴的な車軸様構造を有しており、レオウイルス科であることが示唆された。単離されたウイルスの全ウイルスゲノム解析を実施した結果、レオウイルス科オルソレオウイルス属哺乳類オルソレオウイルス (MRV) 種のゲノムと 73.3-95.3%の配列同一性を有していることが判明し、本ウイルスを MRV12-52 と命名した。MRV12-52 のゲノムを他の MRV と比較した結果、L1-L3、M1-M3、S2、S3 セグメントでは配列同一性が低く、特に virus factory-like structure の形成に必要な非構造タンパク質をコードしている M3 セグメントでの配列同一性が低かった。MRV12-52 は BHK-21 細胞、A549 細胞株で高い増殖能を認めた。MRV は哺乳類動物に感染した際には、通常無症状であり、軽度の消化器感染症を起こすことが報告されている。一方、 10^6 Focus-Forming Unit : ffu の MRV12-52 を4週齢の BALB/c マウスに経鼻接種すると、肉眼的、病理学的に重度の肺炎を引き起こし、75%の死亡率を示した。以上の結果から、インドネシアにおける食果コウモリによって媒介される MRV12-52 が公衆衛生上の脅威となりうることを示した。

本論文は、インドネシアの食果コウモリ媒介性ウイルスが哺乳類動物に病原性を有する事実を明らかにして、公衆衛生上重要な知見を提示している。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 Kittiya Intaruck 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。