

令和4年度厚生労働行政推進調査事業費補助金  
(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)  
「野生動物及び愛玩動物が保有する動物由来感染症の国内サーベイランスシステムの  
構築に資する研究」  
分担研究報告書

地域のワンヘルス推進に関する取組のモデル事例の検討

分担研究者 香月 進 (福岡県保健環境研究所)

研究要旨：

新型コロナウイルス感染症等の動物由来感染症の対策を講じるためには、人、動物、環境の分野を連結させたワンヘルスアプローチに基づく分野横断的な事業に取り組む必要がある。本研究では、地域におけるワンヘルスアプローチ手法に基づく取組のモデル事業を確立することを目的として、①動物由来感染症起因病原体の網羅的探索手法の検討及び②野生生物の生息状況把握手法の開発に加え、③地域ネットワーク構築によるワンヘルスの普及啓発及び④ワンヘルスに資する人材育成のための医師、獣医師会向け研修会の実施に取り組んでいる。

A. 研究目的

新型コロナウイルス感染症等の動物由来感染症の対策を講じるためには、人、動物、環境の分野を連結させたワンヘルスアプローチに基づく分野横断的な事業に取り組む必要がある。

福岡県においては、令和3年1月に、福岡県ワンヘルス推進基本条例を公布、施行し、県としてワンヘルスの理念に基づく行動又は活動を推進し、動物由来感染症をはじめとする課題に取り組んでいる。また、県の事業として、愛玩動物病原体保有状況調査（犬及び猫を対象とした重症熱性血小板減少症候群（SFTS）IgG、IgM抗体調査、SFTSV遺伝子検出、コリネバクテリウム・ウルセランス分離同定、ジフテリア毒素原性試験）及び野生動物病原体保有状況調査（シカ、イノシシ、アライグマを対象としたSFTS IgG抗体保有状況）の実施を予定している。

一方、今後、動物由来感染症や動物種の対象を拡大し、より網羅的かつ効率的な調査事業を行っていくためには、地域の実情に合わせた調査手法の開発が必要である。また、ワンヘルスの視点で地域レベルでの動物由来感染症対策を行うためには、地域の医師会や獣医師会との協力関係構築や情報共有、さらには、県民の認識向上は欠かすことができない。そこで、本研究では、地域におけるワンヘルスアプローチ手法に基づく取組のモデル事業を確立することを目的として、①動物由来感染症起因病原体の網羅的探索手法の検討及び②野生生物の生息状況把握手法の開発に加え、③地域ネットワーク構築によるワンヘルスの普及啓発

及び④ワンヘルスに資する人材育成のための医師、獣医師会向け研修会の実施に取り組む。

B. 研究方法

①動物由来感染症起因病原体の網羅的探索

動物由来感染症における起因病原体の網羅的探索を目的に、次世代シーケンサー（NGS）を用いたRNA-seqによる検出系の構築を行った。行政検査等において原因不明（検査陰性）となったマダニ媒介感染症疑いの臨床検体（21事例、43検体）及びマダニ媒介感染症の届出の多い地域を中心に採集した植生マダニ（62匹、4プール検体）を検体とし、NGSを用いた病原体の検出を行った。

また、ウイルスのみならずマダニ媒介感染症に関わるリケッチア、細菌を幅広く探知できる検出系の確立のため、ターゲットキャプチャー法による検出系の検討を行った。

②野生生物生息状況把握手法開発

哺乳類（進捗に応じて魚類、鳥類、微生物、植物等の多様な生物種を含む）を対象として、データベースを整備したうえで、山間部や人里に近い環境の水（池などの溜水や河川などの流水）を試料としたメタバーコーディング手法による網羅的な環境DNA調査手法を検討し、解析を行う。本研究で得られた結果は、個体調査等の生態観測データと照合することにより妥当性を評価し、野生生物調査手法を確立する。また、県事業として実施する野生動物抗体調査の結果との関係を検証し、調査対象とする野生生物の最適化を行う。

③ワンヘルスの普及啓発

県民のワンヘルスに対する認識を向上させるた

めのモデル的な取組として、動物由来感染症対策等ワンヘルスに関する動画を作成し、配信する。また、リーフレットを作成し、県内企業における社員研修等で活用するほか、県や医師会、獣医師会が主催するイベントを開催する。

#### ④医師会、獣医師会向け研修会の開催

県医師会（研究協力者）及び県獣医師会（研究協力者）と連携し、医師及び獣医師向けのワンヘルスに関する研修会を実施する。この研修会は、国立感染症研究所の協力のもと実施することを計画している。この研修等により、医療関係団体におけるワンヘルスに資する人材を育成するとともに、ワンヘルス推進の基盤となる自治体と医療関係団体が連携した地域ネットワークを構築する。

#### （倫理面への配慮）

研究計画のうち①動物由来感染症起因病原体の網羅的探索については、「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」に基づく福岡県疫学倫理審査委員会（委員長藤野昭宏産業医科大学教授）により審査を行った。審査では、行政検査として人体から取得された試料を本研究に用いることから、インフォームドコンセントは不可能であるが、匿名化及びオプトアウトを実施することを記載した。研究計画②、③及び④については、人体から採取した試料や個人情報等は扱わないことから倫理面への問題はないと考えられる。

### C. 研究結果

#### (1)動物由来感染症起因病原体の網羅的探索

Illumina 社のライブラリー調製キットを使用した RNA-seq の検出系を構築し、マダニ媒介感染症疑い臨床検体（21 事例、43 検体）について、解析を行った（表 1）。その結果、1 事例からリケッチア様のリードが検出された。最も相同性の高い配列は *Rickettsia felis* であった。また、別の 1 事例から SFTS ウイルスのリードが検出された。この検体は過去の SFTS 検査で陰性であったものであるため、その理由がプライマー領域の変異によるものなのか、ウイルス量の問題であるのか検討を行った。使用した 2 つのプライマーセット (set1 および set2) のうち、set 2 に 1 塩基の変異がみられたが、set 1 にはなかったことから検査陰性となったのはウイルス量の問題であったと考えられた。一方で、少ないウイルス量の検体でも RNA-seq で探知できた事例であったと考えられた。さらに、別の 1 事例からはライノウイルス C のリードが検出された。典型的な症状や検査所見はみられないが、マダニ刺咬歴があったことからマダニ媒介感染症が疑われた事例であった。

マダニ検体からの病原体検出のため、採集したマダニ 62 匹を 4 プール検体として、構築した RNA-seq による解析を行った（表 2）。その結果、新規フレボウイルスである Okutama tick virus および Dabieshan Tick Virus が検出された。これらウイルスのヒトへの感染性は不明であるが、今後注視する必要があると考えられた。

上記の Illumina 社のライブラリー調製キットによる RNA-seq は RNA ウイルスをターゲットとするため、リケッチアや細菌の検出は難しい。そこで、マダニ媒介感染症に関わる病原体を幅広く探知できる検出系の構築を目的に、Twist Bioscience 社のライブラリー調製キットを使用したターゲットキャプチャー法による検出系の構築を行った。マダニ媒介感染症に関わるウイルス、リケッチア、細菌を感度良く検出できるよう、これらに対応したキャプチャープローブを新たに設計した。*R. japonica* を指標として構築した検出系の評価を行ったところ、良好な感度が確認され、マダニ媒介感染症に関わる病原体を幅広く探知できる検出系としての可能性が示唆された。

#### (2)野生生物生息状況把握手法開発

動物由来感染症の宿主である哺乳類を対象とした環境 DNA 調査の精度向上のため、DNA データベース整備を進めている。福岡県内での生息記録がある陸生哺乳類 39 種のうち、国際塩基配列データベースにおいて未登録又は登録数が 2 件以下の種を調査し、捕獲方法等を考慮してサンプル確保優先種を 9 種選定した。この内、これまでに 6 種のサンプルを確保した。また、従来から哺乳類の生息状況調査を行っている調査地内及び下流河川の計 7 地点において、哺乳類を対象とした環境 DNA 調査を実施した。その結果、生息が確認されているイノシシの DNA を調査地内の水から検出できた。一方、哺乳類を標的とした環境 DNA の捕集方法に関しては、ヌタ場のように著しく懸濁した環境水もあるため、DNA 抽出に使用するろ過フィルターや環境試料（水、土）の検討を進めている。また、観察による鳥類調査を実施している人工湿地内 5 地点において鳥類を対象とした環境 DNA 調査を実施した結果、当該地点で確認された複数の水禽類の DNA を検出することができた。しかし、今回採用した環境 DNA 調査の手法では、登録されている標的領域の DNA 配列が同一であることから分類ができない近縁種が存在することも明らかとなった。

#### (3)ワンヘルスの普及啓発

県民のワンヘルスに対する認識を向上させるためのモデル的な取組として、動物由来感染症対策等ワンヘルスに関する動画を作成し、WEB 配信すると共に、種々のイベントでも紹介した。また、リーフレットを作成し、県内企業を始め小中高校

生への啓発にも取り組んだ。更に、獣医師会等と連携し、福岡県“One Health”国際フォーラム(2022年11月12日～13日、福岡市)やワンヘルスフェスタ(2022年11月3日、北九州市)などの開催を開催した。

(4) 医師会、獣医師会との地域ネットワーク構築  
県医師会、獣医師会の協力のもと、医師、獣医師を対象にしたワンヘルス研修会を開催。人獣共通感染症や薬剤耐性菌に関する専門家を招聘し最新の知見について、情報共有を図るとともに、ワンヘルスアプローチの重要性について、意見交換を行った。

#### D. 考察

本分担研究では、地域におけるワンヘルスアプローチ手法に基づく取組のモデル事業として、①動物由来感染症起因病原体の網羅的探索手法の検討と②野生生物生息状況把握手法の開発を実施している。加えて、医師会、獣医師会との地域ネットワークの構築を図っている。病原体の網羅的探索手法の検討では、原因不明のマダニ媒介感染症疑い検体及びマダニ検体からの病原体検出の可能性が示唆される結果が得られた。また、野生生物生息状況把握手法の開発では、福岡県内に生息する哺乳類のDNAデータベースの整備及びイノシシなどの環境DNA調査等を行い、サンプリングや環境DNA補修方法の検討を行っている。両事業とも、検討段階ではあるが、両手法を用いることにより、動物由来感染症における病原体と宿主に関する情報が得られ、地域のワンヘルスアプローチとなると考えられる。さらに、今後は、福岡

県のみではなく、全国の自治体への横展開が必要であると考えられる。

#### E. 健康危機情報

なし

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

・環境DNA学会「あなたが主役のワークショップ」, 平川周作・中島淳・更谷有哉・石間妙子・服部卓朗「環境DNAメタバーコーディング法を用いた人工湿地における鳥類調査手法の検討」2022年11月19日

##### 3. 講演会

なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

#### H. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

表1. マダニ媒介感染症疑いの臨床検体におけるNGS結果

事例 No.	検体種別	リード数			
		総リード数	真核生物	細菌	ウイルス
1	咽頭ぬぐい液	3,247,042	1,583	1,630,368	369
	尿	2,516,564	5,346	23,348	39
	血清	1,252,790	1,701	34,679 (リケッチア : 13)	27
2	咽頭ぬぐい液	2,009,512	4,121	11,748	41
	尿	2,171,956	14,842	28,985	31
	血液	5,008,840	184,332	50,867	141
3	血清	1,115,740	2,760	21,073	18
4	血液	4,380,826	10,369	2,403	198
5	血清	3,666,490	1,842	38,281	77
	血液	1,387,994	46,518	28,971	23
6	血液	318,244	902	6,212	21 (SFTSウイルス : 12)
	血清	2,021,966	880	11,954	7
7	尿	873,202	1,752	23,691	15
	血液	12,115,294	20,823	2,726	179
	血清	5,117,294	8,804	184,971	327
8	尿	4,840,680	4,154	64,109	80
	血液	13,277,654	23,263	2,337	273
	血清	345,090	594	6,822	8
9	血清	5,605,918	3,789	75,756	44
	血液	9,536,298	38,507	13,251	67
10	尿	941,064	4,550	17,588	3
	血清	1,571,344	2,327	27,294	8
11	血液	5,366,238	6,190	25,000	57
	血清	4,545,404	4,427	44,341	6
12	血液	10,060,002	17,623	448	4
	咽頭ぬぐい液	3,997,322	2,177	1,102,733	31606 (ライノウイルスC : 427)
13	血液	7,041,514	13,200	490	11
	血清	1,475,424	1,786	7,775	11
14	血液	10,064,120	15,295	2,804	7
	血清	1,639,822	2,186	27,533	60
15	血液	9,696,944	16,714	7,451	72
16	血液	8,720,308	10,672	871	6
17	血漿	2,772,884	896	44,054	43
	血液	11,774,596	11,559	727	4
18	血液	2,132,984	781	6,778	32
	尿	3,223,206	11,907	33,970	399
19	血清	2,429,578	415	5,467	35
	血液	3,815,708	7,001	1,743	133
20	血清	3,516,694	687	11,477	77
21	血液	13,655,572	20,377	1,866	13
	血清	4,115,058	458	4,726	97
	尿	1,620,752	457	5,225	24
	咽頭ぬぐい液	6,555,320	4,909	2,918,751	106,392

表2. マダニ検体におけるNGS結果

プールNo.	採集地点	マダニ種類	成長段階	マダニ数	リード数			
					総リード数	真核生物	細菌	ウイルス
1	A	H.longicornis	nymph	5	2,591,864	1,139,669	87,287	250 (Okutama tick virus : 20)
	A	H.flava	♂	1				
	A	H.hystricis	♀	1				
	B	H.flava	♀	1				
	B	H.flava	nymph	5				
2	B	H.formosensis	♂	1	1,202,454	429,096	132,931	581
	B	H.formosensis	nymph	5				
	B	H.flava	♂	1				
	B	H.longicornis	nymph	5				
	B	H.longicornis	nymph	5				
3	B	H.hystricis	♀	1	6,589,341	4,459,053	134,138	264
	B	H.hystricis	♂	1				
	B	H.hystricis	♂	1				
	B	I.turdus	nymph	1				
	B	H.flava	♀	1				
4	B	H.flava	♀	1	7,863,247	5,834,184	128,751	12058 (Dabieshan Tick Virus : 10,744)
	C	H.longicornis	♀	1				
	C	H.longicornis	♀	1				
	C	H.longicornis	nymph	6				
	C	H.longicornis	nymph	6				
C	A.testudinarium	nymph	1					