

1 2. 獣医科学部

部長 山田章雄

概要

平成 22 年度はインフルエンザのパンデミックは治まったものの宮崎県で発生した口蹄疫が大きな社会問題化した。獣医科学部は口蹄疫の問題には全く影響は受けなかったが、私達と背景をともにする全国の獣医師ならびに獣医学研究者は非常招集され、その対策に追われたと聞く。感染症には確かに国境はなく、One Health の重要性を確認させられるようなイベントが毎年のように起きている。昨年度政権交代により、このようなイベントへの対応に大きな変化が起きることを期待する様な文章を記したが、獣医科学部にとってはその期待は見事に裏切られた。新政権の誕生によるものか財務官僚の判断によるものかは全く不明であるが、獣医科学部の研究活動の大きな財政基盤であった動物由来感染症に関する事業費が全く認められなかったのである。これまでも事業費は年を追う減額に直面していた。このままではじり貧であるという危機感からこれまでの事業費をスクラップアンドビルドする形で新規事業計画を打ち立てた。これが裏目に出たのである。状況判断に甘い点があったことは否めないかも知れないが、まさに世界が One Health 理念を実行に移すことによって、人獣共通感染症や人の健康に大きな影響を持つ家畜・家禽の疾病さらには野生動物の疾病コントロールに向かおうとしているこの時期にこのような事態となることは想像すらできなかった。Child Health Research Initiative では研究費配分に係る Priority 設定の問題点を指摘し、本当の意味での疾病負荷の軽減に必要な研究費配分の在り方を提言している。我が国の研究費配分の決定は如何なる考え方に基づいているのかしばしば疑問に思うところである。このような状況ではあるが、それぞれが確保した研究費に基づいて、これまでに引き続きブルセラ症、カプノサイトファーガ感染症、狂犬病、ニパウイルス感染症、炭疽、野兔病、高病原性鳥インフルエンザウイルスなどに関する研究が進められた。

業績

調査・研究

I. 動物由来感染症に関する研究

1. *Brucella* 特異的抗体検出法の開発に関する研究

ブルセラ属菌特異的な抗体検出法を開発するため、ウエスタンブロットィングにより特異的反応を示したタンパクを分離し、そのアミノ酸配列 (104aa) を決定した。配列から、このタンパクの抗原部位を解析し、抗原性を持つと考えられる 5 種類のオリゴペプチド、ならびに全長の組換えタンパクを作成し、その抗原性の解析を行っている。新たな in-house の ICA の開発など、より特異性が高く簡便な方法の開発を進めている。[木村昌伸、鈴木道雄、山田章雄、今岡浩一]

2. 国内野生イノシシ・シカにおける抗 *Brucella* 抗体の保有状況に関する研究

国内の野生イノシシおよびシカの血液サンプルを用いたこれまでの調査から、イヌブルセラ菌 (*B. canis*) に対する抗体を保有するものが認められている。今回、四国地方を中心に、イノシシにおけるブルセラ属菌に対する抗体の保有状況を検討したところ、これまでと同様、2010-11 年シーズンのサンプルでも 11/109 のイノシシで *B. canis* に対して凝集が認められた。家畜ブルセラ菌 (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*) に対しても 1/109 で凝集が認められた。また、血液培養により、ブルセラ属菌特異的遺伝子 (*bcsp31*) 陽性分離株を得たが、これは、*Achromobacter* 属の菌であり、ブルセラに対する抗体とは反応性を持たなかった。したがって、イノシシに見られるブルセラ属菌反応性抗体は、本菌に対する交差反応ではなかった。すなわち、イノシシがブルセラ属菌に感染し、これに対する抗体を獲得している可能性は否定できなかった。[木村昌伸、今岡浩一、鈴木道雄、山田章雄 (感染研・獣医科学部)、大日本猟友会、四国地区猟友会会員]

3. ブルセラ属菌の感染機序に関する研究

マウス腸管ループ二重結紮試験法およびマウス経口投与によるブルセラ菌の感染実験を行った。いずれの方法でも、*B. abortus* 投与では、プリオンノックアウトマウスでは野生型マウスと比較して、パイエル板、脾臓、腸管膜リンパ節における CFU 値が低かった。一方、*B. suis*

ではそのような傾向は認められなかった。[今岡浩一、木村昌伸、鈴木道雄、山田章雄（感染研・獣医科学部）、飛梅実（感染研・感染病理部）、阿戸学（感染研・免疫部）、中藤学、長谷耕二、大野博司（理化学研究所）]

4. カプトサイトファーガ属菌に関する疫学的調査・研究

(1) カプトサイトファーガ属菌はイヌやネコの口腔内に常在するグラム陰性桿菌である。特に *Capnocytophaga canimorsus* が臨床的に重要で、ヒトがイヌやネコに咬傷・掻傷（以下、咬掻傷）を受けた際に傷口から感染する。その患者発生状況が不明な点から、継続して国内症例報告を医中誌、各種学会抄録集などを検索し調査した。その結果、1993年以降、22例（イヌ咬傷12例、ネコ咬傷7例、不明3例）を把握し、うち7例が死亡症例（イヌ咬傷2例、ネコ咬傷4例、不明1例）であった。また、今年度は、雑誌、新聞、テレビ、そして、厚生労働省からQ&Aとして、これまでの成果等、情報を広く提供した。その効果もあり、医療機関からも患者情報が寄せられるようになってきた。[鈴木道雄、木村昌伸、山田章雄、今岡浩一]

(2) イヌ・ネコだけでなく、近年、家屋内およびその周辺で多く見られ、有害鳥獣として問題になっているアライグマの同菌保有状況を検討した。その結果、イヌやネコが保有している *C. canimorsus* や *C. cynodegmi* の保菌は認められなかった。ただ、今のところ、その病原性やリスクは不明であるが、別の *Capnocytophaga* 属菌を保菌していることが明らかとなった。[今岡浩一、鈴木道雄（感染研・獣医科学部）、山本祥二、大塚宏美（大阪府家畜保健衛生所）]

5. 動物由来感染症のリスク分析

愛玩動物の中でも最も身近なイヌ、ネコの咬・掻傷事故における感染症のリスク分析を行うため、一般者（5万人）について大規模アンケート調査を実施した。イヌ・ネコ飼育状況、咬・掻傷事故の経験状況、発症状況、医療機関受診状況等を調査した。また、その際、カプトサイトファーガ症だけでなく、同じくイヌ・ネコから感染するパスツレラ症、ネコひっかき病を含めた計3疾患について、その認知度・罹患状況等を調査した。犬・猫咬・掻傷の実態については不明な点が多かったが、本調査により、多くの咬・掻傷事例が発生し、かつ感染症を発症していることが明らかとなった。カプトサイトファーガ属菌をはじめ、主な細菌感染症に対する認知はまだ不十分であり、なじみの深い犬・猫であっても飼育

する上で感染症のリスクがあることを認知してもらうことが必要である。[今岡浩一、東レリサーチセンター]

6. 狂犬病に関する研究

(1) 狂犬病の危機管理に関わる調査・研究

動物検疫所、自治体（狂犬病等動物由来感染症担当者）および狂犬病臨床研究会（臨床獣医師）の研究協力により、我が国および海外で報告されている輸入狂犬病事例や疑い事例への対応分析に基づく（1）海外からの侵入リスク調査、（2）公衆衛生リスク回避に必要な輸入狂犬病の摘発とサーベイランス、（3）発生シナリオとリスク検討、タイの赤十字研究所・狂犬病診断部との共同研究による狂犬病の臨床サーベイランスシステムの構築に必要な狂犬病臨床診断フロー（案）の検証、（4）狂犬病を発症したイヌ等の臨床診断が研修可能な映像資料の収集と分析、（5）脳検体の安全・簡便な採取方法の開発等を行った。[井上 智、野口 章、加来義浩、奥谷晶子、山田章雄（感染研・獣医科学部）、浦口宏二（北海道立衛生研究所）、深瀬 徹（明治薬科大学）、佐藤克（狂犬病臨床研究会）、村山悠子（さいたま市動物愛護ふれあいセンター）、宗村佳子（東京都動物愛護相談センター）、矢野さやか（徳島県保健福祉部生活衛生課）、児玉晋治（網走保健所）、白井和也（新潟県福祉保健部生活衛生課）、辻沢雅人（新潟市保健所）、田原研司（島根県健康福祉部薬事衛生課）、来待幹夫（島根県隠岐支庁隠岐保健所）、拓植 康（愛知県動物保護管理センター）、伊藤 雅（愛知県衛生研究所）、増田真人（農林水産省動物検疫所）、Tepsumethanon V.（タイ赤十字記念病院・狂犬病診断部）]

(2) 侵入・不許可動物等の生態学的リスク評価と管理に関する研究

不法上陸犬や輸入コンテナ貨物等に迷入した動物による感染症リスクについて動物生態学的視点から解析を行った。北海道には本州以南よりも多数のキツネが生息しており港湾区域にアクセスしうる環境であることが示された。過去に不法上陸犬事例があり周辺に野生動物生息可能な港として舞鶴港を選定し環境調査と港湾事務所等への聞き取りを行ったところ、キツネ同様狂犬病を媒介するタヌキやアライグマが周辺に多数生息しており、外国船からの不法上陸犬がこれら野生動物と接触するリスクの検討が必要と考えられた。[浦口宏二（北海道立衛生研究所）、工藤由美子（留萌振興局保健環境部保健福祉室）、関谷紀幸（宗谷総合振興局保健環境部保健福祉室）、竹下日出夫（オホーツク総合振興局保健環境部紋別地域保健室）、児玉晋治（オホーツク総合振興局保健環境部保健福

祉室)、梅澤めぐみ(根室振興局保健環境部保健福祉室)、深瀬 徹(明治薬科大学)、井上 智(感染研・獣医科学部)]

(3) 動物由来感染症の感染源動物モニタリング手法に関する研究

狂犬病など人獣共通感染症の潜在的媒介者となりうる野生哺乳動物のリスク評価手法として自動撮影によるモニタリング手法の検討を行いキツネ・タヌキ・アライグマなどの野生哺乳類の生息状況把握に極めて有効であることを明らかにした。調査努力量と結果の安定性、時期による動物活動性の影響考慮、データ蓄積、理論面での検討が残されているが、手法を統一し観測をネットワーク化すれば、広域的な密度分布や分布域の変化も把握できる可能性が示唆された。[浦口宏二(北海道立衛生研究所)、平川浩文(森林総合研究所北海道支所)、深瀬 徹(明治薬科大学)、井上 智(感染研・獣医科学部)]

(4) アジアの研究機関との連携による狂犬病のラボラトリーネットワーク強化に関する研究

平成 22 年度は、RITM、NIHE、China CDC に NIH/KCDC の狂犬病専門家を加えて連携ネットワークの拡大強化を行い、前年度までに確立した遺伝子および抗原検査系と分子疫学等の成果・技術の評価と見直し、課題点の補強、連携研究の方向性等について国立感染症研究所(NIID)で連携機関の担当者を招聘して実技を交えた議論と研修を行った。また、実験的に狂犬病ウイルス(CVS-11株)感染マウスの脊髄で遺伝子の発現低下を示す遺伝子群

(神経疾患関連遺伝、GABA 関連遺伝子、イオンチャネル関連遺伝子)を見いだした。[井上 智、野口 章、杉浦尚子、宇田晶彦、Bazartseren B.、佐藤 豪、加来義浩、奥谷晶子、山田章雄(感染研・獣医科学部)、朴 天鎬、小嶋大亮(北里大学)、黒田 誠、関塚剛史(感染研・病原体ゲノム解析研究センター)、飛梅 実(感染研・感染病理部)、阿戸 学(感染研・免疫部)、井上謙一、(京都大学・霊長類研究所)、Demetria C.、Manalo D. L.、Quiambao B. (RITM)、Nguyen T. K. A.、Nguyen D. V.、Ngo G. C. (NIHE)、Tang Q. (China CDC)、Han M. G. (NIH/KCDCP)]

(5) 海外からの侵入が危惧される野生動物媒介性の狂犬病に関する研究

近隣諸国での狂犬病流行拡大は日本への狂犬病侵入リスク増大につながるため、海外研究協力者と共同してユーラシア大陸を中心とした野生獣の狂犬病(リッサウイルス感染症を含む)について流行状況把握、疫学調査、流行様式解明等について調査研究を行った。今年度は、

モンゴルの現地専門家の協力を得て流行している狂犬病ウイルス(RABV)の遺伝学的多様性について解析を行い、モンゴルで流行している RABV が 2 つの遺伝子グループに分けられ、それぞれがロシアで分離される RABV

(Steppe 型と Arctic 型) に近縁であることを明らかにした。モンゴル国境沿いのロシア地域では新しいコウモリ由来のリッサウイルスが発見されており、国境を越えた野生動物での流行拡大リスク等について調査の必要性が示唆された。[井上 智、Bazartseren B.、野口 章、加来義浩、奥谷晶子、杉浦尚子、山田章雄(感染研・獣医科学部)、小滝 徹(感染研・ウイルス一部)、Tuya N.、Dulam P.、Batchuluun D. (モンゴル中央獣医研究所)]

(6) 狂犬病の感受性動物の生態把握に関する調査研究

わが国で行われている狂犬病予防は、厚生労働省「衛生行政報告例」によって統計把握されている予防注射頭数、及び、登録犬数に基づいて行われているが、飼育犬頭数の総数を公的統計で把握したものはない。今回、飼育犬頭数の統計にしばしば引用される「全国犬・猫飼育実態調査(一般社団法人ペットフード協会)」に基づく「現在飼育頭数(拡大推計値)」について評価を行い、飼育犬頭数の推計精度を向上させるために(1) 補助変数(世帯総数)に国勢調査の一般世帯を利用し、沖縄県、20 歳未満、70 歳以上のみで構成される世帯を考慮すること、(2) 1 世帯あたりの平均飼育頭数に補正の必要性は少ないがバイアスの動向等に関する検証継続が必要であることを示した。推計方法の種々不確実要素は改善可能と考えられ、検討の継続が必要であり、政府統計において大規模な無作為抽出標本調査による飼育犬頭数実態把握の実施が望まれた。[石井 太(国立社会保障・人口問題研究所)、井上 智(感染研・獣医科学部)]

(7) 狂犬病の中和抗体価測定法に関する研究

RFFIT 法は WHO で推奨されている狂犬病の中和抗体測定法の一つであるが、標準血清の入手が困難であり、かつ、アジアにおいては本測定法の標準化が進んでいない。そこで、中国 CDC・狂犬病研究部の検査担当官を NIID に招聘して両機関で行っている検査手技の詳細・相違点と保存標準血清の力価検証について一緒に直接比較検討を行った。これにより、各実験室の課題点について情報共有と解決策の提案が容易となり、検査手技等の相互検証と標準血清の評価を定期的に連携して行うことの有意性を確認した。[野口 章、井上 智(感染研・獣医科学部)、Pengcheng Y.、Tang Q. (中国 CDC)]

(8) single chain variable fragment (scFv) と Direct,

rapid immunohistochemical test (DRIT) 法による狂犬病ウイルス (RABV) 抗原検出法の開発

Direct, rapid immunohistochemical test (DRIT) 法は、測定が簡便で、高価な蛍光顕微鏡を必要としない RABV 抗原検出法として近年注目されている。そこで、RABV 蛋白質を特異的に認識する single chain variable fragment (scFv) を DRIT の検出抗体として利用し、有効性と課題点を検討した。RABV-N, P 蛋白質を特異的に認識する scFv をビオチン標識し、RABV 感染マウス脳の塗抹標本に反応させたところ全ての scFv はウイルス蛋白質を特異的に認識することができた。しかし、検出された抗原密度は、陽性対照として用いたビオチン標識ポリクローナル抗体よりも低く感度と特異性について改良の必要性が示された。[加来義浩、野口 章、杉浦尚子、山田章雄、井上 智 (感染研・獣医科学部)]

(9) 狂犬病ウイルス (RABV) 遺伝子検出系に使用する陽性対照 RNA を産生する細胞の作出

現在、遺伝子検出系の陽性対照に合成 RNA を準備しているが、合成 RNA は RNase にさらされやすく長期保存や地方衛研への移送時に分解しやすいリスクがある。この課題を解決するために、陽性対照 RNA をもつ疑似ウイルス粒子の作出を検討した。今年度は、RABV ゲノム両端の Leader 配列と Trailer 配列間に陽性対照 RNA 配列を挿入したプラスミドを作出して RABV 蛋白質を発現するマウス神経芽腫細胞内に導入し、RT-PCR により陽性対照 RNA の増幅を確認した。現在、疑似ウイルス粒子の生産効率を上げるため陽性対照 RNA 配列の再検討を行っている。[加来義浩、野口 章、杉浦尚子、井上 智 (感染研・獣医科学部)、井上謙一 (京大・霊長研)]

(10) 狂犬病ウイルス (RABV) 固定毒 CVS-26 株の reverse genetics 系の作出

狂犬病ウイルス (RABV) 固定毒 CVS-26 株 (米国 CDC 由来) の全ゲノム配列を特定して、狂犬病ウイルス (RABV) の reverse genetics 系を作出した。[井上謙一 (京大・霊長研)、佐藤こずえ (長崎大・熱帯研)、加来義浩、杉浦尚子、濱本紀子、野口 章、井上 智 (感染研・獣医科学部)]

7. 炭疽に関する研究

(1) モンゴル国内分離株の分子遺伝学的解析

モンゴル国内で分離された動物および土壌由来の炭疽菌について Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) による分子疫学的解析を行ったところ、病原性プラスミド由来のタンデムリピートでは多型性がみられたが、解析の主体であるゲノム由来タン

デムリピートにおいていずれも遺伝的に近縁であり、アジア由来の炭疽菌株と同じクラスター (A3) に分類されることが明らかとなった。[奥谷晶子、Bazartseren B.、井上 智 (感染研・獣医科学部)、Tungalag H.、Tserennorov D.、Otgonchimeg I.、Erdenebat A.、Otgonbaatar D. (モンゴル・国立生態系感染症センター)]

(2) ベトナムの炭疽発生地域における患者・環境等感染源を利用した炭疽診断と分子疫学的解析に関する研究
ベトナムの国立衛生疫学研究所 (NIHE) との共同研究によって、炭疽の高頻度発生地区であるラオカイ (Lào Cai, 老街) 省、ハザン (Hà Giang, 河江) 省、ディエンビエン (Điện Biên, 奠邊) 省、ライチャウ (Lai Châu, 萊州) 省で医療センターと獣医系機関との連携を確立し、実際の炭疽発生事例からヒト・動物・環境検体から菌の分離と同定を行って、炭疽を発症した患者および感染源となった環境等検体を利用した菌体の分離・同定法を確立した。[Hoang T. T. H.、Anh D. D. (ベトナム・国立衛生疫学研究所)、奥谷晶子、井上 智 (感染研・獣医科学部)]

(3) 芽胞形成菌であるバチラス属 (炭疽菌等) の環境中 (土壌等) における分布と安定性に関する研究

芽胞形成菌である炭疽菌等バチラス属の環境中 (土壌等) における分布と安定性を明らかにするために、国内 (4 カ所) で採取した土壌を利用してバチラス属選択培地および羊血液寒天培地による菌分離・同定法の確立と、バチラス属および炭疽菌を含むバチラス・セレウスグループに特異性の高い PCR プライマーを使用した土壌抽出 DNA からの菌体遺伝子検出法の開発を行った。今後、野外の土壌採取地域を増やして実験室内で確立した分離・同定・検出法の検証を行いながら土壌中のバチラス属分布について解析を行う。[奥谷晶子、井上 智 (感染研・獣医科学部)]

(4) 病原性プラスミド上の遺伝子を欠失した炭疽菌変異株の電子顕微鏡による微細形態の比較解析

遺伝子欠失によって弱毒化した炭疽菌 (莢膜欠損株、防御抗原欠損株) の微細形態学的な特徴を走査および透過型電子顕微鏡で調べるために培養・固定等の至適条件について検討を行った。現在、変異株間で栄養型、莢膜型、芽胞について微細形態の比較解析を進めている。[奥谷晶子、井上 智 (感染研・獣医科学部)、佐多徹太郎 (感染研・感染病理部)]

(5) 炭疽菌の登録、保管、輸送、廃棄に関する一括管理システムの構築

炭疽菌は感染症法により二種病原体等に指定されており、バイオセキュリティ上の観点から、法に基づく厳重な保管管理が必要とされている。そこで、炭疽菌の管理に適した「病原体等の登録、保管、輸送、廃棄に関する一括管理システム」の構築をバイオセーフティ管理室と連携して行った。[奥谷晶子、井上 智（感染研・獣医科学部）、篠原克明（感染研・バイオセーフティ管理室）]

8. 野兎病に関する研究

(1) 日本分離野兎病菌株の薬剤感受性試験

野兎病菌 (*Francisella tularensis*) 日本分離株 34 株について E test により薬剤感受性を比較した。全株が penicillin G 耐性で、erythromycin、ciprofloxacin、gentamycin および doxycycline に高い感受性を示した。cefotaxime (CT) および imipenem (IP) に対する感受性は株間で異なり、CT および IP 感受性 (14 株)、CT 耐性 IP 感受性 (11 株)、CT および IP 耐性 (11 株) の 3 群に分けられた。P/C アーゼテスト (ニッスイ) にて全株がペニシリナーゼ陽性かつセファロスポリナーゼ陰性であった。薬剤感受性において日本分離株は既報の海外由来株と概ね同等であったが、CT などのセフェム系や IP などのカルバペネム系薬剤に対して感受性の株が多いと考えられた。[堀田明豊、棚林清、藤田修、山本美江、宇田晶彦、Neekun Sharma (岐阜大学連合大学院)]

(2) 野兎病菌リポ多糖体 (LPS) に対する免疫血清の作製

マウスは野兎病菌に高感受性で感染にて多くが斃死する。このため感染回復個体からの血清採取は困難である。一方、野外のノネズミは比較的耐性がありと考えられているが感染個体に遭遇することは極めて稀である。このため、擬似的な野兎病菌感染血清の作製を目的に、精製野兎病菌 LPS をマウス免疫した。日本分離野兎病菌由来の LPS10、50、100 または 200 μ g 懸濁液と等量の titer max を混合し免疫した。ブースターとして全採血 3 日前に蛋白質量 100 μ g の野兎病菌不活化全菌体を接種した。2 週おきに免疫した結果、12 週後に精製 LPS100 または 200 μ g を免疫した個体に抗体価上昇が認められ、高い抗体価の血清を得た。[堀田明豊、棚林清、藤田修、山本美江、宇田晶彦、Neekun Sharma (岐阜大学連合大学院)]

(3) 野兎病菌感染宿主における病原性と感染細胞の差異

野兎病菌は哺乳類における高い増殖性と病原性を示す細胞内寄生性の細菌である。本研究では、野兎病菌の高い増殖機序を解明する為、野兎病菌感染宿主における

病原性と感染細胞の差異について検討を行った。病原性の異なる 2 種類の株をマウスに経鼻接種後、経時的に肺における感染細胞を解析した結果、強毒性株は主に CD4⁻CD8a⁻CD11c⁻CD45⁺CD205^{low}F4/80^{low}IL1⁻IFNg⁺ 細胞に感染するのに対し、弱毒性株は CD4⁻CD8a⁻CD11c⁻CD45⁻CD205^{low}F4/80^{low}IL1⁻IFNg⁺ 細胞に感染する事が明らかとなった。今後、感染細胞と病原性の関連性について更に検討を行う。[宇田晶彦、藤田修、堀田明豊、棚林清、山田章雄]

(4) パルスフィールドゲル電気泳動法を用いた野兎病菌種および亜種間の鑑別に関する研究

我々が確立した野兎病菌パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法の有用性を検証する目的で、保有する *Francisella* 属菌 3 種計 56 株を検討した。その結果、昨年度明らかにした PFGE 法に有用な 7 種制限酵素のうち 2 種を用いる事で、国内外由来の *Francisella* 属菌の種間、野兎病菌の亜種間、さらに *F. tularensis* subsp. *holarctica* の国内分離株と海外由来株の鑑別が可能であった。しかし、クラスター解析により各クラスター内の菌株の分離場所、分離年、分離宿主、薬剤感受性、繰り返し遺伝子配列、生化学的性状等の関連性は見出されなかった。

[藤田 修、宇田晶彦、堀田明豊、山本美江、棚林 清]

(5) 野兎病菌におけるグリセロール分解能の簡易検査法の確立

野兎病菌の亜種間 (*Francisella tularensis* subsp. *tularensis* と subsp. *holarctica*) の鑑別点の一つとしてグリセロール分解能の有無があげられる。一般的に海外の subsp. *holarctica* はグリセロール分解能が無いが、国内分離株にはグリセロール分解能を有する subsp. *holarctica* が存在する事が知られている。しかしこれまでの検査法は複雑であり、また簡便な検査キットは高額である。今回我々は簡便な野兎病菌のグリセロール分解能を調べる簡易検査法を開発した。この方法を用いて国内分離株を検討した結果、国内にグリセロール分解能を有する株が存在する事が再確認され、さらにグリセロール分解能が非常に弱い菌株でも検出可能となった。

[藤田 修、宇田晶彦、堀田明豊、山本美江、棚林 清]

9. 鳥インフルエンザに関する研究

鳥由来インフルエンザウイルスの検体輸送培地中での生残性

検体輸送用培地中でのウイルスの生残性を調べるために、組織培養用培地 (MEM)、生理食塩水および市販のユニバーサルバイラルトランスポート培地に鳥類由来

H5N1 亜型ウイルス 2 株と H1N3 亜型ウイルス 1 株ならびにヒト由来 H1N1 亜型ウイルスを添加し冷蔵 (4℃) と室温 (20℃) で保管し感染価を測定した。さらに、ニワトリ糞便を混入した場合についてもその生残性を調べた。冷蔵での感染価の低下は少なかったが、室温保存の MEM 培地では他の培地より低下した。また、糞便の混入、室温保存では感染価の低下が速かった。[山本美江、堀田明豊、藤田修、宇田晶彦、棚林清]

国際協力

(1) ベトナム国立衛生疫学研究所 (NIHE) 能力強化計画プロジェクト (JICA) への協力

ベトナム NIHE において、短期派遣専門家として JICA 支援で建設された BSL3 実験室で使用する P3 病原体 (結核菌、炭疽菌、狂犬病ウイルス、リケッチア、インフルエンザ) のバイオセーフティ/基準微生物実験技術にかかわる GMT の整備・強化について NIHE と国立感染症研究所 (NIID) の各病原体専門家と情報共有、意見交換、NIHE バイオセーフティ部が作成中のバイオセーフティ教育・研修用 DVD への助言、実験室での病原体取扱いにおける課題等について支援・提言を行った。[篠原克明 (感染研・バイオセーフティ管理室)、影山 勉 (感染研・インフルエンザウイルス研究センター)、大野秀明 (感染研・生物活性物質部)、安藤秀二 (感染研・ウイルス一部)、長谷川秀樹 (感染研・感染病理部)、井上 智、奥谷晶子 (感染研・獣医科学部)]

(2) 狂犬病の遺伝子・抗原検査系に係る研修

狂犬病のラボラトリーネットワーク構築で連携している中国 CDC (Pengcheng Y.), ベトナム NIHE (Nguyen T. K. A.), フィリピン RITM (Manalo D. L.) の狂犬病専門家を招聘して国立感染症研究所で研修と研究打ち合わせを行った。[野口 章、加来義浩、井上 智 (感染研・獣医科学部)、飛梅 実 (感染研・感染病理部)、阿戸 学 (感染研・免疫部)]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Nomura, A., Imaoka, K., Imanishi, H., Shimizu, H., Nagura, F., Maeda, K., Tomino, T., Fujita, Y., Kimura, M. and Stein, G. H. Human *Brucella canis* infection diagnosed by blood culture. *Emerg. Inf. Dis.*, 16(7):1183-1185, 2010

2) Inoue S., Boldbaatar B., Sugiura N., Noguchi A., and Park C.-H. (2010) 10 Rabies. In: *Animal Viruses* (Maeda A., ed.). Transworld Research Network. p143-153.

3) Hatano B., Maki T., Obara T., Fukumoto H., Hagsiwa K., Matsushita Y., Okutani A., Bazartseren B., Inoue S., Sata T., and Katano H. (2010) LAMP Using a Disposable Pocket Warmer for Anthrax Detection, a Highly Mobile and Reliable Method for Anti-Bioterrorism. *Jpn.J.Infect.Dis.* 63:36-40.

4) Okutani A., Sekizuka T., Bazartseren B., Yamada A., Kuroda M., and Inoue S. (2010) Phylogenetic typing of *Bacillus anthracis* isolated in Japan by multiple locus variable-number tandem repeats and the comprehensive single nucleotide polymorphism. *J.Vet.Med.Sci.* 72:93-97.

5) Kojima D., Park C.-H., Tsujikawa S., Kohara K., Hatai H., Oyamada T., Noguchi A., and Inoue S. (2010) Lesions of the Central Nervous System Induced by Intracerebral Inoculation of BALB/c Mice with Rabies Virus (CVS-11). *J.Vet.Med.Sci.* 72: 1011-1016.

6) Serizawa M., Sekizuka T., Okutani A., Banno S., Sata T., Inoue S., Kuroda M. (2010) Genome-wide screening for novel genetic variations associated with ciprofloxacin resistance in *Bacillus anthracis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 54:2787-2792.

7) Kuroda M., Serizawa M., Okutani A., Sekizuka T., Banno S., and Inoue S. (2010) Genome-Wide Single Nucleotide Polymorphism Typing Method for Identification of *Bacillus anthracis* Species and Strains among *B. cereus* Group Species. *J. Clin. Microbiol.* 48: 2821-2829.

8) Bazartseren B., Inoue S., Tuya N., Dulam P., Batchuluun D., Sugiura N., Okutani A., Kaku Y., Noguchi A., Kotaki A., and Yamada A. (2010) Molecular Epidemiology of Rabies Virus in Mongolia, 2005-2008. *Jpn.J.Infect.Dis.* 63: 358-363.

9) Inoue K., Kabeya H., Fujita H., Makino T., Asano M., Inoue S., Inokuma H., Nogami S., and Maruyama S. (2010) Serological Survey of Five Zoonoses, Scrub Typhus, Japanese Spotted Fever, Tularemia, Lyme Disease, and Q Fever, in Feral Raccoons (*Procyon lotor*) in Japan. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 10: 1-5.

10) Nguyen T.K.A., Nguyen vinh D., Ngo C.G., Nguyen van D., Nguyen T.T.H., Pham Q.B., Inoue S., Yamada A., Dinh K.X., Nguyen T.H.H., Nguyen T.H. (2010) Characterization nucleoprotein of isolated rabies virus in Vietnam 2006-2009", *Journal of Preventive Medicine, Vietnam*. Volume XX, 6:164 - 170.

2. 和文発表

- 1) 古谷明子, 吉田里美, 久保綾, 山下麻衣子, 伊藤達章, 鈴木道雄, 今岡浩一, 大楠清文. 自動血液培養で陽性シグナルを呈しなかった *Capnocytophaga canimorsus* による敗血症の一症例. 日本臨床微生物学雑誌, 20(3):182-187, 2010
- 2) 今岡浩一, 木村昌伸. ラットとストレプトバチルス感染症. in : アニテックス, 研成社, 22(3): 47-49, 2010
- 3) 今岡浩一. 犬を飼うときに気をつけたい感染症. in : チャイルドヘルス, 診断と治療社, 13(8): 567-570, 2010
- 4) 今岡浩一, 鈴木道雄. *Capnocytophaga canimorsus* 感染症. in : アニテックス, 研成社, 22(11): 23-25, 2010
- 5) 鈴木道雄, 今岡浩一. *Capnocytophaga canimorsus* による人獣共通感染症. in : 皮膚病診療, 丸善, 32(12): 1345-1351, 2010
- 6) 朴 天鎬, 中西 中, 畑井 仁, 小山田敏文, 佐藤久聡, 進藤順治, 藤田 修, 堀田明豊, 井上 智, 棚林 清. 野兎病菌に自然感染したトウホクノウサギ (*Lepus brachyurus angustidens*) の症例 - 野生動物の病理解剖の意義と感染リスク -. 特集 人と動物の共通感染症最前線 7. 獣医畜産新報 (JVM) , 63:197-200, 2010
- 7) 井上 智. 話題の感染症 狂犬病 (Rabies) 。モダンメディア別冊, 56:25-31, 2010
- 8) 井上 智. リッサウイルス感染症. 感染症法改正 (2003) で追加された感染症。<新4類>。25 感染症. 健康生活の基礎知識. 六訂版 家庭医学大全科. 総合監修: 高久史麿, 猿田享男, 北村惣一郎, 福井次矢. 法研, p2542-2543, 2010

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

- 1) Sato G., Inoue S., Yamada A., Ito F.-H., Silva M. L.-C.-R , Itou T., Sakai T. The rabies viral RNA genomes selectively shifted in quasispecies population after serial passages of street virus in mouse. 44th joint working conferece on viral diseases. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 28-30 June, 2010. Sapporo, Japan.
- 2) Tanabayashi, K., Uda, A., Sekizuka, T., Fujita, O., Kuroda, M., Hotta, A., Yamamoto, Y., Sugiura, N., Yamada, A. pdpC gene determines the virulence of *Francisella tularensis*. 1st International One Health Congress. 14-16 February, 2011. Melbourne, Australia

2. 国内学会

- 1) 木村昌伸, 今岡浩一, 鈴木道雄, 山田章雄. イヌブルセラ病抗体検査法の評価. 第 150 回日本獣医学会学術集会, 帯広, 2010 年 9 月

- 2) 鈴木道雄, 木村昌伸, 今岡浩一, 山田章雄. *Capnocytophaga canimorsus* 臨床分離株およびイヌ・ネコ口腔内分離株の性状. 第 150 回日本獣医学会学術集会, 帯広, 2010 年 9 月
- 3) 泉田さゆり, 峯田有美子, 浅井蓉子, 長原正静, 今岡浩一. *Brucella melitemsis* による腸腰筋膿瘍の 1 症例. 第 22 回日本臨床微生物学会総会, 岡山, 2011 年 1 月
- 4) 今岡浩一, 木村昌伸, 鈴木道雄. 犬・猫咬傷・搔傷発生状況と由来感染症に関するアンケート調査. 第 151 回日本獣医学会学術集会, 東京, 2011 年 3 月
- 5) 黒田誠, 芹澤昌邦, 関塚剛史, 奥谷晶子, 坂野聡美, 井上 智. 全ゲノム解読による炭疽菌・キノロン耐性領域の探索. 第 83 回日本細菌学会総会, 2010 年 3 月, パシフィコ横浜, 神奈川県
- 6) 坂野聡美, 奥谷晶子, 井上 智, 黒田 誠. 炭疽菌病原プラスミドにコードされる分泌タンパク質の培養細胞への影響. 第 83 回日本細菌学会総会, 2010 年 3 月, パシフィコ横浜, 神奈川県
- 7) 加来義浩, 野口 章, 奥谷晶子, 堀田こずえ, 福士秀悦, 井上 智, 山田章雄. 分泌型アルカリフォスファターゼ発現 VSV シュードタイプを利用したニパウイルス中和試験法の確立. 第 150 回日本獣医学会学術集会, 2010 年 9 月, 帯広畜産大学, 北海道
- 8) 杉浦尚子, 宇田晶彦, 小嶋大亮, 野口 章, 奥谷晶子, 加来義浩, 朴 天鎬, 山田章雄, 井上 智. 狂犬病ウイルス (CVS-11) の末梢感染により麻痺症状を示した C57BL/6J マウスの中枢神経組織における宿主遺伝子のマイクロアレイ解析. 第 150 回日本獣医学会学術集会, 2010 年 9 月, 帯広畜産大学, 北海道
- 9) 小嶋大亮, 朴 天鎬, 石田 誠, 小原慶子, 井上謙一, 畑井 仁, 小山田敏文, 野口 章, 井上 智. Macaque 属サル脳の脳に関する病理学的研究. 第 150 回日本獣医学会学術集会, 2010 年 9 月, 帯広畜産大学, 北海道
- 10) 佐藤 豪, 井上 智, Ito Fumio, Silva Maria, 伊藤琢也, 酒井健夫, 山田章雄. マウスを用いた継代で見られたブラジル狂犬病ウイルスゲノムの選択. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 2010 年 11 月, 徳島県郷土文化会館, 徳島県
- 11) 加来義浩, 野口 章, 奥谷晶子, 堀田こずえ, 福祉秀悦, 井上 智, 山田章雄. 分泌型アルカリフォスファターゼ発現 VSV シュードタイプを利用したニパウイルス多検体中和試験法の確立. 第 58 回 日本ウイルス学会学術集会, 2010 年 11 月, 徳島県郷土文化会館, 徳島県
- 12) 杉浦尚子, 宇田晶彦, 小嶋大亮, 野口 章, 奥谷晶子, 加来義浩, 朴 天鎬, 山田章雄, 井上 智. 狂犬病ウイルス (CVS-11 株) を末梢感染させた C57BL/6J マウ

スの脳脊髄における免疫関連遺伝子のマイクロアレイ解析。第 58 回 日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月、徳島県郷土文化会館、徳島県

13) 藤田 修、宇田 晶彦、棚林 清、堀田 明豊、山本 美江、山田 章雄。インフルエンザ A ウイルス RNA 増幅法についての検討。第 150 回日本獣医学会学術集会、2011 年 9 月、帯広

14) 宇田 晶彦、棚林 清、藤田 修、堀田 明豊、山本 美江、山田 章雄。病原体検出用マイクロアレイの開発。第 150 回日本獣医学会学術集会、2011 年 9 月（帯広）

15) 杉浦尚子、宇田晶彦、小嶋大亮、野口章、奥谷晶子、加来義浩、朴天鎬、山田章雄、井上智。狂犬病ウイルス (CVS-11) の末梢感染により麻痺症状を示した C57BL/6J マウスの中樞神経組織における宿主遺伝子のマイクロアレイ解析。第 150 回日本獣医学会学術集会、2011 年 9 月、帯広

16) 宇田晶彦、棚林清、永田典代、藤田修、堀田明豊、山本美江、山田章雄。SARS コロナウイルス感染 hACE2tg マウスの肺における初期宿主応答の解析。第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月、徳島

17) 岩田奈織子、永田典代、辻隆裕、長谷川秀樹、佐藤由子、横田恭子、宇田晶彦、水谷哲也、西條政幸、森川茂、佐多徹太郎。SARS-CoV 感染動物モデルを用いた UV 不活化 SARS-CoV の副反応について。第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月、徳島

18) 宇田晶彦、関塚剛史、藤田修、黒田誠、堀田明豊、山本美江、棚林清、山田章雄。Francisella tularensis subspecies tularensis SCHU 株の強毒性に関わる遺伝子の同定。BMB2010（第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会）2010 年 12 月、神戸

19) 堀田明豊、藤田修、Neekun Sharma、宇田晶彦、棚林清、山本美江、山田章雄。野兎病菌日本分離株の薬剤感受性。第 151 回日本獣医学会学術集会、2011 年 3 月、東京

3. セミナー・講演等

1) 今岡浩一。わが国における鼠咬症の現状について：特別講演。第 45 回ねずみ駆除協議会総会、東京、2010 年 7 月

2) 今岡浩一。カプノサイトファーガ感染症について：講演。平成 22 年度公衆衛生講習会（日本獣医師会委託事業・関東地区）、千葉、2010 年 8 月

3) 今岡浩一。カプノサイトファーガ・カニモルサス感染症について。厚生労働省平成 22 年度動物由来感染症対策（狂犬病予防を含む）技術研修会、東京、2010 年 10 月

4) 今岡浩一、鈴木道雄。カプノサイトファーガ症の現状：特別講演。第 10 回人と動物の共通感染症研究会学術集会、東京、2010 年 10 月

5) 鈴木道雄、今岡浩一。カプノサイトファーガ・カニモルサスの疫学。第 23 回地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会総会、宇都宮、2011 年 2 月

5) 井上 智。準量産型解剖手技モデル（犬解剖手技・骨切断モデル）を用いた実技演習。準量産型解剖手技モデル（犬解剖手技・骨切断モデル）の使用に関する技術講習会。2010 年 2 月 25 日、厚生労働省仮説会議室、東京都

6) 井上 智。他国における狂犬病の発生について。平成 21 年度 狂犬病予防業務担当者会議。厚生労働省健康局結核感染症課。2010 年 2 月 26 日、三田共用会議所、東京都

7) 井上 智。準量産型解剖手技モデル（犬解剖手技・骨切断モデル）の活用について。平成 21 年度 狂犬病予防業務担当者会議。厚生労働省健康局結核感染症課。2010 年 2 月 26 日、三田共用会議所、東京都

8) 井上 智。準量産型解剖手技モデル（犬解剖手技・骨切断モデル）を用いた実技演習。平成 21 年度 狂犬病予防業務担当者会議。厚生労働省健康局結核感染症課。2010 年 2 月 26 日、三田共用会議所、東京都

9) Inoue, S. Good microbiology Technique (GMT) in testing BSL3 infectious pathogen. Workshop on Biosafety and Achievements of JICA-NIHE Project. 22-23 June 2010, Hanoi, Vietnam.

10) 井上 智。狂犬病診断のための採材について。平成 22 年度 狂犬病予防業務担当者会議。厚生労働省健康局結核感染症課。2010 年 7 月 29 日、三田共用会議所、東京都

11) 井上 智。狂犬病について。神奈川県衛生獣医師会人獣共通感染症勉強会。厚生労働省健康局結核感染症課。2010 年 7 月 29 日、三田共用会議所、東京都

12) 井上 智。狂犬病の脅威と予防について。狂犬病予防・動物愛護関係市町村担当者研修会。愛知県健康福祉部健康担当局生活衛生課。2010 年 9 月 13 日、愛知県自治研修所、愛知県

13) 井上 智。狂犬病の概要と日本を取り巻く狂犬病事情。第 3 回 世界狂犬病デー (WRD) シンポジウム 2010 JAPAN。世界狂犬病デー実行委員会(狂犬病臨床研究会)。2010 年 9 月 28 日、国際文化会館、東京都

14) 井上 智。教育・特別講演 7-2：狂犬病の現状とその課題について。第 10 回 人と動物の共通感染症研究会学術集会。人と動物の共通感染症研究会。2010 年 10 月 30 日、日本大学会館・大講堂、東京都

- 15) 井上 智。人獣共通感染症について知る。動物総合管理1（動物と人の関係学 - 動物から人へのメッセージ）。知の市場。レギュラトリーサイエンス教育講座（WT221 シラバス（01 後期））。早稲田大学、規範科学総合研究所。2010年11月4日、早稲田大学、東京都
- 16) Inoue, S. Rabies in Japan. Rabies prevention and control conference in 2010. Animal Health Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan. 7-8 December 2010, Taipei, Taiwan.
- 17) 井上 智。今、話題の感染症（狂犬病の脅威）。食物科冬季集中講義（食物科専門科目：公衆衛生）。2010年12月24日、東京都立農業高等学校、東京都
- 18) 井上 智。我が国の狂犬病予防について（近隣アジア諸国における狂犬病の発生状況から）。平成22年度狂犬病予防注射業務関係者研修会。2011年1月14日、新潟県自治会館、新潟県
- 19) 井上 智。狂犬病について。平成22年度相模原市動物取扱者研修。2011年1月25日、相模原南市民ホール、相模原市、神奈川県
- 20) 井上 智。狂犬病について。平成22年度県・市町村狂犬病予防業務及び動物愛護管理業務担当者合同研修会。2011年1月28日、島根県松江合同庁舎、島根県
- 21) 井上 智。わが国の狂犬病対策（法律、防疫、発生時体制、技術）。狂犬病を考える～その現状と将来。平成22年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会。2011年2月11日、長良川国際会議場、岐阜県
- 22) 棚林 清：人獣共通感染症について（Zoonosis）。平成22年度獣医師高度技術研修事業。東京大学動物医療センター 2011年1月21日、東京

特許

簡便かつ迅速で安全なQ熱診断方法および診断薬 特許第4614313号（特願2004-184260、出願2004.6.22、登録2010.10.29）平井克哉、福士秀人、山口剛士、長縄崇、
○堀田明豊、小宮智義、荒井節夫