

# 日本在来コウモリのウイルス叢探索

～日本のコウモリは病原ウイルスを媒介しているのか？～

東京大学大学院農学生命科学研究科獣医学専攻 博士課程 4 年（助成時）

国立感染症研究所 任期付き研究員（現 在）

北村 知也

## 1. 背景と目的

コウモリは哺乳綱翼手目に分類される哺乳類の総称で、約 1,300 種類が知られている。コウモリはヒトや家畜、伴侶動物に対して病原性を示す、様々な感染症病原体の自然宿主であるため、コウモリが保有するウイルスは精力的に研究されている。わが国ではコウモリが保有するウイルスに関する研究報告はほとんどない。しかしながら、日本に生息するドーベントンコウモリ *Myotis petax* に近縁な外国産コウモリからリッサウイルスなどの病原体が検出されており、国内のコウモリについてもウイルス叢探索は急務である。また、温暖化の影響で生物の分布の高緯度への遷移が推測されている。コウモリは海を越えた移動も報告されており、この影響を受けてニパウイルスなどの人獣共通感染症病原体を保有する熱帯産コウモリが越境性に国内に分布域を広げる可能性がある。このような背景から、国内のコウモリが保有するウイルス種を体系的に把握し、かつそのウイルス性状を明らかにすることが肝要である。

本研究では、日本のコウモリから分離したコウモリアデノウイルス（BtAdV）の性状解析を実施した。BtAdV の興味深い特徴の 1 つとして、様々な哺乳動物種由来培養細胞において増殖することが報告されている。私たちは BtAdV の受容体（コクサッキーウイルスアデノウイルス受容体：CXADR）を同定し、解析したところ、BtAdV が様々な哺乳動物種由来の CXADR を介して細胞に感染することが分かった。すなわち、CXADR は BtAdV の *in vitro* における広い宿主域を決定する一要因であることが明らかとなった。

## 2. 結果と考察

### 2.1 CXADR-knockout 細胞における BtAdV の感染性と増殖性

ウイルスは、細胞表面の特定のタンパク質（受容体）に結合し、細胞に侵入する。例えば、CXADR はヒトやイヌのアデノウイルスの受容体として働くことが報告されている。CXADR の BtAdV の感染における役割を明らかにするために、BtAdV の増殖性が高いイヌ MDCK 細胞から CRISPR-Cas9 システムを用いて CXADR 遺伝子をノックアウトした細胞（CXADR-KO）を作製した。まず、CXADR-KO 細胞へのウイルスの感染性について調べるために、BtAdV を野生型（WT）細胞または CXADR-KO 細胞に感染させ、IFA によりウイルス抗原を検出した。図 1-A には感染 24 時間後に実施した IFA の一例を示した。ウイルス抗原陽性細胞をカウントし、定量したところ、いずれのウイルスにおいても、抗原陽性細胞の数は WT 細胞よりも CXADR-KO 細胞において有意に少なかった（図 1-B）。CXADR の BtAdV の感染における役割をさらに解析するために、BtAdV の増殖動態を解析した（図 1-C）。その結果、いずれのウイルスでも、感染後の各時点でのウイルス力価は、WT よりも CXADR-KO 細胞において低かつ

た。これらの結果から、CXADR が BtAdV の感染や増殖において重要な役割を果たすことが分かった。

## 2.2 様々な哺乳動物種由来 CXADR の BtAdV の感染や増殖における役割

CXADR-KO 細胞で観察された BtAdV の感染性や増殖性の低下が CRISPR-Cas9 システムによるオフターゲット効果ではないことを確認するために、レンチウイルスベクターを用いて CXADR-KO 細胞にイヌ (c) CXADR 遺伝子を再導入した cCXADR 再導入細胞を作製した。また、他の哺乳類種由来 CXADR が CXADR-KO 細胞における BtAdV の増殖を促進するかどうかを調べるために、ヒト (h) およびコウモリ (b) の CXADR 遺伝子を導入した細胞を作成した。次いで、これらの細胞における BtAdV の感染性および増殖性について解析した。興味深いことに、いずれの CXADR を導入した細胞においても、BtAdV は WT 細胞と遜色ない感染性を示した (図 1-A, B)。また、ウイルスの増殖性についても、WT 細胞と同等であった (図 1-C)。これらの結果は、BtAdV がイヌに加えてヒトやコウモリの CXADR を受容体として利用できることを示唆している。

## 2.3 BtAdV の CXADR に対する吸着

BtAdV と CXADR の相互作用を直接的に調べるため、BtAdV の細胞表面への吸着量を real-time PCR 法によって定量した。その結果、CXADR-KO 細胞において、BtAdV の吸着量の有意な減少が観察された。この吸着量の低下は、イヌ、ヒトおよびコウモリ CXADR を導入することで完全に回復した (図 1-D)。これらの結果から、BtAdV が複数種の哺乳動物由来 CXADR に吸着し、細胞受容体として利用していることが示唆された。

## 3. 今後の展望

本研究によって、BtAdV がヒトを含む哺乳動物由来の CXADR を機能的な受容体として利用して、それらの細胞に感染することを初めて明らかにした。この結果は、コウモリのウイルスがヒトを含む哺乳動物に伝播する潜在性を示したものである。今後、対象とするコウモリ種を広げ、それらが保有するウイルスを網羅的に調査することにより、コウモリ種や生息域ごとのウイルス叢や、動物種を超えて感染しうるウイルスの存否が明らかなることを期待する。

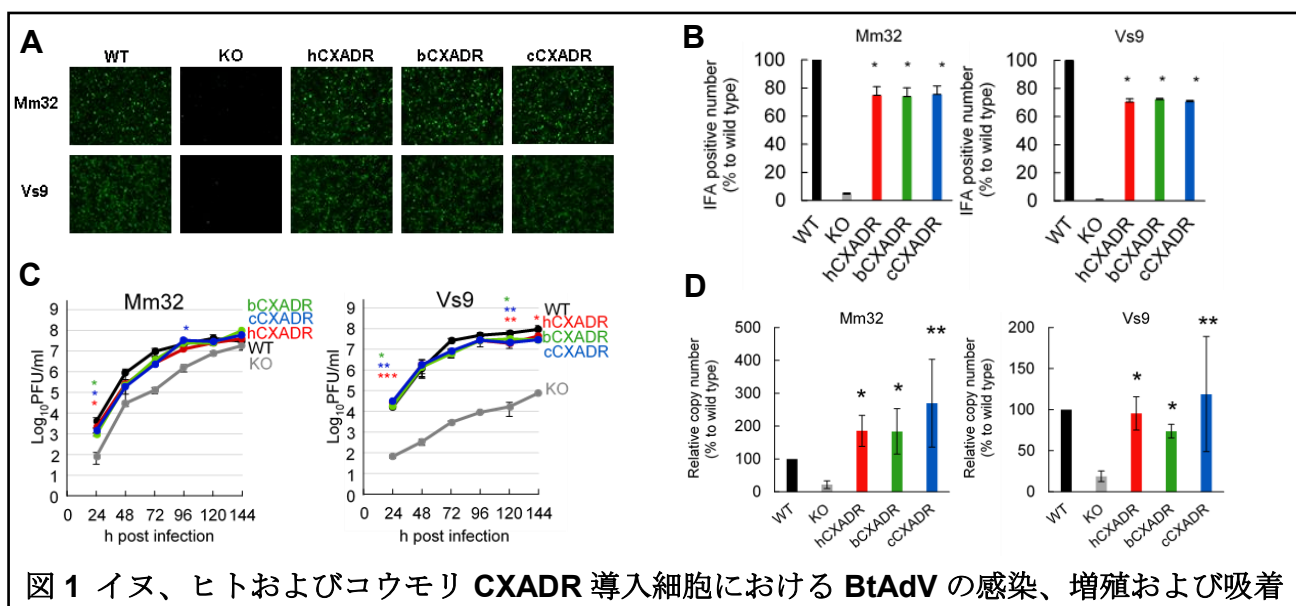


図 1 イヌ、ヒトおよびコウモリ CXADR 導入細胞における BtAdV の感染、増殖および吸着