

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23年度海外疫学調査報告



平成23年度 グローバルCOE活動報告

2-4

平成23年度 海外疫学調査報告 —Report—

| | |
|--|----|
| ハンタウイルスの自然宿主における存続機構の解明 医学研究科 微生物学講座 病原微生物学分野 清水 健太 | 5 |
| Sampling trip for the Asian elephant tuberculosis research in Nepal 獣医学研究科 環境獣医科学講座 野生動物学教室 Kyunglee Lee | 6 |
| 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 村松 美笑子 | 7 |
| ザンビアに於けるフィロウイルス感染症の疫学調査 人獣共通感染症リサーチセンター 国際疫学部門 黒田 誠 | 8 |
| スリランカの狂犬病制御プログラム評価と野外調査研修 医学研究科 予防医学講座 国際保健医学分野 塩川 愛絵 | 9 |
| Surveillance of surra and haematophagous insects in dairy farms of Chiang Mai, Thailand 獣医学研究科 動物疾病制御学講座 寄生虫学教室 Saruda Tiwananthagorn | 10 |
| フィリピンに於けるフィロウイルス感染症の疫学調査 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 | 11 |

平成23年度 グローバルCOE活動報告

1. 人材育成活動

■ Zoonosis Control Expert (ZCE)

人獣共通感染症対策専門家認定プログラム

2011年度前期 授与式 2011.9.26 合格者 2名

Bashir Osman Salim (スーダン、ハルツーム大学 講師)
Joseph Muiruri Kamau (ケニア、ナイロビ大学 講師)

2011年度後期 授与式 2012.3.7 合格者 6名

安田 俊平 (東京医科学総合研究所 研究員)
市橋 徹 (日本学術振興会 研究員)
小林 進太郎 (北大 グローバルCOE博士研究員)
中山 絵里 (国立感染症研究所 研究員)
瀬戸 隆弘 (静岡県庁 獣医師)
Saruda Tiwananthagorn (タイ、チェンマイ大学 講師)



■ Advanced Training Course for Zoonosis Control 2011

研修期間: 2011年7月29日(金)～11月25日(金)

研修生: 6名 (5カ国) + JICA 2名

1. Ms. Ema Qurnianingsih インドネシア
Lecturer, Biochem. & Molecular Biol., Airlangga Univ.
(指導教員 高田礼人教授)
2. Ms. Mahira Watanabe マレーシア
PhD student, Universiti Putra
(指導教員 杉本千尋教授)
3. Mr. Khorolmaa Chimedtseren モンゴル
Lecturer, School of Veterinary Science and Biotechnology,
Mongolian State Univ. of Agriculture
(指導教員 梅村孝司教授)



4. Mr. Marvin A. Villanueva フィリピン
Veterinarian, Philippine Carabao Center
(指導教員 鈴木定彦教授)
5. Mr. Nipawit Karnbunchob タイ
Veterinarian, Public Health Office, Health Dept., Bangkok
Metropolitan Administration
(指導教員 伊藤公人准教授)
6. Ms. Nataya Charoenvisal タイ
PhD student, Dept. Pathol., Chulalongkorn Univ.
(指導教員 喜田宏教授)
7. Mr. Lewis Chikambwe ザンビア
Chief Medical Laboratory Technologist, University Teaching
Hospital
(指導教員 鈴木定彦教授)
8. Mr. Humphrey Simukoko ザンビア
Lecturer, School of Veterinary Medicine, University of Zambia
(指導教員 杉本千尋教授)



■ Core Curriculum for Zoonosis Control 2011

開催期間: 2011年8月22日(月)～9月26日(月)

開催場所: 北大獣医学研究科、人獣共通感染症リサーチセンター
参加人数: 26名
(博士研究員1名、日本人大学院生4名、外国人大学院生2名、外国人研修生6名、JICA外国人研修生13名)



■ JICA 集団研修 「人獣共通感染症対策」

研修期間: 2011年8月22日(月)～9月14日(水)

開催場所: 北大獣医学研究科、人獣共通感染症リサーチセンター
参加人数: 11名 (10カ国)

参加国: 中国、ラオス、モンゴル、ヨルダン、アルゼンチン、インド、インドネシア、ミャンマー、ウルグアイ、ジンバブエ



■第5回グローバルCOEセミナー

開催日時:2012年1月27日(金) 17:00-19:00
 開催場所:北大獣医学研究科 講堂
 参加人数:65名(うち外国人6名)

招待講演者:倉田 毅先生
 (国際医療福祉大学塩谷病院教授、元国立感染症研究所所長)
 「感染症への取り組み一何のために? どうやって?」



講演者:浅野 喜造先生
 (北海道大学 人獣共通感染症リサーチセンター 特任教授)
 「水痘ワクチンの開発と実用化」



2. 講義

■平成23年度大学院共通授業科目

「人獣共通感染症の生態とその制御」

開講期間:2011年10月5日(水)~2012年2月1日(水)

開講場所:獣医学研究科 第2講義室

H23年度講義名

1. アルボウイルス感染症の疫学
2. 人獣共通感染症の対策;疫学研究とその手法
3. 代表的な人獣共通感染症の臨床像
4. インフルエンザウイルスの生態
5. リーシュマニア症の病態と疫学
6. 感染症の神経伝播メカニズムとその予防・治療
7. 感染症に対する細胞生物学的および疫学的研究
8. 齧歯類媒介性疾患の防疫
9. マウスにおけるウイルス感染抵抗性遺伝子の解析
10. プリオン病の病態
11. プリオン病の生前診断
12. 原虫による人獣共通感染症
13. 結核の診断、予防および治療
14. 病原体に対する宿主の生体防御システム
15. 病原体遺伝子の進化系統解析

■平成23年度大学院共通授業科目

「社会と健康II(研究方法論) Epidemiology I & II(疫学)」

開講期間:2011年8月1日(月)~2011年8月12日(金)

開講場所:医学研究科

3. シンポジウム・セミナー・講演会等

■市民公開講座

「鳥、ブタ、そしてパンデミックインフルエンザ騒動を斬る」

開催日時:2011年6月5日(日) 13:30-15:00

開催場所:北大獣医学研究科 講堂

講師:北大獣医学研究科 喜田 宏教授

参加人数:110名



■第3回国際若手研究者セミナー

The 3rd International Young Researcher Seminar for Zoonosis Control

開催期間:2011年9月16日(金)~9月17日(土)

開催場所:北大獣医学研究科 講堂

参加人数:140名(うち外国人参加者 39名)



1)特別招待講演者 2名

- ①永宗 喜三郎(国立感染症研究所・室長)
- ②Monique Lafon(フランス パスツール研究所・部長)

2)若手招待講演者 10名

- ①Justin A. Boddey (オーストラリア The Walter and Eliza Hall Inst. Med. Res. 研究員)
- ②Kirill A. Sharshov(ロシア ノヴォルシビルスク大・研究員)
- ③Rommie E. Amaro(米国 カリフォルニア大・講師)
- ④Glauciane Garcia de Figueiredo(ブラジル サンパウロ大・リベライラウンプレト校・大学院生)
- ⑤Stacey D. Gilk(米国 国立衛生研究所・博士研究員)
- ⑥Kimberly L.W. Schultz(米国 ジョンズ・ホプキンス大・PhD研究員)
- ⑦Sara Hideko Gilmore(米国 ジョンズ・ホプキンス大・研究員/PhD候補者)
- ⑧Julio Andre Benavides(フランス モンペリエ進化科学研究所・研究員/PhD候補者)

⑨Matthew R. Vogt (米国 ワシントン大学・大学院生)

⑩Alexander Niclas Freiberg (米国 テキサス大学・講師)

3) 北大参加者 52名 (口頭発表 12名、ポスター発表 40名)

4) ATCZC 2011研修生 6名 (5カ国)

5) JICA 研修生 2名 (ザンビア)

6) 事業推進担当者 16名

7) 若手組織委員 6名、座長 2名

8) その他 44名(教員、学外者、職員、学生)

■2011年度事業推進担当者研究成果発表会

開催日時:2012年3月8日(木) 10:00-16:30

開催場所:北大獣医学研究科 講堂

発表者:事業推進担当者19名

参加人数:85名(うち外国人19名)

■2011年度博士研究員、RA研究成果発表会

開催日時:2012年3月7日(水) 10:00-16:30

開催場所:北大獣医学研究科 講堂

発表者:博士研究員10名、特別研究員1名、RA11名、計22名

参加人数:95名(うち外国人22名)

4. 広報活動

■サイエンスアゴラ 2011

企画ブース:人獣共通感染症の克服を目指して

開催期間:2011年11月19日(土)~11月20日(日)

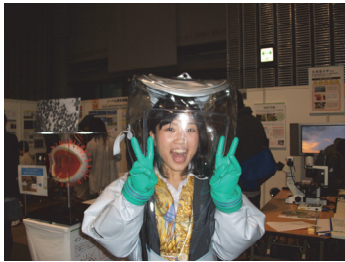
開催場所:東京 日本科学未来館

市民講演会:「コンピューターでイ

ンフルエンザウイルスを予測する」

講師:伊藤 公人准教授

開催日時:2011年11月20日(日)



5. その他

■国際会議「世界保健機関(WHO), 国際連合食糧農業機関(FAO), 世界動物衛生機関(OIE)による新興感染症および人獣共通感染症に関する地域フォーラム」

Regional forum of collaborating/reference centres on emerging infectious diseases and zoonoses

開催期間:2011年12月5日(月)~12月6日(火)

開催場所:北大獣医学研究科講義棟

主催:世界保健機関(WHO)

共催:国際連合食糧農業機関(FAO), 世界動物衛生機関(OIE), 北海道大学

参加者:世界保健機関(WHO), 国際連合食糧農業機関

(FAO), 世界動物衛生機関(OIE)ならびに各機関の共同・指定研究所・センターおよび北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター各機関の代表



■北大「若手人材育成シンポジウム “SynFOSTER 2011”

開催日時:2012年1月26日(木) 17:00-18:30

開催場所:北大 学術交流会館

ポスターセッションに参加

6. GCOE経費での海外疫学調査

スリランカ7名、タイ3名、ネパール2名、ベトナム7名、フィリピン、インドネシア、モンゴル2名、ザンビア

■平成23年度GCOE採用人数 (H24年3月31日現在)

| | | |
|-------|-----|----------|
| 博士研究員 | 12名 | (内2名外国人) |
| RA | 10名 | (内3名外国人) |
| 特別研究員 | 1名 | |
| 技術員 | 10名 | |
| 事務員 | 2名 | |

■博士研究員進路

中山 洋佑 (北大 遺伝子病制御研究所・特任助教)

神田 浩路 (三重大学・助教)

佐々 悠木子 (東京農工大学・助教)

安田 俊平 (東京医科学総合研究所・研究員)

米澤 弘毅 (長浜バイオ大学・助手)

磯田 典和 (北大 人獣共通感染症リサーチセンター・准教授)

大塚 弥生 (札幌医科大学 神経再生医療科・特任助教)

■リサーチアシスタント進路

Saruda Tiwananthagorn (タイ、チェンマイ大学・講師)

ハンタウイルスの自然宿主における存続機構の解明

医学研究科 微生物学講座病原微生物学分野 清水 健太

疫学調査活動期間 2011年7月10日－2011年7月16日、2012年2月12日－2012年2月21日
同行者 医学研究科 病原微生物学分野 准教授・吉松組子(7月)、助教・五十棲理恵(7月)、
博士研究員・安田俊平(2月)、博士課程学生・駒貴明(7月)

ソウル型ハンタウイルスはラット (*Rattus norvegicus*) を自然宿主とする。感染した野生ラットは症状を示さず、持続的にウイルスを排出するとされる。一方、実験用ラットでは、一過性に感染するのみで排除される。なぜ野生ラットでは持続感染が成立するのか、そのメカニズムは明らかではない。そこで、本研究では、野生ラットでの感染後の細胞性免疫の誘導状態を明らかにするため、感染および非感染個体のハンタウイルス特異的細胞傷害性T細胞 (CTL) 応答を解析した。

これまでの調査で、ソウル型ハンタウイルスを高率に保有することが明らかとなっている、ベトナム、ハイフォン港 (図1) の野生ラット集団を対象とした。2011年7月11～13日および2012年2月13～15日に、リンゴなどをえさとしたトマホーク型トラップを設置し、合計79匹 (うち63匹が *R. norvegicus*) のげっ歯類を捕獲した (写真1)。心臓より採血した後、ノミなどの外部寄生虫 (写真2) を取り除き、全長、尾長、体重を測定し、種および性別を判別した。解剖し、肺、肝臓、脾臓、腎臓、眼球などを採取した (写真3)。脾臓については、培養液に入れて冷蔵保存し、その日のうちに、ハノイの国立衛生疫学研究所のBSL3実験室で脾細胞を分離した。その後、ハンタウイルス抗原 (合成ペプチド) およびIL-2を含む培養液で1晩培養後、産生されたインターフェロン γ を検出することにより、CTL応答の程度を調べた。また、血清を分離し、イムノクロマト法 (写真4) およびELISAによりハンタウイルス特異的IgG抗体の有無を調べた。

合計14匹のラットから抗体が検出された。感染および非感染ラット間でCTL応答を比較した結果、有為差は認められなかった。このことから、野生ラットでは、感染後の細胞性免疫の誘導が抑制されていることが示唆された。今後、細胞性免疫抑制のメカニズムを解明することが重要と考えられる。



図1. げっ歯類を捕獲した場所



写真1. 捕獲したラット

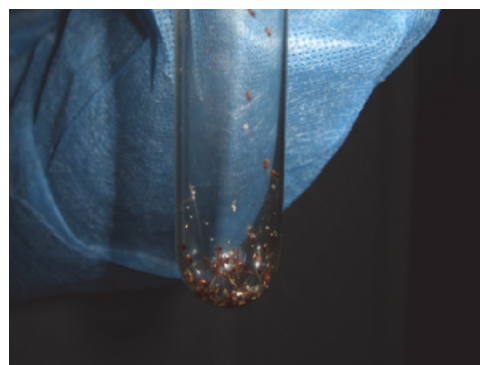


写真2. ラットから除去したノミ



写真3. 臓器の採取

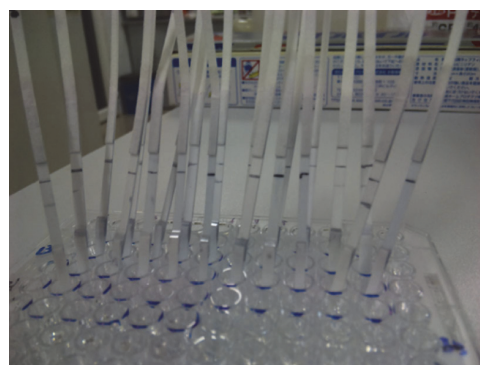


写真4. イムノクロマト法による抗体の検出

Sampling trip for the Asian elephant tuberculosis research in Nepal

獣医学研究科 環境獣医科学講座野生動物学教室 Kyunglee Lee

疫学調査活動期間 2010年7月26日-8月3日

同行者 獣医学研究科 環境獣医科学講座野生動物学教室 教授・坪田敏男

Tuberculosis of Asian elephants has been diagnosed world-wide. In a report of Nepal TB Project, the prevalence of Tuberculosis is 11~25% of tested captive population in USA, Nepal and India. Elephant Tb diagnosis is usually confirmed with the rapid kit, Elephant TB STAT-PAK assay. The kit is a serological test to detect antibody to *Mycobacterium Tuberculosis* and *M.bovis* and make it feasible to give an early diagnosis. In practice, other methods are limited in elephant TB diagnosis. Tuberculin test is not available on elephants and X-ray is neither. Isolation from trunk wash samples has many drawbacks in the field but can give genetic information of pathogens. A Swedish report presented, they could get only 7 positive isolations from 189 trunk wash samples of 5 elephants with TB confirmed in necropsy. Indeed, it is needed to train elephant prior to sampling and demands more delicate lab working that makes it difficult in limited condition. Therefore, the trials or efforts to find altered way to get the trunk droppings from captive elephant would be beneficial in Nepal.

From 26th of July to 3rd of August 2011, a trial sampling and diagnostic trip for elephant tuberculosis in Nepal was held. In this time, we have met the associated people to work with our lab in future and experienced the facilities available. Mr. Sarad Paudel, who worked with the Nepal Elephant TB project and arranged the meeting and the sampling through the whole process in Nepal.

In total, 8 blood samples, 6 trunk droppings and 2 milk samples were collected from 4 Tb negative and 4 Tb positive elephants which were previously diagnosed with rapid kit and under treatment. 6 trunk droppings and milk sample were handled according to the guideline for the control of Tuberculosis in elephants with several modifications for culture and DNA extraction. Extracted DNA from the samples was delivered to Japan for further PCR to detect *Mycobacterium Tuberculosis* complex.

There was no positive result in detecting PCR for *Mycobacterium*

tuberculosis complex. Even though we collected sample from Tb diagnosed elephants, they were under the antibiotic treatment, it seemed to stop shedding pathogen. Firstly, in the *Mycobacterium* species identification PCR, many similar bands came up but not exact positive one. The result is considered as some contamination with environmental mycobacterium or similar species. All of the hematology results are in the reference value. This trial sampling was worthy of experiencing the research condition in situ. With welcoming and supports of many colleagues working in Tuberculosis research and wildlife management, we could manage the first trip in Nepal without events. Mr. Sarad Paudel, now, joined our laboratory to investigate elephant Tb in Nepal. I hope he can enjoy his study in Japan as I did.

Finally, I very appreciate all the support for this trip from GCOE office and Veterinary School of Hokkaido University.



Fig 1. Blood sampling from elephant's auricular vein. In Chitwan National Park Elephant Center.



Fig 2. DNA extraction from collected trunk drop sample in the German-Nepal tuberculosis center lab. In Kathmandu.

| | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 | E6 | E7 | E8 |
|--------------------------|-------|-----|----|----|------|------|-------|--------|
| Sex | ♀ | ♀ | ♀ | ♀ | ♂ | ♂ | ♀ | ♀ |
| Tb | - | - | - | - | + | + | + | + |
| Place | A | A | A | A | B | B | B | C |
| Sampling | B/T/M | B/T | B | B | B/T | B/T | B/T/M | B/T |
| Treatment Administration | | | | | Oral | Oral | Oral | Rectal |

Table 1. Information of sampled elephants and sampling. B;Blood, T;Trunk dropping, M;Milk

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 村松 美笑子

疫学研究活動期間 2011年8月24日-2011年 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
技術員・宮本洋子、大学院生・野依修

【はじめに】

「ただサンプリングに同行するんじゃない、次に一人で行って来い、と言われた時に自分で調べて、準備して、行って帰って来れるくらいにしなきゃだめだぞ。」旅行準備の際、教授に頂いた言葉である。半ば浮かれ気分でした私の中で、突然責任が重くなったのを感じた。

A型インフルエンザウイルスの自然宿主は野生水禽である。彼らは夏季の繁殖期を北極圏の営巣地で過ごし、秋には南方の各地へ渡っていく。本センターでは毎年、南方への渡りに先立つ8月末～9月頭に、北極圏に近いモンゴル北部に点在する湖沼を巡り、野生水禽におけるインフルエンザの流行状況を調査している。日本では前年冬～本年春にかけて、渡り鳥が感染源と考えられる高病原性鳥インフルエンザの連続発生があり、今回はその後の野生水禽における高病原性鳥インフルエンザウイルス保有状況を把握する上でも重要な調査であった。

【野外調査初日】

叱られた。初日にも関わらず遠くで単独行動したためである。採取するのはカモの糞であるが、湖沼にはカモメ・ガン・白鳥など様々な鳥の糞が落ちている。落ちていたときの形状と糞便内部の性状を合わせてカモ糞かどうかを判別できるのであるが、その目も養われていないのに勝手に採取してきても確実なサンプル採取は望めない。また、声も届かない場所に一人で離れては、何かあった時誰も助けられない。泥にはまって動けなくなることはあるし、湖畔には馬や牛などがうろうろしており、予想外のトラブルはいくらでも起こりうる。最後に、何よりも団体行動を乱してはいけない。本来は言われるまでもない基本事項であるが、探すことに夢中になって全体的な状況判断が出来ていなかった。叱られているとき、教授の“ここはちゃんとと言わなければ”という意識が感じられ、非常にありがたいと思った。初めての本格的サーベイランス活動における、記念すべき最初の洗礼であったと思う。

【カモがいない！】

さて、初めの調査地は付近一帯で最も大きな湖Ugii(ウギー)湖であったが、ほとんどカモがおらず、採取できたのはたった5サンプルだった。湖畔に新しくツーリストキャンプができて人が増えたせいでカモが減ったのではないかと、との話であった。

翌日向かった湖でもカモは少なかった。いくつかの場所では乾燥した糞が散在しており、数日以上前にそこに群れが滞在したらしかったが、ウイルスを分離するには新鮮な糞でなければならない。もしこのまま、続くサンプリング地でもカモの群れがいなかったら、次にどこを探したら良いのだろうか？日程の半分を経過した時点で採取予定1000サンプルのうち300サンプルも採取できていなかった。現在調査しているいくつかの湖も、数年前に先生方が、現地の方に話を聞いて、道なき道を大変な苦勞をして

たどり着いたのだという。新しい湖を探しても辿り着くだけで1日ばかりになるし、そうして見つけた湖も、カモが必ずいるとは限らない。開発や気候変動を受け、安全・安心かつ餌の取れる場所を求めて彼らは流動する。見渡す限りの広大なフィールドの中で、野生動物を対象としたサーベイランスの難しさを実感した。

【カモ糞パラダイス】

「カモ糞いっぱい！パラダイス！」そう叫ぶ声が聞こえてきたのは3日目の午後、Khunt(ホント)湖でのことである。そこには新鮮なカモ糞が、辺り一面に落ちていた！一個サンプルを拾っても、三歩と進まないうちに次のカモ糞に出会う。みんな夢中になってカモ糞を拾った。ここでの2時間余りで、およそ300個を回収し、一気に倍以上のサンプル数になった。



Khunt湖 カモ糞パラダイス

最終的には、7つの湖で合計899サンプルを採取できた。7つ巡ればどこかが当たりになるのかもしれないが、移動する野生動物の群れを、場所的・時間的に捕らえることの難しさを感じた行程であった。

野外調査の道中は、殆どが未舗装道路であった。舗装道路を走っていた当初は、車窓から広大な景色を“うわ～、モンゴルだ～！”と眺めていた。が、未舗装道路に出た途端、自分がその景色の一部なのだと思い知らされた。以降6日間、延々と道なき道を走り続けることになる。轍に点在する大きな穴を避け、岩だらけのガタガタ平原を抜け、川を渡り、峠を越えた。あんな激しい道中をよく頑張ってくれたものだと、ドライバー方にも車達にも感謝したい。帰途についた5日目の夜、車が舗装道路へと上がった時に、「…戻ってきちゃったな～」と呟いた教授の言葉が印象的だった。

【結果】

帰国後、およそ一ヶ月間がこのサンプル検査に費やされた。分離されたウイルスは合計32株、内A型インフルエンザウイルスは28株、パラミクソウイルスが4株であった。幸い高病原性鳥インフルエンザウイルスの検出はなかった。サンプリングからウイルスの分離・亜型判定まで、多くの関係者のご指導・ご協力をいただいた。このような機会を与えていただいたことに、またこの貴重な経験を、分かち合い与えてくれたサンプリングチーム・研究室の方々に、心から感謝を伝えたい。そして今後、この経験を生かせるようしっかりと自分の糧にしていきたいと考えている。



Druun tsagaan湖にてサンプリング

ザンビアに於けるフィロウイルス感染症の疫学調査

人獣共通感染症リサーチセンター 国際疫学部門 黒田 誠

疫学研究活動期間 2011年11月20日-2011年12月18日

同行者 人獣共通感染症リサーチセンター 教授・高田礼人、澤洋文

講師・中村一郎 特任助教・吉田玲子、大場靖子 ザンビア拠点 助教・石井秋宏

今回、私は、11月20日から12月18日までのおよそ1ヶ月間、ザンビア共和国における野生動物(サル、げっ歯類およびコウモリ)の病原体保有状況の把握を目的とした疫学調査に同行させてもらった。その中でも、私は主にフィロウイルスの自然界における分布状況の把握および自然宿主の同定を目的とした疫学調査に関わった。

フィロウイルスはヒトを含む霊長類に感染し、致死的な出血熱を引き起こすことが知られている。フィロウイルス感染症の多くはアフリカで発生しているが、人や動物、物資が世界中の様々な地域を行き交うようになった現代においては、いつどこでフィロウイルス感染症が発生してもおかしくはない。



写真1. カサンカ国立公園に生息するコウモリの群れ(黒い点一つ一つがコウモリである。)

近年、エボラウイルスの遺伝子および特異抗体が異なる3種のfruit bat (*Hypsignathus monstrosus*, *Epomops franqueti*および*Myonycteris torquata*)から検出され、2009年にはマールブルグウイルスがegyptian fruit bat (*Rousettus aegyptiacus*)より分離されたことから、現在、フィロウイルスの自然宿主動物としてfruit batが有力視されている。Fruit batは、ザンビア共和国およびフィロウイルス感染症が報告されている国々を含む広い地域に分布しており、ザンビア共和国においてはカサンカ国立公園にて巨大なコロニーを形成している。2011年に、カサンカ国立公園において観測されたコウモリ数は1000万匹を超えたと報道され(2011年11月22日「The Post」)、コウモリ間でウイルスを保持していくにも十分な規模である(写真1)。



写真2. 庭の木に留まるfruit bat



写真3. fruit batの捕獲前準備 写真4. 捕獲されたfruit batの様子

本疫学調査では、ザンビア共和国の首都ルサカ市内にあるザンビア大学の北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター・ザンビア拠点を基点として、野外にてfruit batのサンプリングを行い、拠点にてfruit batからのフィロウイルス遺伝子の検出およびウイルス分離を試みた。サンプリングは、12月1及び2日にンドラ市内の住宅地(写真2~4)、12月6~8日にカサンカ国立公園において実施し(写真5, 6)、計95匹のstraw-colored fruit bat (*Eidolon helvum*)を捕獲した。捕獲したコウモリは現地で麻酔処理を施した後、採血、雌雄判別および体長・翼長・体重の計測を行い、可搬型冷蔵庫に保管して、拠点に持ち帰った。拠点では、BSL3施設において解剖を行い、各臓器(肺、脾臓、肝臓、腎臓、脳、結腸、唾液腺)を採取した。肺・脾臓・肝臓からはそれぞれRNA抽出を行い、RT-PCR法によりフィロウイルスの遺伝子の検出を行った。結果、いくつかのサンプルにおいて、陽性反応が認められた。これらのサンプルに関しては、帰国後、シーケンス解析を行ったが、フィロウイルスの遺伝子配列と一致する配列は認められなかった。また、ウイルス分離を目的として、血清、結腸由来の乳剤および肺・脾臓・肝臓・腎臓由来の各臓器乳剤のプール乳剤を培養細胞に接種し、経時的に細胞変性効果を観察した。結果、著しい細胞変性効果は認められなかったが、引き続き、ウイルス分離に用いるため、全サンプルの培養上清を回収し、保存した。

最後に、今回のサンプリング全日程を終えて、疫学調査が人種を問わず、多くの人々および組織の協力と理解の下に行われているということ、また、得られた知見を、現地の人々のために還元していかなくてはならないということ強く感じた。このような貴重な機会を与えてくださった皆様に深く感謝いたします。



写真5. 体測の様子

写真6. 採血の様子

スリランカの狂犬病制御プログラム評価と野外調査研修

医学研究科 予防医学講座国際保健医学分野 塩川 愛絵

疫学研究活動期間 2011年12月15日-2012年3月14日

今回、日本学生支援機構のSS&VSプログラムと北海道大学GCOEプログラムの助成にて派遣されたスリランカでの体験を報告したい。

【現地ワークショップへの参加】

2011年12月19-20日にコロンボで開催された“Workshop for Preparation of National Strategy and Building of Effective Partnership between Stakeholders for Rabies Elimination by 2016”に、ペラデニヤ大学獣医学部のRajapakse教授とともに参加した。2011年9月に開催されたOIEのGlobal Conference on Rabies Controlでは、世界の狂犬病被害者は年間5.5万人を上回る7万人という推定値が提示されていた。特に最も被害の多いアフリカ、アジア地域では狂犬病に関するデータが欠如していることが指摘され、実際の被害者数は10万人を超えるのではないかと推測されている。スリランカは島国で、森林型狂犬病の流行もなく、国内におけるワクチン供給も比較的安定していることからアジア圏では撲滅の可能性が高い国として国際的に注目を集めている。すでに行われている他国での狂犬病対策として、バリ島での事例が紹介された。バリ島では狂犬病の疾病サーベイランスシステムを紙によるレポートだけではなく、携帯のSMS(Short Message System)を併用した迅速報告・対応システムや、近年日本でも取り入れ始められている参加型疫学手法を用いた獣医療スタッフおよび医療スタッフの研修システムが採用されている。なお、参加型疾病サーベイランス対策(PDSR)はすでにインドネシア全体で鳥インフルエンザのモニタリングに使われており、担当行政間を越えた協力・連携体制を整えて円滑に対策を進めるものとして他国や他の疾患での応用も期待される。鳥インフルエンザ対応研修成果とその評価は、“Independent evaluation of FAO’s PDSR programme in Indonesia”にまとめられている。さらに医師、獣医師、政府機関、NGO、大学関係者の中で活発な意見交換が行なわれ、社会病とも呼ばれる狂犬病対策の複雑さを目の当たりにすることとなった。公害という面から見た路上犬への対応、路上・飼育犬の個体数管理、増え続ける暴露後予防接種への対応、猫を中心とした犬以外の哺乳類への狂犬病対策、診断技術の向上、遠方への脳サンプル輸送問題、ワクチンキャンペーンの時期・回数の問題、サーベイランスシステムの構築、ワクチンの免疫化効力程度・持続期間調査の必要性など課題が山積みである。さらに、検疫についても強化が必要との指摘があったが、残念ながら時間切れで具体的な討議は行われなかった。また、20日にはワークショップがあり、「犬の個体数管理」「犬のワクチン接種事業」「暴露後予防接種」「狂犬病診断」のテーマごとにグループに分かれて話し合い、今後の計画を大まかながら作成することができた。ミーティング後も各機関が話し合いの場を設けて計画を密にしていける必要性を残し、2日間の日程が終了した。

【野外調査の実地研修】

所属研究室のスタッフおよび修士学生が行うレプトスピラ症の地域調査に同行し、事前準備や現地のインタビュアーの雇用、地域

のカウンターパートとのコミュニケーションなど屋外に出て動く部分から、調査終了後の質問用紙の処理など屋内作業まで一連の流れを学ぶことができた。それまで野外調査に関わったことが無かったため、スケジュール調整の大変さや地域を担当する保健医務官(PHI)とのコミュニケーションの難しさ、また適正報酬など行間を読まなければいけない調整の難しさに直面し、事前準備の大変さ、重要性を知った。その後、受け入れ先のペラデニヤ大学医学部と獣医学部が合同で行ったリケッチア感染症の地域調査にも同行する機会が得られた。どちらの野外調査でも、調査先の村住民の方々は驚くほど突然の訪問者に対して戸口を開いてくださり、強い日差しの中歩き回って少し疲れた顔を見せればお菓子や食事をすすめられ、現在の日本ではもはや考えられないような他人への接し方に大変驚いた。この野外調査研修で学んだ事や実体験は帰国後も今後に向けた調査計画書の作成時やスリランカ以外の国での問題を考える時にも非常に役立っており、今後は自分の研究テーマで野外調査に取り組みたい。



スリランカは地域犬が本当に多い 野外調査ペラデニヤ大学合同チーム

【スリランカ西部ガンパハ区路上犬の抗狂犬病ウイルス抗体価測定】

野外調査研修も終え、残りの2か月を持って余しそうになっていたころ、ペラデニヤ大学で私の指導教官を務めてくださったRajapakse教授よりガンパハ区の路上犬における血清疫学調査の話を知った。北海道大学での所属先研究室が予めより計画していた調査用の血清が保管してあるとのことで、急遽日本のスタッフの方々より多大なる尽力を賜り、GCOEのご支援により購入、保管してあったELISA Kitを空輸して頂いた。Kit到着後、4日間で197検体を分析し、結果54%の犬がKit指定の狂犬病ウイルス感染予防に十分な抗体価を上回っている結果が得られた。この後、個体ごとの性別・BCS・1歳未満または1歳以上で区分した年齢などを抗体価と比較し、性差・栄養状況・年齢が免疫力価の程度に影響を及ぼすものなのかデータ処理に入る予定であったが、現地担当者の作業が遅れているため現在は一端作業を中断している。ガンパハ区はスリランカ国内でも毎年10人近い死者をだしており、全国で50人前後の狂犬病死者数を考えると死者が集中している区だと分かる。今年度は、ガンパハ区で年間を通した集中的な対策が行われるとのことである。

最後に、3か月の滞在期間中、大変お世話になりました現地アシスタントのNisa akki, Wasantha akki, Rajapakse教授を筆頭にDepartment of Pathobiologyのスタッフの皆様、調査先で出会った住民の皆様、日本のGHEスタッフの皆様、GCOEスタッフの皆様、北海道大学 獣医学部・医学部の先生方皆様、Bohoma stuti! (ありがとうございました)

Surveillance of surra and haematophagous insects in dairy farms of Chiang Mai, Thailand

獣医学研究科 動物疾病制御学講座寄生虫学教室

Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Thailand Saruda Tiwananthagorn

疫学調査活動期間 2011年12月14日—2011年12月29日

同行者 獣医学研究科 動物疾病制御学講座寄生虫学教室 教授・片倉賢 准教授・加藤大智

【Background and Objectives】

“Surra” or trypanosomiasis, caused by *Trypanosoma evansi* infection, is mechanically transmitted by haematophagous insects such as *Tabanus* spp. and *Stomoxys* spp. In addition, phlebotomine sand flies and *Culicoides* midges were reported as the potential vectors for trypanosome transmission^{1,2}. Recently, the abortion cases have increased in dairy farms of Chiang Mai from September to December. In the present study, monitoring of *T. evansi* infection in dairy cattle and identification of haematophagous insects in dairy farms been carried out by using high sensitivity molecular-based techniques.

Location: six dairy farms in San Sai and Mae Wang districts, Chiang Mai, Thailand, where the abortion cases have been observed (Fig. 1).



Fig.1 Location of the study areas in Chiang Mai Thailand; San Sai (SS) and Mae Wang (MW) districts of Chiang Mai, are indicated in the map.

【Work plans】

1. Blood sampling from dairy cattle

- Identification of *T. evansi* by using Haematocrit Centrifugation (HCT) method
- Blood preserved on the FTA[®] Elute Cards and sera preserved in -20°C fridge
- Identification of *T. evansi* by using PCR

2. Insect sampling

- Collection by using NZI traps, CDC and modified light traps (Fig. 2)
- Storage in 70-80% alcohol or inactivating at 4°C
- Morphological and molecular identification of haematophagous insects
- Identification of *T. evansi* by dissection of fly gut and using PCR
- Identification of host blood species by using molecular techniques



Fig. 2 NZI trap (left), CDC (middle) & modified light (right) traps

【Results and Discussion】

The total 63 blood samples were collected. The prevalence of *T. evansi* infection diagnosed by HCT was only 4.76% (3/63). The preserved blood on the FTA[®] Elute cards will be further examined to investigate the infection by using molecular technique.

The NZI traps were set up in these 6 dairy farms in the day time for approximately 2 to 3 hours. Three species of *Tabanus* flies including *T. rudicus*, *T. striatus* and *T. eurytopus* Burton, two species of *Stomoxys* flies including *S. calcitrans* and *S. indicus* and *Haematobia exigua* were identified (Table 1). Approximately 20 *Stomoxys* and *Tabanus* flies were dissected under microscopy and examined for *T. evansi* in their guts; however, the flagellate parasites were undetectable.

| Species | No. of flies identified | | | | | |
|---------------------------------|-------------------------|------|------|------|------|----|
| | SS-1 | SS-2 | SS-3 | SS-4 | SS-5 | MW |
| <i>Tabanus rubidus</i> | 18 | 6 | 7 | 0 | 1 | 17 |
| <i>Tabanus striatus</i> | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Tabanus eurytopus</i> Burton | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Stomoxys calcitrans</i> | 0 | 25 | 45 | 0 | 16 | 32 |
| <i>Stomoxys indicus</i> | 0 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Haematobia exigua</i> | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 |

Table 1 Identification of haematophagous insects collected by NZI traps in six farms of San Sai (SS) and Mae Wang (MW)

The CDC and modified light traps were placed in the animal shed of Farm Sansai-2 at night time during 6 pm to 10 am. Two female blood fed sand flies were trapped and PCR amplification of the sand fly *18S rRNA*⁴ had confirmed that they were phlebotomine sand flies. Moreover, a large number of *Culicoides* midges were collected by modified light trapped from Sansai-2 (Fig. 3). Identification the species of these midges will be conducted by using PCR technique.

Regarding on the role of *Tabanus* and *Stomoxys* flies, phlebotomine sand flies and *Culicoides* midges as the vectors for *T. evansi* transmission, molecular techniques will be employed to identify *T. evansi* DNA and the host blood sources in the collected.

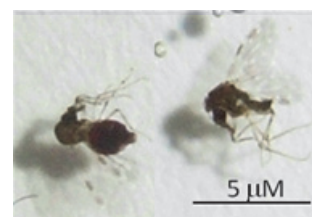


Fig. 3 *Culicoides* midges collected in farm San Sai-2. The blood fed (left) and unfed (right) flies were shown.

References

- Viola LB, et al. Parasitology (2008) 135:595-605.
- Votýpka J, et al. Parasitology (2002) 125:253-63.
- Josh PP, et al. Am J Trop Med Hyg (2005) 73:491-5.
- Kato H, et al. Int J Environ Res Public Health (2010) 7:814-26.

フィリピンに於けるフィロウイルス感染症の疫学調査

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 2011年2月19日ー 2月26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

エボラ出血熱の発生は主にアフリカに局限しているが、フィリピンからアメリカ、イタリアに輸出された実験用のサルからレストンエボラウイルスが分離された。また、2008年10月にはフィリピンでレストンウイルスの豚での感染が初めて確認され、エボラウイルスが霊長類だけでなく、豚などの家畜にも感染する可能性が明らかとなった。養豚関係者6名からは同ウイルスに対する特異抗体が検出され、豚からヒトにウイルスが伝播したと考えられる。レストンウイルスはアフリカで分離された他のフィロウイルス種と抗原的、遺伝的に異なり、ヒトに対する病原性も異なることから、アジアにはアフリカとは異なるフィロウイルスが存在する可能性が考えられる。2008年に新たに感受性動物として報告のあった豚を対象に、the Philippine Carabao Centerでフィロウイルス感染症のスクリーニングを行った。

College of Veterinary Science and Medicine of Central Luzon State UniversityのDr. Romeo Gundran の協力のもと、フィリピンの複数の屠畜場で豚の血清および鼻腔スワブを採取し、血清中のフィロウイルス特異抗体を検出、鼻腔スワブからのウイルス遺伝子の検出を行った。Dr. Salvador Soquila とともにELISAによる血清疫学調査を行ったところ(写真1)、複数の豚で過去にレストンエボラウイルスに感染した可能性を示唆する結果が得られた。鼻腔スワブからの遺伝子検出は現在解析が続いている。

今回、国際疫学部門の鈴木定彦先生もカラバオセンターに同行した。鈴木先生のもとで研修を行うために、フィリピンのWHOでインターンをしているJosie Škufcaさんも合流した(写真2)。人獣共通感染症リサーチセンターがWHOの研究施設となったことで、新たな出会いがあった。

4月で私は北海道大学を去るため、今回は最後の疫学調査である。このような貴重な機会を与えて頂いたことに感謝するとともに、この素晴らしい経験を生かして今後も研究活動に励みたい。4年間、何度も海外調査の機会を与えて下さった関係各位に深く感謝申し上げます。



写真1. 豚の血清および鼻腔スワブサンプルの管理。全てのサンプルは、College of Veterinary Science and Medicine of Central Luzon State UniversityのSalvador Soquilaが集めてくれた。



写真2. WHO西太平洋地域事務局にて。Josie Škufcaさんが合流した。左から、the Philippine Carabao CenterのMarvin VillanuevaさんとClaro Mingalaさん、Josie Škufcaさん、著者、WHO西太平洋地域事務局の松井珠乃さん、高田礼人先生、鈴木定彦先生。



写真3. The Philippine Carabao Centerの実験室にて。鈴木チームも高田チームもそれぞれ真剣に取り組んでいる。



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111号室

Tel/Fax 011-706-5294

gcoe@vetmed.hokudai.ac.jp

<http://www.vetmed.hokudai.ac.jp/gcoe/>