

## 外傷; 51例(25.5%)

- ・脊椎, 上腕骨, 大腿骨, 頭蓋骨, 鎖骨などの骨折
- ・体腔内出血, 硬膜下出血など



体腔内出血

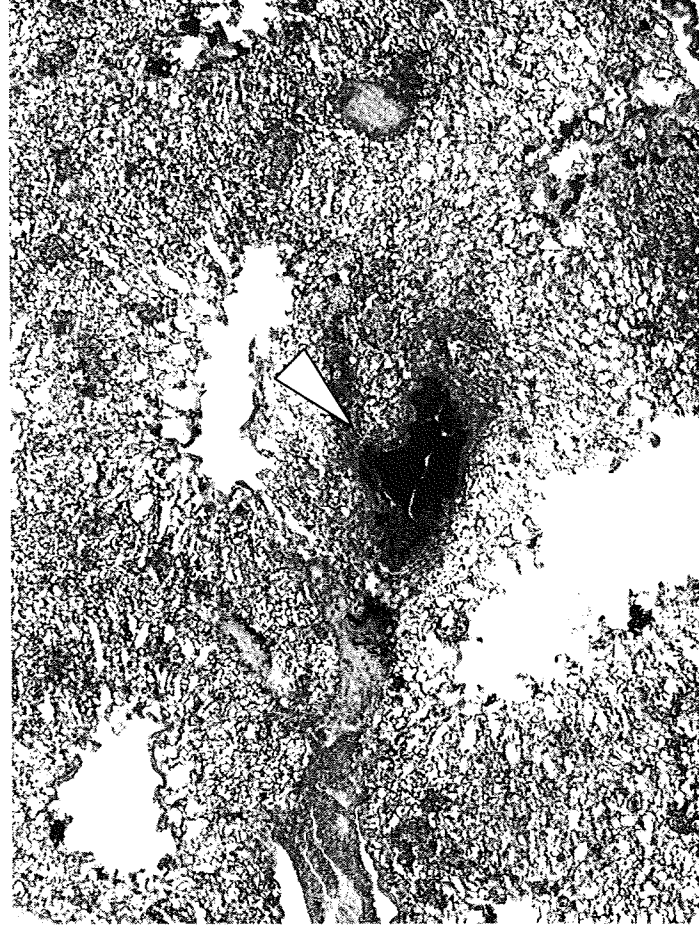
No. 135 カンムリワシ

No. 132 カンムリワシ

図4 外傷

## 敗血症; 12例(6%)

- ・全身臓器に細菌塊とそれに対する炎症反応がみられたもの  
→敗血症(9例)
- ・細菌感染を示唆する病変が全身でみられたもの  
→敗血症の疑い(3例)



No. 26 クマタカ 心臓(左) 肺(右)

図5 敗血症

### ③趾瘤症・・・2例(1%)

- ・2例とも長期保護飼育個体
- ・両後肢に発生

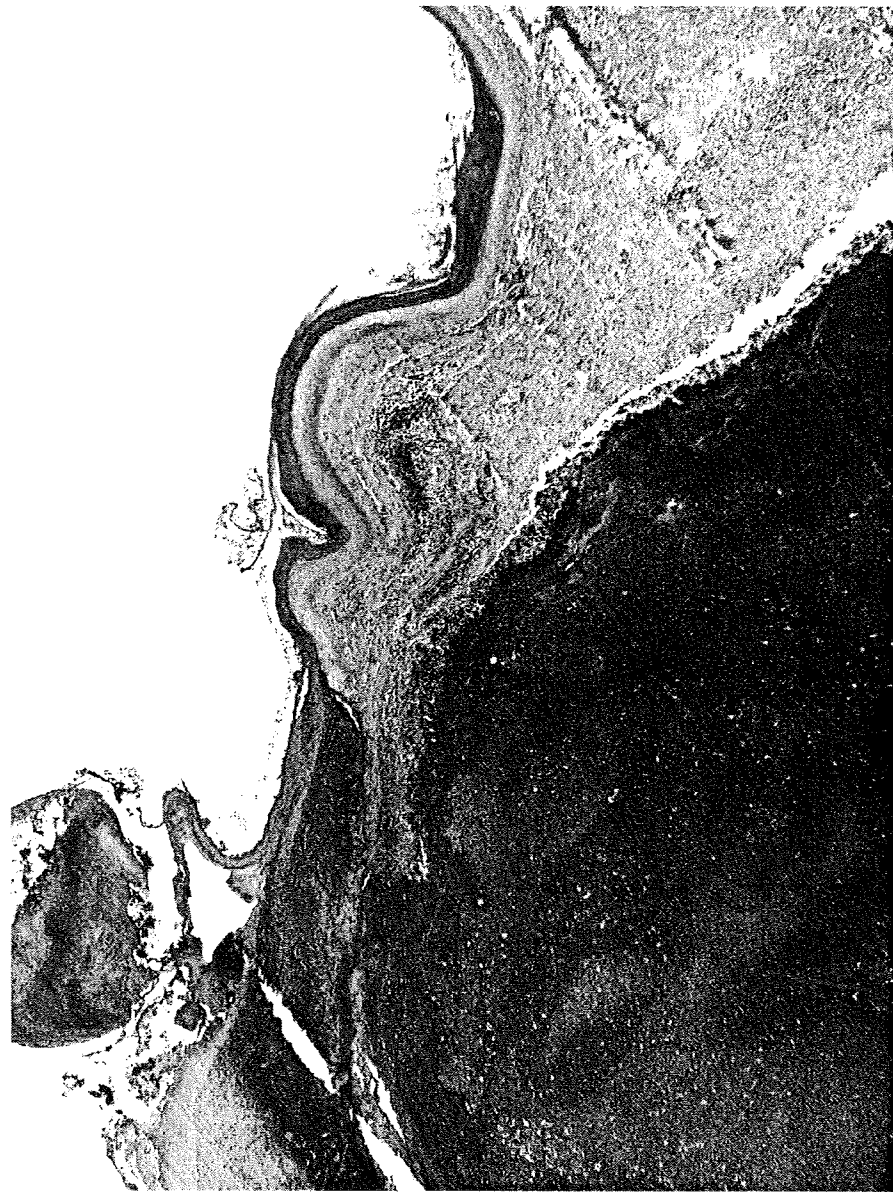


図6 趾瘤症

No. 113 ハヤブサ 後肢

## ⑤肝臓における壊死や肉芽腫の形成; 64例(32%)

- ・細菌や真菌などの病原体は検出されず

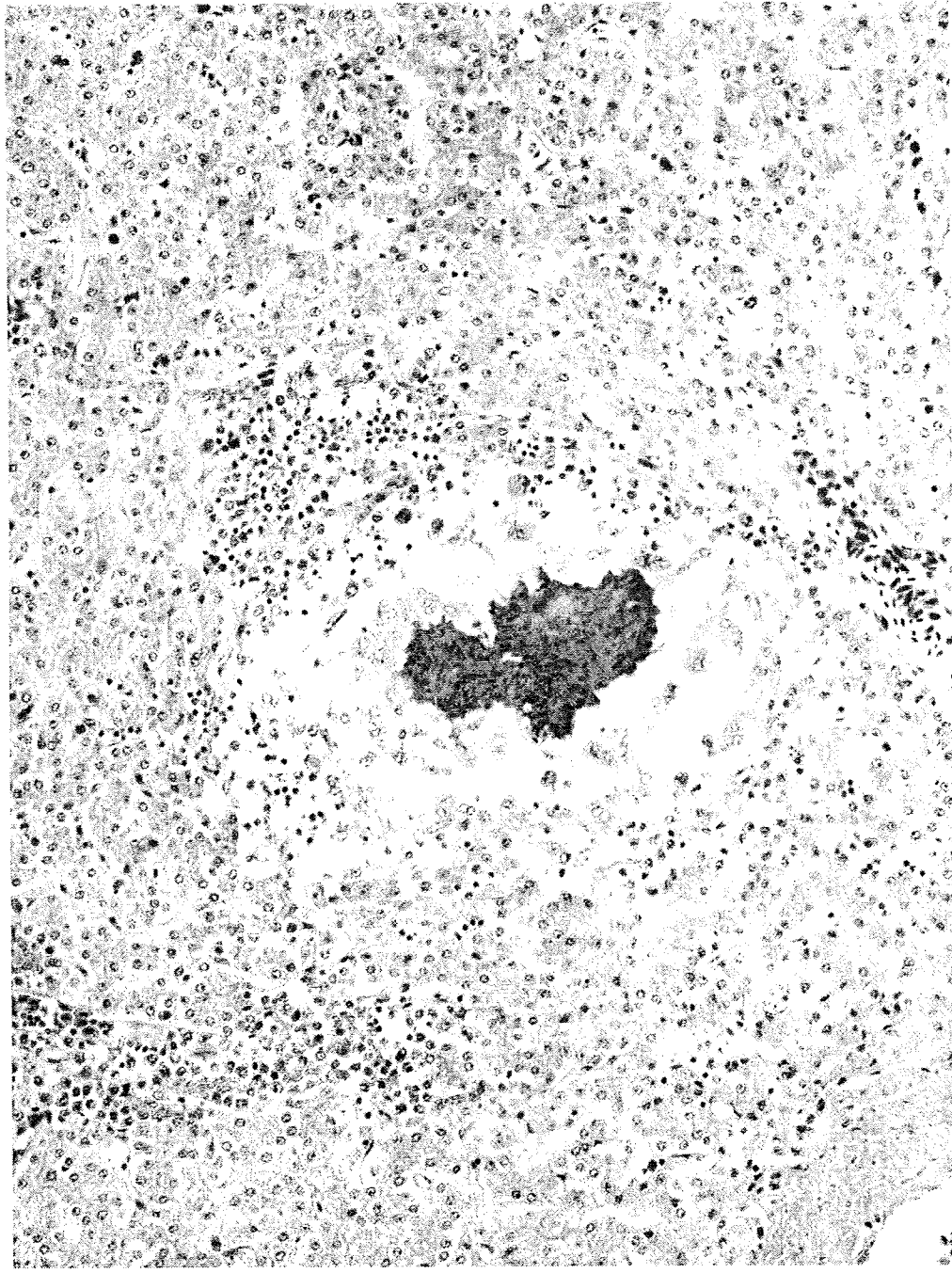


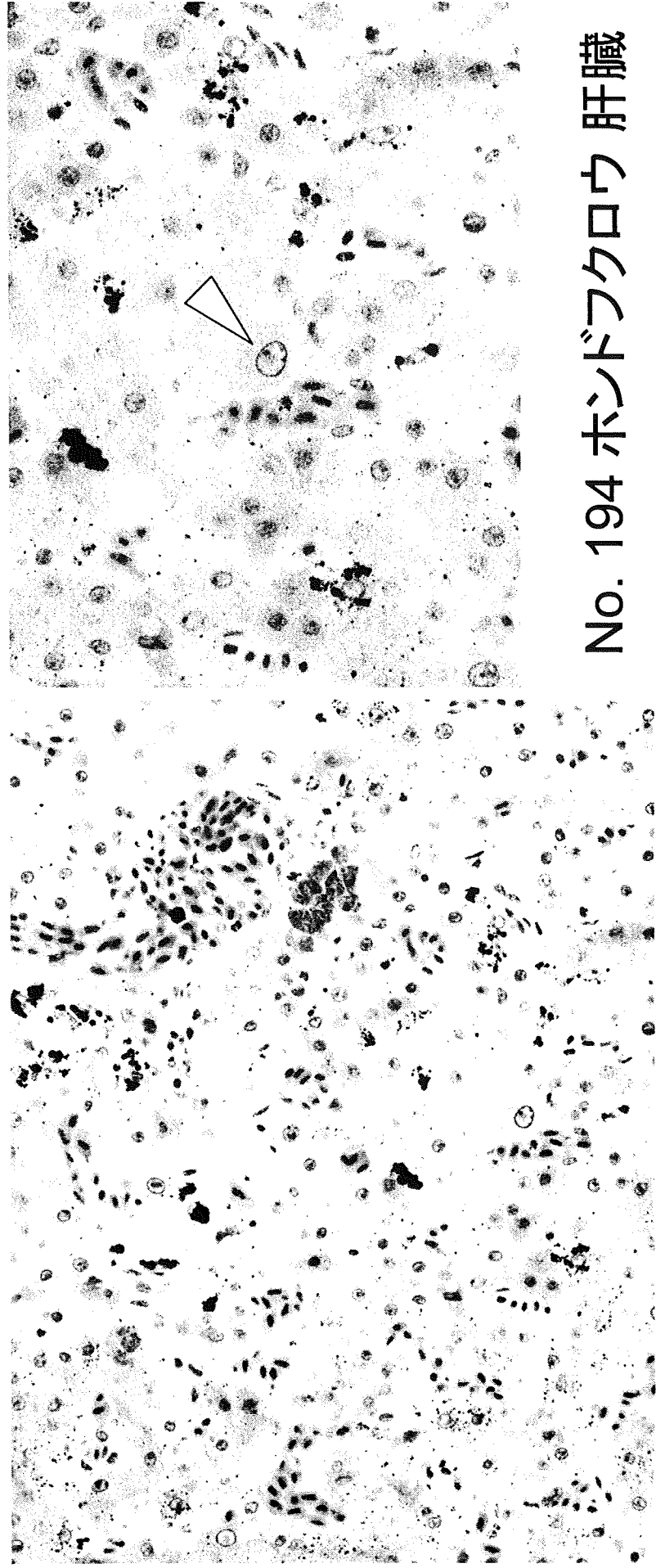
図7 肝臓肉芽腫

No. 125 カンムリワシ 肝臓

## 肝細胞内における封入体の形成; 5例(2.5%)

- ・肝細胞が腫大・変性を示し、核内には両染色性封入体
- ・5例ともに飼育個体であり、ブリーダー飼育の4例は同時期に死亡

→ウイルス感染が疑われた



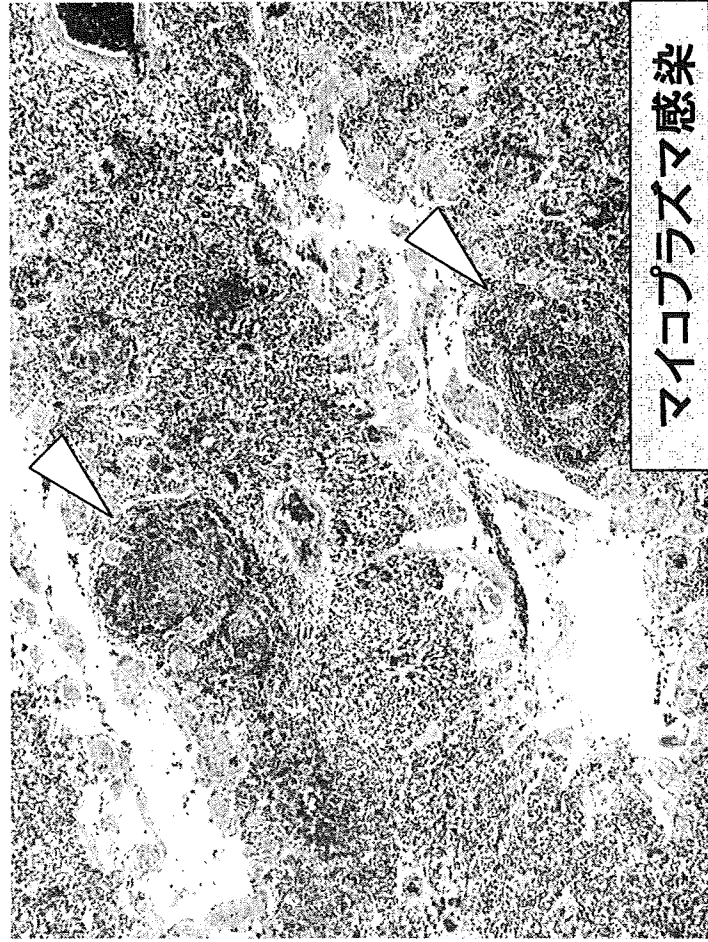
No. 194 ホンドブクロウ 肝臓

図8 肝炎



## 呼吸器における炎症や壊死・・・63例(31.5%)

- ・2例において、気管支周囲のリンパ濾胞の高度な活性化  
→マイコプラズマ感染が疑われた



No. 136 カンムリワシ 肺

No. 165 ケープワシミミズク 肺

図9 肺病変

# アスペルギルス症; 9例(4.5%)

- 9例中8例が飼育個体

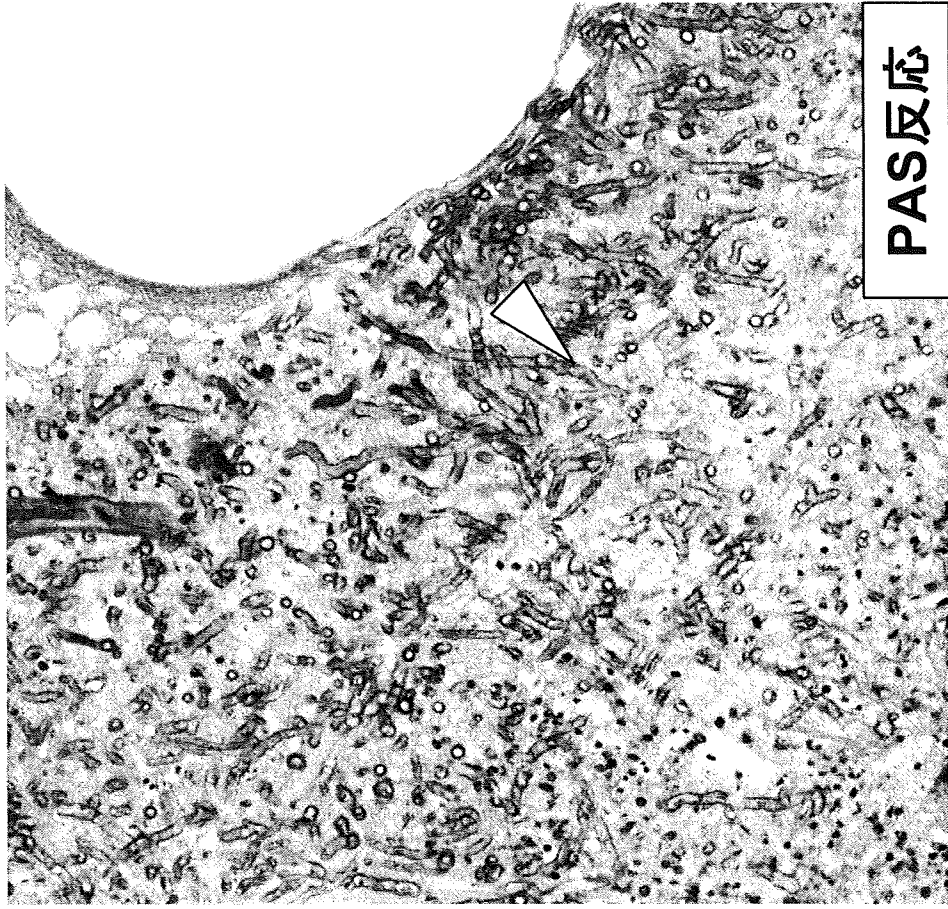


図10 アスペルギルス症 No. 120 ミサゴ 肺

平成 19 年度

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

## 分担研究報告書

### 野生動物の感染症に関する研究

分担研究者：岐阜大学応用生物科学部 獣医病理／野生動物感染症センター  
教授 柳井 徳磨

協力研究者：岐阜大学応用生物科学部 研究員 斉藤 勇太，辻 一  
高知大学環境保健学部 教授 吾妻 健

## Ⅱ. 野生ツキノワグマ (*Selenarctos thibetanus*) におけるフィラリア症の病 理および分子生物学的研究

### 要約

ツキノワグマは、生息環境が著しく狭められ質的にも劣化したため、人里へ頻繁に出没して社会問題となっている。ツキノワグマと人の生活空間が重なるとクマ由来の感染性病原体が人および家畜に感染して人獣共通感染症が発症する可能性もある。人へのツキノワグマ由来糸状虫 *Dirofilaria ursi* の感染報告が北米でみられている。

岐阜県、富山県、兵庫県および京都府にて有害駆除されたツキノワグマ 23 例について、*D. ursi* の感染率を調べ、虫体から DNA を抽出してその PCR 産物についてダイレクトシーケンス法により塩基配列を特定した。さらに他の線虫と比較して系統樹を作成した。*D. ursi* は皮下織に寄生し、その成虫は検索例の 73.3%、マイクロフィラリアは末梢血管で 87.0% に認められた。*D. ursi* の C01 領域と 28S 領域の塩基配列を同定した遺伝子解析では、系統樹において *D. immitis* が *D. ursi* と *D. repens* の上位に位置したことから、これらの共通の祖先となる *Dirofilaria* が *D. immitis* と *D. ursi* 及び *D. repens* に進化した可能性がある。

### A. 研究目的

近年、ツキノワグマの人里への出没が頻繁に発生した農林水産業や観光産業への被害が発生し、人との軋轢が大きな問題となっている。特に 2004 年秋には主要な餌である堅果類や昆虫類が台風の影響で激減し

たため、例年に比べてツキノワグマによる被害が数倍に増加している。このようにツキノワグマと人や家畜との生活空間が重複してくると、ツキノワグマ由来の感染性病原体が人畜に感染して人獣共通感染症が発症する可能性も高くなる。ツキノワグマを



宿主とするフィラリアである *Dirofilaria ursi* (以下, *D. ursi*) がブユを介在してヒトに感染することが知られており, 北アメリカやカナダで今までに少なくとも 10 例の人体感染例が報告されている。

*D. ursi* は人獣共通感染症として注目されているにも関わらず, 遺伝子解析に関する研究はほとんどない。寄生虫の遺伝子を解析して得られた塩基配列は, 臨床における遺伝子診断の基礎的情報となるものであり, 様々な寄生虫疾患の診断に欠かせない情報である。北アメリカやカナダの人体症例に関して, 遺伝子情報の不足から有効な遺伝子診断は行われていない。

我が国に生息するツキノワグマについて, *D. ursi* の感染率を調べ, 虫体から DNA を抽出してその PCR 産物についてダイレクトシーケンス法により塩基配列を特定し, ヒトに感染した場合の遺伝子診断法の開発を試みた。遺伝的系統樹により, *D. ursi* の起源についても考察した。

## B. 研究方法

### 1) 出現頻度

岐阜県, 富山県, 兵庫県および京都府にて駆除された野生のツキノワグマ 23 例を用いて *D. ursi* の出現頻度を検索した。

### 2) 遺伝子診断

2004 年 9~11 月に岐阜県および富山県内で駆除されたツキノワグマ 4 頭から, 雄雌 2 隻ずつの線虫を採取した (計 14 隻)。得られた線虫 14 隻の全ての虫体は形態的に *D. ursi* と同定された。

#### ① DNA 抽出

頭部と尾部を除いた虫体を 1cm 程度に切断し, Easy-DNA Kit (Invitrogen Corp.,

USA) を使用して, 同キットのプロトコールに従い各虫体ごとに DNA を抽出した。

#### ② PCR 法

PCR 法に用いたサンプルは, 上記の抽出 DNA 1 $\mu$ l をテンプレートとして, 10 $\times$ Ex Taq Buffer 2.5 $\mu$ l, DNTP Mixture 2.0 $\mu$ l, TaKaRa Ex Taq 1.25 $\mu$ l (以上, タカラバイオ株式会社, 大津), プライマー各 1.5 $\mu$ l, MQ 15.25 $\mu$ l を加え, 全量を 25 $\mu$ l とし, 滅菌 0.2ml PCR チューブ (Axygen Science, USA) に容れた。PCR は, TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice (タカラバイオ株式会社, 大津) にて以下の反応条件で行った。ミトコンドリア DNA の CO1 領域の増幅には, denaturation 94 $^{\circ}$ C 3 分間の後, denaturation 94 $^{\circ}$ C 1 分間, annealing 50 $^{\circ}$ C 2 分間, extension 72 $^{\circ}$ C 3 分間を 30 サイクル, final extension 72 $^{\circ}$ C 5 分間の反応条件を用いた。リボソーム DNA の 28S 領域の増幅には, denaturation 94 $^{\circ}$ C 3 分間の後, denaturation 94 $^{\circ}$ C 30 秒間, annealing 50 $^{\circ}$ C 30 秒間, extension 72 $^{\circ}$ C 1 分間を 30 サイクル, final extension 72 $^{\circ}$ C 5 分間の反応条件を用いた。PCR に用いた各々のプライマーを表 1 に示した。

#### ③ DNA 分離および回収

PCR プロダクト 25 $\mu$ l と 6 倍希釈したプロモフェノールブルー (以下 BPB) 5 $\mu$ l の混合液を, 0.8% SeaKem GTG agarose / 0.002% エチジウムブロマイド / 0.5 $\times$  Tris-acetate EDTA (以下 TAE) にて, 0.5 $\times$  TAE を泳動バッファーとして 100V で 20 分間電気泳動を行った。電気泳動後, 紫外線照射下で観察し, DS-300 CAMERA (フナコシ株式会社, 東京) を用い ISO3200 インスタント白黒フィルム FP-3000B SUPERSPEEDY

(富士写真フイルム株式会社, 東京) にて撮影した。紫外線照射下で目的の DNA バンドを切り出してエッペンチューブに容れた。QIAEX II (株式会社キアゲン, 東京) を利用して同キットのプロトコールに従い DNA を回収した。

#### ④ ダイレクトシークエンシング

回収した PCR プロダクト 4.0 $\mu$ l をテンプレートとして, BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA) の Cycle Sequencing Mix 4.0 $\mu$ l, 5 $\times$  Sequencing Buffer 4.0 $\mu$ l, 0.8pM プライマー 4.0 $\mu$ l, MQ 4.0 $\mu$ l を加え, 全量を 20 $\mu$ l とした。調整した試薬について TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice (タカラバイオ株式会社, 大津) にて以下の条件でサイクルシークエンス反応を行った。反応条件は, denaturation 96 $^{\circ}$ C 1 分間の後, denaturation 96 $^{\circ}$ C 10 秒間, annealing 50 $^{\circ}$ C 5 秒間, extension 60 $^{\circ}$ C 1 分間を 25 サイクル, final extension 60 $^{\circ}$ C 4 分間とした。反応後, エタノール/酢酸ナトリウム沈殿を行い, プロダクトの精製を行った。乾燥後, プロダクトをホルムアミド 10 $\mu$ l とよく混和し, 専用の 96 穴プレートに移した。電気泳動およびシークエンスデータの解析は岐阜大学 生命科学総合研究支援センター ゲノム研究分野の ABI PRISM 3100 DNA Sequencing System (Applied Biosystems, USA) にて行った。

⑤ ミトコンドリア DNA の CO1 領域については, 得られた塩基配列に基づきアミノ酸配列を特定し, Neighbor-Joining (以下 NJ) 法により樹形図を作成した。

⑥ リボソーム DNA の 28S 領域については, *D. ursi* に近縁する線虫類ではほとんど塩

基配列が同定されていないため, *D. immitis* で一部 (280bp) だけ同定されている部分について比較するに留めた。

### C. 結果

野生ツキノワグマを肉眼および病理組織学的に検索し, 90%近くの個体に *D. ursi* 感染が認められた。岐阜県, 富山県, 兵庫県および京都府にて有害駆除されたツキノワグマ 23 例について検索したところ, その成虫 (図 1) は検索例の 73.3%, ミクロフィラリアは末梢血管で 87.0%に認められた。

また, 腎臓では犬糸状虫症の病態の一つとして報告されている膜性糸球体腎炎に類似した, 糸球体における基底膜肥厚が陽性例でしばしば認められた。これはミクロフィラリアあるいは成虫の抗原により, 糸球体毛細血管に免疫複合体が沈着して形成されると考えられており, 糸球体における基底膜肥厚を組織学的な特徴とする。本研究では, 90%近くの陽性症例に基底膜肥厚, メサングウム細胞の増加, メサングウム基質の増生などの変化がみられた。

#### 2) *D. ursi* の遺伝学的検討

岐阜県および富山県内で駆除されたツキノワグマ 4 頭から, 雄雌 2 隻ずつの線虫を採取し (計 14 隻), 形態的に *D. ursi* と同定された虫体を用いて遺伝子解析を行った。

(1) ミトコンドリア DNA の CO1 領域の解析

*D. ursi* のミトコンドリア DNA の CO1 領域の塩基配列およびアミノ酸配列を同定した。その塩基配列を図 2, アミノ酸配列を図 3 に示す。検索した *D. ursi* の 14 隻の全てで塩基配列が得られた。

## (2) 遠隔地ごとの *D. ursi* の塩基配列の比較

ミトコンドリア DNA の CO1 領域およびリボソーム DNA の 28S 領域のいずれについても 14 例の塩基配列は全て一致した。本研究では個体差が比較的現れ易い 28S 領域の中央部 (TSD2~D4AR) も詳細に検索したが、個体差はみられなかった。

## (3) 系統樹

ミトコンドリア DNA の CO1 領域でのアミノ酸配列に基づいて NJ 法により作成した系統樹を図 4 に示す。*D. ursi* のアミノ酸配列は *D. immitis* よりも沖縄の犬猫にみられる *D. repens* のものに近似していた。また、*D. immitis* が *D. ursi* および *D. repens* の上位に位置していた。

## D. 考察

我が国に生息する野生ツキノワグマには、90%近くの個体に *D. ursi* 感染が認められることが確かめられた。*D. ursi* の感染環としては、ブユの体内で感染幼虫に成長し、それがツキノワグマに侵入、ツキノワグマ体内に侵入した感染幼虫は組織間を移行し、全身の筋膜下、脂肪組織および結合組織などにおいて発育すると推測された。また、これらの幼虫はリンパ管に入り成熟し、雌はマイクロフィラリアを産出する。そのマイクロフィラリアはリンパ系を介して大循環に入ると推測された。マイクロフィラリアはリンパ節や毛細血管の集中する肺で高率にみられた。ブユはしばしば里山に発生しヒトを刺すことがあるので、当然、人体への寄生が成立する可能性が、我が国でも考えられる。恐らく、*D. ursi* の人体感染の可能性が認識されていないので、人体例の報告

が無いとも考えられる。

*D. ursi* のミトコンドリア DNA の CO1 領域およびリボソーム DNA の 28S 領域の塩基配列を同定した。特に後者の領域については他の線虫類ではほとんど解析が行われておらず、実際、これら線虫類では初の同定であった。これら *D. ursi* の遺伝子解析情報は、ヒトにおける *D. ursi* 寄生の遺伝子診断にきわめて有用であると考えられる。

約 60~150km 離れて生息していた複数のツキノワグマに由来する *D. ursi* の CO1 領域および 28S 領域はそれぞれ全個体とも塩基配列が一致した。本研究では個体差が比較的現れ易い 28S 領域の中央部 (TSD2~D4AR) も詳細に検索したが、個体差はみられなかった。このことから、岐阜県内およびその周辺に生息する野生ツキノワグマに寄生する *D. ursi* には遺伝子的違いがほとんどないことが明らかとなった。

岐阜県での野生ツキノワグマの行動範囲は、半径約 3~5km 程度とされている。本研究で検索した *D. ursi* が寄生する 4 頭のツキノワグマは、それぞれ別の個体群に属していたと考えられる。また、*D. ursi* はブユを介在して感染するが、ブユの行動範囲は長くとも数 km の範囲であることから、本研究に供試した 4 箇所採取された *D. ursi* には、交流が無いと考えられる。それにも関わらず CO1 領域および 28S 領域で塩基配列が一致したということは、当該領域が *D. ursi* にとって個体差の無い基幹的な部分である可能性が高い。

CO1 領域のアミノ酸配列から求めた系統樹によると、*D. ursi* のアミノ酸配列は *D. immitis* よりも沖縄の犬猫にみられる *D. repens* のものに近似していた。系統樹を参

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

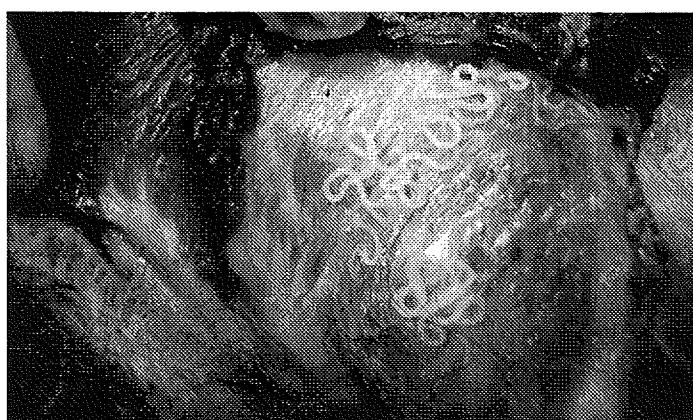


図 1 皮下織に寄生する *D. ursi* 成虫。

```

TTACCTTTAA TGTTAGGTGC TCCTGAGATA GCTTTTCCTC 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
TTTGTGTTGAA CTTCATATTT GACTTCTTTT TTATTAGTTT TATCTGTTCC TGTTTTAGCT      360
GGTTCTTTAT TATTTTTATT ATTAGATCGT AATTTAATA CTCTTTTTA 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 FVWTSYLTSF LLVLSVPVLA 120  
 GSLLFLLDR NFNTSFYDTK KGGNPLLYQH LFWFFGHPEV YVILPVFGI ISECVLFLTD 180  
 KDRLFGQTSM TFASIWI AVL GTSVWGH

図3 CO1領域でのアミノ酸配列

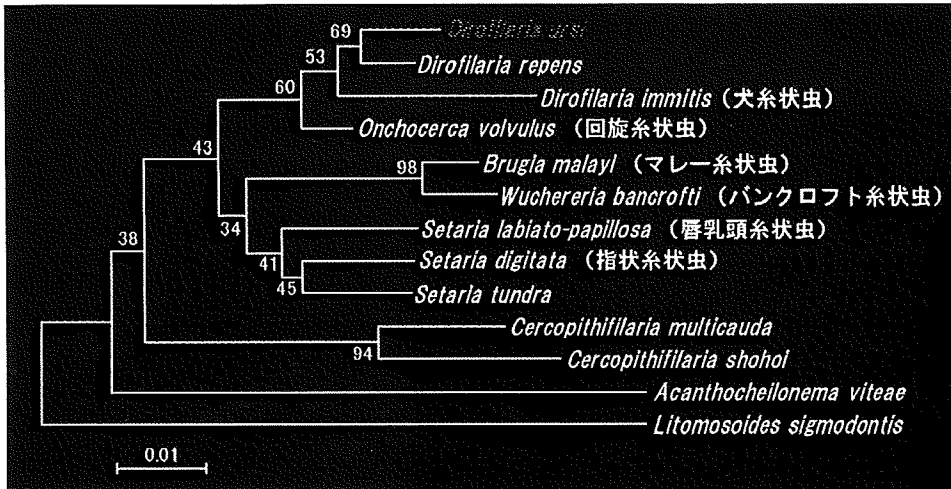


図4 *D. ursi* の系統樹

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	アベ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。

## 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にあり、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で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. 41<sup>st</sup> 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

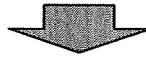
なし



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



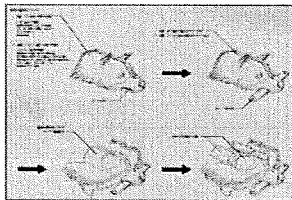
自治体関係機関の現場担当者等とともに実技習得に必要なモデル・教材の形状・素材・使用方法等の要素について収集・解析・分析・意見集約



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

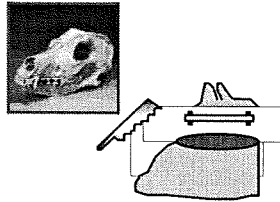
(1) 解剖手順習得モデル

頭部の構造と解剖手順を理解するモデル



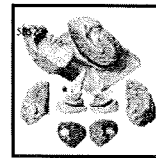
(2) 実技習得モデル

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

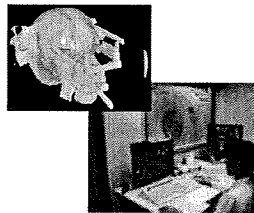
解剖学および病理学的に正確かつ精密な犬の頭部解剖モデルの鑄型および3D教材を作成するために、使用できる犬の確保と医療用MRI/CT機器を利用した犬頭部の皮膚、頭骨、神経・血管組織等の画像取り込みによる3次元情報データファイル作成と試験的な3D画像化を行った。



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

## 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

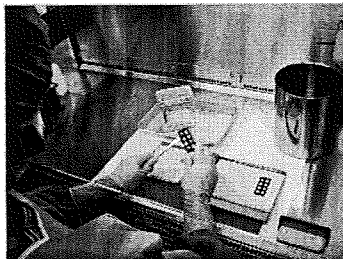


- 狂犬病の疑われたイヌ等の検査には頭の解剖が必要です -

・ 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