

接触形態、頻度は明らかに異なる。野外のような開放系の空間においては、排泄された*C. psittaci*も拡散し、限りなく希釈されることも考えられ、一般に外部環境のストレスに強いといわれているクラミジアにおいても、拡散希釈された状態で、紫外線、高温、多湿の環境ではその感染力にも影響を受けやすいかもしれない。しかしながら、鳥類の繁殖シーズンをすぎた夏季（7、8月）にも検出されることから、愛玩鳥のような感染源が特定できない患者発生については冬季以外の年間を通じての注意が必要であろう。

今年度はまた、感染症法施行以降の1999年から2009年の期間に、国内医学系雑誌に報告されたオウム病の症例報告について情報を収集し、国内の医療現場へのオウム病の情報がどの程度伝えられているかを検討した。1999年から2009年の期間、感染症法の発生动向調査に報告記録されたオウム病症例数は329例であったのに対し、その間、症例報告として経過、治療、診断方法が学術誌にまとまった形で記録が残されているのは27症例であった。各報告の内容をみると、2005/06年ごろまでの実験室診断のほとんどがCF法である。CF法は、クラミジア科の共通のリポ多糖抗原に対する抗体を検出し、IgGとMを区別できないことから、現在では本法でのオウム病クラミジアの正確な実験室診断は難しく、その他のオウム病診断（間接蛍光抗体法など）を実施できる施設が限られていることが届出数の減少にもつながっている可能性もある。

オウム病の症例報告はほぼ毎年学術誌に掲載されているが、27症例という数字は典型的な症例に合致しない症例があることを示していると同時に、経験のない医療現場への認知を維持するには十分な情報量ではない可

能性も考えられた。

## E. 結論

オウム病の感染源となりうる鳥類において、感染源としてしばしば問題となる人に飼育されている愛玩鳥と生活環境の異なる野生の鳥類は、人と接する形態はあきらかに異なる。これまでに積み重ねた定点におけるドバトの排泄状況から、愛玩鳥のような感染源が特定できない患者発生については冬季以外の年間を通じての注意が必要であろう。

また、オウム病感染の啓発のためには、実験室診断、鑑別診断などを含めた医療関係者への科学的な情報の提供あり方を考慮しなければならない。

## F. 健康危害情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Yoshii K, Mottae K, Omori-Urabe Y, Chiba Y, Seto T, Sanada T, Maeda J, Obara M, Ando S, Ito N, Sugiyama M, Sato H, Fukushima H, Kariwa H, Takashima I. Epizootiological study of tick-borne encephalitis virus infection in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* (accepted)

### 2. 学会発表

1) 岸本寿男, 安藤秀二, 山崎勉, 尾内一信, 中浜力. ELISA法による抗*C. pneumoniae* Ig

M抗体測定キットの比較. 第78回日本細菌学会北海道支部総会・第28回日本クラミジア研究会合同学術集会, 札幌, 平成22年9月

2) 大屋賢司, 黒田誠, 関塚剛史, Garry Meyers, 岸本寿男, 安藤秀二, 福士秀人. オウム病クラミジア集団発生事例株の全ゲノム配列決定. 第10回人と動物の共通感染症研究会学術集会, 東京, 平成22年10月

3) 好井健太郎, 持舘景太, 大森優紀, 千葉裕美子, 真田崇弘, 瀬戸隆弘, 前田純子, 小原真弓, 安藤秀二, 伊藤直人, 杉山誠, 佐藤浩, 福島博, 仮和宏明, 高島郁夫. 日本国内におけるダニ媒介性脳炎の血清疫学調査. 第

10回人と動物の共通感染症研究会学術集会, 東京, 平成22年10月

4) 安藤秀二. クラミジアってなあに?あなたとあなたの未来を守るために. 平成22年度高校生を対象としたシンポジウム「世界の感染症2010」～アフリカのエイズ, 性感染症からインフルエンザまで～, 東京, 平成22年11月

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

- |           |      |
|-----------|------|
| 1. 特許取得   | 該当なし |
| 2. 実用新案登録 | 該当なし |
| 3. その他    | 該当なし |

表1 埼玉県定点におけるオウム病クラミジアの月別検出(~2010年)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2008				40						50		
陽性数				2						5		
陽性率(%)				5.0						10.0		
2009	44				10			31	21		20	
陽性数	0				0			6	4		1	
陽性率(%)	0.0				0.0			19.4	19.0		5.0	
2010	20		20	20	20	20	20	20	20	20	20	
陽性数	0		1	0	0	0	1	1	0	0	1	
陽性率(%)	0.0		5.0	0.0	0.0	0.0	5.0	5.0	0.0	0.0	5.0	
平均(%)	0	###	5	3.33	0	0	5	13.7	9.76	7.14	5	###

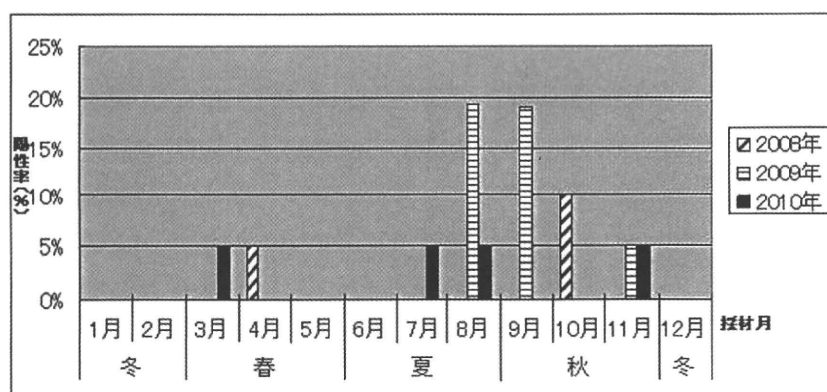


図1 埼玉県定点におけるオウム病クラミジアの月別検出(~2010年)

<参考>オウム病発生報告数の年次変化

1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
23	18	35	54	44	40	34	22	29	9	21	11

\* 2009年, 2010年は暫定数

## 野生動物・輸入動物に関する研究グループ

「げっ歯類・爬虫類・有袋類・野鳥類等の由来感染症に関する研究」

～輸入キヌゲネズミ(ドワーフハムスター)大量死事例～

～*Yersinia Pseudotuberculosis* ワクチン開発に関する基礎的研究～

～飼育下ニホンザル群における破傷風の集団発生～

麻布大学：宇根 有美

## 輸入キヌゲネズミ（ドワーフハムスター）大量死事例

分担研究者：宇根有美 麻布大学獣医学部獣医病理学研究室  
研究協力者：増澤俊幸 千葉科学大学薬学部免疫/微生物学研究室  
黒木俊郎 神奈川県衛生研究所  
岡谷友三アレシャンドレ  
麻布大学獣医学部公衆衛生学第二研究室  
佐野文子 千葉大学真菌センター

### 研究要旨：

チェコスロバキアより輸入されたジャンガリアンハムスターとロボロフスキーハムスターが、到着時それぞれ 433/980 匹(44.2%)、356/365 匹(97.5%)が死亡していたため、病性鑑定を実施した。レプトスピラ、その他細菌、クリプトスポリジウム、ジアルジア、皮膚糸状菌を検査したが、大量死に関連する強毒な病原体は検出されなかった。病理学的にも感染症を示唆する所見がなく、高度の循環障害が観察されたことから、輸送失宜により大量死したと判断した。

### A. 研究目的

世界には数多くの動物由来感染症が存在し、物流・生きた動物を介した拡散が懸念されている。そこで、動物を介して海外より持ち込まれる感染症をいち早く摘発し、水際での侵入を防ぐ目的で、輸入時、大量死など異変のあったロットについて、病理学的検索に加えて、各種微生物検査を実施した。今回、キヌゲネズミ（通称ドワーフハムスター）大量死を対象とした。

### B. 材料と方法

#### 1) 対象とした動物

到着時に死亡していた個体のうち、ジャンガリアンハムスター30 匹(冷蔵保存 10

匹：♂5, ♀3, 不明 2、冷凍保存 20 匹：♂7, ♀13)と、ロボロフスキーハムスター20 匹(冷凍保存：♂12, ♀8)を検査対象とした。

#### 2) 対象とした病原体の種類と担当者

##### 【細菌】

- (1)レプトスピラ：増澤俊幸、千葉科学大学薬学部免疫/微生物学研究室(腎臓)
- (2)その他細菌：岡谷友三アレシャンドレ、麻布大学獣医学部公衆衛生学第二研究室(腸内容、口腔スワブ)

##### 【原虫】

- (1)クリプトスポリジウム：黒木俊郎、神奈川県衛生研究所(直腸内容)
- (2)ジアルジア：同上

##### 【真菌】

(1)皮膚糸状菌：佐野文子、千葉大学真菌センター(被毛)

### 3)実施要領

(1)検査項目：検査対象個体の外景検査、写真撮影、体重測定、病理解剖検査、各種病原体保有検査(採材)、必要に応じて病理組織学検査。

(2)実施場所とメンバー：剖検は、麻布大学獣医学部病理解剖場で実施した。参加メンバーは、麻布大学獣医学部病理学研究室宇根有美および所属学生、同公衆衛生学第二研究室岡谷友三アレンヤンドレ。

### (3)手順

- (a)外景検査、写真撮影、体重測定
- (b)内臓諸臓器の観察：目視による内臓の異常の確認
- (c)採材：脾臓、肺、腎臓、消化管、腸内容など
- (d)各検査機関に配送

### 4)検査方法

#### 【細菌】

(1)レプトスピラ：腎臓をホモジナイズし、0.1%アガロース、2.5%ウサギ血清を含むEMJH培地に注入し、翌日、その上清を同種の培地に移し、30℃、3ヶ月間培養した。また、膀胱からQuick gene 800でDNAを抽出し、鞭毛遺伝子(*flaB*)を標的としたNested PCRによりレプトスピラの検出を行った。

(2)その他細菌：消化管内容を前増菌培地であるBuffered peptone water(緩衝ペプトン水)に、培地10に対して1の割合で添加した。37℃、24時間培養後、前増菌培地1mlをハーナテト

ラチオン酸塩培地(選択増菌培地)10mlに接種して37℃、24時間培養した。培養後、1白金耳量をDHL寒天培地(選択増菌培地)で培養した。後に鑑別培地で培養し、生化学的性状を確認、サルモネラと同定された菌については、血清型を確認した。

シードスワブγ2号(栄研)を用いて被検動物の口腔内スワブを採取。馬血液加Trypticase Soy agarに直接塗抹し、37℃で24~48時間培養。灰白色でオキシダーゼ陽性の集落を釣菌・純培養。グラム陰性桿菌と確認された菌株について、EB20(日水)あるいはAPI20(バイオメリュウ)を用いて菌種の同定を行った。

#### 【寄生虫】

(1)クリプトスポリジウム：遠心沈殿法(FEA法)やショ糖浮遊法によりオーシストを回収し、蛍光抗体法、抗酸染色、ネガティブ染色標本を作製して検出する。最も感度がよい蛍光抗体染色法について、簡単に手技を以下に述べる。

遠心沈殿法で得られた沈渣をスライドグラスに塗抹して乾燥し、クリプトスポリジウムに対する特異抗体による蛍光染色(Aqua-Glo, Waterborne)とDAPI染色を行う。落射型顕微鏡を用いてB励起光下で観察し、暫定対策指針に記載された基準により、クリプトスポリジウムオーシストの判定を行う。なお、糞便1gあたり $10^3$ 個オーダー以上のオーシストの排泄があると陽性と判定した。

(2)ジアルジア：直接鏡検による検査。

## 【真菌】

(1)皮膚糸状菌：体表全体をマッサージし、落下した被毛、落屑を未使用のコピー用紙上で集めた。ダニの発生をふせぐ処理として、培養前に42℃で3～6時間加温した。

培養はシクロヘキシミドとクロラムフェニコールを添加したポテトデキストロース寒天平板培地(CCPDA と略)上に、直接検体を置き、35℃で、28日間培養した。

生育してきた集落をとり、顕微鏡的観察と25SリボゾームRNA遺伝子のD1/D2領域のドラフトシーケンスにより、菌種を同定した。

なお、ペストとHFRSに関する検査は担当検査所が実施した。

## C. 研究結果

発生状況：動物は、2010年8月16日チェコスロバキアを出発し、フランスでトランジットして、18日に日本に到着した。予定より1日遅れの到着であった。空港到着時には飲水ボトルがすべて空であったため、輸送の失宜が疑われたが、感染症も否定できないため、病性鑑定することになった。通関時に、内部を確認したところ、多数の動物が死亡しており、その内訳はジャンガリアンハムスター980匹中433匹(44.2%)、ロボロフスキーハムスター365匹中356匹(97.5%)であった。これらの動物は、日本政府が定める基準に適合しているとしてチェコ政府が指定している保管施設から輸出されたもので、健康証明書が添付されていた。また、厚生労働省担当部署より、チェコ保管施設に他の動物の状況を問い合わせ

したところ、当該ロット以外に異常を認められていないということであった。

外景検査では、肢端の赤変が目立った。下痢はみられなかった。また、共食いもみられた。内景検査では、肺に退縮不全、暗赤色化、水腫がみられ、肝臓は退色、混濁していた。数匹に腸管内出血と鼻出血がみられた。また、いずれの個体も腐敗が著しかった。

詳細は表1に示す。多発性出血、壊死および脾腫などは観察されず、循環障害がみられた。

病理組織学的にも、各臓器のうっ血性変化が強く、何らかの感染を疑うような所見は観察されなかった。

## 【細菌】

(1)レプトスピラ：検出されなかった。

(2)その他の細菌：ジャンガリアンおよびロボロフスキーハムスター新鮮個体各5匹ずつの肺、脾臓および肝臓の一般細菌検査を行なった。ジャンガリアンハムスターからは*Proteus* spp (*mirabilis*および*vulgaris*; Api20E)および大腸菌が少数分離された。ロボロフスキーハムスターからは主にグラム陽性菌が分離され、現在同定作業中である。しかし、ロボロフスキーハムスターから分離されているものも菌数が少なく、いずれにおいても、優位に特定の菌種がコンスタントに分離されることはなかった。また、5匹の糞便を培養したが、これらからも注目すべき細菌は分離されていない。

## 【寄生虫】

(1)クリプトスポリジウム：検出されなかった。

(2)ジアルジア：ロボロフスキーハムス

ター3匹から検出された。表1参照

#### 【真菌】

(1)皮膚糸状菌:ジャンガリアンハムスター30匹中15匹(17株)、ロボロフスキーキヌゲネズミ20匹中10匹(12株)の真菌が分離された。詳細は表1参照。

なお、担当検疫所からの連絡によれば、ペストおよびHHR5検査ともに陰性であった。

#### D. 考察

以上の微生物学的検査では、大量死に関連する強毒な病原体は検出されず、病理学的にも感染症を示唆する所見がなく、高度の循環障害が観察された。また、2010年の酷暑の最中、通常より長い3日間の行程で到着し、かつ到着時飲水ボトルが空であったことから、熱うつ状態および給水の不備による脱水により死亡したもの判断した。

なお、2010年夏季、同様にチェコスロバキア産ハムスターの死着が数例報告されており、今回のように病性鑑定が実施されたわけではないが、輸送失宜が推測されていた。

#### E. 参考文献

なし

#### G. 健康危機管理情報

なし

#### H. 研究発表等

なし



図1 開封時概要

ロボロフスキーハムスター、ほとんどの動物が死亡している。目立った出血、下痢はみられない。

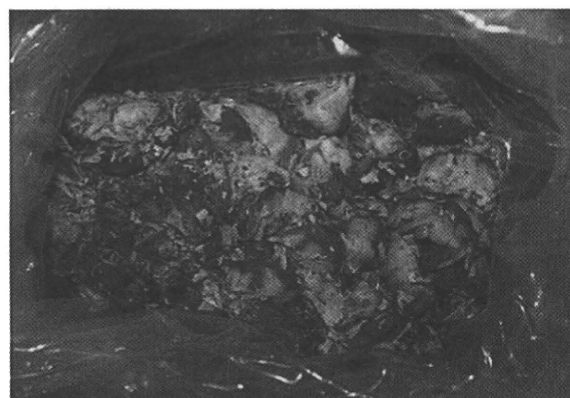


図2 死体

回収されたジャンガリアンハムスター



表1 ハムスター検査結果一覧

動物種	ID	状態	性別	体重(g)	備考	Cryptosporidium	Gardie	菌培養結果
ジャンガリアンハムスター	JH-73	冷蔵	オス	13	腐敗、軽度脱水、片眼なし	-	-	白色糸状菌(菌種不明)
ジャンガリアンハムスター	JH-74	冷蔵		14.1		-	-	-
ジャンガリアンハムスター	JH-75	冷蔵		14.3	肝小葉明瞭	-	-	茶色糸状菌( <i>Scoleciferopsis brevicollis</i> )
ジャンガリアンハムスター	JH-76	冷蔵	オス	12.5	腐敗高度、胃内容多量	-	-	-
ジャンガリアンハムスター	JH-77	冷蔵	オス	14.2	肺赤色、小腸出血	-	-	茶色糸状菌( <i>Scoleciferopsis brevicollis</i> )
ジャンガリアンハムスター	JH-78	冷蔵	オス	9.1	呼吸なし、腐敗は全て黄白色 肺水腫、胃内容多量、 肝小葉明瞭、病巣未発達	-	-	-
ジャンガリアンハムスター	JH-79	冷蔵	オス	11.4	腐敗は全て褐色	-	-	-
ジャンガリアンハムスター	JH-80	冷蔵	オス	9.1	小腸出血、脾小さい、肺鬱血	-	-	白色Aspergillus
ジャンガリアンハムスター	JH-81	冷蔵	オス	12.9	左眼付涙出血、脾腐敗 肺水腫で暗赤色、肝貧血色	-	-	-
ジャンガリアンハムスター	JH-82	冷蔵	オス	9.8	口の周囲に唾液付着 小腸下側、盲腸内容暗赤色	-	-	-
ジャンガリアンハムスター	JH-83	冷蔵	オス	15.9	腐敗、胸腔内出血or気管充血 肺、肝鬱血、病巣発達	-	-	-
ジャンガリアンハムスター	JH-84	冷蔵	オス	19.6	肺高亢鬱血	-	-	-
ジャンガリアンハムスター	JH-85	冷蔵	オス	12.9	口の周囲腐れていた 肺は鬱血し暗赤色	-	-	-
ジャンガリアンハムスター	JH-86	冷蔵	オス	11.8	肺鬱血	-	-	茶色糸状菌( <i>Scoleciferopsis brevicollis</i> )
ジャンガリアンハムスター	JH-87	冷蔵	オス	15	肺鬱血、暗赤色	-	-	白色糸状菌(菌種不明)
ジャンガリアンハムスター	JH-88	冷蔵	オス	17.4	肺、胸腔は暗赤色、肺鬱血	-	-	茶色糸状菌( <i>Scoleciferopsis brevicollis</i> )
ジャンガリアンハムスター	JH-89	冷蔵	オス	12.5	肺鬱血	-	-	TTCCG 白色酵母(クロモ青: <i>Trichosporon asahii</i> )
ジャンガリアンハムスター	JH-90	冷蔵	オス	13.5	腐敗	-	-	茶色糸状菌( <i>Scoleciferopsis brevicollis</i> )
ジャンガリアンハムスター	JH-91	冷蔵	オス	10.4	腐敗、肺高亢鬱血	-	-	茶色糸状菌( <i>Scoleciferopsis brevicollis</i> ) 白色酵母(クロモ青: <i>Trichosporon asahii</i> )
ジャンガリアンハムスター	JH-92	冷蔵	オス	16	腋毛に血液少量付着 肺は高亢鬱血し暗赤色	-	-	-
ジャンガリアンハムスター	JH-93	冷蔵	オス	21.6	脾暗赤色、肺水腫で暗赤色 胃内容多量、肝小葉明瞭	-	-	茶色糸状菌( <i>Scoleciferopsis brevicollis</i> )
ジャンガリアンハムスター	JH-94	冷蔵	オス	13.3	肺水腫で暗赤色	-	-	-
ジャンガリアンハムスター	JH-95	冷蔵	オス	22.5	鼻赤色で鼻汁少量、脾暗赤色 肝褐色、肺水腫で暗赤色	-	-	茶色糸状菌( <i>Scoleciferopsis brevicollis</i> )
ジャンガリアンハムスター	JH-96	冷蔵	オス	14.6	よだれ多量、肺水腫	-	-	-
ジャンガリアンハムスター	JH-97	冷蔵	オス	16	肺水腫で暗赤色	-	-	茶色糸状菌( <i>Scoleciferopsis brevicollis</i> )
ジャンガリアンハムスター	JH-98	冷蔵	オス	11.2	肺水腫	-	-	-
ジャンガリアンハムスター	JH-99	冷蔵	オス	10.1	皮膚で眼瞼腐敗(左側のみ) 肺水腫で暗赤色	-	-	茶色糸状菌( <i>Scoleciferopsis brevicollis</i> )
ジャンガリアンハムスター	JH-100	冷蔵	オス	12.1		-	-	茶色糸状菌( <i>Scoleciferopsis brevicollis</i> )
ジャンガリアンハムスター	JH-101	冷蔵	オス	11.6	肺水腫	-	-	-
ジャンガリアンハムスター	JH-102	冷蔵	オス	13.7		-	-	-
ロブオスキーハムスター	RH-11	冷蔵	オス	21.6	鼻出血、肝貧血色で小葉明瞭 肺水腫で暗赤色、右前肢骨折 四肢赤色(前肢顕著)、肝褐色	-	-	茶色糸状菌( <i>Scoleciferopsis brevicollis</i> )
ロブオスキーハムスター	RH-12	冷蔵	オス	13.3	肺水腫で暗赤色	-	-	-
ロブオスキーハムスター	RH-13	冷蔵	オス	22.5	肺水腫で暗赤色	-	-	-
ロブオスキーハムスター	RH-14	冷蔵	オス	14.6	四肢赤色(前肢顕著) 肺水腫で暗赤色	-	-	白色酵母(クロモ青: <i>Trichosporon asahii</i> )
ロブオスキーハムスター	RH-15	冷蔵	オス	16	鼻出血、脾褐色で、冠輪 肺水腫で暗赤色、肝褐色	-	-	-
ロブオスキーハムスター	RH-16	冷蔵	オス	11.2	肺水腫で暗赤色 肝褐色で小葉明瞭、腎褐色 左鼻出血、肺水腫で暗赤色	-	-	茶色糸状菌( <i>Scoleciferopsis brevicollis</i> ) 白色酵母(クロモ青: <i>Trichosporon asahii</i> )
ロブオスキーハムスター	RH-17	冷蔵	オス	10.1	肝褐色で小葉明瞭	-	-	灰色糸状菌(菌種不明)
ロブオスキーハムスター	RH-18	冷蔵	オス	12.1	肺水腫で暗赤色	-	-	-
ロブオスキーハムスター	RH-19	冷蔵	オス	11.6	肺水腫で暗赤色、肝貧血色 前肢骨一節出血	-	-	茶色糸状菌( <i>Scoleciferopsis brevicollis</i> ) ピンク色糸状菌( <i>Feodiantyces</i> sp.)
ロブオスキーハムスター	RH-20	冷蔵	オス	13.7	手足赤色(前肢顕著)、指爪良好	-	+	-
ロブオスキーハムスター	RH-21	冷蔵	オス	14.9	右側頰膜赤色、肺鬱血 小腸内出血、肝黒変	-	+	-
ロブオスキーハムスター	RH-22	冷蔵	オス	10.7	腐敗、耳、目周囲に渗出物付着	-	-	-
ロブオスキーハムスター	RH-23	冷蔵	オス	7.9	前肢顕著に赤色 肺赤色、肝黒変	-	-	-
ロブオスキーハムスター	RH-24	冷蔵	オス	11.1	腹側腐敗、肺可塑性で暗赤色 肝貧血色、肝、脾黒大なし	-	-	TTCCG 白色酵母(クロモ青: <i>Trichosporon asahii</i> )
ロブオスキーハムスター	RH-25	冷蔵	オス	11.1	鼻に黄付着、鼻血、腹側腐敗 肺水腫性で暗赤色 肝貧血色、肝、脾黒大なし	-	-	白色酵母(クロモ青: <i>Trichosporon asahii</i> )
ロブオスキーハムスター	RH-26	冷蔵	オス	14.4	腹側腐敗 肝貧血色、肝、脾黒大なし 肺凝縮不全で水腫性、暗赤色	-	-	-
ロブオスキーハムスター	RH-27	冷蔵	オス	14.3	口粘膜、舌チアノーゼ、腹側腐敗 肺水腫性で暗赤色	-	-	白色酵母(クロモ青: <i>Trichosporon asahii</i> ) 白色糸状菌(菌種不明)
ロブオスキーハムスター	RH-28	冷蔵	オス	7	口粘膜、舌チアノーゼ、腹側腐敗 前肢赤色、肺水腫性で暗赤色	-	-	白色酵母(クロモ青: <i>Trichosporon asahii</i> )
ロブオスキーハムスター	RH-29	冷蔵	オス	15.6	口粘膜、舌チアノーゼ、腹側腐敗	-	-	白色酵母(クロモ青: <i>Trichosporon asahii</i> )
ロブオスキーハムスター	RH-30	冷蔵	オス	14.5	四肢赤色、肺水腫性で暗赤色 口粘膜、舌チアノーゼ、腹側腐敗 前肢赤色、肺水腫性で赤色	-	+	-

網膜付: 組織検査

\*rRNA遺伝子ITS領域の配列を決定し、同定を行った株

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

人獣共通感染症対策として

*Yersinia pseudotuberculosis* ワクチン開発に関する基礎的研究

分担研究者：宇根有美 麻布大学獣医学部獣医病理学研究室  
研究協力者：林谷秀樹 東京農工大学獣医衛生学教室  
中村進一 麻布大学獣医学部獣医病理学研究室

研究要旨：

2004～2009 年、エルシニア症発生経験をもつ 7 施設（流行群）と発生のない 4 施設（非流行群）のリスザル 1,092 頭に、エルシニアの病原因子である菌体外膜蛋白の 1 つである *Yersinia adhesin A*（エルシニア接着因子 A）を強く発現させた *Y. pseudotuberculosis* 4b (YadA) 死菌を皮下接種し、エルシニア症発生状況と血清抗体推移を観察した。YadA 死菌接種後、流行群 7 施設中 4 施設と非流行群ではエルシニア症は発生せず、残りの流行群 3 施設でも発生回数および頭数が激減した。病原性 *Yersinia* が産生する *Yersinia* Outer Membrane Proteins (Yops) に対する抗体は、流行群で陽性率が高く (62.5～100%)、非流行群では低かった (0～36.4%)。さらに、流行施設と非流行施設の YadA 死菌接種後の YadA 抗体、Yops 抗体推移を比較した。YadA 抗体は両施設とも YadA 死菌接種の翌年から陽転したが、Yops 抗体は、流行施設では 1 歳以上の保有率が高く (85.9%)、上昇時期や値は様々であった。非流行施設は陰性個体が多く、2005～2007 年では 16 頭中 1 頭 (6.25%) のみが陽性であった。

本研究により、リスザルのエルシニア症予防には、YadA 死菌を用いた *Y. pseudotuberculosis* ワクチンが有効であることが実証された。しかし一方で、エルシニア症流行施設の成体では、生菌の感染でのみ産生される Yops 抗体保有率が高いことから、病原性 *Yersinia* の自然感染が繰り返し起こっている可能性が示唆された。このことから、YadA 死菌は全身感染による重篤化は防げるが、腸管局所からの感染を完全に阻止できず、自然界では、病原性 *Yersinia* の自然感染により、免疫が強化されていることが考えられた。

A. 研究目的

我が国では、病原性 *Yersinia* がサル類飼

育施設に広く浸淫し、多くの施設でエルシニア症の反復流行と致死例がみられる。さ

らに、エルシニア症で死亡したサル類 58 頭中 48 頭がリスザルで、かつリスザルの感染症症例 105 頭の 45.7% がエルシニア症であることから、リスザルは病原性 *Yersinia* に対し、特に感受性が高いといえる。また、リスザルのエルシニア症はほとんどが突然死で、異常を発現した時には症状が重篤化しており、治療の猶予のない場合が多い。さらに、感染個体の糞便中に大量に菌が排出されるため、集団感染を起こし、被害が甚大となることが多い。

エルシニア症は人獣共通感染症であり、展示方式によってはリスザルが来園者と直接接触することがあるため、公衆衛生上、非常に重要である。そして、流行施設では、施設の清浄化や定期的な抗生物質投与など、様々な対策を行っているが流行は阻止できていない。このため、エルシニア症予防には、有効なワクチンを用いて、病原性 *Yersinia* に対する感受性を低下させることが最も効果的と考えられる。岩田らの実験により<sup>6)</sup>、病原性 *Yersinia* の共通菌体外膜タンパク質 *Yersinia adhesin A* (YadA) が、*Y. pseudotuberculosis* の重要な感染防御抗原となっており、ワクチンとして有効である可能性が示唆されたため、今回、YadA 死菌を免疫原とした臨床実験を実施した。

## B. 材料と方法

### 1. 供試動物

国内でリスザルのエルシニア症発生のある 8 施設 (A, B, D~F, H, I, K) と、発生のない 3 施設 (O~Q)、法定検疫直後のスリナム共和国産リスザル飼育施設 (R)、計 12 施設を対象とした (Table 2)。臨床実験に際して、飼育施設へ協力要請し、承諾を得て実施し

た。

### 2. 供試菌

堀坂<sup>5)</sup>、岩田<sup>6)</sup>の方法に従い、YadA を菌体表面に高度に発現した *Y. pseudotuberculosis* 4b を BHI 液体培地 10ml に接種し、25°C で 24 時間培養後、培養液 10ml を RPMI 1640 液体培地 (日水製薬株式会社：以下日水、東京) 500ml に接種し、37°C で 18 時間振盪培養した。その後、濃度が 1% になるようにホルムアルデヒドを培養液に加え、室温で 24 時間反応させて菌を不活化した後、8,000rpm で遠心分離し、滅菌生理食塩水で菌体を 3 回洗浄して YadA 死菌 (以下ワクチン) を作製し、滅菌生理食塩水で 100mg/ml (wet weight) に希釈した。

### 3. ワクチン接種

2004~2009 年、11 施設 (A, D~F, H, I, K, O~R) 計 1,092 頭に接種した (Table 2)。

リスザル捕獲後、吸入麻酔下でワクチンを 0.2ml 皮下接種した。同時に、個体判別、削瘦や下痢の有無の確認、採血、シードスワブ  $\gamma$ 1 号 (栄研化学、東京) を用いた採便 (直腸便) を行った。血液は遠心分離後、血清を -80°C で保存した。

### 4. 各施設の Yops 抗体保有状況

2002~2009 年、12 施設 (A, B, D~F, H, I, K, O~R) で飼育されていたリスザル計 1,387 頭を対象とし、病原性 *Yersinia* が共通に産生する *Yersinia* Outer Membrane Proteins (Yops) に対する抗体を測定した (Table 1)。カットオフ値 (後述) に基づきエルシニア症流行施設と非流行施設の Yops 抗体保有率を比較した。

#### 【カットオフ値】

R 施設のリスザル血清 93 検体を陰性対照

とし、Iwata ら<sup>7)</sup>の方法を参考に、Yops および YadA の OD 値の平均値および標準偏差を算出し、平均値に標準偏差の 3 倍を加えた値をカットオフ値とした。

#### 5. 年齢別抗体保有状況

詳細な個体情報が明らかな施設 (A, E) の年齢別抗体保有状況を調べた。

#### 6. 流行施設と非流行施設の YadA, Yops 抗体の経年推移

流行施設 (E) と非流行施設 (P) の一部リスザルの YadA 死菌に対する血清抗体を測定し、接種後の抗体の経年的推移を観察した。E 施設は 2003 年生まれの 5 頭と 2004 年生まれの 6 頭の 2003～2009 年の血清を検査対象とした。なお、このうち 2 頭は 2008 年分娩後に死亡したので、2009 年の血清は 9 検体となった。P 施設は、成体 5 頭の 2005～2007 年、2009 年の血清および 2006 年生まれの 1 頭は 2007 年と 2009 年、2007 年生まれの 1 頭は 2009 年の血清を対象とした。また、1 頭 (成体) が 2008 年に死亡したため、2009 年の血清は合計 6 検体となった。

なお、ELISA は YadA 死菌 (160  $\mu$ g/ml) と Yops (250  $\mu$ g/ml) を抗原液とし、96 穴マイクロプレート (Nunc, Roskilde, Denmark) 各ウェルに 50  $\mu$ l ずつ分注し、4℃で 24 時間静置後、抗原液を除去し、10% BSA Diluent/Blocking Solution (KPL, U.S.A.) を蒸留水で 10 倍希釈して各ウェル 300  $\mu$ l ずつ分注し、室温で 15 分間反応後、反応液を除去した。

供試血清は、56℃で 30 分間処理して非動化した。予備試験の結果から、40 倍希釈になるように Wash solution (KPL, U.S.A.) で希釈した。次に、抗原を吸着させたマイクロプレートに供試血清を各ウェル 50  $\mu$ l

ずつ入れ、室温で 1 時間反応させた。その後反応液を捨て、Wash solution (KPL, U.S.A.) で 4 回洗浄した。なお、供試血清は 1 検体につき 3 ウェルを用いた。二次抗体は 1,000 倍希釈したペルオキシダーゼ標識 Protein G (KPL) を 50  $\mu$ l ずつ加え、室温で 1 時間反応後、液を捨て、Wash solution で 5 回洗浄した。次に、発色基質として ABTS (2,2'-azino-di [3-ethylbenzthiazoline sulfonate]) 溶液 (KPL, U.S.A.) を 50  $\mu$ l ずつ分注し、20 分室温で静置後、MTP-120 マイクロプレートリーダー (コロナ電気株式会社, 茨城) を用いて、波長 405nm での吸光度を測定し、Optical Density (OD) 値とした。また、供試血清の OD 値は、1 検体につき 3 ウェルの OD 値の平均値を用いた。平均値の差の検定は、Microsoft Office Excel 2007 を用いて、Student の t 検定を実施した。なお、有意水準は 5% とした。

#### 7. 糞便からの *Yersinia* 属菌の分離

直腸スワブを irgasan-novobiocin (IN) 平板培地 (OXOID Ltd., England) に直接塗布し、25℃で 48 時間、静置培養した。さらに、直腸スワブを PBS (pH7.2) 中に懸濁して、4℃で 3～4 週間低温増菌し、アルカリ処理後に IN 培地に塗布し 25℃で 48 時間培養した。IN 培地上に赤色で辺縁が透明な *Yersinia* 属菌様コロニーが認められた場合、Trypticase Soy Agar 平板培地 (Becton, Dickinson and Company, U.S.A.) を用いて純培養後、Triple Sugar Iron Agar 寒天培地、LIM 培地 (いずれも日水, 東京) および尿素培地 (栄研化学株式会社, 東京) を用いて生化学性状試験を行った。*Yersinia* 属菌と同定された菌株については、Wauters ら<sup>20)</sup>の方法を用い菌種の同定を行った。さら

に、*Y. pseudotuberculosis* または *Y. enterocolitica* と同定された菌株については、市販の偽結核菌群別用免疫血清、*Y. enterocolitica* 0 群別用免疫血清（いずれもデンカ生研，東京）を用いて、スライド凝集反応により血清群別を行った。なお、2004～2007 年は、分離培養を東京農工大学獣医衛生学教室に依頼し、2008 年以降は麻布大学獣医学部病理学研究室で実施した。

#### 8. エルシニア症発生状況調査

ワクチン接種施設において接種後の死亡個体すべてを病性鑑定し、あわせて細菌検査も行い、エルシニア症発生の有無を確認した。さらに、エルシニア症の反復流行がみられる施設で、かつ長年にわたって検査および記録を残している 2 施設 (A, E) を対象として、過去のエルシニア症発生状況の聞き取り調査を実施し、ワクチンの効果について検討した。

### C. 研究結果

#### 1. リスザルの Yops ならびに YadA 抗体保有状況およびカットオフ値

陰性対照の OD 値はいずれも低値で、Yops は 0.023～0.156、YadA は 0.029～0.101 で、各々の平均値は 0.052、0.069、標準偏差は 0.023、0.013 であった。従ってカットオフ値は、Yops が 0.121、YadA が 0.108 となり、0.121 以上を Yops 抗体陽性、0.121 未満を抗体陰性 (Fig. 1)、0.108 以上を YadA 抗体陽性、0.108 未満を抗体陰性とした (Fig. 2)。

#### 2. 飼育下リスザルの Yops 抗体保有状況

流行群 8 施設では OD 値が高く、カットオフ値以上であった (Fig. 3)。一方、陰性対照群 (R) を含む、非流行群 4 施設の OD 値は全

体的に低く、P 施設以外はカットオフ値以下であった。各飼育施設の Yops 抗体陽性率は、流行群では 62.5～100% と高く、非流行群は 0～36.4% であり、Yops 陽性率は、流行群より有意に低かった ( $p < 0.05$ ; Table 3)。

#### 3. 年齢別 Yops 抗体保有状況

2005～2009 年、E 施設の抗体陰性率は 10.5～38.9% で推移し、うち 1 歳未満の割合は成体より有意に多く (36.0～100%)、全体では 71.0% であった (Fig. 4)。また、成体の抗体陽性率は 71.0～100% で推移し、1 歳未満個体より有意に高かった ( $p < 0.05$ )。以上のことから、E 施設では 1 歳未満の幼若個体における抗体陽性率は低いが、成体になると陽性率が高くなることがわかった。

また、その傾向は A 施設でも同様で、2005～2009 年の抗体陰性率は 2.9～29.2% で推移し、うち 1 歳未満個体の割合は 71.4～100% で、全体では 80.0% であった (Fig. 5)。一方、成体の抗体陽性率は 97.6～100% で、E 施設同様、1 歳未満の個体では有意に抗体陽性率が低く、成体で抗体陽性率が高かった ( $p < 0.05$ )。

#### 4. E 施設の Yops 抗体経年推移

2003～2009 年、E 施設で Yops 抗体陽性を維持した個体は 64.8～84.1% で、陽転した個体は 2.4～28.2%、陰性を維持した個体は 2.4～22.4%、陰転した個体は 1.2～3.7% の割合でみられた (Fig. 6)。

3 の結果と合わせると、ほとんどの成体では血清抗体陽性である一方、1 歳未満は抗体陰性率が高い。しかし、多くは 2 歳以上で陽転することが明らかとなった。また、一度陽性になると陰転することは少なく、Yops 抗体が長期間維持されている可能性が示唆された。

#### 5. E施設とP施設における Yops および YadA 抗体の経年的推移

E 施設ではいずれの個体もワクチン初回接種前(1歳未満)では Yops ならびに YadA 抗体は保有していなかったが、ワクチン接種翌年の2歳以降全個体で YadA 抗体が陽性に転じた。一方、Yops 抗体は、ワクチン接種2回目では、11頭中7頭が陰性であったが、4年目以降 Yops 抗体がいずれの個体も陽性となった(Fig. 7)。

P 施設でも、ワクチン初回接種時はいずれの個体も Yops 抗体と YadA 抗体は保有していなかった。YadA 抗体は、1頭を除き2年目に陽性に転じ、陰性個体も3年目には陽性となった。Yops 抗体は、2頭を除き、2005～2007年まではいずれの個体も陰性であったが、2009年にはすべて陽性となった(Fig. 8)。

#### 6. 各飼育施設におけるワクチン接種前後のエルシニア症発生状況と *Yersinia* 属菌の分離状況

流行群7施設と、非流行群4施設の計1,092頭に YadA 死菌を皮下接種した。その結果、流行群7施設中4施設と、すべての非流行施設で、エルシニア症の発生はみられなかった。ワクチネーション後に流行がみられた3施設(A, E, F)でも、発生回数は激減した。また、F施設では、2007年2頭がエルシニア症で死亡したが、いずれもワクチン未接種、血清抗体陰性個体であった。また、調査期間中、E施設とA施設を除くいずれの施設からも *Yersinia* 属菌は分離されなかった(E, A施設は後述)。

##### 【E施設】

E施設は毎年約100頭のリズザルを維持、飼育している。1983～2004年までの22年

間に、細菌検査でエルシニア症と確定診断された事例は、リズザルを含む各種飼育動物で過去6回発生している。さらに、剖検所見からエルシニア症を疑う症例を加えると、ほぼ毎年エルシニア症が流行していると推察される(Fig. 9)。2002年に死亡した成体1頭から *Y. pseudotuberculosis* 4b が分離され、また、2003年死亡の1歳未満の個体からは *Y. pseudotuberculosis* 7 が分離されている<sup>12)</sup>。なお、この個体の2003年 Yops に対する OD 値は 0.005 で抗体陰性であった。

この施設では、2004年にワクチン接種開始以来、毎年接種を行っている。なお、ワクチン作製量に限界があるため、飼育頭数が多いこの施設では、前年の抗体調査で抗体価が低かった個体と、1歳未満の幼若個体にワクチンを接種している。ワクチン接種以降は、2005～2007年に各年1頭ずつがエルシニア症で死亡した(Fig. 9)。2005年は分娩直後の衰弱個体に *Y. enterocolitica* 03 感染致死例がみられた。2006年の死亡個体は1歳未満(ワクチン未接種)で、*Y. pseudotuberculosis*(細菌培養せず、免疫染色で判定)、2007年死亡個体も1歳未満で、*Y. pseudotuberculosis* 1b が分離された。2009年の調査時には、96頭中10頭(10.4%)の直腸スワブから *Y. enterocolitica* 05 が分離され、これらの菌株は37℃培養時に自己凝集性を有し、さらに、病原性プラスミドのマーカである *virF* 遺伝子を標的遺伝子とした PCR 法により、病原性プラスミドを保有する病原性株であることが分かった(Fig. 10)。また、10頭中4頭は1歳未満、3頭は2～4歳の若齢個体、3頭は成体のうち1頭は前年の Yops

抗体が陰性であった (Table. 4)。糞便から病原性を有する *Y. enterocolitica* 05 が分離されたことから、全頭に抗生物質を予防的に投与し経過を観察したが、下痢などの症状を示す個体はみられず、エルシニア症で死亡した個体も確認されなかった。

#### 【A 施設】

毎年約 50 頭のリスザルを維持、飼育している A 施設では、1985 年頃にエルシニア症の集団発生がみられ、以降、断続的に発生しているため、定期的に抗生物質を投与している。1992 年 12 月に、定期的に実施していた抗生物質の投与を一旦中止した際、その 3 ヶ月後 (6 か月齢)、6 ヶ月後 (2 歳)、12 ヶ月後 (年齢不明) に 1 頭ずつと、13 ヶ月後に 2 頭 (3 歳、5 か月齢) がエルシニア症で死亡した。その後、2005 年からワクチン接種を開始したが、初回ワクチン接種時にエルシニア症の集団発生が起きており、ワクチン接種の直前に採取した直腸スワブ 46 頭中 8 頭 (17.4%) から *Y. pseudotuberculosis* 1b が分離され、うち 2 頭 (1 歳未満と成体) が死亡した。しかしながら、ワクチンの効果が期待された 2006、2007、2009 年にエルシニア症の発生はなかった。しかしながら、2008 年 1 月と 5 月にエルシニア症でそれぞれ 1 頭 (いずれも 1 歳未満でワクチン未接種) が死亡した。

#### D. 考察

Yops は、ヒトや動物において病原性 *Yersinia* に対する抗体を広く検出でき、かつ検出感度や特異性が高い抗原であることが報告されている<sup>4)14)15)16)19)</sup>。さらに、病原性 *Yersinia* 感染患者では、その菌種や血清型の種類に関わらず、血清中に、Yops 抗体

を検出できることが報告されている<sup>8)</sup>。リスザルにおける血清抗体調査の結果、流行群 8 施設では、いずれも血清抗体保有率は高く (62.5~100%)、一方、非流行群 4 施設では、Yops に対する OD 値は低く、ほとんどがカットオフ値以下であった。また、ELISA に使用している Yops 抗原は、*Y. pseudotuberculosis* 4b から精製し抗原としているが、*Y. pseudotuberculosis* 4b が分離されたことのない流行群 A 施設 (1b)、B 施設 (1b、2b、6) および H 施設 (1b) でも、Yops 抗体を検出することが可能であった。非流行群 4 施設 (O~R) で飼育されているリスザルのうち、Yops 抗体を保有していたのは、O 施設 3 頭 (27.3%)、P 施設 8 頭 (36.4%)、Q 施設 2 頭 (18.2%) であった。*Yersinia* 属細菌が元々生息していない原産地から輸入された直後のリスザル群 R 施設では、Yops 抗体を保有する個体はみられなかった。さらに、O 施設の抗体陽性 3 頭中 2 頭は E 施設から、1 頭は K 施設から導入された個体であった。また、P 施設と Q 施設の Yops 抗体陽性個体はいずれも成体であった。

以上のことから、Yops を用いた ELISA による血清検査は、リスザルの病原性 *Yersinia* 抗体を広く検出でき、過去に感染したかどうかの判定にも有用であると考えられた。

E 施設と A 施設の年齢別 Yops 抗体保有状況および経年的変化を調査した結果、両施設とも、1 歳未満の抗体陰性率が高く、2 年目以降に多くが陽転する傾向にあり、成体の抗体陽性率が高かった。また、1 歳未満の幼若個体の抗体保有率が低いことから、母子免疫は成立しないことが示唆され、これが、病原性 *Yersinia* に対する感受性を高

めていることがわかった。以上のことから、エルシニア症の発生を予防するためには、1歳未満の幼若個体にワクチンによって免疫を賦与することが、特に重要であると考えられた。なお、YadA 死菌の皮下接種により、有効な抗体価がどの程度の期間維持されるのかは、今後検討していく必要があると思われる。

流行群 E 施設と非流行群 P 施設とも、ワクチン初回接種時は Yops および YadA 抗体は陰性であったが、YadA 抗体は、ワクチン接種翌年には、P 施設の 1 頭を除く全ての個体で陽性に転じた。一方、Yops 抗体は、個体により様々であったが、E 施設では 2 年目に 11 頭中 4 頭が陽転し、4 年目には全頭が陽性となった。P 施設では、2005～2007 年までは Yops 抗体は陰性であったが、2009 年には全頭が陽性となった。P 施設では、過去リスザルにエルシニア症の流行はなかったが、1992 年にシロテテナガザルとブラッザモンキーに *Y. pseudotuberculosis* 感染症が発生した<sup>11)</sup>。さらに、本施設において 1990 年に村田らによって実施された調査では、飼育施設内で捕獲したドブネズミ、クマネズミなどの腸内容物から 45%の割合で *Yersinia* 属菌が検出されており、エルシニア症の感染経路として、げっ歯類が重要な役割を有することを指摘している<sup>10)</sup>。そのため、P 施設でも野生げっ歯類等が病原性 *Yersinia* を保菌しており、2008～2009 年の間にリスザル飼育群に暴露されていた可能性が考えられた。

エルシニア症予防対策をしているにもかかわらず、エルシニア症が流行している E 施設と A 施設について、ワクチン接種後のエルシニア症発生状況を調査した結果、接

種後、エルシニア症の発生は激減し、死亡個体は 1 歳未満や分娩等による衰弱した個体に限られていた。さらに、その他、流行群 6 施設でも、ワクチン接種後はエルシニア症が流行することはなかった。以上のことから、YadA は病原性 *Yersinia* の感染防御抗原となっており、エルシニア症の感染、致死防御に有効であると考えられた。E 施設の血清調査の結果から、YadA 抗体は、ワクチン接種後陽性となるが、病原性 *Yersinia* の感染を広く検出する Yops 抗体は、YadA 接種で上昇せず、個体により時期は様々であるが、成体になるとほとんどの個体が陽性となった。さらに、2009 年、E 施設のリスザル 96 頭中 10 頭 (10.4%) から、病原性プラスミドを保有するが、病原性 *Yersinia* の中でも弱毒とされている *Y. enterocolitica* 05 が分離されたが、発症例、致死例ともにみられなかった。このことから、YadA 死菌の皮下接種により、病原性 *Yersinia* 感染による症状発現や死亡を阻止することはできるが、腸管における十分な局所免疫が誘導できず、腸管からの感染は阻止できないと考えられた。しかし、病原性の低い *Yersinia* の自然感染によってエルシニア症発症防御に有効な Yops 抗体が維持されている可能性が示唆された。

リスザルから分離された *Y. pseudotuberculosis* は、92.3%が T 細胞の過剰活性化やサイトカイン過剰産生を誘導する *Y. pseudotuberculosis*-derived Mitogen (YPM) を産生する強毒株であったが、我が国の環境中には YPM を産生しない病原性の低い *Y. pseudotuberculosis* も広く分布していることが報告されている<sup>2)</sup>。

流行群の E 施設や A 施設では、ワクチン



接種後、エルシニア症の発生は激減し、YadA 死菌はワクチンとして有効であると考えられるが、1 歳未満のワクチン未接種個体では、依然、エルシニア症が発生、死亡している。また、現在、リスザルに YadA 死菌を皮下接種するには、捕獲して、吸入麻酔を行う必要があり、野生動物を扱うに当たって事故が起きる可能性もあることから、今後は接種がより簡便で、安全性の高い経口ワクチンの開発が望まれる。現在、注射型ワクチンよりも、鼻に噴霧あるいは経口的に接種することにより、呼吸器あるいは消化管の粘膜を介して効果的に吸収される粘膜ワクチンが世界的に注目され、研究されている<sup>13)18)</sup>。注射型ワクチンは、全身投与であることから、全身免疫のみしか誘導されないが、経口あるいは経鼻投与による粘膜ワクチンの場合、粘膜の局所免疫と全身免疫を双方に誘導できる二段構えのワクチンとして、今後開発が期待されている<sup>17)</sup>。特に、腸管感染症や肺炎のような粘膜感染を引き起こす感染症では、粘膜ワクチンの開発が望まれている。しかし、死菌あるいはサブユニットワクチンなど不活化ワクチンの場合、抗原として認識され、抗原提示細胞に取り込まれる前に、消化酵素や粘液などの作用によって不活化されることが問題となり、効果的な粘膜ワクチン開発の障壁となっている<sup>9)</sup>。経口接種の場合、十分な量の抗原を接種しても、効果が不十分であると考えられる。そこで、粘膜局所における抗原特異的 IgA の誘導を効果的に増強する粘膜免疫活性化因子として、コレラ毒素や大腸菌の易熱性毒素などのような粘膜アジュバントなども開発され、研究されている<sup>1)</sup>。さらに近年、遺伝子組み換え技術

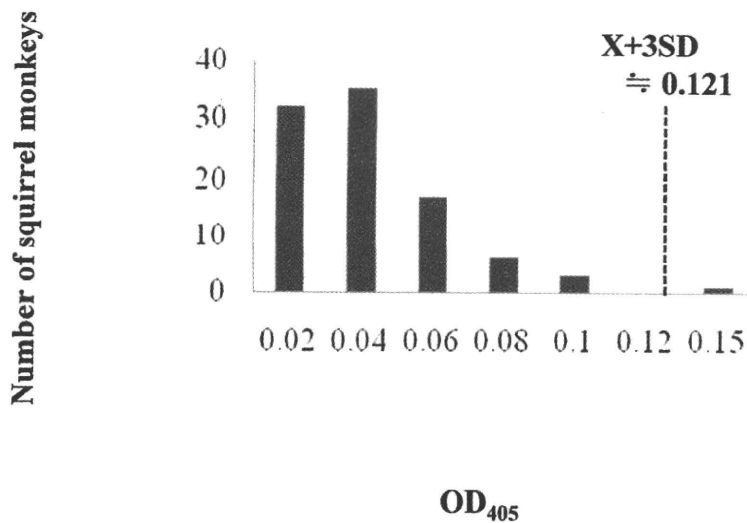
を応用し、ワクチン抗原を米などの植物に発現させた植物生産型ワクチンが注目されている<sup>3)21)</sup>。今後は、リスザルのエルシニア症においても、安全で効果的な粘膜ワクチンを開発していく必要があると考えられる。

#### E. 参考文献

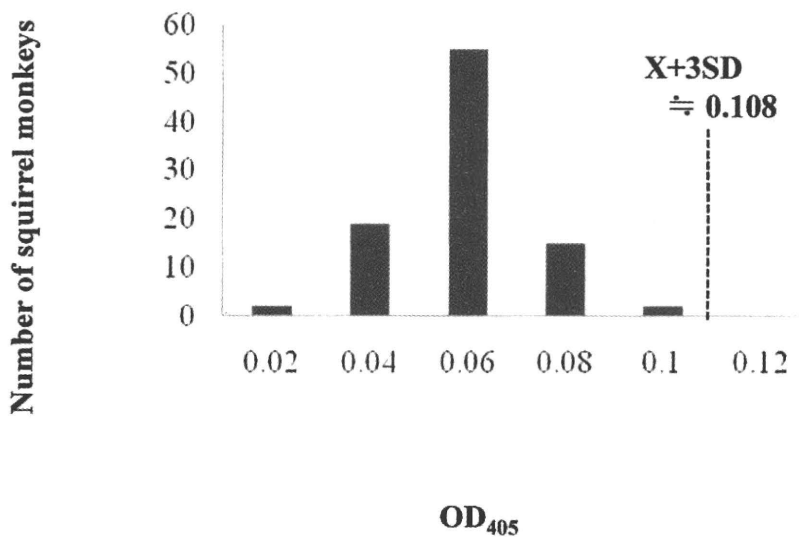
1. Chen, W., Patel, G. B., Yan, H., Zhang, J. 2010. Recent advances in the development of novel mucosal adjuvants and antigen delivery systems. *Hum. Vaccin.* 6. [Epub ahead of print].
2. Fukushima, H., Matsuda, Y., Seki, R., Tsubokura, M., Takeda, N., Shubin, F. N., Paik, I. K., Zheng, X. B. 2001. Geographical heterogeneity between Far Eastern and Western countries in prevalence of the virulence plasmid, the superantigen *Yersinia pseudotuberculosis*-derived mitogen, and the high-pathogenicity island among *Yersinia pseudotuberculosis* strains. *J. Clin. Microbiol.* 39:3541-3547.
3. Gómez, E., Chimeno, Zoth. S., Carrillo, E., Estela, Roux. M., Berinstein, A. 2008. Mucosal immunity induced by orally administered transgenic plants. *Immunology.* 213:671-675.
4. Heesemann, J., Schroder, J., Ulrich, M. 1988. Analysis of the class-specific immune response to *Yersinia enterocolitica* virulence-associated antigens in oro-gastrically infected rabbits. *Microb. Pathog.* 5:437-447.

5. 堀坂知子. 2004. 病原性 *Yersinia enterocolitica* および *Yersinia pseudotuberculosis* の迅速検出法の開発 岐阜大学大学院連合獣医学研究科博士論文
6. 岩田剛敏. 2008. 飼育サルにおけるエルシニア症の疫学とその予防に関する研究. 岐阜大学大学院連合獣医学研究科博士論文.
7. Iwata, T., Une, Y., Lee, K., Nakamura, S., Taniguchi, T., Hayashidani, H. 2010. Seroepidemiological survey of pathogenic *Yersinia* in breeding squirrel monkeys in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 72:981-984.
8. Martinez, R. J. 1983. Plasmid-mediated and temperature-regulated surface properties of *Yersinia enterocolitica*. *Infect. Immun.* 41:921-930.
9. Mestecky, J., Nguyen, H., Czerkinsky, C., Kiyono, H. 2008. Oral immunization: an update. *Curr Opin Gastroenterol.* 24:713-719.
10. 村田浩一. 1990. 動物園動物ならびに捕獲ネズミ類のエルシニア属菌保有状況調査. 動水誌. 3:57-59.
11. 村田浩一, 浜夏樹. 1992. 飼育下のシロテナガザルとブラッザモンキーに認められた *Yersinia pseudotuberculosis* 感染例. 動水誌. 3:58-61.
12. Nakamura, S., Hayashidani, H., Iwata, T., Takada, M., Une, Y. 2009. Spontaneous Yersiniosis due to *Yersinia pseudotuberculosis* serotype 7 in a squirrel monkey. *J. Vet. Med. Sci.* 71:1657-1659.
13. Nochi, T., Yuki, Y., Matsumura, A., Mejima, M., Terahara, K., Kim, D. Y., Fukuyama, S., Iwatsuki-Horimoto, K., Kawaoka, Y., Kohda, T., Kozaki, S., Igarashi, O., Kiyono, H. 2007. A novel M cell-specific carbohydrate-targeted mucosal vaccine effectively induces antigen-specific immune responses. *J. Exp. Med.* 12:2789-2796.
14. Rastawicki, W., Jakubczak, A. 2007. Serum immunoglobulin IgG subclass distribution of antibody responses to Yop proteins and lipopolysaccharide of *Yersinia enterocolitica* in Patients with Yersiniosis. *Polish J. Microbiol.* 56:233-238.
15. Robins-Browne, R. M., Bordun, A. M., Slee, K. J. 1993. Serological response of sheep to plasmid-encoded proteins of *Yersinia* species following natural infection with *Y. enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis*. *J. Med. Microbiol.* 39:268-272.
16. Strobel, E., Heesemann, J., Mayer, G., Peters, J., Müller-Weihrich, S., Emerling, P. 2000. Bacteriological and serological findings in a further case of transfusion-mediated *Yersinia enterocolitica* sepsis. *J. Clin. Microbiol.* 38:2788-2790.
17. Takahashi, I., Nochi, T., Yuki, Y., Kiyono, H. 2009. New horizon of mucosal immunity and vaccines. *Curr Opin Immunol.* 21:352-358.
18. Tanaka, N., Fukuyama, S., Fukuiwa, T., Kawabata, M., Sagara, Y., Ito, H. O., Miwa, Y., Nagatake, T., Kiyono, H., Kurono, Y. 2007. Intranasal immunization with phosphorylcholine induces antigen specific mucosal and systemic immune responses in mice. *Vaccine.* 14:2680-2687.
19. Tomaso, H., Mooseder, G., Dahouk, S. A., Bartling, C., Scholz, H. C., Strauss, R., Treu,

- T. M., Neubauer, H. 2006. Seroprevalence of anti-*Yersinia* antibodies in healthy Austrians. *Eur. J. Epidemiol.* 21:77-81. 27:1596-1600
20. Wauters, G., Janssens, M., Steigerwalt, A. G., Brenner, D. J. 1988. *Yersinia mollaretti* sp. nov. and *Yersinia bercovieri* sp. nov., formerly called *Yersinia enterocolitica* biogroups 3A and 3B. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 38:424-429. F. 知的財産権の出願・登録状況  
なし
21. Zhang, X., Yuan, Z., Duan, Q., Zhu, H., Yu, H., Wang, Q. 2009. Mucosal immunity in mice induced by orally administered transgenic rice. *Vaccine.* G. 健康危機管理情報  
なし
- H. 研究発表等  
なし



**Fig. 1. Antibody titers to Yops of 93 animals just after importation from Suriname. The vertical dashed line represents the cut off point, which was calculated as 3 standard deviations (SD) from the mean of this group.**



**Fig. 2. Antibody titers to YadA of 93 animals just after importation from Suriname. The vertical dashed line represents the cut off point, which was calculated as 3 standard deviations (SD) from the mean of this group.**