

令和元年6月24日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05750

研究課題名(和文) 蚊に着目したデングウイルスの空間伝播動態の解明と生態学的防御

研究課題名(英文) Estimation of Spatial Transmission Pattern of Dengue Virus in Mosquito Populations and Its Application to Infection Control

研究代表者

渡辺 幸三 (Watanabe, Kozo)

愛媛大学・理工学研究科(工学系)・教授

研究者番号：80634435

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)：デング熱が流行するフィリピンで採取したネッタイシマカからデングウイルスと蚊共生細菌ボルバキアを検出した。その結果、ターラック市におけるネッタイシマカのデングウイルス陽性率は、メス成虫359個体のうち10個体(2.8%)が陽性であった。また、多くの村でデング熱患者とネッタイシマカから異なる血清型が検出され、デングウイルスの空間伝播が大きな空間スケールで起きていることが示唆された。また、メトロマニラで採取した672個体のネッタイシマカのうち80個体(12%)がボルバキアを有していることが明らかにされた。また、気象水文変数によりメトロマニラのデング罹患率の経週変化を予測する機械学習モデルを開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

デング熱はネッタイシマカ等の蚊が媒介するウイルス感染症で、熱帯・亜熱帯地域に広く分布する熱性・発疹性疾患である。フィリピンではデング熱患者が急増しており、その対策が急務とされている。本研究で得られたデングウイルスの蚊感染率や空間伝播動態に関する知見は、ある地域でデングが流行した際の適切な住民アラート(警報)や殺虫剤散布の範囲設定に役立てられる。また、ボルバキア共生率の空間分布や遺伝的多様性のデータは、将来、ボルバキアに人為感染させた蚊を移入するデング抑制プログラムを実施する際に、効果的な移入地域の設定や遺伝系統株の選択に活用される。

研究成果の概要(英文)：We detected Dengue virus and symbiotic bacteria Wolbachia from *Aedes aegypti* samples collected from the Philippines. Out of 359 female adult *Ae. aegypti* tested for the presence of the Dengue virus using an individual-based serotype-specific multiplex real-time RT-PCR assay, ten female mosquitoes (2.8%) were confirmed to be positive for the presence of the DENV. Different serotypes were found between mosquito and human in same villages, suggesting that spatial transmission of dengue virus is occurring in a large space (i.e., among villages). In addition, out of 627 adult *Ae. aegypti* individuals collected from Metro Manila, 80 (12%) were found to be Wolbachia positive based on PCR and sequencing analysis of *wsp* and 16S rDNA markers. We also developed a machine learning model that predicts the weekly change of Dengue Incidence in Metro Manila based on meteorological and hydrological observational data.

研究分野：生態疫学

キーワード：デング熱 ボルバキア ベクター感染症 ウイルス 機械学習

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

デング熱はネッタイシマカ等の蚊が媒介するウイルス感染症で、熱帯・亜熱帯地域に広く分布する熱性・発疹性疾患である。デングウイルスは「-ヒト-蚊-ヒト-」の感染環により流行が拡大する。ウイルス伝播の空間動態に関する知見が得られれば、2014年夏に東京・代々木公園で起きたようなデング熱突発時の流行予測や予防対策の提言に繋がる。伝播経路の推定には、患者と蚊の双方のウイルス RNA 配列を解読し、配列の相同性に基づいて経路を辿るのが有効と考えられる。各患者と各蚊個体の詳細な位置・時間情報と組み合わせることで、蚊の感染後の感染伝播速度 (km/日) 等の動態特性を理解できると期待される。

近年、蚊へのデングウイルス感染を抑制するボルバキア (*Wolbachia*) という昆虫共生細菌が注目されている。ボルバキアとウイルスは競合関係にあり、ボルバキアが共生している蚊の体内でウイルスは感染・増幅できないと考えられている。ボルバキアが感染 (共生) しているメス蚊はその子に垂直感染するので、ボルバキア共生蚊が増殖すれば、ウイルス流行を抑制できる可能性がある。ボルバキアによるウイルス感染抑制効果は、室内のボルバキアとウイルスの蚊への暴露実験では確認されているが、野外データによる実証は行われていない。ボルバキア共生率が高い地域の蚊集団ほどデング感染率が低い等の証拠が得られれば、世界初の野外実証となる。フィリピンのボルバキアの実態は不明である。蚊地域集団のボルバキア共生率とその空間分布が解明できれば、デングリスクの地域差の理解に繋がる。また、ボルバキアの遺伝的多様性を解析すれば、ウイルス感染抑制効果が特に高い遺伝系統株の発見や、ボルバキアの生息分布の拡大経路やボルバキア主要供給地域の推定が期待できる。

デング感染率は都市内で大きな地域差がある。この地域差は、蚊の産卵や羽化の可否を決める水域の有無が影響する。また、近年フィリピンでは集中豪雨による内水氾濫が頻発しており、気候変動の影響が疑われている。内水氾濫で都市が冠水すると、蚊の産卵場や幼虫の生息場となり、蚊が大発生する事例がフィリピンで頻発している。蚊の発生源となる冠水域の位置や面積を水文モデルで予測できれば、洪水によるデング蚊の発生を予測できる。

2. 研究の目的

蚊媒介感染症のデング熱が流行するフィリピンにおいて、蚊・患者・ウイルス・環境データを統合的に解析して、以下3つの研究目的を達成する。

1. 蚊と患者に感染したデングウイルス RNA の地点間の配列相同性を解析して、都市内のウイルス感染経路や感染伝播の動態特性を明らかにする。
2. 蚊に共生する細菌ボルバキアが蚊へのデングウイルス感染を抑制する効果を野外調査で実証すると共に、都市内における蚊のボルバキア共生率とその空間分布を明らかにする。
3. 「洪水頻発 水域 (産卵・生息場) 拡大 蚊増加 感染リスク増加」の関係を定量化するモデルを開発し、気候変動による洪水頻発化がデングリスクに及ぼす影響を評価する。

3. 研究の方法

課題1 フィールド調査と蚊の採集

フィリピン・ルソン島のマニラ首都圏で調査を行った。都市全域を網羅的にカバーするように世帯を選定して蚊を採取した。各家庭の軒下や屋内に誘虫紫外線ランプと吸引ファンを備えた電動採捕機を設置した。採取個体は、ウイルスの分解を防ぐため、RNA 安定化溶液 (RNAlater) に入れて現地協力機関で冷凍保存した。

課題2 デングウイルスの空間伝播動態の評価

デング流行期に、共同研究先のターラック州立病院でデング診断が確定した患者から同意を得た上で患者家庭を訪問し、課題1と同じ方法で蚊を採取した。患者から血液を採取して遺伝子解析まで冷凍保存した。蚊を採取する人員が現地に長期滞在して、病院から患者発生の連絡を受け次第、迅速に患者家庭を訪問して蚊を採取した。

採取した患者血液と媒介蚊のウイルス RNA の配列を解析した。媒介蚊の解析には、上記患者家庭からの個体と共に、課題1で採取する非感染家庭からの個体も使った。まず、患者血液と陽性蚊個体から RNA を抽出した。患者と蚊の RNA から、デングウイルスの4つの血清型に特異的なプライマーによる RT-PCR と増幅を行い、PCR 産物の配列を解読した。

課題3 共生細菌ボルバキアによる蚊のデング感染抑制の検証と共生率の空間分布調査

課題1で採取したネッタイシマカから抽出した DNA から、ボルバキア特異的な wsp 遺伝子および 16S 遺伝子を PCR 検出して、調査グリッドごとのボルバキア共生率 (= ボルバキア感染個体数/検査個体数) を評価し、その空間分布を明らかにした。また、ボルバキア感染個体の wsp 遺伝子の塩基配列を解読して、都市内の遺伝的多様性を調べた。

課題4 気候変動下のデングリスク予測モデルの開発

2009年から2013年におけるマニラの気象水文変数 (降水量、気温、湿度、洪水エリア等) とデング罹患率の経週変動の関係性を説明する機械学習モデル (ランダムフォレスト) も作成した。その際、「大雨 洪水頻発 水域 (産卵・生息場) 拡大 蚊増加 感染リスク増加」に至るまでの一連のプロセスに要する時間を考慮して、気象水文変数とデング熱罹患率の時間相関

のラグ（遅れ）時間を推定し，そのラグ時間を考慮した機械学習モデルも作成した。また，メトロマニラ都市圏内の 660 行政区（バランガイ）の洪水強度と土地利用様式に基づいて各行政区のデング罹患率（感染者数/人口）を予測する機械学習モデルを作成した。

課題 5 効果的なデング感染リスク低減策の立案

課題 1 から 4 までの研究成果を集約し，現地のデング流行を緩和する計画を立案する。課題 2 で評価するウイルス伝播経路は，住民アラートや殺虫剤散布の適切な範囲設定に役立てる。課題 3 で評価する蚊のボルバキア共生率の空間分布や遺伝的多様性は，ボルバキア共生蚊の移入プログラムにおける効果的な移入地域や遺伝系統株の立案に生かす。また，気候変動下の洪水増加後に予測されるデングリスクは，都市の治水計画に勘案するデータとして役立てる。

4. 研究成果

課題 1 フィールド調査と蚊の採集

各都市の全域を網羅的にカバーするように蚊を採取した。各世帯の軒下や屋内に誘虫紫外線ランプと吸引ファンを備えた電動採捕機を設置した。採取した蚊は形態同定し，ネットアイシマカは，ウイルスの分解を防ぐため RNA 安定化溶液（RNA later）に入れて現地協力機関で冷凍保存した。

課題 2 デングウイルスの空間伝播動態の評価

デング流行期の 8-9 月に，ターラック市で採取した患者血液と媒介蚊のウイルス RNA をマルチプレックスリアルタイム PCR を使って、DEN1、2、3、4 の 4 血清型を同時に検出した。まず，通常，蚊は 5~30 個体をプールしてウイルス検出するが，個体ベースでウイルスを検出する実験プロトコルを確立した。患者と蚊の RNA から，デングウイルスの 4 つの血清型に特異的なプライマーによる RT-PCR と増幅を行い，PCR 産物の配列を解読した。その結果、ターラック市におけるネットアイシマカのデングウイルス陽性率は、359 メス成虫個体のうち 10 個体（2.8%）が陽性であった（表 1）。村ごとに陽性率は大きく異なっていた（0~50%）。ネットアイシマカからは DENV-1, 2, 4 の 3 つの血清型が検出された。同時期に同じ村から発生したデング熱患者から DENV-1, 2, 3, 4 の 4 つすべての血清型が検出された。デングウイルスの人と蚊の間の感染環が村内の小スケールで起きている場合には，患者と蚊から同じ血清型が検出されることが予測されたが，ネットアイシマカからデングウイルスが検出された 5 つの村のうち，3 つの村（San Miguel, Maliwalo, Dalayap）において患者と蚊から異なる血清型が検出された。このことは，デングウイルスの伝播動態が大きな空間スケールで起きていることを示唆している。例えば，人が日中（職場や学校）と夜間で大きく動くため，デングウイルスが村間を跨ぐような大きな伝播を示していることなどが推察された。

表 1 フィリピンターラックの 11 村で採取したネットアイシマカからのデングウイルス検出結果と同時期に発生したデング熱患者のデングウイルス血清型

村 (n=11)	ネットアイシマカ密度(メス個体数/世帯)	感染検査したネットアイシマカメス個体数	デングウイルス陽性個体数 (%)	検出されたデングウイルス血清型	
				ネットアイシマカ	デング熱患者
San Vicente	0.19	15	0 (0)	-	DENV-2, 3, 4
San Miguel	1	2	1 (50)	DENV-2	DENV-1
Binauganan	3.61	72	0 (0)	-	DENV-2
San Isidro	0.62	39	3 (7.7)	DENV-1, 2	DENV-1, 2, 4
San Sebastian	1.03	108	3 (2.8)	DENV-2	DENV-2
Matatalaib	0.81	12	0 (0)	-	DENV-1
Ligtasan	0	0	0 (0)	-	DENV-1
Maliwalo	3.19	45	2 (4.4)	DENV-4	DENV-1
Dalayap	0.39	10	1 (10)	DENV-4	DENV-1, 2
San Rafael	0.7	45	0 (0)	-	DENV-1
San Nicolas	0.47	11	0 (0)	-	DENV-1, 2, 4
合計	1.09	359	10 (2.79)		

課題 3 共生細菌ボルバキアによる蚊のデング感染抑制の検証と共生率の空間分布調査

メトロマニラで採取したネットアイシマカから抽出した DNA から，ボルバキア特異的な wsp マーカーおよび 16S rDNA マーカーと使った PCR 検出を行い，ネットアイシマカのボルバキア共生率を評価した。その結果，PCR を行った 672 個体のうち 80 個体（12%）が wsp マーカーと 16S rDNA マーカーの双方においてボルバキア陽性が確認された。陽性個体は，メトロマニラの広い範囲から検出された（図 1）。また，PCR 産物の塩基配列を解読したところ多様な系統のボルバキアが発見された。wsp マーカーでは，スーパーグループ A と B が検出された（図 2）。マニラにおいて，ネットアイシマカのボルバキア共生率が低く，また見つかったボルバキア系統がデングウイルスの増幅を蚊体内で抑制していないため，デング熱流行の抑制にはボルバキアが働いてい

ないことが考えられた。

課題4 気候変動下のデングリスク予測モデルの開発

2009年から2012年におけるメトロマニラの気象水文変数(降水量, 気温, 湿度の各週間最大, 平均, 最小値, 洪水エリアの割合)とメトロマニラ全体で報告されたデング罹患率(人口10万人あたりの患者数)の経過変動データを教師データとして, 両者の関係を説明する機械学習モデル(ランダムフォレスト)を作成した。2013年における実測値とモデル予測値の結果を図3に示す。モデル作成の前に各説明変数とデング熱罹患率の時間相関分析から, 説明変数ごとに0~5週間のラグタイムを置いて高い時間相関があることが確かめられた。機械学習モデルはラグ時間を考慮した場合としない場合の双方について作成した。その結果, ラグタイムを考慮した機械学習モデルの方が, より実測値を精度良く説明できることがわかった。本研究により, 機械学習モデルを活用して気候変数に基づくデング熱予測の手法が有効であることが示された。今回作成したモデルに, 気候変動シナリオ下の気象変数値を入力すれば, 気候変動下におけるデング熱リスク(罹患率)を予測することが可能になる。

また, マニラ広域の蚊個体数の空間分布データと洪水強度や土地利用変数などの環境変数の空間分布で説明する生息場適性指数(Habitat Suitability Index)モデルを作成した。

課題5 効果的なデング感染リスク低減策の立案

課題1から4までの研究成果を集約し, 現地のデング流行を緩和するための施策を考案した。具体的には, 野外で採取したボルバキア共生蚊を実験室に持ち帰り, 人工培養して野外に放虫するプログラムを提案した。そのために, 現地で, 蚊培養システムを構築した。また, 本研究で開発したデング熱予測モデルを活用して, 降雨が発生した1週間~1ヵ月前に予測して地域へのアラートに活用する手法を提案した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計8件)

Carvajal, T. M., K.

Hashimoto, R. K. Harnandika, D. M. Amalin and K. Watanabe, Detection of Wolbachia Infection in Field-collected Mosquito Vector, *Aedes aegypti* in Metropolitan Manila, Philippines, Parasites & Vectors, accepted

Faridah, L., N. Fauziah, S Ekawardhani, Riyadi, and K. Watanabe, Is Rapid Dengue Test Necessary at Primary Health Centre? A Study In Bandung City, Journal of Clinical and Diagnostic Research, accepted

Carvajal, T. M., K. Hashimoto, K. J. D. Go, M. A. I. J. Cruz, M. J. L. B. Martinez, J. D. R. Capistrano, V. S. P. Tiopianco, D. M. Amalin, and K. Watanabe, Detection and Distribution of Wolbachia Endobacteria in *Culex quinquefasciatus* Populations (Diptera: Culicidae) from Metropolitan Manila, Philippines, Journal of Vector Borne

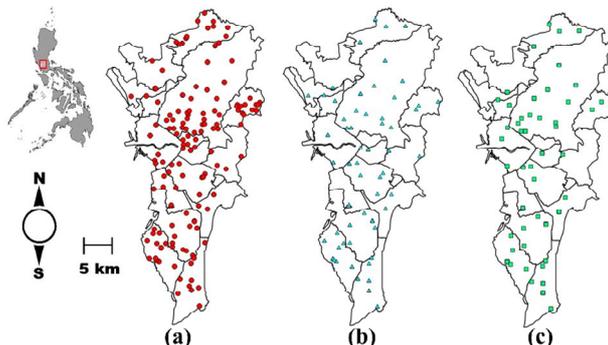


図1 フィリピン・マニラ首都圏におけるボルバキアの検出実験に用いた(a)蚊採取世帯(●), (b) wspマーカーの陽性世帯(▲), (c) 16S rDNAマーカーの陽性世帯[■]の分布。

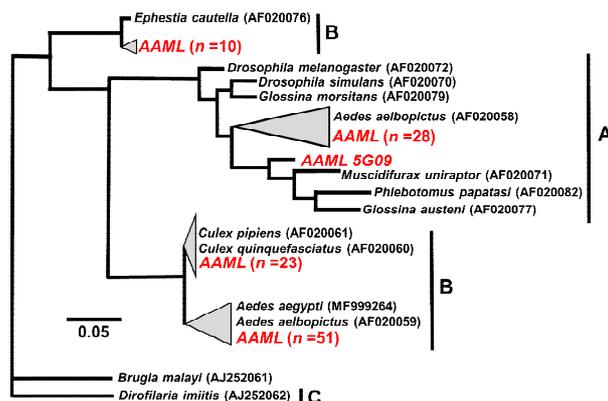


図2 ボルバキア wspマーカーに基づく系統樹。図中のAAMLは本研究でマニラ首都圏から採取したネッタシマカから検出されたボルバキア, その他は他の昆虫種から報告されていたボルバキア株を表す。A, B, Cはボルバキアのスーパーグループ。

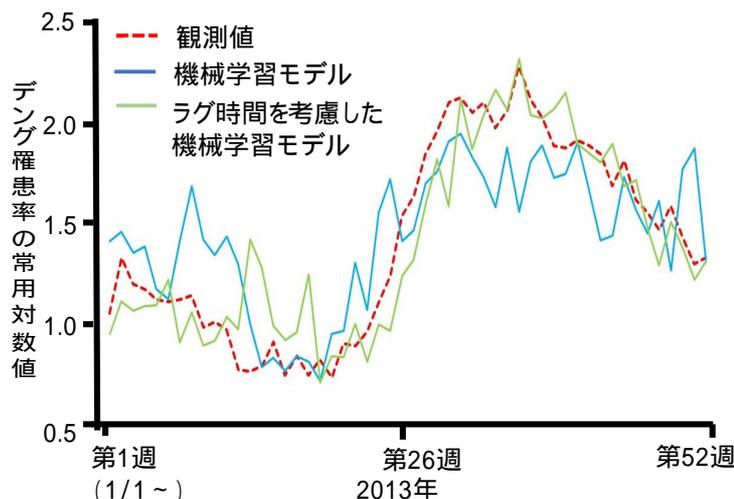


図3 メトロマニラにおけるデング罹患率(人口十万人当たりのデング熱患者数)の2013年の経過変動の実測値と機械学習(ランダムフォレスト)モデルによる予測値の比較。

Diseases, 55, 265-270, 2018, DOI: doi.org/10.4103/0972-9062.256561

Ho, H., T. Carvajal, J.R. Bautista, J.D. Capistrano, K. Viacrusis, L. F. Hernandez, and K. Watanabe, Using Google Trends to Examine the Spatio-Temporal Incidence and Behavioral Patterns of Dengue Disease: A Case Study in Metropolitan Manila, Philippines, *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 3(4), 118, 2018, DOI: doi.org/10.3390/tropicalmed3040118

糠澤桂, 西元竣哉, 鈴木祥広, 渡辺幸三, マニラ首都圏における Dengue 熱媒介蚊の産卵活動に関わる因子の時空間的分析, *土木学会論文集 G (環境)*, Vol.74, No.5, 1_79-1_85, 2018

Thaddeus M. Carvajal, Katherine M. Viacrusis, Lara Fides T. Hernandez, Howell T. Ho, Divina M. Amalin, and Kozo Watanabe, Machine Learning Methods Reveal the Temporal Pattern of Dengue Incidence Using Meteorological Factors in Metropolitan Manila, Philippines, *BMC Infectious Diseases*, 18, 183, 2018, DOI: 10.1186/s12879-018-3066-0

Thaddeus M. Carvajal, Lara Fides T. Hernandez, Howell T. Ho, Menard G. Cuenca, Bianca Marie C. Orantia, Camille R. Estrada, Divina M. Amalin, and Kozo Watanabe, Spatial Analysis of Wing Geometry in Dengue Vector Mosquito, *Aedes aegypti* (L.) (Diptera; Culicidae) Populations in Metropolitan Manila, Philippines, *Journal of Vector Borne Diseases*, 53(2), 127 - 135, 2016

Fuminari Miura, Toru Watanabe, Kozo Watanabe, Kazuhiko Takemoto, and Kensuke Fukushi, Comparative Assessment of Primary and Secondary Infection Risks in a Norovirus Outbreak Using a Household Model Simulation, *Journal of Environmental Sciences*, 50, 13 - 20, 2017, DOI: 10.1016/j.jes.2016.05.041

[学会発表](計 13 件)

Maria Angenica REGILME, Tatsuya INUKAI, Katherine VIACRUSIS, Divina AMALIN, Kozo WATANABE: Genetic Analysis of *Aedes aegypti* in Manila, Philippines: Dispersal Pattern and Gene Expression Under *Wolbachia* Infection, Water and Environment Technology Conference 2018 (WET2018), Matsuyama (Japan), 2018.7.14

Tatsuya INUKAI, Maria Angenica Fulo REGILME, Thaddeus M. CARVAJAL, Billy Joel M. ALMARINEZ, Divina M. AMALIN, Kozo WATANABE: *Wolbachia* Detection and Distribution of Dengue Vector in Manila, Philippines, Water and Environment Technology Conference 2018 (WET2018), Matsuyama (Japan), 2018.7.14

Thaddeus CARVAJAL, Kohei OGISHI, Sakiko YAEGESHI, Lara Fides HERNANDEZ, Katherine VIACRUSIS, Howell HO, Divina AMALIN, and Kozo WATANABE: Elucidating the Dispersion of Dengue Mosquito Vector, *Ae. aegypti* using Landscape Genetic Analysis, Water and Environment Technology Conference 2018 (WET2018), Matsuyama (Japan), 2018.7.14

Thaddeus M. Carvajal, Kazuki Hashimoto, Reza Kurniawan Harnandika, Divina Amalin, and Kozo Watanabe: Detecting *Wolbachia* Sp. in Dengue Mosquito Vector, *Aedes aegypti* and Its Potential as A Biological Mass Release Vector Control Program in The Philippines, Pest Management Council of the Philippines 50th Anniversary and Annual Scientific Conference, Iloilo (Philippines), 2018.5.11

Thaddeus M. Carvajal, Kohei Ogishi, Sakiko Yaegeshi, Lara Fides T. Hernandez, Katherine M. Viacrusis, Howell T. Ho, Divina Amalin, and Kozo Watanabe: Fine-Scale Genotyping and Dispersal Movement of Dengue Mosquito Vector, *Aedes Aegypti* in Metropolitan Manila, 2nd Bandung International Scientific Meeting on Parasitology & Tropical Diseases, Bandung (Indonesia), 2018.4.27

Maria Angenica Regilme, Tatsuya Inukai, Katherine Viacrusis, Divina Amalin, and Kozo Watanabe: Genetic analysis of *Aedes aegypti* in Manila, Philippines: Dispersal pattern and gene expression under *Wolbachia* infection, 2nd Bandung International Scientific Meeting on Parasitology & Tropical Diseases, Bandung (Indonesia), 2018.4.27

Kozo Watanabe: Individual-Based Dengue Virus Surveillance in Mosquitoes Collected Concurrently with Suspected Patients: Implications On Spatial Transmission in Tarlac City, Philippines, 2nd Bandung International Scientific Meeting on Parasitology & Tropical Diseases, Bandung (Indonesia), 2018.4.27

Regilme Maria Angenica, Inukai Tatsuya, Viacrusis Katherine, Amalin Divina, Watanabe Kozo: Dispersal variation of *Aedes aegypti* in Manila, Philippines - Do roads affect the population structure?, 2nd Bandung International Scientific Meeting on Parasitology & Tropical Diseases, Bandung (Indonesia), 2018.4.27

Kozo Watanabe: Eco-epidemiology of Dengue Mosquitoes in the Philippines: Climate Modeling and Genetic Analyses, XXII International Conference of the Society for Human Ecology, Los Baños (Philippines), 2017.11.30

Kozo Watanabe: New Technology Usage for Dengue Surveillance, Multi-discipline and

Interrelation Institutions Seminar on Dengue Elimination in Bandung City, Bandung (Indonesia), 2017.10.26

Kozo Watanabe, Thaddeus M. Carvajal, Lia Faridah, Dwi Agustian, Nurrachman, Fedri Rinawan, Howell T. Ho, Divina Amalin, Chiho Watanabe: The Correlation of Urban Climate and Dengue: Metro Manila and Bandung Cases, The Japan Geoscience Union (JpGU) and the American Geophysical Union (AGU) joint meeting, Makuhari (Japan), 2017.5.21
Thaddeus M. Carvajal, Yoshiki Kubo, Katherine M. Viacrusis, Lara Fides T., Hernandez, Howell T. Ho, Divina Amalin, and Kozo Watanabe: Dengue risk modeling in Metro Manila, Philippines using land use and climate variables, 2nd International Forum on Sustainable Future in Asia, Bali (Indonesia), 2017.1.28

〔図書〕(計1件)

Carvajal, T. M., H. T. Ho, L. F. T. Hernandez, K. M. Viacrusis, D. M. Amalin, and K. Watanabe, An Ecological Context towards Understanding Dengue Disease Dynamics in Urban Cities: a Case Study in Metropolitan Manila, Philippines: Health in Ecological Perspectives in the Anthropocene (Editors: C. Watanabe, T. Watanabe), pp. 117-131 (Chapter 10), Springer, 2019

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：糠澤 桂

ローマ字氏名：(NUKAZAWA, kei)

所属研究機関名：宮崎大学

部局名：工学部

職名：助教

研究者番号(8桁)：20725642

研究分担者氏名：八重樫 咲子

ローマ字氏名：(YAEHASHI, sakiko)

所属研究機関名：山梨大学

部局名：大学院総合研究部

職名：助教

研究者番号(8桁)：30756648

研究分担者氏名：大村 達夫

ローマ字氏名：(OMURA, tatsuo)

所属研究機関名：東北大学

部局名：未来科学技術共同研究センター

職名：教授

研究者番号(8桁)：30111248

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。