

201318028A

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

動物由来感染症に対するリスク管理手法に関する研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 吉川 泰弘
千葉科学大学危機管理学部

平成26年（2014年）3月

目次

I. 総括研究報告

- 動物由来感染症に対するリスク管理手法に関する研究 吉川 泰弘 …… 1

II. 分担研究報告

<総括班>

1. 野生動物・輸入動物を主とする動物由来感染症の調査プログラムの作成と
評価（統括班）およびアライグマ・放牧豚のインフルエンザ関連疫学調査 門平 睦代 …… 17
2. エキゾチックアニマル・ワイドアニマルの感染症のリスクとその対策 …… 21
(研究協力者：宇根 有美 他)
『実験動物を用いたキンカジュウ回虫の幼虫の病原性評価』
『キンカジュウ回虫の駆除実験』
『新世界ザルにおける致死性的トキソプラズマ症の流行』
3. 海外翼手類における病原体の生態に関する研究、危機管理に必要な動物由来
感染症への緊急対応（研究協力者：新井 智 他） …… 35

<個別班>

4. リッサウイルスの診断法確率に関する研究 井上 智 …… 41
わが国で狂犬病を発症したイヌが認められた場合の危機管理対応に関する研究
5. カプノサイトファーガを主とする伴侶動物等に由来する感染症に関する研究 今岡 浩一 …… 81
カプノサイトファーガ・カニモルサス感染症に関する研究
イヌのレプトスピラ症に関する研究
わが国の猫における Bartonella および Chlamydia felis DNA 保有状況
6. 日本国内のニホンザルにおける B ウイルス感染症に対するリスク管理 濱野 正敬 …… 103
7. エキノコックス等寄生虫感染撲滅のための方策の研究と効率の良い 八木 欣平 …… 109
有効評価方法の開発
8. 野生動物におけるインフルエンザウイルス汚染の調査 前田 健 …… 119
重症熱性血小板減少症候群ウイルスの分離と同定
フィリピン蝙蝠からの新規レオウイルスの分離

III. 研究委託報告

1. 国内／(株)東レリサーチセンター
2. 海外／フィリピン大学（ジョセフ・マサンガイ）

IV. 業績資料集

I. 総括研究報告

動物由来感染症に対するリスク管理手法に関する研究

千葉科学大学 吉川泰弘

動物由来感染症に対するリスク管理手法に関する研究

研究代表者 吉川泰弘（千葉科学大学危機管理学部）

研究要旨

本研究では、メインテーマとして、階層化要素対比較法(AHP法)を用いて序列化した重要感染症、トップ 20 のうち、B ウイルス病、エキノコックス症、リッサウイルス感染症、高病原性鳥インフルエンザ(HPAI)、カプノサイトファーガ症の 5 つ、及び緊急テーマとしてキンカジュウ回虫症に関しリスク管理の手法を開発することを試みている。

キンカジュウ回虫症に関しては、動物の輸入実績、動物園での調査を終え、陽性個体を購入し、実験動物への感染によるリスク評価を終えた。キンカジュウ回虫は宿主内の体内移行を起こし、時に脳に侵入し神経症状を起こすことが明らかにされた。駆虫法によりリスク回避することが出来ることが確認された。26 年度は、これらの研究成果を安全指針として纏める予定である。

B ウイルスでは、北海道、関東の動物園で全頭抗体調査を行った。陽性の動物園では、群の維持のため陽性 α メールを残し、他の成熟陽性個体を間引き、追跡調査を進めている。間引いた陽性個体を用い、再活性化の有無と体内の潜伏部位の解析を進めている。今後、日本動物園水族館協会と協議し、さらに多くの動物園の調査を行い、フリー化のための手順を検討する。

リッサウイルスに関しては日本とフィリピンのコウモリについて疫学調査を進めた。2013 狂犬病ガイドライン(国内犬発症対応)を作成したが、台湾で野生動物(イタチアナグマ)例が出たため、台湾と共同研究を進め、野生動物の狂犬病統御のための指針作成の検討を始める。また、細胞内抗体を用いた狂犬病ウイルスの感染細胞での増殖阻止研究を開始した。フィリピンで捕獲したオオコウモリの口腔ぬぐい液からウイルスが分離された。遺伝子解析の結果、人獣共通感染症の原因となるレオウイルスであることが同定された。

北海道の動物園で、連続してエキノコックス感染霊長類が見つかっており、都市部での汚染が明らかにされた。本研究班では、引き続き道東南地区等のエキノコックスフリー化計画を進めた。ベイトによる駆虫効果がみられ、フリーの地域が徐々に拡大しつつある。また、終宿主のキタキツネの駆虫と中間宿主のエゾヤチネズミでの原頭節の死滅法の併用を試みる研究が進んでいる。

HPAI は、野生動物のうち、フィリピン蝙蝠、アライグマ、イノシシで抗体陽性例が認められた。イノシシでは、H1N1pan に対する抗体陽性の個体も見られたが、N5N1抗体陽性の個体はいなかった。新しいリスク因子として、北海道の放牧豚の抗体調査を進める。

カプノサイトファーガ症については、新規症例の収集を進めた。人の臨床領域で認識されはじめたせいか、症例数が増加しつつある。症例は 50~60 代の男性に偏っている傾向があきらかになったが、原因は不明である。遺伝的多様性に基づく新規菌の同定、補体による菌増殖の阻害等の研究を進めた。今後は、感度・精度の高い診断法の開発を進める予定である。

研究組織

研究代表者 吉川泰弘、千葉科学大学

研究分担者 門平睦代、帯広畜産大学

井上智 国立感染研

今岡浩一 国立感染研

前田健 山口大学

濱野正敬 予防衛生協会

八木欣平 北海道衛研

班全体の研究協力者

太田周司 日青協

吉崎理華 東レリサーチ

A：研究目的

動物由来感染症が感染症法に組込まれ 16 年目を迎えた (Yoshikawa, Glob. Env. Res. 12, 55, 2008)。感染症法の施行と共に、動物由来感染症に関連する研究会が発足し、また BSE や SARS, MERS, パンデミックインフルエンザ等の発生があり、新興感染症対策の重要性が認識された。チクングニア熱、重症熱性血小板減少症 (SFTS) 患者の発生も報告された、

感染症法制定 5 年後の見直しで、リスク評価の結果、最も高リスクの輸入野生動物は、リスクに応じ輸入禁止、検疫、輸入届出・健康証明書添付措置をとった (Yoshikawa, Agricul. Env. Med, Ed. K. Minami, Kitasato Univ. 79, 2009. Yokendo)。その後、本研究班では一貫性のある評価法で定量的に動物由来感染症を序列化する方法を開発した (ズーノシス統御へのアプローチ、吉川、太田、吉崎、門平、JVM, 64, 275, 2011)。

本研究では、序列トップ 20 のうちで、早急に対応の必要な感染症 (B ウイルス病、リッサウイルス感染症、エキノコックス症、HPAI, カプノサイトファーガ症) のリスク管理方法の開発研究

を進めた。

これまでの研究では、おもに市民に対し警告し、危機意識を持たせる教育・啓蒙を行ってきた。しかし、その多くはリスクの高さを強調するのみで、リスクシナリオを作成し、重要管理点を見出し、そのリスクを回避するための具体策を作成することが可能かどうかは、検討してこなかった。

本研究では、5 つの動物由来感染症と 1 緊急課題に関して、リスクシナリオの作成と、リスク回避の出来る方法論を見出すことを試みる。一般に野生動物等に由来する感染症の感染源を撲滅することは困難である。しかし、特性の区域や環境に限定してゾーニングや囲い込みによる病原体フリーの状態を作出することは可能であろう。本研究の成果はガイドライン (指針) として公表する。民間や行政と協力して病原体フリー区域 (動物園) 等の作出を試みる。こうした試みは、公衆衛生行政にとって高い貢献度をもつと考えられる。

B、C、D 方法、結果、考察

統括班 (吉川、門平、吉崎、大田)

ほぼ月に 1 回の総括班会議を開催し、個々の研究の方向性と戦略について検討した。また、本年度は分担研究者会議と 2 回の総合班会議を開き、全体で研究班の目的を確認し、各研究に関する情報交換を行った。さらに研究分担者を順次招聘し、個別の研究の進捗状況と総括班の戦略をハーモナイズし、材料採取のためのコーディネーターとしての機能を果たした。ミンダナオ島ダバオ、サマール島でのコウモリ採取、B ウイルスフリー研究のための動物園との交渉、イノシシ等の野生動物の材料収集などである。

緊急課題：キンカジュー回虫（杉山、宇根、平、吉川）

アライグマに近縁のキンカジューを宿主とする回虫がアライグマ回虫と同様のリスクを持つ可能性が指摘された（CDC, MMWR）。わが国にもペット用に輸入されていること、展示動物として飼育されていることが明らかになったので、緊急課題として、総括班で取り組んだ。

キンカジュー輸出国及び現地業者が不明な 21 頭について詳細に検討したところ、これらの動物は 3 回に分けて輸入されていた。2012 年 5 月の輸入分および 7・8 月の輸入分は同一の現地業者が取り扱ったもので、回虫卵は検出されなかった。12 月分は別の業者が取り扱った 10 頭で、この中の 4 頭から回虫卵が検出された。この結果から、キンカジューの捕獲場所および係留地などの違いによって感染状況が異なる可能性が指摘された。

キンカジューには人に中枢神経障害を起こすアライグマ回虫 *B. procyonis* に近縁の回虫 *Baylisascaris* sp. (以下、キンカジュー回虫) が寄生することが明らかになった。この線虫が重篤な幼虫移行症を人に起こす可能性があるとして警鐘を鳴らした (Taira et al. 2013)。

今年度は、キンカジュー回虫の幼虫の病原性評価を行う目的で、マウス (n=40)、ラット (n=18)、スナネズミ (n=16)、ウサギ (n=2) およびリスザル (n=2) に虫卵を 10~10,000 個投与し、神経症状の有無を調べた。また、マウス (n=6~7/群) にキンカジュー回虫、クマ回虫またはネコ回虫の虫卵 830-1,000 個を投与し、2 ヶ月後に剖検して、脳内の幼虫数を測定・比較した。

その結果、キンカジュー回虫卵 100 個投与後 27 日のマウス 1 匹に旋回運動が認められ、それ以外の動物に症状はみられなかった。また、キンカジュー回虫卵、クマ回虫卵またはネ

コ回虫卵を投与した約 2 ヶ月後のマウスの脳内幼虫数 (寄生率) は、それぞれ、1 隻 (1/7 マウス)、14~28 隻 (6/6) および 0 隻 (0/6) であった。以上の成績から、キンカジュー回虫幼虫の脳への移行性は、アライグマ回虫よりも病原性が比較的低いとされるクマ回虫の幼虫のそれに比べて、低いことが示唆された。しかし、感染動物の筋肉や内臓からキンカジュー回虫の幼虫が多数検出されたことから、今回虫の幼虫形成卵を人が誤って摂取すれば、幼虫移行症が惹き起こされるリスクは高いと考えられた。

B ウイルスの課題（濱野、門平、宇根、吉川）

実験動物として群繁殖及び群飼育されたカニクイザルやアカゲザル、あるいはニホンザルのデータとは大きく異なり、動物園で飼育されているニホンザルの B ウイルス感染状況では、ほとんどのサルが未感染である可能性が示唆された。サル山での自由生活では、自然の母子分離が比較的早いこと、母子の接触がそれほど緊密でないことなどが、影響している可能性がある。また、現在検討中であるが、ウイルスの再活性化が起きにくい可能性も考えられる。調査した 3 動物園のうち、2 動物園のニホンザルは、全て抗体陰性であった。

具体的には、陽性個体の見られた動物園では、ELISA による血清中の抗 B ウイルス IgG 抗体検査で、4 頭中、メス 3 頭で陽性の結果を得た。前回陽性のオス 1 頭は陰性であった。過去の血清に遡ると、オス 1 頭、メス 2 頭は状態を継続・維持していたが、メス 1 頭は、再活性化を疑う (2013 年 12 月後半) 抗体価の上昇が見られた。

遺伝子解析には、アルファヘルペスウイルス属の UL31 (Nuclear phosphoprotein) を選定した。Taqman PCR による絶対定量による定量 PCR 系を確立するために、それぞれのウイルスのスタンダードプラスミドを構築

した。マルチプレックス PCR にて、感度、特異性を確認したところ、良好な結果が得られた。一方で今回設計した PCR の系と同じ条件で gG 遺伝子の PCR を行うと感度が著しく低下することも確認され、検討中である。

陽性個体として、動物園から移譲され、隔離されているニホンザルの抗体検査の結果から、各個体でほぼ過去の状態を維持していることが判明した。メス個体 1 頭で、抗体価の上昇が確認され、BV 再活性化と繁殖時期や性周期との関連について、今後さらに検討の余地があると思われた。

翼手目由来の新しいウイルス分離(前田、宇根、吉川、新井、谷口他)

これまでにアフリカおよびユーラシアの翼手目にハンタウイルス感染が明らかになり、ハンタウイルスの自然宿主に翼手目も新たに加わることが明らかになってきた。本研究班でも、2012 年、ベトナムの翼手目に新しいハンタウイルスを検出し、翼手目がこれまで考えられてきた以上に多くの感染症の自然宿主になっている可能性が示唆された。そこで、2012年の調査に加え、更にベトナムおよびミャンマーで採取されたサンプルについてもハンタウイルスの保有調査を行った。具体的には、ハンタウイルス共通領域にデザインしたプライマーで RT-PCR 法によりハンタウイルス感染について検索したところ、ベトナムの 49 種 247 頭、ミャンマーの 5 種 21 頭は全てハンタウイルス陰性であった。これらの結果から、翼手目のハンタウイルス陽性率は、地域により異なる(生態系の違いによる可能性が考えられる)が、齧歯目やトガリネズミ形目の動物のウイルス陽性率(数%~40%程度)よりも極めて低く、ウイルス伝搬メカニズムが異なっている可能性が示唆さ

れた。

2013年8月フィリピンミンダナオ州で捕獲したコウモリの咽頭スワブからウイルス分離を試みた。その結果、サマール島 Sion Bat Cave において捕獲したヨアケオオコウモリ由来の咽頭スワブから、MDCK 細胞に巨細胞を形成するウイルスを分離した。原因ウイルスの同定を行った結果、本ウイルスはレオウイルス科オルソレオウイルス属のネルソンベイレオウイルスグループに属する新規レオウイルスであることが明らかにされた。

狂犬病の危機管理((井上、浦口、佐藤、三澤、費他)

本研究班で、平成13年『狂犬病対応ガイドライン 2013』を作成した。各々の都道府県等にあつてはガイドラインに基づいたマニュアルを策定することが期待されている。現場での対応が迅速・正確に行われるためには動物の狂犬病検査を可能にしておく必要がある。

本年は、宮崎県が宮崎大学と連携協力して行う動物の狂犬病検査研修に参画した。狂犬病を想定した動物の解剖・検査に関する基盤整備を行う自治体にとって、動物由来感染症を想定した BSL2 対応の研修施設を持つ大学との連携研修は重要である。宮崎大学の施設を利用した解剖・検査実習では近隣他府県からも担当者が参加し、手技等の標準化・共有化が可能となった。

台湾で野生動物であるイタチアナグマに狂犬病が発見された。台湾政府担当者と専門家から詳細な情報を入手し、状況分析を一緒に行った。イタチアナグマの狂犬病は種特異的に流行が拡大しており他の動物種には容易に感染が広がっていない。イタチアナグマによるヒトの咬傷被害はあるが、ヒトの咬傷被害はイヌ

による事例が最多であり野生動物の狂犬病が発生した場合でもイヌ対策をまず確実に行うことがヒトの健康危害防止に重要なことが示された。次年度以降も狂犬病発生後の対応について台湾の専門家と情報共有を継続しガイドラインの対応事項について検証する必要がある。

狂犬病ウイルスの統御(井上、加来、川原他)

細胞内発現抗体 (intrabody) は、単鎖抗体であり、細胞内で標的分子に特異的に結合できる。そのため、種々のウイルス蛋白質の機能解析や、ウイルス増殖を阻害する、治療法への応用に向けた研究が進められている。

本研究では、intrabody が細胞内シグナル分子と結合した「キメラ受容体」を用いて病原体検査法の開発を行うことを目指している。具体的には、「キメラ受容体」が標的分子である病原体由来蛋白質と結合することで、細胞の増殖に影響するシグナルが作動することを利用し、細胞の増殖を指標として病原体蛋白質の検出を行うものである。今年度は、狂犬病ウイルス (RABV) P蛋白質を標的とする intrabody を利用して、intrabody を細胞内で効率よく発現させるための条件について検討し、良好な結果を得た。

高病原性鳥インフルエンザ (前田、堀本、谷口他)

イノシシを中心とした野生動物およびイヌにおけるA型インフルエンザウイルスの疫学調査を実施した。その結果、中国、関東、九州地方のイノシシにそれぞれ 2.1% (192 頭中 4 頭)、7.4% (153 頭中 9 頭)、0% (40 頭中 0 頭) のA型インフルエンザウイルスの感染が認められた。

詳細な解析の結果、関東のイノシシは豚のインフルエンザウイルス H1N1に、中国地方のイノシシはヒトの H1N1pdm に近縁なインフルエンザウイルスに感染していたことが判明した。イノシシの鼻腔ぬぐい液からの抗原検出は 106 頭すべて陰性であった。

フィリピンのオオコウモリ 278 頭中 15 頭 (5.4%)、中国地方のユビナゴコウモリ 135 頭中 0 頭 (0%) に A 型インフルエンザウイルスの感染歴があった。抗体解析の結果から、フィリピンのオオコウモリは H1N1pdm や H5N1 ではないウイルスに感染している可能性が示された。インフルエンザウイルス抗原検出用キットを用いてフィリピンのオオコウモリからのインフルエンザウイルス抗原の検出を試みた結果、7 頭に疑わしい個体が存在した。しかし、インフルエンザの分離や遺伝子検出はすべて陰性であった。2011 年にベトナムの飼育犬の 92 頭から回収した血清中 8 頭 (8.7%) から A 型インフルエンザウイルスの感染歴が確認された。イノシシやアライグマ及びコウモリなど、野生動物の間でもインフルエンザウイルスの流行があることが確認された。

カプノサイトファーガ等 (今岡、鈴木他)

動物からヒトへの病原体の伝播は、イヌ・ネコのように、ヒトと動物の距離が近いほど容易になる。しかし、近年の傾向として免疫学的弱者と考えられる高齢者の世帯でイヌ・ネコ飼育率が高くなってきている。これらの事実は、今後の高齢化社会でイヌ・ネコ由来感染症が重要な問題となることを示すと考えられる。

そのため、イヌ・ネコの口腔内常在菌であり、致死感染を起こすことが知られているカプノサイトファーガ・カニモルサスによる感染症に注目し、その現状・リスクおよび、それらを導き

出すために必須である特異的検査法、病原性メカニズムの検討を行った。

カプノサイトファーガ・カニモルサス (*Capnocytophaga canimorsus*) は、ヒトがイヌやネコに咬傷・搔傷(以下、咬搔傷)を受けた際に傷口から感染する。継続して実施している患者の発生状況調査では、これまでに国内で計48例(うち死亡11例)を把握し、患者が男性、中高年齢者中心であること、基礎疾患が無くても発症することが少なくないこと、国内ではネコ咬傷・搔傷を感染原因とする割合が海外より高いことなどを明らかにした。

また、遺伝子配列比較による *C. canimorsus* の菌種同定の検討を行い、*gyrB* 遺伝子が有用であることを見いだした。さらに、イヌマクロファージ系細胞である DH82 細胞の培養上清が *C. canimorsus* の増殖を促進することを明らかにした。

E. 結論

動物由来感染症に関しては、病原体の検査を行い、陽性個体を発見し、病原体の遺伝子解析を行い、そのリスクの可能性を指摘する研究がほとんどであった。しかし、リスクの警告は必要であるが、それだけでは動物由来感染症の解決にはならない。

本研究班はこのような事態を反省し、感染症統御に有効な手法を開発しようと考えた。そのため、①階層性対比較分析法(AHP法)により動物由来感染症を序列化した。②その上で、上位20の重要な感染症のうち、早急に対応が必要と考えられる感染症を選抜した。③リッサウイルス感染症、ニホンザルBウイルス病、エキノコックス症、野生動物の高病原性鳥インフルエンザ(HPAI)、カプノサイトファーガ症の5つである。④さらに、緊急課題としてキンカジュウ

一回虫症を選んだ。

緊急課題では、動物園等のキンカジュウ一回虫汚染調査、駆虫薬の有効性調査を終え、実験動物を用いた当該回虫の神経迷入のリスク評価を終えた。26年度はガイドラインを作成し、関係機関に配布する。

Bウイルスフリーの動物園プロジェクトでは、4ヶ所の動物園のサル山ニホンザルのBウイルス汚染調査を済ませた。繁殖群に陽性個体がいるコロニーでは α メールを残し、陽性個体は排除した。群の推移、間引きした個体群のウイルスゲノムの体内分布、再活性化に関して研究をつづけた。日本動物園水族館と話し合い、さらに調査動物園数をふやし、Bウイルスフリー動物園計画を進める。

エキノコックスは北海道庁等と協力し、キタキツネの汚染フリー区域を作成するため、キツネの駆虫を進めると共に、エゾヤチネズミの汚染阻止対策の研究を進めた。

狂犬病発生時の対策として犬での国内発生時の指針を作成した(2013)。対応の実施研修のために、宮崎県と大学が連携し、陽性犬の捕獲、解剖、検査の実施をシミュレーションを行った。また、台湾ではイタチアナグマで多数の陽性例が発見された。台湾当局と連携し、野生動物の狂犬病統御法を調査し、新しい指針作成の検討を始めた。細胞内単鎖抗体法(intrabody)を用いてリッサウイルスの増殖を感染細胞内で阻止する方法の研究を進めた。

HPAIに関しては、フィリピン等で捕獲した蝙蝠の疫学調査、イノシシ、アライグマ、北海道の放牧豚、ベトナムのイヌ等を標的に汚染状況調査を進めた。また、フィリピンミンダナオ諸島のオオコウモリから、新しいレオウイルスを分離した。

カプノサイトファーガ症に関しては、感染・発

症例の疫学調査及び調査結果の分析を行い、中高年の男性がハイリスク群であること、猫の搔傷が原因として多いことを明らかにした。菌の遺伝的多様性調査と早期診断、補体の殺菌作用や培養液による菌の増殖促進作用等を明らかにした。

F. 健康危害が想定されるため、注意の必要な事例

キンカジュウ回虫に関しては、アライグマ回虫に近縁であることが遺伝子的に明らかにされた。実験感染では幼虫移行が顕著で、稀ではあるが脳への侵入も起こる。有効な駆虫薬が見つかったので、リスク回避措置を含めて、ガイドラインを作成する。

G. 論文発表等

Arai, S., Nguyen, S. T., Boldgiv, B., Fukui, D., Araki, K., Dang, C. N., Ohdachi, S. D., Nguyen, N. X., Pham, T. D., Boldbaatar, B., Satoh, H., Yoshikawa, Y., Morikawa, S., Tanaka-Taya, K., Yanagihara, R., and Oishi, K. Novel Bat-borne Hantavirus, Vietnam. *Emerging Infectious Diseases*. 19(7): 1159-1161. 2013.

Arai, S., Tabara, K., Yamamoto, N., Fujita, H., Itagaki, A., Kon, M., Satoh, H., Araki, K., Tanaka-Taya, K., Takada, N., Yoshikawa, Y., Ishihara, C., Okabe, N., Oishi, K. Molecular

phylogenetic analysis of *Orientia tsutsugamushi* based on the *groES* and *groEL* genes. *Vector-borne and zoonotic diseases*. 13(11): 825-829. 2013

吉川泰弘、2012年のBSE対策の見直しと課題、*畜産技術*、2013、2月号、30-32

吉川泰弘、食の安全と安心、学術の動向、2013、4月号、68-73

吉川泰弘 Bウイルス感染症、in 感染症症候群、2013年、pp347-350、日本臨床社

吉川泰弘 衛生行政に係る獣医師の卒前、卒後教育の現状と課題 77. 706-710、2013 医学書院

池本卯典、吉川泰弘、伊藤伸彦 「獣医学概論」、2013年、緑書房

池本卯典、吉川泰弘、伊藤伸彦 「獣医倫理・動物福祉学」、2013年、緑書房

池本卯典、吉川泰弘、伊藤伸彦 「獣医事法規」、2013年、緑書房

吉川泰弘 牛海綿状脳症 (BSE) in 牛病学 2013年 近代出版

吉川泰弘 動物由来感染症 日本野生動物医学会誌 18(3): 75-82 2013

Sato S., Kabeya H., Fujinaga Y., Inoue K., Une Y., Yoshikawa Y., Maruyama S. *Bartonella jaculi* sp. nov., *Bartonella callosciuri* sp. nov., *Bartonella pachyuromydis* sp. nov., and *Bartonella acomydis* sp. nov. isolated from wild Rodentia. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2013: 63; 1734-1740.

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

25年度研究概要

I. 研究の意義

- (1) 約100種の動物由来感染症から重要な5感染症と1緊急課題を選びリスク管理手法を検討した
- (2) いくつかの感染症はリスクシナリオに必要な疫学調査を進めた
- (3) 指針作成・広報、当該感染症フリー地域・コロニー作成等、感染症ごとの対応戦略を決めた
- (4) リスクの警告・情報提供だけでなく、リスク管理方法について、その有効性を検証する

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 本研究では人獣共通感染症の重要度序列トップ20のうち、早急に対応の必要な感染症（Bウイルス病、リッサウイルス病、エキノコックス症、HPAI、カズ/サイトファーガ症）と緊急課題キンカジャー回虫症のリスク管理方法に関する研究を進めた。
- (2) これまでのようにリスクを知らせ、啓蒙するだけでなく、疫学調査に基づくリスクシナリオを作成し、重要管理点を絞り込み、リスク回避措置の方法を開発することを目指した。
- (3) 研究成果は指針等として公表。民間や行政と協力して行う病原体フリー区域やフリー動物園の作出は全く新しい試みである。市民の理解を得られ、公衆衛生行政にとって高い貢献度をもつ。

研究成果概要

III. 研究成果

・研究代表者

評価者から人への感染に関して共同研究の必要性が指摘された。カズ/サイトファーガ症、エキノコックス症については、臨床家と共同研究を進めた。他の感染症は、国内での発症例がなく、ヒトに来る前のリスク回避方法の検討に重点を置いた。

研究統括班は月1回検討会を開催し、各研究グループの進捗状況の把握、研究戦略について検討した。

各グループを個別に招集し、研究のヒアリング、研究方針の明確化、他機関とのコーディネーションに勤めた。研究者全員による研究班会議を年2回開催。

フィリピンでの蝙蝠捕獲を企画・実施し、材料をリッサウイルス、インフルエンザグループ等に配布した。

協力研究者とキンカジャー、Bウイルス統御について戦略を立てた。

・研究分担者

- (1) 輸入キンカジャー回虫の汚染状況把握、駆虫の有効性評価、実験感染によるリスク評価を終えた。安全指針のドラフト案を作成した。26年度指針として公表する予定（吉川、宇根）。
- (2) 北海道、関東の動物園サル山の調査を進めた。陽性個体を間引き、ウイルス再活性化の頻度・ウイルスゲノムの体内分布の解析を進め、Bウイルスフリー動物園にするための検討を進めた。他の動物園にも広げていく（瀧野、門平、吉川）。
- (3) 国内犬狂犬病発生時対応のガイドライン2013を作成し関係機関に配布。52年ぶりに野生動物で狂犬病が発生した台湾の研究者と協力し、これまで準備されなかった野生動物での狂犬病統御の指針作成のための検討を開始した（井上）。
- (4) 蝙蝠、アライグマ、猪のインフルエンザウイルス抗体、抗原調査を進め、陽性例を確認。ウイルス分離を試みるとともに、北海道の放牧豚についてHPAIの疫学調査を進める（前田、門平）。
- (5) 北海道庁と共同でエキノコックスフリーモデル区域の作出を試みる。終宿主であるキタキツネの bait による駆虫とエソヤチネスミの原頭節形成阻止方法の有効性を評価する（八木）。
- (6) 患者血清を用いた遺伝子検査に成功した。新しいプライマーを設計し、また遺伝子解析を進め、カズノサイトファーガ属菌の遺伝的多型を認めた。より高精度・高感度の迅速診断法の開発、新規治療法の開発を目指す（今岡）。

26年度の課題

IV. 平成26年度の課題

- (1) キンカジャー回虫の研究成果をまとめ、安全指針の作成を進める
- (2) 動物園数を増やす。Bウイルス陽性個体におけるウイルス再活性化、体内分布、遺伝子解析により、伝播様式を検討し、ケースに応じたフリーコロニー作出の手順を検討する。
- (3) 蝙蝠のリッサウイルス疫学調査の継続、細胞内抗体による狂犬病ウイルス感染細胞でのウイルス増殖抑制法の検討。野生動物の狂犬病統御の新規ガイドライン作成の検討を開始する。
- (4) 蝙蝠、猪、アライグマ、放牧豚でのHPAI感染の可能性を調査する。対象動物のウイルス受容体確認と体内分布を検索する。
- (5) モデル地区でのフィールド調査の継続。エゾヤチネスミでの原頭節形成阻止条件の検討を進め、フィールドでの有効性評価を行うための戦略を決める。
- (6) カズノサイトファーガ属菌のより高感度・高精度の迅速診断法の確立、補体の有効性評価、新規治療法の検討を進める。

行政への貢献

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 国内犬狂犬病発生時の危機管理対応マニュアル（指針2013）を配付した。時間がかかるが台湾の事例を共同研究し、野生動物での狂犬病発生時の指針を作成する予定。
- (2) キンカジャー回虫の研究成果をまとめ、ガイドラインを作成、公表する
- (3) Bウイルスフリー動物園サル山、エキノコックスフリー地域等、特定病原体フリーのコロニーやゾーンの作成手順が確立されれば、動物由来感染症の危機管理上、その安全性を高められる。
- (4) 2013年11月1日の厚労省主催技術研修会で、本研究班の吉川（蝙蝠由来感染症）、井上（台湾の野生動物狂犬病事例）、今岡（カズノサイトファーガ等、伴侶動物由来細菌感染症）の講演を行い、研究成果の普及に努めた。

キンカジュール虫症

汚染調査、駆虫薬有効性、病原性(感染実験)評価

→ 指針作成、関係機関への配布(2014)



狂犬病対応ガイドライン
2013

日本国内において狂犬病を発生した
犬が認められた場合の危機管理対応

狂犬病、リッサウイルス統御

2013狂犬病対応ガイドライン作成(国内犬での発生時危機管理)

台湾で野生動物の狂犬病;新規国内指針の作成検討



Bウイルスフリー動物園 → 日動水協と協議

動物園サル山の疫学調査(経年調査)、陽性個体の間引き
陽性個体のウイルス分布、再活性化調査

高病原性鳥インフルエンザ: 野生動物

フィリピン蝙蝠、イノシシ、アライグマで抗体陽性

イノシシはH1N1 pan, アライグマはH5N1抗体



エキノコックス: フリー区域

区域を限定してエキノコックスフリーを目指す

キタキツネ、エゾヤチネズミでのエキノコックス駆除計画実施



カブノサイトファーガ感染症

疫学調査、細菌の遺伝的多様性解析、予防・治療法検討



H25年度 中間評価報告

動物由来感染症に対するリスク管理手法に関する研究

研究の戦略、目的、期待される成果

戦略: これまでのようにリスクを知らせ、警告するだけでなく、エビデンスに基づくリスク評価、重要管理点の絞り込み、リスク回避措置の方法を開発したい

目的: 動物由来感染症重要度の序列トップ20のうち、早急に対応の必要な5つの感染症(Bウイルス病、リッサウイルス病、エキノコックス症、HPAI カブノサイトファーガ症)と厚労省依頼緊急課題キンカジュール虫症のリスク管理手法に関する研究を進める。

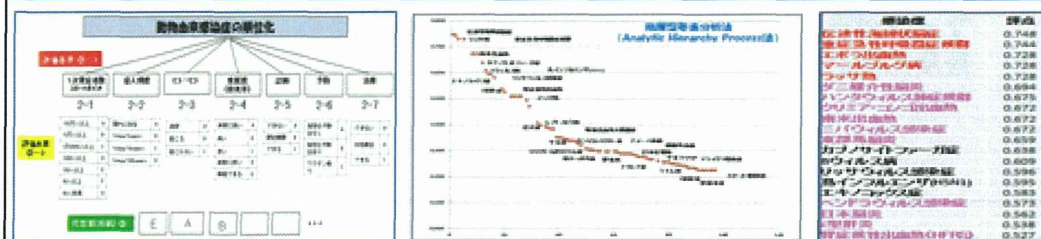
成果: ①指針等として公表(狂犬病、キンカジュール虫症)

②民間や行政と協力して行う病原体フリーゾーンの作成と拡張

(Bウイルスフリーサル山、エキノコックス)

③医師との共同作業による教育、啓蒙(カブノサイトファーガ)

④新規のリスクシナリオ、評価(HPAIとイノシシ、アライグマ、放牧豚、コウモリ)



キンガジュウ回虫症

経緯: キンガジュウ回虫(アライグマ回虫症)のリスク MMWR: 60, 302, 2011
 パリス・ヒルトンにより米国でエキゾチック動物のブーム
 回虫はアライグマ回虫に類似でリスクがあると考えられた



エビデンス

①輸入実態調査(9ヶ所の公立動物園、個人用ペット50頭以上)
回虫保有個体多い(陽性個体購入、回虫卵の回収)

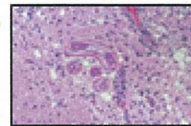
②キンガジュウ回虫の病原性検索

感染動物(マウス、ラット、ウサギ、スナネズミ、リスザル)
 卵投与: キンガジュウ(比較対照: クマ回虫、ネコ回虫)
 10、100、1000、4000、10000個

神経症状: キンガジュウ回虫 100個で1/8マウス
 クマ回虫 1000個で1/8マウス

内臓移行症:

宿主動物	回虫	感染	神経	腸	肝	脾	腎	肺	心臓	死亡率 (%)
マウス	1000	7	22.3	22.1	0.1	0.4	207.8	20.0	20.0	20.0
			(104.82)	(9.29)	(0.25)	(0.72)	(94.85)			
クマ	1000	8	29.0	131.8	21.0	0.2	422.0	42.2	42.2	42.2
			(107.00)	(187.75)	(5.40)	(0.37)	(208.20)			
ネコ	1000	8	118.0	8.0	0.0	0.0	122.0	12.2	12.2	12.2
			(25.75)	(2.74)	-	-	(27.85)			



③駆虫薬: キンガジュウ9頭

ミルベマイシンオキシムの投与(1回以上)で駆虫可能

指針作成: 関係機関(都道府県、動物園、輸入業者、ペット業者等)へ配布(2014)

狂犬病

1. 狂犬病がイライン2013の普及: 自治体と大学の連携モデル
2. 清浄国・台湾で再興した野生動物狂犬病のリスク管理に係る調査

狂犬病対応ガイドライン 2013

日本国内において狂犬病を発症した犬が認められた場合の危機管理対応

(狂犬病対応ガイドライン2013 追補版)

発症犬が確認された場合の危機管理対応(概要)

A 対策を講じるための調査

調査

B 調査結果に基づく対応

対応

C 調査・対応の継続

清浄化



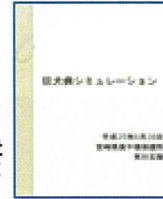
自治体と大学の連携による狂犬病研究の支援

宮崎県と宮崎大学茶臼山動物防疫リサーチセンターの連携

大学のカリキュラムに狂犬病発生を想定したシミュレーションと疑い犬の解剖・検査を組み込み、自治体担当者も半日で実地研修。

自治体で理解であった疫学研究(施設・機材)可能

波及効果: 行政担当者も学生が研修を行うことで公衆衛生行政の理解とその意義について次世代が科学的に理解(啓発)



台湾で発生した野生動物狂犬病のリスク管理に関する情報共有・分析(台湾CDC主催国際会議)

台湾の事例から学ぶべきこと(1)

- 台湾: 狂犬病を一掃して同年度に再興!
- 日本: 台湾と同程度に様々な狂犬病の事情である。

アジアの隣国で流行している狂犬病の宿主動物 イヌ、タヌキ、イタチアナグマ、(、、、?)

●日本にイタチアナグマは生息していないが、食肉店、露天、フライドチキン、タヌキ、ネコ、アンゴラ犬等

流行の狂犬病対策 ⇒ 台湾事例は想定内?

台湾の事例から学ぶべきこと(2)

- 台湾が狂犬病の流行を撲滅できたのは、適切な狂犬病のモニタリング ⇒ 動物の解剖と検査が可能
- 対策: イヌ・ネコ・食肉店の野生動物管理されていない犬等ペット密輸 疑い症状や不審死の野生動物等

Bウイルス病

目的: 日本の動物園のサル山をBウイルスフリーにする
 戦術: 全頭検査、コロニーを維持しながら陽性個体を排除
 Bウイルス陰性個体の導入により、コロニーの維持



動物園A:
 1963年 開園
 1977年 1979年 ニホンザルの人工保育開始
 1981年 ○○よりニホンザル18頭受贈、サル山新設
 1981年 自家繁殖
 1999年 △△動物園から♂5頭、♀5頭導入
 以後は新規の導入なく、自家繁殖。

- ・全頭陰性
- ・経過観察、再検査
- ・陰性であれば、ファウンダーとして他の動物園へ

動物園B:
 ・老齢、成熟個体群の一部に限局的な流行があった
 過去の水平感染を示唆(導入時か? 導入以前の群れか?)
 αメイルが陽性なので交配時に水平感染したか?
 ・成熟個体間での感染はほとんどない?
 2007年群の一部が陽性、2008年、2009年群でほぼ陰性
 ・子ザル、2009年若ザル群は全て陰性

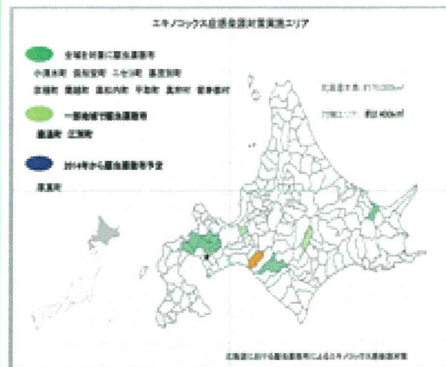
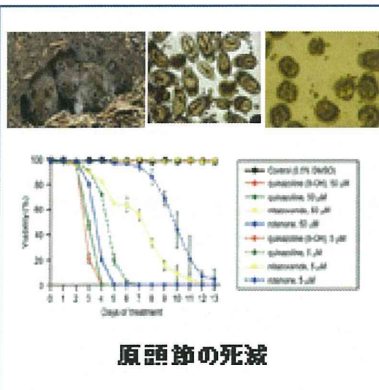
- ・αメイルを残し陽性個体間引き
- ・経過観察
- ・次世代αメイルが出来れば交代

陽性個体は分与、再活性化・ウイルス体内分布検査、伝播様式



エキノコックス

目的: エキノコックス陽性キタキツネ、イヌからの人感染の阻止
 戦略: エキノコックス・フリーゾーンの設定と拡大
 戦術: ①汚染キタキツネ(終宿主)からベイトによる駆虫
 ②エゾヤチネズミ(中間宿主)からの原頭節の死滅
 ③イヌへのワクチン投与

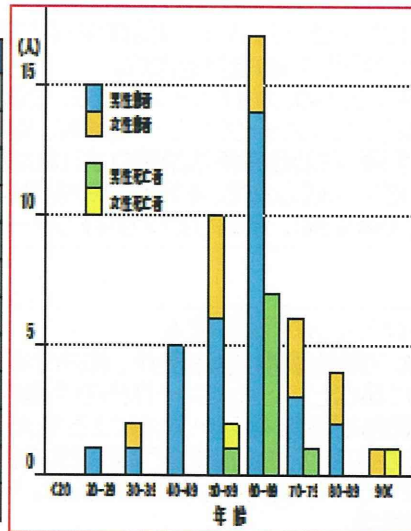


ブラジカンテル入りベイト散布による環境の浄化が10市町村に拡大

カプノサイトファーガ

疫学調査

発生前年	人数(死亡)
1993	1
2002	1(1)
2004	3(1)
2006	2(1)
2007	3(1)
2008	7(2)
2009	2
2010	6(1)
2011	9(2)
2012	6(1)
2013	8(1)
合計	46(11)



感染経路	人数(死亡)
犬咬傷	27(5)
猫咬傷	5
猫掻傷	8(4)
不明	6(2)

- ・犬咬傷、猫掻傷が原因
- ・日本では、猫からの感染が世界の傾向よりも多い

主症状	人数(死亡)
敗血症・DIC	36(10)
髄膜炎・意識障害	3(1)
頭痛・発熱	3
創部腫瘍・膿瘍	3
電撃性死	1

- ・患者数増加
- ・医療機関の認知度アップ

- ・中年男性(50~60歳)が多い
- ・死亡例は60代男性

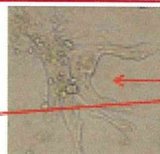
・大部分は敗血症・DIC

インフルエンザウイルス抗体

	コウモリ						イノシシ			イヌ
	フィリピン			和歌山			栃木	大分	山口	ベトナム
	2008-2012	2013	計	2012	2013	計	2011-2012	2012	2010-2013	2012
検査数	216	62	278	39	96	135	153	40	192	92
陽性頭数	5	10	15	0	0	0	9	0	4	8
陽性率	2%	16%	5%	0%	0%	0%	6%	0%	2%	9%
血清型	既定不能(H3N1, H1N1でない)	現在調査中					4頭(豚H1N1)		2頭(H1N1 pdm) 2頭現在調査中	現在調査中

(IDEXX, Influenza A virus antibody test kit)

フィリピンのルーセットオオコウモリ#24口腔スワブサンプルにおいて、MDCK細胞でCPE (巨細胞から剥離、細胞死)を検出 — 解析中



CPE
巨細胞



Mock
対照

行政への貢献と26年度の方針

- ① 国内犬狂犬病発生時の指針2019を配付。大学・自治体演習支援、台湾の事例を共同研究し、野生動物での狂犬病発生時の指針を作成。
- ② キンカジャー回虫の研究成果をまとめ、ガイドラインを作成、公表
- ③ Bウイルスフリー動物園サル山、エキノコックスフリー地域等、特定病原体フリーのコロニーやゾーンの作成手順、有効性評価法が確立されれば感染症統御に有用
- ④ 2019年11月1日の厚労省主催技術研修会で、本研究班の吉川(蝙蝠由来感染症)、井上(台湾の野生動物狂犬病事例)、今岡(カブノサイトファーガ等)の講演

26年度の目標

- ① キンカジャー回虫の安全ガイドラインの作成、配布
- ② 動物園例数を増やす。ウイルス陽性個体に再活性化、体内分布、遺伝子解析による伝播様式の解明、ケースに応じたフリーコロニー作出の手順を検討
- ③ 蝙蝠のリッサウイルス疫学調査の継続、細胞内抗体による狂犬病ウイルス感染細胞でのウイルス増殖抑制法の検討、野生動物の狂犬病統御の新規指針作成の検討
- ④ 蝙蝠、猪、アライグマ、放牧豚でのHPAI感染の可能性を調査。対象動物のウイルス受容体確認と体内分布を検索
- ⑤ フィールド調査の継続。エゾヤチネズミでの原頭節形成阻止条件の検討を進め、フィールドでの有効性評価を行うための準備決定
- ⑥ カブノサイトファーガ属菌のより高感度・高精度の迅速診断法の確立、補体の有効性評価、新規治療法の検討を進める。

Ⅱ. 分担研究報告