

二国間交流事業 共同研究報告書

令和4年4月19日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[代表者所属機関・部局]
 京都大学・東南アジア地域研究研究所
 [職・氏名]
 教授・ 山崎 渉
 [課題番号]
 JPJSBP 120199944

1. 事業名 相手国: スペイン (振興会対応機関: OP) との共同研究

2. 研究課題名

(和文) アフリカ豚コレラ制圧のための新技術開発と性能評価

 (英文) Development and evaluation of the innovative technology for the control of African swine fever spread

3. 共同研究全実施期間 2019年4月1日 ～ 2022年3月31日 (3 年 0 ヶ月)

4. 相手国代表者(所属機関・職・氏名【全て英文】)

National Institute for Agricultural and Food Research and Technology
 (INIA) ・ Director (Department of Biotechnology) ・ Alonso Covadonga Marti

5. 委託費総額(返還額を除く)

本事業により執行した委託費総額		3,244,001 円
内訳	1年度目執行経費	1,870,000 円
	2年度目執行経費	1,374,001 円
	3年度目執行経費	円

6. 共同研究全実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

日本側参加者等	2 名
相手国側参加者等	3 名

* 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

7. 派遣・受入実績

	派遣		受入
	相手国	第三国	
1 年度目	1	-	(-)
2 年度目	-	-	(-)
3 年度目	-	-	(-)
4 年度目	-	-	(-)

* 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣:本委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。
受入:相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は本委託費で滞在費等を負担した内数。

8. 研究交流実績の概要・成果等

(1)研究交流実績概要(全期間を通じた研究交流の目的・研究交流計画の実施状況等)

研究開始後に、研究課題のウイルス和名表記が「アフリカ豚コレラウイルス」から「アフリカ豚熱ウイルス」に変更されたので、本報告書内の表記は新和名に従う。なお、英語名(African swine fever virus, ASFV)に変更はない。

両国が保有する各々の強みである微量ウイルス濃縮技術・迅速遺伝子診断技術(日本)と世界最大の ASFV・特異抗体ライブラリ資源(スペイン)を融合し、アフリカ豚熱の感染拡大を制御するための新技術の共同開発を実施した。ASFV は日本国内の大学では法規制により取り扱うことができないため、研究代表者が 2019 年 11 月から 12 月に相手側研究機関を訪問し、スペイン国内において実験を実施するとともに相手側研究者と知見を共有した。相手側研究代表者(Alonso Covadonga Marti)らが開発した抗 ASFV 抗体と保有ウイルスライブラリを使用して、日本側研究代表者が構築した微量インフルエンザウイルスの高感度濃縮検出法 MiVET (Micro-amount of Virion Enrichment Technique, Yamazaki et.al., 2019, Transboundary. Emerging Diseases)の性能を評価した。

実験の結果、一定の ASFV 捕捉効果をもつ特異抗体を選別することができた。しかし、想定よりも ASFV 濃縮率が低かった。そこで、エンベロープ不活化処理を試行したところ、抗原認識力が改善したのか、ASFV 濃縮率がわずかに上昇した。より優れた ASFV 捕捉・濃縮性能を有する、抗体のさらなる精査や MiVET の条件設定の最適化が必要であることが分かった。2020 年 3 月に日本側若手研究者とともに現地を再訪し、実験の継続を予定していた。しかし、新型コロナウイルスの世界流行のため、訪問を取りやめざるを得ず、本事業期間中に再訪は実現できなかった。

代替措置 1 として、日本国内で取り扱い可能なインフルエンザウイルスを使用して、MiVET の条件設定の最適化を進めた。代替措置 2 として、MiVET におけるウイルス核酸の簡易抽出に使用している SDBS(ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム)を豚・イノシシの唾液や血液に混和することで、ASFV 遺伝子を直接検出できれば、アフリカ豚熱の早期摘発・早期封じ込めの実現に貢献することができると考えた。そこで、日本国内で取り扱い可能な豚流行性下痢ウイルス(PEDV)を健康人の唾液に添加し、また BLV(牛伝染性リンパ腫ウイルス)に感染している牛血液を使用して、実験を行った。代替措置 1 および 2 とともに次章に結果を詳述した。当初の計画から変更はあったものの、アフリカ豚熱制圧のための新技術開発は成功し、ASFV に加えて、インフルエンザウイルスや BLV など、他の動物ウイルス制圧のために有用と思われる研究成果も得ることができた。

(2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

代替措置 1: 豚肉・鶏肉に添加したウイルスに対する、 α -アミラーゼおよびコラゲナーゼ処理が肉由来の MiVET 阻害物質を効率的に除去することが示唆されるデータが得られた。この処理により、ウイルス捕捉・濃縮性能が大幅に改善できることが明らかになった(Makino, Yamazaki et al, 2020, Food and Environmental Microbiology)。海外渡航制限により、ASFV に対する検証はできなかったが、原理上、この方法は ASFV にも応用できる可能性が高く、課題解決のために重要な知見を得ることができた。

代替措置 2: 唾液に添加したウイルスの直接検出は不成功に終わった(SDBS の混和では唾液に由来する遺伝子増幅の阻害物質を十分に不活化できなかったためと推測している)。しかし、牛血液から BLV プロウイルスを 40 分以内に簡易・高感度に直接検出できる POCT(Point-of-care testing、その場検査法)の開発に成功した

(Yamazaki et al, 2020, Letters in Applied Microbiology)。従来の BLV 診断法である DNA 抽出キットとリアルタイム PCR 法の組み合わせでは、90-120 分程度を要する上に農場では実施できない。整備された実験施設への検体搬入が必要なので、タイムラグが大きい。これに対し、開発した方法は実験施設への検体搬入を必要とせず、農場で迅速に実施できることから、汎用性が高い。この方法は血液に由来する DNA 増幅の阻害物質の不活化を実現していることから、豚血液からの ASFV の簡易・高感度な DNA 検出、農場でのアフリカ豚熱の迅速診断(早期封じ込めに極めて有効)にも応用できる蓋然性が高い。しかしながら、日本・スペインともにアフリカ豚熱の清浄国であることと海外渡航制限により、自然感染個体を対象とした検証はできなかった。そこで海外渡航制限解除後に、アフリカ豚熱が流行している第三国(東南アジアを予定)の共同研究者に依頼し、開発した POCT のノウハウを共有し、共同で性能評価を行う計画を立案している。

(3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果)

新型コロナウイルス感染症に伴う渡航制限のために、2020 年 3 月から事業終了の 2022 年 3 月まで、相互の訪問は実現できなかった。相手側の若手研究者(博士課程院生)を招聘研究者として 2022 年 6 月から 3 か月間、研究代表者の所属機関に受け入れる見込みである。この際に、上述の代替措置 1 および 2 から得た研究成果である動物感染症の新規診断技術を伝達し、自国での研究や今後の国際共同研究に役立ててもらう予定である。それゆえ、受け入れ予定の相手側若手研究者をカウンターパートの一人として、今後のさらなる共同研究の発展が期待できる。

(4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

本事業の研究成果である新技術開発は ASFV のみならず、インフルエンザウイルスや BLV など、他の動物ウイルスにも応用できる可能性が高く、実社会に有用な学術貢献として重要な成果が得られた。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取り組み、成果)

二名の若手研究者の相手国派遣を予定していたが、新型コロナウイルス感染症の流行のために、実現できなかった。このうち一名は 2020 年 3 月に計画していた渡航を直前にキャンセルせざるを得ず、特に忸怩たる思いをした。

(6)将来発展可能性(本研究交流事業を実施したことにより、今後どのような発展の可能性が認められるか)

相手側の若手研究者(博士課程院生)を招聘研究者として 2022 年 6 月から 3 か月間、研究代表者の所属機関に受け入れる見込みである(相手側の若手研究者は「FPI doctoral fellowship programme funded by Spanish Government (MINECO)【訳:スペイン政府(MINECO)による FPI 博士号取得者支援プログラム】」により滞在予定)。受け入れ時に、本事業の研究成果である動物感染症の新規診断技術を伝達し、自国での研究や今後の共同研究に役立ててもらう予定である。それゆえ、受け入れ予定の相手側若手研究者をカウンターパートの一人として、今後のさらなる二国間共同研究の発展が期待できる。

(7)その他(上記(2)~(6)以外に得られた成果があれば記述してください)

例:大学間協定の締結、他事業への展開、受賞、産業財産権の出願・取得など
該当なし。