

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：32701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580451

研究課題名(和文) 産業動物に対する迅速な新規疾病ウイルスの検出と分離の試み

研究課題名(英文) Trial of new virus isolation from industrial animals

研究代表者

落合 秀治 (Ochiai, Hideharu)

麻布大学・付置研究所・准教授

研究者番号：20247307

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：ヤギの下痢便について次世代シーケンサーを用い、メタゲノム解析をおこなった。エンテロウイルスに高い相同性を持つ塩基配列が得られた。これらの配列の5'非翻訳領域についてプライマーをデザインしRT-PCRを行ったところ、ウシおよびヒツジのエンテロウイルスに相同性(77-87%)を示す563塩基配列が得られた。我々はヤギから得られたこのウイルスをヤギエンテロウイルスG1(GEV-G1)と名付けた。系統樹解析により、GEV-G1はヒツジエンテロウイルスのクラスターに属することが示された。本研究は、日本のヤギに感染したエンテロウイルスの塩基配列についての初めての報告である。

研究成果の概要(英文)：Goat diarrheal feces were subjected to metagenome analysis by the next-generation sequencing. Nucleotide sequences with homology to enteroviruses were obtained. Primers for RT-PCR were designed based on the nucleotide sequence of these sequences at the 5'-untranslated region, and we determined 563 bp nucleotide sequences that showed homology to bovine-like and ovine enteroviruses (77&#8211;87%). We named the virus detected in this study goat enterovirus G1 (GEV-G1). In the phylogenetic analysis, GEV-G1 belonged to a cluster containing ovine enteroviruses. To our knowledge, this is the first report on nucleotide sequences of an enterovirus infecting Japanese goats.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学 臨床獣医学

キーワード：ウイルス 衛生 感染症

## 1. 研究開始当初の背景

家畜のように遺伝的な多様性の少ない生物は、新規ウイルス感染に対する免疫力が弱くなり集団で発病する危険性が高いと考えられる。実際、原因不明の集団疾患を抱えている現場は少なくはなく、その経済的損失は大きい。ブタの生産現場においてもブタ繁殖・呼吸器障害症候群ウイルス (PRRSV) やサーコウイルス (PCV2) が関与する離乳後多臓器性発育不良症候群 (PMWS) が問題となっている。ヒトに病原性を有する可能性のあるウイルスは現在 100 種類ぐらいといわれているが、ウシ、ブタで明らかにされているウイルスはそれらに比べると少なく、見過ごされている可能性が高い。これらは原因不明の一過性の流行性疾患と片付けられているのが現状であろう。ウシ、ブタなどの産業動物はワクチンや抗生剤投与により、重篤な感染症の防疫を行っているが、数年ごとに出現する変異ウイルスの流行により、甚大な経済的損失を被っている。

## 2. 研究の目的

ウイルスによる疾患には未同定・未確認、さらには変異種が関与していると考えられ、それらを迅速に判明し検査方法を確立することは経済的効果の面でもきわめて重要である。また、近年新興・再興感染症が多発する傾向にあり、対策の重要性が強調されている。それら新興感染症の実に七割が人獣共通感染症であり、動物の感染症の実態を解明すること

は、流行予測、伝播防止の面から非常に重要である。現実、ブタはインフルエンザウイルス等の重要な中間宿主であり、中間宿主での感染状況をモニタリングできれば、ヒトの感染症に対する予防線としても、有用性が高いものとする。この意味においても、本研究課題で期待される成果の重要性は計り知れない。

## 3. 研究の方法

検体の採取と臨床データ収集 ウイルス疾患の可能性のある産業動物から、血清、鼻汁、唾液を採取した。次世代シーケンサーにより塩基配列を決定した。

## 3. 研究成果

本年度は新規ウイルスを探索するために、次世代型シーケンサーを用いた解析を実施した。ヤギの下痢便 (2 検体: 検体名 G1、G2) について、イルミナ社の MiSeq でメタゲノム解析をおこなった。本解析で得られたリード数は、検体 G1 で 3,280,164、G2 で 3,390,671 であった。これらのリード数は次世代型シーケンサーの反応が正しくおこなわれたことを示している。ここからコンティグを作成し下痢便中に含まれる主な病原体の探索を試みた。G1 からは 1387 コンティグ、G2 からは 73 コンティグが得られた。これらのコンティグを Blast を用いてウイルスや細菌への相同性について検索した。検体 G1 からは Porcine enterovirus B、Possum enterovirus W1、Human enterovirus A、Bovine enterovirus などのエンテロウイルスに相同性のあるコ

ンティグが含まれていることが明らかになった。一方、検体 G2 からは Clostridium subterminale、Clostridium baratii、Clostridium perfringens、Bacteroides fragilis、Bacteroides helcogenes などの細菌のゲノムに相同性のあるコンティグが含まれていた。また、G1 には Erysipelothrix rhusiopathiae、Escherichia coli 0157、Helicobacter pylori にやや相同性を有するものもあったが、さらなる慎重な解析が必要と考えられる。なお、G2 からはウイルス様遺伝子は検出されなかった。G2 の細菌に関しては今後の詳細な検討が必要であるが、G1 のエンテロ様ウイルスについてはヤギの下痢の原因になっている可能性が高いと考えられた。このエンテロ様ウイルスは新規ウイルスの可能性があり、今後検討をおこなう予定である。

#### ・現在までの達成度

本研究において、ヤギの下痢便から新規エンテロウイルスが検出された可能性があり、目的を達成していると考えている。ウシでは教科書では、エンテロウイルスは下痢の原因とされているが、実際に下痢の原因か否かは不明である。本研究ではヤギの下痢便からエンテロウイルス様遺伝子が検出されたことから、このウイルスが原因であると考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

(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 1 件)

Detection of enterovirus genome sequence from diarrheal feces of goat. Omatsu

T, Tsuchiaka S, Hirata T, Shiroma Y, Okazaki S, Katayama Y, Oba M, Nishiura N, Sassa Y, Furuya T, Nagai M, Ochiai H, Tamaki S, Mizutani T.

Virus Genes. 2014 Jun;48(3):550-2. doi: 10.1007/s11262-014-1057-9.

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

落合秀治 (OCHIAI Hideharu)

麻布大学・附置生物科学総合研究所・准教授

研究者番号：20247307

### (2)研究分担者

水谷哲也 (MIZUTANI Tetsuya)

国立感染症研究所・ウイルス II 部

研究者番号：70281681

### (3)連携研究者

( )

研究者番号：