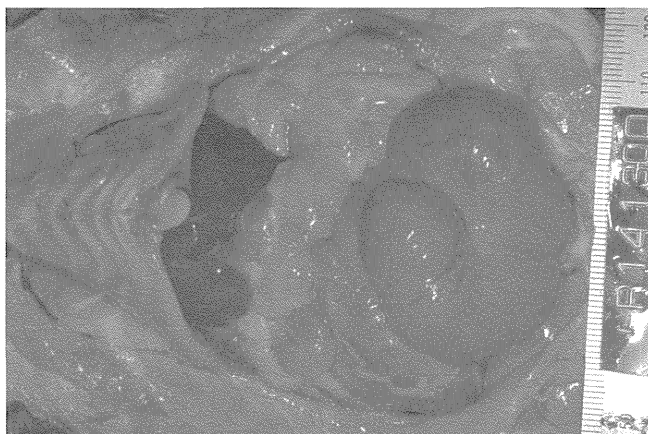


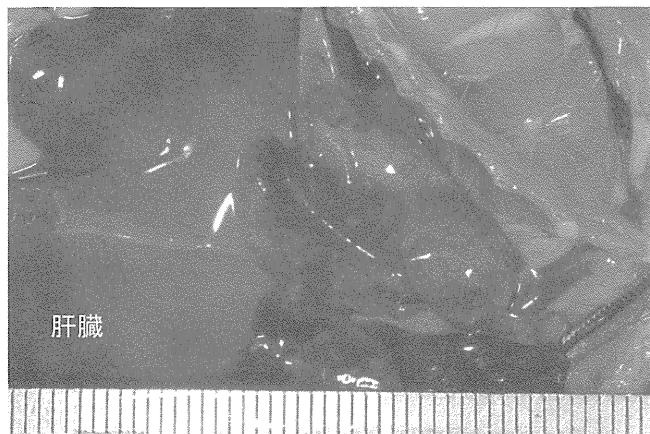
Pr14130-0



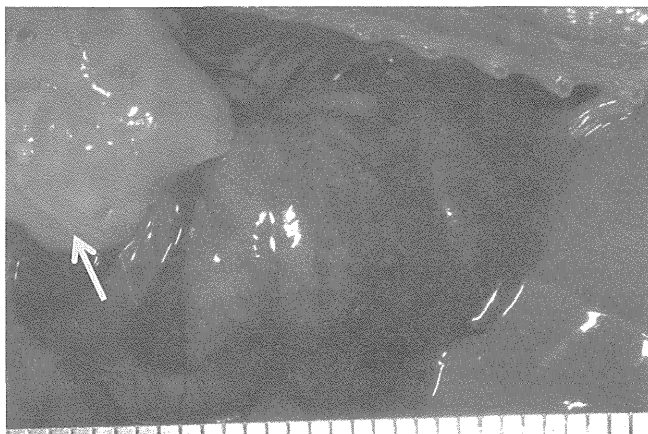
全身像(左側望)



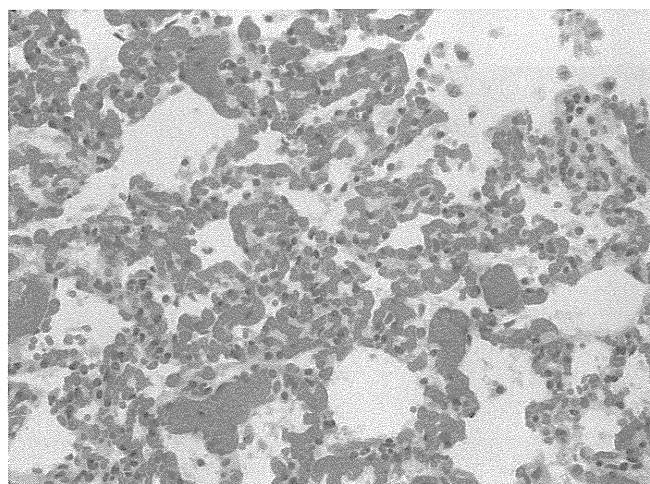
腹腔全景 脾腫、肝腫はなく、多発性出血もない。
消化管はガスを含んで拡張



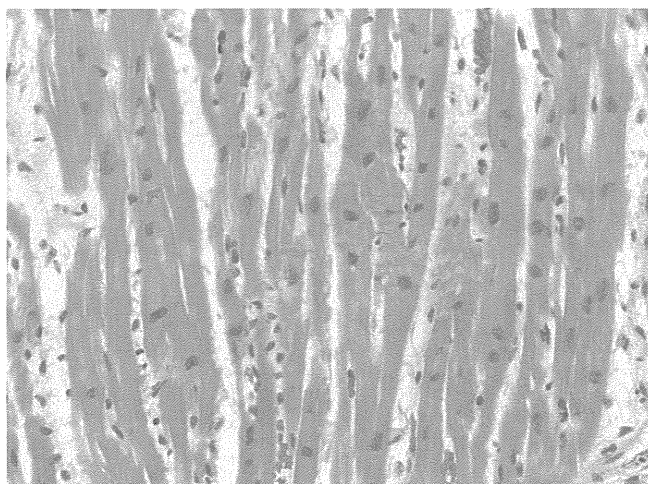
胸腔全景と肝臓 肺退縮不全で暗赤色、水腫性
肝臓軽度褪色



肺の拡大と胸腺(矢印) 肺は水腫性

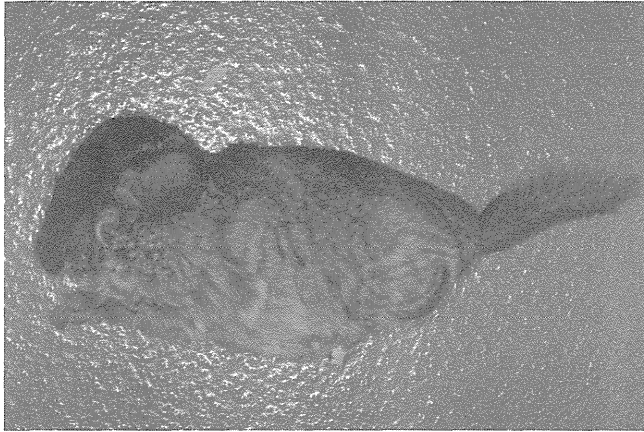


肺うっ血と水腫(高度) HE染色

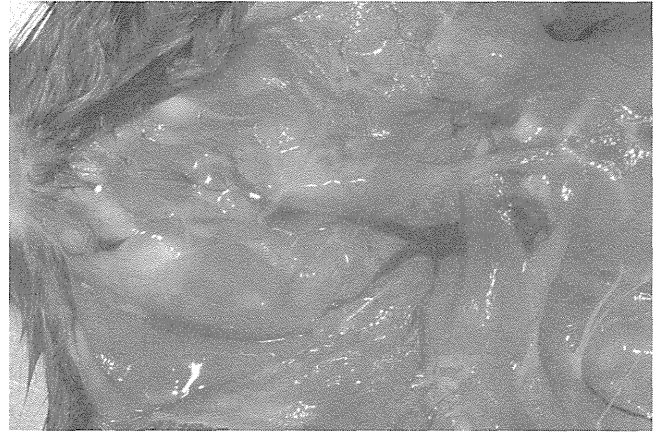


心筋 心筋過収縮帯形成と変性 HE染色

Pr14131-0



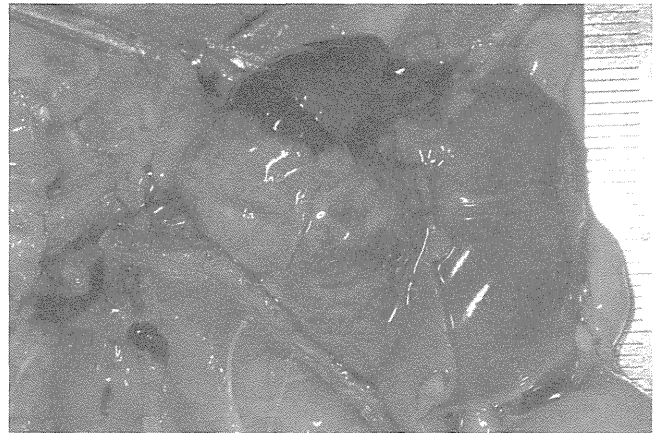
全身像(左側望)



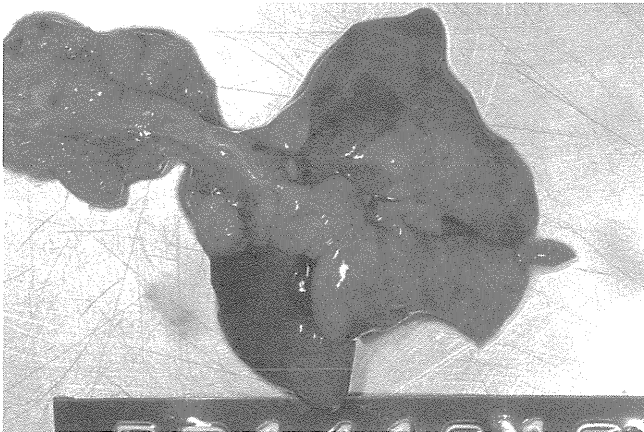
顎凹部と頸部(剥皮後の腹側面)右頸静脈怒張



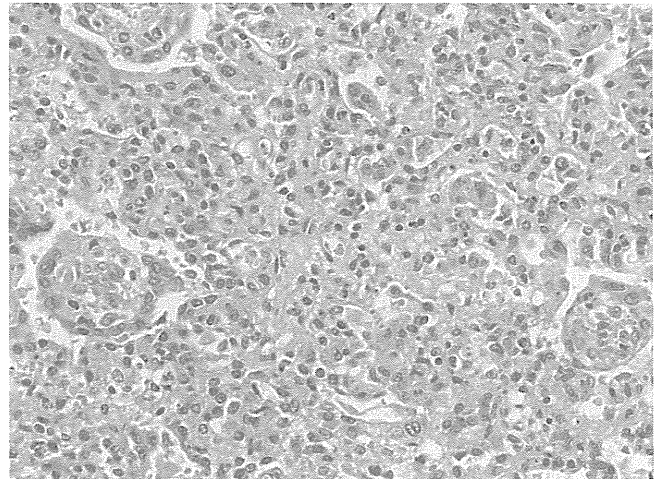
腹腔一部拡大 脾腫、肝腫はなく、多発性出血もない
矢印は脾臓を示す



胸腔全景と肝臓 肺退縮不全 右心房拡張



頭頸部および胸腔臓器全景 肺退縮不全、一部に暗赤色部存在、右心房拡大



肺 限局性間質性肺炎 HE染色

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

厚生労働科学研究費補助金〔新興インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）〕

研究分担者報告書

動物由来感染症に対するリスク管理手法に関する研究（H24-新興-一般-006）

研究代表者 吉川泰弘 （千葉科学大学）

研究協力者 新井 智、池山 優、荒木和子(国立感染症研究所 感染症疫学センター)、永田典代(国立感染症研究所 感染病理部)、森川 茂(国立感染症研究所 獣医科学部)、水谷哲也(東京農工大学)

研究要旨：翼手目の保有している未同定のウイルス感染症情報の蓄積のため、ベトナムおよびミャンマーのサンプルについて野生小型哺乳類のサンプルを入手し、持続感染しているウイルスを検索した。複数の翼手目から初代培養細胞を分離し、持続培養して CPE が出現するかどうか観察した。その結果、複数の検体に CPE が検出された。Vero 細胞に継代して Vero 細胞においても CPE が継代可能なサンプルについて次世代シーケンサーで配列を決定したところ、翼手目から分離された CPE 因子は新規翼手目ヘルペスウイルスであることが明らかになった。

A. 研究目的

近年、翼手目由来ウイルスによるアウトブレイクが複数報告されている。特に 2014 年 2 月にギニアから始まったエボラウイルスのアウトブレイクは、2015 年 1 月 23 日現在、21,689 例の症例と 8,626 例の死亡が確認され、極めて大きなアウトブレイクとなっている。これら翼手目由来ウイルスの情報を収集することは、公衆衛生対策上重要な情報である。そこで、本年の調査では、翼手目の保有しているウイルスを効率良く同定する為、初代培養細胞を分離し、初代培養細胞に感染しているウイルスの同定を試みた。

B. 研究方法

- 1) これまでに入手することのできたベトナムおよびミャンマーのサンプルについて肺および腎臓から可能な限り初代培養細胞を分離し、未同定のウイルス分離用として利用を目指すと共に、これらの細胞から未知のウイルスが検出されるかどうか検索した。
- 2) 初代細胞の分離は、*Rhinolophus acuminatus*、*Rhinolophus luctus*、*Rhinolophus microglobosus*、*Rhinolophus pearsonii*、*Rhinolophus sinicus*、*Rhinolophus thomasi*、*Rhinolophus sp.*、*Tylonycteris pachypus*、*Tylonycteris sp.*の肺および腎臓を用いた。CPE の認められた初代細胞については株化細胞の Vero E6 に継代し Vero E6 細胞におい

でも CPE が確認されたサンプルについて次世代シーケンスによる感染ウイルスの同定を行った。

(倫理面からの配慮について)

野生動物の捕獲調査では、可能な限り生存した状態で捕獲し、麻酔下で安楽殺した後に組織を採取した。

C. 研究結果

- 1) 初代培養細胞の分離に伴い、ベトナムの翼手目からヘルペスウイルスの分離に成功し、次世代シーケンスの結果、新規翼手目ヘルペスウイルスであることが明らかになった。
- 2) 未知のウイルス感染対策の一環として、翼手目から初代培養細胞を分離することを進めた。その結果、ベトナムの翼手目から初代培養細胞の分離に成功した。

D. 考察

次世代シーケンサーは、未知の感染症や未同定の病原体の同定に非常に有効である。しかしながら、臨床検体を用いた解析では、断片的な結果は得られるものの、宿主の遺伝子配列がノイズとして多数検出され、十分な結果が得られない場合も多数報告されている。今回、翼手目の初代培養細胞の分離を行い、未同定のウイルス分離に利用するためのツール作りを行った。その結果、一般的に利用されている Minimum Essential Media(MEM)では十分な増殖が得られない宿主が複数観察された。既存の培地はヒトやマウス等の既知の生物種に合う

ように調整されているため、培地組成や、分離手技等を更に改良し、分離効率を向上させる必要がある。今後の検討課題である。

今回、*Rhinolophus acuminatus* と *Rhinolophus sinicus* から分離したウイルスを次世代シーケンサーで同定したところ、どちらも新規の翼手目ヘルペスウイルスであった。両ウイルスは同一ではないものの極めて近似したウイルスであり、系統解析の結果、同一のクラスターに位置した。両宿主は、同一の *Rhinolophus* 属に属しており、ウイルスの祖先は同一であった可能性が示唆された。今後、どの程度の時間で分化してきたのか推定する予定である。

E. 結論

- ① 翼手目の初代培養細胞を樹立すると共に、CPE 因子の分離に成功した。
- ② 翼手目から分離した CPE 因子は、次世代シーケンスにより新規翼手目ヘルペスウイルスであることが明らかになった。これらの結果から未同定のウイルスが翼手目に感染している事実が明らかになった。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1.論文発表

なし

2.学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし.

1. 特許取得

特になし.

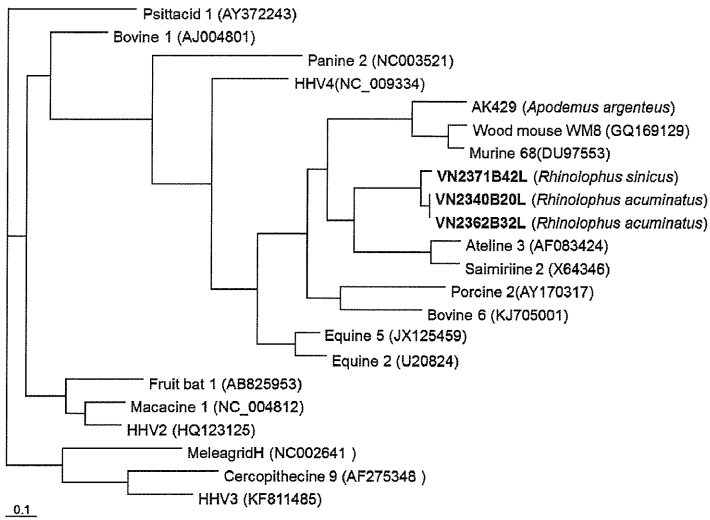
2. 実用新案登録

特になし.

3. その他

特になし.

図 1. 翼手目から分離された新規ヘルペスウイルスの系統解析



VN2340B20L, VN2362B32L, VN2371B42L が翼手目から分離された新規ヘルペスウイルス。

「わが国で狂犬病を発症した動物が認められた場合の
危機管理に対応に関する研究」

国立感染症研究所 井上 智

厚生労働科学研究費補助金（インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）
（総括（分担））研究報告書

動物由来感染症に対するリスク管理手法に関する研究

わが国で狂犬病を発症した動物が認められた場合の危機管理対応に関する研究

研究分担者： 井上 智 国立感染症研究所・獣医科学部
研究協力者： 三澤尚明 宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター
桐野由美 宮崎大学農学部獣医学科人獣共通感染症教育研究プロジェクト
目堅博久 宮崎大学農学部獣医学科人獣共通感染症教育研究プロジェクト
喜屋武向子 沖縄県衛生環境研究所
高木祐司 沖縄県動物愛護管理センター
山田健太郎 大分大学医学部全学研究推進機構重点研究推進分野
費 昌勇 台湾大学獣医大学院
佐藤 克 狂犬病臨床研究会
堀田豊明 国立感染症研究所・獣医科学部
野口 章 国立感染症研究所・獣医科学部
加来義浩 国立感染症研究所・獣医科学部
奥谷晶子 国立感染症研究所・獣医科学部
河原正浩 東京大学大学院工学系研究科・化学生命工学専攻

研究要旨：平成 25 年 7 月 17 日、台湾が国際獣疫事務局（OIE）に在来の野生動物であるイタチアナグマに狂犬病の発生を報告したことで、日本は東アジア地区で唯一の狂犬病清浄国となった。52 年間、狂犬病の清浄性を維持してきた台湾で野生動物に狂犬病の流行が報告されたことは、自然環境や経済・文化が極めて似ている日本で同様のことが起きる可能性を示唆している。各々の都道府県等では『狂犬病対応ガイドライン 2001』と『狂犬病対応ガイドライン 2013』に基づいて独自マニュアルの策定が進められているが、我が国ではこれまで狂犬病対策として動物を対象とした一定の基準による体系的な検査体制がなく狂犬病の検査自体を実施する体制が整っていない地方公共団体もあるためヒトへの危害防止に不可欠となる、狂犬病に罹患した動物の探知ができない恐れがある。平成 26 年 8 月 4 日に「国内動物を対象とした狂犬病検査実施要領」が取りまとめられて、各都道府県・保健所設置市・特別区の衛生主管部（局）長宛てに国内動物を対象とした狂犬病検査の実施について（協力依頼）の通知（健感発 0804 第 1 号）がなされた。本研究では、宮崎大学産業動物防疫リサーチセンターと宮崎県福祉保健部衛生管理課が共催して行った九州地区狂犬病診断研修会を活用して、自治体で狂犬病調査を行うために必要な解剖と検査の手技等改良と研修モデル確立について研究を行った。異なる自治体の担当者が宮崎大学の施設を利用して研修を同時に行うことで関連手技等の標準化が容易となり自治体の状況に応じた体制整備の方法検討と課題等情報共有が可能となった。また、台湾大学、台湾 CDC、家畜衛生研究所の狂犬病専門家と台湾で流行しているイタチアナグマの狂犬病について最新知見と現行の対策等について情報共有と動物の狂犬病調査における実際について意見交換等を行った。

A. 研究目的

平成 25 年 7 月 17 日、台湾が国際獣疫事務局 (OIE) に在来の野生動物であるイタチアナグマに狂犬病の発生を報告したことで、日本は東アジア地区で唯一の狂犬病清浄国となったが、狂犬病の清浄性を 52 年間維持してきた台湾で野生動物に狂犬病の流行が報告されたことは、自然環境や経済・文化が極めて似ている日本と同様のことが起きる可能性が示唆された。

各都道府県等で、『狂犬病対応ガイドライン 2001』と『狂犬病対応ガイドライン 2013』に基づいて独自マニュアルの策定が進められているが、我が国ではこれまで狂犬病対策として動物を対象とした一定の基準による体系的な検査体制がなく、狂犬病の検査自体を実施する体制が整っていない地方公共団体もあり、ヒトへの危害防止に不可欠な狂犬病に罹患した動物の探知ができない恐れがある。

そこで、平成 26 年 8 月 4 日に「国内動物を対象とした狂犬病検査実施要領」が取りまとめられて、厚生労働省健康局結核感染症課から各都道府県・保健所設置市・特別区の衛生主管部(局)長宛てに国内動物を対象とした狂犬病検査の実施について(協力依頼)の通知(健感発 0804 第 1 号)がなされた。

本研究では、宮崎大学産業動物防疫リサーチセンターと宮崎県福祉保健部衛生管理課が共催して行った九州地区狂犬病診断研修会を活用して自治体で狂犬病調査を行うために必要な、解剖と検査の手技等改良と研修モデル確立について研究を行うと共に、海外の狂犬病発生国の専門家と動物の狂犬病調査に関する実際的な方法や課題等について情報および意見交換等を行った。

B. 研究方法

◇九州地区狂犬病診断研修会

日時：平成 26 年 12 月 3 日(水) - 5 日(金)

場所：宮崎大学

主催：人獣共通感染症教育研究プロジェクト

共催：宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター、宮崎県福祉保健部衛生管理課

講師：井上 智(国立感染症研究所)、山田 健太郎(大分大学医学部助教)、喜屋武 向子(沖縄県衛生環境研究所)、高木 祐司(沖縄県動物愛護管理センター)

参加者：九州各県の公衆衛生担当獣医師(保健所、食肉衛生検査所、本庁等)、佐賀県 2 名、長崎県 1 名、熊本県 3 名、熊本市 1 名、大分県 2 名、鹿児島県 2 名、鹿児島市 1 名、沖縄県 1 名、山口県 1 名、福岡市 1 名、北九州市 1 名、久留米市 1 名、宮崎県 11 名、宮崎市 1 名(計 29 名)。

研修スケジュール

12 月 3 日(水)

講義

- ・狂犬病ウイルスとその診断について
- ・狂犬病の発生状況について
- ・地域における危機管理対応について
- ・沖縄県の野生動物狂犬病サーベイの取り組み
- ・検査材料摘出技術 DVD 視聴、補足説明
- ・犬の模型を使用した解剖実習

12 月 4 日(木)

- ・病理解剖実習(獣医棟 1 階病理解剖実習)
- ・実験室診断実習(獣医棟 3 階実習室)
- ・宮崎の狂犬病防疫に関する医・獣医・行政の連絡協議会(仮)

12 月 5 日(金)

- ・総合ディスカッション(獣医棟 1 階視聴覚室)
- ・九州狂犬病防疫担当者会議の設立に向けた協議

※ 概要の詳細は「資料 1」を参照。