



# 審査結果報告書

2023年 1月 25日

主査 氏名 清 和成 

副査 氏名 末永 忠広 

副査 氏名 中村 正樹 

副査 氏名 前花 祥太郎 

1. 申請者氏名 : 吉田 勲
2. 論文テーマ : 流行初期の新型コロナウイルス分離とその性状解析及び変異株の効果的ウイルス分離法構築に関する研究

### 3. 論文審査結果 :

新型コロナウイルス感染症のパンデミックは、発生から約3年を経過してもなお、沈静化の兆しはない。その間、原因ウイルスである SARS-CoV-2 は、武漢株、R1 株、アルファ株、デルタ株、オミクロン株と変異を繰り返してきたが、迅速かつ効率的で正確な検査や治療薬の開発のためには、検査方法の評価とともに臨床分離株の確実かつ効率的な分離と安定的な感染性ウイルスの維持、保存が不可欠である。

本研究では、このような多岐にわたる臨床ならびに社会のニーズに応えることを目的として、臨床検体からの SARS-CoV-2 の分離培養法の検討、下痢症を呈する COVID-19 患者糞便からの SARS-CoV-2 の分離に関する検討、SARS-CoV-2 の迅速抗原検査法 (RAT) の有用性の検討、Caco-2 細胞による SARS-CoV-2 持続感染系の構築、オミクロン株の Vero 系細胞を用いた分離の高効率化に関する検討などの一連の研究を実施し、成果をとりまとめている。

流行の最初期に国内で臨床検体から分離された SARS-CoV-2 の遺伝子配列を次世代シーケンサーによって解析したところ、COVID-19 発生時の武漢株とほぼ同様であったことを明らかにした。また、国内での感染者のうち、下痢症を呈した感染者の糞便から SARS-CoV-2 の分離を試みたところ、RT-qPCR では SARS-CoV-2 の RNA が検出されたにもかかわらずウイルスは分離できず、感染性を保持したウイルスは糞便中にはほとんど存在しないこと、従って糞口感染の可能性が極めて低いことを明らかにした。さらに、RAT による SARS-CoV-2 の迅速検出の結果と RT-qPCR によるウイルス量の定量結果、分離培養の結果を比較検討し、RAT による陽性判定はウイルス量に依存し、感染性ウイルスの検出の観点から、有用な検査法であることを示した。糞便から SARS-CoV-2 の RNA が検出された結果をもとに、Caco-2 細胞による SARS-CoV-2 持続感染系構築の可能性を想起し、細胞変性を起こすことなく6世代にわたって安定的に継代可能であること、これを凍結保存後に再培養しても再生可能であることを確認した。加えてオミクロン株の分離培養効率向上のため、Vero 系細胞を用いて分離培養に用いる培地や培養条件の検討を行い、高グルコース濃度 D-MEM 培地の使用やピルビン酸の添加等により分離効率を向上させる可能性があることを示した。

公開審査会では適切な発表が行われ、討議も活発に行われた。また、質疑に対する回答も適切であったことから、本研究は博士の学位に値するものであると判断された。