# **Hokkaido University**









# News Letter

グローバルCOEプログラム

# [人獣共通感染症国際共同教育研究拠点の創成]

Establishment of International Collaboration Centers for Zoonosis Control

平成20年度 疫学調査報告













# News Letter Vol 1, 2009 目次

平成20年度 活動報告	3
平成20年度 疫学調査報告	
モンゴル国における鳥インフルエンザサーベイランス 人獣共通感染症リサーチセンター国際疫学部門 松野 啓太	4
スリランカにおける狂犬病対策戦略のための疫学調査 医学研究科予防医学講座 国際保健医学分野 玉城 英彦	5
アフリカ諸国に由来する <i>Ehrlichia ruminantium</i> および <i>Theileria parva</i> からの遺伝子材料の採集 人獣共通感染症リサーチセンター 国際協力・教育部門 中尾 亮	6
節足動物媒介性原虫感染症に関する研究 人獣共通感染症リサーチセンター国際協力・教育部門 杉本 千尋	7
ザンビアにおける出血熱ウイルス等のサーベイランス 人獣共通感染症リサーチセンター 分子病態•診断部門 佐々木 道仁	8
人獣共通感染症リサーチセンター 分子病態・診断部門 川口 晶	9
人獣共通感染症リサーチセンター 分子病態・診断部門 澤 洋文	1 0
人獣共通感染症リサーチセンター 国際疫学部門 中山 絵里	1 1
ミャンマーにおける人獣共通寄生虫症の疫学と薬用植物の調査 獣医学研究科寄生虫学教室 片倉 賢	1 2
野生動物生態と感染症研究 獣医学研究科生態学教室 坪田 敏男	1 3
インドネシアのヒトおよび動物におけるハンタウイルスの流行調査 医学研究科微生物学講座 病原微生物学分野 有川 二郎	1 4
国際ネットワーク構築および人材育成(スリランカにおける狂犬病対策戦略のための疫学調査) 医学研究科予防医学講座 国際保健医学分野 玉城 英彦	1 5
スリランカにおける狂犬病を中心とした人獣共通感染症のサーベイランス体制 および狂犬病対策のための効果的なadvocacy体制の構築に関する研究 医学研究科予防医学講座 国際保健医学分野 神田 浩路	1 6
A Preliminary Study on Molecular Epidemiology of Leptospirosis in Sri Lanka Department of Global Health and Epidemiology, Graduate School of Medicine Chandika Damesh Gamage	1 7
スリランカにおける狂犬病対策戦略のための疫学調査およびレプトスピラ症に関する疫学調査 医学研究科予防医学講座 国際保健医学分野 玉城 英彦	1 8
南北ベトナム地方の齧歯類およびヒトにおけるハンタウイルス抗体保有状況の調査 医学研究科微生物学講座 病原微生物学分野 有川 二郎	1 9

## 平成20年度(2008) GCOE活動報告

交付金

平成20年度 280,410千円 (7月~)

【内訳】 直接経費 215,700千円、間接経費64,710千円

平成20年度GCOE採用人数

博士研究員 3名

RA 16名 (内2名外国人)

特別研究員1名技術員7名事務員2名

博士研究員進路

大西なおみ(北海道大学感染癌センター 助教 H20.4.1.採用)

#### 1.シンポジウムセミナー開催

第1回グローバルCOEセミナー

日時 平成20年10月20日(月) 16:00-18:00 場所 北大獣医学研究科 病院講義室

講演者 Dr Keith Hamilton,

OIE Scientific and Technical Department, OIE Central

Bureau, Paris

Dr. Bhudipa Choudhury

OFFLU Scientist based at OIE/FAO/European Community Reference Laboratory for Avian Virology, Veterinary

Laboratories Agency, United Kingdom.

参加人数49名

第2回グローバルCOEセミナー

「パンデミックインフルエンザにどう備えるか?」

日時 平成20年12月17日(水) 17:00-19:50 場所 ロイトン札幌『2階エンプレスホール』

講演者 Robert G. Webster

(St. Jude Children s Research Hospital, USA)

喜田 宏

(北海道大学大学院獣医学研究科、人獣共通感染症リサーチセンター)

参加人数140名

(内訳 北大以外の参加者 47名、外国人19名、学生50名) 参加国 USA, 韓国、スリランカ、ザンビア、ナイジェリア、カナダ、 ブラジル、パキスタン、モンゴル、タイ

Kick offシンポジウム

北海道大学グローバルCOEプログラム

『人獣共通感染症国際共同教育研究拠点の創成』

日時 平成21年2月23日(月) 10:00-16:40

場所 学術交流会館 1F 小講堂

講演者および講演内容 事業推進担当者21人による研究発表

参加人数 90名

2008年度GCOE博士研究員、RA研究発表会

日時 平成21年3月10日(火) 13:00-17:00

場所 獣医動物病院講義室

発表者 博士研究員、特別研究員、RA全員 19名

参加人数 70名

Advanced Training Course for Zoonosis Control 2008

研修生4名

Mr. Walter Muleya (札幌滞在期間 2008.11.26-2009.3.26)
School of Veterinary Medicine, University of Zambia, Zambia

Ms. Ana Cecilia Hidalgo (札幌滞在期間 2009.1.14-2009.3.23)

National Institute of Public Health, Mexico

Mr. Naftaly Wang ombe Githaka

(札幌滞在期間 2009.1.16-2009.3.24)

International Livestock Research Institute, Kenya

Mr. Zhuoming Liu (札幌滞在期間 2009.1.28-2009.3.24) College of Life Science and Technology, Guangxi University, P.R.China

ファイナルリポート & 閉会式

日時 平成21年3月19日(木) 15:00-17:00 場所 北大獣医学研究科大会議室 1F

参加人数 40名

2. その他 GCOE共催

Parasite Vector Genomics II

開催日: 平成20年10月21日、22日

開催場所∶北大

JICA トレーニングコース

"Regional Workshop for Avian Influenza Control for Asian Countries"

期間:平成20年9月29日~10月9日

場所:北大 人獣共通感染症リサーチセンター

研修生: 13名(中国1名、インドネシア1名、ラオス1名、 マレーシア1名、ミャンマー1名、シリア1 名、タイ1名、トルコ1名、ベトナム1名、

台湾1名、日本3名)

3. 若手国際学会発表

林田京子 GCOE特別研究員

平成20年9月20日~9月27日、米国 ボストン、

2008年度第19回分子寄生虫学学会

"Activation of NFkappaB pathway and apoptosis inhibition by a

Theileria parva schizont derived protein TpSCOP".

宋 昌絃 GCOE RA

平成20年10月6日~10月12日、スペイン マドリッド、

PRIO N2008

"Migration of messenchymal stem cells to brain lesions of prion disease"

森松組子 准教授

平成21年2月11日~2月16日、 オーストリア ウィーン

International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance

"Analysis of the hantavirus-specific CD8+ T cell response in mice"

4. 講義

大学院共通科目 感染症特別講義(人獣共通感染症の制圧)

平成20年10月1日~平成21年1月28日

毎週水曜日13:00-14:30

医学研究科 第3講義堂「臨床講義棟1F」

1.人獣共通感染症の概要とアルボウイルス感染症の疫学と予防(高島郁夫)

2.人獣共通感染症の対策;疫学研究とその手法(玉城英彦)

3.代表的な人獣共通感染症の臨床像(石黒信久)

4.インフルエンザウイルスの生態(喜田宏)

5. リーシュマニア症の診断と疫学(片倉賢)

6.感染体の経神経伝播メカニズムとその予防・治療 (梅村孝司)

7.感染症に対する細胞生物学的および疫学的研究 (選洋文)

8.齧歯類媒介性疾患の防疫(有川二郎)

9.マウスにおけるウイルス感染抵抗性遺伝子の解析 (安居院高志)

10.プリオン病の病態(堀内基広)

11.微生物のバイオセーフティー(苅和宏明)

12.プリオン病の生前診断(稲葉睦)

13.プリオンの構造と機能(稲波修)

14. フラビウイルス感染症の予防(前田秋彦)

15.エキノコックス症の感染源対策(奥祐三郎)

## モンゴル国における鳥インフルエンザサーベイランス

人獣共通感染症リサーチセンター 国際疫学部門 松野 啓太 疫学調査活動期間 2008年8月26日 - 9月3日 同行者 人獣共通感染症リサーチセンター国際疫学部門 教授・高田 礼人 獣医学研究科微生物学教室 助教・岡松 正敏

想像通りの草原を、首都ウランバートルを出てすぐに見ることができた。サーベイランスのほとんど全行程において、この光景以外は見ることができない。進めども進めども変わらない景色に、北海道に初めて来たとき以上にスケールの大きさを感じた。

8月27日、モンゴル国中央獣医研究所への挨拶や、長旅の準備をすませる。28日朝、いよいよウランバートルから西方約300kmに位置するウギー湖に向けてサーベイランスの旅が始まった。

一日かけてウギー湖に到着した頃には日が暮れかけており、この日はツーリストキャンプに投宿して明日から始まるサンプリングに備えた。



写真1 ウギー湖 今回訪れた湖の 中では最大の湖 である。

ウギー湖では、マガモや白鳥など多くの渡り鳥が羽を休めていた。8月29日午前、ここで本サーベイランス最初のサンプリングを行った。合計178個のサンプルを採取することができた。鳥の数は多かったが湖岸付近にはあまりいなかったので、新鮮な糞便を厳選して採取した結果の数字である。

昼食を挟んでウギー湖の南の村へ行き、渡り鳥のいる湖の情報を教えてもらう。道のような轍のような未舗装路を走り、ウギー湖の南西に渡り鳥のいる湖沼を発見した。2つの湖沼で合計97個のサンプルを採取し、サンプリング初日は終了となった。

8月30日、ウギー湖を離れ北へ向かう。ウギー湖から北へ80kmほどの位置にあるホント湖は、過去に白鳥の斃死体が発見された場所だ。この斃死体からはH5亜型の鳥インフルエンザウイルスが分離されており、サーベイランス上重要な湖である。途中に点在する湖を、高田教授や現地ガイドの方の経験を元に訪れながら北上する。この日はドート湖、イクツァイダム湖、ツァガン湖の3つの湖で合計234個のサンプルを採取した。



写真2 ツァガン湖 面積は小さいが多くの渡 り鳥がおり、100個以上 のサンプルを採取でき た。

これらの湖は過去と比べて明らかに縮小しており、湖岸には 塩分が析出した白い砂が見られる所もあった。今後、さらに湖 が縮小した場合に渡り鳥の飛翔経路が変わる可能性があり、来 年以降のサーベイランスでは、より一層注意が必要であると思 われる。

この日の夕方にホント湖に到着した。ホント湖周辺には宿泊施設が存在しないので、テントを張り、寝袋にくるまって一泊した。草原の夜は、とても寒かった。

8月31日、最後のサンプリングをホント湖において行った。



写真3 ホント湖 天気にも恵まれ、昼頃には暑いくらいであった。

ここでのサンプリングは水鳥が上陸している時間から開始できたこともあり、とても新鮮な糞便材料を多く採取できた。283個、ウギー湖から数えて792個目のサンプルをもって、今回のサーベイランスの旅は終了した。

これらの糞便材料を日本に持ち帰り、10日齢発育鶏卵に接種してウイルス分離を試みた結果、39株の鳥インフルエンザウイルスが分離された。また、その過程で5株のパラミクソウイルスも分離された。39株の鳥インフルエンザウイルスの内訳はH3N6亜型が3株、H3N8亜型が22株、H4N6亜型が8株、H4N8亜型が3株およびH7N9亜型が3株であった。分離株中の亜型の内訳は、過去に北海道大学獣医学部が日本やアジアで行ってきたサーベイランスとほぼ同様の傾向であった。しかし、H7N9亜型は北アメリカで分離の報告があるものの、当サーベイランスでは過去に分離されていない亜型である。

今回のモンゴル国におけるサーベイランスは、私にとって初めての野外での本格的なサンプリング活動であった。人獣共通感染症のコントロールには野生動物における病原体の動態を把握する必要があるが、そのための苦労を痛感し、とても良い経験になった。このような機会を与えて頂いたことに感謝したい。

## スリランカにおける狂犬病対策戦略のための疫学調査

医学研究科予防医学講座 国際保健医学分野 玉城 英彦 疫学調査活動期間 2008年10月11日-10月20日

我われは以前から、スリランカにおいて「狂犬病の疫学および対策」の活動を続けている。今回の目的は、1)ペラデニヤ大学獣医学部に常駐されている「北大COE狂犬病対策室」の物品管理、新規スタッフとの面談、および今後のラボ運営に関する打合せ、

2)狂犬病対策にかかわる研究の打合せ(ペラデニヤ大学、中央州保健局、キャンディ県保健局など)、3)狂犬病対策の一環としての子供たちによる狂犬病啓発プログラムの開発(案)の作成、およびフィールド視察が主なものであった。4)さらに今年度からスリランカ厚生省およびペラデニヤ大学と共同で、現在現地で多発しているレプトスピラ症の疫学研究の打合せを行った。

1,2)ペラデニヤ大学学長、獣医学部長、獣医学部、医学部のスタッフ、中央州保健省のスタッフ、およびキャンディ県のスタッフに面談、打合せを行った。

3) 資料1 にプログラム(案)を示した。

4)ペラデニヤ大学医学部内科教授SAM と打合せ、保存されているレプトスピラ症患者の血清(200検体以上)の検査について検討した。また今後のフィールド疫学調査について意見交換した。

#### フォーローアップ

- 1) 狂犬病啓発プログラム企画書の修正・承認
- 2) レプトスピラ症疫学調査計画書の作成
- 3) レプトスピラ症患者血清の検査実施の具体策

#### 資料1.面談した人のリスト

1) ペラデニヤ大学学長、獣医学部長、獣医のスタッフ

学長 Harischandra ABEYGUNAWARDENA 獣医学部長 Preene ABESENAYAKA 寄生虫教授 Jayanthe RAJAPAKSE 病理学准教授 Panduka GUNAWARDENA 微生物教授 Thula WIJEWARDANA 臨床研究准教授 Dangolla ASHOKA

#### 2) 医学部

予防医学准教授 Ranjith KUMARASIRI 予防医学准教授 Ananda JAYASINGHE 薬理学准教授 Nimmi ATHURALIYA 予防医学 Suneth AGAMPODI

#### 3) その他のペラデニヤ大学スタッフ

文学部長 Tudor SILVA 地理学教授 CB DISSANAYAKE 地理学部助教授 Rohan CHANDRAJITH

#### 4) 州およびキャンディ県のスタッフ

保健部長 Shanthi SAMARASINGHE コンサルタント医師 Gamini JAYAKODY 国立キャンディ病院 Tilak ABEYSEKERA キャンディ県 Perera GAMINI



写真1 フィールド調査の事前打合せ



写真2 調査前の準備



写真3 フィールド事前調査



写真4 調査後のブリーフィング

## アフリカ諸国に由来するEhrlichia ruminantium およびTheileria parvaからの遺伝子材料の採集

人獣共通感染症リサーチセンター 国際協力・教育部門 中尾 亮

疫学調査活動期間 2008年10月28日 - 12月22日

今回の疫学研究活動の目的は、反芻動物に心水症を引き 起こすリケッチアの一種であるEhrlichia ruminantium と、牛に 東海岸熱を引き起こす原虫のTheileria parva からの遺伝子解 析材料の採集であった。心水症はサハラ砂漠以南のアフリカ 諸国とカリブ諸国において、東海岸熱は東アフリカ諸国におい て発生がみられ、甚大な畜産被害をもたらしている。また、近年 E. ruminantium のとトへの感染が疑われる複数の事例が報告 され、新興の人獣共通感染症としても注目されている。両病原 体はマダニ媒介性で宿主動物へ伝播されることから、殺ダニ剤 による防除が有効とされているが、環境への悪影響や殺ダニ剤 耐性マダニ出現への懸念からワクチンによるコントロール法の 確立が求められている。これまで、いくつかの弱毒ワクチンの野 外試験が行われてきたがその効果は地域によって異なり、効 果的なワクチン戦略にはアフリカ各地に分布する株の遺伝的 バックグランドの解析が不可欠である。そのため、博士課程の 研究テーマの一つとして次世代シークエンサーを用いた両病 原体の全ゲノム比較解析を計画しており、その一環として今回 の疫学研究活動を行った。

受け入れ先のオランダ・ユトレヒト大学ダニ媒介性疾病研究所(Utrecht Centre for Tick-borne Diseases: UCTD)は、熱帯病を中心とした様々な疾病の病原体を勢力的に収集しており、中でも上記の病原体に関して突出した保有数を誇る。



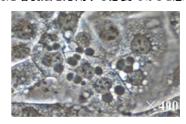


斬新なデザインの建物が多いユトレヒト大学構内

UCTDの協力の下、地理的分布あるいは宿主への病原性などの情報から、ゲノム比較解析上重要と考えられる分離株を選定し、E. ruminantium については12カ国由来の18株、T. parvaについては5カ国由来の6株から、in vitro での培養を経てDNAの抽出を試みた。

E. ruminantium とT. parva は、それぞれウシ大動脈内皮細胞とウシリンパ球に寄生して増殖する。次世代シークエンサーに供する遺伝子材料に、それら宿主細胞由来のDNAが混入することは、以後の塩基配列のアセンブリやアノテーションの障害となる。そのため、今回新たにE. ruminantium 菌体の精製法を確立する必要があった。T. parva に関しては、シゾント期虫体の精製法がすでに報告されており、それに準じることとした。日本にはE. ruminantium を保有する研究機関が無いことから、現地で菌体精製法を試行することとなった。その結果、界面活性剤処理による宿主細胞膜の破壊、DNase処理による宿主細胞核の分解、ならびに $0.5~\mu$ mフィルターによる物理的な選別の組合せが菌体の精製に有効であることが分かり、新たにE.ruminantium の精製法を確立することが出来た。T. parva に

対しては、既に報告のあるNocodazol処理とパーコール密度勾配遠心法によるシゾント期虫体の分離精製を行った。しかしながら、一部の分離株では虫体の分離精製に成功したものの、他の分離株では本法により完全に分離しなかったことから、新たなT. parva 精製法の確立という課題が生じた。また、現行のE. ruminantium 培養法では菌体の盛んな増殖が見られるまでに2-4週間の期間を要するため、約半数の分離株では今回の疫学研究活動期間終了までに十分量の菌体を得ることが出来なかった。さらに、今回選定したT. parva 分離株の中には、増殖速度の極めて遅い株があり、今後IL-2等のリンパ球増殖刺激剤を加えた培養法を応用する必要であると感じられた。



培養10日目の E. ruminantium Kerr Seringe株 (ガンビア由来)

2カ月間の滞在期間中に*E. ruminantium* に関しては18分離 株中Pokoase 471、Sankat 430、attenuated Gardel、Gardel、Kerr Seringe、Crystal Springs、attenuated Senegal、Senegal、Ball 3の 9株について、*T. parva* に関しては6分離株中Entebbe、Nyakizu の2株について精製度の高い菌体あるいは虫体由来DNAを得 ることが出来た。これらの遺伝子材料を用いて、現在東京大学 創成科学研究所においてソレクサシークエンサーによる塩基配 列の解読が進行中である。

慣れない環境での研究生活は困難も多かったが、同世代の若手研究者の助けもあって、本疫学研究活動期間中に期待した以上の成果を得ることができた。また、同時に新たな課題も明らかとなったことで、さらに今回の研究活動が有意義なものとなった。UCTDでは最新のダニ媒介性疾病に関する研究が行われており、実験の空き時間には彼らの知識や技術を存分に吸収することが出来た。さらに、現地の若手研究者との公私に渡る付き合いからは、将来の研究活動に有用であろう人的ネットワークが構築できた。これは今回得られた、もう一つの大きな成果だと考えている。このような海外での研究機会を与えて頂いたことに感謝している。



UCTDのメンバーとの集合写真

### 節足動物媒介性原虫感染症に関する研究

人獣共通感染症リサーチセンター国際協力・教育部門 杉本 千尋

疫学研究活動期間 2008年11月20日 - 2008年12月13日

#### ツェツェバエゲノムコンソーシアム出席

本コンソーシアムはツェツェバエゲノム解析を目的として組 織された国際コンソーシアムであり、WHO-TDR等のバックアッ プを受け、欧米先進国とサブサハラ諸国のトリパノソーマ、ツェ ツェバエ研究者、バイオインフォマティクス研究者が参加し、 2009年のゲノムドラフト解読を目標に共同研究を実施してい る。ゲノムショットガン解析は英国サンガーセンターが中心に実 施し、アノテーションについては南ア、英国などが協力して実 施することが確認された。2009年からは超高速シークエンサー (Genome Sequencer FLX)を導入し、サンガーセンターならび に、東大でゲノムシークエンスを重ねて、同年度中にドラフト解 読をめざすことが決定され、ゲノム解析も最終段階に入った。 日本チーム(北大、東大、理研、産総研)は完全長 CDNA解 析、BACクローン解析、454による解析、アノテーションなどを 分担し、本プロジェクトに大きく貢献している。今回の会議にお いては、完全長でDNA解析の現状、データベース公開と今後 の日本での研究計画について報告した。

開催地はケニアのモンバサであり、コンソーシアムに参加しているアフリカ各国(南ア、タンザニア、ケニア、ウガンダ)の研究者も出席し、ゲノム情報をいかにツェツェバエコントロールあるいはトリパノソーマ症制圧に活用するか活発に討議が行われた。

#### 東アフリカトリパノソーマネットワーク年次総会出席

ケニア、タンザニア、ウガンダ、ザンビアなどトリパノソーマが分布する地域の研究者で構成されたネットワークであり、スイス熱帯研究所、米国エール大学など欧米の研究者も参加している。年次総会ではトリパノソーマ感染症に対する遺伝子診断(LAMP)に関して招待講演を行った。特に簡易、迅速な検査法としてLAMPは着目されていることから、関心も高く、診断法として導入したいとの希望が多くの機関からなされた。特に着目すべきこととして、ウガンダ東部における人トリパノソーマ感染地域が拡大しつつあり、患者数も増加傾向にあるとの研究発表があった。今後、同国研究者と共同し、牛など家畜、ツェツェバエなどの原虫保有状況と遺伝子型解析などの疫学調査を実施し、疾病コントロールに情報を活用することが重要と考えられた。

会議後、ナイロビにある国際家畜研究所ならびにBECA (Biosciences Eastern and Central Africa)にも立ち寄る機会があり、Theileria原虫の比較ゲノム解析、家畜感染症に対するLAMP診断法開発についての共同研究、技術指導の可能性について協議を行った。BECAではカナダODA資金を得て、研究室を増設し、最先端の研究機器も導入するであり、一部では工事も始まっていた。特にアフリカ諸国で問題となっている原虫性疾患、人獣共通感染症に関する共同研究がBECAの新設ラボで実施可能と考える。

ザンビアにおけるトリパノソーマ原虫、節足動物媒介性疾患の疫学調査

ザンビア南部州ナムワラ地区での齧歯類の捕獲と採材、また付着している節足動物(ノミ、シラミ類)の採取を行った。同地域ではペストあるいは類似疾患の発生報告が時折見られることから、定点調査地点として、これまでに何度か齧歯類の調査を行っいる。今回は、患者が過去に発生したと報告された地点を中心に齧歯類を捕獲し、ペスト菌の遺伝子検査を中心に病原体検索を実施した。



写真1 トラップに捕獲されたツェツェバエ



写真2 ナムワラでの採材風景;テントでの仮設ラボ設営



写真3 共同研究者ハゴンベ博士

人獣共通感染症リサーチセンター 分子病態・診断部門 佐々木 道仁

疫学調査活動期間 2008年11月26日 - 12月11日 同行者 人獣共通感染症リサーチセンター 分子病態・診断部門・教授 澤 洋文

エボラウイルス感染症やマールブルグ感染症は人やサルなどの霊長類に重篤で、しばしば致死性の出血熱を引き起こす。これらのウイルスはフィロウイルス科のウイルスにより引き起こされるが、その自然宿主や感染経路は完全には解明されていない。これまで、ガボン、コンゴ共和国に生息するフルーツバットからエボラウイルス、マールブルグウイルスに対する特異抗体が検出されたという報告や、フルーツバットの脾臓と肝臓からPCR法によりエボラウイルス、マールブルグウイルスに特異的な核酸配列が検出されたという報告がなされている。また、2008年6月、ウガンダでコウモリと接触したオランダ人の観光客が帰国後マールブルグ感染症を発症し死亡している。

今回の調査は、フィロウイルスの疫学調査の報告がないザンビア共和国の首都ルサカより北東に位置するカサンカ国立公園 (写真左下)にて、この時期に公園内に生息しているフルーツバット (写真右上) を捕獲し、フィロウイルスやウエストナイルウイルスなどの人獣共通感染症のスクリーニングを行うことを目的としている。

ザンビアの国立公園を管轄するZambia Wildlife Authority (ZAWA) とカサンカ国立公園を管理・運営するNGO団体 Kasanka Trustの許可を得たのち、11月28日~11月29日に行った一回目の捕獲調査では81匹、12月5日~12月6日に行った二回目の捕獲調査では23匹、計104匹のフルーツバットを捕獲した。フルーツバットは麻酔により安楽死させ、全ての個体より採血を、一部の個体で翼長、全長、体重などの測定を行った後、アイスパックとともにクーラーボックスにつめてザンビア大学内の北海道大学人獣共通感染症リサーチセンターザンビア拠点(HUCZCZ)に持ち帰った。フルーツバットはBSL3施設内で解剖を行い、脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、唾液腺、結腸を凍結保存用とホルマリン保存用に分けて採取した(写真右下)。一部の妊娠個体からは胎子の採取も行った。





続いて脾臓と血清よりRNA抽出を行い、脾臓より抽出したRNAを鋳型にしてcDNAの合成を行った。

また、12月9日にはチャミヌカサファリパークにあるイボイノシシの巣周辺でダニの採取を行った。

今後、採取された材料を用いて、各種ウイルス、細菌、寄生虫 感染症のスクリーニングを行う予定である。

今回の疫学調査では、車のトラブルが何回も起こり到着が遅れるなど、日本の常識が通用しないトラブルにも見舞われ、海外で予定を立てて行動するということの困難さを実感した。ザンビア滞在中は、人獣共通感染症リサーチセンターの杉本千尋先生、澤洋文先生、高田礼人先生、中村一郎先生、ザンビア拠点に常駐されている石井秋宏先生、鈴木由佳先生、ザンビア大学サモラ・マシェル獣医学部学部長 Aaron S. Mweene先生に多大なサポートしていただき、食事、宿泊先ともに予想していたよりも快適に過ごすことができた。マンゴー、アボガドなど野菜や果物は、日本よりおいしい物もあった。しかし、ザンビアの一般的な主食であるシマ (Nshima) は、期待を裏切る味で残念だった。



人獣共通感染症リサーチセンター 分子病態・診断部門 川口 晶

疫学調査活動期間 2008年11月26日-2008年 12月11日 同行者 人獣共通感染症リサーチセンター 分子病態・診断部門・教授 澤 洋文

#### < 疫学研究活動の内容 >

ザンビア滞在中に2回、カサンカ国立公園においてフルーツバットの捕獲を行った。1回目は81匹、2回目は24匹を捕獲した。捕獲後に麻酔にて安楽死させたフルーツバットの体長、体重等を測定し、また心採血を行った後クーラーボックスに入れて持ち帰った。ザンビア大学BSL-3施設内のクリーンベンチで解剖を行いRNA回収用・凍結保存用・病理解析用に各臓器のサンプリングを行った。血清と脾臓からTRIZOL(Invitrgen)及びRNeasyMini(Qiagen)をそれぞれ用いてRNAの回収を行った。組織量が多すぎてRNAがとれないというハプニングもあったが、再度方法を改善して全ての個体からRNAを回収できた。得られたRNAの一部をM-MLV Reverse Transcriptase(Promega)を用いたRT反応によりcDNAにしてRNA及びcDNAを日本へと持ち帰った。

今後このcDNAを用いてウイルスに対するPCRを行いウイルスの有無を検索する予定である。

またチャミヌカロッジでのダニの採材にも同行し、イボイノシシの巣穴近くに多くいるダニを採集した。

KASANKA
NATIONAL PAR
WASA Leider sin
Wasa Leider sin

写真1 カサンカ国立公にて GCOE メンバーと

#### < 感想 >

ザンビアという日本とは全く環境の違う国を実際に見る事により、生活の格差を非常に実感した。これまで研究において、細かいメカニズムを解明していく事ばかりに目がいっていたが、ザンビアの人々は、自分が何の病気や感染症で苦しんでいるのかなど全く分からずに暮らし、時に死んでいくと思うと研究の方向性などについても考えさせられた。やはり治療に直接結びつく研究が出来たらいいと感じるとともに研究室にこもった実験だけではなく、疫学調査やフィールドの重要性を再認識した。

また、カサンカ国立公園内で実際に野生の動物を目の前で見る事が出来た時には感動した。せっか〈アフリカに行ったら、やはり野生の動物が見てみたかったので、車の前をプク(ザンビアとボツアナのみに生息するインパラに似た鹿の一種)が横切ったり、バブーンの集団が見られた時などには思わず「あっ!」と言ってしまう程だった。チャミヌカロッジは大規模なサファリパークの様な所で、ここでは完全な野生ではないものの、野生に近い状態での動物を沢山見る事が出来た。特にキリンなどの姿は忘れられない。また国立公園へ向かう際に通った村々で地元の人が売りに〈るMasuku(フルーツバットが好んで食べるという果物)、バナナやマンゴーなどを食べてみたりもした。最初は寄生虫なども気にしていたが、せっか〈なら…と色々食べてみたが、とてもおいしかったのが印象的である。

今までテレビでしか見た事がなかったアフリカの人々の生活を目の当たりにする事で自分たちの生活の豊かさを改めて感じたり、今まで感じなかった事を感じられるなど非常に貴重な体験が出来た2週間であった。

#### 日 程

11月27日(木)	到着、キャンプ準備
11月28日(金)	カサンカでの採材
11月29日(土)	"
11月30日(日)	サンプリング
12月 1日(月)	"
12月 2日(火)	組織のホモジナイズ
12月 3日(水)	RNA 回収
12月 4日(木)	"
12月 5日(金)	"
12月 6日(土)	カサンカでの採材
12月 7日(日)	カサンカでの採材、サンプリング
12月 8日(月)	RNA 回収、cDNA作成
12月 9日(火)	チャミヌカでの採材
12月10日(水)	帰国



写真2 カサンカ国立公園でのフルーツバットの測定及び採血前の状況(実際にコウモリが手元に来た時にはカメラを向けている余裕がないため)



写真3 ザンビア大学拠点BSL-3施設での作業時



写真4 チャミヌカロッジにおけるダニの捕獲

人獣共通感染症リサーチセンター 分子病態・診断部門 澤 洋文 疫学調査活動期間 2008年 11月 26日-2009年 12月 11日 同行者 人獣共通感染症リサーチセンター 分子病態・診断部門・川口 晶、佐々木 道仁、鈴木 忠樹 人獣共通感染症リサーチセンター 国際疫学部門・中山 絵里

本グローバルCOEプログラムの達成目標である「人獣共通感染症を克服するために、病因の自然宿主、存続メカニズムと伝播経路を解明し、もって感染症の発生予測および予防・制圧に資する研究を推進するとともに、斯かる新分野に貢献できる人材を育成すること」を目指して、「出血熱ウイルスの自然宿主の同定のための、野生動物からのウイルス遺伝子の検出、および血清疫学調査」を2008年11月26日から12月11日にかけてアフリカのザンビア共和国に出張をし、北東部に位置するカサンカ国立公園においてフルーツバットの採集、サンプリングを行った。

11月28 - 29日および12月6 - 7日の2回にわたり、人獣共通感染症リサーチセンター・ザンビア拠点のあるルサカ市のザンビア大学から車で約8時間かけてカサンカ国立公園を訪問し、総計104匹のフルーツバットの採集を行った。採集に行った人員は、北海道大学の職員である人獣共通感染症リサーチセンター 国際疫学部門の高田教授、ザンビア拠点の石井助教、鈴木助教および分子病態・診断部門の澤、また人獣共通感染症リサーチセンター分子病態・診断部門博士課程学生(DC2)の川口晶、佐々木道仁、国際疫学部門の中山絵里、分子病態・診断部門の特別研究員の鈴木忠樹の総計8名、および現地のザンビア大学獣医学部のスタッフであるDr. Mweene、Dr. Namangala、および技術員のMr. Monga、ザンビア自然保護局(ZAWA)の職員と車の運転手が同行した。

カサンカ国立公園まで約8時間かけて車で移動した(写真1,2)後、フルーツバットの採集を行い、血液を現地で採集した(写真3)。その後採集した検体をクーラーボックスに保管し、4 の状態でルサカ市のザンピア大学の人獣共通感染症リサーチセンター・ザンビア拠点に持ち帰った。



写真1:カサンカ国立公園入り口での集合写真。右から中山さん、佐々木君、川口さん、筆者。この後入り口から約30分かけて宿泊場所に車で移動。



写真2:カサンカ国立公園入り口での宿泊場所。テントを設営して宿泊。翌朝フルーツバットを採集。



写真3:カサンカ国立公園でのコウモ リ採集場所の様子。テントを設営して 採集したフルーツバットの計測・採血 を行った。写真左が筆者。

拠点では、2008年度に竣工したバイオセーフティーレベル3 (BSL-3)施設を用いて、採集した検体から安全キャビネット内で心臓、脳、肺、肝臓、脾臓、腎臓、腸管のサンプリングを行い、-80 に保管し、さらに、104匹の脾臓からRNAを抽出し、出血熱の病原体を主体としたウイルスRNAの検索に用いるためにcDNAを合成した(写真4)。



写真4: ザンピア大学北大ザンピア拠点でのBSL-3施設内のコウモリの組織の採集および組織から核酸を抽出している様子。写真左が筆者。右は北大ザンピア拠点の石井先生。

12月9日には感染症のベクターであるダニ類を採集することを目的として、北海道大学 国際協力・教育部門の杉本教授、分子病態・診断部門博士課程学生(DC2)の川口さん、佐々木君、国際疫学部門の中山さんおよび分子病態・診断部門の研究員、鈴木君とともに車で約1時間かけてルサカ市内のチャミヌカ公園を訪問し、総計200匹以上のダニ類を採集した(写真5,6)。



写真5:チャミヌカ公園でイボイノシシの巣穴に吸引機を挿入して、ダニの採集をする杉本先生、写真上側の左側の長靴を履いているのが筆者。



写真6:チャミヌカ公園で採集した ダニの写直。

本活動では、大学院生の川口さん、佐々木君、中山さん、若手研究員の鈴木君は初めてのザンビア訪問だったにも関わらず、特に問題も無く、順調に計画が遂行された。2009年度も大学院生および若手研究者の疫学的研究活動を推進する予定である。

人獣共通感染症リサーチセンター 国際疫学部門 中山 絵里 疫学調査活動期間 2008年 11月 26日 - 2009年 1月 8日 同行者 人獣共通感染症リサーチセンター国際疫学部門 教授・高田 礼人 人獣共通感染症リサーチセンター分子病態・診断部門 教授・澤 洋文 人獣共通感染症リサーチセンター国際協力・教育部門 講師・中村 一郎

ザンビア共和国のKasanka national parkにてフィロウイルスの自然宿主として疑われるフルーツバットの捕獲を行った(写真1,2)。2008年11月28~29日および12月6~7日の二回のサンプリングで、計104頭を捕獲し、心臓、肺、脾臓、腎臓、肝臓、脳、唾液腺、直腸、血清を採取した(写真3)。2006年、2007年に捕獲したフルーツバットの凍結保存サンプルも併せ、311サンプルの血清および脾臓組織からRNAを抽出し、フィロウイルス遺伝子の検出を行った。用いたフィロウイルス特異的プライマー3種類のうち、フィロウイルスのL遺伝子に特異的なプライマーによって、脾臓組織から遺伝子増幅像が認められた。増幅像が得られたサンプルを日本に持ち帰り、遺伝子配列の解析を行ったが、増幅された遺伝子はフィロウイルスの遺伝子ではないことが確認された。

また、2008年4月~11月の間にザンビアのLochinvar national parkにて採取した水鳥の糞594個からのウイルス分離を行った。6月に採取した糞から3株、7月および9月に採取した糞から1株のインフルエンザウイルスが分離された。ザンビア大学においてHA亜型を決定したところ、H3亜型1株、H2亜型1株、H6亜型2株であった。日本に持ち帰り、NA亜型の決定および塩基配列解析を行う。

今回のザンビアでの調査で、野外でサンプルを得ることや開発途上国で研究を行うことの苦労を体験することができた。また、ザンビアの研究者と関われたことは非常に良い経験となった。



写真1 捕獲したフルーツバット



写真2 飛翔するフルーツバット



写真3 ザンビア大学P3実験室

## ミャンマーにおける人獣共通寄生虫症の疫学と薬用植物の調査

#### 獣医学研究科寄生虫学教室 片倉 賢

#### 疫学調査活動期間 2009年1月12日-2009年1月25日

同行者 寄生虫学教室 D3・ソウ・ボン、農学研究科 准教授・松浦英幸、獣医学部5年生2名(寄生虫学教室所属)

Date		Activity	Stay
12 Jan 2009	Mon	Departure from Sapporo/Chitose to Osaka/Kansai Air Port by air.	Osaka
13 Jan 2009	Tue	Departure from Osaka/Kansai to Bangkok and Yangon by air.	Yangon, Sedona Hotel
14 Jan 2009	Wed	Meeting with Dr. Phay, Pathein University in the morning and with Livestock Breeding and Veterinary Department (LBVD) headquarter in the afternoon.	Yangon, Sedona Hotel
15 Jan 2009	Thu	Move from Yangon to Naypyidaw by air.  Meeting with Rector and professors from University of Veterinary Science, Yezin.	Naypyidaw/ Yezin University Guest house
16 Jan 2009	Fri	Giving lectures at University of Veterinary Science (Katakura and Matsuura).  Collection of medicinal plants (40 plant species) at National Herbal Park in Naypyidaw.	Naypyidaw/ Yezin University Guest house
17 Jan 2009	Sat	Collection of blood (on FTA cards) and feecs (into bottles) from 40 cattle and 20 goats at a livestock zone and 30 cattle and 20 goats at other livestock zone in Naypyidaw. Collection of ticks from cattle. Feeal examination and isolation of eggs/occysts from feecs by sugar floation method, followed by collection of these samples on FTA cards.	Naypyidaw/ Yezin University Guest house
18 Jan 2009	Sun	Move from Naypyidaw to Mandalay by car. Meeting with Mandalay LBVD.	Mandalay Great Wall Hotel
19 Jan 2009	Mon	Collection of blood and feces from 30 cattle and 20 goats at Mandalay City Development Committee, 10 cattle and 20 goats at Sein Thet Lu Company, and 21 cattle and 20 goats at Amarapura township in Mandalay. Collection of ficks and flies from cattle	Mandalay Great Wall Hotel
20 Jan 2009	Tue	Fecal examination and isolation of eggs/occysts from feces by sugar flotation method, followed by collection of these samples on FTA cards. DNA extraction from blood and eggs/occysts collected on FTA cards.	Mandalay Great Wall Hotel
21 Jan 2009	Wed	Move from Mandalay to Pyin Oo Lwin by car.	Pyin Oo Lwin Nan Myaing Hotel
22 Jan 2009	Thu	Collection of blood and feces from 30 cattle and 9 goats at Korrhow village, and 30 cattle and 10 goats at HoneBo village in Plyin Oo Lwin. Collection of ficks and files from cattle.  Collection of medicini plants (5 plant species) at National Botanical Garden in Pyin Oo Lwin.  Fixed examination and isolation of eggs/occysts from feces by sugar flotation method, followed by collection of these samples on FlAcards.	Pyin Oo Lwin Nan Myaing Hotel
23 Jan 2009	Fri	Move from Pyin Oo Lwin to Mandalay by car and to Yangon by air.  DNA extraction from blood and eggs/oocysts collected on FTA cards.	Yangon Sedona Hotel
24 Jan 2009	Sat	DNA extraction from blood and egg/oocysts collected on FTA cards.  Collection of traditional medicinal crude samples (10 samples) at Theingyi Market in Yangon.  Denarture from Yangon to Banekok by air.	In the plane
25 Jan 2009	Sun	Departure from Bangkok to Nagoya/Chubu and Sapporo/Chitose by air.	

#### <活動内容の概要>

1.ミャンマーにおける家畜および人獣共通寄生虫症の疫学調査のためのサンプリング

首都のネピドー(Naypyidaw)、マンダレー(Mandalay)、およびピンウーレン(Pyin Oo Lwin)の3つの都市周辺の農場で総計191頭のウシと119頭のヤギから血液と糞便のサンプリングを行った。血液は、DNAの長期保存と病原体の不活化が可能であるFTA®カードに滴下し、DNAを吸着させた。また、濾紙およびスライドグラス(薄層塗抹)にも血液を採取した。糞便はプラスチック容器に採取したのち、研究室においてショ糖浮遊法で糞便内の蠕虫卵および原虫オーシストを浮遊させた。浮遊材料をFTAカードに滴下し、DNAを吸着させた。回収した虫卵およびオーシストの一部については検鏡し、写真撮影した。FTAカードから直径3ミリのパンチを切り抜き、DNAを抽出しチューブに保存した。

#### 2.薬用植物のサンプリング

ミャンマーを含む東南アジア諸国で民間薬として広く利用されている薬用植物について、ネピドーの薬用植物園およびピンウーレンの植物園において、合計45種類の植物材料を採取し70%エタノールに固定した。また、ヤンゴン(Yangon)のマーケットで市販されている薬用植物材料を購入し、カウンター



パートのパテイン(Pathein) 大学教授のDr. Phayから簡 易精製した薬用植物粉末を 研究材料として受領した。

図1.ミャンマーにおける 調査地域



図2.マンダレーの農村におけるサンプリング



図3.ネピドーの薬用植物園

#### < 今後の研究内容 >

1.ミャンマーにおける家畜の寄生虫感染状況

血液から抽出したDNA材料を用いて、PCR法あるいはLAMP法により、血液原虫(バベシア、タイレリア、トリパノソーマなど)に特異的なDNAの検出を行い、各種血液原虫の感染状況と地域差を明らかにする。また、糞便由来DNA材料を用いて、PCR法あるいはLAMP法により、糞便内寄生虫や原虫に特異的なDNAの検出を行い、各種寄生虫の感染状況と地域差を明らかにする。

#### 2.薬用植物からの抗寄生虫活性物質の検索

採取した薬用植物について、メタノール抽出・分画を行なう。 分離抽出物について、抗トリパノソーマならびに抗リーシュマニ ア活性を測定する。抗寄生虫活性物質を精製し、その構造を 明らかにするとともに抗寄生虫活性を有する植物資源を特定 する。

## 野生動物生態と感染症研究

獣医学研究科生態学教室 坪田 敏男

疫学調査活動期間 2009年1月12日-2009年1月18日(ソウル大学) 2009年1月31日-2009年2月9日(ベルギー、ザンビア大学)

#### (ソウル大学)

#### 2009年1月12日-2009年1月18日

来年度の研究計画(主に野鳥からの血液等のサンプリング) について、Prof. Hang Lee(College of Veterinary Medicine, Seoul National University)と研究打合せを行った。また、野鳥 の飛来地であるCheorwon保護区にProf. Hang Leeの研究室 員といっしょに見学に赴き、疾病鳥獣の救護施設の見学(写真 1)、野鳥の観察(写真2)、及びセミナーを行った。また、韓国 南部の智異山麓にある種回復センターにて、ツキノワグマの再 導入事業についてDr.Bae-Keun LeeとDr.Dong-Hyuk Jeongよ り説明を受けた(写真3)。これに関連して、第2回アジア野生動 物医学ワークショップでのクマセッションの開催について打ち 合わせを行った。さらに、ソウル大学にて、Dr. Shin(Seoul National University), Dr. Kimura (Seoul National University)、Dr. Yanai(岐阜大学)らと今年8月にソウルで開催される 第2回アジア野生動物医学ワークショップの内容について打合 せを行った。共同研究については今後の進捗状況をみながら 連携を図っていくことになった。ワークショップは開催骨子がで きあがった。



写真1 韓国の疾病鳥獣救護施設



写真2 韓国 Cheorwon保護区で見られたガンガモ類



写真3 韓国智異山麓にある種回復センターで飼育されているツキノワグマ

#### (ベルギー、ザンビア大学)

#### 2009年1月31日-2009年2月9日

まずベルギーでは、Prof. J.F. Beckers (Faculty of Veterinary Medicine, University of Liege)とシカのPregnancy-Associated Glycoprotein検出に関する共同研究の打合せを行った(写真4)。また、ザンビアでは、Dr. Aaron Mweene (Dean)、Dr. Musso Munyeme(いずれもSchool of Veterinary Medicine, University of Zambia)およびDr. Victor Siamdaala (Director of Research, ZAWA)らと来年度の研究計画(主にリーチュエでの結核症の疫学調査)について研究打合せを行った。大筋で共同研究を行っていくことが同意された。

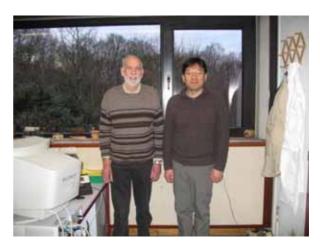


写真4 リェージュ大学のProf. J.F. Beckersと著者

## インドネシアのヒトおよび動物におけるハンタウイルスの流行調査

医学研究科微生物学講座 病原微生物学分野 有川 二郎 疫学調査活動期間 2009年1月25日 - 1月31日

同行者 医学研究科微生物学講座病原微生物学分野 准教授·森松 組子 医学研究科微生物学講座病原微生物学分野 助教·清水 健太

北海道大学とNational Institute of Health Research and Development, Ministry of Health, Jakarta, Indonesia (NIHRD)との間で、インドネシアにおけるハンタウイルス感染症および他の小型哺乳類由来人獣共通感染症の疫学調査に関する包括的覚書(MoU: Memorandum of Understanding)を締結するため、手続きを進めていくことで合意した。

北海道大学医学研究科とNIHRDのEcology and Health Status Research and Development Centre との間で、インドネシアthousand islandおよびSerangにおけるハンタウイルス感染症の血清および遺伝学的調査に関するAgreement of Collaborationを締結するため、手続きを進めていくことで合意した。

遺伝学的解析を行う際に、NIHRDのCenter for Biomedical and Pharmaceutical Research and Developmentの協力を得ることで合意した。

ヒト血清を収集する際に、Infectious Disease Hospital Prof. Dr. Sulianti Sarosoの協力を得ることで合意した。

セミナーにおいて、ハンタウイルス感染症に関する講演を行い、相互に同感染症に対する理解を深めた。インドネシア政府より、記念の盾を贈呈された。



写真1. セミナー会場にて。共同研究者のIma-Nurisa, I. (左から3番目), Vivi, S. (左から2番目), Firmansyah, H.I. (左から5番目)。

#### 協力機関

Ministry of Health

National Institute of Health Research and Development
Center for Ecology and Health Status Research and Development

Center for Ecology and Health Status Research and Developme Laboratory of Mammalogy and Reservoir Research

Center for Biomedical and Pharmaceutical research and Development Laboratory of Virology

Communicable Disease Control and Environmental Health Infectious Disease Hospital Prof. Dr. Sulianti Saroso



写真2. National Institute of Health Research and Development, Ministry of Health, Jakarta, Indonesia (NIHRD)より、記念の盾を贈呈された。



**写真3**. 建設中のBSL3実験施設を見学。床に立派なバイオハザードマークが。



**写真4.** バイクに生きたまま縛られて運ばれる大量の鳥。騒ぐと怒られていました。

# 国際ネットワーク構築および人材育成 (スリランカにおける狂犬病対策戦略のための疫学調査)

医学研究科予防医学講座 国際保健医学分野 玉城 英彦 疫学調査活動期間 2009年1月27日-2009年2月4日 同行者 同行者 医学研究科予防医学講座 RA:神田 浩路(現地滞在中)

我われは以前から、スリランカにおいて「狂犬病の疫学および対策」の活動を続けている。今回の目的は、1)ペラデニヤ大学獣医学部に常駐されている「北大COE狂犬病対策室」における研究の進捗状況の把握、および今後のラボ運営・研究に関する打合せ、2)狂犬病対策にかかわる研究の打合せ(ペラデニヤ大学、中央州保健局、キャンディ県保健局など)、3)狂犬病対策の一環としての子供たちによる狂犬病啓発プログラムの開発(案)の作成、およびフィールド視察が主なものであった。4)さらに今年度からスリランカ厚生省およびペラデニヤ大学と共同で、現在現地で多発しているレプトスピラ症の疫学研究の打合せを行った。

#### フォーローアップ

1.狂犬病啓発プログラムの実施·報告 2.レプトスピラ症疫学予備調査結果報告

#### 資料1.面談した人のリスト

#### 1) ペラデニヤ大学学長、獣医学部長、獣医のスタッフ

学長 Harischandra ABEYGUNAWARDENA 獣医学部長 Preene ABESENAYAKA 寄生虫教授 Jayanthe RAJAPAKSE 病理学准教授 Panduka GUNAWARDENA 微生物教授 Thula WIJEWARDANA 臨床研究准教授 Dangolla ASHOKA

#### 2) 医学部

予防医学准教授 Ranjith KUMARASIRI 予防医学准教授 Ananda JAYASINGHE 薬理学准教授 Nimmi ATHURALIYA 予防医学 Suneth AGAMPODI

#### 3) その他のペラデニヤ大学スタッフ

文学部長 Tudor SILVA 地理学教授 CB DISSANAYAKE 地理学部助教授 Rohan CHANDRAJITH

#### 4) 州およびキャンディ県のスタッフ

保健部長 Shanthi SAMARASINGHE コンサルタント医師 Gamini JAYAKODY 国立キャンディ病院 Tilak ABEYSEKERA キャンディ県 Perera GAMINI

#### 資料2.関連した写真



写真1. ハングンケッタ地区教育委員長との面談



写真2. ハングンケッタ地区教育委員会前で(担当官と研修生)



写真3.ハングンケッタ地区教育担当官と研修生

## スリランカにおける狂犬病を中心とした人獣共通感染症のサーベイランス 体制および狂犬病対策のための効果的なadvocacy体制の構築に関する研究

医学研究科予防医学講座 国際保健医学分野 神田 浩路

疫学調査活動期間 2008年 9月6日 - 2009年1月5日、2月6日 - 3月31日 同行者 大学院医学研究科国際保健医学分野 教授・玉城英彦 大学院医学研究科国際保健医学分野 助教・大林由英

平成17年9月にスリランカ・ペラデニヤ大学獣医学部に狂犬病対策室(Rabies Control Unit, RCU)では、が設置され、狂犬病の疑いがある動物の検死解剖が年間100件前後実施されている。しかし、RCUは開設後まだ3年を経過したのみであるため、今後現地の教員・スタッフが北大の手を借りずにRCUを運営・管理するには未だ改善点も多い。そこで、今年度はRCUのインフラ対策の一環として、これまでの活動で得られたデータを効率的に一括管理し、必要に応じて評価・解析などが可能なデータベースを構築した。また、効果的なアドボカシー体制構築のモデルとして、農村地域における小学生を対象に狂犬病学習プログラム"Edutainment 4 kids"を実施した。

#### データ管理システムの構築

データ管理システムは米国CDCが頒布するEpilnfo ver. 3.5.1 によって作成された。入力フォームは現在3ページで構成されている。1ページ目は来訪者の情報(氏名、連絡先、訪問日など)入力ができ、2-3ページ目には運ばれた動物の情報(種別、捕獲時の状況、ワクチン接種の有無など)および各種検査結果(塗沫標本検査、直接蛍光抗体法検査、組織学的検査(ネグリ小体)、MRIへの情報提供、追加試験依頼など)を入力できるようにした。これらは対策室設置のコンピュータで担当者と来訪者が画面上で情報を共有できるよう整備した。4ページ以後は今後実施されるであろう追加検査の結果や実験結果などの情報を入力できるように準備をした。また、現在までのデータを入力し、対策室の活動状況を把握した。

インターネット環境があれば誰でも簡単に無料でインストールできるEpiInfoはスリランカのような途上国にとっては非常に有用なツールであり、さらなる有効利用が望まれている。しかし、そのようなデータベース・統計分析ツールに精通している現地スタッフは非常に限られており、今後はその導入したシステムをいかに維持・発展させるかが大きな課題となる。現状では現地スタッフ自身で持続させるのは容易ではなく、北大からの研究者がトレーニング等を実施して人材育成の一助を担う必要があるであろう。

#### Edutainment 4 Kids

本プログラムは、遊びを交えた教育"エドゥテイメント"を通じて、スリランカの子供たちに対し、ペットの正しい飼い方・狂犬病予防の知識を身につけてもらうことを目的とした。方法は、まず該当地域の小学校教員による狂犬病予防啓発グッズ(IEC)を用いた教育プログラムを実施し、一方で小学生には予防啓発用ポスターの作成や身の回りの犬の写真撮影などの活動を通じて狂犬病について考える機会を設けた。また、小学生への教育効果を測定するため介入前後で簡単な調査を実施し、最後に、ポスター・写真コンテストを実施してその成果を披露、審査員により採点され、順位に応じて教育支援費として賞金(優勝Rs.10,000(約8,700円)、2位Rs. 7,500(約6,500円)など)が各学校の教員に手渡された。プログラムの参加者は、スリランカ・ヌワラエリヤ地区(エキリヤ、ディンブルクンブラ、ハプワラ、ウナンテンナ、モーロヤ、ウィグネシャワラ)の小学校6校の5年生約120名とした。

小学校教員への教育プログラムは2009年1月に実施された。 狂犬病の専門家4名がスリランカにおける狂犬病の現状や予防 方法を紹介し、小学生にプログラムを実施する意義を説明した。その後、各小学校を2グループに分け、一方は教員がIEC を元に授業を実施し(写真1)、他方はIECの配布のみにとどめ、その効果を介入前後で簡単な調査により評価することに同意した。また、小学生には予防啓発用ポスターの作成や身の回りの犬の写真撮影を通じて狂犬病について考える機会を設け、本プログラム最後のコンテストで競わせることに同意した。

教員による授業および介入効果を測定後、2009年3月にポスター・写真コンテストを地区教育局大会議場にて実施した。コンテストは玉城英彦教授による開会の辞で始まり、各学校の代表が身の回りで撮影した写真5枚を公開し、それがどの様に狂犬病とかかわりがあるかを現地語(シンハラ語またはタミル語)で発表した。各発表は審査員3名により採点された。一方、ポスターはA4用紙1枚に狂犬病予防に関することを描いてもらったものを会場後方に掲示し、休憩時間中に審査員による評価を受けた(写真2)。また、審査員による総合評価中には、ボランティアで小学生が事前に準備した狂犬病予防に関する演劇を英語で披露し、会場を沸かせた。コンテストは、ポスター・写真発表とも教員がIECを用いて生徒の教育をした学校が上位を独占する結果となり、地区教育次長の謝辞により閉会した。

本プログラムは、野犬増加に苦慮するスリランカにおいて、特に被害が大きい子供たちに対して様々なアクティビティを用いた"エドゥテイメント"という方法を用いることで、子供たちが楽しみながら狂犬病について正しい知識を得ることができた。今後は、狂犬病や犬による咬傷に対する保健行動をいかにして改善につなげるかを地域住民も巻き込んで考えていく必要があるであろう。



写真1:教員による授業風景







写真2:コンテストでの写真発表およびポスター審査風景

## A Preliminary Study on Molecular Epidemiology of Leptospirosis in Sri Lanka

Department of Global Health and Epidemiology, Graduate School of Medicine
Chandika Damesh Gamage

Project Period: From: 2009/02/09 - 02/25
Accompanied by Nobuo Koizumi, PhD, Department of Bacteriology, National Institute of Infectious Diseases

In tropical regions of the world, leptospirosis is a widespread public health problem. The disease is endemic wherever open sewers or agricultural practices lead to contamination of water with infected animal urine. Although most human leptospirosis infections are selflimited, complications are common, involving hepatorenal failure, pulmonary hemorrhage, and death in 10%-50% of severe cases. WHO has estimated that approximately 10-100 cases per 100,000 people are infected annually worldwide; In Sri Lanka an increasing trend of the disease was noted between 1991 and 2008. In 2008, 7099 cases and 204 deaths were reported to the Epidemiology Unit of the Ministry of Health. Hence, this pilot study was conducted to evaluate feasibility of applying molecular methods to early diagnose Leptospirosis and identify circulating leptospria species among the hospitalized suspected leptospirsis patients.

A total of 142 suspected leptospirosis blood samples was received from the Teaching Hospital of Peradeniya, University of Peradeniya, which were collected in 2008 during routine diagnostic purpose. Samples were stored under -80 until process for molecular analysis PCR at the Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science. DNA extracted from suspected serum by using DNeasy® Blood & Tissue Kit (Qigan,Hilden, Germany). The extracted DNAs were subjected to nested PCR for the detection of leptospira flab gene (flab-PCR). Sequencing of the amplicons and phylogenic distances calculation were performed at the National Institute of Infectious Diseases, Japan.

The mean age of patients was 42 years (SD 14.7) and 86% were males. Out of 142 samples, 3 samples were positive for flab-PCR with MAT titer was 0, 100 and 100. Sequenced amplicons revealed that leptospira species were deduced to be Leptospira interrogans and Leptospira kirschneri.

The results indicate that Leptospira interrogans and Leptospira kirschneri are circulating in the study area but future analysis is needed for more samples of both humans and animals.

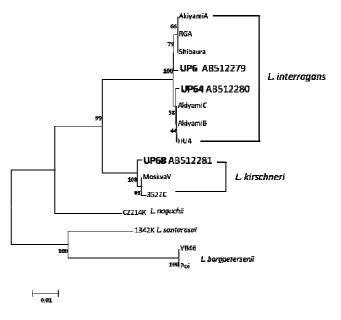


Fig 1 Analysis of Leptospira flaB gene



Fig 2 On duty at Molecular Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, University of Peradeniya, Sri Lanka.

# Report

## スリランカにおける狂犬病対策戦略のための疫学調査 およびレプトスピラ症に関する疫学調査

医学研究科予防医学講座 国際保健医学分野 玉城 英彦

疫学調査活動期間 2008年3月14日-3月22日 同行者 医学研究科予防医学講座 RA·神田 浩路(現地滞在中)

我われは以前から、スリランカにおいて「狂犬病の疫学および対策」の活動を続けている。今回の目的は、1)ペラデニヤ大学獣医学部に常駐されている「北大COE狂犬病対策室」における研究の進捗状況の把握、および今後のラボ運営・研究に関する打合せ、2)狂犬病対策にかかわる研究の打合せ(ペラデニヤ大学、中央州保健局、キャンディ県保健局など)、3)狂犬病対策の一環としての子供たちによる狂犬病啓発プログラムの開発(案)の作成、およびフィールド調査(ワークショップ)が主なものであった。4)さらに今年度からスリランカ厚生省およびペラデニヤ大学と共同で、現在現地で多発しているレプトスピラ症の疫学研究の打合せを行った。

#### フォーローアップ

狂犬病啓発に関するワークショップ報告書 狂犬病ウイルスに関する遺伝疫学的調査の準備 レプトスピラ症疫学予備調査結果報告

#### 資料1.面談した人のリスト

#### 1)ペラデニヤ大学、獣医学部長、獣医のスタッフ

- 1.獣医学部長 Preene ABESENAYAKA
- 2.寄生虫教授 Jayanthe RAJAPAKSE
- 3.病理学准教授 Panduka GUNAWARDENA
- 4.微生物教授 Thula WIJEWARDANA
- 5.臨床研究准教授 Dangolla ASHOKA

#### 2)医学部

- 1.予防医学准教授 Ranjith KUMARASIRI
- 2.予防医学准教授 Ananda JAYASINGHE

#### 3)その他のペラデニヤ大学スタッフ

- 1.文学部長 Tudor SILVA
- 2.地理学教授 CB DISSANAYAKE
- 3.地理学部助教授 Rohan CHANDRAJITH
- 4.英文学部長 Carmen WICKRAMAGAMAGE

#### 4) 州およびキャンディ県のスタッフ

- 1.保健部長 Shanthi SAMARASINGHE
- 2.コンサルタント医師 Gamini JAYAKODY
- 3.研修生 W. Dissayanake
- 4.研修生 NY Delpitiya
- 5.研修生 NGW Priyadarshani

#### 資料2.ワークショップに関連した写真



写真1.ワークショップの風景

写真2.ワークショップのポスター 事例





写真3.ワークショップのドラマ

写真4.ワークショップの発表会



写真5.ワークショップの発表会事例2



写真6.ワークショップの参加者と共に

## 南北ベトナム地方の齧歯類およびヒトにおける ハンタウイルス抗体保有状況の調査

医学研究科微生物学講座 病原微生物学分野 有川 二郎

疫学調査活動期間 2009年2月24日-3月4日

司行者 医学研究科微生物学講座病原微生物学分野 准教授・森松 組子 医学研究科微生物学講座病原微生物学分野 助教・遠藤 理香 医学研究科微生物学講座病原微生物学分野 修士課程学生・駒 貴明

我々は主に東南アジア諸国の研究機関と共同でハンタウイルス感染症の疫学研究を行っているが、今回の疫学研究活動ではベトナムの共同研究機関であるホーチミンのパスツール研究所とハノイの国立衛生研究所を訪問し、各施設の共同研究者と打ち合わせを行った。

これまでの共同研究では、ベトナムにおけるハンタウイルスの ヒトへの感染頻度、健康被害の状況を明らかにすることを研究 目的として、パスツール研究所と国立衛生研究所の共同研究 者にハンタウイルス感染症の診断法など技術提供を行い、南 北ベトナム地方の各地域で捕獲された齧歯類やヒト(不明熱患 者、健康者)のハンタウイルス抗体保有状況を調査してきた。

今回の訪問において、ホーチミン・パスツール研究所ではVu Thi Que Huong 博士とこれまでに行ってきた共同研究内容の結果や問題点を確認し、来年度以降の研究計画について討議した。さらに実際に調査研究に携わっている研究員と一緒に実験を行い、これまでに技術提供してきた実験系がうまく機能しているかどうかを確認した(写真1)。また、2008年秋にベトナムで初めてハンタウイルス感染症と診断された患者が入院していた病院を訪問し、担当医に話を聞く機会を得た(写真2)。



写真1:パスツール研究所の実験室



写真2:ホーチミンの病院訪問にて

患者の自宅周辺でハンタウイルス陽性げっ歯類が捕獲されているため、その地域の視察も行った(写真3)。同研究施設の研究員を対象としてセミナーを行い、ハンタウイルス感染症についての理解を深めてもらった。(写真4)





与真3: 陽性げっ歯類捕獲地域の視察

写真4: ハンタウイルス感染症セミナー

ハノイ・国立衛生研究所では、BSL3施設を見学し、この施設を用いたハンタウイルスの分離計画についてTruong Uen Ningh博士と打ち合わせを行った(写真5)。また、ハンタウイルス陽性げっ歯類が捕獲されているハノイ南部のNinh Binhの保健所を訪問し、周辺での感染症の発生状況と保健所における検査体制について話を聞き、今後のハンタウイルス感染症疫学調査への協力を依頼した(写真6)。



写真5:BSL3施設の見学



写真6: Ninh Binhの保健所訪問



## グローバルCOE推進室

〒060-0818 札幌市北区北18条西9丁目 北海道大学大学院獣医学研究科213号室 グローバル推進室 Tel/Fax 011-706-5294 gcoe@vetmed.hokudai.ac.jp http://www.vetmed.hokudai.ac.jp/gcoe/