

照すると、*D. immitis*が*D. ursi*および*D. repens*の上位に位置しており、*D. immitis*が*D. ursi*および*D. repens*に進化したものと考えられる。すなわち、*D. immitis*は温帯に生息するイヌに寄生するフィラリアであるが、その一部が温帯に生息するツキノワグマに寄生する*D. ursi*に進化し、また*D. immitis*の一部は亜熱帯に生息する犬等に寄生する*D. repens*に進化したと考えられる。

今回、寄生虫類の遺伝子解析において一般的に行われているミトコンドリア DNA の CO1 領域の DNA 解析、およびリボソーム DNA の 28S 領域の DNA 解析を適用して、*D. ursi* の遺伝子解析を行って塩基配列を同定し、特に、遠隔地ごとの *D. ursi* の塩基配列を比較し遺伝的な多様性の有無を調べ、さらに *D. ursi* の塩基配列と犬由来の *D. immitis* を初めとする種々の線虫類のそれと比較することにより遺伝的な距離関係を推測した。寄生虫の遺伝子情報は、採取し

た距離的差に起因したその種の多様性の有無についても示すことができる。すなわち、遠く離れた地域で捕獲された *D. ursi* ごとの遺伝子を比較することにより、*D. ursi* 種の中での進化あるいは多様性に関する情報を得ることができる。さらに、*D. ursi* の塩基配列を他の線虫、特に同じ *Dirofilaria* 属の線虫のそれと比較し系統樹を作成することにより、*D. ursi* 自体の由来と宿主における変遷を検索することができる。このように、*D. ursi* を遺伝子レベルで調べる意義は、臨床的な観点から寄生虫学的な進化の観点まで極めて幅が広いと考えられる。

今後とも人とクマとがせ接触する機会が増える可能性があるため、人感染例のための *D. ursi* のさらに簡易的な遺伝子診断を確立する必要がある。

表1 使用したプライマーの一覧

プライマー名	塩基配列(5'-3')	方向
LSU5	ACC CGC TGA AYT TAA GCA	Forward
LSU3	TCC TGA GGG AAA CTT CGG	Reverse
TSD2	GTA CCG TGA GGG AAA GTT G	Forward
D4AR	GTC CGT GTT TCA AGA CGG G	Reverse
FH3	TTT TTT GGG CAT CCT GAG GTT TA	Forward
FH5	TAA AGA AAG AAC ATA ATG AAA ATA ATC	Reverse

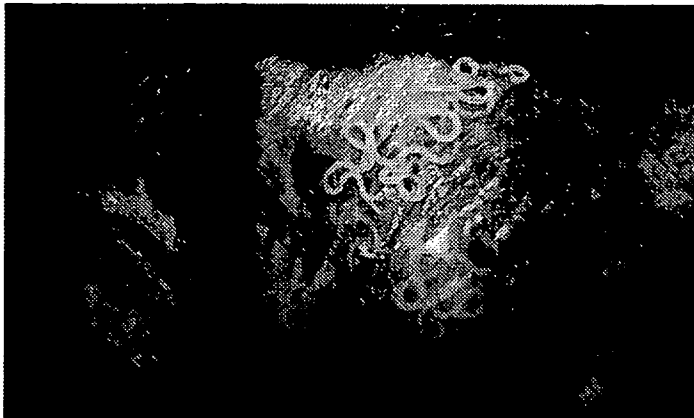


図1 皮下織に寄生する *D. ursi* 成虫。

```

TTACCTTTAA TGTTAGGTGC TCCTGAGATA GCITTTCTC GAATTAATGC TTTATCTTTT      60
TGGTTTACTT TTGTAGCTTT ACTAATAGTT TATCAGTCTT TTTTATTGG TAGTGGTCCT      120
GGAAGTAGTT GGACGTTTTA TCCTCCTTTG AGAGTTGAAG GTCAACCTGA ATTATCTTTA      180
GATAGTATAA TTTTAGGTTT GCATACTGTT GGTATTGGTT CTTTATTAGG AGCTATTAAT      240
TTTATAGTTA CTA CTCAAAA TATACGTTCT ACTGCTGTTA CTTTAGATCA AATTAGTATA      300
TTTGTTTGAA CTT CATATTT GACTTCTTTT TTATTAGTTT TATCTGTTCC TGTTTTAGCT      360
GGTTCTTTAT TATTTTTATT ATTAGATCGT AATTTTAATA CTTCTTTTTA TGATACTAAA      420
AAGGGAGGTA ATCCTTTATT ATATCAACAT TTATTTTGAT TTTTGGCCA TCCTGAAGTT      480
TATGTTATTA TTTTACCTGT TTTTGGTATT ATCAGTGAAT GTGTTTTATT TTTAACTGAC      540
AAGGATCGTT TGTTTGGTCA AACTAGTATA ACTTTTGCTT CTATTTGGAT TGCTGTTTTA      600
GGTACTTCTG TTTGAGGTCA T

```

図2 CO1 領域での塩基配列

LPLMLGAPEM AFPRINALSF WFTFVALLMV YQSFFIGSGP GSSWTFYPPL SVEGQPELSL	60
DSMILGLHTV GIGSLLGAIN FMVTTQNMRS TAVTLDQISM FVWTSYLTSE LLVLSVPVLA	120
GSLLLFLLDR NFNTSFYDTK KGGNPLLYQH LFWFFGHPEV YVILPVFGI ISECVLFLTD	180
KDRLFGQTSM TFASIWIAVL GTSVWGH	

図3 CO1領域でのアミノ酸配列

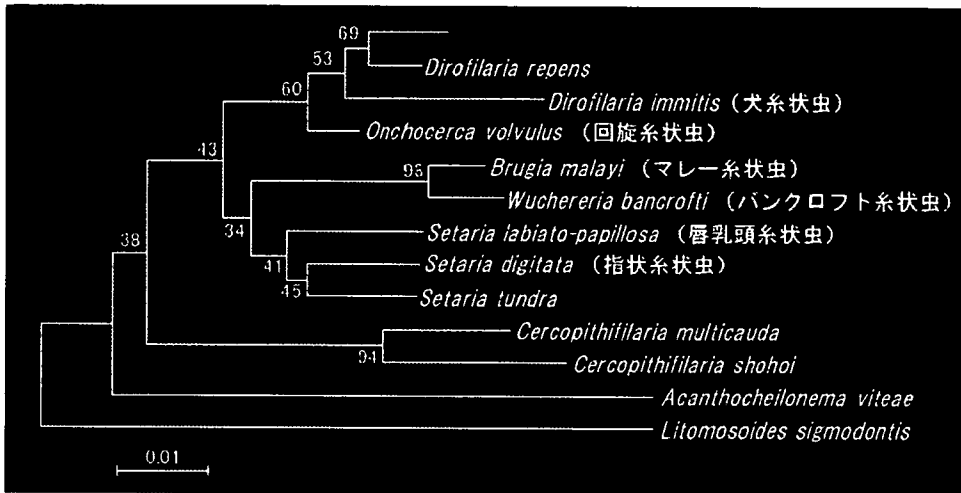


図4 *D. ursi* の系統樹

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

（総括（分担））研究報告書

狂犬病の診断技術向上のための解剖手技習得モデル・教材の開発に関する研究

分担研究者：井上 智	国立感染症研究所獣医科学部、室長
協力研究者：佐藤 克	国立感染症研究所獣医科学部、客員研究員
	佐藤獣医科病院、院長（狂犬病臨床研究会、会長）
千葉 操	アペックスバイオサイエンス研究所、研究員
織間博光	日本獣医生命科学大学獣医放射線学教室、教授
長谷川大輔	日本獣医生命科学大学獣医放射線学教室、助教
沼田一三	兵庫県動物愛護センター動物管理事務所、所長
頓名昌宏	兵庫県健康生活部生活衛生課動物衛生係、主任
西條和芳	徳島県保健福祉部生活衛生課動物愛護管理、担当
矢野さやか	徳島県徳島保健所、技術主任
高橋朱実	岩手県環境保健研究センター、主任専門研究員
堀元栄詞	富山県衛生研究所ウイルス部、研究員
小川知子	千葉県衛生研究所、主席研究員
明石 誠	千葉県動物愛護センター、保護指導課
松本尚美	鳥取県衛生環境研究所、特別研究員
木山真大	鳥取県生活環境部公園自然課、衛生技師
大下幸子	鳥取県西部総合事務所生活環境局、係長
田原研司	島根県保健環境科学研究所、研究員
川瀬 遵	島根県健康福祉部、食品衛生グループ
安藤秀二	国立感染症研究所ウイルス一部、主任研究員
野口 章	国立感染症研究所獣医科学部、主任研究員
加来義浩	国立感染症研究所獣医科学部、研究員
奥谷晶子	国立感染症研究所獣医科学部、研究員

研究要旨：狂犬病は現在国内で発生していないが、海外からの侵入が憂慮される動物由来感染症であることから国内に侵入した感染動物を早期に察知するためには診断技術向上に有効な実習用モデル・教育訓練教材等が必要不可欠である。平成 16 年（2005 年）度に行われた「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（厚生労働科学特別研究事業）」では、狂犬病が疑われたイヌ等の病原体診断に必要な頭部の解剖法の普及・啓発が自治体における狂犬病対策の大きな課題と指摘された。そこで、本研究では狂犬病の診断技術向上のために必要となる解剖手技習得モデル・教材の開発を目的とした。今年度は、狂犬病の診断技術向上に必要な犬の解剖手技を可能にする実地教育・啓発教材として効果が期待される解剖モデル等を作成するために、これまで行ってきた診断解剖技術習得 DVD 制作および普及・啓発に使用した関連資料等を利用して、自治体関係機関の現場担当者等とともに実習習得に必要なモデル・教材の形状・素材・使用方法等の要素について情報集約を行い、モデル作成技術者と素材の検討および作成方法等について検討を行った。

A. 研究目的

狂犬病は現在国内で発生していないが、海外からの侵入が憂慮される動物由来感染症であ

ることから国内に侵入した感染動物を早期に察知するためには診断技術向上に有効な実習用モデル・教育訓練教材等が必要不可欠である。

平成 16 年（2005 年）度に行われた「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（厚生労働科学特別研究事業）」では、狂犬病が疑われたイヌ等の病原体診断に必要な頭部の解剖法の普及・啓発が自治体における狂犬病対策の大きな課題として指摘された（資料 1）。そこで、本研究では狂犬病の診断技術向上のために必要となる解剖手技習得モデルおよび教材の開発を目的とした（資料 2）。

B. 研究方法

狂犬病の診断技術向上に必要な犬の解剖手技を可能にする実地教育・啓発教材として効果が期待される解剖モデル等を作成するために、これまで行ってきた診断解剖技術習得 DVD 制作および普及・啓発に使用した関連資料等を利用して、自治体関係機関の担当者等とともに実技習得に必要なモデル・教材の形状・素材・使用方法等の要素について情報集約を行い、モデル作成技術者と素材の検討および作成方法等について検討を行った（図 1）。

研究年度中、平成 18 年 11 月 13 日に徳島県で行われた「狂犬病発生時の対応マニュアルに基づく机上訓練（実技訓練としてイヌの解剖を実施）および技術研修会」に参加して、研究班で検討している解剖モデル等を活用することになる自治体の担当者と「狂犬病の検査に必要なイヌの解剖および検査体制等に関わるビデオ、教育・啓発資料作成に関する研究打ち合わせ」において意見交換等を行った。

C. 研究結果

(1)

研究班で作成する「イヌの解剖手技習得に必要なと考えられる解剖モデル（案）」として、以下 3 モデルを検討することにした（資料 3）。

- (1) 解剖手順習得モデル
- (2) 実技取得モデル
- (3) 脳モデル

- ・解剖手順習得モデル：頭部の構造と解剖の実際的な手順を理解することを目的とする。
- ・実技取得モデル：検査を行う部位である脳を取り出すために必要となる頭骨の切断においてノコを実際に使用してシミュレートすることを目的とする。
- ・脳モデル：頭部の解剖によって摘出した脳から狂犬病の検査に必要な部位を正しく採材するために脳の解剖と採取部位を理解することを目的とする。

今回、解剖学的および病理学的に正確かつ精密な犬の頭部解剖モデルの鋳型および 3D 教材を作成するために、医療用 MRI/CT 機器を利用したビーグル犬の頭部スキャン画像取り込みを行って 3 次元構築のデータファイルを作成（撮像：織間教授、長谷川助教）した後に、MRI/CT 両画像をコンピュータ上で合成してモデルの鋳型となる頭部の 3D 画像化（アペックスバイオサイエンス研究所：千葉研究員）を行った。データファイルの作成では、頭部の内部構造を明瞭とするために、MRI 画像中の脳・血管等と CT 画像中の皮膚・筋肉・骨等を合成した。

資料 7 に、MRI 画像と CT 画像をコンピュータ上で合成した部分画像を示す。MRI/CT 合成画像によってもイヌの頭部の外形、皮膚・筋肉・骨の配置、頭骨内における脳の各部位等が把握可能なことが分かる。

資料 8 と資料 9 では、MRI/CT スキャン画像で作成したデータファイルを利用して 3 次元構築したイヌの頭部の 3D 画像を示した。作成した 3D 画像は、解剖モデル作成に必要な鋳型の成形としてのみではなく、PC ベースでインタラクティブに動かせる立体モデルとしての

システム構築が可能である。以下に、映像を利用して可能なシステムの概要を示す。

- ムービー形式
- 模型（3Dデータを元に構築）
- 学会用、プレゼン用
PowerPoint でインタラクティブに動かすことが可能
- PC上で行うシミュレーション
- アプリケーション化

(2)

狂犬病に関する「情報交換会」の参加自治体担当者とともに、徳島県で行われた「狂犬病発生時の対応マニュアルに基づく机上訓練（実技訓練としてイヌの解剖を実施）および技術研修会」に参加して、「狂犬病の検査に必要なイヌの解剖および検査体制等に関わるビデオ、教育・啓発資料作成に関する研究打ち合わせ」を行って、本研究で作成を予定している解剖模型等について概要説明と意見交換を行ったので概要と課題について以下にまとめる。

解剖モデルについて

- 1) 各関係者から、解剖モデルの目的と現場における有用性について理解を得ることができた。
- 2) 今後、作成モデルのモニターや現場で使用する場合の課題検討等について協力を得ることができた。

解剖の実際について

- 1) 自治体では、部署の異動が数年ごとであり、脳を取り出す技術的な引き継ぎが難しいため、解剖モデル等の教材について期待が持たれた。
- 2) 生体を利用した解剖の準備を始めた自治体もあるが、予算、人員、時間等により途中でストップしているところも多いようである。解剖モデルを活用した普及啓発法に期待が持たれる。

解剖に関連する課題等

- 1) 解剖における安全性の確保と汚染拡大を防ぐために必要な検査場所と作業内容について

のバイオセーフティについて整理が必要と感じられた。

2) 解剖等の作業従事者に対するワクチン接種の準備状況等について課題があると感じられた。

3) 感染症法の改正によって管理が厳しくなった三種病原体（狂犬病ウイルス等）の移動と取扱について、まだ十分に啓発が行き届いていないと感じられた。発生時に担当者が混乱しないためにも事前対応が十分に行われるべきと考えられた。

D. 考察

解剖モデルの目的と現場における有用性について自治体の担当者から理解を得ることができた。現場の意識と準備状況に応じた普及啓発が解剖モデルを活用して行えることが十分に期待される。本研究では、解剖の技術伝達と意識啓発を可能にすることが主たる目的であるが、実際に解剖を行う担当者の安全性の確保と病原体等の汚染拡大を防ぐために必要な検査場所と作業内容についてのバイオセーフティ等についても今後は整理が必要と感じられた。

イヌの頭部の3次元情報データファイルによる3D画像教材および解剖手技習得モデルのプロトタイプは、自治体の現場担当者に使用してもらい実際的な課題点等について検討する必要性もあると考えられた。将来的には、狂犬病発生時は解剖学的に大きく異なる「犬種」や「動物種」の解剖が想定されるため、それぞれについて効果的な実技訓練のできるモデルの作成も課題と考えられた。

E. 結論

平成18年（2006）11月に、ヒトの輸入狂犬病が京都と横浜で続けて2例発生したが、発生が希少ではあるが病態が重篤で社会不安を引き起こしやすい狂犬病では「侵入リスクの低

減」のみでなく「発生に備えた対策」も重要であることが明らかにされた。

本研究の目的である、「狂犬病の診断技術向上のために必要となる解剖手技習得モデル・教材の開発」は自治体等における担当者への実技伝達のみならず発生時を想定した意識啓発と動物由来感染症である狂犬病の感染源対策に対する危機管理意識の向上に大いに貢献するものと考えられた。

F. 研究発表

誌上発表

なし

学会発表等

Inoue, S., Yamada, A., Tobiume, M., Sata, T., Morimoto, K., and Kurane, I. Ante- and post-mortem diagnosis, and characters of virus isolated from two human cases of rabies imported into Japan from the Philippines in November 2006. 41st joint working conferece on viral diseases. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 24-25 July, 2007. Baltimore, MD, USA

井上 智。トピック：狂犬病。衛生微生物技術協議会、第 28 回研究会。岡山県環境保健センター。2007 年、7 月 5-6 日、岡山市、岡山県

井上 智。狂犬病の脅威と予防について。第 144 回 日本獣医学会学術集会 市民公開講座。酪農学園大学。2007 年、9 月 2 日、札幌市、北海道

井上 智。狂犬病への対応事例等について。平成 19 年度 地方衛生研究所全国協議会：近畿支部ウイルス部会研究会。大阪市立環境科学研究所。2007 年、9 月 7 日、大阪市、大阪府

井上 智。狂犬病の発生事例及び狂犬病を疑う動物の検査手法について。平成 19 年度 動物由来感染症対策（狂犬病を含む）技術研修会。厚生労働

省健康局結核感染症課。2007 年、11 月 2 日、東京都

井上 智。アジアの狂犬病の現状を知る。第 7 回人と動物の共通感染症研究会学術集会。2007 年、11 月 3 日、北里大学薬学部コンベンションホール、東京都

井上 智。アジアの狂犬病の現状を知る。第 7 回人と動物の共通感染症研究会学術集会。2007 年、11 月 3 日、北里大学薬学部コンベンションホール、東京都

井上 智。狂犬病に関わる最近の話題とバイオセーフティ。第 7 回 日本バイオセーフティ学会総会・学術集会。日本バイオセーフティ学会（The Japanese Biological Safety Association: JBSA）。2007 年、11 月 17 日、東京都

井上 智。狂犬病の発生状況並びに対策の現状。狂犬病予防にかかる知識向上を図るための技術研修会。徳島県保健福祉部生活衛生課。2007 年、12 月 14 日、徳島県

井上 智。狂犬病の話題（海外と国内の課題について）。平成 19 年度埼玉県狂犬病予防協会研修会。徳島県保健福祉部生活衛生課。2008 年、1 月 17 日、埼玉県

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図 1. 狂犬病の診断技術向上のための解剖手技習得モデル・教材



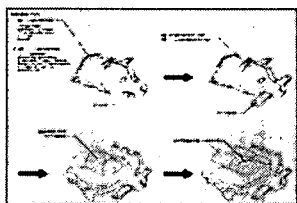
自治体関係機関の現場担当者等とともに実技習得に必要なとなるモデル・教材の形状・素材・使用方法等の要素について収集・解析・分析・意見集約



I. 手技習得に必要なと考えられる解剖モデルの形状等の素案

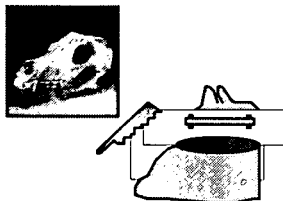
(1) 解剖手順習得モデル

頭部の構造と解剖手順を理解するモデル



(2) 実技習得モデル

頭骨の切断実技モデル



(3) 脳モデル

検査に必要な脳の部位を理解するモデル

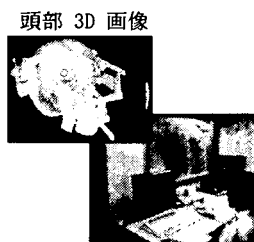


II. 解剖手技等をコンピュータ上でシミュレート可能な 3D 画像データの作成

解剖学および病理学的に正確かつ精密な犬の頭部解剖モデルの鑄型および3D教材を作成するために、使用できる犬の確保と医療用MRI/CT機器を利用した犬頭部の皮膚、頭骨、神経・血管組織等の画像取り込みによる3次元情報データファイル作成と試験的な3D画像化を行った。



MRI、CT機器による断層画像の取り込み



頭部 3D 画像

3D 画像データの作成

資料1

自治体における狂犬病検査の課題

狂犬病の疑われたイヌが発見された時に

- 検査を想定した事前対応型の準備が十分でない
- 検査材料を採材するための頭の解剖ができない



LTCZ DIS NIID

資料2

- 狂犬病の疑われたイヌ等の検査には頭の解剖が必要です -

・解剖



・ウイルス検査



- ・関係者は事前に狂犬病ワクチンの接種をしておく
- ・緊急時の狂犬病暴露後ワクチン接種を可能にしておく
 - (1) 連絡網。
 - (2) ワクチン接種を行う医療機関の確保

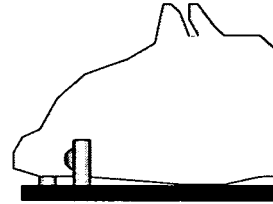
LTCZ DIS NIID

資料3

狂犬病の実習用モデル、教育・訓練用の教材の試作

仕様

- 使用者は解剖、切断、脳摘、脳検査までの作業が可能
- 模型は原寸大で、発症の有無は問わない
- イヌに近いニュアンス(精度は高めが望ましい)
- 繰り返し使用できるように各部位の脱着が可能
- 脳の模型、骨切断の模型、解剖手技の模型の3点に分ける



解剖手技: サンプルモデル

骨切断: サンプルモデル

脳: サンプルモデル



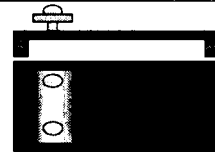
LTCZ DIS NIID

資料4

解剖手技モデル

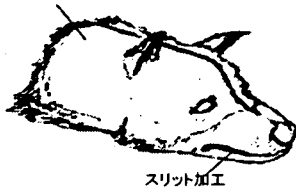
作業①保定(シリコーンの場合)

- シリコーン素材+内部FRP造形
 <シリコーン素材の特徴>
 ・素材感がかなり違う(柔らかい素材のため)
 ・毛の表現は彫刻仕上、または種毛仕上げ
 ・素材の厚さにより表皮がうまく開けない可能性がある
 ・スリット部分は、切りっぱなしとなる
 ・耐久性はボアより高い

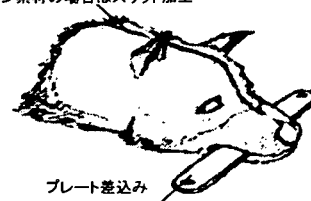


保定器具

表面:シリコーン素材の場合はスリット加工



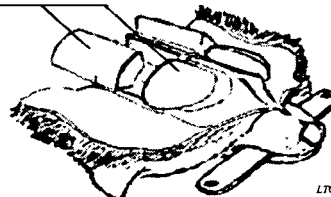
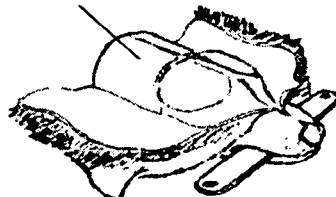
スリット加工



プレート差込み

筋肉の素材 ウレタン樹脂成型

立体パズル風組立仕様



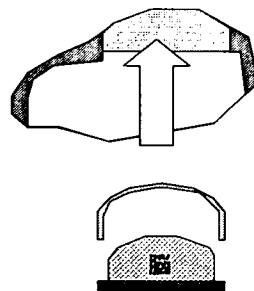
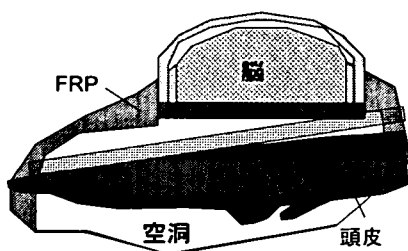
LTCZ DIS NIID

骨切断モデル

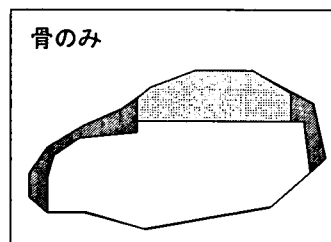
概要

- 骨切断モデルは骨のみ、と手技前の外形の2種類を作成
- 作成種類は、大型犬、中型犬、小型犬、ネコの4種類を作成したい
- 素材はベースをFRP、換装パーツは、エポキシ、石膏のいずれかを検討中
- 切除箇所は使い捨てが出来るよう、換装型のパーツを使用する
- 実際の骨切断の模様を表すため、頭皮切開、筋肉切除の後を想定し、皮と筋肉切除の跡を残す
- 外観が骨切断前の手技と判断できれば、脳以外の内部構造は簡易なものでも可能あるが、脳の再現とその周囲の空間、骨切断の感触は再現したい
- 外観のベースは中を空洞にし、換装パーツ(頭蓋骨と脳)をはめ込める穴をつける
- 換装パーツは頭骨と脳の隙間をつくるため、分けて作成する(光造形で一括で作成した場合も検証する)

皮、筋肉付き



骨のみ

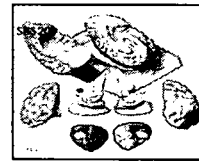


LTCZ DI'S NID NIID

脳モデル

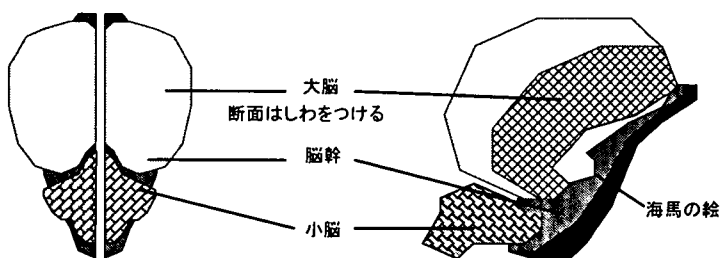
概要

- 脳の模型は脊髄から脳幹部(延髄、橋、視床)、小脳、大脳まで含めたもので、脳断面には海馬も作成
- 大脳×2、小脳×2、脳幹×2、分離可能(計6パーツ)断面には海馬のイラストを付ける
- 脳の大きさは大型犬、中型犬、小型犬の違いでは変わらないため作成は1つ
- オスメス咬合のバズル形式のため、硬い素材を使用...できれば断面観も作成したい
- 模型を支える台は必要
- 4種類を色分けする必要は無い、目視で海馬は白で周囲の組織(肌色系)と区別ができること
- 形状の簡略化:海馬の形状、大脳と小脳の脳幹部の形状が把握できる範囲での簡略化は可
- 検査に使用する脳幹部、小脳を移送するためのチューブを付けた(50mlのポリプロピレン性)



上面観

断面観(側面)



LTCZ DI'S NID NIID

資料 7-1

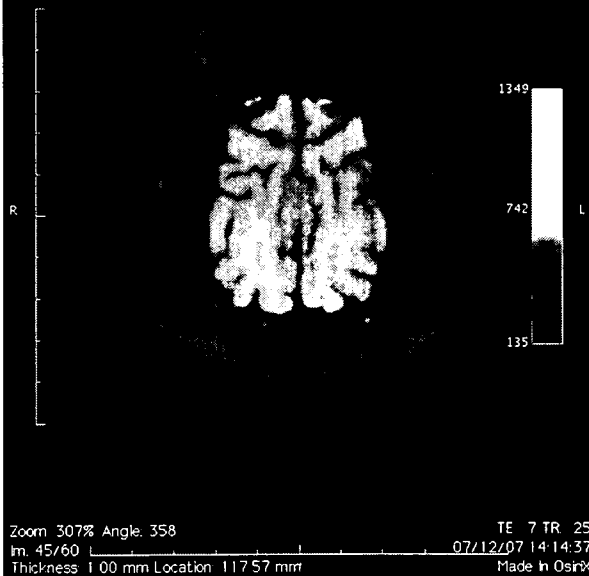
MRI-CT 取り込み画像

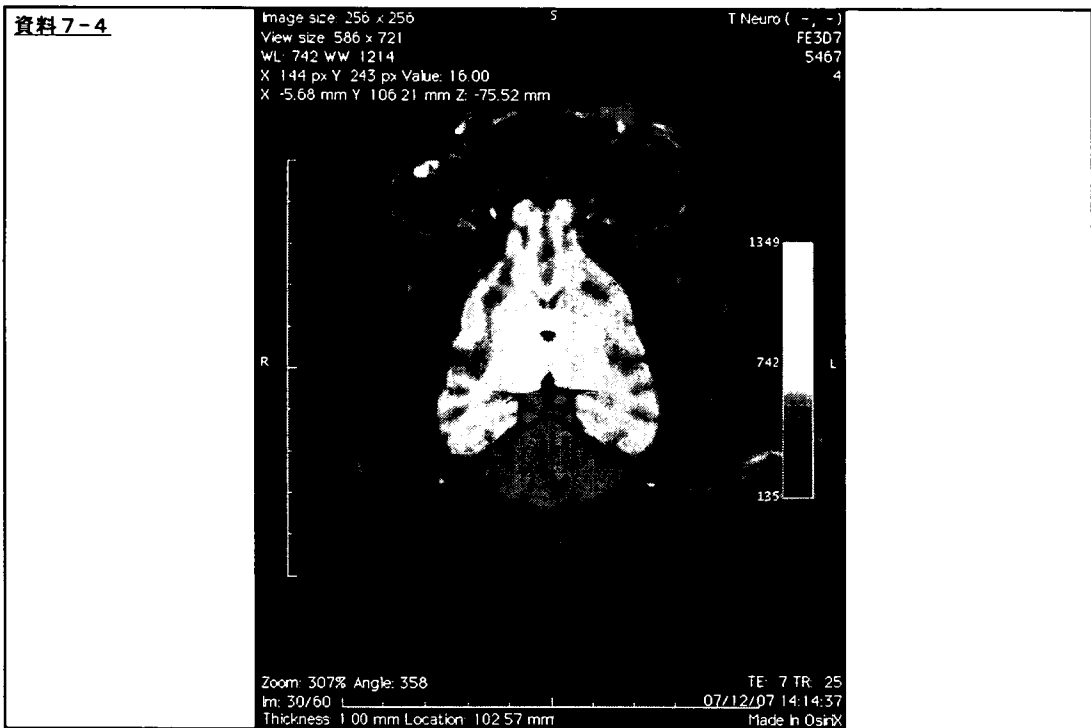
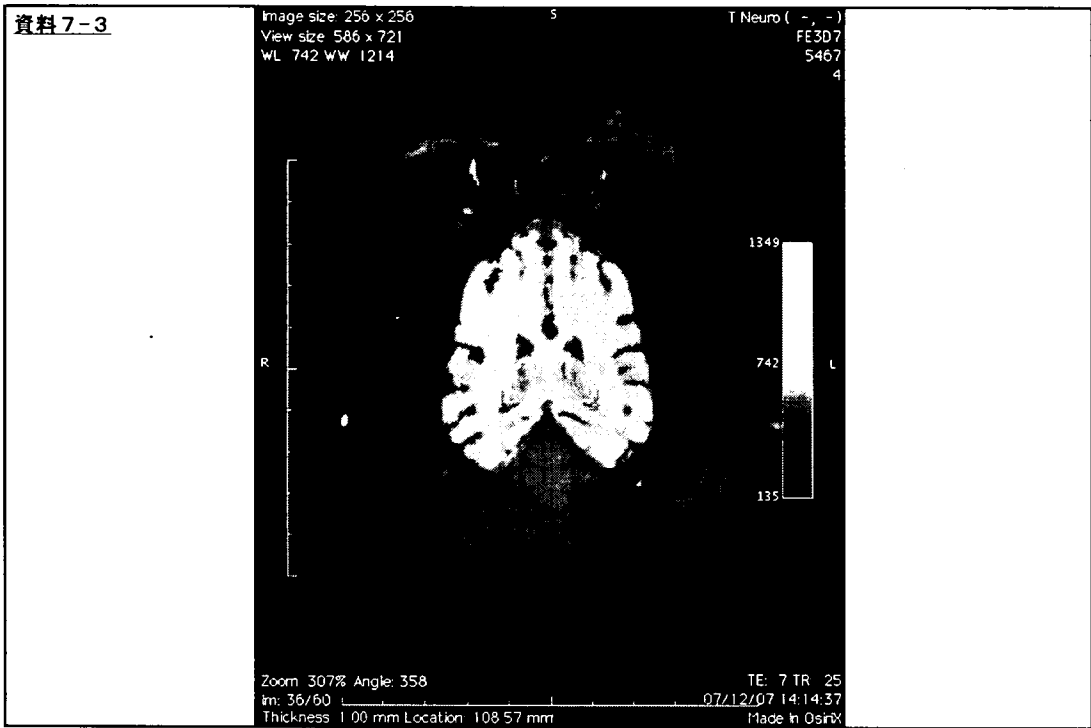


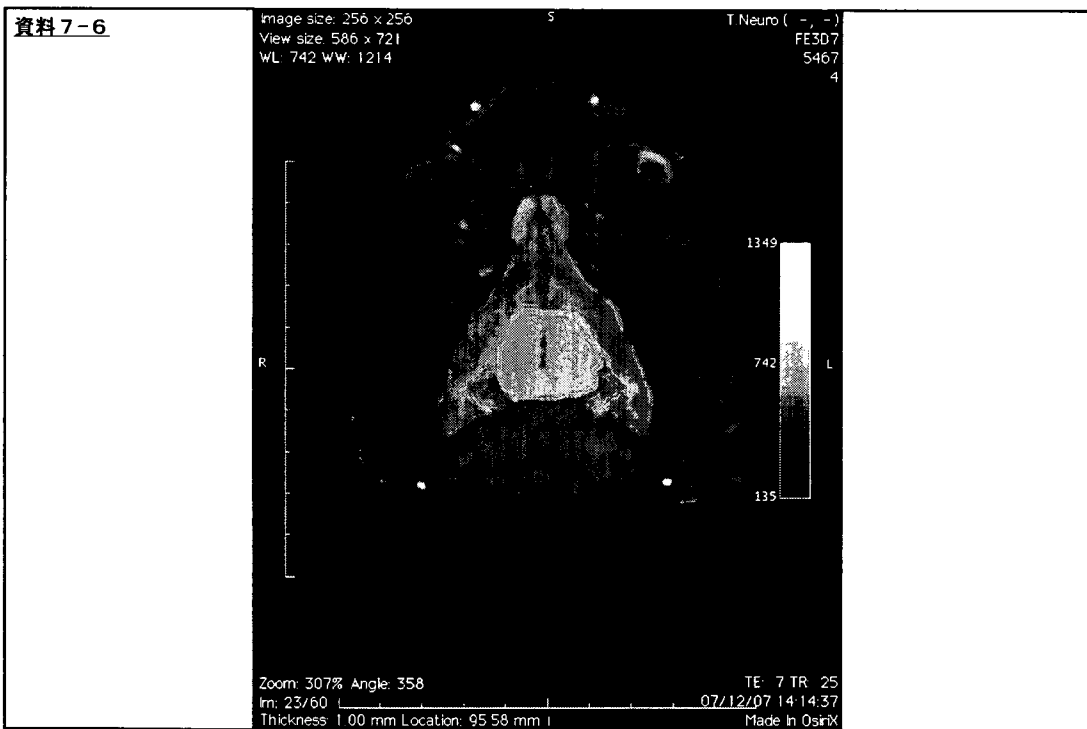
資料 7-2

Image size 256 x 256
View size 586 x 721
WL 742 WW 1214
X 147 px Y 242 px Value: 9.00
X -4.23 mm Y 121.27 mm Z -74.86 mm

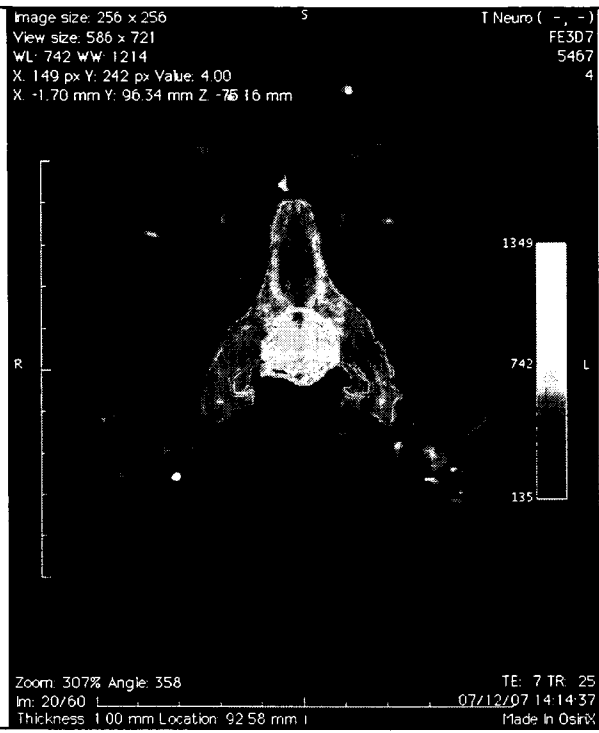
T Neuro (- , -)
FE3D7
5467
4



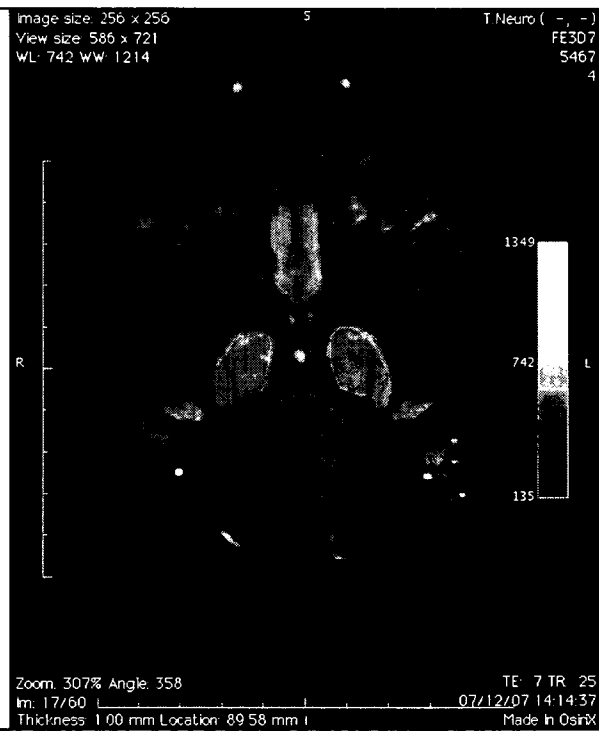


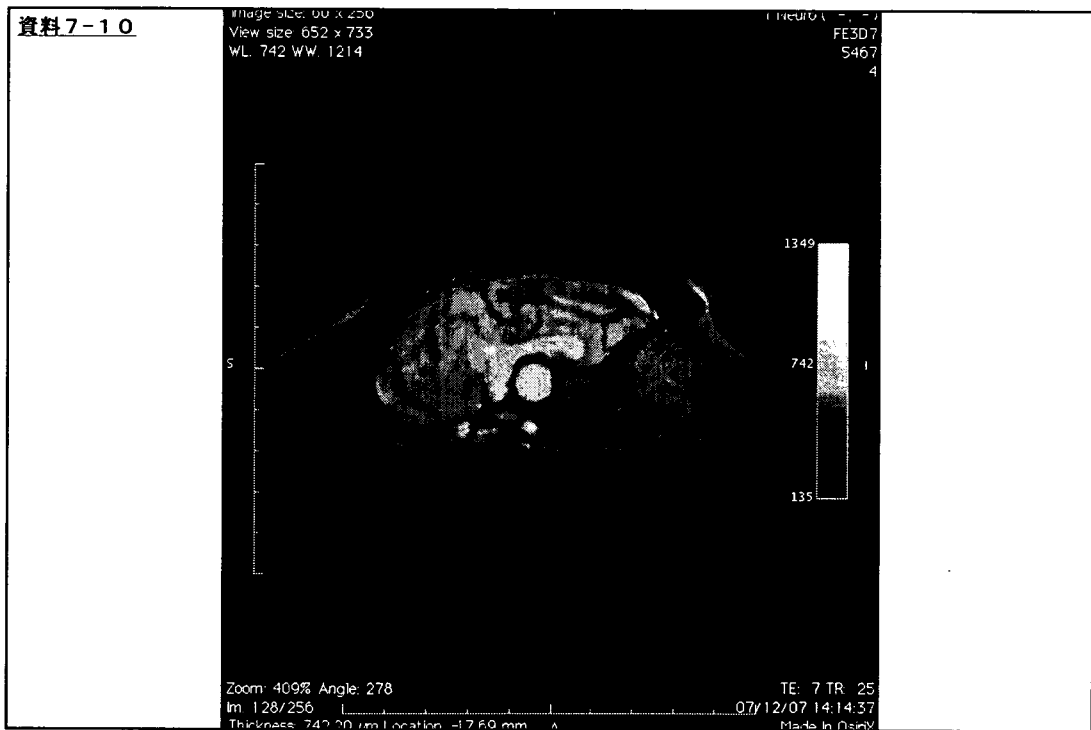
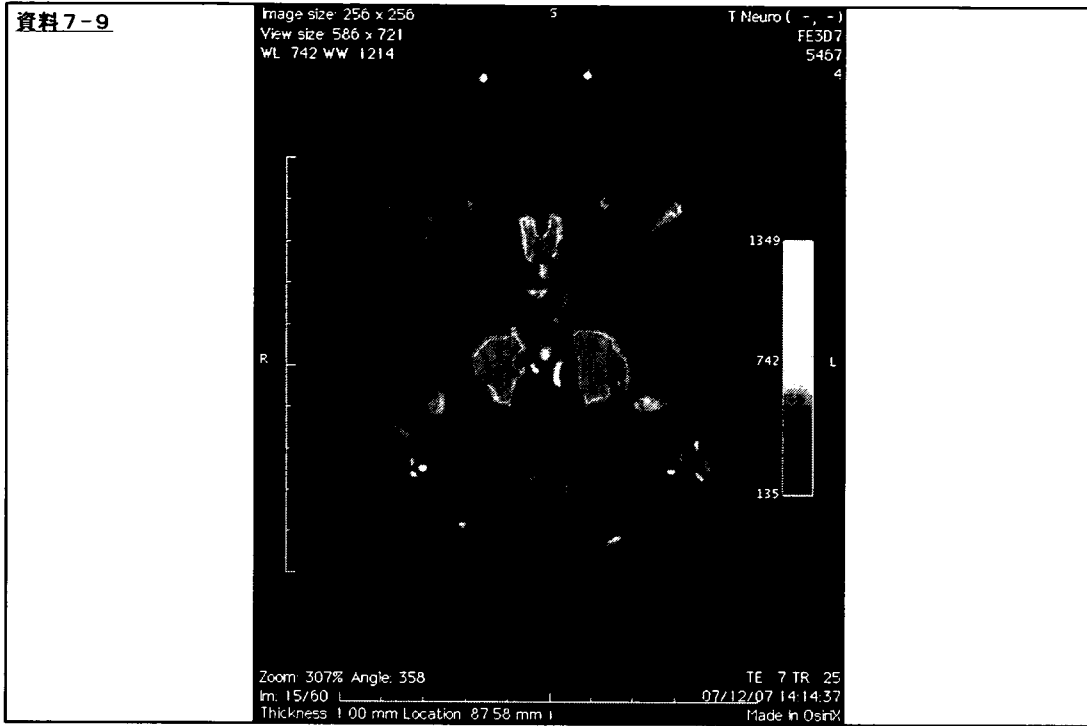


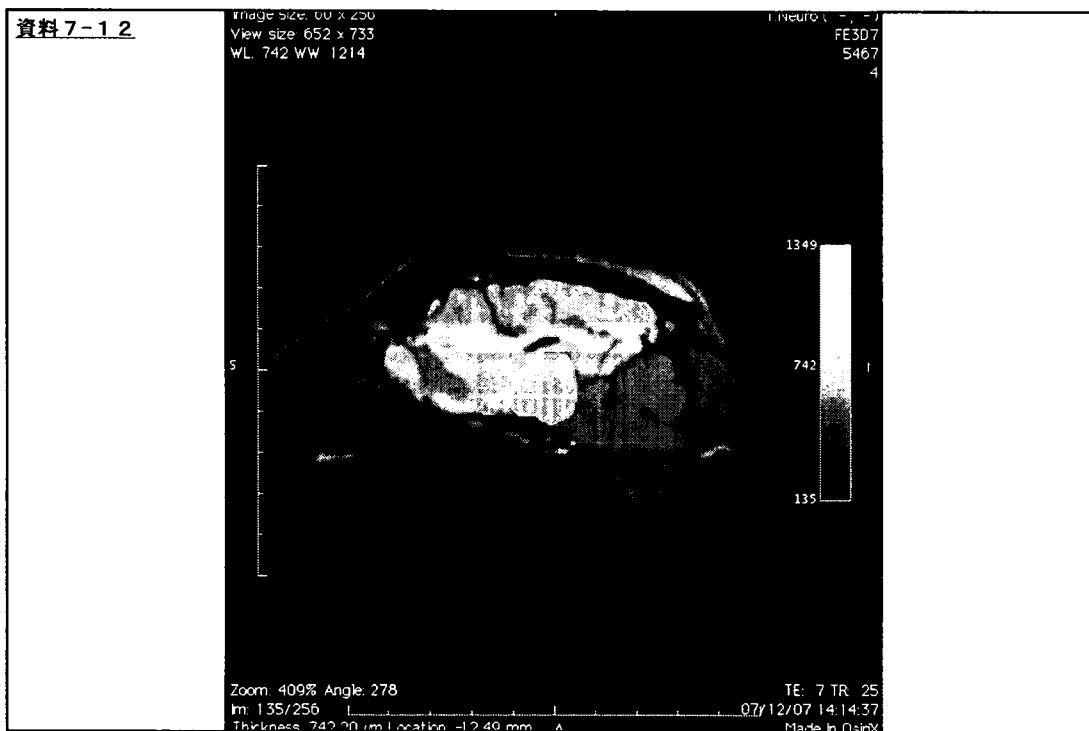
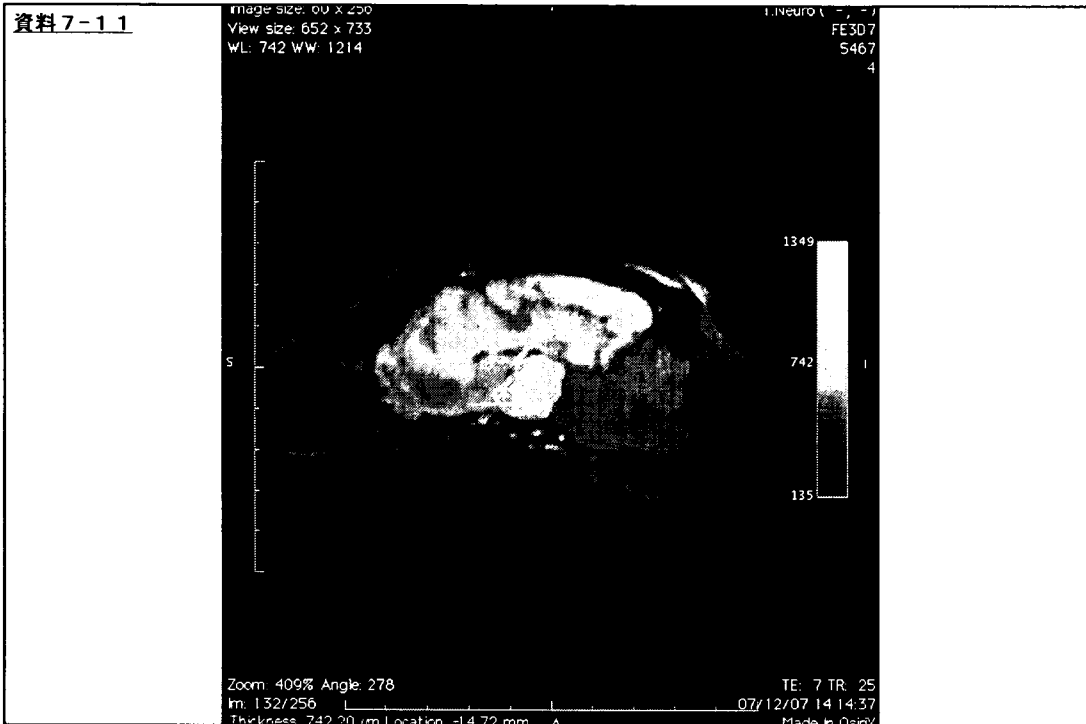
資料 7-7

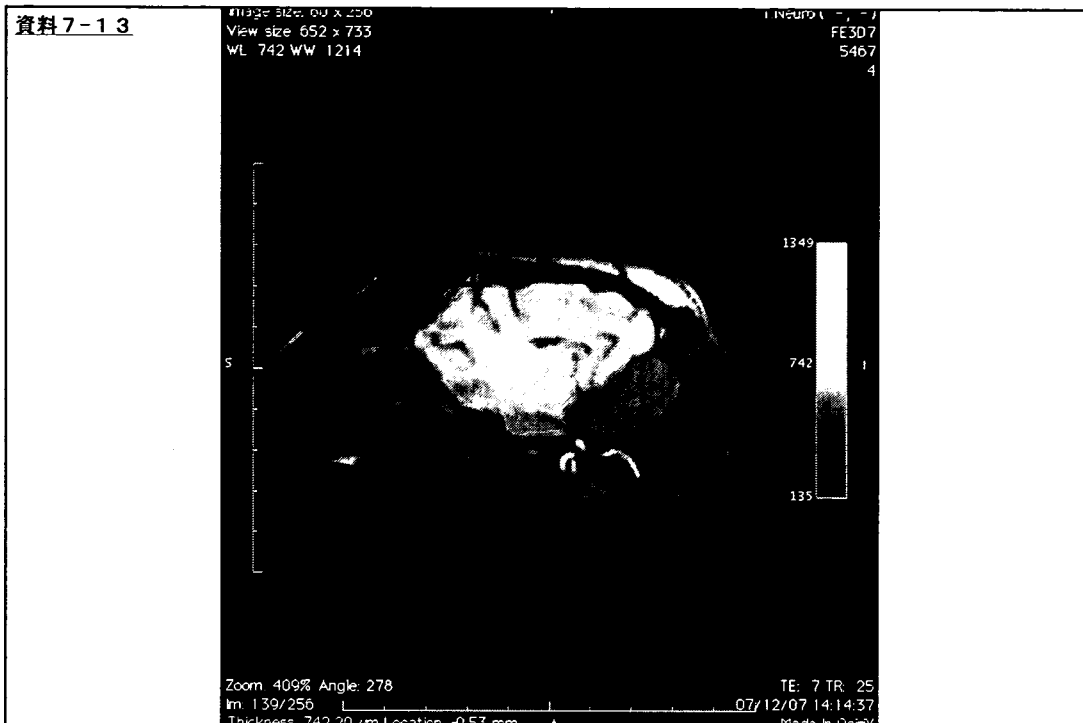


資料 7-8

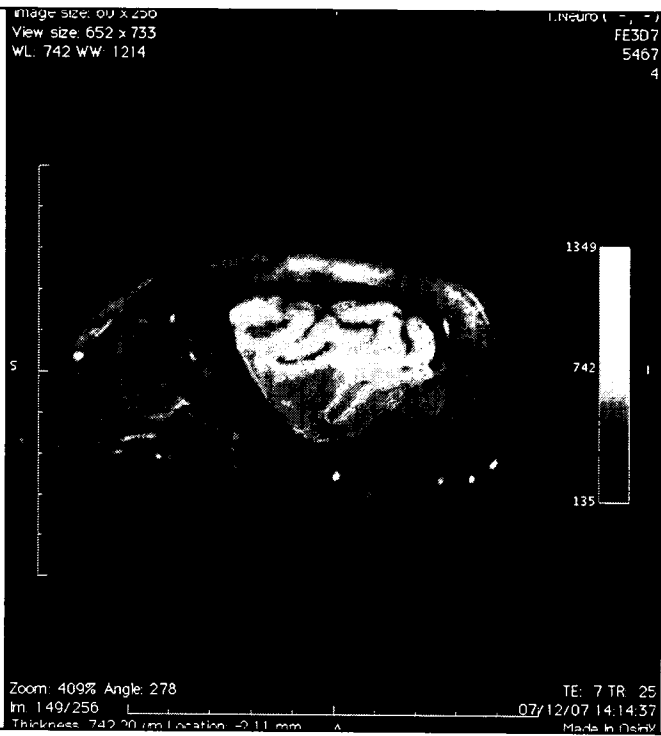








資料7-15

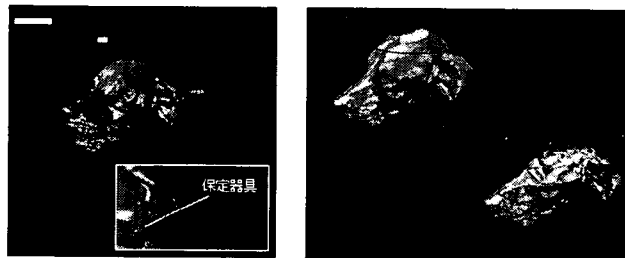


資料8

3D化したデータの応用例

3D化されたデータはPCベースでインタラクティブに動かせるシステムの構築が可能です。実際の構築例を下記に示します。

例2: 3次元の注釈をつけたり、断面を切ることが可能



CTやMRIの画像から3次元構築したデータのその他の応用

- ムービー形式
- 模型(3Dデータを元に構築)
- 学会用、プレゼン用: PowerPointで3Dをインタラクティブに動かすことが可能
- PC上で行うシミュレーション
- アプリケーション化

資料9

脳モデル



LTCZ DIS NID 