

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

帯広畜産大学 門平 睦代

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）

（分担）研究報告書

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

研究分担者 門平睦代 帯広畜産大学 教授

研究協力者 山口英美および松田奈央

研究要旨：デンマークとドイツにある野生動物の疾病を取り扱う研究所を訪問し、野生動物に由来する疾病研究および行政の対応などについて聞き取り調査を実施した。これらの国では政府主導による野生動物疾病サーベイランスが行われていた。また、放牧豚とアライグマから採取したサンプルの分析と疫学調査を開始した。さらに、アライグマ捕獲練習および餌トラップの有効性の検証を市町村の協力を得て十勝管内でおこなった。

A. 研究目的

①海外における野生動物サーベイランスに関する情報収集、②放牧豚およびアライグマにおける鳥インフルエンザ有病率の推定とリスク要因の探索、③アライグマ捕獲のための餌ワナの有効性の検証が主な目的である。

B. 研究方法

①5月の連休を利用し、デンマークとドイツを訪問した。②放牧豚の血清サンプルは、平成12年10月より13年9月まで食肉検査センターにて毎月採取（198検体）した。アライグマの生態に関する分析では、GIS（地理情報システム）を使い景観構造を考慮した統計分析方法も応用した。③アライグマ捕獲のための餌ワナの有効性のフィールドでの検証は平成13年9月から10月にかけて十勝の2町村で実施した。

C. 研究成果

①ドイツ：レイプニッツ動物園動物と野生動物研究所（IZW）には通常の野生動物研究者に加えて社会学者から数学

者、法律のわかる専門家もいる。問題分析から解決策の提案、そして、その実践、普及までが行える、世界でもユニークな研究集団である。ロンドン動物園が少し似ているかもしれないが、この規模ではないという。獣医師は三分の一で、残りには理学系の専門家である。生態、繁殖、病気の3つの専門集団が長期的にエコシステムの変化を研究している。ドイツは16の地方政府に分かれていて独自の法律や戦略を持っている。日本の家畜保健所にあたる Veterinary Investigation Centerは通常、地方政府ごとに2つあるが、ひとつしかない県が2つある。よって、国全体としてなにか一緒に活動するサーベイランスのような作業を統合することは難しい。インフルエンザなど重要な疾病を扱う（筑波の動物衛生研究所のような）国の機関があり、これが翌日訪問したFLIであった。

デンマーク：サーベイランスの目的は、1) EUメンバー国としての義務、2) 病気がないことを証明する、3) 早期発見、4) 疫学研究のためである。毎年ランク付けをして予算を決める。特別なリスク

評価方法は決まっていないが関係者から意見を聞く。昨年は、ベクター感染症に1700万円ほど予算をあてた。Danish animal health act of 2004によりサーベイランスが行われる。84の届け出疾病中、52はもうデンマークには存在しない。

②豚インフルエンザウイルスを発育鶏卵に摂取し感染した漿尿膜をホモジナイズすることで、ゲル内沈降反応で用いる抗原を作製した。放牧豚のトキソプラズマ陽性率は42.5%であった。アライグマのオス37頭、メス36頭の栄養状態(Body Mass Index : BMI)とメス24頭の産子数(子宮胎盤痕の数)について、捕獲場所周辺の景観構造との関連性を検討したところ、河畔林がメスのBMIに正の影響を与えていることが示唆された。また、平成18年以降の捕獲情報の空間パターンを時系列で追ったところ、生息地が拡大傾向にある様子が観察された。今年度の捕獲実験の結果は資料のとおりである。

③アライグマによる反応は見られなかったが、キツネやタヌキといったアライグマ以外の動物によって餌トラップに反応が出ることもなかった。この結果から、アライグマ以外の動物による誤反応は極めて少ないことが分かった。

D. 考察

①サーベイランスに関する海外での情報収集はほぼ終了したと考える。これまでの訪問で培ったネットワークを利用し海外の研究機関との共同研究の可能性を模索している。

②今回開発を試みたゲル内沈降反応は非常に簡便かつ安価な方法であるため、この方法の開発が成功する事で豚におけるインフルエンザウイルスのモニタリングは容易なものとなる。また、現行の方法であるELISAと比較する事でその精度の検討も行う予定である。十勝の豚のト

キソプラズマ抗体陽性率は0-9.0%であり、本調査の陽性率はかなり高い数値となった。また、本州では野生イノシシにおいて調査が行われており、陽性率は0-1.1%であった。放牧豚は野外で放牧されていることから感染した野生動物と接触する機会が豚舎飼の豚と比較し多くなる。また、給餌が行われるため豚同士の接触は野生化のイノシシと比較すると多くなる。そのため、今回調査を行った放牧豚では感染野生動物や感染豚と接触する機会が多くなり、トキソプラズマの抗体陽性率が高くなったと考える。一方、十勝のアライグマは予測していたように家畜病原体を伝播しうる存在であることを裏付ける結果が得られた。統計モデルから効率的な駆除には河畔林の多い環境で重点的に捕獲することが有効であると推測された。

③トラップには、安価で容易に作成できる、大量に用意でき気軽に試すことが可能という利点がある。よって、箱ワナを設置する前段階でこの餌トラップを使用することでアライグマの生息域を特定でき、混獲の防止、効率的な捕獲につなげると考える。

イノシシのいない北海道で野鳥を媒介しインフルエンザウイルスが放牧豚にも感染するのか、また、家畜疾病の伝播にアライグマがどのように関わっているのかなど、野生動物の生態と家畜感染症に関するデータを着実に入手していくことが期待されている。

E. 研究発表

1. 論文発表：なし
2. 口頭発表：なし

F. 知的財産権の出願・登録状況：とくになし

(資料) アライグマの生態調査と捕獲実験

基礎調査

捕獲を予定する芽室町・清水町・新得町を事前に踏査、痕跡の調査を行うとともにワナ・自動撮影カメラの設置場所を選定した。加えて芽室町では、ワナ設置場所付近の住民には聞き取り調査を行った。

自動撮影調査

ワナ設置箇所の内 5 地点に自動撮影カメラを用いた生息動物の調査を行った。

捕獲

箱ワナにより対象動物の捕獲を実施した。捕獲に際し、道に学術捕獲の許可を得た事に加え、土地所有者や帯広建設管理部にワナ設置の許可を得た。

捕獲記録

アライグマ 7 頭、ドブネズミ 20 頭を捕殺した。

ワナ別の捕獲動物とワナ設置期間について

ワナNo.	市町村	捕獲動物種	ワナかけ日数	設置期間
1	清水	アライグマ、ネコ	64	2013.07.-10.23
2	清水	ドブネズミ、ネコ	60	2013.07.-10.06
3	清水	ドブネズミ、ネコ、キツネ	51	2013.07.-10.09
4	清水	ドブネズミ、ネコ	49	2013.07.-10.06
5	清水	ドブネズミ、ネコ、キツネ	82	2013.07.-10.31
6	清水	アライグマ、キツネ、ドブネズミ	82	2013.07.-10.31
7	清水	捕獲なし	61	2013.07.-10.10
8	清水	ネコ	51	2013.07.-10.08
9	清水	エゾリス、ネコ	63	2013.07.-10.23
10	清水	ネコ	48	2013.07.-10.07
11	芽室	捕獲なし	61	2013.07.-10.10
12	芽室	アライグマ、ネコ	74	2013.07.-10.31
13	芽室	アライグマ、ネコ	82	2013.07.-10.31
14	芽室	ネコ	36	2013.07.-10.07
15	芽室	ドブネズミ、ネコ	45	2013.07.-10.09
16	芽室	捕獲なし	40	2013.07.-10.10
17	芽室	ネコ	47	2013.07.-10.09
18	芽室	ネコ	60	2013.07.-10.24
19	帯広	ネコ	62	2013.07.-10.09
20	芽室	ネコ	42	2013.07.-10.06

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

『実験動物を用いたキンカジャー回虫の幼虫の病原性評価リスク評価』

『キンカジャー回虫の駆除実験』

『新世界ザルにおける致死的トキソプラズマ症の流行』

麻布大学 宇根 有美

平成 25 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

エキゾチックアニマル・ワイルドアニマルの感染症のリスクとその対策

— 実験動物を用いたキンカジュール回虫の幼虫の病原性評価 —

研究協力者：宇根有美 麻布大学獣医学部獣医学科病理学研究室
共同研究者：平 健介 麻布大学獣医学部獣医学科寄生虫学研究室
常盤俊大 麻布大学獣医学部獣医学科病理学研究室
杉山 広 国立感染症研究所寄生動物部

研究要旨:キンカジュール *Potos flavus* はアライグマ科に属する動物で、近年、日本においてもペットとしての人気が増加している。他方、キンカジュール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、キンカジュール回虫) が寄生することを著者らは明らかにし、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)。今回、キンカジュール回虫の幼虫の病原性評価を目的として、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) にキンカジュール回虫、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。結果、キンカジュール回虫卵 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、キンカジュール回虫卵、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、キンカジュール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。しかしながら、感染動物の体幹筋や内臓からキンカジュール回虫の幼虫が多数検出されたことから、当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。

A. 研究目的

Baylisascaris 属の回虫は、アライグマ、スカンク、アナグマ、テンあるいはクマ等の腸管に普通に寄生する線虫で、幼虫が人に寄生すると重篤な幼虫移行症を惹き起こし得ることから公衆衛生上、重要視されて

いる。特に、アライグマに寄生するアライグマ回虫 *B. procyonis* は、人に致死的な中枢神経障害を起こすことが知られており、危険視されている。

キンカジュール *Potos flavus* はアライグマ科に属する動物で、愛玩動物として適した

風貌から、一部の先進国ではペットとして飼育されるようになってきた。本邦でも近年人気上昇し、輸入個体数が増加している。一方、キンカジューにはアライグマ回虫に近縁の回虫 *Baylisascaris* sp. (以下キンカジュー回虫) が寄生することを著者らは明らかにし、この幼虫がアライグマ回虫による幼虫移行症と同等の重篤な症状を人に惹き起こす可能性があるとして警鐘を鳴らした (Taira et al. 2013)。

本研究では、キンカジュー回虫の移行幼虫の病原性評価を目的として、各種実験動物にキンカジュー回虫の虫卵を投与して幼虫を感染させ、神経症状の発現および幼虫の組織移行性について調べた。比較対象としてクマ回虫 *B. transfuga* およびネコ回虫 *Toxocara cati* の虫卵投与による感染実験も行った。

B. 材料と方法

i) 実験感染動物における神経症状の発現

a) 回虫卵

①キンカジュー回虫卵: 回虫自然感染キンカジューの糞便から回収・精製し、25°Cで1ヵ月培養した幼虫形成卵を用いた。培養後の虫卵は10°Cで1ヵ月保存した。

②クマ回虫卵: 自然感染ツキノワグマの糞便から回収・精製し、25°Cで1ヵ月培養した幼虫形成卵を用いた。培養後の虫卵は10°Cで2ヵ月保存した。

③ネコ回虫卵: 実験感染ネコの糞便から回収・精製し、25°Cで1ヵ月培養した幼虫形成卵を用いた。培養後の虫卵は10°Cで6ヵ月保存した。

いずれの回虫卵も、0.5%ホルマリン液内で培養した。

b) 供試動物

①マウス: 5週齢、雄、ICRマウス (SLC) 40匹 (n=8/群) を用いた。キンカジュー回虫卵 10個 (10.3±0.79 (95%CI))、100個 (99.1±2.65)、1,000個 (1049.2±52.76) またはクマ回虫卵 1,000個 (1001.5±22.48)、ネコ回虫卵 830個 (830±31.89) のそれぞれを各群に投与した。

②ラット: 5週齢、雄、SDラット (SLC) 18匹 (n=6/群) を用いた。キンカジュー回虫卵 10個 (10.3±0.79 (95%CI))、100個 (99.1±2.65) および 1,000個 (1049.2±52.76) のそれぞれを各群に投与した。

③スナネズミ: 5~6週齢の雌雄スナネズミ 16匹 (n=2~3/6群) を用いた。キンカジュー回虫卵 100個 (96.0±12.9 (95%CI))、1,000個 (99.2±77.5) および 4,000個 (4095.0±136.2) またはクマ回虫 100個 (96.0±16.2)、1,000個 (99.2±52.5) および 4,000個 (4095.0±82.6) のそれぞれを各群に投与した。

④ウサギ: 6週齢、雄、NZWウサギ (SLC) 6匹 (n=2/群) を用いた。キンカジュー回虫卵 10個 (10.3±0.79 (95%CI))、100個 (99.1±2.65) または 1,000個 (1049.2±52.76) のそれぞれを各群に投与した。

⑤リスザル: 成獣、雄のリスザル 2頭 (n=1/2群) を用いた。キンカジュー回虫卵 1,000個、10,000個のそれぞれを投与した。

c) 臨床症状の観察

臨床症状、特に、旋回運動、斜頸、横転、閉眼、振顫等の神経症状を、虫卵投与後、毎日観察して記録した。神経症状を持続的に24時間以上呈した時点をエンドポイントとした。

d) 倫理面での配慮について

全ての動物実験は、麻布大学動物実験委員会の承認（番号：130207-3、130613-1）を得て実施された。

ii) 諸臓器および筋肉からの幼虫回収

a) 虫卵投与後 2 ヶ月のマウスからの幼虫回収

①筋および内臓からの幼虫回収

キンカジュー回虫卵、クマ回虫卵またはネコ回虫卵の 830-1,000 個を投与したマウス (n=6-7/群) の体幹筋（皮膚、尾、鼻口部、手脚の先端および内臓以外）を塩酸・ペプシン消化法 (Taira et al, 2012) により個体毎に別々に人工消化し、消化後の沈渣を鏡検して幼虫数を測定・記録した。同マウスの内臓（胃腸を除く）について、同様に消化して幼虫数を測定した。

②脳および眼からの幼虫回収

キンカジュー回虫卵、クマ回虫卵またはネコ回虫卵の 830~1,000 個を投与したマウスの脳および眼については、スライドグラスを用いて圧平し、個体毎に別々に光学顕微鏡下で幼虫を検索して、幼虫数を記録した。

b) 虫卵投与 1 ヶ月後のリスザルからの幼虫の検出

①肝臓、横隔膜、脾臓、前肢筋、後肢筋、の一部および肺右葉、右腎を塩酸・ペプシン法で消化して幼虫を回収した。

②大脳右半球、小脳右側および右眼、および、圧平し、幼虫を回収した。

③腸管は、ホルマリン固定の一部を細切し、スライドグラスで圧平後、キシレンで透徹し、光学顕微鏡下で幼虫を回収した。

c) 病理組織学的検査

キンカジュー回虫およびクマ回虫感染実験に使用したマウス (n=12)、ラット (n=3)、

ウサギ (n=6) は、虫卵投与 2 ヶ月後に、スナネズミ (n=9)、リスザル (n=2) は投与 1 ヶ月後に安楽殺し、病理解剖を行い、諸臓器についてホルマリン固定・パラフィン包埋標本を作製し、HE 染色により鏡検した。神経症状を呈し死亡ないしは安楽殺した動物は、その都度、病理組織学的検査に供した。

C. 研究結果

i) 実験感染動物における神経症状の発症 (表 1)

キンカジュー回虫卵 100 個投与したマウス 1 匹において、投与後 27 日に横転（ローリング）が認められた。その他のキンカジュー回虫卵感染動物においては、症状は認められなかった。クマ回虫卵を 1,000 個投与したマウス 1 匹において、投与後 26 日に死亡した。クマ回虫卵を 1,000 個感染させたスナネズミでは、投与後 20~26 日で全個体に斜頸、横転が認められ、4,000 個感染させたスナネズミでは、投与後 14~15 日目と同様の神経症状が見られた。

ii) 実験動物からの幼虫回収

a) 虫卵投与 2 ヶ月後のマウスからの幼虫回収 (表 2)

キンカジュー回虫卵、クマ回虫卵およびネコ回虫卵を投与したマウスにおける回収幼虫数の合計は、それぞれ 387.6 隻、422.0 隻および 122.0 隻で、幼虫回収率はそれぞれ 38.8%、42.2%および 12.2%であった。脳から検出された幼虫は、キンカジュー回虫卵 1,000 個投与したマウスにおいては 1/7 匹から幼虫 1 隻が検出された。一方、クマ回虫卵投与マウスにおいては、マウス全匹 (6/6 匹) から平均 21 隻/匹の幼虫が脳から検出された。ネコ回虫卵投与マウスの脳からは幼虫は

検出されなかった。

b) ラット、ウサギからの幼虫回収

キンカジュ一回虫卵 1,000 個を投与したラットの体幹筋および内臓の一部から、また、同回虫卵 1000 個を投与したウサギの後肢筋、腰筋、内臓、脳から数〜十数隻の幼虫が検出された。

c) リスザルからの幼虫回収

キンカジュ一回虫卵 1,000 個および 10,000 個投与したリスザルでは、腸管、肝臓、肺、横隔膜、腎臓から幼虫が検出された。

d) 病理組織学的検索

①マウス

キンカジュ一回虫卵を 100 個投与し、神経を呈したマウスの脳幹に、周囲組織に空神経細胞の変性を伴う幼虫の断面が認められた。

②ラット、ウサギ

キンカジュ一回虫卵を 1,000 個投与したラットでは、肺に、被嚢化した幼虫が認められた。ウサギでは、明らかな病変は認められなかった。

③スナネズミ

キンカジュ一回虫卵投与個体では、腸管漿膜面、肋間、心臓、肝臓に、針頭大の白色結節が多数散在し、内部には被嚢化した幼虫が含まれていた。肺には多数のヘモジデリンが沈着していた。いずれも脳に病変は認められなかった。クマ回虫卵を 1,000 個、4,000 個感染させ、神経症状を呈した個体では、腸管漿膜面および肝臓に少数の針頭大の白色結節がみられた。肝臓では出血を伴う虫道形成および幼虫がみられた。また、脳幹および大脳には、組織障害を伴う幼虫の断面が認められた。

④リスザル

脳、腎臓、肝臓、脾臓、筋に明らかな病変は認められなかった。小腸および盲腸では、粘膜下に被嚢化した幼虫が多数存在した。

D. 考察

キンカジュ一回虫卵 1,000 個を投与したマウスにおいて、神経症状を示した個体は認められず、また、脳からは 1 隻の幼虫がマウス 1 匹において検出されたのみであった。これに対して、クマ回虫卵 1,000 個を投与したマウスからは、平均 21 隻の幼虫が全てのマウスの脳から検出された。また、スナネズミは、アライグマ回虫やクマ回虫に対して感染感受性が高く神経症状を高率に発症することが知られているが (Sato et al. 2004)、キンカジュ一回虫を感染させても臨床症状は認められず、脳に病変はみられなかった。これらの成績から、キンカジュ一回虫幼虫の各種実験動物の脳への移行性は、クマ回虫の幼虫のそれに比べて低いことが示唆された。

アライグマに寄生するアライグマ回虫 *B. procyonis* は、*Baylisascaris* 属回虫の中で最も病原性が強く、幼虫の脳への移行性が強いとされる。一方、クマに寄生するクマ回虫 *B. transfuga*、スカンクに寄生する *B. columnaris*、テンに寄生する *B. devosi*、アナグマに寄生する *B. melis*、および肉食性有袋類に寄生する *B. tasmaniensis* の 5 種は、脳への移行性が比較的 low、また、幼虫の成長速度が比較的遅いため、アライグマ回虫よりも病原性が低いとされている (Sato et al. 2004)。キンカジュ一回虫はクマ回虫よりもアライグ

マ回虫に近縁と考えられているが (Taira et al 2013)、幼虫の脳への移行性は、アライグマ回虫よりも病原性が低いとされるクマ回虫の幼虫のそれよりもさらに低いことが本研究の成績で示された。

しかしながら、キンカジャー回虫卵 100 個を投与したマウス 1 匹において神経症状が認められ、また、キンカジャー回虫卵を投与した全ての実験動物の各種臓器や体幹筋からは多数の幼虫が検出された。

これらの成績は、キンカジャー回虫の幼虫が待機宿主内の各種の組織・臓器を活発に移行することを示し、今回虫の感染性虫卵を人が誤って摂取すれば、幼虫が人の諸臓器・組織を移行し、重篤な幼虫移行症を起こし得ることを示唆する。したがって、キンカジャーの飼育においては、幼虫移行症に対する厳重な警戒と配慮が必要と考える。

E. 謝辞

本研究遂行に、ご協力いただいた株式会社 PETSUN 乾隆宗氏に深謝する。

F. 健康危機管理情報

キンカジャー回虫は人に感染すると幼虫移行症を起こす可能性がある。

G. 研究発表等

1. 論文発表

Taira K., Une Y., Snabel V., Sugiyama H. 2013. *Baylisascaris* sp. infection in a pet kinkajou *Potos flavus*. *Helminthologia* (2013), 印刷中.

2. 学会発表

平健介, 宇根有美, ウィリアムスナーベル, 杉山広, 黄鴻堅. ペット飼育されたキンカジャー *Potos flavus* に寄生した *Baylisascaris* sp. 第 83 回日本寄生虫学会大会. 2014 年 3 月. (国際ホテル松山)

H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

表1. 各種回虫卵の経口投与個数および神経症状の発症

動物	n	投与虫卵		神経症状	
		回虫種	個数	発症匹数 /投与匹数	DPI ^a
マウス	9	キンカジュール回虫	10	0/9	-
	8	キンカジュール回虫	100	1/8	27
	8	キンカジュール回虫	1,000	0/8	-
	8	クマ回虫	1,000	1/8	26
	8	ネコ回虫	1,000	0/8	-
ラット	6	キンカジュール回虫	10	0/6	-
	6	キンカジュール回虫	100	0/6	-
	7	キンカジュール回虫	1,000	0/6	-
スナネズミ	3	キンカジュール回虫	100	0/3	-
	3	キンカジュール回虫	1,000	0/3	-
	3	キンカジュール回虫	4,000	0/3	-
	2	クマ回虫	100	0/2	-
	3	クマ回虫	1,000	3/3	20-26
	2	クマ回虫	4,000	3/3	11-12
ウサギ	2	キンカジュール回虫	10	0/2	-
	2	キンカジュール回虫	100	0/2	-
	2	キンカジュール回虫	1,000	0/2	-
リスザル	1	キンカジュール回虫	1,000	0/1	-
	1	キンカジュール回虫	10,000	0/1	-

a Days post inoculation 虫卵投与後日数

表2. キンカジュール回虫、クマ回虫およびネコ回虫の虫卵投与後2か月のマウスからの回収幼虫数

投与虫卵		n	体幹	内蔵	脳	眼	合計	幼虫 回収率
回虫種	数		平均 (SD)	平均 (SD)	平均 (SD)	平均 (SD)	平均 (SD)	
キンカジュール 回虫	1000	7	353.9	33.1	0.1	0.4	387.6	38.8%
			(104.82)	(18.59)	(0.35)	(0.73)	(94.85)	
クマ回虫	1000	6	269.0	131.8	21.0	0.2	422.0	42.2%
			(107.08)	(157.75)	(5.48)	(0.37)	(206.20)	
ネコ回虫	830	6	116.0	6.0	0.0	0.0	122.0	14.7%
			(35.79)	(3.74)	-	-	(37.65)	

エキゾチックアニマル・ワイルドアニマルの感染症のリスクとその対策 — キンカジュー回虫の駆虫実験 —

研究協力者：宇根有美 麻布大学獣医学部獣医学科病理学研究室
共同研究者：常盤俊大 麻布大学獣医学部獣医学科病理学研究室
平 健介 麻布大学獣医学部獣医学科寄生虫学研究室

研究要旨：

国内の展示施設および流通施設で飼育されているキンカジューには、アライグマ回虫と近縁な回虫（以下、キンカジュー回虫）が寄生していることが明らかとなった。本研究では、キンカジューに寄生する回虫（以下、キンカジュー回虫）の駆虫法を検討する目的で、回虫感染キンカジューに駆虫薬投与実験を実施した。単独飼育しているキンカジュー2頭に対して、体重あたり 0.69～0.89mg のミルベマイシンオキシムを単回・餌混で経口投与したところ、駆虫に成功した。

A. 研究目的

キンカジューはアライグマ科に属する動物で、近年、ペットとしての人気上昇し、輸入個体数や飼育個体数が増加傾向にある。そのような状況の中、我々は、キンカジューには、人体に感染すると重篤な幼虫移行症を引き起こすアライグマ回虫と近縁なキンカジュー回虫が寄生していることを明らかにした。さらに国内の展示施設および流通施設で飼育されている複数の個体に回虫が感染していることが判明しており、感染防止方法の検討が急務であった。本研究では、キンカジュー回虫の駆虫法を検討する目的で、回虫自然感染キンカジューに駆虫薬を投与し、その効果について検討した。

B. 研究方法

（1）実験動物

実験には、ガイアナ産の野生捕獲されたキンカジュー9頭を用いた。これらのキンカジューは、ほぼ同一時期に、同一業者によって輸入された個体で、いずれの個体においても糞便中に線虫卵が観察された。これらを A 群（n=2）、B 群（n=3）、C 群（n=2）、D 群（n=1）、E 群（n=1）の 5 群に分けた。A～C 群の 7 頭は販売用に飼育されている個体で、飼育者が、2～3 頭ずつ、群飼いで管理した。D および E 群の 2 頭は、糞便検査で線虫卵の最も多い個体で、麻布大学実験室に搬入後、個別飼育し実験に用いた。

（2）虫卵検査法

定量的浮游法（浮游液は砂糖水：1.20g、検出限界 EPG=50）および糞便 1g を用いた砂糖遠心浮游法を使用し、糞便内虫卵検査を実施した。駆虫薬投与前、駆虫薬投与約 2 週間

後および約 4 週間の糞便を使用した。投与前の検査は個体毎に実施し、投与後は群毎に実施した。

(3) 駆虫薬

①A～C 群の 7 頭について、ドロンタール®プラス錠を 1 錠/10kg (1 頭あたり 1/4～1/2 錠) を、飼育者が 2 週に 1 回の計 2 回、混餌で経口投与した。

②D および E 群の 2 頭について、ミルベマイシン A 錠 1.25 を 1 錠を 1 回、混餌で経口投与した。

(4) 成虫検査

駆虫薬投与後、糞便を毎朝観察し、排出された成虫数を計数した。D および E 群の 2 頭は、それぞれ投与後 60 日、30 日後に剖検を行い、腸管内の成虫の有無を確認した。

(倫理面の配慮)

動物実験は、麻布大学動物実験委員会の承認(番号：130207-3)を得て実施された。

C. 研究結果

ドロンタールプラス錠投与群では、投与約 2 週間後の糞便検査で回虫卵は検出されなかったものの、円虫類の虫卵が認められた。また、2 回目の駆虫薬後の糞便検査では、回虫卵が陽転し、円虫類の虫卵の排出は継続した。

ミルベマイシン A1.25 錠を投与した D 群では、投与 2 時間後に雄成虫を排虫し、その直後に、キンカジュールによる虫体の摂食行動がみられた。さらに、翌日までに少なくとも 3 隻の成虫を排虫した。E 群では、翌日までに雄成虫を少なくとも 3 隻排虫した。投与後の糞便検査では、D、E 群ともに虫卵は検出さ

れず、剖検においても腸管から虫体は検出されなかった。

D. 考察

キンカジュール回虫と近縁なアライグマ回虫の成虫駆虫薬としては、クエン酸ピペラジン (120～240 mg/kg)、パモ酸ピランテル (6～20 mg/kg)、ミルベマイシンオキシム (0.5～9.0 mg/kg)、イベルメクチン (1 mg/kg)、モキシデクチン (1 mg/kg)、フェンベンダゾール (50～100 mg/kg x 3～5 日)、アルベンダゾール (50 mg/kg x 3 日)、フルベンダゾール (22 mg/kg x 3 日) などが報告されている。

今回、実験で使用したドロンタール®プラス錠は、犬用の線虫 (犬回虫、犬鉤虫、犬鞭虫)・条虫 (瓜実条虫) の駆虫薬で、有効成分のうちパモ酸ピランテルとフェバンテルが線虫駆虫作用を有する。本実験におけるパモ酸ピランテルの投与量は、36～48mg/kg で、アライグマ回虫の駆虫に有効とされる 6～20mg/kg よりも高容量であった。実際、本駆虫薬投与約 2 週間後に、回虫卵は陰転し、円虫類の虫卵数も減少したことから、一定の駆虫作用が確認された。しかしながら、投与 4 週間後には回虫卵は陽転し、円虫類の虫卵数は増数した。これは、群管理していたこと、薬剤摂取確認が十分に出来なかったこと、あるいは個体毎の糞便検査が困難であったことが原因として考えられ、本薬剤による効果については、個体ごとに飼育し、厳密な管理下における実験が求められた。

一方、ミルベマイシン A 錠は、犬用の犬糸虫症の予防や犬消化管寄生線虫 (犬回虫・犬鉤虫・犬鞭虫) の駆虫に用いられる薬剤で、ミルベマイシンオキシム (1.25 mg/tab) が有効成分として含まれている。本薬剤の投与実

験では、個体別に管理し、0.69～0.81 mg/kgの単回投与で、以降の虫卵排出はみられず、腸管にも成虫は確認されなかった。本錠剤は犬用であるが、投与後にキンカジュール2頭に副作用などは認められず、また小形で餌に混ぜやすいことから、簡易で、安全かつ効果的な投与方法として推奨された。ミルベマイシンA錠の投与実験では、排虫と同時に虫体の摂食行動が認められたことから、駆虫成果の判別には、動物による排虫の有無のみではなく、糞便内虫検査を実施する必要があると考えられた。

E. 謝辞

本研究遂行に、ご協力いただいた株式会社PETSUN 乾隆宗氏に深謝する。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表等

1. 論文発表

Taira K, Une Y, Snabel V, Sugiyama H (2013) *Baylisascaris* sp. infection in a pet kinkajou *Potos flavus*. *Helminthologia*. 印刷中.

2. 学会発表

平健介, 宇根有美, ウィリアムスナーベル, 杉山広, 黄鴻堅. ペット飼育されたキンカジュール *Potos flavus* に寄生した *Baylisascaris* sp. 第83回日本寄生虫学会大会. 2014年3月. (国際ホテル松山)

H. 知的財産の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

エキゾチックアニマル・ワイルドアニマルの感染症のリスクとその対策

— 新世界ザルにおける致死性的トキソプラズマ症の流行 —

研究分担者：宇根有美 麻布大学獣医学部獣医学科病理学研究室

研究協力者：常盤俊大 麻布大学獣医学部獣医学科病理学研究室

研究要旨：トキソプラズマ症は、トキソプラズマ原虫 *Toxoplasma gondii* の感染によりおこる動物由来感染症である。2012～2013 年にかけて、日本国内の 4 つの繁殖施設（関東、近畿、九州）で、22 頭のリスザルと、2 頭のタマリンが死亡した。このうち 17 頭について病性鑑定を行ったところ、16 頭でトキソプラズマ原虫が見出され、致死性的トキソプラズマ症と診断された。各種臓器から遺伝子を抽出し、GRA6、ROP18 を増幅し、遺伝子解析を実施したところ、これらのトキソプラズマ原虫は、全て弱毒性の Type II であることが確認された。

A. 研究目的

トキソプラズマ症は、アピコンプレックス門コクシジウム綱に属するコクシジウム的一种 *Toxoplasma gondii* の感染によりおこる動物由来感染症である。人を含むほぼ全ての哺乳類や鳥類が感受性を有し、人が感染した場合、通常、臨床症状は見られないか軽度の急性症状を示すのみであるが、免疫不全状態で感染すると重篤あるいは致死的な病態を惹起する。また、妊娠初期に初感染すると、胎児に先天的トキソプラズマ症を引き起こす。ヒト以外の動物では、動物種により感受性、臨床像が異なり、新世界ザル、有袋類、ミーアキャット、ガゼル、ラッコなどに感染すると致死的な経過をとることが知られている。

我々は、2012 年以降、国内で飼育され死亡した新世界ザルの病性鑑定を行うなかで、複数の施設においてリスザルとタマリンの

急性トキソプラズマ症による大量致死症例に遭遇した。本年度は、緊急テーマとして、これらの動物の診断方法の改良の検討および国内分離株の GRA6 および ROP18 遺伝子のシーケンス解析を実施した。

B. 研究方法

1. 材料

①施設 A（関東地方、展示施設、リスザル 3 群・総数 22 頭）2012 年 8 月第 1 群で 1 頭死亡（5 歳の♀）。以後全頭に、一定期間サルファ剤内服。同年 9～10 月第 2 群で 3 頭死亡（1～6 歳のすべて♀）。2013 年 6 月 15 日に 1 頭（5 歳♂）が死亡、同月 19 日に 1 頭（14 歳♂）が死亡。計 6 頭、死亡率 27.3%。

②施設 B（関東地方、展示施設、リスザル 1 群・23 頭）2012 年 10 月 26 日・27 日と連続して 2 頭（成体♂♀）が相次いで死亡。以降、全頭にサルファ剤投与。翌年 1

月までに4頭(若齡♂2、若齡♀1、幼体♂1)が死亡。活力低下、沈鬱等があり、急死もあった。以降、全頭にサルファ剤投与。計6頭、死亡率26.1%。

③施設C(九州地方、展示施設、リスザル・6頭)2013年10月に1頭(年齢不詳6~9歳♂)が急死。残りの動物にサルファ剤投与。死亡率16.7%

④施設D(関西地方、動物販売施設、リスザル・アカテタマリン)2013年10月22日~11月6日にかけて、リスザル3頭、アカテタマリン1頭が死亡、その後も死亡が相次ぎ、11月28日までにリスザル4頭とアカテタマリン1頭が死亡し、計10頭となった。生き残った動物にサルファ剤を投与し、以降、発生をみていない。

2. 方法

4施設、施設A6頭(個体ID: A1~6)、施設B6頭(B1~6)、施設C1頭(C1)、施設D4頭(D1~4)、計17頭について病性鑑定を実施した。病理解剖、組織検査は通常の術式に倣い実施し、一部の症例については肺の押捺標本を作成し光学顕微鏡でタキゾイトの有無を観察した。飼育施設で剖検、ホルマリン固定された症例に関しては、各種臓器について病理検査を実施した。

3. 遺伝子診断

各種臓器は TaKaRa Nucleo Spin Tissue を用いて DNA を抽出した。施設BのB1は、肺のパラフィン包埋組織切片から TaKaRa DEXPAD を用いて DNA を抽出した。PCR法を用いて GRA6 および ROP18 遺伝子の増幅を試みた。増幅産物は、ダイレクトシーケンス解析を行い、Type I~III および Atypical

type (CTG、VEG、STRL、MAS、CASTELLS、GUY-MAT、VAND、p89) と比較した。

C. 研究結果

施設DのD2を除く16頭にトキソプラズマ原虫を確認した。病理学的所見は一致しており、肉眼的に高度な肺水腫、体腔水腫、中程度のリンパ節腫脹と脾腫がみられた。病理組織学的には、間質性肺炎、多病巣性壊死性肝炎や壊死性リンパ節炎があり、タキゾイト(ターミナルコロニー)は肺泡マクロファージ、肝細胞、クッパー細胞や血管内皮細胞などにみられ、肝臓ではしばしば遊離した虫体が観察された。その他、タキゾイトは、脳、心臓などにも認められた。肺の押捺標本では、多数のタキゾイトが観察された。本事例の病理像は、これまで報告されている自然発生性および感染実験性のリスザルの急性トキソプラズマ症のそれと一致していた[Furuta et al., 2001]。GRA6 および ROP18 を標的とした PCR 法では、施設DのD2を除く16頭で、トキソプラズマ原虫特異バンドが認められた。このうち、B1はホルマリン固定標本で、パラフィン包埋切片を用いた PCR では GRA6 遺伝子の増幅産物が得られなかったものの ROP18 遺伝子の産物を得ることに成功した。ダイレクトシーケンスで得られた配列についてアライメントを行った結果、4施設および2種類のサルより得られた GRA6 および ROP18 のそれぞれの配列に多様性は見られなかった。得られた配列についてそれぞれ相同性検索を行ったところ、GRA6 および ROP18 とともに Type II の配列と一致した。

D. 考察

トキソプラズマ原虫は、遺伝的多様性が低いことが知られている。欧米を中心とした調査では、これらの地域に分布するトキソプラズマ原虫は、Type I～IIIの3つのクローンにほぼ限定されることが報告されている。このうち、Type Iは、急性感染の患者から分離され、マウスに対して高い病原性を示す。Type IIは、弱毒性株で、ヒトでは免疫不全などの慢性感染の患者から分離され、Type IIIは主に動物から分離される弱毒性株である。また、近年、中国や、南米のトキソプラズマ原虫の分子疫学が実施され、上記の3つのクローン以外にも複数の系統が分離されている。このような状況の中で、本邦におけるトキソプラズマ原虫の分子疫学調査はほとんど行われていない。今回、いずれのリスザルも急性経過をとり、飼育施設内で感染したものであると考えられた。距離的に離れた4つの施設で、異なる種類のサルにType IIが検出されたことから、本邦ではType IIが広く分布している可能性が示唆された。

トキソプラズマ原虫の感染に対する感受性、臨床像は動物種により異なり、新世界ザル、有袋類、ミーアキャット、ガゼル、ラッコなどに感染すると致死的な経過をとることが報告されている。リスザルおよびタマリンも高感受性で、リスザルではこれまでに複数の集団致死例が報告され、Type I～IIIおよびAtypical typeが分離・同定されている。また、Type II (ME株)の実験感染では飛沫による水平感染も証明されている。今回、我々が経験した事例は、国内の飼育ザルにおいてトキソプラズマ原虫の

弱毒系統の感染が証明された本邦初の報告となる。感染経路については不明であるが、施設内にはトキソプラズマの重要な感染源となる猫が生息・飼育されていたことから、オーシストによる汚染があった可能性のほか、昆虫類によるオーシストの機械的伝播などが考えられた。また一部施設においては、複数の個体に同時期に発症と死亡がみられたことから、水平感染が起きた可能性も示唆された。

トキソプラズマ原虫の感染リスク管理を行う上で、飼育施設周辺のネコの感染状況の把握は非常に重要であり、今後の課題とされた。また、感染したサルの体液および臓器には多数のタキゾイトがみられたことから、発症あるいは死亡した個体と接する機会のある飼育者や獣医師などは、飛沫による経粘膜感染や経創傷感染のリスクが高いものと考えられ、注意を要する。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表等

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

伊藤ひとみ、山上達也、森口真理子、高橋映里佳、山崎睦美、浪川彩花、藤原研恵、常盤俊大、宇根有美. リスザル群におけるトキソプラズマ症の流行. 第13回人と動物の共通感染症研究会学術集会, 東京, 2013年11月.

G. 知的財産権の出願・登録状

なし

海外翼手類における病原体の生態に関する研究、
危機管理の必要な動物由来感染症への緊急対応

国立感染症研究所 新井 智

分担研究報告書

海外翼手類における病原体の生態に関する研究、危機管理の必要な動物由来感染症への緊急対応

研究分担者 吉川泰弘(千葉科学大学・危機管理学部・動物危機管理学科、人獣共通感染症)

研究協力者 新井 智、荒木和子、佐藤 弘、多屋馨子、大石和徳(国立感染症研究所 感染症疫学センター)、福井 大(和歌山大学地域創造支援機構)、大館智志(北海道大学低温科学研究所)、森川茂(国立感染症研究所 獣医科学部)

要約

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なり、ハンタウイルスの自然宿主に翼種目も新たに加わることが明らかになってきた。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の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。残念ながら本年の調査では、新たな感染個体は検出されなかった。これらの結果から、翼種目のハンタウイルス感染の割合は、齧歯目やトガリネズミ形目の動物とは異なり、予想よりもかなり低いことが明らかになった。

A 目的

これまで翼種目は、狂犬病やヘンドラウイルス、また SARS コロナウイルスなど多くの感染症の自然宿主となっていることが報告されている。2012年に初めて報告された MEAR コロナウイルスの自然宿主も翼種目と考えられている。更に近年では、麻疹ウイルスなどが含まれるモルビリウイルスの起源が翼種目に由来する可能性があるとする報告もあり、未知の感染症の宿主として翼種目が注目されている。また、2012年には、本研究班でもベトナムの翼手目に新しいハンタウイルスを検出し、翼種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ている。

ヒトに重篤な症状を惹き起こすハンタウイルスは、中国で毎年数万人規模、韓国で

も毎年数百人規模の患者発生が確認されており、海外から日本に侵入してくる可能性も否定できない感染症で、継続した対策の必要な感染症の一つである。そこで、ユーラシア大陸の翼種目にハンタウイルスがどのくらいの割合で感染しているのか、ベトナムおよびミャンマーの翼種目検体を入手し、感染の有無を調査した。また、これら翼種目の未知の感染症のデータを蓄積することにより、新しい感染症に対する効果的な予防法につながる基礎資料の収集を進めた。

B 研究方法

本研究には、ベトナムおよびミャンマーで捕獲した翼手目をを用いた。捕獲した翼手目の組織サンプルから total RNA を抽出し、Reverse transcription を

行い、ハンタウイルス共通領域に PCR プライマーをデザインしてウイルス RNA の直接検出を行った。種の同定は、形態学的な同定に加え、宿主 Cytochrome-*b* (Cyt-*b*) 遺伝子配列を基に決定した。

C 研究成果

調査対象の種同定は、形態学的に分類したのち Cyt-*b* 遺伝子配列を決定して遺伝学的にも検証した後に総合的に決定した。本年の調査には、2013 年にベトナムで捕獲した 247 頭およびミャンマーで捕獲した 21 頭の合計 268 頭を対象にした。ベトナムの翼種目は *Aselliscus* sp. 1 頭、*Aselliscus stoliczkanus* 13 頭、*Cynopterus brachyotis* 9 頭、*Cynopterus horsfieldi* 1 頭、*Cynopterus sphinx* 2 頭、*Hipposideros larvatus* 7 頭、*Hipposideros armiger* 1 頭、*Hipposideros cineraceus* 3 頭、*Hipposideros larvatus* 33 頭、*Hipposideros pomona* 3 頭、*Hipposideros scutinares* 3 頭、*Hypsugo cadornae* 1 頭、*Kerivoula* spp. 3 頭、*Kerivoula* cf. *papillosa* 3 頭、*Kerivoula hardwickii* 2 頭、*Kerivoula* sp. 1 頭、*Kerivoula titania* 1 頭、*Megaderma spasma* 1 頭、*Megaerops niphanae* 2 頭、*Miniopterus* cf. *magnaster* 5 頭、*Miniopterus* sp. 2 頭、*Murina Beelzebub* 1 頭、*Murina cyclotis* 1 頭、*Murina* sp. 1 頭、*Myotis muricola* 12 頭、*Myotis rosette* 2 頭、*Myotis siligorensis* 1 頭、*Myotis* sp. 5 頭、*Phoniscus jagorii* 1 頭、*Rhinolophus acuminatus* 28 頭、*Rhinolophus affinis* 6 頭、*Rhinolophus* cf. *microglobosus* 1 頭、*Rhinolophus luctus* 1 頭、*Rhinolophus macrotis* 1 頭、*Rhinolophus malayanus* 5 頭、*Rhinolophus microglobosus* 9 頭、*Rhinolophus paradoxolophus* 1 頭、

Rhinolophus pearsonii 20 頭、*Rhinolophus pumilus* 1 頭、*Rhinolophus pusillus* 7 頭、*Rhinolophus rex* 2 頭、*Rhinolophus sinicus* 10 頭、*Rhinolophus* sp. KS-2008 1 頭、*Rhinolophus thomasi* 19 頭、*Rhinolophus macrotis* 1 頭、*Tylonycteris pachypus* 5 頭、*Tylonycteris* sp. 8 頭であった。ミャンマーでは、*Ia io* 1 頭、*Rhinolophus luctus* 2 頭、*Rhinolophus* sp. 1 頭、*Scotophilus kuhlii* 14 頭、*Taphozous longimanus* 3 頭であった。上記翼種目について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、翼種目のハンタウイルス陽性率は、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。一方、米国ハワイ大のグループは博物館に保管されている過去の *H. pomona* の組織に我々のグループが 2012 年の調査で明らかにした Xuan Son virus (XSV) の遺伝子配列を複数の地域の *H. pomona* の組織から検出している。本年の我々の結果およびハワイ大のグループの結果から、翼手目に感染したハンタウイルスは、何らかのメカニズムにより翼種目の中で維持されているものの、ウイルス陽性率は 1%以下と極めて低く、翼手目ハンタウイルスの媒介メカニズムの解析が望まれる(図 1)。