

令和 4 年 5 月 24 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K15992

研究課題名（和文）ザンビアにおけるコウモリの新世界型回帰熱ボレリアの分布・拡散に関する役割

研究課題名（英文）Role of bats for the distribution of New World relapsing fever borreliae in Zambia.

研究代表者

邱 永晋 (Qiu, Yongjin)

北海道大学・人獣共通感染症国際共同研究所・助教

研究者番号：00760985

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：ザンビアのコウモリ293検体を対象にボレリア属細菌の検出を試みた。その結果16検体がPCR陽性となった。さらに遺伝子配列の解析を行ったところ、12検体（6 *Rousettus aegyptiacus*, 1 *Miniopterus fraterculus*, 3 *Eidolon helvum*, 1 *Epomophorus crypturus*, 1 *Nycteris thebaica*）から新世界型回帰熱ボレリアである *Borrelia fainii* の遺伝子が検出された。また、4検体（3 *N. thebaica*, 1 *E. helvum*）からはライム病ボレリアの遺伝子が検出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、ザンビアの複数のコウモリ種からボレリア属細菌が検出されており、ボレリア属細菌の分布や拡散にコウモリが深くかかわっていると推察された。一方で、これらのコウモリの生態は十分に解明されておらず、国境を越えてコウモリが移動し、他国にもボレリア属細菌が分布しているのかなど生態学など他分野と協力したさらなる研究が必要である。また、ELISA法に関しては、別の標的と成る抗原蛋白を探するなど、今後手法の開発・改良が必要であると考えられた。さらに、ライム病ボレリア群のボレリア属細菌がコウモリから検出された。アフリカにおけるライム病ボレリア群の検出報告は少なく、今後も継続した研究が期待される。

研究成果の概要（英文）：For the screening of *Borrelia*, 293 bat samples from 4 different location in Zambia were used in this study. Sixteen samples were positive for borrelia specific PCR. Subsequent sequence analysis revealed that *Borrelia fainii*, a New-World relapsing fever borrelia, were detected in 12 samples (6 *Rousettus aegyptiacus*, 1 *Miniopterus fraterculus*, 3 *Eidolon helvum*, 1 *Epomophorus crypturus*, and 1 *Nycteris thebaica*). While, Lyme diseases *Borrelia* was detected in four samples (3 *N. thebaica*, 1 *E. helvum*).

In this study, we detected *Borrelia fainii* in several bat species from different sampling location. This is suggested that several bat species might be involved in the distribution of *Borrelia fainii* in Zambia.

研究分野：感染症学

キーワード：ボレリア ザンビア コウモリ

1. 研究開始当初の背景

回帰熱は、吸血性節足動物のマダニやシラミが媒介する回帰熱ボレリアの感染によって引き起される。吸血性節足動物は、主な自然宿主である齧歯目を吸血する際に病原体を獲得する。回帰熱患者は、吸血性節足動物の刺咬後、1週間程度の潜伏期間を経て3日間の発熱期と7日程度続く無熱期を交互に繰り返す。適切な治療を施せなかった場合、致死率は30%に至る。流行地としては南ヨーロッパ、中央アジア、北米大陸、ならびにアフリカサハラ砂漠周辺の地域があげられる。特に、アフリカサハラ砂漠周辺は患者数が多く、公衆衛生上の重要な問題となっている。一方、南部アフリカでは報告が殆ど無く、同地域における回帰熱の調査・研究は喫緊の課題である。

回帰熱ボレリアは、北米大陸に分布する新世界型とそのほかの地域に分布する旧世界型に分けられている。これまでも、アフリカ大陸において新世界型回帰熱ボレリアの遺伝子検出の報告があるが、回帰熱ボレリアの分離には成功しておらず、また自然界における媒介節足動物や保菌動物も判明していなかった。しかし、申請者はザンビアにおいて発熱患者と洞窟性コウモリからヒト病原性回帰熱ボレリアの分離に世界で初めて成功した。次世代シーケンス技術を利用した解析により、分離された回帰熱ボレリアが北アメリカ大陸に分布する新世界型回帰熱ボレリアに分類される事が判明し、その新菌種を *Borrelia fainii* として提唱するに至った。しかし、なぜ新世界型回帰熱ボレリアがアフリカ大陸に分布するのか、また本菌に近縁な他の新世界型回帰熱ボレリアがアフリカ大陸に分布しているのかは、未だ明らかにされていない。

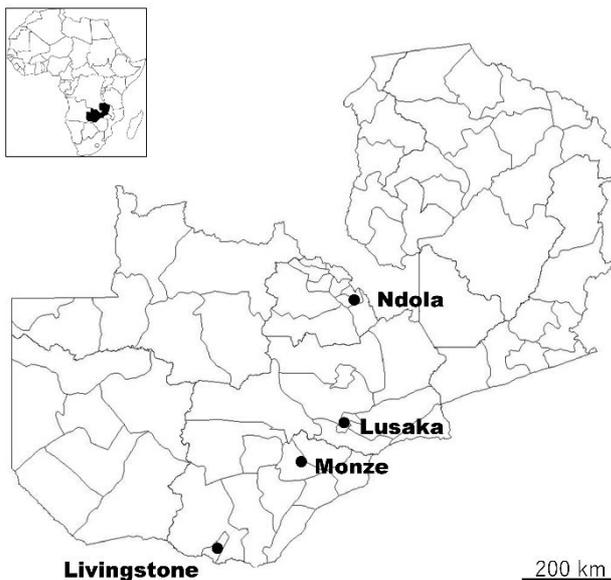
2. 研究の目的

本研究では、コウモリを対象として回帰熱ボレリアの血清学的調査や分子生物学的調査ならびに菌体の分離・解析を試みる。これらを基にザンビアにおける新世界型回帰熱ボレリアの多様性やその分布・拡散にコウモリが関与しているかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

【ボレリア属細菌の検出】

これまでの研究で、新世界型回帰熱ボレリアである *B. fainii* が Lusaka の洞窟で検出報告されている。本研究では、その洞窟とは異なる4か所 (Ndola、Lusaka、Monze、Livingstone : 右図) において収集されたコウモリ6種293検体 (81 *Epomophorus crypturus*, 89 *Eidolon helvum*, 11 *Miniopterus fraterculus*, 91 *Nycteris thebaica*, 4 *Rhinolophus swirnyi*, 17 *Rousettus aegyptiacus*)、からフラジェリン蛋白遺伝子を標的としたPCR法によりボレリア属細菌の遺伝子検出を行った。また、2020年に中国においてもザンビアで発見した *Borrelia fainii* と同じボレリア属細菌種の遺伝子がコウモリから検出された。このことを受けて、日本で新たにヒナコウモリ (*Vespertilio sinensis*) を収集し、ボレリア属細菌の検出を試みた。



【ELISA 法開発の試み】

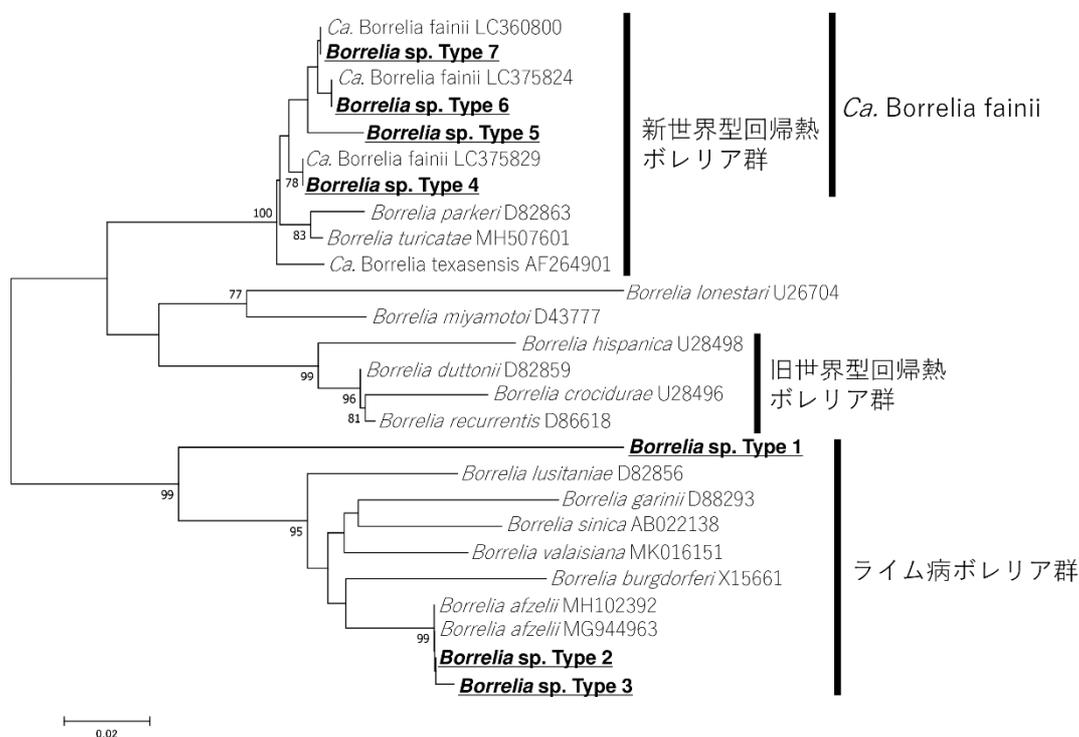
血清学的調査方法の確立のため、回帰熱患者血清ならびに健常人ボランティア血清を用いて *Candidatus Borrelia fainii* Qtaro 株の菌体ならびにリコンビナント glpQ 蛋白を抗原とした ELISA 系の開発を試みた。

4. 研究成果

ザンビアのコウモリ 293 検体を用いてボレリア属細菌の検出を試みた。その結果 16 検体が PCR 陽性となった (表)。さらに遺伝子配列の解析を行ったところ、12 検体 (6 *R. aegyptiacus*, 1 *M. fraterculus*, 3 *E. helvum*, 1 *Ep. crypturus*, 1 *N. thebaica*) からこれまでの研究で発見した新世界型回帰熱ボレリアである *B. fainii* の遺伝子が検出された。また、4 検体 (3 *N. thebaica*, 1 *E. helvum*) からはライム病ボレリアの遺伝子が検出された (下図)。一方で、日本のヒナコウモリ (10 *V. sinensis*) からはボレリア属細菌は検出されなかった。

表. ボレリア属細菌の検出結果

コウモリ種	場所	陽性数/検査数	遺伝子配列のタイプ(数)
<i>Epomophorus crypturus</i>	Monze	2/81	Type 4 (2)
<i>Eidolon helvum</i>	Ndola	4/89	Type 3 (1), Type4 (2), Type 5 (1)
<i>Miniopterus fraterculus</i>	Lusaka	1/11	Type 7 (1)
<i>Nycteris thebaica</i>	Livingstone	3/91	Type 1 (1), Type 2 (1), Type 7 (1)
<i>Rhinolophus swirnyi</i>	Lusaka	0/4	
<i>Rousettus aegyptiacus</i>	Lusaka	6/17	Type 4 (1), Type 6 (3), Type 7 (3)



ELISA 法に関しては、菌体抗原ならびにリコンビナント gI pQ 蛋白抗原のどちらを用いても、患者血清ならびに健常人ボランティア血清の間に有意な差は認められなかった。

本研究では、ザンビアの複数のコウモリ種からボレリア属細菌が検出されており、ボレリア属細菌の分布や拡散にコウモリが深くかかわっていると推察された。一方で、これらのコウモリの生態は十分に解明されておらず、国境を越えてコウモリが移動し、他国にもボレリア属細菌が分布しているのかなど生態学など他分野と協力したさらなる研究が必要である。また、ELISA 法に関しては、別の標的と成る抗原蛋白を探すなど、今後手法の開発・改良が必要であると考えられた。さらに、ライム病ボレリア群のボレリア属細菌がコウモリから検出された。アフリカにおけるライム病ボレリア群の検出報告は少なく、菌体の分離など継続した研究が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yongjin Qiu, Masahiro Kajihara, Ryo Nakao, Evans Mulenga, Hayato Harima, Bernard Mudenda Hang'ombe, Yoshiki Eto, Katendi Changula, Daniel Mwizabi, Hirofumi Sawa, Hideaki Higashi, Aaron Mweene, Ayato Takada, Martin Simuunza, Chihiro Sugimoto	4. 巻 13
2. 論文標題 Isolation of Candidatus Bartonella rousetti and Other Bat-associated Bartonellae from Bats and Their Flies in Zambia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pathogens	6. 最初と最後の頁 469
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/pathogens9060469.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Qiu Yongjin, Squarre David, Nakamura Yukiko, Lau Alice C. C., Moonga Lavel Chinyama, Kawai Naoko, Ohnuma Aiko, Hayashida Kyoko, Nakao Ryo, Yamagishi Junya, Sawa Hirofumi, Namangala Boniface, Kawabata Hiroki	4. 巻 9
2. 論文標題 Evidence of Borrelia theileri in Wild and Domestic Animals in the Kafue Ecosystem of Zambia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microorganisms	6. 最初と最後の頁 2405 ~ 2405
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/microorganisms9112405	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 邱 永晋
2. 発表標題 ザンビアにおける新世界型回帰熱ボレリアの発見とコウモリの役割
3. 学会等名 第6回北大・部局横断シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 邱 永晋
2. 発表標題 Candidatus Borrelia fainii ~ アフリカで発見された新世界型回帰熱ボレリア ~
3. 学会等名 第27回ダニと疾患のインターフェイスに関するセミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yongjin Qiu, Ryo Nakao, Bernard Mudenda Hangombe, Kozue Sato, Masahiro Kajihara, Sharon Kanchela, Ayato Takada, Hirohumi Sawa, Chihiro Sugimoto, Hiroki Kawabata
2. 発表標題 Human borreliosis caused by a novel New World relapsing fever borrelia in the Afrotropic ecozone
3. 学会等名 第60回日本熱帯医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 邱 永晋
2. 発表標題 Research on vector-borne bacterial pathogens in Hokudai Center for Zoonosis Control in Zambia
3. 学会等名 第18回Young Scientist Seminar (招待講演)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
ザンビア	ザンビア大学	ザンビア野生動物局	