

## コウモリ由来のウイルスとその感染症

誌名	獣医疫学雑誌 = The journal of veterinary epidemiology
ISSN	13432583
著者名	前田,健 水谷,哲也 田口,文広
発行元	獣医疫学会
巻/号	15巻2号
掲載ページ	p. 88-93
発行年月	2011年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## コウモリ由来のウイルスとその感染症

前田 健<sup>1</sup>・水谷哲也<sup>2</sup>・田口文広<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>山口大学農学部獣医微生物学教室

<sup>2</sup>東京農工大国際家畜感染防疫研究教育センター伝染病疫学解明部門

<sup>3</sup>日本獣医生命科学大学獣医感染症学教室

## Viruses Isolated from Bats and Their Importance as Emerging Infectious Diseases

Ken MAEDA<sup>1</sup>, Tetsuya MIZUTANI<sup>2</sup> and Fumihiko TAGUCHI<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Veterinary Microbiology, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University

<sup>2</sup>Research and Education Center for Prevention of Global Infectious Diseases of animals, Tokyo University of Agriculture and Technology

<sup>3</sup>Laboratory of Virology and Virus Infections, Faculty of Veterinary medicine, Nippon Veterinary and Life Science University

### Summary

A number of viruses isolated from bats have been believed to be causative agents of the emerging infectious diseases in humans. This idea is supported by the facts that SARS coronavirus (SARS-CoV)-like CoVs have been isolated from horseshoe bats and also the viruses isolated from pigs or horses infected by the Nipah virus or Hendra virus shed from fruit bats caused emerging diseases in humans. From these observations, attempts have extensively been done to find the viruses from bats with newly established technology for isolation of the unidentified gene from animal tissues and specimen of infected animals. In this mini-review, we overview the importance of bats as natural hosts of viruses that cause human emerging diseases and also describe the recent isolation of a variety of viruses from bats.

### 要 約

最近、新興感染症の原因ウイルスのレゼルボアとして、コウモリが注目されている。コウモリから直接ヒトへの感染による新興感染症の発生は稀であるが、コウモリ由来のウイルスが家畜や他の野生動物に感染し、そこからヒトへの感染が拡大し、致死率の高い感染症となることは、ニパウイルスやヘンドラウイルス感染症、重症急性呼吸器症候群（SARS）の例に見られるように、コウモリ由来ウイルスによる新興感染症の一つのパターンかもしれない。

SARS コロナウイルスの起源がコウモリ由来ウイルスの可能性が指摘されてから、コウモリからのコロナウイルス分離に限らず未知のウイルス遺伝子の分離が盛んに行われる様になった。また、遺伝子探索方法も飛躍的に進展し、種々のウイルス遺伝子のコウモリからの分離が報告されるようになった。本稿では、これらのコウモリから分離されたウイルスで新興感染症に関係するウイルスのみならず、新たに分離されたウイルスに付いても言及する。

### はじめに

コウモリ由来ウイルス感染症が多い理由は、コウモリ（翼手目）は哺乳類約 5400 種のうち約 1100 種の 5 分の 1 を占めている点である。最大は齧歯目であり約 2300 種存在しており、齧歯目由来の新興感染症、ハンタウイルス肺症候群や猿痘などがある。しかし、翼手目の方が進化系統的に

連絡先：田口文広\*

日本獣医生命科学大学獣医学部感染症学教室  
〒180-8602 東京都武蔵野市境南町 1-7-1  
Phone : 0422-31-4151 ; Fax : 0422-33-2094  
E-mail : ftaguchi@nvl.ac.jp

翼手目(Order <i>Chiroptera</i> )		
ヒナコウモリ科 (family <i>Vespertilionidae</i> )	オオコウモリ科 (family <i>Pteropodidae</i> )	
ユビナガコウモリ <i>Miniopterus fuliginosus</i>	ヤエヤマオオコウモリ <i>Pteropus dasymallus yayeyamae</i>	ライロオオコウモリ <i>Pteropus lylei</i>
アフガニスタンからインド、中国、 朝鮮半島、日本	沖縄・琉球諸島	タイ・インドシナ
新規ヘルペスウイルスの分離 新規コウモリコロナウイルスの検出	新規アデノウイルスの分離	ニパウイルスを高率に保有




図 1

表 1 代表的なコウモリ由来人獣共通感染症

ウイルス	年	ウイルス科	増幅動物	ヒト-ヒト感染
SARSコロナウイルス	2003	コロナウイルス科	不明	有
メナングルウイルス	1998	パラミクソウイルス科	豚	無
ニパウイルス	1997	パラミクソウイルス科	豚	無
オーストラリア・ヨーロッパ コウモリリッサウイルス	1996	ラブドウイルス科	無	無
ヘンドラウイルス	1994	パラミクソウイルス科	馬	無
エボラウイルス	1976	フィロウイルス科	霊長類	有
マールブルグウイルス	1967	フィロウイルス科	霊長類	有
狂犬病ウイルス		ラブドウイルス科	無	無

ヒトに近縁であるため、齧歯類保有のウイルスよりも翼手目保有のウイルスがヒトに感染しやすいと考えられる。これら約 1100 種のコウモリが、それぞれ独自のウイルスを保有していると考えれば、その数は莫大なものとなり、ヒトに感染をおこして問題となったウイルスは一部であり、今後も未知のウイルスが問題となる可能性は高い。翼手目は大翼手亜目と小翼手亜目に分類されていたが、現在は Yangochiroptera 亜目と Yinpterochiroptera 亜目が提唱されている<sup>1)</sup>。コウモリの最大の特徴は、鳥類と同様の飛翔能力である。コウモリの飛翔能力は感染症の拡大に関して問題になる。野生動物であるので国境など関係ないのは当然で

あるが、島間を移動し、感染症を拡大する可能性も否定できない。コウモリの生態に関してはいまだ不明な点も多くあり、今後のコウモリ由来感染症対策にはコウモリの生態を知る必要があると考えている (図 1)。

### コウモリ由来ウイルス感染症

#### コウモリ由来ウイルス感染症の特徴

コウモリ由来ウイルス感染症の代表例としては表 1 に示すように、SARS コロナウイルス、メナングルウイルス、ニパウイルス、オーストラリア・ヨーロッパリッサウイルス、ヘンドラウイルス、エボラウイルス、マールブルグウ

ウイルス、狂犬病ウイルスが挙げられる(表1)。これらの感染症には幾つかの特徴がある。第一に、これらすべてがRNAウイルスである点である。DNAウイルスと異なりRNAウイルスは自分の遺伝子を複製するためのRNA依存RNAポリメラーゼを持っているが、これには遺伝子複製の際に生じたミスを検査するため proofreading 機能がない。そのため、ウイルス遺伝子複製の際に生じたミスがそのまま遺伝子情報として残り、変異ウイルスが生じる。こうして変異したウイルスが動物種を越えて感染するようになる。二つ目の特徴は、多くのコウモリ由来新興感染症がコウモリから直接ヒトへ感染するのではなく、増幅動物を経由してヒトに感染する点である。ニパウイルスはオオコウモリから豚に感染し、豚での流行中に豚からヒトに感染している。ヘンドラウイルスもオオコウモリから馬に感染し、馬での流行中に馬からヒトへ感染している。これは、コウモリのウイルスが直接ヒトに感染するのは難しく、コウモリと比較的遺伝的に近い豚や馬に感染するウイルスが変異により生じて、これらの動物で増幅されたウイルスにヒトが大量に暴露されることにより感染するためと考えている。三つ目の特徴は、コウモリ由来新興感染症の発生が最近特に多い点である。これまで、ヒトや動物とコウモリの接点が少なく、コウモリの持つウイルスがヒトや動物に感染する機会が少なかった。一方、犬や猫などの伴侶動物、牛や豚などの生産動物がもつウイルスにはヒトも感染する機会があったと思われる。近年は、森林伐採によるコウモリの生息地が減少したためコウモリのヒトの居住区へ侵入、逆に乱開発によるコウモリ生息地へのヒトの侵入などにより、コウモリとヒトや動物の接触が増加し、これまでになくコウモリのもつウイルスにヒトや動物が暴露される機会が増えたためと考えている。

#### コウモリ由来の SARS コロナウイルス (SARS-CoV) 様ウイルス

SARS は 2002 年暮れから 2003 年春にかけて流行した、野生動物由来の新興感染症<sup>2,3)</sup>で、病原性が極めて高く、約 8000 人が感染しその致死率は 10% と極めて高く、日本のみならず世界を震撼させた感染症である。幸い、日本では感染者が出なかったが、台湾の感染発症者が日本国内を旅行し、そのことが連日大きなニュースとして報道された。SARS は中国広東省で発生し、対応の遅れが重症患者を続出する結果となったが、ウイルスの感染力はあまり強くない、患者との濃厚接触のある医療関係者や家族に感染が限られていた<sup>4)</sup>。SARS は中国で食用となっている哺乳動物、ハクビシンなどからヒトに種を超えて感染したものと考えられている。最初の感染者は、そのような動物の取扱者、料理人などであり、それがヒトからヒトへと感染が繰り返されるうちに、ウイルスの変異のため、ヒトでより高く増

殖するウイルスが選択され、最終的に極めて病原性の高いものとなった<sup>5)</sup>。ハクビシンから分離されるウイルスはヒトに殆ど病原性はなく、初期の患者が重篤になる確率も低かった。当初はハクビシンなどの野生動物が自然宿主であるとも考えられていたが、キクガシラコウモリから SARS-CoV と類似性の高いウイルスが分離されたことから<sup>6)</sup>、コウモリ由来の感染症である可能性が高い。その後、キクガシラコウモリ以外の数種のコウモリから同様のウイルスが見つかり<sup>7,8)</sup>、更にコウモリがレザルボアである可能性が強くなった。しかしながら、コウモリからの感染性のウイルス分離には成功しておらず、遺伝子が検出されているだけである。もし、コウモリがレザルボアであるとする、SARS-CoV は少なくとも 2 回の種の壁を乗り越え、ヒトの感染症になったことになる。コウモリからハクビシンや狸に感染し、そこで増殖しそのウイルスが人に感染したと推測される。コウモリ由来の SARS-CoV 様コロナウイルスは培養細胞では増殖出来ないが、そのスパイク (S) 遺伝子をヒト SARS-CoV S 遺伝子と入れ替えたキメラウイルスは、SARS-CoV の受容体である ACE2 を発現する各種培養細胞で増殖し、ヒト上皮培養細胞やマウス体内で増殖することが報告されている<sup>9)</sup>。このことは、コウモリ由来の SARS-CoV 様コロナウイルスの S 蛋白に変異が入ることにより、種を超え様々な動物に感染することをしやすくなると思われる。このような SARS-CoV 様コロナウイルスだけでなく、SARS-CoV とは明らかに異なるコロナウイルス遺伝子も幾つか<sup>9)</sup>、分離されている<sup>9)</sup>。これらのウイルスが他の哺乳動物に変異により感染するのは、まだわかっていない。日本土着のコウモリからのコロナウイルスが分離されており<sup>10)</sup>、多くのコロナウイルスがコウモリを自然宿主とする可能性が考えられる。

#### 日本におけるコウモリの保有するウイルスの疫学

コウモリの保有するウイルスの疫学を実施する際、コウモリの生態を考えなければならない。例えば、ユビナガコウモリは繁殖の際に 1 か所に集まって出産・育児を行う(図 2)。妊娠コウモリは 6 月頃から和歌山県白浜町にある海蝕洞に集まり出産・育児を行う。成長した子コウモリたちは 8 月頃ごろにその海蝕洞を離れていく。その巣立っていくコウモリに標識をつけて行き先を調べた結果、和歌山県のみならず、奈良県、三重県および 200 km 離れた滋賀県、208 km 離れた福井県にまで移動していることが確認されている(図 2<sup>11)</sup>)。同様のユビナガコウモリの繁殖地は、熊本県、鳥根県など国内数か所にしか確認されておらず、日本全国のユビナガコウモリは数か所に由来することになり、近畿圏のユビナガコウモリの調査は、白浜千畳敷海蝕洞に集まるコウモリを調べるとほぼ調べられるということになる(オスは困難)。そこで我々は近畿圏のユビナガコ

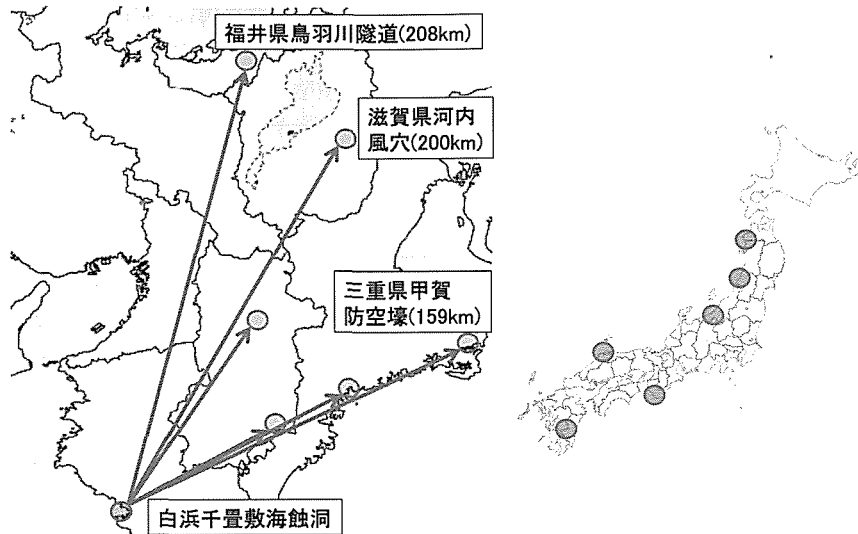


図2 和歌山県海蝕洞で出生したユビナガコウモリ *Miniopterus fuliginosus* の移動

白浜千畳敷海蝕洞で出生したユビナガコウモリが三重県甲賀防空壕、滋賀県河内風穴、福井県鳥羽川隧道などの近畿中から確認されている（左図）。白浜千畳敷海蝕洞のようなユビナガコウモリの繁殖地が全国に散在している（右図）。

（徐華，前田喜四郎ほか，奈良教育大学附属自然環境教育センター紀要(7)，pp. 31-37，2005-11-30）を改変

ウモリの保有するウイルスの疫学調査をする目的で、白浜の海蝕洞に集まるコウモリを和歌山県知事の許可を得て捕獲し、3種類のウイルスについて調査を実施した。まず、我々が新規に分離したウイルス、コウモリベータヘルペスウイルス-2 (bat betaherpesvirus-2) の感染率を調査した。このウイルスは当初、腎臓から分離されたが、腎臓、脾臓、肝臓、肺からウイルス遺伝子が検出され、脳、気管、膀胱、腸からは遺伝子が検出できなかった。これを、50頭の脾臓から遺伝子検出を試みた結果、4頭(8%)が陽性となった<sup>12)</sup>。更に、コロナウイルスの保有率を調べるため腸内容物からコロナウイルスのコンセンサスプライマーでPCRを実施した。その結果、11%がウイルスを保有していることが分かった。このコウモリ群からは2種類のコロナウイルスが検出されている<sup>10)</sup>。加えて、コウモリは日本脳炎ウイルスの増幅動物であるとも考えられており、日本脳炎ウイルスに対する抗体保有率を調べた結果、33%に日本脳炎ウイルスの感染歴があった (Shimoda *et al.*, manuscript in preparation)。以上のことから、近畿全体にわたり、多くのユビナガコウモリがコウモリコロナウイルスを糞便より排出していること、ユビナガコウモリもまた他の動物と同様に独自のヘルペスウイルス<sup>13,14)</sup>を保有していること、日本脳炎に感染歴があることは増幅動物となりえること、などが示された(表2)。以上のことから、コウモリの繁殖のための洞窟を調べることにより、近畿圏全体の陽性率が判明した。最近、スペイン、ポルトガル、フランスのユ

ビナガコウモリが大量死して、その原因がエボラウイルスやマールブルグウイルスに似た新規のフィロウイルスであることが報告されている<sup>15)</sup>。ユビナガコウモリだけでもまだまだ未知のウイルスが存在している。コウモリの保有するウイルス調査には、コウモリ由来の培養細胞が必要であり、われわれは5種のコウモリ由来の培養細胞の樹立した<sup>16)</sup>。今後もそれらを用いてウイルス分離と疫学調査を行い、コウモリ保有のウイルスに関する情報の蓄積を行っていく予定である。また、コウモリの生態に関しては、ニパウイルスの自然宿主であるライルオオコウモリ(表1)の調査を継続しており、ライルオオコウモリ(図1)も1日で150 km以上を移動することを報告している<sup>17,18)</sup>。コウモリに関しては、絶滅危惧種が多いこと、また捕獲には都道府県知事の許可が必ず必要なことなどの制約も多いが、情報の蓄積は新興感染症の発生の予測などに結び付くと信じている。

最後に、日本でのコウモリの調査は凄く気が楽である。海外では、北米をはじめ多くの国のコウモリが狂犬病ウイルスあるいはヨーロッパリッサウイルス、オーストラリアリッサウイルス(表1)を保有している可能性があり、捕獲後の取り扱いには注意を要する。

表 2 ユビナガコウモリにおける疫学調査例

コウモリ $\beta$ ヘルペスウイルス -2 の遺伝子 検出率 (脾臓)		日本脳炎ウイルスに対する抗体保有率 (血清)	
Nested PCR		ウイルス中和試験	
検査頭数	50	検査頭数	45
陽性頭数 (%)	4 (8%)	陽性頭数 (%)	15 (33%)
Watanabe, S. <i>et al.</i> , <i>Emerg Infect Dis.</i> , <b>16</b> (6) : 986-8, 2010.		Shimoda, H. <i>et al.</i> (Manuscript in preparation)	
コウモリコロナウイルスの遺伝子検出率 (腸内容物)			
Nested PCR			
検査頭数	45		
陽性頭数 (%)	5 (11%)		
Shirato, K. <i>et al.</i> , <i>Virus Genes</i> (In press)			

## ウイルスの網羅的検出法によるコウモリから 新規ウイルスの検出

### ウイルスの網羅的検出法の概要

近年, 次世代型シーケンサーの開発と普及により動物・植物・昆虫などの全ゲノム塩基配列が決定されつつある。また, 次世代型シーケンサーを用いることにより, 今まで宿主ゲノムの膨大な塩基量に妨げられて見えていなかった新しいウイルスも発見されるようになった。すなわち, この技術革新は原因不明の疾患動物の組織に含まれる膨大な遺伝子の中からウイルス遺伝子を拾い上げることを可能にしたのである。しかし, その一方でウイルスを培養細胞で分離し, 実験動物を使って病原性を再現するという今までウイルス研究者がおこなってきたコッホの4原則を踏まえた研究も重要である。

私たちは2006年からウイルスを網羅的に解析する方法としてRDV法 (Rapid Determination system of Viral RNA/DNA sequences) を開発し, 2007年に論文発表して以来, 12の新規・稀少ウイルスを発表してきた<sup>19, 20, 21)</sup>。そのころ次世代型シーケンサーは販売されていたが日本でも数か所の施設が所有しているだけであった。RDV法は, (1) ウイルス分離の重要性から培養上清を探索の対象とし, (2) PCRを実施できる研究室で稼働でき, (3) 短期間で新しいウイルスの遺伝子配列を解析できることを念頭において開発した。その結果, ウイルス分離後の培養上清からわずか2日間で, 特別な機器を必要とせず, 1検体あたり数万円で実施できるシステムを作り上げた。

### コウモリの新しいウイルスの発見

前述のようにコウモリは人獣共通伝染病の原因ウイルスを数多く保有しているため, コウモリの保有する未知のウイルスを明らかにしておくことは, 今後出現してくる新興ウイルスに対する対策の一助となる。そこで, コウモリからの新規ウイルスの分離を行なったので, 以下に紹介したい。

#### 新規アデノウイルス

ヤエヤマオコウモリ (図1) の脾臓から初代培養細胞を樹立する際に, ウイルスによると考えられる細胞傷害 (CPE) が観察されたので, RDV法を用いて解析をおこなったところ, ウシやイヌのアデノウイルスに近縁の遺伝子配列を得た<sup>16)</sup>。さらに, 解析を進めた結果, Mastadenovirusに属するウイルスであることが判明した。本ウイルスは, コウモリの採取された場所から Ryukyu virus 1 と命名して論文に発表した<sup>16)</sup>が, コウモリで初めてのアデノウイルスの発見であることから注目され, 現在は Bat adenovirus 1 という名前で記載されることが多くなっている。現在, 全ゲノム配列を解析中であり, 他のアデノウイルスにはない Open reading frame の候補などが見つかっている。

#### 新規ヘルペスウイルス

キクガシラコウモリの脾臓から培養細胞の樹立を試みた際にも CPE が観察され, RDV法により新しいガンマヘルペスウイルスの配列が見つかった (論文投稿準備中)。また, ユビナガコウモリの脾臓からも同様の手法で, 新しいベータヘルペスウイルスを発見した<sup>12)</sup>。このウイルスはコウモリで2番目に発見されたベータヘルペスウイルスであるこ

とから, Bat betaherpesvirus 2 と命名した。疫学調査の結果, 50 匹中 4 匹のコウモリで PCR 陽性であり, 比較的多くのコウモリにこのウイルスが感染していることが明らかになった。その他, フィリピンのコウモリからも新しいヘルペスウイルスを発見できた<sup>14)</sup>。これらの新規ヘルペスウイルスについては各論文を参照していただきたい。

### おわりに

コウモリ由来のウイルスが人の新興感染症の原因であることは, これまで幾つかのウイルス感染症で明らかにされてきた。また, 変異により新興感染症の原因ウイルスになることも示唆されている。これらの感染症は, 東南アジア, アフリカなど日本国外で発生した事例である。しかしながら本稿で紹介したように, 日本在住のコウモリからも様々なウイルス遺伝子の分離が報告され, これらのウイルスが人に新たな感染症を引き起こす可能性は皆無ではない。今後は, コウモリ由来のウイルス増殖が可能である培養細胞を樹立し, その生物学的性状や病原性の検討が必要になるものと考えられる。

### 謝 辞

コウモリからの新規ウイルスの分離には, 東京大学農学部・明石博臣先生, 国立感染症研究所・酒井宏治研究員, 田辺市ふるさと自然公園センター・鈴木和男先生ら(コウモリのプロジェクトには数多くの先生や学生が参画しており, すべての方のお名前を挙げるできません。この場をお借りして深謝いたします)との共同研究に寄った。また, 本プロジェクトにおいては, 渡辺俊平博士(現・九州大学)を中心に RDV 法を改良することにより新規ウイルスが発見できたことを付け加えさせていただきたい。

### 引用文献

- 1) Springer, M.S. et al. : Integrated fossil and molecular data reconstruct bat echolocation. PNAS, **98**, 6241–6246, 2001
- 2) Mara, M.A. et al. : The genome sequence of the SARS-associated coronavirus. Science, **300**, 1399–1404, 2003,
- 3) Guen, Y. et al. : Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. Science, **302**, 276–278, 2003
- 4) Poutanen, S.M. et al. : Identification of severe acute respiratory syndrome in Canada. New Eng. J. Med., **348**, 1195–2005, 2003
- 5) Chinese SARS molecular epidemiology consortium : Molecular evolution of the SARS coronavirus during the course of the SARS epidemics in China. Science, **303**, 1666–1669, 2004
- 6) Lau, S.K. et al. : Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. PNAS, **102**, 14040–14045, 2005
- 7) Chu, D.K. et al. : Genomic characterization of bat coronaviruses(1A, 1B and HKU8) and evidence of co-infections in *Miniopterus* bats. J. Gen. Virol., **89**, 1282–1287, 2008,
- 8) Woo, P.C.Y. et al. : Coronavirus diversity, phylogeny and interspecies jumping. Exp. Biol. Med., **234**, 1117–1127, 2009
- 9) Becker, M.M. et al. : Synthetic recombinant bat SARS-like coronavirus is infectious in cultured cells and in mice., PNAS, **105**, 19944–19949, 2008
- 10) Shirato, K. et al. : Detection of bat coronaviruses from *Miniopterus fuliginosus* in Japan. Virus Genes, 2011 Aug 30. [Epub ahead of print]
- 11) Xu, H. et al. : Migration of young Bent-winged bats, *Miniopterus fuliginosus* born in Shirahama, Wakayama Prefecture (1) Records from the years 2003 and 2004. Bullet. Center. Natural Environ. Edu. Nara University of Education, **7**, 31–37, 2005.
- 12) Watanabe, S. et al. : Novel betaherpesvirus in bats. Emerg. Infect. Dis., **16**, 986–988, 2010.
- 13) Wibbelt, G. et al. : Discovery of herpesviruses in bats. J. Gen. Virol., **88**, 2651–2655. 2007.
- 14) Watanabe, S. et al. Detection of a new bat gammaherpesvirus in the Philippines. Virus Genes, **39**, 90–93, 2009.
- 15) Negredo, A. et al. : Discovery of an ebolavirus-like filovirus in europe, PLoS Pathol. 2011, **7**(10) : e1002304. Epub 2011.
- 16) Maeda, K. et al. : Isolation of novel adenovirus from fruit bat (*Pteropus dasymallus yayeyamae*). Emerg. Infect. Dis., **14**, 347–349, 2008.
- 17) Hondo, E. et al. : A research on the habitats of fruit bats in Thailand. The Yamaguchi J. Vet. Med., **35**, 43–52, 2008
- 18) Hondo, E. et al. : The Yamaguchi J. Vet. Med. (In press)
- 19) Mizutani, T. et al. Rapid Genome Sequencing of RNA Viruses. Emerg. Infect. Dis., **13**, 322–324, 2007.
- 20) Yamao, T. et al. : Novel virus discovery from field-collected mosquito larvae using an improved system for rapid determination of viral RNA sequences (RDV ver4.0). Arch. Virol., **154**, 153–158, 2009.
- 21) Mizutani, T. et al. : Novel DNA virus isolated from samples showing endothelial cell necrosis in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. Virology, **412**, 179–187, 2011