

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者氏名 大松 勉

翼手目（コウモリ）は様々な病原体の媒介動物、もしくは宿主動物として近年注目を集めている。これまでコウモリはエコーロケーション能やトーパーなどについて研究されてきたが、その生体機能に関しては未だ多くの謎に包まれている。病原体媒介動物としての評価を行うには、免疫機能だけでなく生態・系統関係・生理機能・病理学的特徴といった基礎情報を明らかにし、総合的に解析することが重要である。本論文では、コウモリに関する基礎情報としてルーセット属オオコウモリの系統学的背景やウイルス制御因子についての解析を行っている。

第 1 章 ルーセットオオコウモリ属の生物学的背景について

コウモリはげっ歯目に次ぐ多様性を持つ哺乳類であり、オオコウモリ亜目とココウモリ亜目に分類される。まず、本論文の研究対象であるエジプトルーセットオオコウモリおよびデマレルーセットオオコウモリのミトコンドリア DNA(mtDNA)の塩基配列を決定し系統遺伝学的位置を明らかにした。その結果、①彼らはオオコウモリの中でも比較的最近分岐した、②オオコウモリ全体として小コウモリであるキクガシラコウモリ上科群との共通祖先から分岐した、③偶蹄目・奇蹄目・食肉目等からなる群と近縁である、可能性が示唆された。

次に、免疫関連因子である CD4、IgFcRn、type I IFNs について蛋白コード領域の全塩基配列を決定し系統解析を行ったところ、mtDNA による解析と同様、偶蹄目や食肉目などとの近縁性が示唆された。さらに細胞表面分子である CD4 や IgFcRn のアミノ酸解析において、ヒトやマウス等にはない挿入配列や欠損配列が見られ、中にはコウモリ特異的な配列も確認されたことから、ヒトやマウスなどとは異なる三次元構造を形成し、感染病原体や細胞間結合に影響を及ぼす可能性が示唆された。コウモリはヒトへの感染症媒介動物として注目されるが、これらの結果から伴侶動物・産業動物への感染症の媒介動物としての可能性も示唆された。

また、抗オオコウモリ IgG 抗体を用いた競合 ELISA 法による IgG 抗原エпитオプの類似性について検索を行った結果、本抗体はココウモリを含めたコウモリ全般にのみ高い特異性を示し、他の近縁動物に対する類似性は低いという結果が得られた。本結果から、蛋白構造からもコウモリが単系統であることが示唆された。

以上のように、研究対象であるエジプトルーセットオオコウモリおよびデマレルーセットオオコウモリの生物学的背景が明らかになったことは、今後のコウモリ由来感染症を解明する上での重要な足掛かりになると考えられる。

第2章 ウイルス制御に関与する因子の検索

生体を持つウイルス制御因子としては、自然免疫や獲得免疫、体温といったものが考えられる。そこで、まず通常飼育条件および擬似的な自然環境条件下におけるデマレルーセットオオコウモリの腹腔内温度変化を検索した。その結果、全ての条件下において暗期（活動期）での平均体温は 38℃を越えていたが、明期に関しては通常飼育条件下で変動幅が最も大きくなることが明らかになった。コウモリの体温変動幅は他動物種に比べ大きく、これがコウモリ体内でのウイルス制御に関わる因子の1つになりえるという点は非常に興味深い。

in vivo においては、獲得免疫に関わる脾臓を対象として野生オオコウモリ・野生コウモリ・飼育オオコウモリ間で比較検索を行った。まず、著変のない脾臓における免疫組織学的の結果、各免疫細胞の分布は他の哺乳類と同様であることがわかった。また、各群における脾臓の免疫活性についての病理組織学的評価の結果、野生オオコウモリにおいて有意に免疫機能活性化像が観察され、野生においてはコウモリに比べオオコウモリで高率に病原体の侵入を受けている可能性が示唆された。本結果は、今後の疫学調査におけるオオコウモリの重要性を示唆する有用な知見であると考えられる。

in vitro においては、自然免疫関連因子である type I IFN に注目した。デマレルーセットオオコウモリ腎由来初代培養細胞とコウモリ肺由来株化細胞間で見られた type I IFN mRNA 発現の差が、ウイルスによる細胞変性効果(CPE)に影響を及ぼしている可能性が示唆されたことから、コウモリ type I IFN 下流因子の同定を行い、そのうち UBP43 の発現が CPE 発現に影響を及ぼしている可能性が示唆された。これらの成果は、今後細胞レベルにおけるウイルス制御機構の解明を行っていく上で、非常に重要な基礎情報になるものと考えられる。

本論文は、野生動物由来感染症が増加している現在において、野生動物からの解明を目指すという獣医学領域としての貢献が非常に大きな研究である。よって、審査委員一同、本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。