

二国間交流事業 共同研究報告書

令和5年4月14日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[日本側代表者所属機関・部局]

国立大学法人北海道大学・人獣共通感染症国際共同研究所

[職・氏名]

准教授・山岸 潤也

[課題番号]

JPJSBP 120208101

1. 事業名 相手国: インドネシア (振興会対応機関: DGHE) との共同研究

2. 研究課題名

(和文) コウモリをモデルとしたワンヘルスと Virome に基づく潜在的な人獣共通感染症調査

(英文) Virome study based on One Health Approach in bats including proactive measures for potential zoonosis in Indonesia

3. 共同研究実施期間 2020年4月1日 ~ 2023年3月31日 (3年0ヶ月)4. 【延長前】 年 月 日 ~ 年 月 日 (年 ヶ月) 相手国側代表者(所属機関名・職名・氏名【全て英文】)Gadjah Mada University ・ Faculty of Veterinary Medicine ・
Professor ・ Artama Wayan Tunas

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		7,125,000 円
内訳	1年度目執行経費	2,375,000- 円
	2年度目執行経費	2,375,000- 円
	3年度目執行経費	2,375,000- 円

6. 共同研究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	11名
相手国側参加者等	6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	0	0	0(0)
2年度目	0	0	0(0)
3年度目	0	0	0(0)

* 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: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)。カッコ内は委託費で滞在費等を負担した内数。

8. 研究交流の概要・成果等

(1)研究交流概要(全期間を通じた研究交流の目的・実施状況)

コウモリは哺乳類全体の約 4 分の 1 に相当する約 980 種から構成され、ネズミ目に次ぐ多様性を有する。SARS-like coronavirus、MERS-associated coronavirus、エボラウイルス、リフトバレー熱ウイルス等の宿主としても知られ、公衆衛生においても重要な動物である。インドネシア周辺国においても、オーストラリアでヘンドラウイルスが、マレーシアでニパウイルスがコウモリから分離されており、コウモリから未だ明らかにされていない人獣共通感染症を引き起こす病原体が分離される蓋然性は高い。一方、新規ウイルスの検出方法については、次世代シーケンサーを応用したメタゲノムの手法が開発されたことで新規ウイルスの発見が相次いでいる。さらに、安価で持ち運び可能な次世代シーケンサー、MinION の登場により、先進国のラボに検体を持ち込むことなく、病原体の流行地である途上国のフィールドでもウイルス同定が可能となっている。

我々は、この MinION を用いて効果的にウイルスの同定・診断を進めるために、(半)網羅的ライブラリー構築方法の開発を進めてきた(Diagnosis-by-Sequencing)。具体的には、フラビウイルスなど、属・科レベルで相同性を有するウイルス群を PCR により一括増幅した後 MinION による配列解析で種同定を行う Pan-viridae nanopore 法、あるいは、ランダムプライマーにより逆転写を行い、self-ligation により環状化した後、ローリングサイクル増幅した DNA を鋳型にシーケンスを行う cycle-WGA 法を開発し、実験室において実証実験を成功させている。さらに、その臨床検体での実用性を評価するため、ブラジル、フィオクルーズ研究所との共同研究で臨床検体を用いた実証実験を成功させた他、JSPS 研究拠点形成事業「東南アジア各国における網羅的核酸分析に基づく新規感染症診断方法」のサポートを得て社会実装を進めている。これらを背景に今回、上記 JSPS 研究拠点形成事業のメンバーでもある Wayan 教授からの提案を受け、コウモリをモデルとした Zoonosis control に Diagnosis-by-Sequencing を水平展開する以下の研究計画を起案した。

1. 各種コウモリの種特定を可能にする DNA-Barcode の確立
2. コウモリ検体からの(半)網羅的ウイルス同定
3. geographic information system (GIS) とウイルス配列情報を組み合わせた人獣共通感染症リスクマップの提供
4. 現地での持続可能なモニタリングを可能とする人材育成・技術移転

(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)

相手国研究代表の Wayan 教授を中心としたチームがインドネシア各地で収集したコウモリ由来咽頭・直腸スワブを計 190 検体を輸入し、RNA 精製を行った。この検体について、フラビウイルスを網羅的に検出できる Pan-flavi-nanopore 法を用いて解析したところ、1 検体からジカウイルスの配列が得られた。コウモリにおけるジカウイルス遺伝子の検出は世界 2 例目であり、コウモリからの検出が例外でないということになれば、当該ウイルスの生活環がヒトを離れた野生動物内でも維持されるようになったことを示唆しており、公衆衛生上のリスクおよび対策の見直しにつながる知見になる。現在、より感度の高いジカウイルス特異的 qRT-PCR 法で陽性率の再検討を行うと共に、検出されたジカウイルスが2016年の世界的流行の際、ヒトからコウモリに漏れ広がったものか、それとも、それ以前から土着していたかを明らかにするために、ウイルス全ゲノム解析を行っている。並行して、パラミクソウイルスを網羅的に検出できる Pan-paramyxo-nanopore 法を開発し、コウモリ検体の解析を行った。その結果、暫定ではあるが、数検体から既存のパラミクソウイルス

スとは異なる配列が得られた。これらが直ちにヒトに感染し、新たな人獣共通感染症を引き起こすかは不明だが、詳細な解析を継続する必要性が認められる。

(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)

本研究ではインドネシアに住むコウモリ由来咽頭・直腸スワブ計 190 検体を解析したが、検体収集に際しては、遺伝資源管理、野生動物保護の観点から、インドネシア国内の獣医、野生動物専門家の協力は必要不可欠であった。この点、相手国研究代表の Wayan 教授を中心としたチームが精力的な検体収集を実施し、その結果、190 検体の収集を達成し、ジカウイルス等の検出に繋がった。

(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)

本研究は COVID-19 蔓延以前に計画・採択されたものであるが、図らずも、野生動物(特にコウモリ)が有する病原体がヒトに移入することで発生する人獣共通感染症が社会に及ぼす大きさがクローズアップされている。本研究では、ジカウイルスおよび、新規パラミクソウイルス様配列が検出され、野生動物(特にコウモリ)の病原体リザーバーとしての役割とリスクが再確認されたことから、今後、モニタリングの規模拡大や、コウモリと接触するリスクの高い住民への注意喚起を行う等の対策を政府機関へ提言するために、より詳細な研究が必要とされる。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取組、成果)

本研究の実施に際して、相手国研究代表が在籍するガジャマダ大学獣医学部より、1名の若手研究者を、北海道大学国際感染症学院の博士課程学生として採用した。当該若手研究者が実際に研究を推進しており、学位取得後は、ガジャマダ大学獣医学部へ戻り、研究教育を行うことから、本技術が現地にも定着し、さらに普及することが期待される。

(6)将来発展可能性(本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)

本研究では、Pan-flavi-nanopore 法や、Pan-paramyxo-nanopore 法など、一定の研究トレーニングさえ受ければ少額の費用で対象となる病原体を網羅的に検出可能な比較的簡易な技術を確立し、疫学調査に応用した。これは、将来的に現地で持続的に実施できるものであり、新たな人獣共通感染症発生への対策を全世界が協力して取り組む際、その最前線である病原体モニタリング実施に際しての基盤技術として利用されることが期待される。

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

現在、北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所とガジャマダ大学獣医学部の間で MOU 締結の準備を進めている。