

令和 5 年 2 月 24 日

令和 4 年度 共同研究報告書

研究代表者： 井上 智

1. 研究課題名	日本語表記：狂犬病清浄国日本における継続的・合理的に実施可能な狂犬病のモニタリング手法の開発 英語表記：Development of a sustainably and reasonably implementable method of rabies surveillance in the rabies-free country, Japan		
2. 研究期間	令和 4 年 4 月 1 日 ~ 令和 5 年 3 月 31 日		
3. 共同研究者	氏 名	機 関・所属部署名	職 名
	井上 智	国立感染症研究所	主任研究官
	山田 健太郎	宮崎大学 農学部 獣医公衆衛生学研究室 (産業動物防疫リサーチセンター感染症研究・検査部門)	准教授
	三澤 尚明	宮崎大学 産業動物防疫リサーチセンター 感染症研究・検査部門 (農学部 獣医公衆衛生学研究室)	教授
	兼子 千穂	国際協力機構 (産業動物防疫リサーチセンター 特別協力研究員 兼任)	特別嘱託(JICA) ・特別協力研究員(CADIC)
	佐藤 克	狂犬病臨床研究会	会長
	堀田 明豊	国立感染症研究所・安全実験管理部第 6 室	室長
4. 研究目的	<p>2013 年 (H25 年) に当時清浄国であった台湾で狂犬病が発生した際に、国内の自治体においてイヌ等の動物における狂犬病診断体制がほとんど構築されていなかったことが再認識された。宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター (CADIC) では、地元自治体である宮崎県と包括連携協定を結んでイヌ等における狂犬病診断体制を構築し、さらにその診断研修会を九州・沖縄ブロックに範囲を広げて実施してきたところで、申請者は H25 年度の第 1 回から R3 年度の第 9 回までの研修会に外部講師として参画してきたところである。</p> <p>この狂犬病研修会により各自自治体での動物における狂犬病診断体制の構築において一定の成果があったと考えられるが、依然、自治体における検査実績は多くない。2020 年度では、実施自治体数は全国で 12 自治体であり、検査頭数は 61 頭であった。その内訳はイヌ 29 頭、ネコ 2 頭、野生動物 (アライグマ、マングース、タヌキ、コウモリ、ハクビシン) が 30 頭であった。</p> <p>これまで、イヌの検査法を中心に研修を行ってきたが、各自自治体でまずイヌの検査体制を構築することが容易でなく、それが重荷・足枷となって動物の狂犬病検査体制の確立が立ち遅れていることが考えられた。台湾において野生動物におけるモニタリング項目に狂犬病を加えてすぐに陽性が確認された事例を鑑み、野生動物におけるモニタリングをまず普及させ、それを土台としてイヌの狂犬病検査体制の確立を促す必要があると考えられた。</p> <p>野生動物においては、徐々に国内分布の広がりを見せている SFTS ウイルスやエキノコックス等の人獣共通感染症や、豚熱ウイルス等の家畜伝染病の病原体についても監視が必要である。狂犬病を伝播しうる野生動物種は、放浪犬の多くを占める中型犬よりは小型なため扱いやすく、また、有害捕獲個体やロードキル個体を利用することで検査材料の準備も容易となる。そこで、本共同研究課題では、日本における継続的・合理的に実施可能な狂犬病のモニタリング手法の開発、すなわち、野生動物を用いた、他の動物感染症のモニタリングと組み合わせて簡便に実施できる狂犬病のモニタリング手法の開発を行う。</p>		

5. 研究内容・成果

今回、ロードキル個体（タヌキ、アナグマ）の頭部や猫の検体（宮崎県より提供）を用いて、ニッパによる開頭方法について実施した。同時に、解剖手順について動画撮影を行い、iPhonePro14のLiDAR機能とアプリ（Scaniverse）を利用して解剖頭部の3D画像をシーケンシャルに取得した（添付資料・図1）。動画や3D画像についてはiPadProに保存し、狂犬病診断研修会において教材（デモ動画）として実習中に閲覧できるようにした。この教材は参加者には分かりやすいとのことで好評であった。タヌキ・アナグマの体格は捕獲犬の多くを占める中型犬より体格が小さく、頭骨も頑丈ではないため、犬の開頭よりは簡易に実行できるのと、すでに死亡しているため検体使用に係る手続き上の煩雑さがない。したがって、今後、自治体での狂犬病検査件数が増えることを期待したい。

また、狂犬病の迅速診断法として、携帯型リアルタイムPCR装置PicoGeneによるウイルス核酸と宿主ハウスキーピング遺伝子の同時検出を検討した。狂犬病ウイルス検出用のプライマー/プローブについてはHoffmannら（J Clin Virol, 2010）の報告を、哺乳類β-actin遺伝子を広く検出するプライマー/プローブについては、Wadhwaら（PLoS NTD, 2017）の報告を参照した。狂犬病ウイルス感染細胞から抽出・精製したRNAより両遺伝子の検出を確認することができた（添付資料・図2）。今後は、開頭不要な脳サンプルの採取法とPicoGeneによる検出を組み合わせた、より簡便な狂犬病診断法の確立を検討したい。また、ロードキル個体にはマダニが多く付着していることから、SFTSウイルスへの感染が懸念されるため、ロードキル個体の狂犬病検査にあたりPicoGeneによるSFTSウイルス検出についても検討したい。

（参考となる資料を添付してください。）

※ 必要に応じて、枠を広げて記載してください。

6. 成果となる論文・学会発表等

（※参考となる資料を添付してください。）

特になし。

7. 産業動物防疫リサーチセンターへ訪問した回数

氏名	職名等	国籍	訪問回数・合計日数	訪問時期
井上 智	主任研	日本	2回・7日	12月・1月
堀田明豊	室長	日本	1回・3日	1月

8. 利用した設備・施設等 ※必要に応じ様式の追加・削除可。

その他の装置・データ等

分類	名称	使用した延日数
データベース		
バイオリソース		
データ・文献		
装置	V325 安全キャビネット及びオートクレーブ	2日間
機器	iPhonePro14、iPadPro12.9インチ	2日間