

## 2021年度 北陸大学特別研究助成【 連携研究 】報告書 -2年目-

代表者	所属	医療保健学部	職位	教授	氏名	小宮 智義
-----	----	--------	----	----	----	-------

研究課題名	石川県内で捕獲されるイノシシの蚊媒介性ウイルスを中心とした病原体保有調査とヒトへの感染リスクに関する研究
-------	--

交付額(2021)	3,000,000	円
-----------	-----------	---

### 研究実績の概要

2年目

本研究では石川県内で捕獲されるイノシシの、主に蚊媒介性ウイルスのデングウイルス（DENV）と日本脳炎ウイルス（JEV）の流行動態を、蚊及び増幅動物、野生動物を中心とした疫学調査を行い、ヒトへの感染リスク評価と、JEVの新たな生態学について検討を行うことで生物学的意義と生態学的インパクトを明らかにすることを目的としている。また、ヒトへの感染リスク評価として薬剤耐性菌保有率を指標とすることで、イノシシ本来の居住域でない都市部への侵入が頻繁に行われているかを明らかにしヒトへの感染リスク指標となり得るかも検討している。本研究では、4つの研究方法を計画しており、今年度捕獲されたイノシシ血清17検体、糞便15検体について調査を行った。全国的なイノシシに豚熱の感染発生が認められる中で捕獲制限がされており、石川県も2021年4月から捕獲が中止されたが8月から再開し、捕獲されるイノシシ頭数が減少しながら石川県内では捕獲が出来た。

研究計画第一のJEVの流行動態は、8月から3月まで通年で血清中IgM抗体は検出されず、中和抗体価は82.4%（14/17）が陽性で、17.6%（3/17）が陰性であった。中和抗体陰性の3頭は、1頭が8月、2頭が3月に捕獲されたイノシシからであったが、IgM抗体価は全頭陰性であった。また、ウイルスの分離は出来なかった。第二のデングウイルス感染媒介蚊調査では、新型コロナウイルス流行により協力機関での実施は今年度も不可能であった。第三の薬剤耐性菌保有調査は、糞便15検体のESBL産生の薬剤耐性大腸菌は全て陰性であった。第四の他のウイルス保有調査では、国立感染症研究所でE型肝炎ウイルス（HEV）の保有調査を糞便からのPCRで行ったところ全て陰性であった。

今年度の疫学調査結果では、JEVの抗体保有率は82.4%で、初期感染指標のIgM抗体検出が出来なかった。他の対象病原体で全て陰性の結果であった。2018年度から同様の疫学調査を実施しているが、前年に引き続きこのように陰性結果が多くなり、新型コロナウイルス流行が何かしらの影響を野生動物に対しても与えているのか、年度毎の調査結果の違いが環境など何によるものか興味深く、調査を継続しながら各年度の比較解析を行っていく。

イノシシ個体でのJEV持続感染仮説を念頭に、リンパ節標本からの抗原検出系を確立した。また、JEV持続感染細胞から産出されるウイルスの性状解析を行い、JEVの3'NCRにアミノ酸の欠損を見出した。この欠損がウイルス増殖に関与するのか検討していく予定である。

### 進捗状況

今年度のイノシシ捕獲数は例年より少なくなったものの、疫学調査は概ね進展している。しかし、イノシシでの豚熱の感染流行で、石川県内でも2021年度4月から捕獲が出来なくなっていたが、8月より再開され、最終年度に向けて研究計画の修正を行っている。

また、新型コロナウイルス流行で協力研究機関での実験が出来ないため、この点は遅れているが最終年度にむけて引き続き継続して行く予定である。

### 今後の推進方策等

2021年度以降、イノシシの捕獲数が減少していくことは国内の豚熱流行状況により仕方ないことであるが、捕獲再開後の調査を継続していくと同時に過去の血清を用いたHEV保有調査などを協力研究機関と引き続き行う予定である。

JEVの疫学調査における目的の一つである、JEVの越冬におけるイノシシの役割で、JEVの持続感染が関与していることが示唆されている。そこで、過去に樹立したJEVの持続感染感染細胞産生ウイルスを用いたin vitroでの持続感染機構と産生ウイルス性状の解析を昨年より新たに研究計画に追加し実施している。

新型コロナウイルス流行の影響で、他機関での動物感染実験等が出来なかったが、最終年度にはウイルス感染実験を行う予定で、疫学調査以外は協力機関での実験を主に行う予定としている。

## 主な発表論文等

### 論文発表

Tomoyoshi Komiya, Yoshikazu Honda-Okubob,, Jeremy Baldwin Nikolai Petrovsky. An Advax-adjuvanted inactivated cell-culture derived Japanese 2 encephalitis vaccine induces broadly neutralising anti-fla-3 virus antibodies and cellular immunity and provides single 4 dose protection. *Vaccines*, 2021.9, 1235

Sato H, Norimatsu Y, Irino S, Nishikawa T. Efficacy of the Antigenicity-Retaining Ability of Fixative Solutions for Liquid-Based Cytology: Immunocytochemistry of Long-Term Storage. *Acta Cytol.*;65(6):510-521. 2021.

橋本儀一、嶋田英里、大竹由香、前田文江、濱田敏彦、横山 修、木村秀樹泌尿器科の専門検査（プレッシャーフロースタディ）への診療支援 ―診療科に軸足を置いたチーム医療活動―  
日本臨床検査医学会誌, 69 (4): 238-241, 2021

### 学会発表

佐藤妃映, 則松良明, 西川武. シュアパス-LBC法を用いた免疫細胞化学染色における抗原保持能力に関する検討. 第62回日本臨床細胞学会総会. 2021年6月18日～7月11日 (Web開催)

則松良明, 川西なみ紀, 佐藤妃映, 西川武, 二村 梓, 品川明子, 黒川哲司, 矢納研二. WS LBC標本作製システムにおける標本品質から見た問題点. 第62回日本臨床細胞学会総会. 2021年6月18日～7月11日 (Web開催)

佐藤妃映, 玉野裕子, 佐々木規雄, 吉野敦子, 迫 欣二, 坂根潤一, 浅野 敦. 講演「p53 抗体サーベイ結果報告」. 2021年度中部圏支部病理細胞検査研修会. 2021年7月4日～7月19日 (Web開催)

佐藤妃映, 玉野裕子, 佐々木規雄, 吉野敦子, 迫 欣二, 坂根潤一, 浅野 敦. 2021年度中部圏支部病理細胞研修会における免疫染色サーベイの実施報告. 令和3年度日臨技中部圏支部医学検査学会 (第59回). 2021年9月25日～10月24日 (Web開催)

Tomoyoshi Komiya, Takahiro Matsumura, Hiroko Toriniwa, Naoko Yoshida, Tsutomu Takegami, Tetsuo Nakayama. Seroepidemiological survey of Japanese encephalitis virus in wild boars in Japan, 2017-2019. *ECCMID2020, Paris France*. April 2020.

佐藤妃映, 横田憲治, 渡辺朱理, 苔口進, その他. 尿沈渣標本中に出現する顆粒状物質と尿路細菌叢との関連について. *日本防菌防黴学会誌*. 48(12);623-628. 2020

## 組織

グループ代表者◎	所属	分担者(所属)	役割
小宮 智義◎	医療		研究統括・ウイルス関連研究実施
松村 隆弘	医療	医療保健学部助教	イノシシ材料採取、薬剤耐性菌検出他
佐藤 妃映	医療	医療保健学部准教授	イノシシ組織の病理学的検索
濱田 敏彦	医療	医療保健学部教授	イノシシの病理、生理学的検索
竹上 勉		石川県自然史センター副理事長、 金沢医科大学名誉教授	情報分析とウイルス自然史研究会などの情報発信
村上 学		金沢医科大学准教授	蚊の捕集、ウイルス分離
中山 哲夫		北里大学大村智記念研究所名 誉教授	ウイルス遺伝子検索 (動物感染実験含)