

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：82603

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K15671

研究課題名(和文) 野鳥と吸血昆虫から探る新興アルボウイルスの生態解析

研究課題名(英文) Ecological analysis of emerging arthropod-borne viruses explored by wild birds and blood-sucking arthropods

研究代表者

小林 大介 (Kobayashi, Daisuke)

国立感染症研究所・安全実験管理部・主任研究官

研究者番号：40829850

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、野鳥の営巣活動を中心として、それを取り巻く多様な吸血昆虫類に着目し、それらが保有する病原ウイルスの探索とそれらウイルスの新たな維持・伝播サイクルを見出すことを目的に研究に取り組んだ。野鳥の営巣地や巣材から飛翔性のハエ目昆虫(ヌカカ、ブユ等)、ダニ類、ノミ類などの様々な吸血昆虫類を採集し、次世代シーケンサーや培養細胞を用いたウイルス分離手法を活用することによって、それらが保有するウイルスを網羅的に解析した。その結果、これら吸血昆虫類が保有する新規ウイルスを含めた多種多様なウイルスの存在が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、これまで病原体の媒介者としてあまり注目されることのなかった鳥類の営巣活動を取り巻く吸血昆虫類(サシダニ類やノミ類等)も、蚊やマダニといった重要な病原ウイルスの媒介者と同様に、多様なウイルスを保有していることが明らかとなった。この結果は、野鳥とその巣材に棲息する吸血昆虫類との間に、これまで見過ごされていたウイルスの伝播・維持サイクルが存在する可能性を示すものであり、今後ヒトや動物の集団中で流行する可能性のある新興ウイルスの供給源となりうる可能性も考えられた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on insects that preferentially suck blood from birds and a variety of blood-sucking arthropods inhabiting bird nest to explore pathogenic viruses and find a new maintenance and transmission cycles of the viruses among them. We captured various blood-sucking arthropods, such as dipteran insects (e.g., biting midges and black flies) around bird nesting sites. Furthermore, ticks, mites, and fleas were collected from bird nests during the research term. From the collected samples, RNA virome analyses were conducted by utilizing next-generation sequencers and virus isolation methods using cell culture systems were also conducted. The results of these analyses revealed the presence of a wide variety of viruses, including novel viruses, in blood-sucking arthropods inhabiting nests of wild birds.

研究分野：媒介生物学

キーワード：ウイルス アルボウイルス 吸血昆虫 ダニ ヌカカ ブユ

1. 研究開始当初の背景

最近新しく認知され、公衆衛生上の問題となるウイルス感染症のことを“新興ウイルス感染症”という。そのほとんどは、野生動物からヒトへもたらされる。それゆえ、新興ウイルス感染症を防ぐためには、ウイルスの自然生態を理解し、ヒトの生活圏へのウイルスの侵入を、事前に察知することが重要である。四肢動物の中で最大の種多様性を誇り、なおかつ長距離を移動する“渡り”の習性をもつ鳥類は、ウイルス保有宿主ならびに拡散動物として重要である。また鳥類は、様々な昆虫類の吸血対象になっており、鳥類の営巣活動の中心となる鳥の巣には、特異かつ多様な吸血昆虫相が形成されることが知られている。しかしながら、これらの吸血昆虫類は、ウイルスの媒介者あるいは保有宿主としての検討が十分になされていない。先行研究において我々は、鳥類に寄生する吸血昆虫であるシラミバエから、複数の新規ウイルスを見出した。この事実は、自然界にこれまで全く注目されていなかった病原ウイルスの巣窟（hot spot）があることを示すものであると考えられた。そこで本研究では、鳥類とその営巣活動を中心に関わる吸血昆虫類から、網羅的なウイルスの探索を行うことで、病原ウイルスの新たな維持・伝播サイクルを見出すとともに、ヒトやその他の動物への感染リスクを明らかにすることを目指した。

2. 研究の目的

本研究では、鳥類の巣を病原ウイルスの hot spot と位置づけ、野鳥の営巣活動を中心とするアルボウイルスの新たな維持・伝播サイクルを見出すことを研究の目的とした。その目的を達成するため、以下の2点を本研究で明らかにすることを目指した。

渡り鳥・吸血昆虫類が保有する多様なアルボウイルスの存在

分離されたアルボウイルスの性状と新興ウイルス感染症としての流行リスク

3. 研究の方法

春・夏季等に飛来する渡り鳥をカスミ網で採集し、採血およびマダニなどの吸血昆虫類を直接採集した。また、飛翔性吸血昆虫（蚊やヌカカなど）は、鳥の営巣地付近等にCO₂トラップを設置し捕集を実施した。野鳥が多く飛来する地点を中心として、旗振り法によるマダニの採集も行った。さらにヒナが巣立った後の巣材を回収し、そこに生息する吸血昆虫類の採集を実施した。

上述のように収集した検体を用いて、各種培養細胞を用いたウイルス分離および次世代シーケンサーを用いたウイルスの網羅的検出を実施した。解析の結果、得られたウイルスゲノム配列は、近縁ウイルスとの遺伝子構造の比較解析ならびに分子系統解析を行い、ウイルスの基本性状を解析・推定した。

4. 研究成果

研究期間中に飛翔性吸血昆虫（蚊、ヌカカ、ブユ）、野鳥寄生吸血昆虫類（マダニ）、巣材に

棲息する吸血昆虫類（ヒメダニ、サシダニ、ノミ等）、野鳥（イワツバメ）血液サンプルと
 いった多数の検体を収集した。これらの検体からウイルスの網羅的探索と見出されたウイ
 ルスの基本性状解析を実施した。

本研究による主要な成果を項目ごとに以下に示す。

（１）鳥類吸血嗜好性種を含む吸血性ユスリカ上科昆虫の保有する RNA ウイルス叢解析

東京都下で捕集されたニワトリヌカカおよびヒロシマツノマユブユの保有する RNA ウ
 イルスを、次世代シーケンサーを用いて網羅的に検出した。その結果、それぞれ様々な分
 類群に属する 3 種類の新規ウイルスが検出された（表 1）。このことから、これまでウイル
 スの媒介者としてあまり注目されることのなかった吸血性のハエ目昆虫においても、ウイ
 ルス媒介者として重要な蚊やマダニと同様に、多様なウイルスを保有している実態が初め
 て明らかとなった。

表 1：ニワトリヌカカとヒロシマツノマユブユから検出された RNA ウイルスの一覧

検出源	ウイルス名	分類群		GenBank accession no.
		ウイルス科	ウイルス属	
ニワトリヌカカ (<i>Culicoides arakawae</i>)	Carajing virus	unclassified	<i>Jingmenvirus</i> *	LC552035 (segment 1)
				LC552036 (segment 2)
				LC552037 (segment 3)
				LC552038 (segment 4)
	Carapha virus	<i>Phasmaviridae</i>	<i>Orthophasmavirus</i>	LC552039 (L segment)
				LC552040 (M segment)
				LC552041 (S segment)
Carano virus	<i>Nodaviridae</i>	<i>Alphanodavirus</i>	LC552042 (RNA 1)	
ヒロシマツノマユブユ (<i>Simulium aureohirtum</i>)	Sacri virus	<i>Dicistroviridae</i>	<i>Cripavirus</i>	LC552045
	Sano virus	<i>Nodaviridae</i>	<i>Alphanodavirus</i>	LC552043 (RNA 1)
				LC552044 (RNA 2)
	Simulium aureohirtum associated A virus	unclassified	unclassified	LC552046

* Proposed genus

（２）新規ニャウイルスであるセキラウイルスの発見

日本国内のイワツバメの巣材から採集されたツバメヒメダニの RNA ウイルス叢を行っ
 た。その結果、ヒメダニ媒介性ウイルスとして知られるニャミウイルス科ニャウイルス属ウ
 イルスに類似した配列が検出された。検出された配列の解析を行ったところ、この配列は新
 規のニャウイルスに由来することが判明し、本ウイルスを暫定的に Sekira virus (SEKRV)
 と命名した。ニャウイルスはヒメダニ媒介性のアルボウイルスの一群であり、世界各地のヒ

メダニや野鳥から分離あるいは検出されている。これまでに日本国内からは、岩手県のウミネコの営巣地で採集された Midway virus の存在が知られるのみであったが、今回新たなニャウイルスの存在を確認することができた。興味深いことに今回検出された SEKRV は、ニャウイルスが通常コードしているウイルスの構造タンパク質[ウイルス糖タンパク質 (G) とマトリックスタンパク質 (M)]の遺伝子を欠損していることが、配列解析の過程で明らかとなった (図 1)。このような G と M 遺伝子を欠損しているニャウイルスの野外サンプルからの検出は、世界初の報告となったとともに、Nyamiviridae に属するウイルスの系統進化における重要な新知見となった。

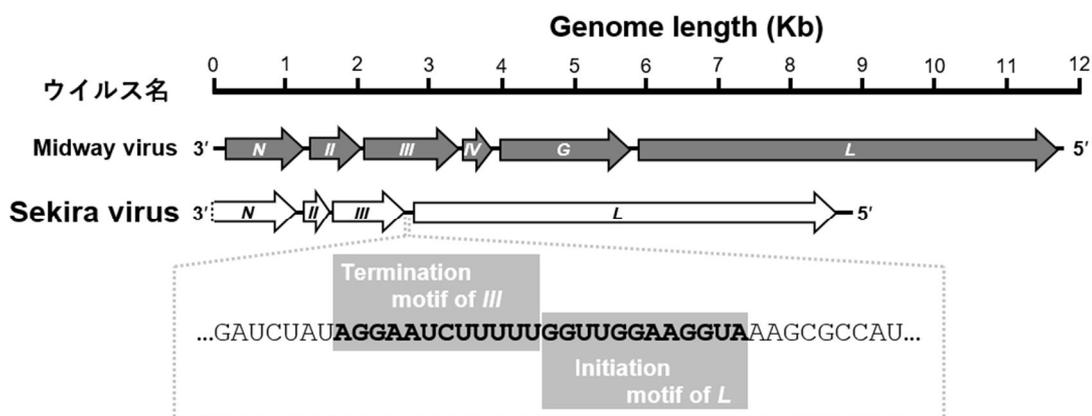


図 1 : 本研究によって発見された Sekira virus と近縁ウイルス (Midway virus) とのウイルスゲノム構造の比較

また、本ウイルスを国際誌上で報告した後、Sekira virus は国際ウイルス分類委員会によって、ニャウイルス属に属する新規ウイルスとして正式に認められた。

表 2 : 国際ウイルス分類委員会によって承認された *Nyavirus* 属ウイルスのリスト [Kuhn et al. 2022 taxonomic update of phylum Negarnaviricota (Riboviria: Orthornavirae), including the large orders Bunyavirales and Mononegavirales. Arch Virol. 2022;167(12):2857-2906.]

属名	ウイルス種名	ウイルス名 (略称)
<i>Nyavirus</i>	<i>Nyavirus argatis</i>	Sekira virus (SEKRV)
	<i>Nyavirus midwayense</i>	Midway virus (MIDWV)
	<i>Nyavirus nyamaniniense</i>	Nyamanini virus (NYMV)
	<i>Nyavirus sanjacintoense</i>	San Jacinto virus (SJCv)
	<i>Nyavirus sierranevadaense</i>	Sierra Nevada virus (SNVV)
	<i>Nyavirus somateriae</i>	Jeremy Point nyavirus (JPNV)

赤字は本研究によって発見されたウイルス

(3) 野鳥巣材に棲息するスズメトリノミから新規 Jingchu ウイルス目ウイルスの検出

東京都内において収集されたツバメの巣材からスズメトリノミが採集され、それらの保有するウイルスを調査するため、上記の方法と同様に次世代シーケンサーを用いた網羅的なウイルス解析を実施した。その結果、近年新たに創設されたウイルス分類群である Jingchu ウイルス目に属すると思われる新規性の高いウイルス様配列が検出された。Jingchu ウイルス目に分類されるウイルスの多くは節足動物から見出されており、そのなかには、ヒトへ感染性・病原性を示すことが示唆されているウイルスの存在も知られている。今回検出された新規ウイルスのヒトを含めた脊椎動物への感染性等は未だ不明であるが、本ウイルス様配列は、スズメトリノミの成虫と幼虫のいずれのサンプルからも検出されたことから、宿主ノミにおいて垂直伝播していることが示唆された。

(4) スズメサシダニが保有する多様な RNA ウイルス叢の解明

関東圏内の複数地点において収集したイワツバメの巣材から、多数のスズメサシダニが採集され、それらの保有するウイルスを調査するため、次世代シーケンサーを用いた RNA ウイルス叢解析を実施した。その結果、マダニ・ヒメダニ媒介性のウイルスと相同性を示すものも含め、様々なウイルス分類群に属する多様なウイルス様配列が検出された。

いずれのウイルスも国際塩基配列データベース上に登録されているウイルスとはアミノ酸配列の相同性が低く、新規性の高いウイルスであることが示唆された。そのうちの一つは、オルソミクソウイルスに類似した配列を持つことが判明し、分子系統解析を実施した結果、ダニ媒介性ウイルスであるクアランジャウイルス属のウイルスとクラスターを形成し、さらにクアランジャウイルス属ウイルスの中で、最近ヨーロッパのワクモから検出された Red mite quaranjavirus と最も近縁であることが判明した。本ウイルス陽性スズメサシダニ検体を、哺乳動物由来培養細胞へ接種することによってウイルスの分離を試みたものの、ウイルスは分離されなかった。今回の実験では哺乳動物細胞への本ウイルスの感染性は確認されなかったが、本研究を通して、本邦産の吸血性サシダニ類はダニ媒介性のクアランジャウイルスと近縁なウイルスを保有していることが初めて明らかとなった。

さらに、今回検出されたその他 2 種のウイルスは、これまでに得られているウイルスゲノムの部分配列を解析した結果、フラビウイルス科およびレオウイルス科に属する新規ウイルスであることが推察された。いずれのウイルスも、上述の新規クアランジャウイルスと同様に、ヒトを含めた哺乳動物由来培養細胞等への感染性解析などによって、新興ウイルス感染症の原因ウイルスとして今後勃興する可能性があるか、さらなる解析を進める予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 小林大介	4. 巻 90
2. 論文標題 昆虫類のウイルス叢解析の実際と見出されたウイルスのユニークな進化生態（特集 ポストNGSの昆虫科学を考える）	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 蚕糸・昆虫バイオテック	6. 最初と最後の頁 9-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kobayashi Daisuke, Kuwata Ryusei, Kimura Toshiya, Faizah Astri Nur, Higa Yukiko, Hayashi Toshihiko, Sawabe Kyoko, Isawa Haruhiko	4. 巻 166
2. 論文標題 Toyo virus, a novel member of the Kaisodi group in the genus Uukuvirus (family Phenuiviridae) found in Haemaphysalis formosensis ticks in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Archives of Virology	6. 最初と最後の頁 2751 ~ 2762
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00705-021-05193-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kobayashi Daisuke, Kuwata Ryusei, Kimura Toshiya, Shimoda Hiroshi, Fujita Ryosuke, Faizah Astri Nur, Kai Izumi, Matsumura Ryo, Kuroda Yudai, Watanabe Shumpei, Kuniyoshi Sawako, Yamauchi Takeo, Watanabe Mamoru, Higa Yukiko, Hayashi Toshihiko, Shinomiya Hiroto, Maeda Ken, Kasai Shinji, Sawabe Kyoko, Isawa Haruhiko	4. 巻 13
2. 論文標題 Detection of Jingmenviruses in Japan with Evidence of Vertical Transmission in Ticks	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 2547 ~ 2547
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/v13122547	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 -

1. 著者名 Kobayashi Daisuke, Kuwata Ryusei, Kimura Toshiya, Faizah Astri Nur, Higa Yukiko, Hayashi Toshihiko, Sawabe Kyoko, Isawa Haruhiko	4. 巻 75
2. 論文標題 Detection of Quaranjavirus-Like Sequences from <i>Haemaphysalis hystri</i> Ticks Collected in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 195 ~ 198
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7883/yoken.JJID.2021.129	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 -

1. 著者名 Kobayashi Daisuke, Kuwata Ryusei, Kimura Toshiya, Faizah Astri Nur, Azerigyik Faustus Akankperiwen, Higa Yukiko, Hayashi Toshihiko, Sawabe Kyoko, Isawa Haruhiko	4. 巻 106
2. 論文標題 Detection of Japanese Encephalitis Virus RNA in Host-Questing Ticks in Japan, 2019-2020	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene	6. 最初と最後の頁 1725 ~ 1728
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4269/ajtmh.21-0700	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kobayashi Daisuke, Murota Katsunori, Faizah Astri Nur, Amoa-Bosompem Michael, Higa Yukiko, Hayashi Toshihiko, Tsuda Yoshio, Sawabe Kyoko, Isawa Haruhiko	4. 巻 71
2. 論文標題 RNA virome analysis of hematophagous Chironomidae flies (Diptera: Ceratopogonidae and Simuliidae) collected in Tokyo, Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medical Entomology and Zoology	6. 最初と最後の頁 225 ~ 243
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7601/mez.71.225	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 -

1. 著者名 Kobayashi Daisuke, Komatsu Noriyuki, Faizah Astri Nur, Amoa-Bosompem Michael, Sawabe Kyoko, Isawa Haruhiko	4. 巻 292
2. 論文標題 A novel nyavirus lacking matrix and glycoprotein genes from Argas japonicus ticks	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Virus Research	6. 最初と最後の頁 198254 ~ 198254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.virusres.2020.198254	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 小林大介
2. 発表標題 東京都で捕集された吸血性ユスリカ上科昆虫 (ハエ目: ヌカカ科およびブユ科) のRNAウイルス叢解析
3. 学会等名 第73回日本衛生動物学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村俊也, 鎌田龍星, 南博文, 小林大介, 伊澤晴彦, 前川芳秀, 比嘉由紀子, 林利彦, 五十嵐真人, 葛西真治, 沢辺京子
2. 発表標題 SFTS感染ネコの周辺環境におけるマダニ相調査ならびに殺虫剤によるマダニ駆除
3. 学会等名 第73回日本衛生動物学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Faizah AN, Kobayashi D, Amoa-Bosompem M, Higa Y, Tsuda Y, Itokawa K, Miura K, Hirayama K, Sawabe K, Isawa H
2. 発表標題 Vector competence assessment of Aedes. j. japonicus after exposure to three Japanese encephalitis virus genotypes
3. 学会等名 第73回日本衛生動物学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小林大介
2. 発表標題 吸血性節足動物の保有する多種多様なウイルスの世界
3. 学会等名 第72回日本衛生動物学会大会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020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
---------	---------