

200931009B

厚生労働科学研究費補助金
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

動物由来感染症の生態学的アプローチ によるリスク評価等に関する研究

平成19年度～平成21年度 総合研究報告書

研究代表者 山 田 章 雄

平成22 (2010) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

動物由来感染症の生態学的アプローチ によるリスク評価等に関する研究

平成19年度～平成21年度 総合研究報告書

研究代表者 山 田 章 雄

平成22（2010）年3月

目 次

I.	総合研究報告書 動物由来感染症の生態学的アプローチによるリスク評価等に関する研究 山田章雄-----	1
II.	平成 19 年度総括・分担研究報告書-----	11
III.	平成 20 年度総括・分担研究報告書-----	131
IV.	平成 21 年度総括・分担研究報告書-----	233

I. 総合研究報告書

動物由来感染症の生態学的アプローチによるリスク評価等に関する研究

研究代表者 山田章雄 国立感染症研究所獣医科学部長

研究要旨 国内では稀少であったり、存在様式に不明な点の多い動物由来感染症を対象に、その生態系における存在様式を明らかにすることを目的の中心として研究を実施し以下の成績を得た。

- ① Q熱コクシエラ *Coxiella burnetii* (*C. burnetii*) の精度の高い検出法を検討し、非特異反応除去処理をした血清を用いた蛍光抗体法が特異性で優れていることを明らかにした。また、*C. burnetii* の遺伝子検出法の改良も行った。これらを用いて、国内のイヌ、ネコ、ウシについて抗体保有状況及び遺伝子検出を行ったところ、イヌの2.1%、ネコの6.7%が抗体陽性だった。ウシでは平均10.4%が陽性だったが、特定の牧場では28.4%と他の牧場と比較し、有意に高い陽性率を示した。イヌ・ネコの陽性率はこれまでの報告よりはかなり低いものの国内に *C. burnetii* が継続的に存在していることが明らかとなった。これまでのところ *C. burnetii* 遺伝子が検出できた動物はなく、いずれも過去の感染を示していると考えられる。今後さらに生態系でどのように本菌が維持されているかの調査研究を継続する必要がある。
- ② ボレリアについては鳥類に付着したマダニによってその分布が拡大していること、これまでに国内では報告のなかった新種のボレリアの存在を明らかにした。さらに野生鳥類の移動に付随して、拡散しやすいマダニ種とこれを媒介種とするボレリア種が存在することを初めて明らかにした。また、新規に見出した回帰熱病原体類縁のボレリアについて解析した結果、本ボレリアは北米で回帰熱病原体として見出される *Borrelia turicatae*, *B. parkeri* と類縁であること、ならびに国内棲息の鳥類寄生マダニであるサワイカズキダニが媒介ベクターである可能性が高いことを明らかとした。
- ③ ジフテリア毒素と抗原的に区別のできない毒素がコリネバクテリウムウルセランス *Corynebacterium ulcerans* (*C. ulcerans*) から産生されていること、ヒトの *C. ulcerans* 感染事例と関与が疑われたイヌからの分離菌がヒトからの分離菌と遺伝的に極めて近縁であることなどから、近辺のイヌにおける保菌状況を調査した。その結果大阪府の動物愛護センターの収容犬で本菌の感染が確認された。さらにイヌからイヌまたはネコからネコへの菌の拡散を確認した。また、ジフテリア様症状を呈した患者ならびに患者との接触が疑われた野良猫から本菌を分離し、両者が遺伝的に同一であることを PFGE および毒素遺伝子の解析から明らかにした。
- ④ 野生動物におけるブルセラ症の実態を野生イノシシおよびシカについて調査した。イノシシ 334 検体中、2 検体 (0.6%) が家畜ブルセラ菌に対し、32 検体が (9.6%) がイヌブルセラ菌 *B. canis* に対し陽性だった。ニホンジカ 97 検体では、*B. canis* に対し 1 検体 (1.0%) が抗体陽性だった。この検体はウェスタンブロットリング (WB) でも陽性であることが確認された。抗体陽性のイノシシ 34 頭中 21 頭からとニホンジカ 1 頭からブルセラ菌遺伝子が PCR 増幅されたが、いずれも *B. canis* 遺伝子と 100% 配列が一致した。
- ⑤ 野兔病に関しては日本各地のマダニから野兔病特異的 PCR で陽性となる個体が発見されたが、疫学的考察からこれらは野兔病菌に極めて近縁な菌である可能性が高いと考えられた。本病で斃死したノウサギが発見された場所を中心とし、野生小動物、ダニ、湖沼水、土壌などからの菌検出を試みた。その結果土壌検体および湖沼水の検体から野兔病菌 DNA が検出された。また、斃死ノウサギの臓器から菌分離ができゲノム DNA も検出された。6 種の動物種 (ツキノワグマ、ノウサギ、ホンダタヌキ、ハクビシン、ハタネズミ、ノスリ) が血清学的スクリーニングで陽性だったが、ウェスタンブロット法及び間接蛍光抗体法でツキノワグマ由来 9 検体の陽性が確認された。また、日本国内分離野兔病菌株のパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 解析を行い、国内株が非常に高い遺伝的多型を有していること、日本分離株は海外由来株と明確に異なるバンドパターンを示し、両者の鑑別に PFGE が有用な手法の一つであることを示した。

- ⑥ 猛禽類とツキノワグマの感染症の基本的情報を得るため、主に病理学的に猛禽類の死因調査、有害鳥獣として捕殺されたクマの病原体保有状況調査を行ったが、野生鳥類の死因は外傷、敗血症等であり、病理学的に感染症を疑わせるものは認められなかった。また、国内の動物園等で飼養されるペンギン目を人獣共通感染症のセンチネルとして利用することができるかを検討するための初期情報となる、ペンギンの感染症について検討したところ、トリマラリアおよびアスペルギルス症が多く認められることが分かった。次に猟犬について血清学的調査を行ったところ、日本紅斑熱リケッチア、ツツガムシ病オリエンチア、*C. ulcerans*、ライム病ボレリア、レプトスピラ症、ヘパトゾーンに対して陽性となる個体が認められた。猟犬が国内における動物由来感染症の浸潤状況を把握するための有用な指標となりうる可能性が示唆された。
- ⑦ 狂犬病の診断技術向上に必要なイヌの解剖手技の実地教育・啓発教材としてイヌ頭部モデルを開発した。また、本モデルを利用した技術研修を行い、開発したモデルの有用性を検証した。

研究分担者

岸本寿男 国立感染症研究所ウイルス 1 部室長
川端寛樹 国立感染症研究所細菌第 1 部室長

高橋元秀 国立感染症研究所細菌第 2 部室長
柳井徳磨 岐阜大学農学部教授
井上 智 国立感染症研究所獣医科学部室長
今岡浩一 国立感染症研究所獣医科学部室長
棚林 清 国立感染症研究所獣医科学部室長
木村昌伸 国立感染症研究所獣医科学部研究員
鈴木道雄 国立感染症研究所獣医科学部研究員
藤田 修 国立感染症研究所獣医科学部
主任研究官

研究協力者

(社)大日本猟友会
その他は各分担研究報告書に記載

A. 研究目的

野兔病、ブルセラ症などは国内の環境の変化、衛生状態の向上などにより感染者の報告は極めて少なくなっている。しかし、これまでの我々や他のグループの調査から、依然として国内にこれらの病原体が存続していると考えられるにもかかわらず、その実態は不明な点が多く、リスクの正しい評価ができていない。また、Q 熱においても、典型的な患者報告が極めて少なかったが、最近典型的な患者の発生が報告された。従って、国内に存在することは間違いないが、その存在様式等はやはり不明な点が多い。ジフテリア毒素産生コリネバクテリウムウルセランス感染はジフテリアに極めて類似する病態を呈し、動物から感染する可能性が指摘されているが、その実態はやはり不明な点が多い。また、ライム病ボレリアに関してもその生態系における国内での存在様式を明らかにする必要がある。本研究はこれらの点を踏まえ、動物由来感染症

の病原体の生態系における存在様式を精査し、そのリスク評価を改めて行うことを目的とする。一方、国内への侵入が憂慮される狂犬病について、国内侵入をいち早く察知するために不可欠な診断技術向上のため、実習用モデルの試作を行う。

B. 研究方法

病原体あるいは抗体の検出は個々の報告書に記載した方法による。

C. 研究結果

(1) Q 熱に関する研究

(1) ヒトの Q 熱抗体保有状況

健常人の保存血清 163 検体、ELISA 法にて Q 熱 IgG 抗体を測定し、判定保留と陽性であったものについて IFA 法で測定したところ、すべて陰性であった。

(2) *C. burnetii* の検査法の改良

C. burnetii に対する Real time PCR 法を確立し、従来の Nested PCR 法と比較検討を行った。感度は同等であったが Real time PCR 法が定量可能で簡便な点でより優れていた。また、従来の nested PCR を施行する際の positive control によるコンタミネーションの問題を解決するため、確認検証が可能なりコンビナントプラスミド positive control を作成した。

(3) ペットとしてのイヌ、ネコにおける Q 熱の感染状況

開発した Real time PCR 法を応用し、ペットの Q 熱に対する感染状況を、血液サンプルからの DNA 検出で検討するとともに、血清の抗体保有率で調査した。1098 頭のイヌでは *C. burnetii* DNA が検出された検体はなかったが 2.1% の抗体保有率を示した。582 匹のネコでは 6.2% が抗体保有率を示した。今回の調査ではいずれもこれまでの報告より低い抗体保有率を示したこと

から、イヌ、ネコにおける Q 熱の関与は以前の報告ほど高率ではなく、健康なペットからヒトへの感染リスクも高くない可能性が示唆された。

(4) 家畜の保菌状況、抗体保有率の把握

5 牧場のウシ 431 頭における、*C. burnetii* に対する抗体の検出を試みた。平均 10.4% のウシが *C. burnetii* 抗体陽性と判定されたが、特定の牧場では陽性率が 28.4% で、他の牧場に比べて明らかに高かった。322 検体について Real-time PCR 法での遺伝子検出を実施したが、全て陰性であった。

(2) ボレリアに関する研究

(1) ライム病群ボレリアの一部が、野生鳥類の移動にともなって、国内、さらには欧州とアジア間で拡散している可能性を初めて明らかにした。特に欧州で神経ライム症の病原体となっているボレリア・ガリニが、ヒトが身近に接する野生鳥類を主とした国内生態系に浸潤していることを明らかにした。

(2) 国内で初めて回帰熱群ボレリアを見出した。本ボレリアは北米型回帰熱ボレリアの一種、ボレリア・チュリケータと近縁でオオミズナギドリ等に寄生するサワイカズキダニによって媒介されるタイプと考えられた。

(3) 米国で 2004 年に発見された新興感染症である南部ダニ紅班病(STARI)に類似の病原体ボレリアを国内でも初めて検出した。

(3) コリネバクテリウムに関する研究

(1) 愛護センター収容の犬・猫および猟犬から本菌を分離し、犬から犬への菌の拡散(不顕性感染)を確認した。

(2) ジフテリア様症状を呈した患者から本菌を分離し、患者自宅に集まる野良猫から同じ毒素遺伝子の菌を分離した。さらに野良猫の集団内の発症猫からも本菌を分離した。患者は発症猫から感染したことを強く支持する成績を得た。

(3) 開業獣医師に来院した有症猫から本菌を分離し、一般家庭で飼育する猫に感染していることを確認した。しかし、畜主の家族には発症者は認められなかった。

現在までの調査結果を総括すると、野外活動時間の多い犬や猫は本菌を保菌または感染している可能性が高く、動物間では菌の伝播がおり感染が成立する。感染動物では排菌量が多いために、免疫力が低下している人は感染を起こす危険がある。

(4) 野生動物の感染症に関する研究

(1) 日本産野生動物、野鳥における人獣共通感染症のリスク評価を幾つかの動物種で行った。

(2) 動物園水族館における展示動物の死亡例における人獣共通感染症のリスク評価。

(3) 猟犬はダニ類への暴露や野生動物との接触の機会が多く、しばしば野生動物を生食することもある。そのため、ダニ媒介性感染症や野生動物由来人獣共通感染症のモニターのために有用であると考えられる。西日本を中心とした各県で飼育された猟犬計 155 例について、リケツチア(日本紅斑熱、ツツガムシ病)、ライム病、ジフテリア症、レプトスピラ症およびヘパトゾーン症の抗体保有状況について調査を実施した。日本紅斑熱は 5/149 例、ツツガムシ病は 28/149 例、ジフテリア症は 13/153 例、ライム病ボレリアは 10/73 例、レプトスピラ症は 12/153 例、ヘパトゾーン症は 18/155 例でそれぞれ陽性を示した。宮崎および熊本県など九州地方の猟犬が占める陽性割合は、日本紅斑熱は 60%、ツツガムシ病は 85.7%、ジフテリア感染症は 84.6%、レプトスピラ感染症は 66.7%、ヘパトゾーン感染症は 88.9% であり、各感染症とも九州地方を中心に陽性個体が多くみられる傾向があった。このことは、野生動物を含めた他の動物における報告、媒介節足動物の分布、人でのこれらの疾病の発生状況とよく合致していた。したがって、本研究から猟犬は人獣共通感染症の有用な指標となりうると考える。今後さらに他の地域に調査を広げることで、全国的なこれらの野外を中心とした感染症の疫学情報の収集に貢献することが期待できると考える。

(5) ブルセラ症に関する研究

ブルセラ症(brucellosis)はブルセラ属菌(genus *Brucella*)による人獣共通感染症である。野生動物におけるブルセラ症の存在を確認するために、日本各地から野生イノシシおよびニホンジカの血液サンプルを入手し、家畜ブルセラ菌(*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*)とイヌブルセラ菌(*B. canis*)に対する抗体保有状況をマイクロプレート凝集反応(MAT)により検討した。これまでに入手したイノシシ 334 サンプル中 2 サンプル(0.6%)が家畜ブルセラ菌に対し、32 サンプル(9.6%)が *B. canis* に対し抗体陽性を示した。ニホンジカ 97 サンプルについては、*B. canis* に対し 1 サンプル(1.0%)が抗体陽性を示した。抗体陽性サンプルは、ウェスタンブロットティング(WB)でも陽性を示した。さらに、血液サンプルから DNA を抽出し、標的遺伝子の異なる 4 セットのブルセラ特異的プライマーを用いた PCR を実施した。*B. canis* に対し抗体陽性サンプルでは、イノシシで 21/34、ニ

ホンジカで 1/1 が 4 セットのプライマーのいずれかで陽性となった。増幅産物のシーケンスを確認したところ *B. canis* 遺伝子と 100% 配列が一致した。家畜ブルセラ菌抗体陽性サンプルからの遺伝子検出はできなかった。

国内のイノシシとニホンジカのブルセラ属菌感染が示唆されるが、確定には、他菌との交差反応の確認も含め、さらに検証が必要である。

(6) 野兎病に関する研究

(1) 全国のノウサギに付着したダニや自由生活ダニについて野兎病菌ゲノム DNA の検出を試み、野兎病菌に非常に類似した共生菌が存在したが、明らかな野兎病菌は検出されなかった。

(2) 野兎病患者の感染原となった斃死ノウサギ発見場所周辺の野鼠、ダニ、環境水や土壌について野兎病菌またはゲノム DNA の検出、抗体保有検出を試み、土壌、環境水に疑われる検体があったが確定には至っていない。また、捕獲野鼠 111 匹から有意な野兎病菌に対する抗体は認められなかった。

(3) 本研究期間中に数例の野兎病患者発生が報告されるとともに、猟友会により野兎病菌感染ノウサギが発見された。そこで周辺地域における小型野生哺乳類、ダニ、ならびに水、土壌からの野兎病菌の分離、ゲノム DNA の検出を試み、小型哺乳類では血清学的検索も行った。小型哺乳類は菌分離、ゲノム DNA 検出とも陰性で、野兎病菌に対する抗体も検出されなかったが、周辺の土壌から野兎病菌ゲノム DNA が検出された。また、水 1 検体から DNA が検出された。今後も更なる調査により自然環境での野兎病菌維持様式を検討する必要があると考えられた。

(4) 日本国内で分離された野兎病菌の PFGE による型別を行うにあたり、まずこれら菌株に適した制限酵素の選択を行った。その結果、現在まで用いられていない新たな酵素を含む計 7 種の制限酵素が国内分離菌株の型別には有用であることが判明した。この全てが海外由来株との鑑別に有用である可能性が示唆された。

(7) 狂犬病に関する研究

(1) 狂犬病の検査に必要なイヌ頭部の骨形状および脳の位置を正確に理解するための 3D 画像と解剖モデル鑄型を MRI/CT 機器を利用して作成することに成功した。

(2) 狂犬病の検査に必要な頭部の解剖術式を模擬経験できる解剖モデルを作成した。

(3) 狂犬病の検査に必要な頭骨の切断（開頭）を繰り返し可能な頭骨の切断実技モデルを作成し

た。

(4) 解剖後に、検査に必要な脳の部位を知るための脳モデルを作成した。

(5) これらのモデルについて自治体等関係機関の現場担当者等とともに、改良点や課題点について検討を行った。

D. 考察

精度の向上した検査法を用い、イヌ、ネコ、ウシ血清中の Q 熱コクシエラに対する IgG 抗体の保有調査をしたところ、明らかに陽性の個体が存在することが証明できた。しかしいずれの検体からもコクシエラ遺伝子は検出されなかったことから、これらの抗体は過去の感染を示していると考えられる。国内におけるコクシエラの存在は明らかになったものの、その生態系における存在様式は今回の研究では明らかにできていない。今後の研究が必須である。

ボレリアに関してはライム病ボレリアのみならず回帰熱ボレリアの存在が見出された。また、前者に関しては鳥類ならびにその寄生マダニを介して、分布域が拡大していることを明らかにできた。

コリネバクテリウムウルセランスについては、ヒトの感染にイヌの介在が疑われることが判明した。また、ネコが感染源になる可能性もあり、注意を要すると考えられた。一方で、本菌が環境菌として自然界に存続しているかなど、その生態を明らかにする必要がある。

ブルセラに関してはイノシシとニホンジカの血液サンプルより MAT、WB により抗 *B. canis* 抗体を検出し、さらに PCR と産物のシーケンスにより *B. canis* 特異的遺伝子を検出した。イノシシ 2 サンプルからは MAT と WB により抗家畜ブルセラ菌抗体も検出されたが、ブルセラ特異的遺伝子は検出されなかったことから、交差反応の可能性もあり、さらに検証が必要である。今後は、菌分離も視野に入れ IFA、ELISA などの手法も用いて国内の野生イノシシ、ニホンジカのブルセラ属菌感染について、検討をすすめる必要がある。また、より特異的な抗体検査法の開発も必要である。

各種野生動物の抗野兎病菌抗体調査では、今回、初めて国内生息の野生動物から初めて野兎病菌に対する抗体を検出した。特にツキノワグ

マ由来9検体は3種の検査 (MA、ELISA および IFA) にて陽性であったため、その由来動物は過去に野兎病菌に感染したと強く示唆された。抗体陽性検体由来動物は全て東北地方にて捕獲された動物であったことからヒトの症例同様、野兎病菌感染野生動物が東北地方に存在すると考えられた。

野兎病に関しては疾病の存在、および野生動物においても感染が成立していることが明らかになったが、依然として生態系でどのように病原体が維持されているか不明な点が多い。ダニに見出された極めて近縁な共生菌との鑑別法の開発などを含め、今後の研究の継続が望まれる。

猟犬が野外に存在する動物由来感染症の有用な指標となりうるということが明らかになったことは、野外における動物由来感染症の疫学情報の収集に貢献することが期待される。

今般開発した狂犬病診断のためのイヌ頭部モデルと教材は、自治体の現場での狂犬病啓発と技術研修等に対して効果があると期待され、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も大いに貢献することが示唆された。

E. 結論

国内での存在は明らかにされているがその存在様式が不明な動物由来感染症について実態調査実施し、今後も同様な地道な調査研究が動物由来感染症対策における科学的根拠を提供するために極めて重要であることを示すことができた。

F. 健康危機情報 特になし

G. 研究発表

1. 紙上発表

1. Imaoka, K., Kimura, M., Suzuki, M., Kamiyama, T. and Yamada, A. A. Simultaneous detection of the genus *Brucella* by combinatorial PCR. *Jpn. J. Inf. Dis.* 60, 137-139, 2007

2. Masanobu Kimura, Tsutomu Tanikawa, Michio Suzuki, Nobuo Koizumi, Tsuneo Kamiyama, Koichi Imaoka and Akio Yamada Detection of *Streptobacillus* spp. in feral rats by specific polymerase chain reaction. *Microbiol. Immunol.* 52, 1-7, 2008.
3. Masanobu Kimura, Koichi Imaoka, Michio Suzuki, Tsuneo Kamiyama and Akio Yamada Evaluation of a microplate agglutination test (MAT) for serological diagnosis of canine brucellosis. *J. Vet. Med. Sci. J. Vet. Med. Sci.*, 70:707-709, 2008
4. Hanaoka N, Sakata A, Takano A, Kawabata H, Watanabe H, Kurane I, Kishimoto T, Ando S. Development of a pUC19-based recombinant plasmid to serve as a positive control in PCR for *Orientia tsutsugamushi*. *Microbiology Immunology*. (Accepted)
5. Takada N, Fujita H, Kawabata H, Ando S, Sakata A, Takano A, Chaithong U. *Rickettsia japonica* in Thailand. *Emerging Infectious Diseases*. (Accepted)
6. Takano A, Ando S, Kishimoto T, Fujita H, Kadosaka T, Nitta Y, Kawabata H, Watanabe H. Novel *Ehrlichia* sp. found in *Ixodes granulatus* infested to rodents in Okinawa, Japan. *Microbiology and Immunology*. (In press)
7. Seto Y, Komiya T, Iwaki M, Kohda T, Mukamoto M, Takahashi M, and Kozaki S.: Properties of corynebophage attachment site and molecular epidemiology of *Corynebacterium ulcerans* isolated from humans and animals in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 61(2):116-22. 2008
8. Takano A, Muto M, Sakata A, Ogasawara Y, Ando S, Hanaoka N, Tsurumi M, Sato F, Nakamura N, Fujita H, Watanabe H, Kawabata H. Relapsing fever spirochete in seabird tick, Japan. *Emerging Infectious Diseases.* 15: 1528-1530, 2009.
9. Takada N, Fujita H, Kawabata H, Ando S, Sakata A, Takano A, Chaithong U. *Rickettsia japonica* in Thailand. *Emerging Infectious Diseases*. (Accepted)
10. Takano A, Ando S, Kishimoto T, Fujita H, Kadosaka T, Nitta Y, Kawabata H, Watanabe H. Novel *Ehrlichia* sp. found in *Ixodes granulatus* infested to rodents in Okinawa, Japan. *Microbiology and Immunology*.

- Immunology. (In press)
1. Honma Y, Yoshii Y, Watanabe Y, Aoki N, Komiya T, Iwaki M, Arai H, Arakawa Y, Takahashi M, Kimura H. : A Case of Afebrile Pneumonia Caused by Non-Toxigenic *Corynebacterium diphtheriae*. Jpn J Infect Dis. 62(4):327-9. 2009
 2. Katsukawa C, Kawahara R, Inoue K, Ishii A, Yamagishi H, Kida K, Nishino S, Nagahama S, Komiya T, Iwaki M, Takahashi M. : Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* Isolated from the Domestic Dog for the First Time in Japan. Jpn J Infect Dis. 62(2):171-2. 2009
 3. 本間康夫、吉井裕子、小宮貴子、高橋元秀 : ジフテリア毒素非産生 *C.diphtheriae* が検出された 3 症例の検討 新潟県臨床検査技師会誌 49.4. 平成 21 年
 4. 今岡浩一. 犬ブルセラ症の現状と課題. 日本獣医師会誌, 62(1): 5-12, 2009
 5. 今岡浩一. ブルセラ症の最近の話題. モダンメディア, 55(3): 76-85, 2009
 6. 今岡浩一, 高橋英之. エルシニア症. in : ズーノーシスハンドブック (岸本寿男, 山田章雄 監修), メディカルサイエンス社, pp.118-120, 2009
 7. 今岡浩一. ブルセラ症. in : ズーノーシスハンドブック (岸本寿男, 山田章雄 監修), メディカルサイエンス社, pp.156-158, 2009
 8. 今岡浩一. ブルセラ症 一人・家畜・犬一. 獣医畜産新報, 62(6): 457-461, 2009
 9. 内田幸憲, 鎌倉和政, 後藤郁夫, 杉本昌生, 山本和正, 丸山総一, 福士秀人, 今岡浩一, 岸本壽男, 吉川泰弘. 動物病院勤務者の人獣共通感染症にかかわる健康調査. 獣医畜産新報, 62(6): 485-487, 2009
 10. 今岡浩一. 犬, 猫由来細菌感染症. 獣医疫学雑誌, 13(1): 65-70, 2009
 11. Park CH, Nakanishi A, Hatai H, Kojima D, Oyamada T, Sato H, Kudo N, Shindo J, Fujita O, Hotta A, Inoue S, Tanabayashi K. Pathological and Microbiological Studies of Japanese Hare (*Lepus brachyurus angustidens*) Naturally Infected with *Francisella tularensis* subsp. holarctica. J Vet Med Sci. 2009 71:1629-35
 12. 井上 智. (3) リッサウイルス感染症 (四類感染症). 6 神経疾患. III 疾患別各論編. 東京都 感染症マニュアル 2009. 監修・東京都新たな感染症対策委員会. 東京都福祉保険局. 262-263, 2009
 13. 井上 智. ウイルス 狂犬病. ZOOZOSIS HANDBOOK (ズーノーシスハンドブック : 医療関係者・獣医療関係者のための診断・治療ガイド). 監修 : 岸本寿男, 山田章雄. Medical Science (メディカルサイエンス社), 41-43, 2009
 14. 井上 智. ウイルス リッサウイルス感染症. ZOOZOSIS HANDBOOK (ズーノーシスハンドブック : 医療関係者・獣医療関係者のための診断・治療ガイド). 監修 : 岸本寿男, 山田章雄. Medical Science (メディカルサイエンス社), 75-76, 2009
 15. Inoue S., Boldbaatar B., Sugiura N., Noguchi A., and Park C.-H. 2009. Rabies. In: Animal Viruses (Maeda A., ed.). RESEARCH SIGNPOST. (in press).
2. 学会発表
 - 1) 岸本寿男、吉林台、猪熊 壽、花岡 希、坂田明子、小川基彦、安藤秀二、福士秀人、大屋賢司、矢野竹男、山田章雄.Q 熱コクシエラの生態系における感染リスク評価に関する研究.第 27 回日本クラミジア研究会・第 16 回リケッチア研究会合同学術集会.平成 21 年 11 月 7 日.東京高野 愛, 藤田博己, 安藤秀二, 川端寛樹, 渡邊治雄. 野生鳥類を主とした国内生態系におけるボレリアの存在様式と病原体拡散に関するリスクの検討. 第 82 回日本細菌学会総会.2009 年 3 月.愛知.
 - 2) 大橋典男, 鳥日図, 高娃, 川森文彦, 高野愛, 川端寛樹, 安藤秀二, 岸本壽男. 国内初の新興感染症「アナプラズマ症」について. 第 82 回日本細菌学会総会.2009 年 3 月.愛知.

- 3) 井上 快, 壁谷英則, 川端寛樹, 宇根有美, 吉川泰弘, 丸山総一. 小型哺乳類を自然宿主とする病原性 *Bartonella* 属菌の生態に関する研究. 第 147 回日本獣医学会学術集会. 2009 年 3 月. 栃木.
- 4) 岡田玲奈, 木花いづみ, 武藤麻紀, 高野愛, 川端寛樹, 渡邊治雄. ライム病の一例. 第 823 回日本皮膚科学会東京地方会. 2009 年 1 月. 神奈川.
- 5) 川端寛樹, 高野 愛, 渡邊治雄. 実験室内に病原体の姿を探る. 第 63 回日本衛生動物学会西日本支部大会 (教育講演). 2008 年 11 月. 神戸.
- 6) 大橋典男, 高蛙, 鳥日囃, 川森文彦, 千屋誠造, 安藤秀二, 川端寛樹, 岸本寿男. 新興感染症「アナプラズマ症」患者の発見. 第 26 回日本クラミジア研究会・第 15 回リケッチア研究会合同学術集会. 2008 年 11 月. 岐阜.
- 7) 安藤秀二, 坂田明子, 宇根有美, 五箇公一, 藤田博己, 花岡 希, 高野 愛, 川端寛樹, 岸本寿男. 輸入爬虫類が病原体を持ち込むリスクに関する考察. 第 26 回日本クラミジア研究会・第 15 回リケッチア研究会合同学術集会. 2008 年 11 月. 岐阜.
- 8) 岸本寿男, 安藤秀二, 猪熊壽, 岩崎博道, 大橋典男, 岡部信彦, 川端寛樹, 倉田毅, 高田伸弘, 堤寛, 田原研司, 藤田博己, 古屋由美子, 山本正吾. リケッチア感染症の早期警鐘システム構築・国内実態調査及び早期診断体制の確立に向けた現状と課題. 第 26 回日本クラミジア研究会・第 15 回リケッチア研究会合同学術集会. 2008 年 11 月. 岐阜.
- 9) 安藤秀二, 坂田明子, 鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己, 花岡希, 高野 愛, 川端寛樹, 渡邊治雄, 岸本寿男. 鳥類に関連するマダニ類からのリケッチアの検出. 第 146 回日本獣医学会学術集会. 2008 年 9 月. 宮崎.
- 10) 高野 愛, 鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己, 安藤秀二, 川端寛樹, 渡邊治雄. 野生鳥類を主とした国内生態系におけるボレリアの存在様式と病原体拡散に関するリスクの検討. 第 146 回日本獣医学会学術集会. 2008 年 9 月. 宮崎.
- 11) 森 亜紀奈, 今内 覚, 山田慎二, 今村彩貴, 伊東拓也, 川端寛樹, 小沼 操, 大橋 和彦. シュルツェマダニ (*Ixodes persulcatus*) 唾液腺由来免疫抑制因子の同定および発現解析. 第 146 回日本獣医学会学術集会. 2008 年 9 月. 宮崎.
- 12) 下長根藍, 井上 快, 壁谷英則, 川端寛樹, 高田伸弘, 林谷秀樹, 丸山総一. わが国の野鼠における *Yersinia enterocolitica* の保有状況と分離株の *gyrB* 遺伝子系統解析. 第 146 回日本獣医学会学術集会. 2008 年 9 月. 宮崎.
- 13) 鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己, 坂田明子, 武藤麻紀, 高野愛, 山内健生, 川端寛樹, 安藤秀二, 岸本壽男. 鳥類外部寄生虫からの病原体の検出—鳥類標識調査を主とした外部寄生虫採集—. 日本鳥学会 2008 年度大会. 2008 年 9 月. 東京.
- 14) 藤田博己, 安藤秀二, 川端寛樹, 坂田明子, 高野 愛. 福島県のハシブトマダニとタネガタマダニからのリケッチア分離例. 第 60 回日本衛生動物学会大会. 2008 年 4 月. 栃木.
- 15) 本田俊郎, 藤田博己, 藏元強, 御供田睦代, 角坂照貴, 高田伸弘, 矢野泰弘, 川端寛樹, 高野 愛, 山本正悟, 田原研司, 及川陽三郎. 鹿児島県トカラ列島のマダニ相とマダニ保有病原体の調査. 第 60 回日本衛生動物学会大会. 2008 年 4 月. 栃木.
- 16) 本田俊郎, 角坂照貴, 川端寛樹, 高野 愛, 藤田博己, 藏元強, 御供田睦代, 高田伸弘, 矢野泰弘, 山本正悟, 田原研司, 及川陽三郎. 鹿児島県トカラ列島の野鼠類と野鼠保有病原体の調査. 第 60 回日本衛生動物学会大会. 2008 年 4 月. 栃木.
- 17) 川端寛樹, 坂田明子, 安藤秀二, 高野 愛, 渡邊治雄, 鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己. 国内生態系における *Borrelia* 属細菌の拡散に関する宿主鳥類と媒介マダニ. 第 60 回日本衛生動物学会大会. 2008 年 4 月. 栃木.
- 18) 川端寛樹, 高野 愛, 安藤秀二, 花岡希, 坂田明子, 藤田博己, 河村好章, 清島真理子, 角坂照貴, 渡邊治雄. マダニ刺咬例調査によって見いだされた新しいボレリア感染症. 第 82 回日本感染症学会総会 2008 年 4 月. 島根.
- 19) 田原研司, 藤田博己, 新井 智, 矢野泰弘, 高田伸弘, 片山 丘, 川端寛樹. 島根県におけるダニ媒介性感染症の実態と病原体の浸淫状況. 第 82 回日本感染症学会総会 2008 年 4 月. 島根.
- 20) 川端寛樹, 高野 愛, 藤田博己, 武藤麻

- 紀, 渡邊治雄. MLST 法による国内野生鳥類由来ボレリアと北海道患者由来ボレリアの遺伝子型別解析. 第 83 回日本細菌学会総会. 2010 年 3 月. 横浜.
- 21) 高野 愛, 藤田博己, 角坂照貴, 今内覚, 田島朋子, 五箇公一, 宇根有美, 川端寛樹, 渡邊治雄. 爬虫類および爬虫類寄生性マダニより発見された新群のボレリアとその性状解析. 第 149 回日本獣医学会学術集会. 2010 年 3 月. 東京.
- 22) 高野 愛, 川端寛樹, 武藤麻紀, 藤田博己, 渡邊治雄. 国内産爬虫類寄生性マダニから見いだされたボレリアとそのマダニ体内での動態. 第 83 回日本細菌学会総会. 2010 年 3 月. 横浜.
- 23) 佐藤寛子, 柴田ちひろ, 佐藤了悦, 斎藤博之, 安部真理子, 齊藤志保子, 高橋守, 藤田博己, 角坂照貴, 高田伸弘, 川端寛樹, 高野 愛. 秋田県において 15 年ぶりに確認されたアカツツガムシ媒介性つつが虫病と感染推定地におけるツツガムシの生息状況調査. 第 16 回リケッチア研究会. 2009 年 11 月. 東京.
- 24) 松谷峰之介, 東慶直, 小川基彦, 花岡希, 川端寛樹, 倉根一郎, 安藤秀二, 岸本寿男, 白井睦訓. 日本紅斑熱の原因菌 *Rickettsia japonica* の全ゲノム配列解析. 第 16 回リケッチア研究会. 2009 年 11 月. 東京.
- 25) 花岡希, 松谷峰之介, 川端寛樹, 山本正悟, 藤田博己, 坂田明子, 東慶直, 小川基彦, 岸本寿男, 白井睦訓, 倉根一郎, 安藤秀二. 病原性 *Rickettsia japonica* グループにおける特異的 ORF の同定と検出系への応用. 第 16 回リケッチア研究会. 2009 年 11 月. 東京.
- 26) 藤田博己, 高田伸弘, 矢野泰弘, 及川陽三郎, 川端寛樹, 安藤秀二, 坂田明子, 高野 愛. 国内のキチマダニから分離された *Rickettsia canadensis* について. 第 16 回リケッチア研究会. 2009 年 11 月. 東京.
- 27) 佐藤寛子, 柴田ちひろ, 佐藤了悦, 斎藤博之, 安部真理子, 齊藤志保子, 高橋守, 藤田博己, 角坂照貴, 高田伸弘, 川端寛樹, 高野 愛. 秋田県における古典的つつが虫病患者の症例とツツガムシの生息状況調査の経過報告. 第 55 回日本衛生動物学会北日本支部大会. 2009 年 10 月. 帯広.
- 28) 安藤秀二, 藤田博己, 坂田明子, 矢野泰弘, 大竹秀男, 及川陽三郎, 角坂照貴, 黒澤昌啓, 川端寛樹, 高田伸弘. 仙台市での *Rickettsia heilongjiangensis* 感染症例の発見と保有マダニ調査. 第 55 回日本衛生動物学会北日本支部大会. 2009 年 10 月. 帯広.
- 29) 伊東拓也, 高田伸弘, 藤田博己, 坂田明子, 安藤秀二, 川端寛樹, 高野 愛. 日本北端地域におけるマダニ媒介性病原体の調査. 第 55 回日本衛生動物学会北日本支部大会. 2009 年 10 月. 帯広.
- 30) 藤田博己, 高田伸弘, 安藤秀二, 川端寛樹, 高野 愛, 坂田明子. 青森県における紅斑熱のベクター調査. 第 55 回日本衛生動物学会北日本支部大会. 2009 年 10 月. 帯広.
- 31) 高野 愛, 川端寛樹, 武藤麻紀, 小笠原由美子, 藤田博己, 鶴見みや古, 渡邊治雄. 国内で初めて見いだされた回帰熱ボレリアの感染性に関する研究. 第 55 回日本衛生動物学会北日本支部大会. 2009 年 10 月. 帯広.
- 32) 川端寛樹, 武藤麻紀, 高野 愛, 小笠原由美子, 藤田博己, 鶴見みや古, 増沢俊幸, 宮本健司, 渡邊治雄. Multi-locus sequence typing 法による国内野生鳥類由来ボレリアと北海道患者由来ボレリアの遺伝子型別解析. 第 55 回日本衛生動物学会北日本支部大会. 2009 年 10 月. 帯広.
- 33) 今内覚, 村瀬優介, 山田慎二, 肥田野新, 伊東拓也, 川端寛樹, 小沼操, 大橋和彦. シュルツェマダニにおけるライム病ボレリア伝播関連遺伝子の同定. 第 148 回日本獣医学会学術集会. 2009 年 9 月. 鳥取.
- 34) 肥田野新, 今内覚, 村瀬優介, 山田慎二, 伊東拓也, 川端寛樹, 小沼操, 大橋和彦. シュルツェマダニ (*Ixodes persulcatus*) 由来 Salp16 様遺伝子の同定と発現解析. 第 148 回日本獣医学会学術集会. 2009 年 9 月. 鳥取.
- 35) 高野 愛, 藤田博己, 角坂照貴, 今内覚, 田島朋子, 武藤麻紀, 小笠原由美子, 川端寛樹, 渡邊治雄. 国内産爬虫類寄生性マダニから見いだされたボレリアとそのマダニ体内での動態. 第 148 回日本獣医学会学術集会. 2009 年 9 月. 鳥取.
- 36) 山内健生, 田原研司, 金森弘樹, 川端寛樹, 新井 智, 片山 丘, 藤田博己, 矢野泰弘, 高田伸弘, 板垣朝夫. 島根県の日本紅斑熱汚染地域におけるマダニ相. 日本昆虫学会第 69 回大会. 2009 年 10 月. 三重.
- 37) 高田伸弘, 藤田博己, 安藤秀二, 川端寛

- 樹, 矢野泰弘, 高野 愛, 岸本壽男. 仙台市内河川敷にみるネズミ分布相の特性—広東住血線虫や紅斑熱感染環との絡み—. 第 61 回日本衛生動物学会大会. 2009 年 4 月. 香川.
- 38) 矢野泰弘, 高田伸弘, 岩崎博道, 藤田博己, 角坂照貴, 及川陽三郎, 田原研司, 山本正悟, 本田俊郎, 平良勝也, 安藤秀二, 川端寛樹, 岸本壽男. 環東シナ海の島嶼に分布するツツガムシ, 疫学的な連関は? 第 61 回日本衛生動物学会大会. 2009 年 4 月. 香川.
- 39) 藤田博己, 大竹秀男, 矢野泰弘, 安藤秀二, 川端寛樹, 岸本壽男, 坂田明子, 高田伸弘. 宮城県で確認できたマダニとマダニ保有リケッチア. 第 61 回日本衛生動物学会大会. 2009 年 4 月. 香川.
- 40) 藤田博己, 高田伸弘, 矢野泰弘, 馬原文彦, 川端寛樹, 安藤秀二, 岸本壽男, 坂田明子. 四国のマダニ類における紅斑熱群リケッチアの分離状況. 第 61 回日本衛生動物学会大会. 2009 年 4 月. 香川.
- 41) 大橋典男, 千屋誠造, 船戸豊彦, 塩尻正明, 高野愛, 川端寛樹, 安藤秀二, 岸本壽男. 国内初の新興感染症「ヒトアナプラズマ症」2 症例について. 第 83 回日本感染症学会総会 2009 年 4 月. 東京
- 42) 安藤秀二, 黒澤昌啓, 坂田明子, 藤田博己, 矢野泰弘, 高野愛, 川端寛樹, 花岡希, 斉藤若奈, 岸本壽男. 仙台市で確認された新しい紅斑熱リケッチア症. 第 83 回日本感染症学会総会 2009 年 4 月. 東京
- 43) 小泉信夫, 谷川力, 林英治, 赤尾信明, 川端寛樹, 渡邊治雄. 東京都で発生したレプトスピラ症とドブネズミのレプトスピラ保有状況. 第 83 回日本感染症学会総会 2009 年 4 月. 東京 勝川千尋, 小宮貴子, 岩城正昭, 高橋元秀: 本邦で初めてイヌから分離されたジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* 第 81 回日本細菌学会総会 平成 20 年 3 月 京都
- 44) Takako Komiya, Shin-ichi Nureki, Shoji Asakura, Masaaki Iwaki, Yoshichika Arakawa and Motohide Takahashi. Recent *Corynebacterium ulcerans* cases in Japan. Ninth ELWGD & Diphtheria Surveillance Network (DIPNET), October 2008, Athens (Greece).
- 45) 小宮貴子, 岩城正昭, 荒川宜親, 高橋元秀, 畑中 章生, 角田篤信: 参考症例 *Corynebacterium ulcerans* 感染症, 第 19 回日本臨床微生物学会総会 2008
- 46) 高橋元秀, 小宮貴子, 山本明彦, 岩城正昭, 見理 剛: 国内の犬・猫のジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* 保菌状況 日本獣医師会学会年次大会 平成 22 年 1 月 宮崎
- 47) 勝川千尋, 山岸寛明, 河井昭男, 石井篤嗣, 西野俊治, 山本隆司, 長濱伸也, 小宮貴子, 岩城正昭, 高橋元秀: 犬におけるジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* 保菌状況調査 日本獣医師会学会年次大会 平成 22 年 1 月 宮崎
- 48) 小川 高, 三島浩享, 新家俊樹, 杉山寛治, 神田 隆, 高橋元秀: 鼻汁より毒素原性 *Corynebacterium ulcerans* が分離された家庭猫の 1 例 日本獣医師会学会年次大会 平成 22 年 1 月 宮崎
- 49) T. Komiya, A. Yamamoto, M. Iwaki, T. Kenri, Y. Noguchi, A. Tsunoda, Y. Arakawa and M. Takahashi: A human *C. ulcerans* case: isolation of the pathogen from the patient and from a cat. ELEVENTH INTERNATIONAL MEETING OF THE EUROPEAN LABORATORY WORKING GROUP ON DIPHTHERIA, ELWGD & THIRD ANNUAL MEETING OF DIPHTHERIA SURVEILLANCE NETWORK (DIPNET) 7-9 OCT. 2009 RIGA, LATVIA
- 50) 勝川千尋, 山岸寛明, 石井篤嗣, 西野俊治, 河井昭男, 山本隆司, 長濱伸也, 小宮貴子, 岩城正昭, 高橋元秀: 大阪府内の犬におけるジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* の保菌状況と分離菌株の解析 平成 21 年度日本獣医公衆衛生学会 (近畿)
- 51) 柳井徳磨, 中村涼子, 村上麻美, 酒井洋樹, 柵木利昭, 加納壘, 村田浩一. 「ペンギンの背景病変」日本内科学アカデミー・日本獣医臨床病理学会 2009 年大会 (2009 年東京)
- 52) 福田真弓, 柳井徳磨, 酒井洋樹, 柵木利昭, 福士秀人, 加納壘, 長谷川篤彦, 森康行, 長嶺隆. 「*Mycobacterium genavens* 感染が疑われた鳥抗酸菌症およびアスペルギルス症を併発したシロムネオオハシの 1 例」第 145 回日本獣医学会学術集会 (2008 年相模原)

- 53) 福田真弓、柳井徳磨、酒井洋樹、柵木利昭、森康行。「ウスユキバト (*Geopelia cuneata*) 飼育群における抗酸菌感染事例」第12回鳥類臨床研究会大会 (2008年東京)
- 54) 奥谷晶子、井上智、今岡浩一、山田章雄。Pyrosequencingによる炭疽菌、ペスト菌およびブルセラ属菌の迅速同定法の確立。第146回日本獣医学会学術集会、宮崎、2008年9月
- 55) 今岡浩一、野村篤史、今西一、木村昌伸、鈴木道雄、山田章雄、志水英明。 *Bruceella canis* 感染症例とその背景、事後対応。第83回日本感染症学会総会、東京、2009年4月、感染症学雑誌 83:S233, 2009
- 56) 朴天鎬、中西中、小山田敏文、佐藤久聡、進藤順治、藤田修、堀田明豊、棚林清。野兔病菌 (*Francisella tularensis*) に感染後死亡したノウサギに関する病理学的研究 第147回日本獣医学会学術集会 2009年4月 (宇都宮市)
- 57) 朴天鎬、中西中、小山田敏文、佐藤久聡、進藤順治、工藤上、藤田修、堀田明豊、井上智、棚林清 野兔病菌に自然感染したトウホクノウサギ (*Lepus brachyurus angustidens*) の症例報告—野生動物の病理解剖の意義と感染リスク—第9回ヒトと動物の共通感染症研究会学術集会 2009年11月 (東京)

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
なし

Ⅱ. 平成19年度総括・分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)
総括研究報告書

動物由来感染症の生態学的アプローチによるリスク評価等に関する研究

主任研究者 山田章雄 国立感染症研究所獣医科学部長

研究要旨 国内における存在が明らかではあるが、その浸淫状況の把握が不完全である動物由来感染症として、Q 熱、ボレリア感染症、野兔病、ブルセラ症、コリネバクテリウムウルセランス感染症を取り上げ、生態系における存在様式を明らかにすることを目的とした。今年度はQ 熱に関しては疫学調査に欠かせない抗体測定法の精度について検討し、市販キットでは偽陽性があることを明らかにした。ボレリアについては鳥類に付着したマダニによってその分布が拡大していること、これまでに国内では報告のなかった新種のボレリアの存在を明らかにした。コリネバクテリウムに関してはジフテリア毒素と抗原的に区別のできない毒素がウルセランスから産生されていること、ヒトの感染事例と関与が疑われたイヌからの分離菌が遺伝的に極めて近縁であることなどから、近辺のイヌにおける保菌状況を調査したが、陽性の個体は見いだせていない。国内で捕獲されたイノシシ、シカについてブルセラ属菌の保有状況を血清学的に調査したが、これまでのところ陽性個体は見いだされなかった。野兔病に関しては日本各地のマダニから野兔病特異的と考えられてきたプライマーを用いたPCRで陽性となる個体が発見された。これら陽性マダニの発見場所と患者発生頻度には関連が認められず、マダニに野兔病菌に極めて近縁な菌が保有されている可能性が高いと考えられた。また、国内の野生動物の保有する動物由来感染症の病原体についての基礎的情報を得る一環として、死亡鳥類、捕殺ツキノワグマについて調査したが、これまでのところ重要な病原体は検出されていない。一方、国内には存在しないが、海外からの侵入が危惧される狂犬病の診断体制構築における基盤技術としてのイヌの剖検、特に脳幹部の採材を滞りなく行うための教材として、イヌの頭部解剖モデルの作成を試みた。これまでに基本的な設計に必要な3Dイメージを固めることに成功している。

分担研究者

岸本寿男 国立感染症研究所ウイルス1部室長
川端寛樹 国立感染症研究所細菌第1部室長
高橋元秀 国立感染症研究所細菌第2部室長
柳井徳磨 岐阜大学農学部教授
井上 智 国立感染症研究所獣医科学部室長
今岡浩一 国立感染症研究所獣医科学部室長
棚林 清 国立感染症研究所獣医科学部室長

研究協力者

各分担研究報告書に記載

A. 研究目的

野兔病、ブルセラ症などは国内の環境の変化、衛生状態の向上などにより感染者の報告は極めて少なくなっている。しかし、これまでの我々や他のグループの調査から、依然として国内にこれらの病原体が存続していると考えられるにもかかわらず、その実態は不明な点が多く、リスクの正しい評価ができていない。また、Q 熱においても、典型的な患者報告が極めて少なかったが、最近典型的な患者の発生が報告された。

従って、国内に存在することは間違いないが、その存在様式等はやはり不明な点が多い。ジフテリア毒素産生コリネバクテリウムウルセランス感染はジフテリアに極めて類似する病態を呈し、動物から感染する可能性が指摘されているが、その実態はやはり不明な点が多い。また、ライム病ボレリア、レプトスピラなどに関してもその生態系における国内での存在様式を明らかにする必要がある。本研究はこれらの点を踏まえ、動物由来感染症の病原体の生態系における存在様式を精査し、そのリスク評価を改めて行う。一方、国内への侵入が憂慮される狂犬病について、国内侵入をいち早く察知するために不可欠な診断技術向上のため、実習用モデルの試作を行う。一方、狂犬病侵入のリスクが他地域よりも高い可能性のある地域で、交通事故死したような野生動物に関して、脳組織を狂犬病検査に供するようなモデルシステムの構築を試みる。

B. 研究方法

病原体あるいは抗体の検出は個々の報告書に記

載した方法による。

C. 研究結果

(1) Q 熱に関する研究

ヒトの Q 熱抗体価測定法として市販の ELISA キットの性能を検討するため、市販 ELISA キットと、われわれの開発した非特異反応除去処理をした IFA 法を用い、健康人の保存血清をスクリーニングした結果を比較した。ELISA 法によって判定保留ならびに陽性と判定された検体について IFA 法で再検したところ、すべて判定保留以下となり、陽性検体は認めなかった。このことから ELISA 法の単独使用には注意が必要と考えられた。一方、家畜、ペット、野生動物、ベクターにおける Q 熱コクシエラの感染実態や存在についての調査を進めるにあたって、これらの検体の全国的な収集を行なった。これまでに約 1500 検体イヌ・ネコの血液、野生のシカの血液、ダニが得られたため、次年度の遺伝子検査に向けての DNA 抽出や、抗体測定用の抗原等を整備中である。

(2) ボレリアに関する研究

国内および韓国の鳥類 41 種より採取されたマダニ 660 個体中の種を決定したところ、*Ixodes persulcatus* (327 個体, 49.5%) ならびに *Haemaphysalis flava* (170 個体, 25.8%) が主な鳥類寄生マダニとして同定された。また、マダニ 536 個体中で病原体検索を行ったところ、37 個体から *Borrelia* DNA が検出された。このうち 26 個体 (70.3%) からライム病病原体 *B. garinii* が検出されたことから、鳥類 (野鳥) の移動に伴い、病原体を保有するマダニが拡散すること、及び、この拡散に重要なマダニの種ならびに病原体の一部を明らかにできた。また、アメリカで報告されている Southern tick associated rash illness (STARI) の病原体である *B. lonestari* に類似した病原体 DNA を *I. turdus* より検出した。さらに回帰熱ボレリア DNA を *Carios sawaii* より検出した。今後、鳥類の移動 (渡り) 経路と、寄生マダニ種、および病原体種との関連をさらに検討するとともに、患者発生の有無などの疫学情報を調査する予定である。

(3) コリネバクテリウムに関する研究

2001 年以降に国内の動物から分離された *C. ulcerans* の細菌学および分子生物学的性状解析をおこなった。過去にヒトおよび動物から分離された *C. ulcerans* は、遺伝学的に類似していることが確認された。また *C. ulcerans* の

産生する毒素と *C. diphtheriae* が産生する毒素とは抗原的には区別できないが、遺伝学的には異なっていることが明らかになった。2001 年以降国内ではジフテリア様症状を呈する 5 例の患者からジフテリア毒素産生性 *C. ulcerans* が分離され、患者の環境調査で犬、猫の関与が疑われている。愛護センター等で管理されている犬の調査を実施した結果、大阪府犬管理指導所の 1 匹の犬から毒素産生性 *C. ulcerans* が分離された。しかし、犬が飼育されていた地域の環境調査として地区獣医師会 28 開業獣医師の協力を得て咽頭スワブ等から採取した 218 検体を検査したが、菌の分離、PCR 試験で陽性の検体は得られなかった。

(4) 野生動物の感染症に関する研究

今年度は猛禽類とツキノワグマの感染症の基本的情報を得るため、主に病理学的に猛禽類の死因調査、有害鳥獣として捕殺されたクマの病原体保有状況調査を行った。今回の調査から、野生鳥類の死因は外傷、敗血症等であり、病理学的に感染症を疑わせるものは認められなかった。ツキノワグマではヒトに感染すると言われていたフィラリア症が 17% 程度に認められた。

(5) ブルセラ症に関する研究

国内の野生動物におけるブルセラ菌の保有状況を知るために、大日本猟友会の協力により、国内の野生イノシシ 213 頭および日本シカ 38 頭の血液サンプルを入手し、ブルセラ菌に対する抗体の保有状況をマイクロ凝集反応試験により検討した。その結果いずれの野生動物においてもブルセラ菌の保有は確認されなかった。今後、さらに例数を増やして検討をすることと、より感度が高く、特異的な検査法の開発が必要であると考えられた。

(6) 野兎病に関する研究

国内のダニ類における野兎病菌 (*F. tularensis*) の保菌状況を知るために捕獲ノウサギに付着していたダニ 85 プール (317 匹) およびノウサギ捕獲地域で採集した自由生活ダニ 67 匹について本菌のゲノム DNA の検出を試みた。*fopA* 及び *tu4* 遺伝子領域のリアルタイム PCR ではノウサギ付着ダニの 70.1% 及び 71.8%、自由生活ダニの 55.2% 及び 67.2% に少量の DNA が検出された。しかし、菌分離はできなかったこと、過去に野兎病の発生がなかった地域のダニにも検出されること、また、検出率が非常に高いことなどから、今回検出された DNA 断片は *F. tularensis* あるいはダニに共生する本菌に非常に類似した菌由来の可能性が考えられ、今後、

このような類似菌を確実に区別する方法を検討し精査する必要がある。

(7) 狂犬病に関する研究

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技習得に必要となるモデル・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。

(8) その他鼠咬症に関する研究、狂犬病の診断用抗体のバリデーションに関する研究も行われた。

D. 考察

初年度ではあるが、目的とした感染症についてある程度の情報が得られた。Q 熱に関しては抗体測定法の標準化がきわめて重要であることが明らかになったことから、精度の高い方法を用い、改めて動物のかかわりを検討していく必要がある。ボレリアに関してはその分布拡大に関与するまだにおよび鳥類の種の同定を継続する必要がある。ブルセラに関しては四国地方のイノシシに抗体陽性個体があるとの報告があることから、この地域での調査を継続し、実態を明らかにしたい。野兎病菌に極めて近縁な菌をマダニが保有している可能性が示されたが、この菌に関して、さらにヒトへの病原性を含めた解析が必要であると考えられる。コリネバクテリウムウルセランス感染症に関してはヒトの感染事例が少数ではあるが報告されている。いずれも動物の関与が示唆されてはいるもののこれまでのところ明確な証拠は得られていない。今後ともその実態を明らかにするための調査研究の継続が必要である。野生動物の感染症は多数に及びそのうちヒトに対して重要なものは抗体調査および抗原・遺伝子検索で検出を試みることになるが、リスク評価にまでつなげることは難しいかも知れない。従って、猟犬あるいは野生動物関係者の血清学的調査で曝露を含めたリスク評価ができる可能性があるので、来年度以降はこの点に焦点を絞りたい。狂犬病診断のためのイヌ頭部モデルの作成はその実現性のめどが立ったため実際の制作にかかる予定である。

E. 結論

国内での存在は明らかにされているがその存在様式が不明な動物由来感染症について実態調査を行った。Q 熱については調査のための方法論を確認した。その他については実際に調査を行い、部分的にはあるがその実態を明らかにした。今後調査研究を継続する。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. Imaoka, K., Kimura, M., Suzuki, M., Kamiyama, T. and Yamada, A. A. Simultaneous detection of the genus *Brucella* by combinatorial PCR. *Jpn. J. Inf. Dis.*60, 137-139, 2007

2. Masanobu Kimura, Tsutomu Tanikawa, Michio Suzuki, Nobuo Koizumi, Tsuneo Kamiyama, Koichi Imaoka and Akio Yamada Detection of *Streptobacillus* spp. in feral rats by specific polymerase chain reaction. *Microbiol. Immunol.* 52, 1-7, 2008.

3. Masanobu Kimura, Koichi Imaoka, Michio Suzuki, Tsuneo Kamiyama and Akio Yamada Evaluation of a microplate agglutination test (MAT) for serological diagnosis of canine brucellosis. *J. Vet. Med. Sci* (in press)

Q熱コクシエラの生態系における感染リスク評価

分担研究者	岸本寿男	国立感染症研究所ウイルス第一部第五室	室長
協力研究者	安藤秀二	同	主任研究官
	小川基彦	同	主任研究官
	坂田明子	同	研究員
	花岡 希	同	流動研究員
	福士 秀人	岐阜大学応用生物科学部	教授
	大屋賢司	同	講師
	猪熊 壽	帯広畜産大学獣医学部	教授
	野村 彩朱	オリエンタル酵母(株)	研究員
	矢野 竹男	同	研究員

研究の要約: Q熱は重要な動物由来感染症であるが、本邦におけるQ熱コクシエラの生態系での存在様式の実態は不明である。本研究ではヒト、家畜、ペット、野生動物などの動物と、ダニ等のベクターを含む環境での本菌の実態について調査を行い、国内における本病原体の存在様式を明らかにすることを目的とした。本年度はまずヒトのQ熱抗体価測定法についての検討として、健常人の保存血清を用いてスクリーニングとしてのELISA法(キット)と、われわれが開発した非特異反応除去処理をしたIFA法との比較を行った。ELISA法によって判定保留ならびに陽性と判定された検体についてIFA法で再検したところ、すべて判定保留以下となり、陽性検体は認めなかった。このことからELISA法の単独使用には注意が必要と考えられた。今後、畜産関係者等ハイリスクグループとの比較が検討課題である。次に家畜、ペット、野生動物、ベクターにおけるQ熱コクシエラの感染実態や存在についての調査を進めるにあたって、これらの検体の全国的な収集を行なった。これまでに約1500検体イヌ・ネコの血液、野生のシカの血液、ダニが得られ、次年度の遺伝子検査に向けてのDNA抽出や、抗体測定用の抗原等を整備している。

A. 研究の目的

本研究の背景: Q熱は重要な動物由来感染症であり、患者の把握に関して、感染症法で第4類全数届出感染症として、動向調査の報告では、1999年から2006年まで毎年それぞれ12人、23人、40人、43人、9人、7人、8人、2人の患者が報告されている。外国の多発地域では主に家畜が感染原であるのに比べ、本邦で

はペットからの感染が疑われる例や感染経路が不明な例、また抗体上昇の乏しい非典型例が多いとされていた。最近では国内感染と思われる症例で、諸外国での報告に極めて近い臨床像と高抗体を示したものの、周辺の疫学調査でも感染源が不明でペットとの関連が否定的であった事例(三好ら: 道衛研所報 57, 2007)が報告されている。実態の解明が望

まれている。また本菌はさらにバイオテロにも用いられる可能性のある病原体であることから、実態把握が急務である。しかしながら、本邦におけるQ熱コクシエラのヒトや動物の調査は比較的古い過去のデータのみで、しかも検査法や判定基準が最近のものとは大きく異なるため、現在の実態と比較することは困難であり、現状は不明といわざるを得ない。したがって現時点で家畜を含む動物並びに環境、ヒトでの調査を行い、国内における本病原体の生態系での存在様式を明らかにする必要がある。またさらに本邦のQ熱については、客観性と再現性の高い診断システムの普及が不十分なことも問題である。この診断についても本研究の中で進展させる必要がある。

これらの背景や現状を踏まえて、本研究の目的として①ヒト、家畜、ペット、野生動物、環境(ベクターとしてのダニや環境汚染を含む)におけるQ熱コクシエラの実態調査。②国内における本病原体の存在様式、感染源、感染経路の解明。③過去の疫学データの検証と、検査法の検討。をあげた。

ヒトでの検討を行なうには、まずはQ熱患者の検体確保が重要であるが、最近では患者発生が少ないため確定患者の血清等の検体確保が非常に困難な状況にある。そこで本年度は、実態調査のための各種検体の収集を行ないつつ、保存血清を用いてヒトでの診断法、特にコクシエラ抗体測定と比較検討を行なった。

B.研究方法

材料:発熱等の症状のない健常人の保存血清163検体を用いた。男性68検体、女性95検体、年齢は10代~70代。

抗体測定法:

ELISA法はVIRCELL社のCOXIELLA

BURNETII ELISA IgGを用いて使用書に準じて全検体を測定した。

判定基準は、抗体のindex値IDが、<9は陰性、9-11は判定保留、>11は陽性とした。

IFA法はELISA法にて判定保留、あるいは陽性と判定された検体について施行した。検査は検査マニュアルのQ熱抗体検査法に準じて、Nine Mile株II相菌の感染細胞をスライドに固定したものを抗原とした間接蛍光抗体法にて実施した。

検体希釈液:非特異反応除去のための希釈液(BufferA)を使用。

二次抗体: Goat F(ab')₂ Anti-Human IgG, FITC, Cat #: AHI1308, BIOSOURCEをPBS-0.5%BSAにて200倍希釈。

判定は、200倍、400倍で鏡検し、封入体、細胞外粒子を確認(3箇所/1well観察)した。観察による染色のパターンの判断は、陽性判定:封入体及び細胞外粒子が染色されるもの。陰性判定1:封入体のみ染色され、細胞外粒子は染色されないもの。陰性判定2:封入体、細胞外粒子ともに染色されないもの。とした。そして、判定基準は、陽性:256倍以上、判定保留:64~128倍、陰性:64倍未満とした。

C.研究結果

スクリーニングとして用いたELISA法IgG抗体測定の結果は、判定保留8検体(8/163:4.9%)、陽性7検体(7/163:4.3%)であった。内訳は、判定保留でID値9が3検体、ID値10が5検体、陽性ではID値12と16がそれぞれ2検体、ID値14、15、18が各1検体であった。この計15検体について、IFA法のIgG抗体測定で再検し確認した。

その結果、ELISA法で判定保留とされた1検