

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 24 日現在

機関番号：64303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2011

課題番号：20710013

研究課題名(和文) 水域生態系において懸濁物質がウイルス感染に与える影響

研究課題名(英文) Effect of suspended matter and its sediment on viral infection in aquatic ecosystems.

研究代表者 本庄 三恵 (MIE HONJO)

総合地球環境学研究所 研究部 プロジェクト研究員

研究者番号：30450208

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境動態解析

キーワード：ウイルス、コイヘルペスウイルス、懸濁物質、吸着、検出法、水域生態系、琵琶湖、堆積物

1. 研究計画の概要

水域生態系において、ウイルス感染は生物の重要な死亡要因となっている。本研究では、ウイルスの粒子吸着過程に着目し、懸濁物質がウイルスの生残性と感染に与える影響を室内実験、および野外調査にて明らかにすることにより、水域生態系において懸濁物質がウイルスの動態に与える影響を検証しようというものである。

本研究では、懸濁物質がウイルスによる動態に与える影響を評価するために、環境中での動態追跡が可能な既知のコイヘルペスウイルス(KHV)およびλファージをモデルウイルスとして用い、以下の点を明らかにすることを目的とした。

(1)懸濁物質からのウイルス検出法の開発

(2)環境中の懸濁物質画分へのウイルスの分布の解明

を行うことでウイルスを吸着させる物質を特定し、

(3)それらの懸濁物質がウイルスの生残性に与える影響

(4)pHの変化が懸濁物質からのウイルスの遊離に与える影響

を明らかにする。最終的には、懸濁物質がウイルスの生残の場となり、水質の変化がウイルスを遊離させ、感染源となる可能性を検証することができる。

2. 研究の進捗状況

(1)これまで、負の電荷を帯びたウイルスが鉱物粒子に吸着しやすいことは知られていたが、鉱物を含む環境中の低濃度のウイルスを定量的に検出する手法は確立されていなかった。本研究では懸濁物質が沈降し、堆積した堆積物からの KHV の抽出・定量法を確立

し、論文にまとめて投稿中である。

(2)代掻きによる鉱物を含む濁水中に KHV を 10⁴/mL になるよう添加した結果、鉱物粒子から約 10⁶/g の KHV が検出された。このことから、水中の KHV は鉱物粒子に吸着し、濃縮されることが明らかになった。また、粒子サイズのより小さい泥は砂利の約 10 倍の KHV を吸着することが明らかになった。さらに、(1)で開発した手法を用いて、琵琶湖集水域の堆積物中 KHV の時空間分布を調査した結果、主に泥を含む堆積物から年間を通して KHV が検出された。以上の結果から、人間活動による底質の泥化は、堆積物に KHV をストックさせ、感染源となる可能性が考えられた。一方、同じ泥を含む堆積物でも KHV がほとんど検出されない場所もあり、鉱物粒子のサイズ以外の要因が KHV の分布に影響を与えることが示唆された。

伊庭内湖の懸濁物質を調べた結果、プランクトンから KHV が検出され、相関解析から主に Rotifera への吸着が推定された。しかし、その量は堆積物より少なかった。

(3)現場調査からは、泥を多く含む堆積物から水中に KHV が検出されない冬も含め年間を通して KHV-DNA の存在が確認され、泥への吸着が KHV の残存性を高めている可能性が示唆された。現在、夾雑物を含む環境サンプルから KHV の生残性を測定するため、感染力を測定する手法の確立を行っている。

(4)残りの研究期間で、実験的に pH を変化させ、懸濁物質から遊離する KHV の測定を行い、影響を明らかにする。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している

(理由)

本研究のもっとも基礎となる、懸濁物質からの KHV の検出・定量法の開発が初期の段階で達成され、野外調査および室内実験により吸着しやすい懸濁物質の質的・量的評価を行ってきた。残された研究課題は、懸濁物質がウイルスの生残性に与える影響と pH の変化が懸濁物質からの遊離に与える影響の評価という、室内実験のみである。

4. 今後の研究の推進方策

当初の計画では、懸濁物質がウイルスの生残性に与える影響を、感染力の有無から評価する予定であった。しかし、環境中のウイルス濃度は極めて希薄であること、また環境サンプルは感染力の測定を阻害する夾雑物を多く含むことから、細胞培養による感染力測定が非常に難しいことが分かった。そのためまずは、より感度が高く夾雑物の影響を受けにくい遺伝子を用いた手法で、ウイルスの残存性を評価する予定である。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① Minamoto, T., Honjo, M. N., Yamanaka, H., Tanaka, N., Itayama, T., Kawabata, Z. (2011) Detection of cyprinid herpesvirus-3 DNA in lake plankton. *Research in Veterinary Science* (査読有) 90: 530-532
- ② Uchii, K., Telschow, A., Minamoto, T., Yamanaka, H., Honjo, M. N., Matsui, K., Kawabata, Z. (2011) Transmission dynamics of an emerging infectious disease in wildlife through host reproductive cycles. *The ISME Journal* (査読有) 5: 244-251
- ③ Honjo, M. N., Minamoto, T., Matsui, K., Uchii, K., Yamanaka, H., Suzuki, A. A., Kohmatsu, Y., Iida, T., & Kawabata, Z. (2010) Quantification of cyprinid herpesvirus-3 (CyHV-3) in environmental water using an external standard virus. *Applied and Environmental Microbiology* (査読有) 76: 161-168
- ④ Minamoto, T., Honjo, M. N., Kawabata, Z. (2009) Seasonal Distribution of Cyprinid Herpesvirus 3 in Lake Biwa, Japan. *Applied and Environmental Microbiology* (査読有) 75: 6900-6904
- ⑤ Minamoto, T., Honjo, M. N., Uchii, K., Yamanaka, H., Suzuki, A. A., Kohmatsu, Y., Iida, T., Kawabata, Z.

(2009) Detection of cyprinid herpesvirus 3 DNA in river water during, after an outbreak. *Veterinary Microbiology* (査読有) 135: 261-266

[学会発表] (計 8 件)

- ① 源利文・本庄三恵・山中裕樹・内井喜美子・川端善一郎「全国の自然河川におけるコイヘルペスウイルスの分布」日本陸水学会第 75 回大会(弘前), 2010.9.17-20
- ② 本庄三恵, 源利文, 川端善一郎「堆積物におけるコイヘルペスウイルスの検出・定量」第 57 回日本生態学会(東京), 2010.3.15-20
- ③ 源利文, 本庄三恵, 内井喜美子, 山中裕樹, 鈴木新, 神松幸弘, 米倉竜次, 大森浩二, 板山朋聡, 田中伸幸, 浅野耕太, 白江祐介, 奥田昇, 川端善一郎「コイヘルペスウイルス感染症と人間の相互作用環(シンポジウムS12: 環境変化-感染症-人間のつながり)」日本生態学会第 57 回全国大会(東京), 2010.3.15-20
- ④ 田中伸幸, 板山朋聡, 源利文, 本庄三恵, 川端善一郎「環境水中の低密度ウイルスに対する濃縮システムの開発」第 44 回日本水環境学会年会(福岡), 2010.3.15-17
- ⑤ 源利文, 本庄三恵, 川端善一郎「琵琶湖におけるコイヘルペスウイルスの動態解析」第 74 回日本陸水学会(大分), 2009.9.17
- ⑥ 本庄三恵, 源利文, 松井一彰, 内井喜美子, 山中裕樹, 鈴木新, 神松幸弘, 飯田貴次, 川端善一郎「環境水中に存在するコイヘルペスウイルスの定量」第 73 回日本陸水学会(札幌), 2008.10.11
- ⑦ Tanaka, N., Itayama, T., Honjo, M., Minamoto, T., Kawabata, Z. 「Development of a Rapid Concentration System for Virus in Environmental water」12th International Conference on Integrated Diffuse Pollution Management (IWA DIPCON 2008) (in Khon Kaen, Thailand) 2008.8.27