

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 医療分野国際科学技術共同研究開発推進事業 地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム (SATREPS)

(英語) International Collaborative Research Program Science and technology Research Partnership for Sustainable Development (SATREPS)

研究開発課題名： (日本語) アフリカにおけるウイルス性人獣共通感染症の調査研究

(英語) Surveillance of Viral Zoonoses in Africa

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター
教授・高田 礼人

所属 役職 氏名： (英語) Research Center for Zoonosis Control, Hokkaido University
Ayato Takada, Professor

実施期間： 平成28年 4月 1日 ～ 平成29年 3月 31日

分担研究 (日本語) アフリカにおけるウイルス性人獣共通感染症の調査研究

開発課題名： (英語) Surveillance of Viral Zoonoses in Africa

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター
教授・高田 礼人

所属 役職 氏名： (英語) Research Center for Zoonosis Control, Hokkaido University
Ayato Takada, Professor

II. 成果の概要（総括研究報告）

和文

[目的]

本研究では、南部アフリカに位置するザンビアで野生動物、家畜およびヒトの検体を収集し、保有ウイルスを調査することによって、自然宿主、宿主域および伝播経路を明らかにする。また、野生動物が保有する未知のウイルスを探索し、病原体としてのリスクを評価する。さらに、ウイルス性人獣共通感染症の診断法開発および疫学調査をザンビア大学の研究者と共同で実施することによって、ザンビアにおける本分野の研究・教育体制を整備するとともに人材を育成する。

[成果]

導入した供与機材を用いて、ザンビア大学獣医学部のウイルス実験室における研究活動をザンビア人カウンターパートと共同で続けている。設置した動物実験設備においてマウスの繁殖飼育を継続し、一部を抗体産生のための実験に供給し始めた。実験室で作出した組み換えウイルス抗原で免疫したマウスを用いて、モノクローナル抗体作成のための一連のプロセスを実施し、ハイブリドーマを作出した。また、昨年度に引き続き、動物およびヒトの材料収集およびウイルス・抗体の検出を継続的に進め、採取した検体を今後の調査のためのバイオリソースとして保存した。

野生動物あるいは家畜から採取した血清サンプルから、フィロウイルスあるいはブニヤウイルスに対する抗体および遺伝子検出を継続するとともに、野生動物あるいは節足動物サンプルからの新規ウイルスの分離・検出を試みた。これまでにコウモリから分離したパラミクソウイルスの遺伝子および生物性状の解析を進めた。また、ザンビアに飛来する野生水禽の糞便サンプルからはインフルエンザウイルスが継続的に分離され、ウイルス株ライブラリーに追加した。さらに、これまでに開発したエボラウイルス病診断キットに、新しく作出したモノクローナル抗体を追加することによって、アフリカで見つかっている全てのエボラウイルス感染を判定できる診断キットを作出した。本キットの感度と特異性をエボラウイルス感染細胞培養上清を用いて確認した。

プロジェクト関係者（日本側研究者、カウンターパート、JICA 関係者、AMED 関係者、省庁関係者）による合同調整委員会で、これまでに得られた成果の情報を共有するとともに、今後の活動および運営方針について協議した。また、エボラウイルス病発生国であるコンゴ民主共和国およびウガンダの研究者・実務者を招き、シンポジウム（Joint Symposium on Viral Zoonoses in Africa）をザンビア大学で開催し、感染症対策に関する情報交換を活発に行った。また、昨年同様にザンビア国内で発生したエボラ出血熱疑い患者の遺伝子診断を実施した。いずれの患者からもエボラウイルスは検出されなかったが、ザンビアにおけるエボラ出血熱対策に貢献した。さらに、公開講演会ならびに講習会などを通して、エボラ出血熱に関する知識・技術の普及に努めた。

英文

[Aims and objectives]

In this project, we collect biological samples from wild animals, livestock, and humans for investigation of virus infections in Zambia, aiming at identification of the natural reservoirs and elucidation of the transmission routes and host ranges of zoonotic viruses. Attempts are also made to assess the risks of unknown or uncharacterized viruses as zoonotic pathogens. Through collaborative activities with the School of Veterinary Medicine of the University of Zambia, including the development of diagnostics and epidemiological field

studies, we strengthen their research and education systems to nurture the human resources playing a pivotal role in the control of viral zoonoses in Zambia.

[Achievements]

Using the experimental equipment installed for research and educational activities of the project in the School of Veterinary Medicine of the University of Zambia, we have been continuously operating the laboratory together with Zambian counterpart researchers. Using animal isolator units provided to the laboratory, mouse breeding has been continued and some mice were provided for experiments for the antibody production. Using mice immunized with recombinant viral antigens, we performed a series of procedures to produce monoclonal antibodies in Zambia and have obtained hybridoma clones. In addition to these laboratory-based activities, efforts to collect biological samples from animals/humans and to detect zoonotic viruses were continuously made and these materials have been stored to be used as bioresources for future epidemiological research.

We have successfully detected filovirus- and bunyavirus-specific antibodies in the serum samples collected from wild and/or domestic animals, and these serological surveillance have been continued. We also continued field activities to discover novel viruses from animals and arthropods. A newly isolated bat-derived paramyxovirus, is being analyzed genetically and biologically. Isolation of influenza A viruses from fecal samples from wild aquatic birds was also continuously carried out and the isolated strains have been added to our influenza virus library. We improved our rapid diagnosis kit with additional ebolavirus-specific monoclonal antibodies, enabling us to detect all African ebolavirus antigens, and confirmed its sensitivity and specificity for ebolavirus-infected cell culture supernatants.

Joint Coordinating Committee and Scientific Meetings, consisting of Japanese researchers, their Zambian counterparts, the Japan International Cooperation Agency, Japan Agency for Medical Research and Development, and Zambian Ministries, were held to share information on the achievements and to discuss future activities under this project. Laboratory diagnosis of Ebola virus disease-suspected patients were also conducted (no positive case has yet been found in Zambia), contributing to public health efforts in Zambia. We also organized seminars and training courses to disseminate knowledge and diagnostic technology for the control of Ebola virus disease.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 4件、国際誌 7件）

1. Simulundu E, Chambaro HM, Sinkala Y, Kajihara M, Ogawa H, Mori A, Ndebe J, Dautu G, Mataa L, Lubaba CH, Simuntala C, Fandamu P, Simuunza M, Pandey GS, Samui KL, Misinzo G, Takada A, Mweene AS. Co-circulation of multiple genotypes of African swine fever viruses among domestic pigs in Zambia (2013-2015). *Transbound Emerg Dis.* (in press)
2. 梶原将大、高田礼人. アフリカを舞台にしたフィロウイルス研究 –自然宿主探索と診断法開発–. *臨床とウイルス*. 2017 Mar;45(1): 32-40.
3. Nao N, Yamagishi J, Miyamoto H, Igarashi M, Manzoor R, Ohnuma A, Tsuda Y, Furuyama W, Shigeno A, Kajihara M, Kishida N, Yoshida R, Takada A. Genetic Predisposition To Acquire a Polybasic Cleavage Site for Highly Pathogenic Avian Influenza Virus

Hemagglutinin. MBio. 2017 Feb 14;8(1): e02298-022916.

4. Pandey GS, Simulundu E, Mwiinga D, Samui KL, Mweene AS, Kajihara M, Mangani A, Mwenda R, Ndebe J, Konnai S, Takada A. Clinical and subclinical bovine leukemia virus infection in a dairy cattle herd in Zambia. Arch Virol. 2017 Apr;162(4):1051-1056.
5. Nakao R, Matsuno K, Qiu Y, Maruyama J, Eguchi N, Nao N, Kajihara M, Yoshii K, Sawa H, Takada A, Sugimoto C. Putative RNA viral sequences detected in an Ixodes scapularis-derived cell line. Ticks Tick Borne Dis. 2017 Jan;8(1): 103-111.
6. 高田礼人. エボラ出血熱の診断・治療法開発 —モノクローナル抗体の活用—. 日本臨床. 2016 Dec;74(12): 2080-2085.
7. Yoshida R, Muramatsu S, Akita H, Saito Y, Kuwahara M, Kato D, Changula K, Miyamoto H, Kajihara M, Manzoor R, Furuyama W, Marzi A, Feldmann H, Mweene A, Masumu J, Kapeteshi J, Muyembe-Tamfum JJ, Takada A. Development of an Immunochromatography Assay (QuickNavi-Ebola) to Detect Multiple Species of Ebolaviruses. J Infect Dis. 2016 Oct 15;214(suppl 3): S185-S191.
8. 高田礼人. グローバル感染症最前線 —NTDs の先へ エボラウイルス研究の現状と最新の知見. 医学の歩み. 2016 August;258(7-8): 803-810.
9. 古山若呼, 高田礼人. エボラ出血熱の予防・治療・診断法開発の現状. ウイルス. 2016 July;66(1): 63-72.
10. Thoromo J, Simulundu E, Chambaro HM, Mataa L, Lubaba CH, Pandey GS, Takada A, Misinzo G, Mweene AS. Diagnosis and genotyping of African swine fever viruses from 2015 outbreaks in Zambia. Onderstepoort J Vet Res. 2016 Apr 29;83(1): a1095.
11. Anindita PD, Sasaki M, Nobori H, Sato A, Carr M, Ito N, Sugiyama M, Orba Y, Sawa H. Generation of recombinant rabies viruses encoding NanoLuc luciferase for antiviral activity assays. Virus Res. 2016 Apr 2;215: 121-128.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 兼子千穂、大森亮介、佐々木道仁、Hang'ombe B. M.、Dautu G.、片岡周子、中尾亮、磯田典和、東秀明、澤洋文、Mweene A. S.、高田礼人、杉本千尋. ザンビア共和国マザブカ郡の農村地域における狂犬病制御の実行可能性. 第 49 回獣医疫学会学術集会. 2017/3/25, 東京大学, 東京, 国内 (ポスター)
2. 高田礼人. エボラウイルス研究の最前線. 第 32 回日本環境感染学会総会学術集会 シンポジウム 16 エボラウイルス病の最前線. 2017/2/25, 神戸国際展示場, 神戸市, 国内. (口頭、招待講演)
3. Chiho Kaneko, Michihito Sasaki, Bernard M. Hang'ombe, George Dautu, Ryo Nakao, Hideaki Higashi, Chikako Kataoka, Ryosuke Omori, Hirofumi Sawa, Ayato Takada, Norikazu Isoda, Aaron S. Mweene, Chihiro Sugimoto. Working towards attainment of effective rabies control in Zambia. The 4th International One Health Congress & 6th Biennial Congress of the International Association for Ecology and Health. 2016/12/3-7, Melbourne Convention and Exhibition Centre, Melbourne. Australia, 国外. (口頭)
4. 佐々木道仁, アンディタパウリナ, 伊藤直人, 杉山誠, 福原秀雄, 尾瀬農之, 前仲勝実, 大場

- 靖子, 澤洋文. ヘパラン硫酸を介した狂犬病ウイルスの細胞吸着機構の解析. 第 39 回日本分子生物学会年会. 2016/11/30-12/2, パシフィコ横浜, 横浜市, 国内. (ポスター)
5. Ayato Takada. Neutralization and Antibody-Dependent Enhancement of Ebolavirus. 8th International Global Virus Network Meeting. 2016/10/25, 札幌コンベンションセンター, 札幌市, 国内. (口頭、招待講演)
 6. Edgar Simulundu, Herman Chambaro, Masahiro Kajihara, Hirohito Ogawa, Akina Mori, Joseph Ndebe, Liywali Mataa, Caesar Lubaba, Christopher Simuntala, George Dautu, Gerald Misinzo, Ayato Takada, Aaron Mweene. Involvement of Multiple Genotypes of African Swine Fever Viruses During 2013-2015 Outbreaks in Zambia. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. 2016/10/24, 札幌コンベンションセンター, 札幌市, 国内. (ポスター)
 7. Ngonda Saasa, Masahiro Kajihara, George Dautu, Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo, Ayato Takada, Aaron Mweene, Kumiko Yoshimatsu, Jiro Arikawa. Recombinant expressed nucleoprotein protein of Rift Valley fever virus and Serosurveillance in traditional cattle herds in Zambia. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. 2016/10/25, 札幌コンベンションセンター, 札幌市, 国内. (口頭)
 8. Walter Muleya, Herman Chambaro, Masahiro Kajihara, Ngonda Saasa, Akina Mori, Yongjin Qiu, Michihito Sasaki, Lambert Gwenhure, Aaron Mweene, Boniface Namangala, Ayato Takada, Hirofumi Sawa. Genetic diversity of rabies virus circulating in different hosts and regions in Zambia and Zimbabwe. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. 2016/10/25, 札幌コンベンションセンター, 札幌市, 国内. (口頭)
 9. Paulina Duhita Anindita, Michihito Sasaki, Haruaki Nobori, Akihiko Sato, Michael Carr, Naoto Ito, Makoto Sugiyama, Yasuko Orba, and Hirofumi Sawa. Establishment of a combinatory compound screening assay to identify rabies virus antivirals. The 4th Sapporo Summer Seminar for One Health (SaSSOH)、2016/9/20-21, 北海道大学, 札幌市, 国内. (ポスター)
 10. Masahiro Kajihara, Hirohito Ogawa, Hiroko Miyamoto, Katendi Changula, Qiu Yongjin, Eri Nakayama, Akina Mori, Reiko Yoshida, Ichiro Nakamura, Hirofumi Sawa, Akihiro Ishii, Yuka Thomas, Emiko Nakagawa, Keita Matsuno, Mieko Muramatsu, Makoto Kuroda, Junki Maruyama, Naganori Nao, Bernard Hang'ombe, Edgar Simulundu, Water, Andrew Nambota, Jackson Katampi, Manabu Igarashi, Chihiro Sugimoto, Ladslav Moonga, Joseph Ndebe, Penjaninge Kapila, Aaron Mweene, Ayato Takada. Seroepidemiological Prevalence of Multiple Species of Filoviruses in Fruit Bats (*Eidolon helvum* and *Rousettus aegyptiacus*) in Zambia. 8th Internatinal Symposium on Filoviruses. 2016/9/12-13, BNP Paribas Fortis auditorium, Antwerp. Belgium, 国外. (ポスター)
 11. Katendi Changula, Reiko Yoshida, Shino Muramatsu, Hiroshi Akita, Yuji Saito, Miwa Kuwahara, Daisuke Kato, Hiroko Miyamoto, Masahiro Kajihara, Rashid Manzoor, Wakako Furuyama, Andrea Marzi, Heinz Feldmann, Aaron Mweene, Justin Masumu, Jimmy Kapeteshi, Jean-Jacques Muyembe-Tamfum, Ayato Takada. Development of an immunochromatography assay (QuickNavi™-Ebola) to detect multiple species of ebolaviruses. 8th Internatinal Symposium on Filoviruses. 2016/9/12-13, BNP Paribas Fortis

auditorium, Antwerp. Belgium, 国外. (ポスター)

12. Wakako Furuyama, Andrea Marzi, Aaron B. Carmody, Junki Maruyama, Makoto Kuroda, Hiroko Miyamoto, Asuka Nanbo, Rashid Manzoor, Reiko Yoshida, Manabu Igarashi, Heinz Feldmann, Ayato Takada. Antibody-dependent enhancement of Ebola virus infection is induced by the Fc gamma receptor IIa-dependent signaling pathway through Src family protein tyrosine kinases. 8th International Symposium on Filoviruses. 2016/9/12-13, BNP Paribas Fortis auditorium, Antwerp, Belgium, 国外. (ポスター)
13. Yoshimi Tsuda, Satoko Yamaoka, Carla Weisend, Kimberly Meade-White, Logan Banadyga, Ayato Takada, Jiro Arikawa, Hideki Ebihara. Replication in macrophages is a key factor for lethal outcome of Ebola virus infection. 8th International Symposium on Filoviruses. 2016/9/12-13, BNP Paribas Fortis auditorium, Antwerp, Belgium, 国外. (ポスター)
14. 高田礼人. グローバルヘルスを支える生化学 エボラウイルスの診断・治療法開発の最前線. 第 89 回日本生化学会大会. 2016/8/20, 仙台国際センター, 仙台市, 国内. (口頭、招待講演)
15. Ayato Takada. Ebolavirus Entry into Cells --- Neutralization and Antibody-Dependent Enhancement---. The 15th Awaji International Forum on Infection and Immunity. 2016/9/9, 淡路夢舞台国際会議場, 淡路市, 国内. (口頭、招待講演)
16. 高田礼人. 人獣共通感染症としてのインフルエンザ. 第 24 回呼吸器疾患・感染症研究会. 2016/8/20, 泉ガーデンタワー, 東京都, 国内. (口頭、招待講演)
17. 高田礼人. 人獣共通感染症の研究最前線 -エボラ出血熱-. 日本麻酔科学会第 63 回学術集会. 2016/5/26, 福岡国際会議場, 福岡市, 国内. (口頭、招待講演)
18. 高田礼人. エボラウイルス研究の最前線. 第 90 回日本感染症学会総会・学術講演会. 2016/4/16, 仙台国際センター, 仙台市, 国内. (口頭、招待講演)
19. 高田礼人. 人獣共通感染症研究最前線 -エボラ出血熱とインフルエンザ-. 第 45 回野依フォーラム例会. 2016/4/15, 名古屋大学野依記念物質科学研究館, 名古屋市, 国内. (口頭、招待講演)
20. Paulina Duhita Anindita, Michihito Sasaki, Haruaki Nobori, Akihiko Sato, Michael Carr, Naoto Ito, Makoto Sugiyama, Yasuko Orba, and Hirofumi Sawa. Establishment of antiviral compound screening assay employing recombinant rabies viruses encoding NanoLuc luciferase. 第 15 回狂犬病研究会. 2016/4/3, 水明館, 下呂市, 国内. (口頭)

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 澤洋文, 佐々木道仁, 大場靖子. 人獣共通感染症克服に向けたアプローチ. 第 57 回 知の拠点セミナー. 2016/12/17, 京都大学東京オフィス, 東京, 国内.
2. 高田礼人. エボラ出血熱への挑戦. ブンナビ薬学特別企画 2016. 2016/11/24, 就実大学, 岡山市, 国内.
3. 高田礼人. 人獣共通感染症研究「ウイルス研究の最前線」. とわの森三愛高等学校 獣医進学コース. 2016/11/17, とわの森三愛高等学校, 札幌市, 国内.
4. 高田礼人. エボラウイルス研究の最前線. ICD 講習会. 2016/10/25, 札幌コンベンションセンター, 札幌市, 国内.
5. 有川二郎. ウイルスって何? どうして病気になるの? 第 64 回北日本ウイルス学会学術集會市

- 民公開講座. 2016/10/22, 北海道大学クラーク会館, 札幌市, 国内.
6. 梶原将大. アフリカにおけるウイルス性人獣共通感染症の調査研究. 北海道大学獣医学部同窓会記念フォーラム【獣医学部とアフリカ～歴史と将来】, 2016/9/24, 北海道大学獣医学部, 札幌市, 国内.
 7. 高田礼人. ウイルス研究の最前線. ーインフルエンザとエボラ出血熱の話ー. 北海道ハイテクノロジー専門学校 平成 28 年度高校教員バイオ講習会. 2016/8/4, 北海道ハイテクノロジー専門学校, 恵庭市, 国内.
 8. 澤洋文, 佐々木道仁, 大場靖子. 人獣共通感染症克服に向けたアプローチ. 東京大学医科学研究所公開セミナー LOVE LABO 2016. 2016/8/2, 東京大学医科学研究所, 東京, 国内.
 9. 高田礼人. 人獣共通感染症 ーインフルエンザとエボラ出血熱の話ー. 北海道大学平成遠友夜学校. 2016/8/2, 北海道大学遠友学舎, 札幌市, 国内.
 10. 高田礼人. ウイルスの生態. 第 58 回北大祭公開講座. 2016/6/4, 北海道大学古河記念講堂, 札幌市, 国内.

(4) 特許出願