

—日本における OIE リファレンスセンター (Ⅱ)— 帯広畜産大学原虫病研究センターにおける OIE リファレンス センター認定施設としての取り組み

五十嵐郁男[†] (帯広畜産大学原虫病研究センター教授)



1 はじめに

帯広畜産大学原虫病研究センターは、2007年5月に牛バベシア症、馬ピロプラズマ症及びスーラ (*Trypanosoma evansi* 感染症) に関する国際獣疫事務局 (OIE) リファレンスラボラトリーに認定された。また、2008年5月には、我

が国で初めて OIE コラボレーティングセンターに認定されている (図1)。リファレンスラボラトリー及びコラボレーティングセンターの役割については、本誌第65巻第7号 (481頁) に紹介されている。リファレンスラボラトリー認定以来5年が経過しており、これまでのリファレンスラボラトリー並びにコラボレーティングセンター (リファレンスセンターと総称) の活動に関する我々の取り組みを紹介する。

2 OIE コラボレーティングセンター

コラボレーティングセンターは特定の疾病等に関してより総合的に活動することが求められており、当センターは、「動物原虫病の監視と制圧」に関するコラボレーティングセンターとして認定を受けた。原虫病に関するコラボレーティングセンターは世界でも当センターが唯一で、かつアジアにおける初めてのコラボレーティングセンターに認定された。原虫病は単細胞の動物である原虫によって引き起こされる感染症である。原虫は、ウイルスや細菌と比べて、その構造や感染様式が複雑である上に、宿主の免疫を巧みに回避するエスケープ機構を持っており、さらに宿主細胞と類似の細胞構造をしているため、簡便で精度の高い診断法、有効なワクチン並びに安全な治療薬がほとんどない。このため、原虫病は世界的な規模で人や動物の健康及び畜産物の生産に大きな被害を与えており、新たな診断・予防・治療法の開発が強く望まれている。当センターでは、リファレンスラボラトリーに認定された原虫病の他に、OIE の疾病リストに

指定されているタイレリア症、ツェツェバエ媒介性トリパノソーマ症、OIE の疾病リストに掲載されていないが重要なトキソプラズマ症、ネオスポーラ症、クリプトスポリジウム症などについても診断、治療、予防、国際的な分子疫学的研究を行っている。

コラボレーティングセンターとしての役割を果たすため、本研究センターに国際連携協力部門を設置し、教授

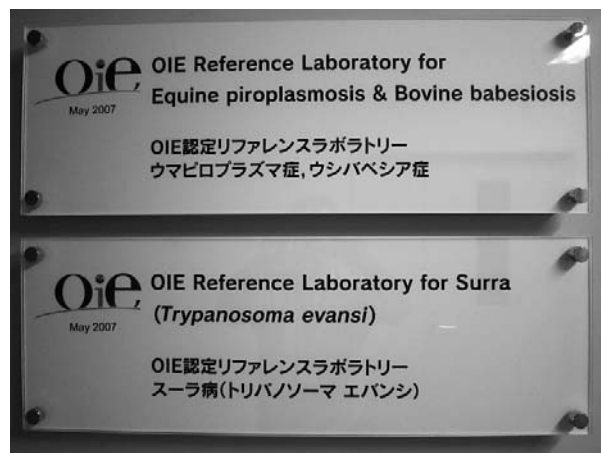


図1 リファレンスラボラトリーと (馬ピロプラズマ症、牛バベシア症、スーラ) コラボレーティングセンター (動物の原虫病に関する監視と制圧) の認定

[†] 連絡責任者：五十嵐郁男 (帯広畜産大学原虫病研究センター)

〒080-8555 帯広市稲田町西2線13 ☎0155-49-5641 FAX 0155-49-5643 E-mail: igrcpmi@obihiro.ac.jp

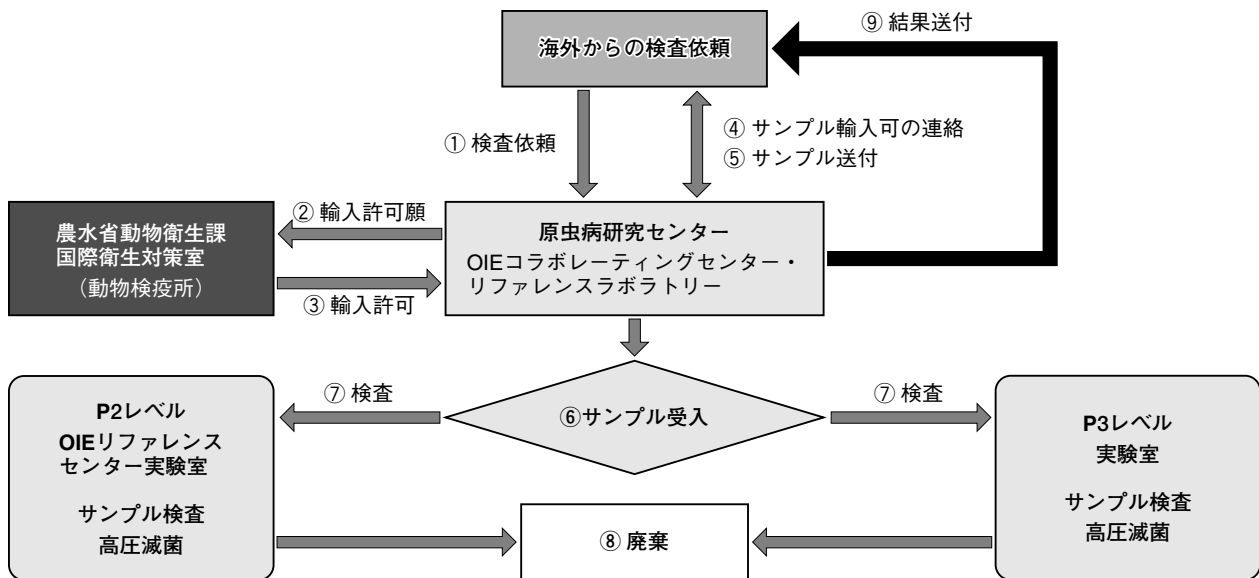


図2 サンプル受入・処理フローチャート

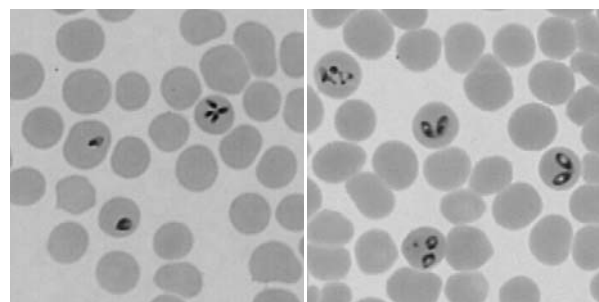
2名（兼任）及び3名の外国人研究員を配置し、海外からのコンサルタント、技術支援、試料の提供、確定診断等の依頼に対応している。特に海外からの診断のために送られてくる試料の輸入については、家畜伝染病予防法に基づいた手続きや処理が重要であり、図2に示したようなフローチャートに基づいて行っている。このため、農林水産省の動物衛生課及び動物検疫所のOIEリファレンスセンターに対する理解・協力や密接な連携が不可欠である。受け入れたサンプルの検査はOIEリファレンスセンター専用設置されたP2及びP3レベルの実験室で行い、検査後に厳重な廃棄処理を行っている。

また、1995年より(独)国際協力機構（JICA）との連携の下に原虫病に関する人材育成のため、集団研修コースを実施している。本コースは、途上国からの中堅の研究者に対し、10カ月間に渡り最新の知識と技術を移転するばかりでなく、将来研究者や実務者としてその国のリーダーとなる人材を育成するために、研究課題を設定し、研究計画の立案、実験の遂行、結果の分析、論文の作成、将来への応用計画を含む内容となっている。さらに研修員の帰国後も原虫病の疫学的調査等の共同研究を実施すること等により研修員の国際的ネットワークの形成をはかり、希望者には大学院生や研究員として受け入れる機会を積極的に設けている。

3 リファレンスラボラトリー

(1) 馬ピロプラズマ症リファレンスラボラトリー

馬ピロプラズマ症は小型の *Theileria (Babesia) equi* と大型の *B. caballi* (図3) が原因であり、一般的に *T. equi* は *B. caballi* より病原性が高い。マダニによって媒介され、馬の赤血球に寄生することにより、感染馬は6～20日の潜伏期の後、発熱・貧血・黄疸等の臨床



Theileria (B.) equi

Babesia caballi

図3 赤血球内の馬ピロプラズマ原虫

症状が認められ、死亡率は約10%であるが、時として50%に及ぶことが報告されている。感染馬が3週間以上生存すると、末梢の赤血球から原虫は消失するが、*B. caballi* 感染で1～4年間、*T. equi* 感染では生涯原虫保有馬となる。馬ピロプラズマ症は、家畜伝染病及びOIEの疾病リストに指定されており、競馬、馬術競技会による国際的移動や輸出入には、本症に感染していない証明書が必要である。

馬ピロプラズマ症の日本での発生は認められていないが、競走馬や食用馬が毎年数千頭日本に輸入されている。1989年に中国からの輸入馬に、*T. equi* 及び *B. caballi* 感染例が多数摘発された。さらに日本にはバベシア原虫を媒介可能なマダニが存在するため、流行地からの馬の輸入には注意が必要である。我々は、1994年に両原虫の試験管内連続培養系を本邦で初めて確立して以来、診断法の開発や、薬剤のスクリーニング、あるいはバベシアの赤血球への侵入機構の解明に努めてきた。前述のように、2007年これらの研究実績が認められ、世界で初めて馬ピロプラズマ症のリファレンスラボラトリーとして認定された。

リファレンスラボラトリーの認定に伴い、診断用抗原の提供や確定診断の依頼が増えている。現在、OIEの診断マニュアルには、馬ピロプラズマ症の血清診断法として、間接蛍光抗体法（IFAT）、競合ELISA（cELISA）が指定、補体結合反応（CF）が代替法として認められている。診断用抗原の確保は年々困難になってきており、今後抗原の品質管理と共に世界的な課題となることが予想される。現在、補体結合反応（CF）の抗原は日本中央競馬会の競走馬総合研究所栃木支所が作製して動物検疫所に供与している。このCF診断用抗原の作製には、P3施設を用いた馬の感染により大量の感染赤血球を採集することが必要である。しかし、*B. caballi*の場合は、十分に赤血球感染率が上昇する前に感染馬が死亡する例が経験されている。また、感染陽性馬が薬剤治療により一時的にCFによる抗体価が抑制されることが知られている。このことを利用して、輸出前に治療する不正行為が長年行われており、当センターにも感染陽性馬を化学療法によって、陰性化させるための治療薬の濃度や投与期間を問い合わせてきた不屈きな依頼があった。これらの事実を踏まえ、抗原作製の経費や特性等の問題等を含め、CFの継続について将来検討する必要があると考えている。

当センターでは、血清診断法としてIFAT及びELISA、遺伝子診断法としてPCRとLAMPを実施できる体制を整えている。IFAT用抗原は培養によって得られたバベシア原虫を用いて作製しており、これまでカナダの食品検査庁に2010年以来2回に渡り抗原を提供している。また、*T. equi*及び*B. caballi*の組換え特異抗原を用いたELISAを開発しており、現在動物検疫所でスクリーニング法としての評価が行われている。また、本年はイギリスからのオーストラリアへのシャトル馬（馬の繁殖期が北半球と南半球では違うことを利用して、北半球と南半球を繁殖のために行き来する種牡馬）の輸出の際のイギリスからの確定診断の依頼が増加している。これは、イギリスでの検査で陽性と診断された場合、ドイツやアメリカの検査機関の検査により陰性と診断されても、オーストラリア政府はOIEリファレンスラボラトリーである当センターでの確定診断を求めているためである。7月だけで、4回に渡り血清検体の確定診断の実施を受けている。しかも、輸出日時が決まっているので、1、2日で結果を出してほしいとの依頼であり、農水省の動物衛生課、動物検疫所及び同成田支所には緊急事態として格別の配慮により、輸入許可書の発行及び輸入検査が迅速に行われた。この件に関しては、検査機関によりしばしばIFATの検査結果が異なることをイギリスとオーストラリアは以前から経験しているらしく、昨年12月にオーストラリア政府の主席獣医官から、IFATに関する国際比較試験を実施するよう要請を受けている。ま

た、本年8月初めに、イギリスのAnimal Health and Veterinary Laboratories (AHVLA)よりIFATに使用する抗原の比較をするための依頼が寄せられている。今回の事例も含めて、今後さらに国際比較試験について検討する予定である。さらに、2006年に改訂された馬ピロプラズマ症に関するOIE標準診断法・ワクチンマニュアル（Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals）の新改訂版を作成中である。

（2）牛バベシア症リファレンスラボラトリー

牛バベシア症は、小型の*Babesia bovis*と大型の*B. bigemina*、*B. divergens*などによって引き起こされる。特に*B. bovis*と*B. bigemina*はアジア、アフリカ、中南米で広く感染が認められ、畜産業に甚大な被害を与えており、家畜法定伝染病に指定されている。本症はマダニによって媒介され、宿主の赤血球に寄生し、発熱、貧血、血色素尿症などの臨床症状を引き起こし、特に*B. bovis*は病原性が強く、脳や毛細血管が感染赤血球によって塞栓され、脳バベシア症を起こして死亡することが知られている。沖縄県でもかつては、*B. bovis*と*B. bigemina*感染が認められ畜産業に大きな被害を与えていたが、1997年に媒介マダニであるオウシマダニの撲滅に成功し、その流行が終息した。

当センターでは、日本で初めて*Babesia bovis*と*B. bigemina*の連続培養系を確立し、バベシアの赤血球への侵入機構の解明、新規診断法の開発、薬剤のスクリーニング等を行ってきた。リファレンスラボラトリーの認定後は、診断に関する技術的な助言や診断キットの提供等が求められている。また、大学院生の受け入れや前述のJICA集団研修コースにより、若手研究者の人材育成を行っている。特に、研修生とのネットワークによる海外での分子疫学調査を積極的に行っている。また、診断法に関する技術的助言、診断用の抗原の提供、海外で行われている血清診断法の評価等を実施している。

（3）スーラ（*Trypanosoma evansi* 感染症）

スーラは*Trypanosoma evansi*感染によって引き起こされる動物のトリパノソーマ症である。特に水牛、牛、ラクダ、馬は感受性が高い。本症はアジア、中東、南米などのツェツェバエ非生息地域にも分布しており、サシバエやアブ等の吸血昆虫、南米では吸血コウモリ等により機械的に伝播される。また、最近では、カナリア諸島からのラクダを輸入したフランス（2006年）やスペイン（2008年）などヨーロッパでも家畜生体輸入に伴って発生が認められ、我が国においても媒介アブは生息していることから、本症に対する認識を新たにする必要がある。本症に関するOIEの特別委員会がフランスのトラチエ博士を中心として組織され、毎年パリにおいて開催されている。本委員会ではOIE標準診断法・ワクチンマニュアル（Manual of Diagnostic Tests and Vac-

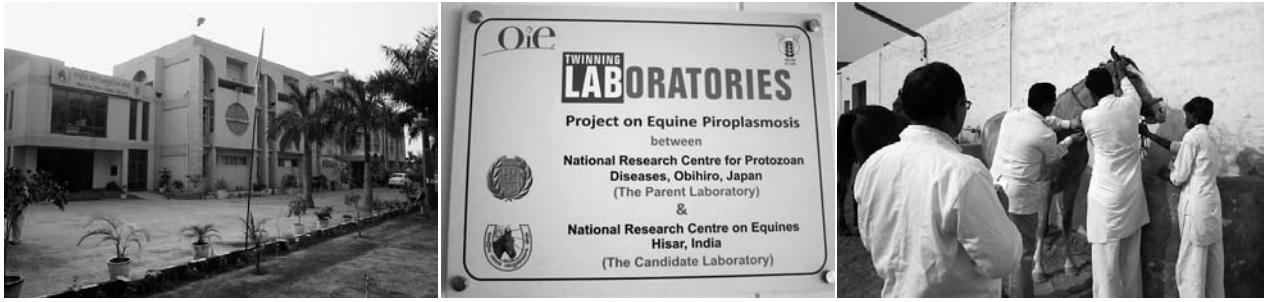


図4 馬ピロプラズマ症に関するインド馬研究所との連携プロジェクト
左：国立インド馬研究所，中央：研究所内に掲げられているプレート，右：野外調査の様子

cines for Terrestrial Animals) 改訂作業や疫学調査、新規診断法・ワクチン開発に関する情報交換などを行っている。原虫病研究センターは、2007年にスーラに開するOIEリファレンスラボラトリーに認定されている。これは、ベルギーの熱帯病研究所に次ぐものであり、アジアでは最初のリファレンスラボラトリーである。

当センターでは、新規の遺伝子診断法であるLAMP法を世界に先駆けて開発している。現在、さらに簡易迅速血清診断法であるイムノクロマト法も開発中である。加えてこれまでにベネズエラ、ケニア、ザンビア、南アフリカ、中国、インドなど世界各国でLAMP診断法に関する技術セミナーを開催したり、研修生の受け入れ及び流行地での疫学調査など、活発な学術面での国際貢献及び人材育成を実施してきた。

(4) 連携プロジェクト (Twinning project)

OIEは動物の感染症に関して、科学的証拠に基づく方針の決定、勧告、規則の制定を行っている国際獣医機関である。これらの活動の多くは、種々の委員会やOIEの認定したりファレンスラボラトリーやコラボレーティングセンターの協力や連携によりなされている。OIE加盟国の70%以上が発展途上国で占められているにもかかわらず、リファレンスセンターは先進国に偏在しており、感染症により多くの被害を受けている途上国に少ないのが現状である。そこで、OIEは、途上国において将来リファレンスセンターとなる研究組織を候補に選定し、先進国のリファレンスセンターとの連携により途上国における人材育成や科学的専門性を高めることにより、途上国のリファレンスセンターを増やすTwinning projectを積極的に推進している。2010年3月に、原虫病研究センターとインド国立馬研究所との馬ピロプラズマ症に関する連携プロジェクトが承認された。本連携プロジェクトは、アジアで初めて承認されたもので、これまでインド人研究者の原虫病研究センターでの技術研修、日本人専門家のインド訪問、助言、野外調査等を実施している(図4)。本年度は、本連携プロジェクトの最終年度にあたり、インドにおいて近隣諸国から研究員を招聘し、馬ピロプラズマ症の最新の診断法に関する講義

並びに野外調査を含めたワークショップを計画している。また、2011年3月に、OIEは連携プロジェクトのさらなる推進や発展を目的とし、進行中の約30の連携プロジェクトの中から5つのプロジェクトを選んでフィールドバック・ワークショップを開催した。原虫病研究センターとインド国立馬研究所の連携プロジェクトも、本ワークショップの5つのプロジェクトの中に選ばれて、パリで開催されたワークショップに出席し、その活動内容の紹介、人材育成やネットワークの形成等に関する討論を行い、今後の連携プロジェクトに対する提言を行った。

4 終わりに

食料の半分以上を海外に依存している我が国において、「食の安全確保」は国民の大きな関心事であり、国の責務である。特に、動物の国際的な移動や乳肉製品の輸出入は国際的な課題となっている。動物の感染症に関する国際的な指針、規則作りを担っているのがOIEであり、今後益々動物の衛生や食の安全に関する役割は重要になってくると考えられる。OIEでは、各国の首席獣医官が国を代表しており、リファレンスセンターとして活動して行く場合には農水省の理解と協力が不可欠であり、今後ともより密接な連携が必要である。アメリカでは、農務省の職員が独自の研究室や研究費を持って獣医学部の教員を兼任し、大学における獣医学教育や研究も推進している。このような省庁間の垣根を越えた連携・協力が日本におけるOIEリファレンスセンターの活動をさらに強化するのに重要である。OIEリファレンスセンターの活動を推進して行くためには、それなりの人員と予算が不可欠であり、特に培養原虫を用いたIFATスライド抗原や組換え診断抗原の作製、PCRやLAMP用のプライマー及びこれらの輸送には多額の費用を要するが、実際はそれぞれのリファレンスセンターのボランティア活動に依存しているのが現状である。今後、リファレンスセンターの活動強化のため、農水省からのリファレンスセンターへの支援を可能にするシステムの構築を期待したい。