Science Topics
～RIASの視点～

一般財団法人生物科学安全研究所
Research Institute for Animal Science in Biochemistry and Toxicology (RIAS)

目　　次

論文紹介

【感染症】

迫り来る SFTS ウイルス拡大の脅威・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1

【安全性・副作用】

ミツバチに対するシュウ酸処理の影響について・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 2

【薬剤耐性】

ワクモの薬剤耐性メカニズムの解明・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 3

【新技術】

リアルワールドエビデンス（RWE）研究報告に関する新提案・・・・・・・・・・・・・・・ 5

トピックス

培地用寒天の品質が研究者を悩ませている・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 7

編集後記　8

論文紹介

感染症

迫り来る SFTS ウイルス拡大の脅威

重症熱性血小板減少症候群（SFTS）は 2009 年に中国で最初に発症例が確認され、2013 年には日本においても感染例が報告されました。日本国内の発生は西日本が中心ですが、東京でも報告があり、年間 50 件から 100 件ほど発生しています。SFTS ウイルス（SFTSV）に感染すると 6 日から 2 週間の潜伏期の後に発熱、消化器症状が多くの患者で認められ、神経症状やリンパ節腫大、出血症状を呈し、致死率は 6.3 %から 30 %と報告されています。世界保健機関（WHO）は 2017 年に SFTS を公衆衛生上の観点から注視すべき感染症の一つとしています。感染経路はマダニを介したものが中心ですが、患者の血液等の体液との接触による人から人への感染も報告があります。治療については、日本国内では 2024 年に抗インフルエンザ薬（ファビピラビル）の使用が承認されたものの、基本は対症療法であり、有効なワクチンはありません。SFTS は愛玩動物にも感染が広がっており、日本国内でも飼い主や動物病院従事者が犬や猫から感染し発症した事例もあり、対策が急がれています。

今回紹介するのは台湾における犬と猫の SFTS 発生状況を疫学的に調査した報告です。過去に台湾の家畜と野生動物の SFTSV 感染については報告がありましたが、本研究ではこれまで調べられていなかった犬と猫における有病率を明らかにすることを目的としました。この研究では 2022 年から 2023 年にかけて犬 429 頭、猫 306 頭より収集された血液サンプルが基となり、その内訳は犬 102 頭、猫 91 頭は野生の犬、猫となっています。集められたサンプルで RT-PCR 法を用いて SFTSV の検出を行いました。全体の SFTSV 検出率は 23 %（170/735 頭）となり、飼育動物は 17.2 %（93/542 頭）、野生動物は 39.8%（77/193 頭）が SFTSV 陽性となり、野生動物に起因するところが大きいことが示唆されました。野生の犬と猫で比較した場合の陽性率は野良犬 53.9 %（55/102 頭）、野良猫 24.2 %（22/91 頭）となっており野良犬のほうが有意に高いものでした。SFTSV 保有率は地域差が認められ、野生下の動物で最も低い地域では 8.3 %でしたが最も高い地域では 60.6 %と半数を超えている状況でした。加えて飼い犬と飼い猫の計 137 サンプルにおいてフローサイト法および塗抹法による血小板数の評価も実施されました。犬においては SFTSV 有病率による血小板減少の有意差は認められませんでしたが、猫においては SFTSV 陽性動物の血小板数が低いことがわかりました。筆者は SFTS の高い致死率を踏まえると臨床現場で血小板減少症を示す猫に特に注意する必要があると考えています。

一方、台湾の反芻動物や野生動物から採取されたプールしたマダニの 27.7 %から

SFTSV　RNA が検出されたという研究報告もあることから、野生動物の SFTSV の陽性率が高いのは、マダニのまん延に加え、動物同士のコミュニティー内での高度な接触がマダニを介した SFTSV の伝播につながっていることが示唆されます。

日本国内においては長崎で SFTS が疑われる臨床症状を示す猫のうち、33.1 %で SFTSV の感染が確認されたとの報告はありますが、野生の犬猫における感染状況を調べた研究はありません。日本と同じ島国である隣国の台湾で判明した現状は日本にも同様な SFTSV の拡大が起こっている可能性を示しており、興味深い報告であると思いました。

紹介論文書誌情報

Epidemiology of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome in Dogs and Cats in Taiwan.
C. Kuan, et al.
Viruses, doi: 10.3390/v15122338, (2023)

（田中　美帆）

安全性・副作用

ミツバチに対するシュウ酸処理の影響について

ミツバチヘギイタダニはミツバチに寄生するダニで、ミツバチの体液や脂肪体を摂食する他、ミツバチヘギイタダニが媒介するウイルスの伝播によりミツバチコロニーの減少、崩壊を引き起こす要因となっています。ミツバチヘギイタダニの防除に化学合成薬剤や天然化合物が使われていますが、世界的に化学合成薬剤の使用を控える動きがあり、天然化合物に注目が集まっています。シュウ酸は天然化合物の殺ダニ剤として世界中で使用されており、高濃度の使用におけるミツバチに及ぼす悪影響として、局所または経口投与による腸の損傷、実験環境での死亡率の上昇、コロニー内の幼虫の減少などがあるものの、免疫レベルでの影響は不明でした。

本研究では、免疫関連因子であるグルコースオキシダーゼ（Gox）、フェノールオキシダーゼ（PO）、ビテロジェニン（Vg）、抗酸化関連因子であるグルタチオン S-トランスフェラーゼ（GST）、カタラーゼ（CAT）の活性に対して、シュウ酸の影響を確認しました。ミツバチに対してシュウ酸処理前 0 時間（T0）、およびシュウ酸処理後 6 時間後（T6）、24 時間後（T24）、48 時間後（T48）、96 時間後（T96）にそれぞれ 20 匹ずつサンプリングしました。体表および体液のシュウ酸量を計測したところ、体表では処理前に比べて T6、T24 が有意に高く、体液では処理前と処理後で差がないことがわかりました。体表でのシュウ酸量減少はグルーミング行動に伴うものであると考えられ、体液でのシュウ酸含有量については、先行研究と同様に増加しませんでした。体液

での酵素アッセイでは GOx のみ、処理前と比べて T48 時点で有意に高く、PO、GST、CAT はいずれの時点も有意差はありませんでした。GOx の活性化は外部因子に対する防御反応である可能性があります。PO、GST、CAT が活性化されていないことは、種々のストレスが誘発されなかった可能性があります。Vg は T24 のみ高く、T48 に再び減少が見られました。Vg の挙動も先行研究と一致しており、シュウ酸含有量に変化がないにも関わらず Vg の変動が見られたことは、観察していない時点でピークがあった可能性があり、Vg とシュウ酸の関係のより詳細な検討が望まれます。

本研究より、シュウ酸処理がミツバチの免疫へ及ぼす悪影響は少ないことが明らかとなりました。このように世界中で使用されている既存の化合物の安全性を裏付けていく研究も重要になると考えています。

紹介論文書誌情報

Oxalic Acid Treatment Short-Term Effects on Enzyme Activities Vitellogenin Content and Residual Oxalic Acid Content in House Bees *Apis mellifera L*

S. Sagona, et al.

Insects, doi: 10.3390/insects15060409, (2024)

（井上　貴裕）

薬剤耐性

ワクモの薬剤耐性メカニズムの解明

ワクモ（*Dermanyssus gallinae*）は、採卵鶏等を吸血する外部寄生虫で、現在、家畜衛生及び公衆衛生上大きな悪影響を与えています。これに対し様々な殺虫剤、ダニ駆除剤が開発され、使用されていますが、これらの薬剤に対する耐性化が進んでおり、駆除剤の効果が得られないという問題が発生しています。中でも、ピレスロイド系ダニ駆除剤である β-シペルメトリンは世界中で主なワクモ駆除剤としても使われていますが、ワクモはこの薬剤に対して高い耐性を持っています。今回ご紹介するのは、この β-シペルメトリンに対するワクモの薬剤耐性のメカニズムについて生化学、分子遺伝学の観点から調べた報告です。

節足動物が β-シペルメトリンに対する耐性を獲得する重要な解毒酵素として、カルボキシルエステラーゼ（CarE）が知られています。まず著者らは、ワクモのトランスクリプトームデータベースを調べ、ワクモに *CarE* 遺伝子が存在することを確認しました。

次に、ワクモの CarE と β-シペルメトリン耐性との関連を調べるため、β-シペルメトリンに対する感受性株（SS）及び耐性株（RS）の CarE 活性をワクモ抽出液で調べたと

ころ、RS の酵素活性の方が SS よりも有意に高いことがわかりました。さらに RS は SS の約 3 倍の mRNA を発現しており、*CarE* 遺伝子の転写亢進による CarE タンパク質の増加がワクモの β-シペルメトリン耐性に寄与していることが示唆されました。また、*CarE* 遺伝子の mRNA への転写量は成虫の段階で最も多く、RNAi により *CarE* 遺伝子のサイレンシングを行ったところ、RS の CarE 活性が低下し、β-シペルメトリンに対する感受性が増加しました。これらの結果は、ワクモの β-シペルメトリンに対する耐性が CarE に依存することを強く示唆しています。

最後に著者らは大腸菌を用いてワクモの組換え CarE タンパク質（rDeg-CarE）を合成・精製しました。rDeg-CarE は標準的な基質である α-ナフチルアセテートと、β-ナフチルアセテートを分解できることが酵素化学的に示されたものの、β-シペルメトリン及びポジティブコントロールとして用いたカーバメイト系殺虫剤の一種であるカルバリルのいずれも分解できないことが HPLC による定量で明らかになりました。以上の結果から、ワクモの CarE は β-シペルメトリンを基質として代謝するのではなく“殺虫剤の貯留槽”のような機能をしており、直接 β-シペルメトリンを分解する他の酵素や β-シペルメトリンの反応を間接的に調節している可能性がひとつとして考えられます。

今回の研究では言及されていませんが、ワクモの SS と RS の酵素活性を比較した際に、RS の CarE の酵素活性（Km と Vmax）が SS よりも高くなるように遺伝子が変異しているかどうかを追加で調べることで、CarE が薬剤耐性に関連しているという確証がさらに得られるのではないかと思いました。

本論文のように殺虫剤抵抗性の分子機構を解明していくことは、ワクモの管理と制御に関する科学的手がかりとなり、薬剤抵抗性の発達を遅らせる薬剤の開発や、殺虫剤の有効成分を効果的により長く使い続けるための技術開発につながります。ワクモなど害虫の殺虫剤は、現在は数多く生産開発されていますが、規制や薬剤耐性により有効成分の種類が減っており、今後は殺虫剤の種類も少なくなる可能性があります。そんな中、今後も病害虫防除を薬剤で行う限り、害虫の薬剤抵抗性への対応は不可避であるため、動物、畜産の検査・試験受託機関に関わる者として、ワクモ研究の重要性を理解し、積極的に研究や開発、検査などに貢献していきたいと思いました。

紹介論文書誌情報

Identification and biochemical characterization of a carboxylesterase gene associated with β-cypermethrin resistance in *Dermanyssus gallinae*.
X. Zhang, et al.
Poult. Sci., doi: 10.1016/j.psj.2024.103612, (2024)

（國貞　葉菜子）

新技術

リアルワールドエビデンス（RWE）研究報告に関する新提案

医療分野におけるデジタル技術の活用は、電子カルテの導入や疾病管理等で既に利用され、進化を続けています。新たなデジタルヘルスの中で、近年注目されていることは、電子カルテデータ、調剤レセプトなど、日々の実診療の中で得られる医療データを集めたリアルワールドデータ（real-world data：RWD）の活用です。特に創薬分野における RWD の活用は、既承認薬の有効性及び安全性データの追跡調査を容易にし、陰性対照群の設定が困難な希少疾患及び難病指定された疾患の臨床試験では対照群をデータで代替することができます。さらに RWD を解析して得られる科学的根拠（real-world evidence：RWE）を導き出すことで、治療法が実際の現場でどのくらい役立てられているかを明らかにすることに繋がります。

近年、学会誌での RWE 研究報告や臨床現場における RWE 採用の増加が、更なる RWE 研究を促進しています。しかし、これに比例して、RWD の活用や研究デザイン、分析、解釈の誤りによる不適切な RWE の生成が懸念されています。実例として、主要な医学雑誌に掲載された新型コロナウイルス感染症（COVID-19）治療に関する RWE 研究 2 件が撤回されています。これらは同じデータソースを使用していましたが、基礎データの出所が不明であり、臨床用量とかけ離れた治療薬を投与されていたこと等が欠陥の理由とされました。COVID-19 パンデミック時の緊急的な需要増加による基準緩和により、誤った情報のまま、公開され、拡散したことが原因と考えられ、RWE 研究への信頼を大きく損なう結果となりました。

再発防止策として、本論文では RWE 研究の価値を最適化するための以下の 4 項を提案しています。 (1) The reporting of studies conducted using observational routinely collected health data statement for pharmacoepidemiology (RECORD-PE) を完了すること、 (2) 事前に決定された研究プロトコルと分析計画を利用すること、 (3) ピアレビューチームに薬剤疫学者を含めること、 (4) データソースの出所、特徴付け及び保管に関する情報を明記し、正しく利用出来ているかの評価を簡素化することです。 (1) について、RECORD-PE は既存の RECORD に薬剤疫学研究に特異的な研究デザイン、参加者の選定、薬剤の暴露情報、データソースのヘルスケアシステム、解析方法、考察方法など 15 項目を追加した研究報告ガイドラインであり、2018 年に British Medical Journal 誌で公表されました。これらをチェックリストに組み込み、研究者や編集者が遵守することで、RWD を活用した研究報告の信頼性の向上を図ります。 (2) について、欧州医薬品庁における承認後の安全性研究は、プロトコルを公的ツールである EU PAS Register へ登録し実施することが義務付けられていますが、登録内容から逸脱する場合には、それが正当であることを説明できるよう事前準備しておくことを推奨しています。 (3)

研究結果を考察する際に疫学的な因果推論に精通した者及び RWD ソースに対して正しい知識を有する者をピアレビューチームに含めることで、高品質な RWE 報告の作成に寄与します。 (4) については、RWD 情報源の違いによるデータの品質と解釈方法について十分理解し使用する必要があることを説明しています。これら 4 つの提案を実施することで、研究が適切に設計及び実施されているか、使用されたデータソースが目的に適合しているかを評価できると考察しています。

COVID-19 パンデミック時には情報が錯綜し、ワクチンに関する様々な憶測を生みました。一方で RWD 活用システムの構築が進んでいる国では、いち早くデータソースの明確なワクチンの有効性に関する RWE 創出に成功しました。ワクチンの有効性について疑問がある中で、この RWE 報告は有意義なものでした。このように、緊急時でも RWE は治療に関する根拠情報として信頼性の高いものであるべきです。より正確な RWE 創出のためには、本論文で示された共通認識が重要と考えられます。莫大な情報源となる RWD を正しく活用し、信頼性の高い RWE が報告出来れば、医薬品における有効性や安全性の更なる根拠となると考えます。

紹介論文書誌情報

A Road Map for Peer Review of Real-World Evidence Studies on Safety and Effectiveness of Treatments.
A. G. Winterstein, et al.
Diabetes Care, doi: 10.2337/dc22-2037, (2023)

（野間　千尋）

トピックス

培地用寒天の品質が研究者を悩ませている

寒天はテングサなどの紅藻類由来の多糖類で、心太などの食品に使われるだけでなく、細菌や酵母などの微生物を培養するための基材としても広く用いられています。寒天の原料となる紅藻類の不足から、培地用寒天の供給が不足しているという問題を 2015 年第 4 号の新動薬情報でご紹介しました。今回ご紹介するのは、培地用寒天の品質に関する話題です。

米国アーカンソー大学で *Schizosaccharomyces pombe* という酵母を使って細胞分裂中の遺伝子の動きを解析している研究者たちが、対照としている酵母でも彼らが使用していた寒天培地上で死滅してしまうという現象に遭遇しました。その原因を解明するため、彼らが使っていたガラス器具の汚れや実験用の水など想定される要因を調べたところ、彼らが使っていた寒天が原因であることがわかりました。また、彼らがこの問題について研究者コミュニティーのメールグループに投稿したところ、多くの研究者が同じ経験をしていることがわかりました。しかし、この問題が起こった年代や場所、培地用寒天の供給会社などに一定の傾向は見られませんでした。

彼らは別のグループの研究者と共同で寒天の「毒性」の原因を調べていますが、今のところ明らかになっていません。ただ、同じ培地用寒天でも培地に加える栄養成分を増やすことによって「毒性」が減弱するようです。彼らの検討結果はプレプリント誌 bioRxiv に投稿されていますので、ご興味のある方はこちらもご覧ください（https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2024.06.06.597796v1.full.pdf）。

寒天の主要な成分はアガロースとアガロペクチンという多糖類ですが、紅藻類由来の天然物ですので、培地用寒天の厳密な品質管理は難しいのかもしれません。ただ、培地用寒天は細菌や酵母などの微生物を用いた実験に必須の資材ですので、この「毒性」の要因が何なのか、一日も早い解明が必要でしょう。

紹介情報名

Bad agar is killing lab yeast around the world. Where is it coming from?

Science, News 2024 年 7 月 31 日情報

https://www.science.org/content/article/bad-agar-killing-lab-yeast-around-world-where-it-coming

（宮﨑　茂）

編集後記

Science Topics～RIAS の視点～2024 年度第 1 号をお届けします。

今期からタイトルをリニューアルし、お届けします。

今夏に開催されたパリオリンピックで、日本は金銀銅合わせて 45 個のメダル獲得、また、メジャーリーグ大谷選手の 50-50 など、特に若い力の大健闘が光っています。

50 といえば、我が生物科学安全研究所も本年 10 月に創立 50 周年を迎えました。50 年という RIAS の礎を守りつつ、温故知新の精神で次のステージにまいります。ドイツの文豪ゲーテも He who moves not forward, goes backward「前進しない者は後退する」と言うように。

編集委員長　山﨑　晶子

Science Topics～RIAS の視点～　2024 年　第 1 号
編集：情報収集普及委員会
編集委員　委員長　山﨑　晶子
委　員　伴瀬　恭平、永根　麻子、中村　佳子、水谷　恵子、小川　友香、長谷川　彩子
事務局　惟村　美紅
特別投稿　宮﨑　茂