

○研究代表者の研究歴等**・過去に所属した研究機関の履歴**

- ・名古屋大学医学部小児科 (1975-2003)
- ・東京大学医科学研究所病理研究部 (1976-1977)
- ・NIDR, NIH 米国 (1979-1981)
- ・岡山大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学 (2003-現在)

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

- ・鈴木栄 (名古屋大学小児科)
- ・青山友三 (東京大学医科学研究所 病理研究部)
- ・A. L. Notkins (NIDR, NIH)
- ・R. J. Whitley (アラバマ大学小児科)
- ・中村祐輔 (東京大学医科学研究所)
- ・岡部信彦、佐多徹太郎 6 (国立感染症研究所)

・主な研究課題

- ・インフルエンザ脳症の病態・診断・治療法の開発に関する研究
- ・小児の急性脳炎・脳症の病態・診断・治療に関する研究
- ・ウイルスの母子感染に関する研究 (HCV, HBV, HSV, CMV など)
- ・重症ウイルス感染症の病態・診断・治療に関する研究 (EBV, HSV, CMV, インフルエンザなど)

・これまでの研究実績

- (1) Ichiyama T, Morishima T, Kajimoto M, Matsushige T, Matsubara T, Furukawa S. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 in influenza-associated encephalopathy. *Pediatr Infect Dis J*. 26(6):542-4, 2007.
- (2) Kawada J, Kimura H, Kawachi Y, Nishikawa K, Taniguchi M, Nagaoka K, Kurahashi H, Kojima S, Morishima T. Analysis of gene-expression profiles by oligonucleotide microarray in children with influenza. *J. Gen. Virol*, 87(Pt6):1677-1683, 2006.
- (3) Ichiyama T, Morishima T, Suenaga N, Kajimoto M, Matsubara T, Furukawa S. Analysis of serum soluble CD40 ligand in patients with influenza virus-associated encephalopathy. *J Neurol Sci*, 239(1):53-57, 2005.
- (4) Kimura H, Hoshino Y, Hara S, Sugaya N, Kawada J, Shibata Y, Kojima S, Nagasaka T, Kuzushima K, Morishima T. Differences between T cell-type and natural killer cell-type chronic active Epstein-Barr virus infection. *J. Infect. Dis*, 191(4):531-539, 2005.
- (5) Kawada J, Kimura H, Ito Y, And Y, Tanaka-Kitajima N, Hayakawa M, Nunoi H, Endo F, Morishima T. Evaluation of systemic inflammatory responses in neonates with herpes simplex virus infection. *J. Infect. Dis*, 190(3):494-498, 2004.
- (6) Kawada J, Kimura H, Ito Y, Hara S, Iriyama M, Yoshikawa T, Morishima T. Systemic cytokine response in patients with influenza-associated encephalopathy. *J. Infect. Dis*, 188(5):137-140, 2003.
- (7) Kimura H, Morishima T, Kanegane H, Ohga S, Hoshino Y, Maeda A, Imai S, Okano M, Morio T, Yokota S, Tsuchiya S, Yachie A, Imashuku S, Kawa K, Wakiguchi H; Japanese Association for Research on Epstein-Barr Virus and Related Diseases. Prognostic factors for chronic active Epstein-Barr virus infection. *J. Infect. Dis*, 187(4):527-533, 2003.
- (8) Morishima T, Togashi T, Yokota S, Okuno Y, Miyazaki C, Tashiro M, Okabe N; Collaborative Study Group on Influenza-associated Encephalopathy in Japan. Encephalitis and encephalopathy associated with an influenza epidemic in Japan. *Clin. Infect. Dis*, 35(5):512-517, 2002.

・平成 21 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業への新規研究課題の応募状況

「インフルエンザ脳症の発症因子の解明とそれに基づく発症前診断方法の確立に関する研究」

本研究の目的と意義

(1)発症因子の解明:

インフルエンザ脳症は致死率が30%と高く、毎年数百例の発症がある。本症の発症因子の解明とそれに基づく治療法の確立およびハイリスク児の発症前診断法の開発は重要な課題である。

(2)病態の解析:

本症の病態解析の研究結果は、新たな治療法の開発にも繋がる。

(3)インフルエンザ脳症研究結果の応用:

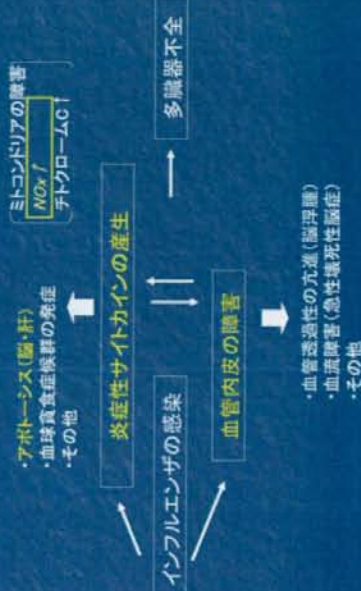
A インフルエンザ脳症の病態研究は、年間1,000例に達するその他の病因による小児の急性脳炎・脳症の診断・治療法の確立に応用できる。

B cytokine storm による重症化が注目されているH5N1トリインフルエンザ脳症例の治療法の開発にも資与しうる。

(4)本症の疫学調査およびガイドラインの改訂:

インフルエンザ脳症の疫学調査の継続を通じて、現在、広く普及しているインフルエンザ脳症ガイドライン(2005年版)の効果の検証と新たな知見に基づく改訂を実施する。

研究班が明らかにしたインフルエンザ脳症の発症機序



(1)ガイドライン普及による予後の改善

研究班結果より



新たな治療法の確立

- ・ラテイクアルスカベンジャー用いた治療
- ・REDOX制御
- ・抗サイトカインモノクロナル抗体
- ・その他

(2)インフルエンザ脳症の発症要因の解明

- TLR発現の異常 (TLR-3) *Nunoi et al.*
- CPTII (carnitine palmitoyltransferase II)の異常
- Thioredoxin-binding Protein-2 の異常
- TIMP-1 (MMP-9抑制不全) *Ichiyama et al.*
- その他、先天性代謝異常症
脂肪酸β酸化の異常 (3-5%) *Yamaguchi et al.*
- X, Y (東大医科研とのSNPs共同研究) *Nakamura and Morishima*

複数の因子の関与 → 多面的解析の重要性

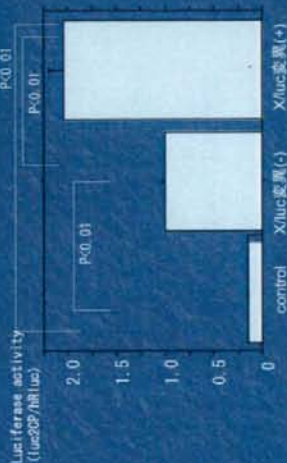
(2) 宿主側発症因子の解明
GENE (X) 2006-07

	Risk homo	Hetero	Non-risk homo
脳症(+)	0(0)	9(20)	36(80)
脳症(-)	0(0)	35(2.3)	1519(97.7)
			(%)

P=7.2E-13

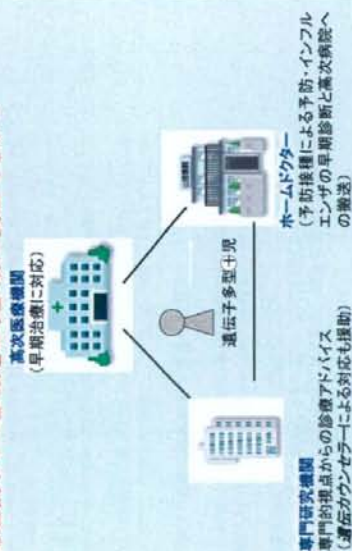
中村 班員

Promoter活性の検討



1. 「X」の promoter 領域に変異により、promoter 活性が上昇。
 2. 「Y」の蓄積による細胞障害 (iNOS, ROS, IL-6 などの影響を受ける)
 3. TNF α によりこの活性はさらに増強。
 4. これらにより、急速にapoptosisが誘導される。
- 藤島ら

発症前ゲノム診断をどう診断に役立てるか？



3. 病態の解明による新たな治療法の確立

Cytokine 血管内皮細胞 (BBB)、神経細胞の障害機序

インフルエンザ脳症では、MMP-9の活性が増強、TIMP-1の活性が低下。

(2007, Ichiyama, Morishima)

Matrix metalloproteinase 9 (MMP-9)

MMP: 細胞外マトリックス分解酵素

MMP-9: 脳血管床の主要な構成成分である

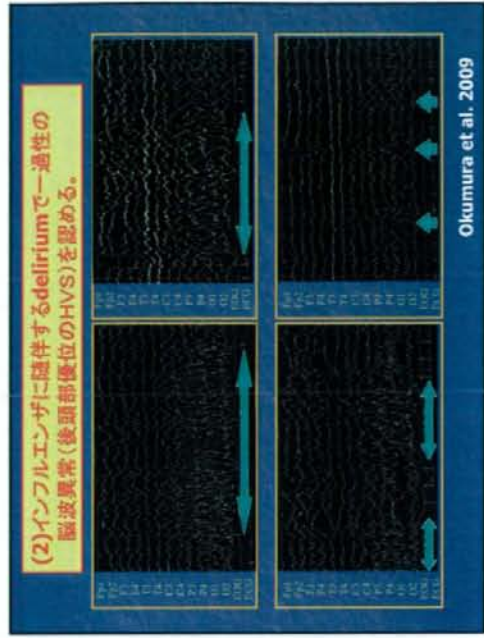
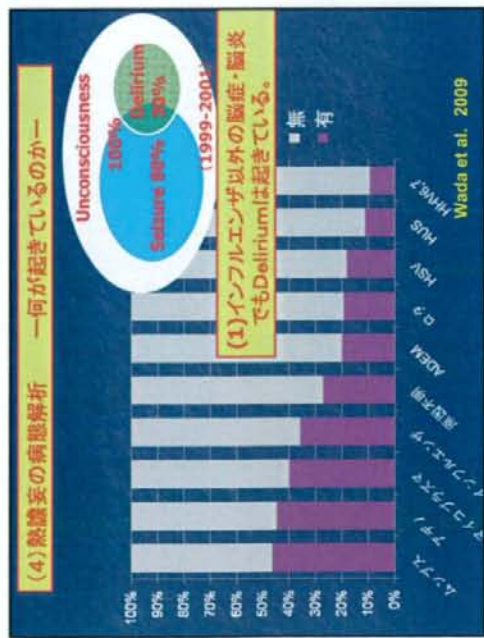
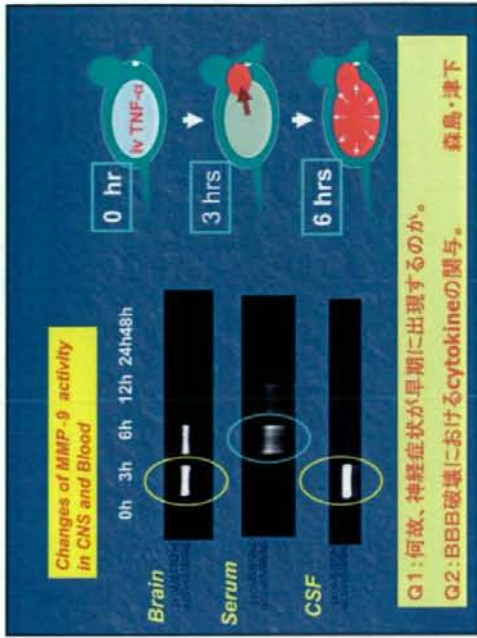
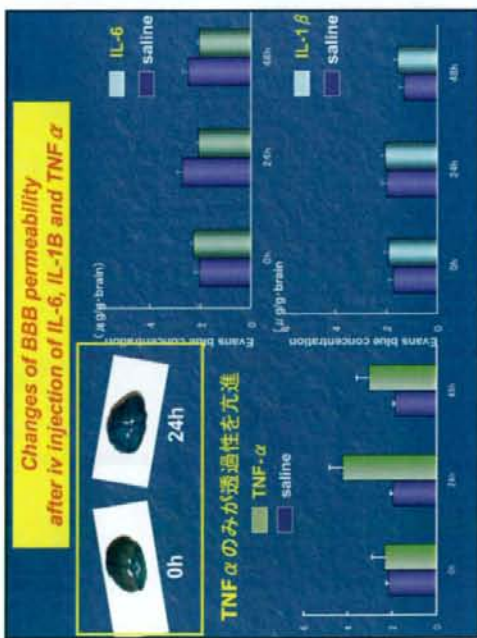
コラーゲンIVを分解

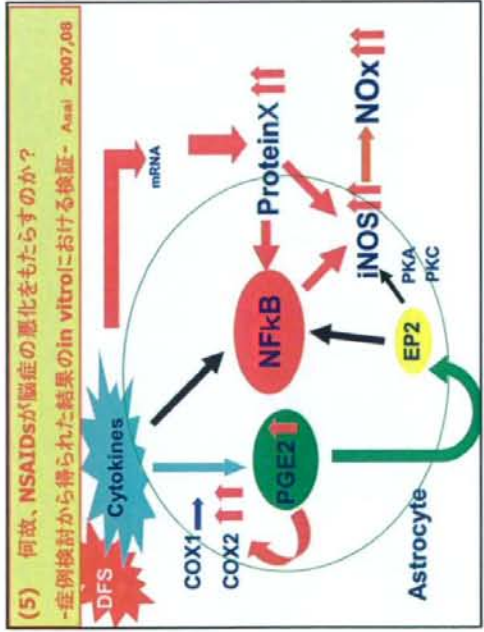
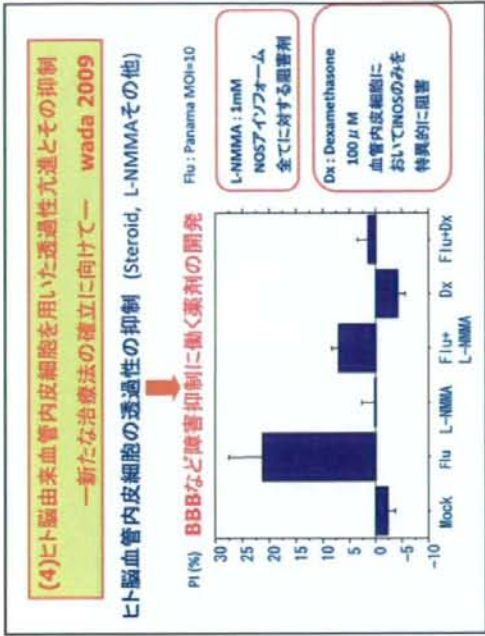
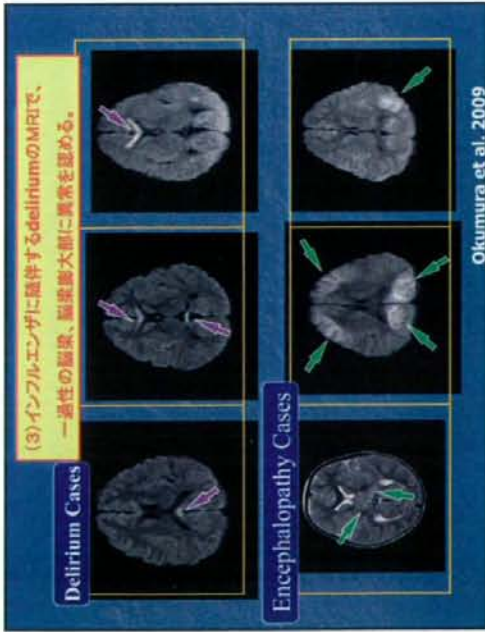
攻撃

Blood-Brain-Barrier

保護

Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase (TIMP)





研究の成果とその応用

(1) 炎症因子の解明
 ・インフルエンザ脳症の発症因子として、「X」のSNP変異とその機関について現在症例を導出し、解析中。
 ・BBBの破壊におけるMMP-9とTIMP-1の動態について明らかにした。
 ・TBP-2Kマウス (Reye症候群モデルマウス) を用いた研究が継続中。

(2) 病態の解析
 ・cytokine, くにTNF α によるBBB破壊の機所を明らかにした。
 ・ヒト脳由来血管内皮細胞を用いたBBB透過性亢進とその抑制 (治療薬) の評価モデルを作成した。
 ・NSAIDによるインフルエンザ脳症重症化のメカニズムを明らかにした。
 ・インフルエンザに随伴する「異常行動」の病態について臨床的に解析した。

(3) インフルエンザ脳症研究成果の応用
 ・インフルエンザ脳症の病態研究は、年間1,000例に達するその他の病因による小児の急性脳炎・脳症の診断・治療法の確立に活用できる。
 (A) cytokine storm による重症化が注目されているH5N1トリインフルエンザ重症例の治療法の開発にも寄与しうる。
 (B) 本症の疫学調査およびガイドラインの改訂

(4) 本症の疫学調査およびガイドラインの改訂
 インフルエンザ脳症の疫学調査の継続を通じて、現在、広く普及しているインフルエンザ脳症ガイドライン(2005年版)の効果の検証と新たな知見に基づく改訂を実施中。

平成 20 年度 新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題: 野生動物由来狂犬病およびリッサウイルス感染症の汚染把握を目的とした国際疫学調査

課題番号: H18-新興-一般-007

研究代表者: 酒井 健夫

I. 研究の意義

- (1) 近年、鳥インフルエンザや牛海綿状脳症等の新興感染症が発生し、海外の人獣共通感染症が国内侵入する危険性が增大している。そのような中で、致死性感染症である狂犬病の清浄国として長年経過してきた我が国で 36 年ぶりに患者が発生し、本病が再興感染症となる危険性は極めて大きい。
- (2) 海外の狂犬病常在地並びに発生地域から本病の侵入を阻止するためには、海外での狂犬病流行状態を精確に把握し、科学的根拠に基づく侵入防止対策を確立するとともに、国民にその予防の意義について啓蒙しなければならない。
- (3) 海外では伴侶動物を介して感染が成立する都市型狂犬病はワクチン接種の普及により減少傾向にあるが、コウモリなどの野生動物間で感染環が維持される森林型狂犬病はむしろ増加傾向にある。しかし、その感染環および自然宿主は不明な点が多い。
- (4) 我が国の周辺諸国並びに常在国で疫学情報が乏しい地域を選定し、野生動物由来狂犬病および類似疾患のリッサウイルス感染症の疫学調査を行い、研究成果を公表して疫学界での共有資料とする。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 野生動物から収集したウイルス遺伝子の分子疫学的解析によって、疫学的に未解明な点の多い野生動物由来狂犬病およびリッサウイルス感染症の感染環と実態を把握する。
- (2) これらの調査研究成果は、狂犬病防疫事業に対する有益な情報として集積し、関係機関に提供する。
- (3) 動物検疫での野生動物の危険度を精確に評価する上で重要かつ不可欠な科学的知見を提供する。
- (4) 野生動物の汚染状況を把握し、その結果をヒトの生活圏の健全確保と畜産の生産性確保に反映させ、人類の繁栄に寄与する。
- (5) 国際的な狂犬病およびリッサウイルス感染症の制圧に有用な情報を広く提供する。

III. 3年間の研究成果 (研究代表者及び研究分担者が同一研究組織で全て共同研究のため一括記載)

- (1) 南米で最も被害の大きいウシ狂犬病の分子疫学的解析の結果、ウシ分離株は、地域に依存した多様なウイルスグループから構成され、各グループの分布は吸血コウモリの生態分布およびウシの飼養地域を反映することを明らかにした(発表論文 1,6,8)。
- (2) ブラジルのコウモリ狂犬病は、吸血コウモリ/食果コウモリ分離株のグループ、食虫コウモリ分離株のグループ、さらに食虫コウモリ分離株は種を反映した7つのサブグループに分類でき、コウモリの食性や生息地の分布等、その生態に依存した感染環が存在することを明らかにした(発表論文 1,2,4,6,8)。
- (3) 2004 年および 2005 年にブラジル北部の森林地帯で流行したヒト狂犬病は、その発生の多くが吸血コウモリ由来であったが、同地域では同時にイヌ由来の狂犬病が発生していた(発表論文 7)。
- (4) 本研究の調査過程で南米の野生キツネにおいて、既知のイヌ型狂犬病株と一致しない新たなタイプのウイルスグループを発見し、この知見は疫学上高い評価を得た(発表論文 3,5)。
- (5) 南米のコウモリから分離された狂犬病ウイルスは、全て遺伝子型 1 の狂犬病ウイルスであり、遺伝子型 1 以外のリッサウイルスは見いだすことはできなかった。
- (6) 中華人民共和国の東北部、北西部および南部における調査を行った結果、狂犬病は中国全土にわたって広く浸潤していることを確認した。多発地帯である南部地域のイヌおよびウシ、ブタ等の家畜分離ウイルスは、全て遺伝子型 1 の狂犬病ウイルスであり、中国での家畜狂犬病はイヌ株由来であることを確認した(投稿中)。
- (7) アフリカのウガンダで狂犬病と診断されたイヌおよび家畜の長期保存脳組織から狂犬病ウイルスゲノムの断片を検出し、新たな診断手技を確立した(投稿準備中)。

IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) 中華人民共和国における狂犬病発生地域での野生動物由来狂犬病ウイルスの採集と疫学調査
- (2) アフリカ中・西部における野生動物由来狂犬病ウイルスおよびリッサウイルスの浸潤汚染の疫学調査
- (3) 本邦の野生動物における狂犬病のサーベイランス
- (4) 野生動物間における狂犬病ウイルスの感染環の解明
- (5) 野外で応用可能な狂犬病ウイルスの簡易遺伝子検出法の開発
- (6) 野生動物、家畜、伴侶動物におけるウイルス保有状況とその遺伝子情報の把握、伝搬者としての危険度の推定、およびウイルス汚染状況の疾病地理学的特徴の解析
- (7) 分離ウイルスの遺伝子情報の既存ワクチンへの反映と有効性の向上

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 狂犬病防疫事業に有益な情報の集積および提供
- (2) 動物検疫における野生動物の危険度を精確に評価するための科学的知見の提供
- (3) 狂犬病発生地域における動物および野生動物の危険度分析のための情報提供
- (4) 本病の危険性と予防の重要性を国民に普及・啓蒙する衛生教育活動への情報提供

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

発表論文 (研究代表者および研究分担者が同一研究組織で全て共著であるため一括記載)

- (1) Kobayashi Y, Sato G, Mochizuki N, Hirano S, Itou T, Carvalho AA, Albas A, Santos HP, Ito FH, Sakai T. Molecular and geographic analyses of vampire bat-transmitted cattle rabies in central Brazil. BMC Vet Res. 2008; 4(1): 44.
- (2) Sato G, Kobayashi Y, Mochizuki N, Hirano S, Itou T, Cunha EM, Ito FH, Sakai T. A unique substitution at position 333 on the glycoprotein of rabies virus street strains isolated from non-hematophagous bats in Brazil. Virus Genes. (in press)
- (3) Kobayashi Y, Okuda H, Nakamura K, Sato G, Itou T, Carvalho AA, Silva MV, Mota CS, Ito FH, Sakai T. Genetic analysis of phosphoprotein and matrix protein of rabies viruses isolated in Brazil. J Vet Med Sci. 2007; 69(11): 1145-1154.
- (4) Kobayashi Y, Sato G, Kato M, Itou T, Cunha EM, Silva MV, Mota CS, Ito FH, Sakai T. Genetic diversity of bat rabies viruses in Brazil. Arch Virol. 2007; 152(11): 1995-2004.
- (5) Kobayashi Y, Inoue N, Sato G, Itou T, Santos HP, Brito CJ, Gomes AA, Santos MF, Silva MV, Mota CS, Ito FH, Sakai T. Phylogenetic characterization of rabies virus isolates from Carnivora in Brazil. J Vet Med Sci. 2007; 69(7): 691-696.
- (6) Kobayashi Y, Ogawa A, Sato G, Sato T, Itou T, Samara SI, Carvalho AA, Nociti DP, Ito FH, Sakai T. Geographical distribution of vampire bat-related cattle rabies in Brazil. J Vet Med Sci. 2006; 68(10): 1097-1100.
- (7) Sato G, Kobayashi Y, Shoji Y, Sato T, Itou T, Ito FH, Santos HP, Brito CJ, Sakai T. Molecular epidemiology of rabies from Maranhao and surrounding states in the northeastern region of Brazil. Arch Virol. 2006; 151(11): 2243-2251.

学会発表

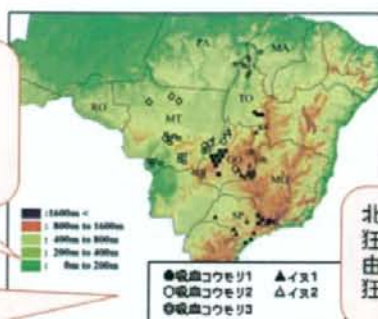
- (8) Kobayashi Y, Itou T, Cunha EMS, Carvalho AA, Ito FH, Sakai T. Genetic diversity of bat rabies depends on the host species and its ecology: molecular epidemiological evidence in Brazil. The XIX International Conference "Rabies in the Americas" (RITA XIX) September 28th-October 3rd, 2008. Atlanta, Georgia, USA.

Ⅶ. Ⅲ(3年間の研究成果)の概要図等

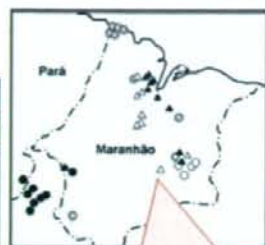
南米、ブラジル

南米で最も被害の大きいウシ狂犬病は、殆どが吸血コウモリ型ウイルスを由来とし、その分布は地域および標高に依存した多様なウイルスサブグループから構成されていた。

コウモリの狂犬病はコウモリの食性(吸血・食果・食虫など)、生息地、移動性(定住性・渡り)等、コウモリの生態に依存してウイルス感染環が形成されていた。

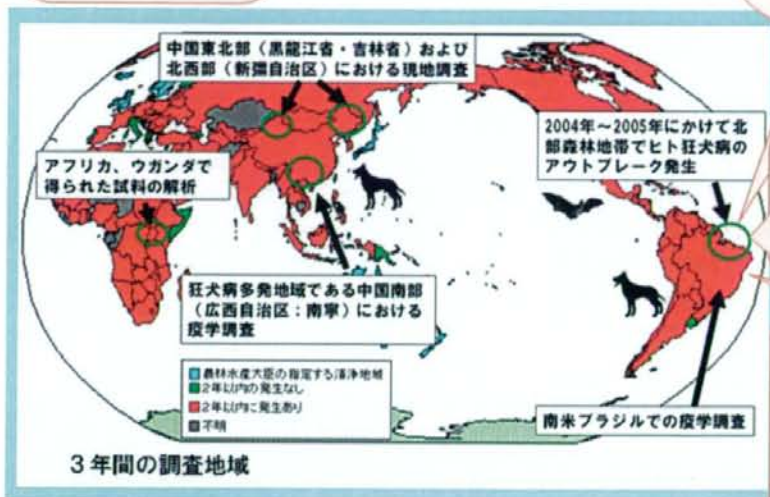


ブラジルにおけるウシ狂犬病ウイルス株の分布
各記号は遺伝子学的に異なるサブグループを示す。



北部森林地帯で流行したヒト狂犬病は多くが吸血コウモリ由来であったが、同時にイヌ型狂犬病の発生も確認された。

キツネ狂犬病から新たなウイルス系統が発見された。



3年間の調査地域

コウモリ型狂犬病ウイルスのマウスへの病原性およびワクチン防御効果を確認した。

調査地域のコウモリから分離されたウイルスはすべて遺伝子型1の狂犬病ウイルスであり、遺伝子型1以外のリッサウイルスは見いだすことができなかった。

中華人民共和国、南部

中華人民共和国の東北部(黒龍江省および吉林省)、北西部(新疆ウイグル自治区)および南部(広西自治区)での調査から、中国全土にわたって広く狂犬病が浸潤していることを確認した。

ヒトおよびイヌ狂犬病が多発している中国南部地域において、イヌおよびウシ、ブタ等の家畜からウイルスを分離し、それらの遺伝子配列を決定したところ、全て遺伝子型1の狂犬病ウイルスであることが確認された。構造蛋白の詳細な遺伝子解析によって、これらの分離ウイルスは複数のウイルスサブグループに分類されるが、家畜狂犬病はイヌ株を由来とすることが予想された。

アフリカ、ウガンダ

アフリカのウガンダで狂犬病と診断されたイヌおよび家畜の長期保存脳組織から狂犬病ウイルスゲノムの断片を検出した。

○ 研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

1966 年	日本大学農獣医学部獣医学科卒業
1966 年	東京大学医科学研究所
1967 年	厚生省環境衛生局
1968 年	台糖ファイザー薬理研究所
1972 年	奈良県立医科大学
1981 年	日本大学農獣医学部(現生物資源科学部)専任講師
1983 年	日本大学農獣医学部(現生物資源科学部)助教授
1993 年-現在	日本大学生物資源科学部教授

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

ブラジル連邦共和国	
サンパウロ大学獣医畜産学部	Prof. Ito F H
サンパウロ州立大学	Prof. Carvalho A A
中華人民共和国	
長春獣医学研究所	Prof. Jin N
広西獣医防疫検疫所	Prof. Liu Q
広西大学獣医科学技術学院	Prof. Luo T R
ウガンダ共和国	
ウガンダ農業畜産水産省家畜衛生節足動物局疾病対策課	Dr. Tada Y

・主な研究課題

家畜、野生動物および家庭動物における狂犬病の分子疫学
子牛および子豚下痢症の疫学に関する研究
動物の健康管理と獣医疫学に関する研究

・これまでの研究実績(成果概要VIと重複するものは斜体で記載)

1. *A unique substitution at position 333 on the glycoprotein of rabies virus street strains isolated from non-hematophagous bats in Brazil. Virus Genes. In press*
2. Production of monoclonal antibody specific for bottlenose dolphin neutrophils and its application to cell separation. *Dev Comp Immunol.* 2009
3. *Molecular and geographic analyses of vampire bat-transmitted cattle rabies in central Brazil. BMC Vet Res.* 2008
4. Molecular cloning and phylogenetic analysis of inflammatory cytokines of the ferret (*Mustela putorius furo*). *J Vet Med Sci.* 2008
5. *Genetic analysis of phosphoprotein and matrix protein of rabies viruses isolated in Brazil. J Vet Med Sci.* 2007
6. *Genetic diversity of bat rabies viruses in Brazil. Arch Virol.* 2007
7. *Phylogenetic characterization of rabies virus isolates from Carnivora in Brazil. J Vet Med Sci.* 2007
8. *Geographical distribution of vampire bat-related cattle rabies in Brazil. J Vet Med Sci.* 2006
9. *Molecular epidemiology of rabies from Maranhao and surrounding states in the northeastern region of Brazil. Arch Virol.* 2006
10. A highly attenuated rabies virus HEP-Flury strain reverts to virulent by single amino acid substitution to arginine at position 333 in glycoprotein. *Virus Res.* 2006
11. Rapid discrimination of rabies viruses isolated from various host species in Brazil by multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction. *J Clin Virol.* 2005
12. Generation and characterization of P gene-deficient rabies virus. *Virology.* 2004
13. Discrimination between dog-related and vampire bat-related rabies viruses in Brazil by strain-specific reverse transcriptase-polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. *J Clin Virol.* 2003
14. Genetic characterization and geographic distribution of rabies virus isolates in Brazil: identification of two reservoirs, dogs and vampire bats. *Virology.* 2001

・平成 21 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業への新規研究課題の応募状況

無し

厚生労働科学研究費補助金
新興・再興感染症研究事業発表会

野生動物由来狂犬病およびリッサウイルス 感染症の汚染把握を目的とした国際疫学調査

平成21年2月19日

日本大学生物資源科学部

研究代表者 教授 酒井 健夫

3年間の研究成果

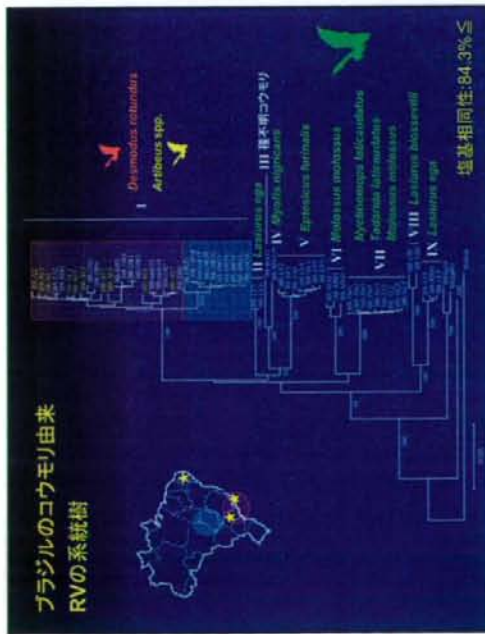
1. ブラジルのコウモリ狂犬病の分子疫学的解析
Virus Genes, in press
J Vet Med Sci, 2007, 69
Arch Virol, 2007, 152
2. 南米における吸血コウモリ由来ウシ狂犬病の分子疫学的解析
BMC Vet Res, 2008, 44
J Vet Med Sci, 2006, 68
3. ブラジル北部森林地帯で流行したヒト狂犬病の分子疫学的調査
Arch Virol, 2006, 151
4. 南米の野生キツネを含む食肉目狂犬病の分子疫学的解析
J Vet Med Sci, 2007, 69
Acta Virol, 2006, 50
5. 中華人民共和国南部におけるイヌ狂犬病の分子疫学的解析
投稿中

研究の意義

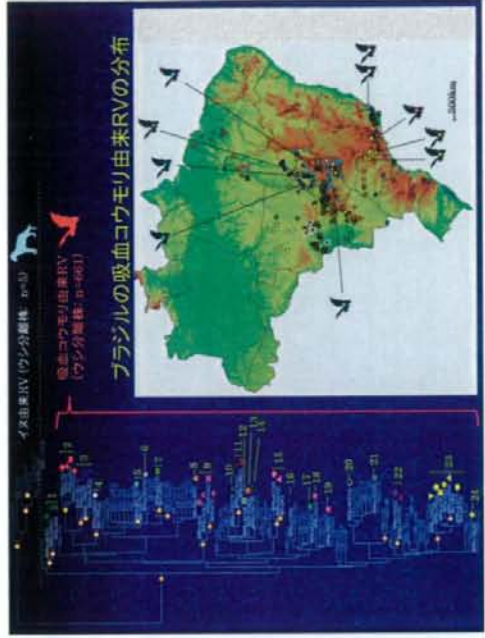
- ・狂犬病の清浄国として長年経過してきた我が国において36年ぶりに患者が発生した。また飼育犬の登録率が5割、予防接種実施率が4割以下の低水準である現状を考慮すると本病が再興感染症となる危険性は大きい。
- ・海外の狂犬病常在地並びに発生地域から本病の侵入を阻止するためには、海外での狂犬病流行状態を精確に把握し、科学的根拠に基づく侵入防止対策を確立するとともに、国民にその予防の意義について啓蒙しなければならぬ。
- ・海外ではコウモリなどの野生動物間での感染環が維持される森林型狂犬病はむしろ増加傾向にあるが、その感染環および自然宿主は不明な点が多い。
- ・我が国の周辺諸国ならびに常在国で本病の疫学情報が乏しい地域を選定し、野生動物由来狂犬病および類似疾患のリッサウイルス感染症の疫学調査を行い、研究成果を公表して疫学界での共有資料とする。

ブラジルにおける狂犬病を媒介するコウモリ





- ### 各種コウモリから分離された狂犬病ウイルスの分子疫学的特徴
- ブラジルのコウモリ由来RVは宿主コウモリの種類を反映し、9つの遺伝子系統に区分された。
 - 定住性の吸血コウモリから分離されたRVは、分地域を反映した遺伝子系統に区分された。
 - 長距離の移動を行う *Lasiurus* 属から分離されたRVは、南北アメリカの同種のコウモリから分離されたRVと非常に近縁であった。



吸血コウモリ由来狂犬病ウイルスの分子系統解析と地理的分布

- 吸血コウモリ由来ウシ分離株は、分離地域を反映した少なくとも24の遺伝子系統に区分された。
- 同一の遺伝子系統に属するウシおよび吸血コウモリ分離株の分布地域は一致した。
- 遺伝子系統の分布は山脈などの地理的要因が関与していた。

ブラジルには少なくとも主に2系統の食肉目由来RV変異株が存在することが明らかとなった。

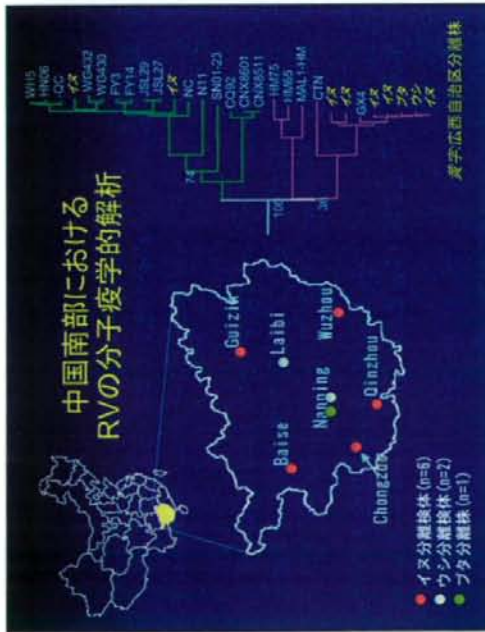
- 家庭動物(イヌおよびネコ)および野生動物(キツネ)が関与し、ブラジルの北東部に限局して分布していた。
- 過去においてキツネと家庭動物の間でウイルスの伝播が起きた可能性が示唆された。

- 家庭動物(イヌおよびネコ)によって維持されており、ブラジルの広範囲およびアルゼンチンやボリビアの一部の地域に分布していた。



ブラジルの野生動物分離株におけるリッサウイルスの検索

- ブラジルのコウモリにおいて蛍光抗体法陽性と診断された脳組織サンプル(65検体)を対象にリッサウイルス(遺伝子型1-7)を検出可能なプライマーを用いて遺伝子増幅を行った。
- 全て遺伝子型1型の狂犬病ウイルスであり、それ以外のリッサウイルスは検出されなかった。



中国南部におけるRVの分子疫学的解析

- ・広西自治区分離株は、既知の中国のイヌ分離株の系統に属し、さらに2つのサブ系統に分類された。
- ・ウシおよびフタタで分離されたウイルスは、イヌ株を由来とすることが示唆された。
- ・これら2つのサブ系統は、それぞれ東南アジアのRV分離株と近縁であった。

本研究成果から見た今後の課題

1. 中国および本邦周辺諸国の狂犬病発生地域における野生動物由来狂犬病およびリッサウイルスの疫学調査および分子系統解析
2. 野外で応用可能な狂犬病ウイルスの簡易診断法の開発
3. 本邦における狂犬病のアクティブサーベイランス
4. 野生動物、家畜、伴侶動物におけるグローバルなウイルス保有状況と遺伝子情報の把握、疾病地理学的特徴の解析、伝搬者としての野生動物の危険度の推定

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

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
- (3) 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
- (4) 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
- (5) 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
- (6) 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、パストレラ、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。

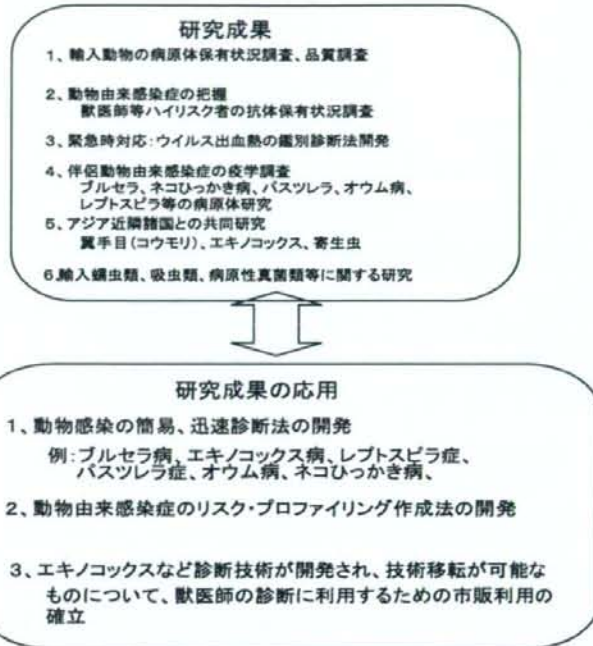
V. 行政施策への貢献の可能性

- (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)

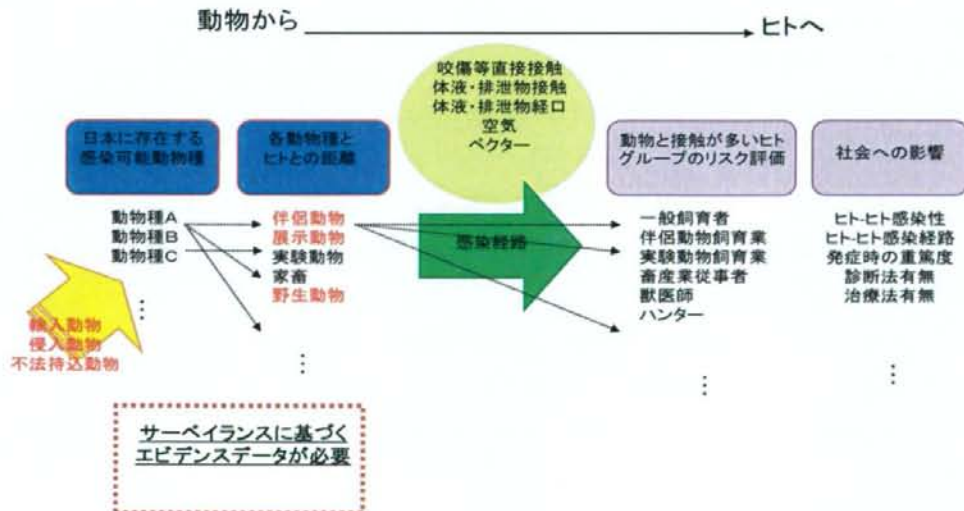
VI. 発表論文・ガイドライン・マニュアル等

- (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 roussette 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., Ume, 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)

宍戸 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)

平成20年度厚生労働省科学研究補助金
新興・再興感染症研究事業発表資料

動物由来感染症のコントロール法の確立に関する研究

- ・研究組織：15人の主任・分担研究者
+2人の特別研究協力者(検疫所)と研究委託(東レリサーチ)
- ・研究方法：疫学、フィールド研究(国内・海外)、実験
- ・対象動物と病原体：ウイルス、細菌、真菌、寄生虫
輸入動物、展示動物、伴侶動物、野生動物
- ・目的：動物由来感染症制御のための方法の確立
統一性のあるリスク評価のための方式の確立

吉川泰弘

個々の研究成果

どの研究者も自分のテーマが一番重要(エキゾチック動物)

体科 2017年 (28/100)
血清型: A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, V, W, X, Y, Z
Autumnalis B
Javanicus
研究対象者から分離された
とヒト由来感染症の発生
とヒト由来感染症の発生
とヒト由来感染症の発生
注意すべき動物

ミドリガメにおける
Salmonella感染状況
調査 大塚 秀樹
・16店舗 (100%)
・購入37頭 (94.0%)
・105店 (84.8%)
・調査 1,100頭型
Salmonella Montevideo
PTGE 7/9-1
アトピー性皮膚炎の原因
動物由来ウイルス感染症

マングース等の腸内寄生
Heteromermisの発見
研究発表
1. 野鳥からのレプトスピラ検出は感染症の発生
・6日集、調査、1日検出のみで調査を行った
・検出されたレプトスピラは、Pomonaに近縁なレプトスピラ
の系統群により、Pomonaに近縁なレプトスピラ
2. イヌのレプトスピラ感染経路調査
・牛、馬、鶏、豚、魚、鳥、豚、牛、豚で検出
研究発表
3. 高病原性豚コレラウイルス抗体の検出と豚コレラへの感染
・日本に存在する高病原性豚コレラウイルス抗体を作成
・豚コレラ抗体により、豚コレラウイルス抗体を作成
・豚コレラ抗体の検出は、豚コレラウイルス抗体の検出
・豚コレラ抗体の検出は、豚コレラウイルス抗体の検出

李根、増源、小島

個々の研究成果

どの研究者も自分のテーマが一番重要(エキゾックス)

2018年10月25日
2009年12月にヒトからマングースへ感染した
エキゾックス迅速診断キット
この検査キットは、検査時間 10分以内
検出率 98.7%、感度 97.4%
特異性 97.8%
(11,157検体で検証)

野外で感染
野外で目撃
・ヒト感染：北海道外の都府県で発生した
症例における感染経路調査 (2008)
・動物感染：北海道と人的・物的交流が
盛んな都府県を中心に動物感染調査
・都府県衛生研究所で感染可能な
迅速・確実な診断法の開発
・中国貴州省における巨症の感染経路
調査

神谷、典、川中

個々の研究成果

どの研究者も自分のテーマが一番重要(野生動物)

放蕩アライグマの自家帰郷
アライグマ回虫の監視体制の構築
・放蕩アライグマの異域移殖実施
・捕獲等を実施する者への啓蒙
・発生が確認された場合の緊急対応
フィリピン産の研究
・ポリオ、イロイロ、ルンガで感染
・ヘルペス、コロナウイルスゲノム抽出
・エボラウイルス抗体検査中
Molecular cloning and sequence analysis of
the NP1 of the Japanese macaque
Molecular cloning and sequence analysis of
the NP1 of the Japanese macaque

アライグマ回虫の監視体制の構築
・放蕩アライグマの異域移殖実施
・捕獲等を実施する者への啓蒙
・発生が確認された場合の緊急対応

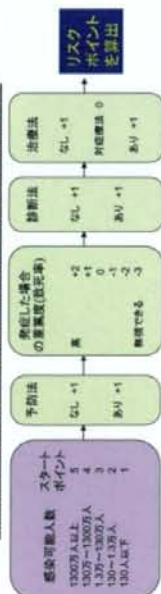
川中、吉川、李根、森川

統一性のあるリスク評価のための方式の確立

- <感染源となる動物種子ータ>
- 動物種カテゴリーを決定
(飼育者、繁殖場、動物業者、産肉業者等)
 - 動物一人頭数、感染方法(RI)
(経口、接触、空気感染等)
 - 動物カテゴリー毎の屋内回数(AI)
 - 動物カテゴリー毎の感染源の罹患率(CR)
- <感染源となる動物種に接触するヒトータ>
- 動物に接触するヒトカテゴリーを決定
(飼育者、繁殖場、動物業者、産肉業者等)
 - 接触ヒトカテゴリー別のヒト動物接触回数(HP)
 - ヒトカテゴリー毎、接触方法毎の年間接触回数ノ人(CH)

- ① 感染ルートにおけるリスク接触回数・人、 $R_i = (AP \times CR) \times CH \times HP$
- ② すべての感染ルートを合計し総リスク接触回数：人/年 ΣR_i

$$\text{感染可能人数} = \Sigma R_i \times \text{感染成立率} \times \text{発症率}$$



吉川、水田、内田、吉崎

動物カテゴリー、ヒトカテゴリー、接触回数の検討

総リスク接触回数の算出

リスクポイントの算出