

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：10101
研究種目：基盤研究(B) (一般)
研究期間：2019～2022
課題番号：19H03112
研究課題名(和文) マダニに潜む病原体のグローバルプロファイリング

研究課題名(英文) Global profiling of pathogens in ticks

研究代表者

松野 啓太 (Matsuno, Keita)

北海道大学・人獣共通感染症国際共同研究所・准教授

研究者番号：40753306

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：マダニが媒介する病原微生物は寄生虫からウイルスまで多岐にわたり、網羅的検出法が発展した近年ではさらに多種多様な微生物がマダニから発見されている。しかし、ハイスループットに新規微生物を培養し、ヒトや動物における病原性を調べることは困難である。そこで、本研究課題では新規微生物探索から性状解析・病原性推定までの効率的な新しいスタンダードの確立を目指し、複数の微生物を網羅的かつ同時に検出・培養する手法の開発、各微生物の性状比較解析、病原性推定(プロファイリング)方法の提案と検証を行った。さらに、研究期間中に原因不明の発熱を呈した患者より新規ダニ媒介性ウイルスを発見し、性状解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マダニが媒介するウイルス感染症は多岐に渡るが、それ以上に数多くの多様なウイルスがマダニから見つかる。現に、本研究では、マダニ刺咬後に原因不明の熱性疾患を呈した患者より新規ウイルスであるエゾウイルスを発見し、エゾウイルス感染症として報告した。しかし、マダニ中の多様なウイルスの中から、エゾウイルスのようにヒトや動物に病気を起こす可能性のあるウイルスをあらかじめ見つけることは難しい。本研究では、マダニ中のどのウイルスがヒトや動物に病気を起こす可能性が高いかを解析する技術基盤および手法を検討した。

研究成果の概要(英文)：Ticks transmit a wide range of pathogens, including parasites and viruses. In recent years, with the development of comprehensive detection methods, an even greater variety of pathogens have been discovered in ticks. However, it is difficult to culture novel pathogens in a high-throughput manner and investigate their virulence in humans and animals. Therefore, in this research project, we aimed to establish a new standard for the efficient search for new pathogens, characterization, and evaluation of the pathogenicity, and proposed methods for (1) comprehensive and simultaneous detection and culture of multiple pathogens, (2) comparative characterization of each pathogen, and (3) estimation of pathogenicity (profiling), and verified these methods. Furthermore, a new tick-borne virus was discovered in a patient who presented with a fever of unknown origin during the study period, and its properties were analyzed.

研究分野：ウイルス学

キーワード：アルボウイルス マダニ

1. 研究開始当初の背景

マダニは世界中に広く分布する吸血性節足動物である。マダニが吸血と共に媒介する病原微生物は寄生虫、細菌、ウイルスと多岐にわたり、地域ごとに異なるマダニ種と病原体が分布するため、ダニ媒介性感染症対策は地域ごとに最適化する必要がある。さらに、ダニ媒介性感染症の多くが人獣共通感染症であるため、動物による伝播や分布域の変化が問題を複雑にしている。日本国内でも、ボレリアによるライム病、リケッチアによる日本紅斑熱などの寄生虫・細菌感染症に加え、ダニ媒介脳炎や重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) といったウイルス性疾患が問題となっている。

一方で、近年のシーケンス技術の発達により、これまでに知られている以上に多種多様な微生物がマダニ中には生息していることが明らかとなってきた (Tokarz et al. 2014 J Virol, Li et al. 2015 eLife)。申請者らの近年の研究でも、フレボウイルス、ブニヤウイルス、レオウイルスや、リケッチア属細菌が発見されている。しかし、これらの新規微生物のうち、哺乳動物における病原性を実験的に検証できているのは分離培養できた一部のウイルスのみである。

SFTS やハートランドウイルス病は、それぞれ中国とアメリカで近年に報告された新しいダニ媒介性感染症である (Yu et al. 2011 New Eng J Med, McMullan et al. 2012 New Eng J Med)。また、日本での後方視的調査により少なくとも 2005 年には SFTS 患者が発生していたことが分かっている (Kurihara et al. 2016 J Infect Chemother)。これらの事実は、比較的医療体制が充実している地域においても、新しいダニ媒介性感染症が見過ごされている可能性を示している。世界には見つかっていないダニ媒介性病原体がまだまだ存在しているはずであり、現状では十分な情報に基づく対策がなされているとは言い難い。

2. 研究の目的

本研究課題では、特にウイルスを対象を絞りつつ、マダニ中の新規微生物を網羅的に検出・分離培養し、簡便な性状解析によりヒトや動物における病原性を推定する手法を確立し、網羅的なダニ媒介性感染症研究体制を確立する。これにより、ある地域で採集されたマダニから、その地域におけるマダニ媒介性病原微生物のカタログ化が可能となる。

3. 研究の方法

本研究課題では日本国内および世界各地で採集したマダニを用いた。採集方法は未吸血のマダニを採集する旗振り法と、動物の体表に付着したマダニを採集する方法を併用した。採集したマダニは以下の 3 つの実験に用いた。また、いずれの方法においても形態の特徴とミトコンドリア DNA の遺伝子系統解析からマダニ種を同定した。

複数の微生物を網羅的かつ同時に検出・培養する手法

マダニから病原体を検出・培養する方法は対象となる病原体に特異的な手法が主流である。これは、主に診断と疫学調査を目的としているためである。本研究では、非特異的な手法と特異的な手法とを効果的に組み合わせ、マダニ中の微生物の網羅的解析を実施した。

分離されたウイルスの性状解析

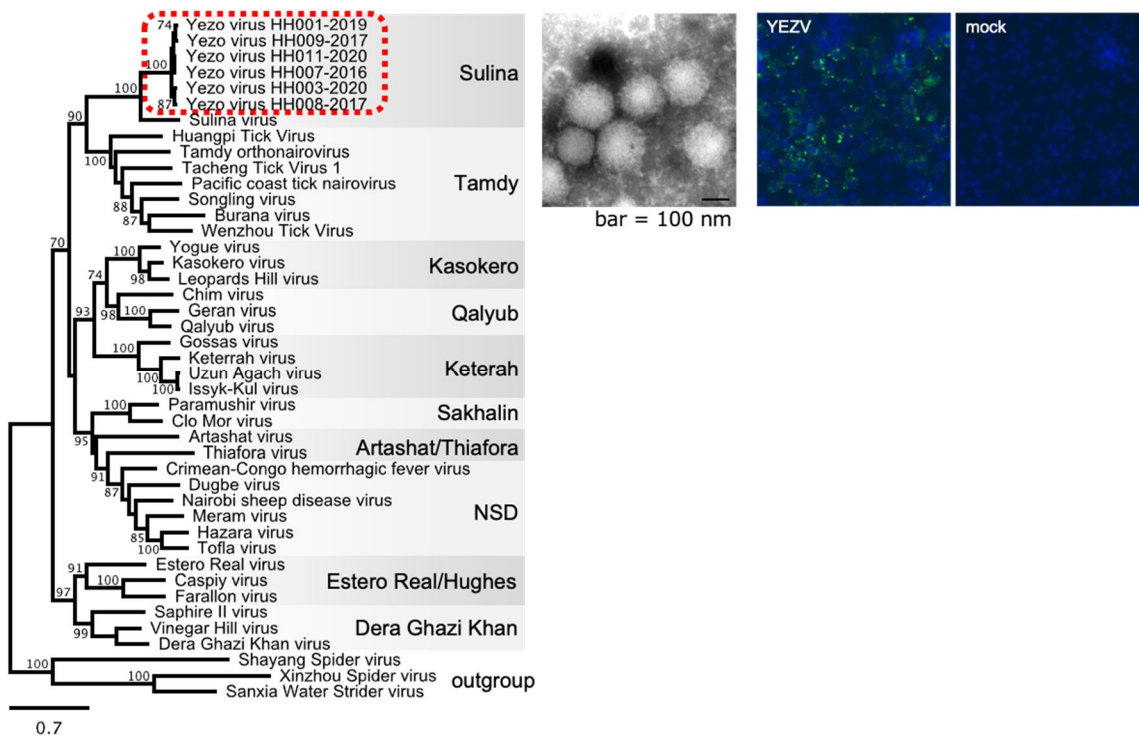
マダニから分離培養されたウイルスについて全ゲノム配列を決定し系統解析した。次に、各種マウス (免疫不全マウスを含む) ハムスター等の実験動物についても病原性を確認し、動物モデルを樹立した。

4. 研究成果

本研究によって、マダニ中のウイルスおよび細菌を網羅的に解析した。日本国内外のマダニを解析した結果、未知のウイルスが複数同定され、一部のウイルスは実験動物に対して病原性を示すことが明らかとなった。また、マダニ咬傷後に発熱を呈した患者から検出されたオルソナイロウイルス (Yezo ウイルス) について、このウイルスを対象とした性状解析ならびに北海道内のマダニにおける感染状況調査を実施した。また、マダニからオルソナイロウイルスを網羅的に検出する系を樹立し、実際に北海道のマダニから複数のオルソナイロウイルスを検出した。

左図： Yezo ウイルスの遺伝子系統解析。Yezo ウイルスはルーマニアのマダニから検出された Sulina ウイルスに近縁で、クリミア・コンゴ出血熱ウイルスなどの既知の病原オルソナイロウイルスとは異なるグループに属している。

右図：分離培養された Yezo ウイルスの粒子と、培養細胞内に確認された Yezo ウイルス抗原。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kodama F, Yamaguchi H, Park E, Tatemoto K, Sashika M, Nakao R, Terauchi Y, Mizuma K, Orba Y, Kariwa H, Hagiwara K, Okazaki K, Goto A, Komagome R, Miyoshi M, Ito T, Yamano K, Yoshii K, Funaki C, Ishizuka M, Shigeno A, Itakura Y, Bell-Sakyi L, Edagawa S, Nagasaka A, Sakoda Y, Sawa H, Maeda K, Saijo M, Matsuno K.	4. 巻 12
2. 論文標題 A novel nairovirus associated with acute febrile illness in Hokkaido, Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5539
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-021-25857-0	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 Orba Yasuko, Matsuno Keita, Nakao Ryo, Kryukov Kirill, Saito Yumi, Kawamori Fumihiko, Loza Vega Ariel, Watanabe Tokiko, Maemura Tadashi, Sasaki Michihito, Hall William W., Hall Roy A., Pereira Juan Antonio, Nakagawa So, Sawa Hirofumi	4. 巻 102
2. 論文標題 Diverse mosquito-specific flaviviruses in the Bolivian Amazon basin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of General Virology	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1099/jgv.0.001518	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 該当する

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 1件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 松野啓太、児玉文宏、山口宏樹、Eunsil Park、立本完吾、前田健、西條政幸
2. 発表標題 北海道における新規オルソナイロウイルスによる急性発熱性疾患
3. 学会等名 第28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 2021年

1. 発表者名 松野啓太、児玉文宏、山口宏樹、Eunsil Park、立本完吾、前田健、西條政幸
2. 発表標題 エゾウイルス感染症の診断法開発と疫学調査
3. 学会等名 第3回 SFTS 研究会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hirofumi Sawa, Keita Matsuno, Ryo Nakao, Michihito Sasaki, Yasuko Orba
2. 発表標題 Investigation of endogenous or symbiotic viruses in hematophagous arthropods
3. 学会等名 第19回あわじ感染と免疫国際フォーラム（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Keita Matsuno, Fumihiro Kodama, Hiroki Yamaguchi, Eunsil Park, Kango Tatemoto, Ken Maeda, Masayuki Saijo
2. 発表標題 A novel nairovirus associated with acute febrile illness in Hokkaido
3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会学術集会（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松野 啓太、中尾 亮、草木迫 浩大、大場 靖子、澤 洋文
2. 発表標題 マダニ中の多様なフレボウイルスは何者か？
3. 学会等名 第162回 日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松野啓太、中尾亮、梶原将大、下田宙、海老原秀喜、高田礼人、前田健、岡松正敏、迫田義博
2. 発表標題 マダニ中のフレボウイルスの遺伝子系統解析に基づく性状推定
3. 学会等名 第162回 日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Matsuno K, Kodama F, Yamaguchi H, Park E, Tatemoto K, Maeda K, Saijo M
2. 発表標題 Yezo virus, a novel tick-borne nairovirus associated with acute febrile illness in Japan
3. 学会等名 The Tick and Tick-Borne Pathogen Conference (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松野 啓太
2. 発表標題 新規ナイロウイルスであるエゾウイルスによる感染症の発見
3. 学会等名 第40回日本獣医師会獣医学術学会年次大会 (招待講演)
4. 発表年 2022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
研究分担者	山口 宏樹 (Yamaguchi Hiroki) (50777836)	北海道立衛生研究所・その他部局等・主査 (80106)	
研究分担者	大場 靖子 (Orba Yasuko) (60507169)	北海道大学・人獣共通感染症国際共同研究所・准教授 (10101)	
研究分担者	梶原 将大 (Kajihara Masahiro) (70711894)	北海道大学・人獣共通感染症国際共同研究所・助教 (10101)	

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
---------	---------