
野生水禽類におけるコロナウイルスの保有状況調査及び 糞からのウイルス分離技術の開発

(国研) 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門動物感染症研究領域・上級研究員 井関 博

■ 目的

野生水禽が複数種のコロナウイルスを保有していることは知られているが、数多く飛来する野生水禽の種類と検出されるコロナウイルスの種類を調査した文献は世界的にもわずかである。これらのウイルスが家禽や家畜、さらには人へ感染するリスクを精査するためには、ウイルスを分離・培養する技術の確立が不可欠である。そこで、我々は野生水禽の糞から PCR 法によりコロナウイルスと宿主である水禽の遺伝子の双方を検出し、その関係性を探ると共に、ウイルス遺伝子が含まれる糞を発育鶏卵に接種することによってウイルスの分離手法を確立することを目的とした。本研究の成果から、日本に飛来する野生水禽が保有するコロナウイルスの種類について、水禽を捕獲することなく、鳥種ごとに明らかとすることができる。

■ 方法

2021 年秋～2022 年春にかけての水禽の渡りシーズンに国内 A 県のダム及び調整池の 3 地点で採取された水禽の糞懸濁液 176 検体から、RNA 及び DNA を抽出した。コロナウイルスを広く検出する nested PCR 法により、コロナウイルス特異的な増幅産物を確認した。これらの検体を対象に、水禽の種を鑑別可能な遺伝子領域を標的とした nested PCR 法を実施した。次に、ウイルス分離法を開発を目的として、発育鶏卵の尿膜腔内に上述のコロナウイルスの遺伝子が確認された糞懸濁液を接種した。7 日間の培養後、発育鶏卵から回収した尿腔液を新しい発育鶏卵に継代接種し、5 代目までの尿腔液を回収した。得られた尿腔液から抽出した RNA を用いてコロナウイルス遺伝子の増幅を RT-PCR 法にて確認した。

■ 結果および考察

野生水禽の糞 176 検体のうち、18 検体からガンマコロナウイルス (Gamma-CoV)、2 検体からデルタコロナウイルス (Delta-CoV) の遺伝子が検出された。Gamma-CoV 陽性検体からは 1 検体を除いてヒドリガモ (13 検体) あるいはマガモ (4 検体) の遺伝子が検出されたが、Delta-CoV 陽性検体からはオナガガモ及びコガモの遺伝子が検出された。これらの結果から、水禽の約 1 割が Gamma-CoV ないし Delta-CoV を保有していることが明らかとなり、渡り鳥がコロナウイルスをわが国に持ち込んでいることが証明された。また、2 検体のみ検出された Delta-CoV が検体の多数を占めていたヒドリガモやマガモではなく、コガモ及びオナガガモから検出されたことは非常に興味深く、鳥種とコロナウイルスとの関係性について更なる研究が必要である。発育鶏卵への接種ではコロナウイルスの増殖を確認することができなかったが、カモの卵を用いることでウイルス分離に成功する可能性があるため、今後実施していきたい。

■ 結語

野生水禽の糞 18 検体から Gamma-CoV、2 検体から Delta-CoV の遺伝子が検出された。Gamma-CoV 陽性検体からは 1 検体を除いてヒドリガモあるいはマガモの遺伝子が検出されたが、Delta-CoV 陽性検体からはオナガガモ及びコガモの遺伝子が検出された。発育鶏卵による継代では、これらの検体からコロナウイルスを分離することができなかった。