

平成20年度 新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題: 動物由来感染症のコントロール法の確立に関する研究

課題番号: H18-新興一般-008

主任研究者: 吉川泰弘

年次別研究費(交付決定額):

1年目 117,000,000 円 2年目 105,300,000 円 3年目 89,505,000 円

I. 研究の意義

- (1) 動物由来感染症のハイリスク者(獣医師、獣医看護師等)におけるサーベイランス・データの解析
- (2) 動物由来感染症(約100種)のリスク・プロファイリングの作成
- (3) 輸入動物の病原体検索(齧歯類、有袋類等)、輸入動物の品質確認
- (4) 野生動物由来感染症の制御(エキノコックス、アライグマ回虫、レプトスピラ)
- (5) アジア近隣諸国での調査(フィリピン、中国、タイ、インドで、寄生虫、翼手目の調査)
- (6) 伴侶動物の病原体診断法開発(オウム病、ネコ引掻き病、パストレラ他)
- (7) 真菌、寄生虫、ウイルス感染症の統御(ワクチン開発、診断法開発)

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 獣医師等を対象としたサーベイランスによりハイリスク者の汚染状況を把握し、リスク評価に生かす
- (2) 動物由来感染症のリスク・プロファイルに基づく、一貫性のあるリスク評価法の開発
- (2) 病原体検索、輸入動物評価を通じて輸入動物に由来する感染症の制御に必要な科学的根拠を得る
- (3) アジア近隣諸国の動物由来感染症の疫学調査を通じて、輸入感染症の防御を検討する
- (4) 国内の野生動物、伴侶動物に由来する感染症の診断法開発と統御法の開発
- (5) 真菌、寄生虫など、他の研究班で行われることの少ない感染症の調査、研究

III. 3年間の研究成果**共通成果**

- (1) 本研究班における研究成果は、国際雑誌への掲載、国際学会での発表、招待講演等で広く成果が発表された(森川、宇根、神谷、杉山他)。
- (2) 輸入動物に関しては新規に輸入されるようになった有袋類の病原体保有状況に関して寄生虫、細菌、ウイルス等、分担研究者・協力研究者のネットワークで解析を進めた。輸入動物の品質(オランダのげっ歯類、ベルギーの鳥類)に関する調査に協力した(吉川)。
- (3) 獣医師等を対象に動物由来感染症の抗体保有状況の調査をまとめ、研究会で発表した。
- (4) アジアにおける動物由来感染症の研究として国際雑誌に集大成して掲載された。Comp. Immunol. Microbiol. Dis. Vol. 30, Issue 5, 6, 2007 (森川、宇根、神谷、奥、吉川、増澤他)。
- (5) エキノコックスの迅速診断法開発と市販化に協力し、北海道での疫学調査を進めた(神谷、奥)。

・主任研究者

- (1) 動物由来感染症(約100種)のリスク・プロファイルの開発のため、特別にチームを作成し、評価法の戦略を作成するとともに、国内の動物由来感染症の専門家にアンケート調査を行った(協力研究者: 太田周司、委託調査: 東レリサーチ)。
- (2) 協力研究者(内田幸憲)とともに、班員の協力を得てハイリスク者の抗体調査を進めた。
- (3) フィリピン政府の許可を得てマキリン山地区、ポリロ島、イロイロ島で野生コウモリの捕獲を行い、抗体調査等を進めた。
- (4) OIEの野生動物疾病制御のWGのメンバーとして国際的動物由来感染症の統御方策を検討した。

・分担研究者 (宇根、森川、佐野、増澤)

- (1) 輸入動物に関しては有袋類の病原体保有状況に関して寄生虫、細菌、ウイルス等、分担研究者・協力研究者のネットワークで解析を進めた(ヒトと動物の研究会等で成果の発表を行った、JVM 59, 295-297, 282-283, 2006)。野生鳥類の大量死の原因究明を行い、サルモネラ菌を分離した(宇根)。

・分担研究者 (神谷、奥、川中)

- (1) 市販の新規診断キットを利用し、北海道獣医師と連携して伴侶動物での汚染調査を進めた。キタキツネのエキノコックス汚染調査、野生動物でのペイトによる統御法の検討を進めた。地方自治体の協力を得て、青森、埼玉、大阪でエキノコックス汚染の疫学調査(野生齧歯類あるいは伴侶動物)を進めた。海外でのエキノコックス感染統御の共同研究を進めた(中国、カザフスタン他)。

・分担研究者 (増澤、小泉)

- (1) 伴侶動物、野生動物、輸入動物のレプトスピラの分離・同定を進めた。
- (2) ハイリスク地域(港湾)や流行地域(宮崎県)での疫学調査

・分担研究者 (今岡、岸本、丸山)

- (1) 伴侶動物等の病原体保有状況、特に集団感染のみられたイヌ・ブルセラ症の疫学調査を進めた。またカブノサイトファーガ、バスタツレラ、バルトネラ、オウム病クラミジアなどの保有状況調査を進めた。
- (2) 輸入動物のバルトネラ汚染状況をまとめ、国際雑誌に発表した(丸山 2008)。

・分担研究者 (太田、平山、杉山、佐野)

- (1) 動物由来寄生虫感染症(蠕虫、住血吸虫、肺吸虫)のサーベイランス、ワクチン開発を進めた。
- (2) 高病原性真菌類に関する研究を進めた。
- (3) アジア近隣諸国(中国、タイ、インド)における疫学調査を進めた。

IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) 動物由来感染症のリスク・プロファイルの整備
- (2) リスク・プロファイルを検証するためのアクティブ・サーベイランスの構築
- (3) リスク評価に基づく管理措置(輸入禁止、検疫、届け出、輸入届け出など)の再検討
- (4) アジア地域における野生動物由来感染症のネットワーク構築。

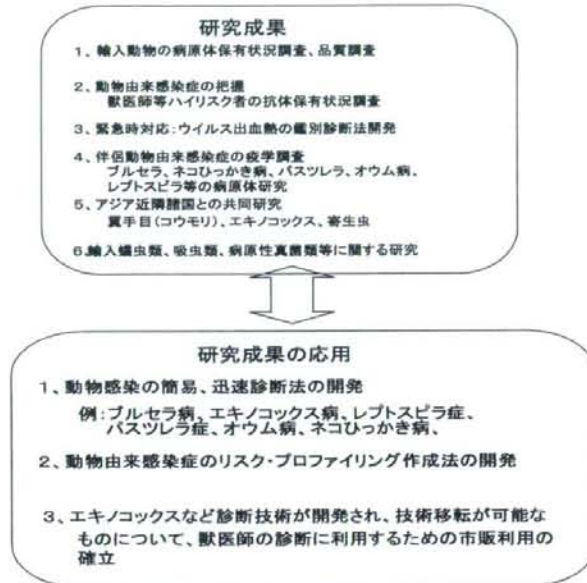
V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) リスク評価に基づくリスク管理対応が可能になる。
- (2) ケースレポートでなく疫学ベースのサーベイランスによるリスクの科学的根拠を提供する。
- (3) OIEなどの国際機関の後ろ盾を得て、アジア近隣諸国との動物由来感染症の共同調査等により、国内だけでなく、アジア地域の感染症統御に役立つ。
- (4)

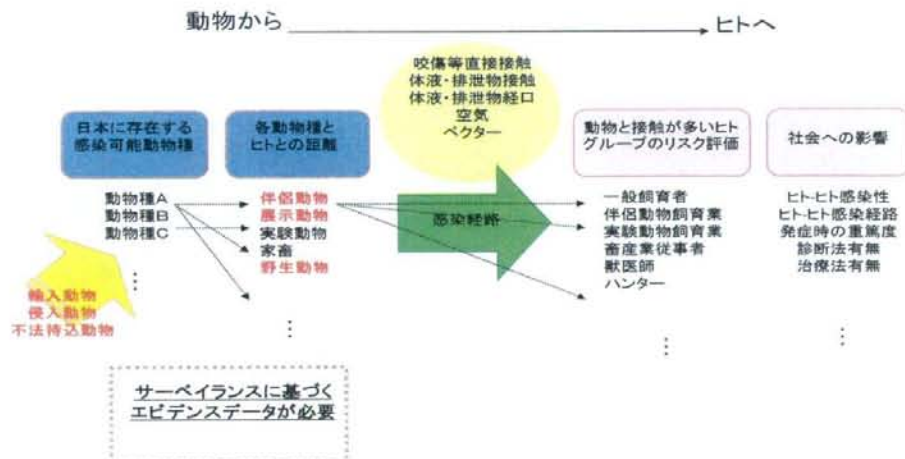
VI. 発表論文・ガイドライン・マニュアル等

- (1) Yoshikawa, Y. Current status and measures of zoonosis control in Japan. *Global Environ. Res.* 12, 55-62, 2008
- (2) Omatsu, T., Yoshikawa, et al., Induction and sequencing of rousette bat interferon alpha and beta genes. *Vet. Immunol. Immunopath.* 124, 169-176, 2008
- (3) Oya, C., Hondo, R., Yoshikawa, Y., et al. Prevalence of herpes B virus genome in the trigeminal ganglia of seropositive cynomolgus monkeys. *Lab. Anim.* 42, 99-103, 2008
- (4) Sato, H., Leo, N., Katakai, Y., Takano, J., Akarti, H., Nakamura, S., Une, Y. Prevalence and molecular phylogenetic characterisation of *Trypanosoma (Megatrypanum) minasense* in the peripheral blood of small neotropical primates after a quarantine period. *J Parasitol.* 94:1128-1138, 2008.
- (5) Nonaka N, Hirokawa H, Inoue T, Nakao R, Ganzorig S, Kobayashi F, Inagaki M, Egoshi K, Kamiya M, Oku Y. The first instance of a cat excreting *Echinococcus multilocularis* eggs in Japan. *Parasitol. Int.* 2008 ;57(4):519-20.
- (6) Kimura, M., Imaoka, K., Suzuki, M., Kamiyama, T. and Yamada, A. Evaluation of a microplate agglutination test (MAT) for serological diagnosis of canine brucellosis. *J. Vet. Med. Sci.*, 70:707-709, 2008

Ⅶ. Ⅲ（3年間の研究成果）の概要図等



動物由来感染症のリスクプロファイル



平成19年度 新興 ○主任研究者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

- 昭和51年 厚生省国立予防衛生研究所麻疹ウイルス部(厚生技官)
昭和52年—54年 西独ギーセン大学ウイルス研究所留学
昭和55年 東京大学医科学研究所(助手、講師、助教授)
平成3年 厚生省国立予防衛生研究所筑波霊長類センター(センター長)
平成9年 東京大学大学院農学生命科学研究科(教授)

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

- 山内一也 (東大名誉教授)
藤原公策 (東大名誉教授)
穴戸 亮 (元国立予防衛生研究所所長)

・主な研究課題

- 動物由来感染症、野生動物疾病の統御に関する研究
我が国のBSE疫学調査、BSEのリスク評価に関する研究
霊長類を用いた環境汚染化学物質の神経系への影響に関する研究

・これまでの研究実績

- 1, Yoshikawa, Y. Epidemiological study on BSE outbreak in Japan J. Vet. Med. Sci. 70, 325-336, 2008
- 2, Fujima, A., Ochiai, Y., Yoshikawa, Y., Hondo, R., et al. Discrimination of antibody to herpes B virus from antibody to herpes simplex type a and 2 in human and macaque sera, J. Clin. Microbiol. 46, 56-61, 2008
- 3, Watanabe, S., Mizutani, T., Sakai, K., Kato, K., Tohya, Y., Fukushi, S., Saijo, M., Yoshikawa, Y., Kurane, I., Morikawa, S. and Akashi, H. 2008. Ligation-mediated amplification for effective rapid determination of viral RNA sequences (RDV). J. Clin. Virol. In press.
- 4, Watanabe, S., Omatsu, T., Miranda, M. E.G., Masangkay, J. S., Ueda, N., Endoh, M., Kato, K., Tohya, Y., Yoshikawa, Y., Akashi, H. 2008. Epizootology and experimental infection of Yokose virus in bats. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. In press.
- 5, Omatsu, T., Watanabe, S., Akashi, H., Yoshikawa, Y. (2007) Biological characters of bats in relation to natural reservoir of emerging viruses. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis., 30, 357-374.
- 6, Yamanouchi, K., Yoshikawa, Y. Bovine spongiform encephalopathy (BSE) measures in Japan. J. Vet. Med. Sci. 69, 1-6, 2007

・平成21年度 新型インフルエンザ等振興・再考感染症研究事業への新規研究課題の応募状況
動物由来感染症のリスク分析手法等に基づくリスク管理のあり方に関する研究 (21260701)

研究成果総括報告

動物由来感染症のコントロール法の確立に関する研究

主任研究者：吉川泰弘（東京大学大学院農学生命科学研究科・教授）

研究要旨

①輸入動物等及び輸入病原体に関する研究：輸入動物届出制により輸出国が途上国の野生動物から先進国の繁殖飼育動物に変わる傾向が見られ、リスク回避措置として初期の期待される傾向が出ている。輸入動物のトレーサビリティに関しては従来のソフトウェアの改良を進め、また新たに両生類・爬虫類のトレーサビリティシステムの開発を試みた。輸入届出制の施行により輸入ペットの対象が両生類・爬虫類等に移行すると考えられる。獣医師を対象とした両生類・爬虫類の研究会等で、安全管理等の対応を指導する共に、これらの動物種の病原体保有に関する検索を進めた（サルモネラ、抗酸菌、クラミジア、リケッチア、ボレリアなど）。またサル類由来の感染症として、引き続きエルシニア感染状況の調査を進めた。1類感染症ではラッサ熱に近縁のLCMVの新規診断法の開発を進めた。ハイリスク者のサーベイランスでは、倫理委員会の許可を得た上で、獣医師、動物病院従事者についてHFRS,LCM,レプトスピラ、猫引っかき病、トキソプラズマ、オウム病の抗体保有状況について調査を始めた。これらの研究はほぼ順調に進捗している。

②野生動物及び野生動物由来病原体に関する研究：狂犬病が侵入した場合のモデルとして、エキノコックス統御法の研究（駆除と有効性の評価）は順調に進捗している。しかし、イヌの汚染は0.3～1%あり、新規診断法（DNA診断）の導入などにより人への感染源として統御を進める必要がある。北海道以外での野鼠のエキノコックス汚染、野生化したアライグマ由来の回虫の汚染調査を進めた。旧世界サル類に関してはBウイルスの抗体調査、エルシニア感染の疫学調査を進め、新世界サル類に関しては寄生虫保有状況を把握した。鳥類ではスズメのサルモネラ感染症に関する調査等を進めた。翼手目に関しては採取許可を正式にフィリピン政府が入手し、捕獲調査を始めた。野生コウモリ、飼育コウモリについて疫学、病理学解析、免疫系因子の遺伝子解析を進めた。

③伴侶動物及び愛玩動物由来病原体に関する研究：輸入ハムスター等げっ歯類（8種140匹）について病原体の保有状況を検索した。イヌについてはブルセラ、パスツレラ、カプノサイトファーガの保有状況を調査した（ブルセラ抗体陽性犬は5.9%、カプノサイトファーガ菌保有率は95%、パスツレラは27%）。展示動物のオウム病の調査、人での感染疫学、診断法の改良を進めた。猫引っかき病に関してはイヌ、ネコの汚染状況の調査、血清診断法の開発を進めた。

④真菌・寄生虫・レプトスピラに関する研究：高度病原性真菌の研究（コキシディオイデスの迅速診断、ヒストプラズマの分子疫学など）及びイルカの真菌症（カンジダ）の解析を進めた。輸入蠕虫症のデータベース作成、追跡調査、診断法開発を進めた。イヌ回虫症の治療モデル系を用いた有効性評価、フィールドで使用可能な日本住血吸虫の診断法開発、アジアの疫学調査、わが国の肺吸虫の感染経路及びアジアでの分布調査を行った。各研究に関しては概ね予定通りの進捗状況である。

研究組織

主任研究者:

吉川泰弘

(東京大学大学院農学生命科学研究科・教授)

分担研究者:

太田周司

(東京検疫所川崎検疫所支所・支所長)

内田幸憲

(神戸検疫所・所長)

宇根有美(麻布大学獣医学部・助教授)

森川 茂

(国立感染症研究所ウイルス一部・室長)

神谷正男

(酪農学園大学環境システム学部・教授)

奥祐三郎

(北海道大学大学院獣医学研究科・助教授)

川中正憲

(国立感染症研究所寄生動物部・室長)

今岡浩一

(国立感染症研究所獣医科学部・主任研究官)

岸本壽男

(国立感染症研究所ウイルス一部・室長)

佐野文子

(千葉大学真菌医学研究センター・助教授)

丸山総一

(日本大学生物資源科学部・教授)

太田伸生

(東京医科歯科大学歯学総合研究科・教授)

平山謙二

(長崎大学熱帯医学研究所・教授)

杉山 広

(国立感染症研究所寄生動物部・主任研究官)

増澤俊幸

(千葉科学大学薬学部免疫微生物・教授)

小泉信夫

(国立感染症研究所細菌研究部・主任研究官)

A. 研究目的

国際獣疫事務局(OIE)や世界保健機構(WHO)のような国際機関、および先進各国とも動物由来感染症の防疫体制の確立に努力している。しかし、対策が最も進んでいる米国でも、ウエストナイル熱のアウトブレイクが起り、また愛玩動物からのサル痘の感染も報告され、動物由来感染症を制御することの困難さが浮き彫りにされた。さらに翼手目由来が疑われるSARSの世界的流行、高病原性鳥インフルエンザウイルスのヒトおよびニワトリでの感染・流行がアジア、欧州、アフリカで報告され、動物由来感染症に対する防疫体制の確立と危機管理対応が国際的にも緊急の課題となっている。

幸い、わが国では平成15年、感染症法の見直しにより動物由来感染症の対応は法的に大幅に改善された。今回の有効性評価でも輸入動物数の大幅な減少、輸入動物のほぼすべてが繁殖動物になり、アジア近隣あるいは先進国由来のものが大半を占めるようになった。このように輸入動物に由来する最もリスクの高い感染症に対しては、輸入届出制の導入や法定検疫体制の確立により、有効なリスク回避措置をとることができた(評価結果に関しては検疫所や獣医学会の講演会、シンポジウム等で公表した)。

また、本研究班は、①個々の研究課題を遂行すると共に、②これまで個々に行われてきた課題について一貫性をもってリスク評価する方式の確立を目指している。すなわち、これまで進めてきた輸入動物に由来するリスク評価方式と異なる、国内に常在する動物由来感染症の疫学的調査、統計的データにもとづく定量評価、費用対便益などを計数化し、リスクに応じた管理措置の検討、危機管理対応法を確立することを目的としている。

B. C. D、方法、結果と考察

輸入動物等及びハイリスク者調査、輸入病原体に関する研究：

①トレーサビリティ研究など；新規の輸入動物届出制度が感染症防止対策に果たしている効果について、輸入動物追跡システムにより入手したデータの比較、動物輸入業者に対するアンケートなどを通じ評価した。一方、外国から輸入される動物には国内に流通した後、感染症を媒介するおそれがあることが判明し、緊急にその所在を把握し対策を講ずる必要がある場合がある。このため、輸入された動物の所在を速やかに把握するためのトレーサビリティ・システムの必要性が指摘されている。本研究では先に筆者らが施行試験を行っていた輸入動物追跡システムに改良を加えた新たなソフトを入手し、協力者を得て施行試験を開始した。

2004年と2005年の輸入動物追跡システム施行試験データの比較では、輸入目的でみると、届出制度施行後はペット用が占める割合が減少し展示用の輸入の割合が増加している。種類別にみるとげっ歯類及び鳥類が増加しは虫類が占める割合が減少した。輸出国別にみると輸出国は2004年が27カ国であったのに対し、2005年は8カ国に減少していた。国別では2004年では米国が占める割合は頭数で40%を占めていたが、2005年は5%に減少し、台湾、タンザニアの占める割合が増加した。繁殖・野生の別では頭数では2005年には99%が繁殖されたものとなっていた。業者への調査では、届出制度施行後の輸入状況の変化については動物数、輸入回数、動物種の減少を多くの輸入業者があげていた。このような変化への対策として、輸出国の変更、新たな輸出国・輸出業者の開拓、輸出国政府・輸出業者への要請などを行っている業者が多かった。

トレーサビリティに関しては、動物輸入に携わっている関係者9名による輸入動物追跡

システム検討会を開催し、従来使用していたシステムの改良が必要であるとの結論を得た。これらの改良は入力作業の改善を図るとともに、動物ごとの感染症リスクに応じてより詳細な国内流通の情報を入力することを求めるものとなった。2007年1月から2月までの2ヶ月間に245件の輸入について入力があった。これらの輸入において輸入後の動物の所在地を市町村名まで求めるリスクが高い動物は含まれていなかった。また、この施行試験を通じ収集された動物の学名・和名・英名の対象表は、哺乳類、鳥類、は虫類、両生類、昆虫類で755種の動物名が収集されシステムの検索ソフトとして使用されている。

②ハイリスク者疫学など；北九州市及び神戸市の獣医師会に協力を求め、両市の動物病院勤務者160名を対象とした。

アンケートの項目別に年齢構成、職種分類、勤続年数、1日の勤務時間、犬、猫以外で取り扱った動物種、感染症予防対策の実施状況、動物からの感染経験、動物咬傷の有無、動物からの感染や咬傷時の処置、これまでの健康管理等につき、集計、解析を行った。血清分離後、ネコひっかき病、トキソプラズマ症、オウム病、腎症候性出血熱、リンパ球脈絡髄膜炎、レプトスピラ症の抗体価を日本大学、岐阜大学、神戸検疫所において測定した。160名の疾病別の抗体陽性者数及び陽性率は、ネコひっかき病20名(12.5%)、トキソプラズマ症6名(3.8%)、オウム病7名(4.4%)であり、腎症候性出血熱、リンパ球脈絡髄膜炎、レプトスピラ症3疾病の抗体陽性者は皆無であった。

動物咬傷等の経験者の対処法については、147名が経験している中で229件の回答が得られた。病院を受診し、医師の治療を受けたことは48件(32.7%)であり、自分の判断で治療したことは118件(80.3%)、特に何もしていない35件(23.8%)であった。動物病院勤務者の自宅における過去、現在のペット飼

育状況は、160名中犬の飼育経験124名(77.5%)、猫の飼育経験93名(58.1%)トリ飼育経験49名(30.6%)、ハムスター33名(20.6%)、ウサギ23名(14.4%)と高率なペット飼育率であり、動物病院勤務者のペット飼育率は極めて高率であった。また、抗体陽性者別にみると、猫飼育経験者のネコ由来感染症(ネコひっかき病、トキソプラズマ症)の抗体陽性者は有意に少なかった。

③1類感染症等の診断法開発；リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス(LCMV)は、マウスを自然宿主とする動物由来感染症でラッサウイルスに近縁なアレナウイルスである。LCMVは、ウイルス蛋白のアミノ酸配列は良く保存されているが、遺伝子配列は同義置換が多いため、全てのウイルス株を網羅できるRT-PCR用プライマーの設定が難しい。本研究では血清や培養細胞上清中のRNAウイルスの遺伝子を、特異的なprimerを用いずに効率よく増幅して遺伝子配列を決定するRapid Determination of Viral RNA Sequence(RDV)法を確立した。RDV法は、ウイルス粒子外の核酸をnuclease処理により除去し、特異的primerを用いないwhole genome amplification技術を用いて遺伝子を均等に増幅し、さらにアダプターを付加した後に特殊なprimer setsによるPCRを行いダイレクトシーケンスを行なうことに特長がある。本年度は、RDV法によるLCMV検出への適用を検討した結果、LCMV Armstrong株、M1株いずれも効率良く検出できることが明らかとなった。

野生動物および野生動物由来病原体に関する研究：

④エキノコックス等の基盤研究；小清水では2006年5-11月まで隔月に住民がベイト散布し、8月に野外において82個の糞便を採取した。これらの糞便はすべてエキノコックス抗原陰性であった。これらのことから、住民によるベイト散布により小清水町に生息するキ

ツネに対する顕著なエキノコックス駆虫効果が確認された。2005年からペットのプレバテントビリオド(虫卵排泄前)のエキノコックス確定診断のために、糞便内のエキノコックスDNAを検出する方法を試みてきたが、2006年にはプライマーの改善(EmA/B→EmA'/B')を行ない、より高感度に寄生虫DNAが検出された。また、コットンラットの腹腔から得た多包虫シスト塊を用いて完全長cDNAライブラリーをV-Capping法により作成し、約11,000のクローンを得た。200塩基以上解読された約8,000クローンについてDNAホモロジー検索を行ったところ、約2,300クローンはエキノコックス由来と判断された。これらの結果はFull-Echinococcusとしてインターネットを介して公開している。また、エキノコックスと並んで重要な人獣共通寄生虫であるトリヒナ(線虫)について、多数のキツネ、タヌキ、アライグマおよびクマの筋肉材料を採取し、筋肉トリヒナの調査を継続した。検出した虫体のDNA検査により、小樽市以外にも*Trichinella* T9が分布すること、さらに道東(音更)から*Trichinella nativa*(本邦初)を検出した。

⑤エキノコックスの応用研究；エキノコックス症のリスクに対して地域に内在する人材、資金などを基に住民による企画、啓発活動、駆虫剤散布の実践で問題解決をはかる地域の活力を用いて新しいリスク除去法の開発を試みた。リスクの状況が明らかでない地域(倶知安町)で住民によるキツネ糞便採取と専門機関による陽性率の把握と住民によるベイト散布の効果判定を実施した。2005年の事前調査で268個のうち陽性糞便は21%であった。2006年には陽性が集中していた地域周辺の山裾を重点的に、5-11月まで毎月計7回のベイトが住民により散布された。2006年10月に野外採取された糞便104個の検査では、抗原陽性が2005年の21%から2%に減少し、虫卵陽性も12%から0%へと減少し、顕著なエキノコックス駆虫効果が認められた。一方、伴侶動

物に関しては、2006年1～12月にイヌ459、ネコ39頭を対象に糞便内抗原検査とテニア科虫卵のPCR検査を実施した。最終的にイヌ2頭の陽性例が確認されわが国の感染症法に基づく届け出がなされた。2007年2月に北海道のネコ1例においてエキノコックス虫卵排泄が確認された。猫は感受性が低い、希に虫卵を排泄することがある。国内では初めてのエキノコックス虫卵を自然排泄猫の症例である。ネコはイヌよりもネズミを捕食する機会が多く、人はネコからのエキノコックス虫卵を経口摂取すると感染するので、警戒が必要である。いずれの陽性例も民間専門機関の協力でリスク対応が適切になされた。地域の内発的発展力によりリスクを早期に発見し、リスク除去システムを確立することは可能と考えられる。

⑥アライグマ由来感染症の研究；神奈川県は首都圏で最も野生アライグマ問題が先鋭化している地域であり、調査開始以来8年にわたりアライグマの生息状況をフォローすると共に、駆除業者からの直接サンプル送付による糞便検査を実施してきた。今年度は288件の糞便が送付された。糞便検査の方法はホルマリンエーテル法による遠心沈殿法を用いた。他に、神奈川県衛生研究所において64件の糞便検査が実施され、関西地域においては、5府県（大阪、兵庫、奈良、和歌山、三重）で捕獲された657頭の野生アライグマにつき、剖検による内臓寄生蠕虫の精密な検査が実施された。

これまでの調査において、捕獲アライグマからはアライグマ回虫は検出されなかったが、タヌキ回虫 (*Toxocara tanuki*) の寄生例が見つかっている。タヌキ回虫は、その後、鎌倉市からの1頭、横須賀市からの2頭を加えて、現在までに捕獲アライグマ4頭からその寄生例が確認されている。また、神奈川県64頭の野生アライグマの糞便検査の結果についても、アライグマ回虫卵は検出されなかった。関西地域で捕獲された野生アライグマでもアライグマ回虫の確認はなく、多くの蠕虫種

は食餌に伴い、一過性に腸管に寄生しているところを検出したものと考えられた。現時点で、野生アライグマが自然宿主として、その生活環の維持に一定の役割を果たしていると考えられる寄生虫は、*Physaloptera* 属胃虫 (*Physaloptera* sp.)、アライグマ糞線虫 (*Strongyloides procyonis*)、*Metagonimus* 属吸虫 (特に *Metagonimus takahashii*) であった。⑦齧歯類・爬虫類等のリスクに関する研究；愛玩用に輸入される動物の公衆衛生上のリスクを評価するために、愛玩用のミシシッピアカミミガメを対象として抗菌菌保有状況調査を行なった。その結果、抗菌菌が114頭中87頭 (76.3%) で検出され、この中にはヒトへの病原性を有するものが含まれていた。また、ペットとして販売されているミシシッピアカミミガメの *Salmonella* 保有状況を調査した。その結果、成体では31個体中3個体 (9.7%) から、幼体は93個体中69個体 (74.2%) から *Salmonella* が検出された。*Salmonella* 症の発生を予防するために、必ずしも十分な対策が取られているとはいえない。特に小児をはじめ高齢者、免疫機能の低下した患者等では重症例の危険性が高いことから、販売業者および一般飼育者に対するペット由来 *Salmonella* 症の注意喚起と取扱いにおける衛生概念の啓発が重要であり、販売されるミシシッピアカミミガメそのものに対する対策をたてる必要があると考えられる。

愛玩用に輸入される齧歯類のリスクを評価するために、2006年に輸入動物届け出制度に基づき衛生証明書が添付され輸入された8種の齧歯類、計140匹を対象として病原体保有状況調査を行なった。その結果、レプトスピラ (*Leptospira alexanderi*) がステップレミング1匹 (1/10, 10%) で検出された。Borrelia 属細菌は、シマリス5匹 (5/30, 16.7%) から消化管より *Salmonella Enteritidis* が11/140 (7.9%) 分離された。消化管内寄生虫として、人獣共通寄生虫である小形条虫が23匹のハ

ムスター(ジャンガリアンおよびゴールデン)で確認された。なお、腎症候性出血熱、ペストおよびライム病の病原体に対する抗体を保有する動物はいなかった。また、*Yersinia pestis*、野兎病菌、豚丹毒菌も分離されなかった。

⑧翼手目に関する基盤研究；翼手目に関しては採取許可を正式にフィリピン政府から入手し、捕獲調査を始めた。他方、これまでに入手した野生・飼育コウモリ等について免疫系因子の遺伝子解析を進めた。主にエジプトルーセットオオコウモリ、デマレルーセットオオコウモリを対象として解析を進めた。ミトコンドリア DNA からはコウモリは偶蹄目・奇蹄目・食肉目などからなる群と近縁であり、CD4、IgFcRn、IFN などの免疫関連因子も同様の結果であった。さらに、IgG 抗原エピトープの類似性からコウモリが単系統であることが示唆された。また、ウイルス腹腔内体温変化、脾臓の病理学的検索、*in vitro*におけるコウモリ type I IFN 下流因子の同定を行なった。腹腔内体温については日内変動が他動物種に比べ大きいことがわかった。脾臓の病理組織学的検索においては22個対中9個体で免疫系の反応性変化が認められた。コウモリ腎由来初代培養細胞を作成しコウモリ肺由来株化細胞と poly(I:C)・コウモリ type I IFN に対する反応性を検索したところ肺由来株化細胞においてはどちらに対しても type I IFN mRNA の発現が見られず、両細胞間でウイルス感受性の差が生じる可能性が示唆された。

伴侶動物・愛玩動物由来病原体に関する研究：

⑨イヌ由来感染症リスクに関する研究；感染症法により1999年以降、届出は8例あり2005年2例、2006年5例と近年に報告が集中していた。*B. melitensis* 感染者の2例は海外で感染し国内で発症したもので、*B. abortus* 感染者1例は海外で感染・発症し、治療を受けたが、国内で再燃したと考えられた。このように輸

入感染症の1つとして注意しておく必要がある。一方、*B. canis* 感染と推定された者のうち3例は海外渡航歴もなく、イヌとの接触歴も定かではなく、従って感染経路は不明であった。イヌでは現在でも2-5%前後が *B. canis* に感染歴を持つと考えられており、イヌからヒトへの感染に注意する必要がある。また、*B. canis* に対する抗体検査法は不活化 *B. canis* 菌体を抗原とした試験管内凝集反応(TAT)であるが、試験管を用いるため検査に必要な抗原量・血清量が多く一度に多くのサンプルを検査することも困難である。そこでマイクロプレートを用いた凝集反応(MAT)を検討した。イヌブルセラ病陽性血清548サンプルを用いてTATおよびMATを実施し、その検出率ならびに抗体価を比較した。その結果、91%の確率で陽性率が一致し、抗体価にも相関が見られた($R^2=0.934$)。MATはTATに変わる優れた検出法であると考えられる。

カブノサイトファーガ属菌はイヌの口腔内に常在するグラム陰性桿菌であり、ヒトがイヌに咬まれた際に傷口から感染することなどによって種々の症状を呈し、発症した場合の死亡率は30%と極めて高い。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18年12月までの調査の結果、309検体中295検体(約96%)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。我が国で人の感染例が報告されない理由は不明である。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、309検体中86検体が陽性であり、保有率は約28%であった。人の感染例のサーベイランスが必要である。

⑩展示動物等に由来する感染症に関する研究；愛玩動物や展示動物からの感染が問題となる病原体の1つがオウム病である。展示動

物由来感染では、しばしば集団感染が問題となっている。オウム病は4類感染症に指定されており重要性は高い。しかし報告のための血清診断法のひとつであるmicro-IF法は、精製抗原の準備が煩雑で判定にも熟練を要するため扱いにくく、可能な施設は限られている。本年度は、オウム病のより簡便な血清診断法として、*C. psittaci*感染細胞を用いた間接蛍光抗体法(inclusion IFA)の臨床応用について検討した。本法でオウム病患者血清を測定した結果、micro-IF法と高い相関性が認められ、判定も容易であった。臨床検体を増やし特異性、感度の検討と、判定基準の設定を行い、臨床応用の有用性について検討をすすめる予定である。また、病態発現に関する病原因子の探究を比較ゲノム解析の視点から行うためには、*C. psittaci*ゲノム配列の解読と比較解析が必要であるが、現時点で*C. psittaci*のゲノム配列は未解読である。本年度は、我が国において集団発生事例で分離されたMat116株、およびセキセイインコ由来Budgerigar No.1株の2株を選定し、ゲノム配列の解読と比較解析に着手した。今後解析を進める予定である。

①伴侶動物等に由来する感染症に関する研究；東京都、神奈川県、静岡県のイヌおよびネコの*Bartonella*属菌感染状況を検討したところ、イヌ146頭中2頭(1.4%)、ネコの169頭中4頭(2.4%)から*Bartonella*属菌が分離された。2頭の犬から分離された4株はいずれも*B. clarridgeiae*、4頭のネコから分離された13株のうち、3頭から分離された8株は*B. henselae*、1頭から分離された5株は*B. clarridgeiae*であった。イヌ159頭中1頭(0.6%)で*B. henselae*に対する抗体が検出された。ネコの*B. henselae*に対する抗体陽性率は145頭中28頭(19.3%)であった。*B. henselae*の主要抗原蛋白の熱ショック蛋白質GroEL蛋白(58kDa)の組換え蛋白(rGroEL蛋白)を作製し、その血清診断用

抗原としての有用性について検討した。*B. henselae*のGroEL抗原が全ての感染猫血清に認識されたことから、猫における*B. henselae*感染の血清診断用抗原として有用であることが示唆された。しかし、*B. henselae*組換えrGroEL/GSTと*C. burnetii*組換えrGroEL/GSTを抗原として用いたELISA吸光度の相関性は低く*B. henselae*rGroEL/GSTの診断用抗原としての有用性が示唆された。

真菌・寄生虫・レプトスピラ症などに関する研究；

②高度病原性真菌に関する研究；ヒストプラズマ(*Histoplasma capsulatum*)はribosomal RNA ITS領域配列に基づいた樹系解析により、6のクラスターに分けられる。うち1つはvar. *capsulatum*とvar. *farcininosum*の混在するクラスターで、我が国で発症しているイヌおよび渡航歴の無いヒト症例はこの遺伝子型による感染であった。ウマでのヒストプラズマ症は接触感染による強い伝播が知られているため、感染した動物との接触によるヒトおよび他の動物個体への感染は否定できないヒストプラズマ症は感染症法で指定された感染症ではないが、我が国に存在する最も危険度の高い真菌感染症として、全数の把握は急務と考えられ、動物の場合、淘汰措置も必要と考える。

愛玩動物における新興真菌症の発生状況に関しては*Candida albicans*以外で発症するカンジダ症、稀な菌種による真菌感染症が報告されるようになってきた。我が国でも稀な菌種による真菌症は近年多く報告されるようになってきている。高齢や免疫機能の低下した飼育者の場合、接触、咬傷事故、ひっかき事故などによる直接感染が懸念される。また水族館で飼育されているイルカ(沖縄美ら海水族館20頭)の呼気に含まれる病原性酵母の保有率とその分離株の薬剤感受性を調べたところ、

14 頭から病原性酵母が分離され、半数は *Candida albicans* 以外であり、*C. albicans* を含めて薬剤抵抗性株が多く分離された。飼育グループでのイルカとの接触やショーを観覧するとき、高齢者・免疫疾患を持つ場合の注意が必要となるかもしれない。

⑬輸入蠕虫症に関する研究；動物由来輸入蠕虫症の国内発生を監視し、適切な医療対応をとるための制度構築を目指した。蠕虫症の国内発生動向に関する正確なデータが得られないため、蠕虫症診断のレファレンス機能を持つ国内の研究機関に事例登録の協力を求め、インターネットを介した情報把握システム立ち上げを開始した。今年度は39例の蠕虫感染症事例があった。またイヌ回虫症、旋尾線虫症の血清診断法確立を目指し、診断用リコンビナント抗原作製を進め、旋尾線虫症については候補抗原の同定まで至った。イヌ回虫症については動物モデルの開発を通じて治療法を検討した。寄生虫は病原体の同定も形態的特徴のみでは困難なものがあり、そのための遺伝子マーカーによる分類法構築を試み、条虫症、吸虫症についての事例検討を加えた。

⑭住血吸虫症に関する研究；住血吸虫症は中間宿主の淡水産巻貝から放出される感染型幼虫の経皮感染によって引き起こされる蠕虫感染症で中国揚子江流域、フィリピンなどに分布する日本住血吸虫症とアフリカ、中南米に分布するマンソン住血吸虫症が重要である。本研究では放射線照射セルカリア感染によるワクチン効果が確かめられたミニブタの血清中の特異抗体に反応する住血吸虫抗原の同定を行い、新しいワクチン候補の探索を行った。また、糞便中虫卵検査に代わる簡便で高感度の診断法作製のために感染の際に血中に検出される循環抗原を特異的に認識するモノクローナル抗体を作製し、感染の有無を決定するシステムを開発した。

⑮蠕虫症の疫学調査研究；吸虫、条虫、線虫という多様な動物種から構成される蠕虫は動

物だけではなく人を宿主に寄生し、思いがけない病害を与える事がある。このような寄生蠕虫の例として、肺吸虫とアニサキスを取り上げ、我が国で発生した人体症例の分析を通じて、原因虫種を解析した。また、分布状況を検索・考察する事で、コントロール法の確立を模索した。輸入症例発生が危惧される肺吸虫について、流行地のインドと中国の研究者に協力を仰ぎ、現地の材料を用いて種の同定・鑑別に取り組んだ。以上の結果、佐賀県での集団事例はウェステルマン肺吸虫が原因虫と再確認し、宮崎肺吸虫症発生の危険性を指摘した。また、アニサキス症の主な原因虫は、我が国では狭義の *Anisakis simplex* である事を明らかにした。

⑯レプトスピラ症の疫学等に関する研究；レプトスピラ感染防御抗原 LigA-m が、イヌで感染防御抗原として機能するかについて調査した。ビーグル犬各2頭に LigA-m 組換えタンパク質を筋肉内投与することにより、LigA-m に対する抗体を誘導することができた。現在、この免疫したイヌに対して感染実験を開始しており、その結果が待たれ。

2006年8、9月に宮崎県北部において7例のレプトスピラ症患者が発生した。その集団発生の感染原因特定のため、同地域でのレプトスピラ保有動物調査を行った。最も重要なネズミからレプトスピラ分離を試みた。北部延岡市で16匹、西臼杵郡15匹、東臼杵郡26匹を捕獲し、腎臓の培養を行った。延岡市および西臼杵郡で捕獲されたアカネズミそれぞれ1匹と5匹からレプトスピラが分離された。分離株はすべて *L. interrogans* であることが明らかとなった。また分離株の血清型は西臼杵郡5株は血清型 Autumnalis、延岡市分離株は Hebdomadis であると推定された。ネズミ分離株の血清型は、同地区で発生した患者の推定感染血清型と同一であった。また患者が作業を行っていた畑や林に、シカやイノシシが出没していたことから、地元猟友会の協力によ

リシカ、イノシシを捕獲し腎臓からレプトスピラ遺伝子 *flaB* の検出を行った。その結果、シカ腎臓 52 検体中 12 検体(23.1%)、イノシシ 39 検体中 4 検体(10.3%)、タヌキ 1 検体中 1 検体(100%)から *flaB* が検出された。腎臓に定着していたレプトスピラ種は *L. interrogans* (6 検体)および *L. borgpetersenii* (11 検体)であることが明らかになった。延岡の動物病院に保存されていたレプトスピラ症疑いのイヌ血清について顕微鏡下凝集試験を行ったところ、8 頭中 6 頭からレプトスピラ抗体が検出された。本調査により、宮崎県北部地域では多くの野生動物がレプトスピラを保有していることが明らかとなった。西臼杵郡 B 地域のネズミは患者が作業を行っている畑で捕獲されており、また分離株は患者血清と特異的に反応したことから、ネズミが感染原因であることが強く示唆された。しかし、シカやイノシシも患者の畑や林などの作業場に出没することから、これら動物も感染原因である可能性もある。これら野生動物の狩猟を行う人や、それらを加工・調理する人は、レプトスピラ感染のハイリスクグループであることを示唆しており、これらの人々へのレプトスピラ感染に対する注意喚起および感染防止策の教育を行うことが重要である。また猟犬からレプトスピラ抗体が検出されたことから猟犬は狩猟を通してレプトスピラに感染したことが示唆された。同地域における狩猟者などハイリスクグループの人々および猟犬におけるレプトスピラ感染の実態把握を行うことも今後の課題である。

⑩レプトスピラに関する研究; 輸入齧歯類 10 種 151 頭からレプトスピラの検出を行った。腎臓培養からはレプトスピラは検出されなかった。一方、鞭毛遺伝子を標的とした PCR によりステップレミング 1 頭の膀胱抽出 DNA からレプトスピラ特異的遺伝子が検出され(検出率 0.7%)、*Leptospira alexanderii* と同定された。日本に存在しない遺伝種のレプトスピラが輸入齧歯類を通じて侵入していることが示された。宮城県内、長

野県内、名古屋市内のマンホール、西宮市内のマンホールにおいて野鼠の捕獲調査を行いレプトスピラの分離を試みた。名古屋市内(保有率 11.1%)および西宮市内(保有率 3.1%)のドブネズミからレプトスピラの分離に成功し、これらはいずれも *L. interrogans* に属するが、血清型を同定できない未同定血清型であることが明らかとなった。一方、宮城県内(保有率 7.7%)および長野県内(保有率 4.4%)の山間部や田園地帯において捕獲されたアカネズミからレプトスピラが分離された。これらは *gyrB* 遺伝子解析により *L. interrogans* と同定され、さらには免疫抗血清を用いた交差凝集試験により血清型 Autumnalis であると同定された。都市部の下水道などに生息するドブネズミはレプトスピラの重要な保有動物であることが確認され、下水道などの管理従事者などは感染のリスクがあることが明らかとなった。

E. 結論

本研究班これまで個々に行われてきた課題を相互評価し、一貫したリスク評価に基づく動物由来感染症の総合的統御法の確立を目的としている。そのためには個々の研究を推進するだけでなく、相互的にそのリスクを評価し、リスクに応じた統御法を検討するための枠組みを作成する必要がある。本年度は個々の病原体・動物の組み合わせの研究の推進状況の把握・相互の問題の情報交換を通じて統一的評価を進めるための検討を開始した。なお、個々の研究成果は以下の通りである。

①強化された法律の遵守と有効性について検証を進めた(例: 輸入届出制、両生類・爬虫類のトレーサビリティ)、強化対象とならなかった動物種に由来する感染症調査(例: 両生類・爬虫類、野生鳥類等)、ハイリスク者の疫学調査を進めた。②伴侶動物等からの病原体の分離、日常的な感染のリスクに関するガイドライン作製のための検討、展示用動物の調査を進めた。③野生動物の病原体調査及び野

生動物由来感染症の統御法の確立（野生キツネのエキノコックス統御、コウモリの疫学調査等、いずれも海外との共同研究推進を含む）。④伴侶動物等を対象とした感染症統御のための基盤研究を進めた（イヌのブルセラ症、エキノコックス、ネコ引っかき病、鳥類のオウム病などについて迅速診断法の開発など）。⑤病原体別の感染症統御の研究を進めた（病原性真菌類の診断法、輸入蠕虫症のデータベース作成・治療法開発、日本住血吸虫、肺吸虫の迅速診断、野生げっ歯類などからレプトスピラ分離、ワクチン開発など）。

個別の研究の進捗状況、問題点等が明瞭になったので、本年度からは個々の研究を推進すると共に、一貫したリスク評価のための研究に取り組む組織を立ち上げ、国内に常在する動物由来感染症を含め、統一的リスク評価のための方式の作成を目指す。

F. 健康危険情報

分担研究報告を参照

G. 研究発表

分担研究報告を参照

招待講演

- 吉川泰弘 「食の安全と獣医師の役割」世界獣医デー 2006年4月 岐阜
- 吉川泰弘 「動物由来感染症としての結核」日本結核学会 2006年4月 仙台
- 吉川泰弘 「BSEのリスク管理と問題」総合大学院大学シンポ 2006年7月 葉山
- 吉川泰弘 「サル類の感染症」2006年9月 韓国 齊州島
- 吉川泰弘 「BSEと食の安全」 2006年9月 岩手大学シンポ 岩手
- 吉川泰弘 「人獣共通感染症の統御」国際熱帯病学会 2006年10月 長崎
- 吉川泰弘 「Zoonosis control」アジア霊長類・野生動物学会 タイ
- 吉川泰弘 「世界のBSE現状と問題」厚生省選発性感染症 2007年2月 東京
- 吉川泰弘 「BSEの現状と問題」食のセンターシンポ 2007年2月 弥生講堂 東大
- 吉川泰弘 「Zoonosis measure」日独獣医学会 2007年2月 大宮 埼玉
- 吉川泰弘 「動物由来感染症と鳥インフルエンザ」北里大シンポ 2007年3月 東京
- 吉川泰弘 「感染症法の変遷」動物検疫所研修会 2007年3月 根岸 神奈川

研究要旨

動物由来感染症対策強化後の問題点として、ハイリスク者を対象とした動物由来感染症の汚染実態の把握、バランスの取れた、一貫性のある動物由来感染症のリスク評価法開発のためのアンケート調査を進めた。また、外来ウイルス (LCM) の診断法開発、野性・伴侶動物のエキノコックス感染の統御、輸入動物 (有袋類、爬虫類) 及び野生鳥類の病原体保有状況調査、伴侶動物由来感染症 (バルトネラ症、ブルセラ症)、輸入寄生虫病の監視、高病原性真菌に関する基盤研究を進めた。具体的にはハイリスク者の抗体保有状況調査結果、フィールドの宿主動物の病原体汚染状況、動物由来感染症の専門家への意識調査等の情報を利用して、一貫性のあるリスク評価方法の開発を進めた (吉川、協力研究者太田周司・内田幸憲、東レ)。さらに、研究分担者は個別の研究を進めるとともに、リスク評価に必要な情報の収集、分析を進めた。

- 1) 輸入動物等及び輸入病原体に関する研究: カメ類のサルモネラ保有状況の調査を進めた (ゼニガメは37.5%、アカミミガメは100%陽性であった)。全てのミドリガメからParatyphi Bが検出された。前年度比200%増と輸入が激増した有袋類について調査した。フクロモモンガ30頭を購入して調査したところ、成体から小形条虫2、フィラリア1、胆管-胆嚢吸虫3が、インドネシア産幼体10からサルモネラが分離された (宇根、増澤、吉川)。侵入する可能性のある病原体として脈絡髄膜炎 (LCM) ウイルスに関する診断法を開発した (森川)。
- 2) 野生動物及び野生動物由来病原体に関する研究: エキノコックスに関してはシステムチックなペイト散布等を通じ、野生動物での病原体の統御とその有効性の評価を進めた (神谷)。北海道地域以外でも、まれに伴侶動物 (イヌ、ネコ) での虫卵陽性例が見られることから、青森、大阪、埼玉などを主体に疫学調査をおこなった (奥、川中)。野生化したアライグマに関しては捕獲数で見ると、H17年度69頭、H18年度450頭と増加し、H19年度は既に575頭となっている。捕獲動物を対象に回虫の汚染調査を進めたがいずれも陰性でありリスクは低いと思われる (神奈川県、埼玉県)。陽性例の見られた展示動物も含め調査を進めた (川中)。フィールド (宮崎県) 及びハイリスク地域 (港湾等) における齧歯類由来のレプトスピラの疫学調査と病原性に関する研究を行った (小泉)。
- 3) アジアの近隣諸国における研究・疫学調査: 翼手目に関しては採取許可をフィリピン政府から得て、マキリン山、ポリロ島 (ルゾン領域)、イロイロ島 (中間諸島領域) で野生コウモリを捕獲し、各種ウイルス抗体、SARSウイルス受容体 (ACE2) 等の調査を進めた (吉川)。中国青海省と玉樹チベット族自治州でエキノコックス症の疫学調査を進めた (川中)。アジアに分布する肺吸虫の調査を進めた。タイでは新型のウェステルマン肺吸虫を発見し、中国ではヒロクチ肺吸虫をメタセルカリアとして分離した。インドではヒロクチ肺吸虫とスクリアピン肺吸虫のメタセルカリアを入手した。日本住血吸虫に関しては江西省の住血吸虫浸淫地あるいは非浸淫地に居住する対象者の血清・尿を用いて新規診断法の評価を行なった (平山)。
- 4) 伴侶・愛玩動物由来病原体に関する研究: カブノサイトファーガ、パスツレラ、ペストに関しイヌ、ネコ等の汚染状況を調査した (今岡)。H19年度に引き続き *Bartonella* 症の調査の一環としてイヌ、ネコ、輸入齧歯類などのペットを対象に感染状況を細菌学的、血清学的に検討し、迅速診断法を開発を行った (丸山)。また患者から分離されたオウム病クラミジアの全塩基配列の決定、早期診断法の開発を進めた (岸本)。
- 5) 真菌・寄生虫等に関する研究: 高度病原性真菌の研究及びイルカの真菌症に関する解析を進めた (佐野)。輸入蟻虫症のデータベース作成、追跡調査、診断法開発 (太田)。ミニブタを用いた寄生虫ワクチンの有効性評価 (平山)、アニサキス症の実態調査を進めた (杉山)。各研究に関しては概ね予定通りの進捗状況であった。

分担研究者:所属氏名

宇根有美(麻布大学獣医学部)
森川 茂(国立感染症研究所)
神谷正男(酪農学園大学)
奥祐三郎(北海道大学大学院)
川中正憲(国立感染症研究所)
今岡浩一(国立感染症研究所)
岸本壽男(国立感染症研究所)
佐野文子(千葉大学真菌医学研究センター)
丸山総一(日本大学生物資源科学部)
太田伸生(東京医科歯科大学)
平山謙二(長崎大学熱帯医学研究所)
杉山広(国立感染症研究所)
増澤俊幸(千葉科学大学薬学部)
小泉信夫(国立感染症研究所)

特別協力研究者:所属氏名

内田幸憲(神戸検疫所)
太田周司(東京検疫所川崎検疫所支所)

A 研究目的

国際獣疫事務局や世界保健機構のような国際機関、及び先進各国とも動物由来感染症の防疫体制の確立に努力している。しかし、対策が最も進んでいる米国でも、ウエストナイル 熱のアウトブレイクが起り、また愛玩動物からサル痘の感染が報告されており、動物由来感染症を制御することの困難さが浮き彫りにされた。さらに翼手目由来が疑われる SARS の世界的流行、高病原性鳥インフルエンザのヒトおよびニワトリでの流行がアジア、欧州、アフリカで報告され、動物由来感染症に対する防疫体制の確立と危機管理対応の困難さが明らかになった。

幸い、わが国では平成 15 年、感染症法の見直しにより動物由来感染症の対応は法的には大幅に改善された。輸入野生動物に由来する最もリスクの高い感染症に対しては、輸入届出制の導入や法定検疫体制の確立により、有効にリスク回避措置をとることができたと考えられる。野生動物の輸入天国であったわが国が、数年を経ずして先進国の中でも最も厳密なリスク管理措置をとることが出来たことは評価されてよい。他方、国内に常在する動物由来感染症に関しては、まだ統一的リスク評価がなされ

ておらず、従来の研究を一貫した評価なしに継続している状態である。今後のリスク管理を考えると、一貫した評価方式を確立し、科学的評価に基づく重点的リスク管理措置をとる必要がある。

本研究班は、これまで個々に行われてきた課題(ウイルス、細菌、寄生虫、野生動物、伴侶動物、輸入動物などに関連する動物由来感染症に関する研究)を統括し、動物由来感染症の一貫した、統一的リスク評価法の確立、リスク評価の結果に応じた統御法の確立を目指している。すなわち動物由来感染症の総合的調査、一貫性のある評価、有効なリスク回避措置の検討、必要であれば危機管理対応の提言を目指すものである。これまでシステムチェックにこうした研究は行われてこなかったため、本研究班の成果は行政、医師、獣医師、公衆衛生従事者、地方行政などに強いインパクトを与え、各種のメディアの他、医師会、獣医師会、厚生省、農水省の研修会や各種学会の公開講座等で、リスクコミュニケーションの役を果たすことが期待される。

B,C,D 研究方法・結果と考察

・改良された輸入動物追跡システム II を URL に設定し、協力が得られた大手動物輸入者 6 名により 2007 年 1 月から 6 月までの 6 ヶ月間入力の実行試験を行った。その結果、468 件 26,974 個体の輸入について入力があった。その内訳の概要はほ乳類が 74 件 13 種類、鳥類が 196 件 54 種類、は虫類が 164 件 103 種類、両生類が 29 件 18 種類、昆虫類が 5 件 5 種類であった。これらの輸入動物には、感染症のリスクが高い動物として輸入後の所在地を市町村名まで記載することを求める動物種は含まれていなかった。この実行試験を通じ学名、和名、英名等が収集された動物の種類は 964 種類で、その内訳は、ほ乳類が 13 目 179 科 271 種類、鳥類が 23 目 67 科 393 種類、は虫類が 2 目 30 科 46 種類、両生類が 2 目 22 科 54 種類であった。これらのデータにその動物が属する分類学上の綱、目、科を加え、この動物に該当するこれまでに入手した動物の画像、関税番号を加えたデータを集積した。

・ハイリスクグループである動物病院勤務者の健康調査を行った。調査は倫理規定に厳重に基づき、アンケート調査及び血清抗体価測定(ネ

コヒツカキ病、トキソプラズマ症、オウム病、腎症候性出血熱、リンパ球脈絡髄膜炎、レプトスピラ症、犬ブルセラ症の各抗体)を行った。今回の対象者は(社)埼玉県獣医師会西支部所属の動物病院勤務者等163名であった。内訳は、獣医師74名、獣医看護師63名、トリマー12名、事務7名、行政(動物関連)7名であった。疾病別の抗体陽性者数は、ネコひっかき病16名(9.8%)、トキソプラズマ症8名(4.9%)、オウム病6名(3.7%)、犬ブルセラ症1名(0.6%)であった。腎症候性出血熱、リンパ球脈絡髄膜炎、レプトスピラ症の抗体陽性者は皆無であった。動物咬傷等の経験は140名(85.9%)、はっきりと病気をうつされたと思われるケースは15名(9.2%)であった。これら動物咬傷等の被害があっても、医師を受診した者は46名(32.9%)にすぎず、自己判断での治療115名(82.1%)、何もしない18名(12.9%) (重複解答)であった。動物からの感染が動物病院か自宅かなどは、さらに詳しく解析する必要があると思われた。

・一貫性リスク評価を進めるためのアンケート調査を始めた(分担報告書参照)。

・輸入されたフクロモモンガ30匹(インドネシア産の成体10匹、幼体10匹とタイ産の幼体10匹)を検査したところ、インドネシア産成体1匹の膀胱を用いたPCR検査でレプトスピラが陽性となり、インドネシア産幼体4匹にクリプトスポリジウムが確認された。また、インドネシア産成体2匹から小形条虫、1匹から糸状虫、3匹から胆管-胆嚢吸虫が検出された。さらに、インドネシア産成体1匹、幼体10匹とタイ産の幼体2匹からサルモネラが分離された(平均保有率43.3%)。なお、ベスト、ジアルジアを保有する個体はいなかった。今回の調査結果により、衛生証明書が添付され輸入された哺乳類であるにもかかわらず、新4類感染症に分類されているレプトスピラや、人獣共通寄生虫である小形条虫を保有していることが明らかとなった。このことから、輸入動物届け出制度が施行された現在も、一般市民に愛玩用としての哺乳類の取り扱いに関して注意を喚起し、動物取り扱い業者へは駆虫を含めた衛生指導が必要と思われる。

カメ類のサルモネラ保有状況の調査を進めた(ゼニガメは37.5%、アカミミガメは100%陽性であった)。全てのミドリガメから

Paratyphi Bが検出された。

2005年北海道でスズメの大量死事例が発生し、2006年7月頃には関東でスズメの斃死体が観察されるようになった。調査の結果、①検索したスズメ計61羽のうち、57.4%(35/61)のスズメからS. Typhimuriumが検出された。また、調査期間中、②同エリアで死亡した飼育鳥類の4.4%(3/63)、③飼育中の鳥類、哺乳類の糞から4.8%(5/113)、④同エリアおよびその付近に飛来するスズメの糞から2.3%(5/214)の割合でS. Typhimuriumが検出された。病変は諸外国のサルモネラ症事例の報告とほぼ一致していた。今回検出されたS. Typhimuriumのファージ型はDT40で、これは諸外国の野鳥大量死事例および2006年の北海道のサルモネラ症事例で検出された型と同一であり、過去国内で検出されたことのないファージ型であることから、本事例のS. Typhimuriumが海外から持ち込まれた可能性があり、本州事例と北海道事例は感染源など何らかの関連があるものと推察される。

・リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス(LCMV)は、ウイルス蛋白のアミノ酸配列は良く保存されているが、遺伝子配列は同義置換が多いため、全てのウイルス株を網羅できるRT-PCR用プライマーの設定が難しい。これまで、ウイルス特異的primersを用いないRapid Determination of Viral RNA Sequence (RDV)法により、LCMV検出が可能であることを明らかにした。近年、我々が分離したLCMV M1株のS-segmentの配列から、既知のLCMVと遺伝的距離があることが明らかになっているが、L-segmentの全配列を決定し解析した結果、M1株は昨年臓器移植により感染・死亡した患者から分離されたLCMV-like arenavirusと近縁であることが明らかとなった。

・繁殖・飼育を行ったエジプトルーセットオオコウモリ及びデマレルーセットオオコウモリを対象として免疫関連因子として自然免疫において重要なToll-like receptors (TLR)について同定及び遺伝子解析を行った。また、宿主防御機構に影響を及ぼす外的因子として環境汚染物質の蓄積が考えられる。環境汚染蓄積性化学物質は免疫抑制作用や変異原性作用があることが知られている。そこで環境汚染物質の蓄積が、コウモリにどのような影響を及ぼすかを評価するために、コウモリの薬物代謝酵素

チトクローム P450(CYP)について、酵素活性の検索及び遺伝子同定を行った。コウモリの免疫機構及び他のリスク因子の解析は、今後のコウモリ媒介感染症の総合的なリスク評価に有用である。また海外委託研究の一環として、ポリロ島およびバナイ島での野生コウモリの捕獲を行い、保有微生物の調査を進めた。

・エキノコックス流行地において、主に野生動物(キツネ)を対象に『感染源対策』に関わる研究を行ってきた。住民が主体となって、地域の資源(人材、産物を含む)、いわゆる『内発的発展力』を活用して一部の地域で汚染環境の修復に成功した。環境修復メニュー(キツネ駆虫剤入りカマボコ:ベイト作成+その散布+評価判定)の中でベイト散布法は、夏期の場合、十分な駆虫効果を得るためには毎月の散布が必要であること、また、非散布地域の境界領域に陽性例が見られることから野生動物を対象としてエキノコックス症感染源対策には、広領域の散布が効果的であることを明らかにした。その他、札幌圏に隣接した野幌森林公園ならびに倶知安町に隣接する京極町・蘭越町での野生動物:キツネから人への感染リスクの実態(ベースライン・データ)を把握しベイト散布による感染源対策を開始することとした。

・北海道の伴侶動物のエキノコックス検査を行ってきた。毎年エキノコックス感染ペットを摘発してきたが、平成19年には犬・猫ともにエキノコックスの感染は確認されなかった。これは検査依頼頭数が減少していることと関連しているものと考えられる。感染動物摘発のためには検査が不可欠であるが、今後飼い主へ検査を促進させる必要がある。また、ペットのエキノコックス診断法について開発・改善を試みてきたが、わかもと製薬と共同で、犬に対する迅速簡便エキノコックス診断キット(インムノクロマト)を完成させた。平成19年にこのキットを農水省に申請し、承認された。平成20年には販売開始され、臨床獣医師が現場で伴侶動物用に利用可能となるものと思われる。

・野生化したアライグマに関しては捕獲数で見ると、H17年度69頭、H18年度450頭と増加し、

H19年度は既に575頭となっている。捕獲動物を対象に回虫の汚染調査を進めたがいずれも陰性でありリスクは低いと思われる(神奈川県、埼玉県)。陽性例の見られた展示動物も含め調査をすすめた。

・ブルセラ症の診断では試験管内凝集反応(TAT)が用いられるが、検査に必要な血清量が多く、煩雑であるため、一度に多くのサンプルを検査することが難しい。そこで、これに代わる方法として、マイクロプレート凝集反応を行った。MATと不活化*B. canis*菌体もしくはHSEを抗原として用いたELISAおよび、市販の迅速判定KITを比較検討した。その結果、MATとTATでは、試験結果に良好な相関が見られ($R^2=0.893$)、感度もMATの方が良かった。Test KitはMATと同等の感度と特異性を示した。ELISAとMATの相関はやや劣っていたが($R^2=0.635$)、スクリーニングには使用できそうであった。抗原の調整・選択を含めてさらに検討が必要であると考えられた。

・ネコの口腔内には、*Capnocytophaga* spp.が高率に存在しており、日本国内においてもネコ咬傷・搔傷による感染の潜在的リスクがあることが確認された。これまでヒトの症例の報告は多くないものの、発症した場合の死亡率は比較的高く、また症例について十分な把握ができていないことも考えられることから、今後、菌種レベルでの性状や病原性の解析を進める必要がある。

・オウム病の早期診断体制の確立と、患者発生のコントロールを目的として検討をすすめてきた。簡便な血清診断法として、*Chlamydophila psittaci* 感染細胞を用いた間接蛍光抗体法の臨床応用について検討した。19年度は臨床検体を増やし特異性、感度の検討と、判定基準の設定を行い、臨床応用の有用性について検討した。本法にてオウム病抗体陽性20検体を測定した結果、標準法のmicro-IF(MIF)法と高い相関性が認められた($r=0.88$)。一方、肺炎クラミジア抗体陽性血清では、本法の種特異性の高さが示唆された。

・千葉県中部の農村地帯にある農協職員が、職場近くで子ネコを4頭拾い職場に持ちかえり、

職場および関係者で飼いつけたところ、接触した6名に白癬が発症した。白癬菌はネコから4株、ヒトから4株、計8株が分離され *A. vanbreudsgheemii* と同定した。ネコとヒトは内服または外用治療で治癒した。ネコから分離される白癬菌は *Microsporum canis* が多いが、今後は本菌種も念頭に入れて同定を進める必要がある。

・1988年～1991年に埼玉県で採材した猫150頭、2004年～2006年に東京都および埼玉県で採材した猫227頭の血清について、*Bartonella henselae* (B. h)、*Toxoplasma gondii* (T. g)、FIV、FeLVならびにフィラリア (FHW) の感染状況を比較検討した。B. h. 抗体陽性率は旧サンプルが23.3%と、新サンプルの9.7%に比べ、有意に高い値を示した ($P < 0.01$)。T. g 抗体陽性率は旧サンプルが21.3%と、新サンプルの1.8%に比べ有意に高い値となった ($P < 0.01$)。FIV 抗体陽性率は旧サンプルが12.7%と、新サンプルの7.0%に比べやや高い値を示した。また、FeLV 抗原陽性率は、旧サンプルが2.0%、新サンプルが3.1%であった。FHW 抗体は旧サンプルの2.0%が陽性を示したのみで、新サンプルは全て陰性であった。

・動物由来の蠕虫感染による幼虫移行症の国内発生動向に関する正確なデータが得られないため、疫学調査と診断のレファレンス機能強化をめざした。イヌ回虫症疑い23例の抗体検査の結果、8例が陽性であった。イヌ回虫症のうちで、臨床的に問題となる眼トキソカラ症の免疫診断法をヒト眼内液を用いて検討し、眼内液中の抗体の診断的な意義を明らかにした。平成19年度に栃木県保健環境センターに搬入された仔犬36頭の検査で67%が糞便中のイヌ回虫卵が陽性であった。国内に定着した代表的な輸入蠕虫症の病原体である広東住血線虫の東京都内の実態調査として、ドブネズミを捕獲して調査したが、広東住血線虫の陽性個体は検出されなかった。

・放射線照射セルカリア感染によるワクチン効果が確かめられたミニブタの血清中の特異抗体に反応する住血吸虫抗原分画を同定し、新規ワクチン候補分子の探索を試みた。また、感染の際に血中に検出される循環抗原

を特異的に認識するモノクローナル抗体を作製し、感染の有無を決定しうる ELISA システムの系を用いて住血吸虫症浸淫地におけるフィールドサーベイを主体とした、実際面での応用についての検討、及び動物実験モデルとしてミニブタの感染系における、循環抗原量との相関について検討を行った。

・肺吸虫とアニサキスを取り上げ、コントロール法の確立を模索した。肺吸虫については、その発生状況を調査し、予防対策法を考察した。輸入症例の発生が危惧される肺吸虫については、流行地のタイ・インドおよび中国の研究者に協力を仰ぎ、現地の材料を用いて、種の同定・鑑別につながる情報の収集に取り組んだ。更にアニサキスに関しては、感染源対策にも適用できる同定・鑑別法の確立を進めた。

・輸入フクロモモンガ30頭からレプトスピラの検出を行った。腎臓培養からはレプトスピラは検出されなかった。鞭毛遺伝子を標的としたPCRによりインドネシア産1頭の膀胱抽出DNAからレプトスピラ特異的遺伝子が検出された。遺伝系統解析により *Leptospira interrogans* と同定された。名古屋市、および西宮市内でドブネズミを捕獲しレプトスピラの分離を試みた。名古屋市内 (保有率39%) および西宮市内 (保有率30%) のドブネズミからレプトスピラの分離に成功し、これらはいずれも *L. interrogans* に属するが、血清型を同定できない未同定血清型であることが明らかとなった。北海道千歳近郊泉郷の森林で捕獲したアカネズミからレプトスピラ1株が分離された。これらは *gyrB* 遺伝子解析により *L. borgpetersenii* と同定した。

・2006年レプトスピラ症の多発があった宮崎県でヒトとイヌのレプトスピラ症強化サーベイランスを行った。ヒトではレプトスピラ症疑い10例中4例のレプトスピラ症が確定診断された。イヌは20例中17例がレプトスピラ症と確定診断され、イヌ9頭の血液からレプトスピラが分離された。レ *flaB* 遺伝子の部分塩基配列から、分離株はすべて *Leptospira interrogans* であり、また血清群は Australis, Canicola, Hebdomadis であ