

## 12. 獣医科学部

### 部長 山田章雄

#### 概要

平成17年度は第4室が(独)医薬基盤研究所へ移管され、獣医科学部は3室体制で動物由来感染症に関する研究に特化することとなった。ヒトに感染する病原体の61%は動物由来感染症である。また感染症法で規定されている感染症の多くは動物由来感染症である。従って主要な動物由来感染症の病原体に関する研究は、診断法の確立をはじめとし他の研究部で精力的に行われているのが現状である。即ち動物由来感染症に特化したと言っても、実は獣医科学部に求められるところは不明瞭なままなのである。今後も獣医科学部の特色を見だし、独自の研究を展開する努力が求められている。平成16年総合科学技術会議の提唱を受けて、平成17年度科学技術振興調整費の新規プログラムとして「科学技術連携施策群の効果的・効率的な推進」が実施されることとなった。この中の新興感染症分野に当部も積極的に参画し、動物由来感染症を分野横断的に研究するという新たな方向性を展開しつつある。また、近年新興感染症の発生には野生動物が極めて重要な存在であることが認識されだした。感染研としても野生動物の有する動物由来感染症に関して、サーベイランスを強化する必要があると考えられ、これに資するための基礎的研究を獣医科学部がになうべきと考え、これまでの研究に加え、これらの視点からの研究の展開を指向している。一方で、Global Health Security Action Groupの主催するワークショップへの参加や、岐阜大学連合大学院との連携など、国内外との交流も推進している。

#### 業績 調査・研究

##### I. 動物由来感染症に関する研究

###### 1. 愛玩動物の衛生管理の徹底に関する研究

(1) 全国大学付属動物病院における愛玩動物由来感染症診療実態に関する調査

全国の大学動物病院16カ所に調査票を送付し、愛玩動

物由来感染症に関してアンケート調査を行った。このうち7カ所から回答が得られた。飼い主の動物由来感染症に関する認識度をたずねた調査では、愛玩動物からの感染を予防すべく心がけている飼い主(15-20%)に比べ、関心が低い飼い主の割合が高いこと(20-30%)、また動物由来感染症に関して全く関心を示さない飼い主もある(5-10%)ことから、教育・啓発の必要性が指摘された。今後、動物由来感染症対策を効果的に進めるために、専門機関(国、地方自治体、各動物病院等、獣医師、病院、医師など)の連携を保ち、広報、啓発、教育活動を行う必要性、および検査体制を充実させる必要性が指摘された。[神山恒夫、今岡浩一(感染研・獣医科学部)、岸本寿男(感染研・ウイルス第一部)、荒島康友(日大・医)、宇根有美(麻布大・獣医)、佐野文子(千葉大・真菌センター)、丸山総一(日大・生物資源)]

###### (2) 愛玩動物の衛生管理の徹底に関する啓蒙・広報活動

愛玩動物の飼い主や小動物臨床獣医師に対する意識調査の結果、飼い主のおよそ半数は衛生的な飼育を心がけていることが伺われた。しかし残りの約半数は動物由来感染症に関する認識程度にかかわらず、飼育の衛生状態は必ずしも十分ではないことが示された。また、愛玩動物から病気がうつる可能性があることについては70%以上の飼い主が認識しているものの、その予防法に関しては知識や情報が不足していることが示された。このような研究、調査の結果、広く都道府県担当者、保健所、医師、獣医師、ならびに愛玩動物飼育者に対して、種々の広報活動や資料の提供によって衛生管理の徹底を呼びかけ、動物由来感染症の発生を予防する取り組みが必要となると考えられた。そこで研究班のまとめとして「愛玩動物の衛生管理の徹底に関するガイドライン2006-愛玩動物由来感染症の予防のために-」を作成し、関係部署等に配布した。[神山恒夫、今岡浩一(感染研・獣医科学部)、岸本寿男(感染研・ウイルス第一部)、荒島康友(日大・医)、宇根有美(麻布大・獣医)、佐野文子(千葉大・真菌センター)、丸山総一(日大・生物資源)]

## 2. イヌブルセラ病の疫学的調査・研究

*Brucella canis* はイヌを自然宿主とし、流産や不妊等の原因となることが知られているが、まれにヒトにも感染することがある。そこで現在のイヌの感染状況を知るために *B. canis* に対する抗体検査をおこなった。イヌ血液は K 市動物愛護センターより入手した。また、17 年度は、民間の動物病院からもイヌ血液を入手し検査した。K 市では 158 頭中 2 頭 (1.3%) が陽性であった。動物病院の 104 頭は全て陰性であった。今回の K 市の陽性例 2 頭はペットとして飼育されていたと考えられた。現在も *B. canis* 感染が、国内のイヌに常在していることが確認された。健康な人では発症しないか、軽症のため感染に気づかない可能性もある。イヌだけではなく、ヒトにおける抗体調査も必要だと考えられる。[木村昌伸、今岡浩一、鈴木道雄、神山恒夫、山田章雄]

## 3. カブノサイトファーガ属菌およびパスツレラ属菌に関する疫学的調査・研究

イヌの口腔内に常在するカブノサイトファーガ属菌は、ヒトがイヌに咬まれた際に傷口から感染し種々の症状を呈し、発症した場合の死亡率は 30% 程度と比較的高い。日本国内におけるカブノサイトファーガ属菌のイヌでの保有状況について調査するため、K 市動物愛護センターより口腔内拭い液を入手し、遺伝子検査および菌分離を行った。平成 17 年 12 月までの調査の結果、215 検体中 205 検体 (約 95%) が遺伝子検査陽性であり、国内のイヌは同菌を高率に保有していた。このうち 51 検体から同菌を分離し、性状解析を行った。併せて、同様にイヌ咬傷による感染の原因となる *Pasteurella multocida* の遺伝子検査も実施した結果、215 検体中 54 検体が陽性であり、保有率は約 25% であった。[鈴木道雄、今岡浩一、木村昌伸、神山恒夫、山田章雄]

## 4. ペスト菌の検出と診断法の確立・応用

ペストは、齧歯類由来の重要な感染症で、生物テロの材料にも用いられ得る非常に危険度の高い疾患であるため、特異的迅速診断法の開発が必要とされている。ペスト菌遺伝子および 3 種類の病原性プラスミドを検出するための PCR、LightCycler を用いた Real-time PCR および LAMP 法を確立した。我々の開発した Real-time PCR を用いた診断システムを、平成 17 年度の世界健康安全保障行動グループ (GHSAG: Global Health Security Action Group) (参加国: G7, メキシコ, EU, WHO) 主催のペスト検査・研究室ネットワーク、専門家会議 (英国で開催) において紹介し、意見交換を行った。我々の確立したシステムは、その感度・特異性ともに有用な物であること

が示され、他国に新たな知見を与えた。[今岡浩一、神山恒夫、山田章雄]

## 5. 屋外および屋内ラットにおける鼠咬症原因菌の保有状況調査

鼠咬症原因菌の 1 つである *Streptobacillus moniliformis* は、ラットの口腔内から検出されるが、ラットによる咬傷や掻き傷および排泄物に汚染した水や食物の摂取によりヒトに感染することがある。昨年度に引き続き、国内野生ラット (ドブネズミおよびクマネズミ) の *S. moniliformis* 保有状況の調査を行い、さらに、実験用ラットおよびペット用に輸入された外国産齧歯目および食虫目についても調査をおこなった。その結果、実験用ラットおよびペット用輸入齧歯目および食虫目からは今回は検出されなかったが、屋内外の野生ラットでは、高率に保菌が確認された。また、*S. moniliformis* 検出のために、16S rRNA を標的とした PCR 法の開発を行っているが、今回、近縁の細菌に対しても増幅が起こるという不十分な点を改善し、より有効な検出方法を確立した。[木村昌伸、今岡浩一、鈴木道雄、神山恒夫 (感染研・獣医科学部)、小泉信夫 (感染研・細菌第一部)、谷川力 (イカリ消毒株式会社)]

## 6. 鳥類におけるウエストナイルウイルス検出および抗ウエストナイルウイルス抗体検出法の確立に関する研究

WNV の日本への侵入や、国内での流行の拡大には、野鳥の果たす役割も大きいと考えられる。そこで、鳥における WNV や WNV に対する抗体を検出する方法の確立を行った。

### (1) WNV 遺伝子検出法の確立に関する研究

ウイルス遺伝子検出のために、WNV は Poly Protein (WNV-PoPr)、Envelope (WNV-Env)、JEV は Envelope (JEV-Env)、共通の物として NS3 (WJ-NS3) に対する Primer を作製し、PCR の条件検討を行った。検出感度は、WNV-PoPr が 1-10、WNV-Env が 10、JEV-Env が 10、WJ-NS3 が 100 PFU/reaction であった。さらに WNV 検出用 Real-time PCR のために、3'NC、Envelope (WNV-3NC、WNV-EnvRT) に対する Primer と TaqMan Probe を作製した。その感度は、WNV-EnvRT が 0.1、WNV-3NC が 0.1-1 PFU/reaction であった。[今岡浩一、鈴木道雄、木村昌伸、山田章雄]

### (2) WNV に対する抗体検出法の確立に関する研究および保有状況の調査

鳥類における WNV および JEV に対する抗体を検討するために、ニワトリを免疫し陽性対照血清を作製した。

これらの血清を用いて PRNT を行ったところ、WNV で免疫したトリ血清では JEV との交差反応が認められた。

また、野生鳥類における WNV および JEV に対する中和抗体を PRNT で検討した。サンプルは渡り鳥（シギ、チドリ、ミヤマガラス）および留鳥（ナキアヒル、カラス、スズメ、ハト、ニワトリ）の血清を用いたが、中和抗体は検出されなかった。ろ紙に吸収させた渡り鳥（カモ類）血液サンプルについても検討したところ、2004 年度末までに回収した 29 サンプルのうち 1 サンプルで、WNV および JEV に対して抑制を示した。JEV など他のフラビウイルスに対する抗体も WNV と交差反応を示すこと、またサンプル中の非特異的な抑制物質による可能性もあることなどから、結果が本当に WNV に対する中和抗体や抗体の存在を示しているのか、それとも JEV に対する抗体の交差反応なのか、についてさらに結果の検証が必要と考えられた。[今岡浩一、鈴木道雄、木村昌伸、山田章雄]

## 7. 狂犬病に関する研究

### (1) 我が国の狂犬病対策に関わる現状と課題の調査

「我が国における狂犬病予防対策の有効性評価に関する研究（平成 16 年度厚生労働科学特別研究事業）」により発生時の対応マニュアル整備、国内の検査体制、現行の狂犬病予防法による対策等について危機管理的な課題が明らかにされた。そこで、地域における狂犬病のリスク調査と自治体の具体的な課題について知見を得るために国や自治体で開催されている狂犬病に関わる講習会、研修会を利用して自治体の狂犬病対策担当者（動物行政担当者、狂犬病予防員、動物管理センター職員、衛生研究所担当者等）と現状について具体的な情報・意見交換を行った。結果、自治体間で実態は異なるが、多くの自治体で関係部局間の連携がまだ十分ではなく、これまでに行われた狂犬病対策に関わる資料等の情報が関係者に伝達されていないことが明らかとなった。しかしながら、少数ではあるが狂犬病を中心に動物由来感染症対策に関心の高い自治体もあり、担当部局や担当者レベルで発生時の危機管理マニュアル、検査・診断体制等について積極的な対応を行っていた。意見交換では、狂犬病等の動物由来感染症に関わる国内外の関連情報や検査技術等を交換できる担当者会議の必要性が指摘された。担当者会議の開催は、地域における狂犬病等の動物由来感染症に関わるリスク要因の調査・研究にも有効であると考えられた。[井上 智、山田章雄]

(2) 数理統計手法を利用した狂犬病発生時の被害に関するモデル解析

数理統計の手法を応用して、狂犬病が侵入するリスク経路等の数理解析および狂犬病の発生時に予想される公衆衛生上の被害を数値化、視覚化するモデルを開発した。現在、開発したモデルの実効性と有効性を評価するためにモデル構築に必要なパラメーターの検証と我が国の狂犬病リスクを反映するモデルのシナリオ構築と実数値の調査を進めている。[大日康史（感染研・感染症情報）、新井 智（感染研・感染症情報）、佐藤 克（佐藤獣医科）、井上 智]

### (3) 狂犬病の疑われたイヌの臨床判断に関する研究

タイの赤十字研究所狂犬病診断部では、過去に経験した狂犬病陽性犬（実験室内診断により陽性と判定）の臨床症状を詳細に分析して狂犬病を発症したイヌの臨床的特徴の数値化による狂犬病診断プログラムの開発に成功している。そこで、国内で狂犬病を疑われたイヌの臨床判断への応用について検討をおこなった。今回は、平成 12 年度以降にタイの赤十字研究所の協力により記録した狂犬病陽性犬の画像を独自に分析して、タイで開発された診断プログラムが有効であることを確認した。現在、国内で狂犬病が疑われたもしくは類似症状を示すイヌについて診断プログラムの有効性と適用範囲について検証を行っている。[佐藤 克（佐藤獣医科）、井上 智]

### (4) 陽性対照鋳型 RNA 産生システムを利用した安全で簡易な狂犬病実験室内検査法の検討

生ウイルスを使用しない安全で再生産可能な陽性対照鋳型 RNA 産生システムを用いた狂犬病の遺伝子診断系について、自治体担当者との共同研究により現場での簡便かつ安全な使用方法について検討を行なった。作出した陽性対照鋳型 RNA および DNA を使用した遺伝子検出系は、現場でも使用可能であることが明らかとなった。また、陽性対照遺伝子の安定性と自治体への遺伝子配布形態については今後も現場での使用実績等の知見を加えて検討が必要と考えられた。[井上 智、野口 章、近平雅嗣（兵庫県立健康環境科学センター）、高橋朱美（岩手県環境保健研究センター）、堀元栄詞（富山県衛生研究所ウイルス部）、頓名昌宏（兵庫県動物愛護センター）、加来義浩、奥谷晶子、山田章雄]

### (5) 都内における犬の狂犬病中和抗体保有状況に関する研究

東京都動物愛護相談センターとの共同研究により、現行法（狂犬病予防法）における国内の狂犬病対策の重要な柱であるイヌの予防接種率に関する現状把握調査を行って来た。平成 14 年度から 17 年度の 4 年間にわたり

動物愛護センターで引き取りおよび捕獲・収容された523頭の犬の狂犬病中和抗体保有状況を調べた。狂犬病発症防御に有効とされている中和抗体価 0.5 IU/ml 以上を示す個体は、年度ごとに多少の変動はあるが、おおむね 56-61%であった。一方、ワクチン接種履歴を示す中和抗体価 0.1 IU/ml 以上はおおむね 66-70%であった。狂犬病の蔓延防止に WHO はワクチン接種率を 70-80%以上と推奨しているが、今回調査した引き取りおよび捕獲・収容犬ではこの値に達しておらず、現行法に基づく狂犬病対策の課題と考えられた。[野口 章、長谷川 徹(東京都動物愛護相談センター)、佐藤 克(佐藤獣医科)、山田章雄、井上 智]

#### (6) Real-time PCR 法による狂犬病ウイルス遺伝子高感度検出系の開発

狂犬病ウイルスの生前診断および病態解析を行うためには高感度なウイルス検出系が必要である。現在、Applied Biosystems 7500 Real-time PCR システムを利用して CVS11 株に対する高感度検出系の確立を行っている。今回、SYBR green 法による狂犬病の N 遺伝子、P 遺伝子、G 遺伝子検出および TaqMan probe 法による N 遺伝子検出を可能にした。現在、検出感度の検討と TaqMan probe 法による P および G 遺伝子検出について検討を行っている。[佐藤こずえ(岐阜連合大学院)、Boldbaatar Bazartseren(岐阜連合大学院)、野口 章、加来義浩、奥谷晶子、山田章雄、井上 智]

#### (7) 狂犬病ウイルス(RV)に対するモノクローナル抗体の作出

狂犬病ウイルスの検査、研究用資材としてモノクローナル抗体はきわめて有用である。現在、市販のモノクローナル抗体は高価であり、共同研究を進めているアジアの狂犬病流行国では十分な診断体制が確立できていない。そこで、アジアで流行している狂犬病ウイルスの検出および病原性解析に適したモノクローナル抗体の作出を行うことにした。これまでに N 蛋白、G 蛋白の部分蛋白に対する特異抗体がクローニングされており、現在その反応特性について解析を行っている。[加来義浩、野口 章、佐藤こずえ(岐阜連合大学院)、山田章雄、井上 智]

#### (8) ホルマリン固定材料における狂犬病ウイルス抗原(N、P、G)の検出比較

狂犬病ウイルスの感染した生体脳組織におけるウイルス抗原の発現形態を明らかにするために、作出したポリクローナルおよびモノクローナル抗-N抗体、抗-P抗体、抗-G抗体を使用して感染マウス脳における各ウイルス

抗原の染色性と分布について検討を行った。ウイルス抗原の検出は免疫組織抗体法で行った。脳組織における各ウイルス抗原の感染分布および神経細胞内の分布が使用した抗体によって異なることが明らかとなった。現在、各抗原分布の詳細についてウイルスの感染経過による比較と使用抗体の抗原認識特性について検討中である。[朴 天鎬(北里大・獣医)、野口 章、河合明彦(京大・薬学)、山田章雄、井上 智]

#### (9) フィリピンで流行している狂犬病ウイルス株の遺伝子解析

フィリピンで流行している狂犬病対策に必要な流行ウイルス株の分子疫学的解析について、フィリピン熱帯医学研究所(RITM)と共同研究を進めている。フィリピンで分離された狂犬病ウイルス2株についてN遺伝子全領域を RT-PCR 増幅後に塩基配列を決定した。既存のデータベースを利用して分離株のN遺伝子領域について世界各地の分離株間と系統樹解析を行った。結果、フィリピンで分離された2株は、フィリピン特有のクラスターに分類されることが確認出来た。現在、フィリピン国内で流行しているウイルス株の地域特異性について分子疫学的解析を進めている。[野口 章、Alan B. Calaor(RITM)、Jun R. Orbina(RITM)、Mary E. Miranda(WHO)、Remigio M. Olveda(RITM)、山田章雄、井上 智]

### 8. 炭疽菌に関する研究

#### (1) 炭疽菌の迅速遺伝子診断法の確立

Pyrosequencing 法を用いた炭疽菌の迅速塩基配列解読法を開発した。16S rRNA 変異領域(V1 および V3 領域)を診断の標的遺伝子とした。標的遺伝子に対する特異的プライマーを作成して PCR で当該領域を増幅後に pyrosequencing 法による real-time DNA sequencing を行った。PCR 反応を高感度かつ反応速度の高いポリメラーゼ(Takara Z-Taq)と pyrosequencing 法の併用によって、半日(およそ5時間)で炭疽菌の遺伝子診断および同定に必要な塩基配列の解読が可能となった。[奥谷晶子、野口 章、山田章雄、井上 智]

### 9. ヘニパウイルス感染症に関する研究

#### (1) ヘニパウイルス感染症の遺伝子検出系の導入

ニパウイルス(NiV)感染症、ヘンドラウイルス(HeV)感染症の原因ウイルスの PCR 遺伝子検出系を豪州家畜衛生研究所(AAHL)で使用実績のある primer および Taqman probe を用いて確立した。NiV の N 蛋白遺伝子全領域をクローニングしたプラスミド NiV-N-pCI-neo を鋳

型 DNA とし、realtime PCR と conventional PCR の反応性の比較を行ったところ、realtime PCR の方が約 10,000 倍高感度であった。使用した conventional PCR および Taqman PCR 用 primer、Taqman probe の塩基配列は野外 NiV 分離株の該当塩基配列と 0 ~ 3 塩基の違いがありへニパウイルス検出における今後の検討課題と考えられた。[加来義浩、井上 智、山田章雄]

#### 10. 狂犬病の行政検査に関する実績

(1) 平成17年6月24日付けで結核感染症課から検査依頼(成績:陰性)

概要:米軍獣医部から狂犬病疑いで収容されたネコ2頭について結核感染症課に狂犬病検査依頼がなされ、獣医科学部で狂犬病の検査を行った。疑いネコの捕獲時に海兵隊員1名が咬傷を受けたため現場の判断で暴露後の予防的ワクチン接種が行われた。検査は、沖縄県嘉手納基地内の獣医病院から送付されたネコの頭部脳組織について行った。当該ネコは、基地内のタイ国から寄港した船舶の積み荷作業中に発見された身元不明ネコ、1頭は死亡後に収容、1頭は衰弱しており神経症状を呈していた。[井上 智、野口 章、加来義浩、山田章雄]

(2) 平成18年2月14日付けで茨城県から検査依頼(成績:陰性)

概要:山間部でイヌの多頭飼育者が自身の所有する狂犬病予防注射未接種飼育犬によって咬傷を受けたのちに当該犬は流涎、口腔麻痺等の症状を示して2日後に死亡した。当該犬を検索した獣医師により、中毒と狂犬病が疑われて結核感染症課および茨城県に報告がなされた。死亡犬は、動物衛生研究所において病理解剖が行われた後に、摘出された脳組織が感染症研究所に搬送されて検査を感染研で行った。[井上 智、野口 章、加来義浩、山田章雄]

#### 11. 野兔病に関する研究

(1) 国内生息ノウサギにおける野兔病の血清疫学調査の試み

動物由来感染症である野兔病の起因菌、*Francisella tularensis* のヒトへの主な感染源は野生ノウサギであるが国内の野生ノウサギの感染状況は明らかでない。本研究では採血用濾紙を用いて、国内生息野生ノウサギの血液検体を収集し、抗 *F. tularensis* 抗体の検出を試みた。酵素抗体法にて31検体中2検体が有意な反応を示した。これら2検体はウエスタンブロット法においても *F. tularensis* 抗原に強く反応した。このことから検体ノウサギが過去に *F. tularensis* に感染した可能性が示唆された

が、さらに血液採取法や検出系を改良し、検体数や検査動物種を増やして調査する必要があると考えられた。

[堀田明豊、藤田 修、宇田晶彦、山本美江、棚林 清、山田章雄]

(2) 繰り返し塩基配列を用いた *F. tularensis* subsp. *holarctica* 日本分離株と海外由来株の鑑別について

野兔病菌(*Francisella tularensis*)の亜種あるいは型別に関して、ゲノム上に存在する繰り返し塩基配列(SSTR)の数で分類が行われている。報告された2領域の塩基配列を解析することで国内分離株と海外由来株との鑑別が可能となった。さらに、新たな2領域の塩基配列の解析を行った結果、日本国内株内をさらに詳細に鑑別することが可能となった。今後、国内で野兔病菌が検出された場合、これら4領域のPCR増幅サイズの比較および塩基配列解析をすることは、検出された菌の由来の同定に際し有用なツールとなりうることを示唆された。

[藤田 修、奥谷晶子、堀田明豊、井上 智、棚林 清、山田章雄]

(3) 病原体ゲノム検出のための核酸増幅法の基礎検討  
多種類の病原体を一括して検出するためのマイクロアレイ法への応用を考え、検体中に存在する病原体核酸を偏り無く増幅する核酸増幅法の基礎的検討を細菌DNAをモデルに実施した。DOP-PCRとPhi29DNAポリメラーゼにより10ngの*E. coli*および*F. tularensis*ゲノムDNAから1~3μg程度の増幅DNA断片が得られる事が確認され、これらの核酸増幅法によりウイルス等の微量な病原体が含まれる検体からも核酸増幅が可能で検出同定に応用できる可能性が示唆された。

[宇田晶彦、棚林 清、堀田明豊、藤田 修、山本美江、山田章雄]

#### 12. 鳥インフルエンザに関する研究

(1) ネコにおけるインフルエンザウイルスの感染機構の解析

ネコでの高病原性鳥インフルエンザウイルスの感染機構を明らかにすることを目的に、ネコ組織におけるインフルエンザウイルス受容体であるシアル酸分子の解析とネコ由来培養細胞でのウイルス増殖について検討した。鳥類由来インフルエンザウイルスが指向性のあるとされているα2-3結合シアル酸分子が気管繊毛上皮細胞に分布することが分かった。また、鳥類由来ウイルスがネコ由来培養細胞でも増殖することからネコが鳥類由来インフルエンザウイルスに感受性であることを支持している。さらにレクチンの反応条件や染色方法を検討するとともに

に他の組織における受容体の分布状況や各種動物細胞でのウイルス感受性を検討する必要があると考えられる。

[棚林 清、藤田 修、宇田晶彦、堀田明豊、山本美江、山田章雄]

## (2) 市販の人用インフルエンザ検査キットの鳥インフルエンザウイルスでの評価

各種市販の人用インフルエンザ検査キットを用いて鳥類由来 H5N1 亜型インフルエンザウイルスの検出を試みたところキットにより感度に差があることや人由来ウイルス株での検出感度に比較して低いことが分かった。また、検体処理液を添加するだけで反応できるキットの方が操作が容易であった。クロアカスワブを検査材料とした場合を想定して検体に糞を混入させ反応性を調べたところ、多くのキットで非特異的反応は無く、検出感度も保たれていた。今後、他の高病原性のウイルス株を含め複数の鳥類由来ウイルスでの検討やより高感度で簡易な検査法の開発が必要であると考えられた。

[山本美江、堀田明豊、宇田晶彦、藤田 修、棚林 清、山田章雄]

## 1.3. SARS コロナウイルスに関する研究

ヒト ACE2 発現トランスジェニックマウス組織への SARS-CoV 感染

SARS コロナウイルス(SARS-CoV)の感染モデル動物を開発するために、本ウイルスのレセプターであるヒトのアンギオテンシン変換酵素 2 (ACE2) を発現するトランスジェニックマウスの作出を試みている。目的遺伝子 DNA が導入されたマウスの SARS-CoV 感染の感受性を調べるために摘出肺および腎臓の初代培養細胞へのウイルス感染を試みた。いずれの細胞でもウイルス増殖がみられ、今後、本マウスにおける各種組織における ACE2 の発現状況の検索や個体でのウイルス感受性の検討をする必要がある。

[宇田晶彦、山本美江、棚林 清、藤田 修、堀田明豊、山田章雄]

## 発表業績一覧

### . 誌上発表

#### 1. 欧文発表

1 ) Miyachi S, Lu X, Inoue S, Iwasaki T, Koike S, Nambu A, Takada M. 2005. Organization of multisynaptic inputs from prefrontal cortex to primary motor cortex as revealed by retrograde transneuronal transport of rabies virus. *J Neurosci*. 25:2547-56.

2 ) Motoi Y., Sato K., Hatta H., Morimoto K., Inoue S. and Yamada A. 2005. Production of rabies neutralizing antibody in hen's eggs using a part of the G protein expressed in *Escherichia coli*. *Vaccine* 23:3026-3032.

3 ) Motoi Y., Inoue S., Hatta H., Sato K., Morimoto K. and Yamada A. 2005. Detection of Rabies-Specific Antigens by Egg Yolk Antibody (IgY) to the Recombinant Rabies Virus Proteins Produced in *Escherichia coli*. *Japan J Infect Dis* 58:115-118.

4 ) Morimoto K., Shoji Y., and Inoue S. 2005. Characterization of P gene-deficient rabies virus: Propagation, pathogenicity and antigenicity. *Virus Res*. 111:61-7.

5 ) Uda A., Tanabayashi K., Fujita O., Hotta A., Terao K. and Yamada A. Identification of the MHC class I B locus in cynomolgus monkeys. *Immunogenetics* 57: 189-197, 2005.

6 ) Okada H., Hirose Y., Manonmani P., Uda A., Ito M. and Sankai, T. Characterization of an immortalized oviduct cell line from the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *J Med Primatol* 34: 67-72, 2005.

7 ) Fujita O., Tatsumi M., Tanabayashi K. and Yamada A. Development of a real-time PCR assay for detection and quantification of *Francisella tularensis*. *Jpn J Infect Dis* 59: 46-51, 2006.

8 ) Sawabe K., Hoshino K., Isawa H., Sasaki T., Hayashi T., Tsuda Y., Kurahashi H., Tanabayashi K., Hotta A., Saito T., Yamada A. and Kobayashi M. Detection and isolation of highly pathogenic H5N1 avian influenza A viruses from blow flies collected in the vicinity of an infected poultry farm in Kyoto, Japan, 2004. *Am J Trop Med Hyg*, in press.

#### 2. 和文発表

1 ) 山田章雄：狂犬病は再び日本に上陸するか……リスク評価の重要性 *小動物臨床*, 136, 9-13. 2005

2 ) 山田章雄：SARS *東獣ジャーナル* 43 (2), 18-20, 2005.

3 ) 山田章雄：狂犬病 *東獣ジャーナル* 43 (2), 21-23, 2005

- 4) 山田章雄：高病原性トリインフルエンザ 東獣ジャーナル 43 (3), 12-16, 2005
- 5) 山田章雄：サル痘 東獣ジャーナル 43 (4), 14-17, 2005
- 6) 山田章雄：ペスト(プレーリードッグ) SA メディシン 7, 22-24, 2005.
- 7) 山田章雄：重症急性呼吸器症候群(イタチアナグマ、タヌキ、ハクビシン) SA メディシン 7, 25-27, 2005.
- 8) 山田章雄：動物由来感染症の現状 食品衛生研究 55, 29-33, 2005
- 9) 山田章雄：人とペットの健康的なつきあいかた 食と健康 49, 51-57, 2005
- 10) 山田章雄：動物由来感染症 ガイドライン外来診療 2006 日経メディカル開発
- 11) 山田章雄：野外活動における感染制御 小児科臨床 58, 12, 2411-2417 2005
- 12) 今岡浩一：輸入エキゾチックペットによる動物由来感染症. 病原微生物検出情報 26: 202-203, 2005.
- 13) 神山恒夫、鈴木道雄：動物由来感染症対策の3原則. 病原微生物検出情報 26: 198-200, 2005.
- 14) 神山恒夫：ペスト. in: 今日の治療指針 2006, 医学書院, 134-135, 2006.
- 15) 神山恒夫：ウイルス性人獣共通感染症. 日本臨床, 63:2076-2079, 2005.
- 16) 神山恒夫：野生動物と人獣共通感染症. からの科学, 242:67-71, 2005.
- 17) 神山恒夫, 高山直秀(編著): 子どもにうつる動物の病気. 真興交易出版, 東京, 2005.
- 18) 井上 智。狂犬病(犬) Rabies。特集 ブーノシス -届出の概要と診断のガイドライン-。小動物内科専門誌 (J.Small Animal Med.) 7:47-52, 2005.
- 19) 井上 智。狂犬病~日本とアジアをとりまく状況~。特集 日本が直面する狂犬病の脅威。MVM( Journal of Modern Veterinary Medicine )、82:6-10, 2005.
- 20) 井上 智。特集：ヒトと動物に共通の感染症-狂犬病。「ペットを加害者にしないために」。北海道新聞社：北海道百科 vol.4、99-100、2005.
- 21) 井上 智。世界における狂犬病の発生状況および狂犬病侵入のリスク。病原体微生物検出情報 26：12-14、2005.
- 22) 井上 智。狂犬病/動物に由来する感染症-ウイルス性疾患を中心に。企画：倉田 毅。生物の科学 遺伝：59、51-58、2005.
- 23) 井上 智。狂犬病：狂犬病発生時の行政機関対応マニュアル/特集 動物由来ウイルス感染症(-現状・課題・対策-)、臨床研究と展望。日本臨床：63、2180-2186、2005.
- 24) 棚林 清：野兔病. 感染症情報 WORLD FOCUS 71, 1-2, 2005.
- 25) 棚林 清：野兔病の発生状況や検査. 病原微生物検出情報 26: 206-207, 2005.
- 26) 澤邊京子、星野啓太、伊澤晴彦、佐々木年則、林利彦、津田良夫、倉橋 弘、棚林 清、堀田明豊、山田章雄、西藤岳彦、小淵正次、田代真人、小林睦生：2004年高病原性鳥インフルエンザ国内流行地で採集されたクロバエ類からの H5N1 亜型インフルエンザウイルスの検出と分離. 病原微生物検出情報 26: 119-121, 2005.
- 27) 棚林 清：バイオテロリズムへの対応：野兔病菌 (*Francisella tularensis*). 臨床と微生物 32: 603-608, 2005.

#### . 学 会 発 表

1. 国際学会
- 1) Inoue, S. Rabies in Asia: Zoonotic threat, problem, control and prevention. Session II: Viral Zoonoses. Pathogenesis and Etiology of Zoonoses causing Encephalitis and/or Encephalopathy. The 9th International Symposium for Zoonosis Control, 21 COE Hokkaido University, Hokkaido, 29 August, 2005.

2) Inoue, S. Laboratory diagnosis and surveillance of rabies in Japan. Session II: Zoonoses. Japan-Taiwan Symposium on Zoonotic Diseases. National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan, September 7-8, 2005.

3) Okutani A. Preparation of positive-control DNA template for an accurate genetic diagnosis of anthrax. Japan-Taiwan Symposium on Zoonotic Diseases. National Institute of Infectious Diseases, Tokyo. September 7-8, 2005.

4) Okutani A., Inoue, S., Noguchi, A., Kaku, Y., and Yamada, A. Preparation of positive-control DNA template for an accurate genetic diagnosis of anthrax. *Bacillus anthracis*, *B. cereus* and *B. thuringiensis* International Conference (Bacillus – ACT 2005). September 25-29, 2005. Santa Fe, NM, USA.

5) Park, C.H., Inoue, S., Kondo, M., Noguchi, A., Oyamada, T., Yoshikawa, H., and Yamada, A. The histopathogenesis of paralytic rabies in six-week-old C57BL/6J mice following inoculation of the CVS-11 strain into the right triceps surae muscle. The 2<sup>nd</sup> Asian Society of Veterinary Pathology Symposium & 2005 Annual Meeting of the Korean Society of Veterinary Pathology. 3-4 November, 2005. National Veterinary Research & Quarantine Service, Anyang city, Korea.

## 2. 国内学会

1) 椎名貴彦, 今野明弘, 大沼俊名, 北村浩, 今岡浩一, 竹田直樹, 戸所一雄, 森松正美. IkB タンパク質 MAIL 欠損マウスに認められたアトピー性皮膚炎様の病態. 第 52 回日本実験動物学会総会, 2005 年 5 月, 江戸川.

2) 木村昌伸, 鈴木道雄, 今岡浩一, 谷川力, 神山恒夫, 山田章雄. 屋内外ラットおよび輸入齧歯目における鼠咬症原因菌の保有状況調査. 第 141 回日本獣医学会学術集会, 2006 年 3 月, つくば.

3) 今岡浩一, 木村昌伸, 鈴木道雄, 神山恒夫, 山田章雄. ブルセラ属菌の菌種同定のための特異的 Real-Time PCR 法の開発. 第 141 回日本獣医学会学術集会, 2006 年 3 月, つくば.

4) 井上 智. 狂犬病の侵入リスク / シンポジウム VII 「動物由来感染症」。衛生微生物技術協議会第 26 回研究会. 2005 年 7 月 8 日、福井県.

5) 奥谷晶子, 井上 智, 山田章雄. Pyrosequencing 法を利用した簡便かつ迅速な細菌同定法の開発. 第 78 回日本細菌学会, 2005、4 月、東京.

6) 朴 天鎬, 井上 智, 近藤真理子, 野口 章, 小山田敏文, 吉川博康, 山田章雄. 狂犬病ウイルス (CVS-11) を感染させた C57BL/6J マウスの発症病理. 第 9 回日本神経ウイルス研究会, 2005、6 月、浜松.

7) 大日康史, 井上 智. 我が国の飼育犬に狂犬病が侵入した場合の伝播と流行拡大の数理モデルによる解析. 第 5 回人と動物の共通感染症研究会学術集会, 2005、11 月、東京.

8) 衛藤真理子, 大野貴文, 野口 章, 井上 智, 須永裕. 国際標準法による輸入犬の狂犬病ワクチン抗体保有状況調査. 第 141 回日本獣医学会学術集会, 2006、3 月、つくば.

9) 棚林 清: 野兔病について. 衛生微生物技術協議会第 26 回研究会 2005 年 7 月、福井.

10) 安藤秀二, 荒川香南子, 小川基彦, 柳陳堅, 佐藤梢, 藤田修, 堀田明豊, 宇田晶彦, 棚林清, 岸本寿男: 鶏卵からの Q 熱コクシエラ検出に関する研究(第 2 報). 第 23 回日本クラミジア研究会第 12 回リケッチア研究会合同研究発表会 2005 年 10 月、東京.

11) 棚林 清: 家畜と野生動物における人と動物の共通感染症—野兔病. 第 141 回日本獣医学会学術集会 2006 年 3 月、つくば.

## 講演会、研修会等

1) Imaoka, K. and Takahashi H. Global Health Security Action Group (GHSAG) Laboratory Network Plague Wetlab Workshop. HPA Porton Down, Salisbury, UK, June 2005.

2) 井上 智. 動物由来感染症(狂犬病)の概要について. 平成 17 年度動物の輸入届出業務及びベクター調査担当者研修会. 2005 年 6 月 8 日、東京都.

3) 井上 智. 狂犬病と気になる動物由来感染症(覚えておきたい狂犬病予防のポイント). 狂犬病予防に関する市町村担当者研修会. 岐阜県獣医師会. 2005 年 7 月 15 日、岐阜県.



4) 井上 智。我が国における狂犬病予防対策の有効性評価について。平成 17 年度動物由来感染症対策(狂犬病予防を含む)技術研修会。厚生労働省健康局結核感染症課。2005 年 11 月 4 日、東京(JA ホール)。

5) 井上 智。狂犬病：世界における最近の話題と日本をとりまく状況。平成 17 年度狂犬病予防研修会。三重県健康福祉部。2005 年 11 月 18 日、三重県。

6) 井上 智。狂犬病を中心とした動物由来感染症についての最新情報。平成 17 年度獣医師会技術講習会。徳島県獣医師会。2006 年 3 月 11 日、徳島県。

7) 井上 智。海外及び我が国の狂犬病の現状と予防対策の現状について。狂犬病シンポジウム。千葉県獣医師会。2006 年 3 月 12 日、千葉県。

8) 井上 智。狂犬病予防対策について。市町村、保健所狂犬病予防担当及び臨床獣医師研修会。和歌山県、和歌山県獣医師会。2006 年 3 月 16 日、和歌山県。

9) 棚林 清。野兔病。平成 17 年度動物の輸入届出業務及びベクター調査担当者研修会 2005 年 6 月 6-10 日(東京)。

10) 棚林 清。高病原性鳥インフルエンザ。平成 17 年度動物の輸入届出業務及びベクター調査担当者研修会 2005 年 6 月 6-10 日(東京)。

11) 宇田晶彦：カニクイザルにおける MHC クラス I 遺伝子の解析。「サルを用いた感染症研究の現状と今後」2005 年 9 月 16-17 日(京都)。

12) 棚林 清。サル由来の感染症、特にサルの細菌性赤痢の対策について。平成 17 年度動物由来感染症対策(狂犬病予防を含む)技術研修会 2005 年 11 月 4 日(東京)。