

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：12601

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B））

研究期間：2018～2023

課題番号：18KK0225

研究課題名（和文）3大陸横断型のウイルス性人獣共通感染症の調査研究

研究課題名（英文）Surveillance of viruses causing zoonotic infections across three continents

研究代表者

河岡 義裕（Kawaoka, Yoshihiro）

東京大学・医科学研究所・特任教授

研究者番号：70135838

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、アフリカ（シエラレオネ共和国）と南米（ボリビア）において、人獣共通感染症である各種ウイルス感染症のヒトおよび野生動物における流行状況を把握することを目的として、ヒトでの血清学的調査および野生動物の保有するウイルスの調査研究を行った。その結果、シエラレオネの首都フリータウン市では、多くの人々がチクングニアウイルス等に対する抗体を有しており、これらのウイルスがフリータウンにおいて広く蔓延していることが判明した。またシエラレオネに生息するコウモリの調査によって、新規のアルファコロナウイルスの遺伝子を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

人獣共通感染症の疫学調査があまり行われていないシエラレオネ共和国やボリビア等で、ヒトおよび野生動物から得られたサンプルを用いて、One Healthの概念に基づいた包括的な調査を行う点に意義がある。野生動物における各種ウイルスの保有率を明らかにすることは、現地における将来的な人獣共通感染症の流行発生のリスク評価につながる。さらに本研究から得られる知見は、日本へのウイルスの侵入の可能性の検証、感染症予防・対策法の策定などに役立つ情報となり、社会的波及効果も期待できる。

研究成果の概要（英文）：To determine the prevalence of various zoonotic viral infections in humans and wildlife in Sierra Leone, West Africa and Bolivia, South America, in this study, we conducted serological surveys in humans and surveillance of viruses carried by wildlife. The results showed that many people in Freetown, the capital city of Sierra Leone, had antibodies against chikungunya virus and other viruses, suggesting that these viruses are widely circulating in Freetown. A survey of bats in Sierra Leone also identified a novel alpha coronavirus gene.

研究分野：ウイルス学

キーワード：ウイルス 人獣共通感染症 野生動物

1. 研究開始当初の背景

医学の発展により、人類はこれまでに様々な感染症を克服してきた。しかしここ数十年で、エイズ、エボラ出血熱、**COVID-19** といった新たな感染症が人間社会に出現してきている。これらは“新興感染症”と呼ばれ、「新しく現れた緊急対応を必要とする感染症」とされている。新興感染症は、その多くが野生動物に由来する人獣共通感染症であり、野生動物からヒトに伝播した際に重篤な症状を引き起こすことがあるため、国際的に公衆衛生上の大きな問題となっている。

近年、医学・獣医学界では「ヒト・動物・生態系の健康は相互に関連していて一つである」という考え方に基づき、“One Health”という理念が提唱されているが、この理念は人獣共通感染症にも適用される。すなわち人獣共通感染症のリスクを評価するためには、包括的なグローバルサーベイランスによって、ヒトや野生動物における様々な人獣共通感染症の流行状況を把握することが重要である。そのため、世界の様々な地域で、そのような包括的かつ統合的な疫学調査を進めていくことは喫緊の課題である。

2. 研究の目的

最近の研究によって、アフリカ、南米、東南アジアは人獣共通感染症が発生しやすいホットスポットの可能性が高いことが示唆されている (**Olival et al., Nature, 2017**)。しかし、それらの地域における疫学調査研究は遅れており、ヒトや野生動物における人獣共通感染症の流行状況は正確には把握されていない。そこで本研究では、アフリカ(シエラレオネ共和国)、南米(ボリビア)、東南アジア(インドネシア)における海外共同研究者と連携して、それぞれの地域において、人獣共通感染症である各種ウイルス感染症のヒトおよび野生動物における流行状況を把握することを目的として、1)各種ウイルス感染症のヒトにおける流行状況を調べるため、ヒトの血液サンプルを用いた血清学的調査を行う。また、2)野生動物におけるウイルスの感染状況を調べるため、野生動物(コウモリ、齧歯類、霊長類等)から採取した血液サンプルを用いた血清学的調査を行う。さらに、3)野生動物における各種ウイルスの保有率を調べるために、野生動物から採取した臓器サンプル等からウイルスの分離・同定を行う。

3. 研究の方法

(1) ヒトにおけるウイルス感染症の流行状況を調べるための血清学的調査

上記のそれぞれの地域における、ヒトのウイルス感染状況を調査するために、ヒト血清を使用して、各種ウイルス抗原に対する抗体保有状況を調べる。シエラレオネ共和国においては、海外共同研究者であるシエラレオネ大学の Alhaji N'jai 博士と連携して、シエラレオネ大学関連医療機関等で、一般診療目的で採取された血液から分離された血清を用いて、様々なウイルス抗原に対する抗体を検出する。またインドネシアにおいては、海外共同研究者であるアイルランガ大学の **Chirul A. Nidom** 博士と共に、様々なウイルス抗原に対する抗体の調査を行う。

(2) 野生動物におけるウイルス感染状況を調べるために血清学的調査

シエラレオネ、ボリビア、インドネシアに生息する野生動物のウイルス感染状況を調査

する目的で、野生動物から採取した血清を用いて、各種ウイルス抗原に対する抗体の保有状況を調べる。シエラレオネでは、コウモリや齧歯類を捕獲し、血液を採取する。またチンパンジーについては、フリータウン近郊でチンパンジーの保護活動を行っている **Tacugama Chimpanzee Sanctuary** に協力を仰ぎ、血液サンプルを提供してもらう。その後血清を分離し、**ELISA** を行い、様々なウイルス抗原に対する **IgG** 抗体を検出する。インドネシアでは、カリマンタン島を中心に、インドネシア国内のコウモリや齧歯類を捕獲し、血液を採取する。また、家禽、豚、牛などの家畜からも血液サンプルを採取し、ウイルス抗原に関する血清学的調査を行う。ボリビアでは、共同研究者であるガブリエル・レネ・モレノ自治大学の **Juan Antonio Cristian Pereira Rico** 博士のもと、コウモリや齧歯類などの野生動物から血液サンプルを採取し、血清学的調査を行う。

(3) 野生動物より採取したサンプルからウイルスの分離・同定

各国における野生動物における各種ウイルスの保有率を調べるために、野生動物から採取した臓器サンプルなどからウイルスの分離・同定を行う。上記の2)で捕獲した齧歯類やコウモリなどの野生動物から採取可能な全ての臓器(口腔・糞便スワブを含む)を採取する。臓器採取は、現地の共同研究者の実験室に設置した封じ込めテント、あるいは安全キャビネットを使用して行う。採取した臓器サンプルを東京大学医科学研究所に送付し、培養細胞を使用してウイルスの分離・同定を行う。新規のウイルスが分離された場合は、培養細胞や実験動物を用いた性状解析を行い、ヒトへの感染リスクの評価を試みる。

4. 研究成果

ヒトにおけるウイルス性感染症の流行状況を調べるための血清学的調査について

本研究では、アフリカ・シエラレオネの共同研究者であるシエラレオネ大学の Alhaji n'jai 博士と **Isatta Wurie** 博士の協力のもと、シエラレオネの首都フリータウン市でのヒトにおけるウイルス感染症の流行状況を調べた。具体的には、**Isatta Wurie** 博士が運営する **Ramsy Medical Laboratories (RML)** において、一般診療目的で採取された血液から分離した血清を用いて、血清学的調査を行った。まず我々は、チクングニアウイルスに対する **IgG** 抗体および **IgM** 抗体を検出する **ELISA**、および中和試験の系を確立した。**2067** 名の血清サンプルを用いて **ELISA** を行ったところ、**716** 名がチクングニアウイルスに対する **IgG** 抗体を有していることが分かった。さらに中和試験を行ったところ、**683** 名が本ウイルスに対する中和抗体を持つことが明らかとなった。以上の結果は、フリータウンにおいて、チクングニアウイルスが広く蔓延していることを示している。

続いて、蚊によって媒介されるジカウイルス感染症の解析を行なった。ジカウイルス感染症では、一般的には不顕性感染が多いが、発熱などの症状が出ることもあり、妊婦が感染して、胎児の脳形成不全が生じることがある。南米で問題になっている感染症であるが、シエラレオネではこれまでに報告されていない。そこで我々は、ジカウイルスに対する中和試験の系を確立し、**2000** 人以上の血清サンプルを用いて中和試験を実施したところ、本ウイルスに対する中和抗体を持つ人が複数存在することが明らかとなった。以上の結果は、フリータウンでは、ある一定の割合の人がジカウイルスに感染していることを示唆している。

野生動物が保有するウイルスの解析研究について

ベクター(媒介生物)は、生物であり、人と人との間、または動物から人へと感染症を伝

播させる。これらのベクターの多くは蚊やマダニ等の吸血性節足動物である。南米・ポリビアの共同研究者であるガブリエル・レネ・モレノ自治大学の **Juan Antonio Cristian Pereira Rico** 博士および川森文彦博士の協力のもと、北海道大学の澤洋文教授、大場靖子准教授らの研究グループと連携して、ポリビアにおいて吸血節足動物を採集した。採集したメス蚊のサンプルを用いて、包括的なフラビウイルスの遺伝子検索を実施したところ、新規のフラビウイルス3種を同定することができた (**Orba et al., JGV, 2021**)。

シエラレオネのコウモリが保有するコロナウイルスの解析を行なった。まず、パイオインフォマティクス解析によって、コロナウイルス遺伝子を包括的に検出するための **39** 種類の縮重プライマーペアを設計した。これらのプライマーペアを用いて、**RT-PCR** の条件設定を行ない、最適なプライマー濃度、アニーリング温度、**PCR** 酵素を決定した。最適化した条件下で、アルファコロナウイルスである **HCoV-229E**、ベータコロナウイルスである新型コロナウイルスから抽出した **RNA** を用いて **RT-PCR** を行ったところ、目的のサイズである **400** から **450bp** 付近にバンドを検出した。続いて、シエラレオネの **Moyamba** 地区において捕獲したコウモリの臓器サンプルから抽出した **RNA** を用いて、コロナウイルスゲノムの検出を試みた。その結果、コウモリ **26** 頭中 **1** 頭の腸管から、アルファコロナウイルスの遺伝子配列を検出し、その完全長のゲノム配列を決定することができた。

本研究によって、ウイルス感染症の流行状況を把握することは、今後のウイルス感染症の流行に対する対策を講じる上でも非常に重要である。また本研究で得られる知見は、現地における疾病診断技術の向上や健康の促進にも寄与することが期待される。

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 1件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|------------------------|
| 1. 著者名 Halfmann Peter J., Eisfeld Amie J., Watanabe Tokiko, Maemura Tadashi, Yamashita Makoto, Fukuyama Satoshi, Armbrust Tammy, Rozich Isaiah, N'jai Alhaji, Neumann Gabriele, Kawaoka Yoshihiro, Sahr Foday | 4. 巻 13 |
| 2. 論文標題 Serological analysis of Ebola virus survivors and close contacts in Sierra Leone: A cross-sectional study | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 PLOS Neglected Tropical Diseases | 6. 最初と最後の頁 e0007654 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pntd.0007654 | 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 |

| | |
|--|----------------------|
| 1. 著者名 Watanabe Tokiko, Kawaoka Yoshihiro | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Villains or heroes? The raison detre of viruses | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Clinical & Translational Immunology | 6. 最初と最後の頁 e01114 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cti2.1114 | 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 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 e001518 |
| 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 - |

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 4件/うち国際学会 3件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 七戸新太郎、高田光輔、Pascal Hingamp、富田有里子、前村忠、Alhaji U. N'jai、河岡義裕、遠藤寿、緒方博之、渡辺登喜子 |
| 2. 発表標題 縮重プライマーを用いたRT-PCR法による、コロナウイルス遺伝子検出系の確立 |
| 3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会学術集会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Tokiko Watanabe |
| 2. 発表標題 Research of zoonotic diseases: Control of Ebola virus disease. |
| 3. 学会等名 Workshop on Environmental Viruses (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Yoshihiro Kawaoka |
| 2. 発表標題 Centenary of the 1918 Spanish Influenza, the Worst Pandemic in the Recent History of the World |
| 3. 学会等名 Influenza Virus Virulence factors, International Symposium (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Yoshihiro Kawaoka |
| 2. 発表標題 Human Ebola Virus Disease Pathogenesis Revealed by Multi-Platform Omics Analysis. |
| 3. 学会等名 Keystone Symposia in Hong Kong (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Iwatsuki-Horimoto K. |
| 2. 発表標題 Animal Models for Influenza Research. |
| 3. 学会等名 Symposium 'Zoonosis Research' in Veterinary Science at University of Tokyo (招待講演) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 I-Hsuan Wang, Jiro Usukura, and Yoshihiro Kawaoka |
| 2. 発表標題 Understanding influenza A virus budding by direct visualization of viral ribonucleoproteins at the plasma membrane. |
| 3. 学会等名 The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology |
| 4. 発表年 2018年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

| |
|---|
| <p>東京大学医科学研究所 感染・免疫部門 ウイルス感染分野 http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/virology/ 東京大学医科学研究所 ウイルス感染部門 http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/virology/ 東京大学医科学研究所 感染・免疫部門 ウイルス感染分野 http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/virology/ 東京大学医科学研究所 感染・免疫部門 ウイルス感染分野 http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/virology/ 東京大学医科学研究所 感染・免疫部門 ウイルス感染分野 http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/virology/</p> |
|---|

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 | 渡辺 登喜子 (Watanabe Tokiko) (60557479) | 大阪大学・微生物病研究所・教授 (14401) | |
| 研究分担者 | 岩附 研子 (Iwatsuki Kiyoko) (20376619) | 東京大学・医科学研究所・助教 (12601) | |
| 研究分担者 | 山田 晋弥 (Yamada Shinya) (90466839) | 東京大学・医科学研究所・助教 (12601) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 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 | 植木 紘史 (Ueki Hiroshi) (70794907) | 東京大学・医科学研究所・特任研究員 (12601) | |

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 | | | |
|---------|----------------------|--|--|--|
| シエラレオネ | シエラレオネ大学 | | | |
| ボリビア | ガブリエル・レネ・モレノ自治 大学 | | | |
| シエラレオネ | シエラレオネ大学 | | | |
| 米国 | ウイスコンシン大学 | | | |
| インドネシア | アイルランガ大学 | | | |