

氏名(本籍)	岩田剛敏(埼玉県)		
学位の種類	博士(獣医)		
学位記番号	獣医博甲第251号		
学位授与年月日	平成20年3月13日		
学位授与の要件	学位規則第3条第1項該当		
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻		
研究指導を受けた大学	東京農工大学		
学位論文題目	飼育サルにおけるエルシニア症の疫学とその予防に関する研究		
審査委員	主査	東京農工大学	教授 廣田好和
	副査	帯広畜産大学	教授 武士甲一
	副査	岩手大学	教授 品川邦汎
	副査	東京農工大学	教授 藤川浩
	副査	岐阜大学	教授 杉山誠

論文の内容の要旨

病原性 *Yersinia* である *Yersinia pseudotuberculosis* および病原性 *Yersinia enterocolitica* は、代表的な細菌性人獣共通感染症の原因菌として知られており、両菌による感染症は総称してエルシニア症と呼ばれている。我が国では、サル類のエルシニア症が動物園などのサル飼育施設において散発しており、これら施設においてサル飼育上の大きな問題となっているが、適切な対策が立てられていないのが現状である。

本研究では、我が国のサル飼育施設におけるエルシニア症の感染予防対策を図る研究の一環として、サル飼育施設におけるエルシニア症の発生実態を疫学的に検討するとともに、その感染防御対策を図る目的で、エルシニア症に有効なワクチンの開発を試み、以下の成績を得た。

1. 我が国の飼育サルから分離された病原性 *Yersinia* の特徴

2001年4月～2007年8月の間に、我が国のサル飼育施設17か所において死亡した飼育サル9種74頭を供試検体として病原性 *Yersinia* の分離を行った結果、9都道府県13か所の飼育サル8種35頭から病原性 *Yersinia* が分離された。これらの飼育サルは、延べ23回の病原性 *Yersinia* 感染事例により死亡したものと考えられ、我が国の広い範囲で飼育サルのエルシニア症が多発していることが明らかになった。これらの事例の中に、これまで非病原性の血清群とされてきた、*Y. pseudotuberculosis* 血清群7による感染致死事例が初めて確認され、7群が病原性を保有していることが明らかになり、また、病原性 *Y. enterocolitica* のうち最も強毒な血清群0:8(以下、0:8菌)による人以外の動物での自

然感染致死事例が初めて確認された。さらに、分離された病原性 *Yersinia* 菌株の病原遺伝子保有状況を調べた結果、*Y. pseudotuberculosis* 菌株の 89.5%が *ypmA* 遺伝子を保有しており、我が国で飼育される外国産のサル類が本菌に感染した場合、極めて重篤な症状を示すことが多い理由として、本菌の産生するスーパー抗原である YPM が関与している可能性が示唆された。

2. 我が国の飼育サルに発生した *Yersinia enterocolitica* 血清群 0:8 感染症の疫学的研究

飼育サルの 0:8 菌感染事例について、飼育施設における疫学調査を実施するとともに、分離された 0:8 菌について分子疫学的解析を行った。疫学調査の結果、同施設で飼育されていたサル 65 頭中 21 頭 (32.3%) および施設内で捕獲されたクマネズミ 33 匹中 5 匹 (15.7%) から 0:8 菌が分離された。分離された 0:8 菌 30 株の分子遺伝子型は、クマネズミから分離された 1 株を除く 29 株が同一であった。以上のことから、本感染事例ではクマネズミが本菌の媒介者として重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

3. 我が国の飼育リスザルにおけるエルシニア症の血清疫学調査

我が国のサル飼育施設 9 施設で飼育されるリスザル 252 頭およびリスザルの原産国であるスリナム共和国から輸入した直後のリスザル 91 頭の計 343 頭の血清を供試し、エルシニア症の血清疫学的調査を行った。病原性 *Yersinia* が分布していないスリナム共和国から輸入した直後の群を陰性対照群として算出したカットオフ値を基に、調査したリスザルの抗体の保有状況を判定すると、リスザル 252 頭中 164 頭 (65.1%) が抗体陽性であった。また、この姿を飼育施設別にみると 9 施設中 8 施設に抗体陽性の個体が存在し、その陽性率は 22.2~89.4%であった。以上のように、血清疫学的調査結果からみても、我が国のサル飼育施設には病原性 *Yersinia* が広く侵淫していることが明らかになった。

4. 飼育サルのエルシニア症に対するワクチンの開発

病原性 *Yersinia* が共通して産生する菌体外膜タンパクである YadA に着目し、YadA を発現した病原性 *Yersinia* の死菌（以下、YadA 死菌）および菌体の膜分画（以下、YadA 分画）をワクチンとして用い、マウスにおける病原性 *Yersinia* に対する感染防御効果を検討した。YadA 死菌を皮下投与したマウス群では、その 73.1%が同一生菌の感染に耐過生残し、YadA 分画を皮下投与したマウス群では、その全匹が同一生菌の感染に耐過生残した。また、病原性 *Yersinia* 間では強い交差免疫が認められた。さらに、飼育リスザル 363 頭に YadA 死菌を皮下投与した結果、抗体上昇のみられなかった 2 頭を除く 361 頭で感染致死例は観察されなかった。以上のことから、YadA は病原性 *Yersinia* の感染防御抗原となっている可能性が示唆され、今回開発したワクチンは、少なくとも飼育リスザルのエルシニア症による感染致死を阻止するのに有効であると考えられた。

以上のように、本研究は我が国のサル飼育施設におけるエルシニア症の発生実態を明らかにするとともに、飼育サルのエルシニア症に有効なワクチンの開発を試みたものである。本研究で得られた成績は、その予防対策を確立する上で貴重な知見を提供しうるものである。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、我が国のサル飼育施設におけるエルシニア症の感染予防対策を図る研究の一環として、サル飼育施設におけるエルシニア症の発生実態を疫学的に検討するとともに、その感染防御対策を図る目的で、エルシニア症に有効なワクチンの開発を試みたものである。

申請者はまず、我が国のサル飼育施設で死亡した飼育サルから病原性 *Yersinia* (病原性 *Y. enterocolitica* および *Y. pseudotuberculosis*) の分離を行い、分離菌株の病原性状などの特徴を整理した結果、我が国の広い範囲で、強毒な病原性 *Yersinia* 菌株による飼育サルのエルシニア症が多発していることを明らかにした。

次に、それらの感染事例の中に、病原性 *Y. enterocolitica* のうち最も強毒な血清群 O:8 (O:8 菌) による人以外の動物での自然感染致死事例を初めて確認したため、O:8 菌感染事例が発生したサル飼育施設における疫学調査を実施するとともに、分離された O:8 菌について分子疫学的解析を行った。その結果、O:8 菌は飼育サルおよび施設内で捕獲されたクマネズミから分離され、その分子遺伝子型はいずれも同一であった。以上のことから、本感染事例ではクマネズミが本菌の媒介者として重要な役割を果たしている可能性を指摘した。

さらに、我が国の飼育リスザルについて血清疫学的調査を行った結果、調査したリスザルの 65.1% が病原性 *Yersinia* に対して抗体を保有しており、血清疫学的調査結果からも、我が国のサル飼育施設には病原性 *Yersinia* が広く侵淫していることを明らかにした。

最後に、病原性 *Yersinia* が共通して産生する菌体外膜タンパクである YadA に着目してワクチンを作製し、病原性 *Yersinia* に対するその感染防御効果を検討した。その結果、YadA は病原性 *Yersinia* の感染防御抗原となっている可能性を指摘し、開発したワクチンは、飼育リスザルのエルシニア症による感染致死を阻止するのに有効であることを明らかにした。

以上のように、申請者は我が国のサル飼育施設におけるエルシニア症の発生実態を明らかにするとともに、飼育サルのエルシニア症に有効なワクチンの開発を試みた。本研究で得られた成績は、その予防対策を確立する上で貴重な知見を提供しうるものであると考えられる。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目: *Yersinia enterocolitica* serovar O:8 infection in breeding monkeys in Japan
著 者 名: Iwata, T., Une, Y., Okatani, A. T., Kaneko, S., Namai, S., Yoshida, S., Horisaka, T., Horikita, T., Nakadai, A. and Hayashidani, H.
学術雑誌名: *Microbiology and Immunology*
巻・号・頁・発行年: 49(1) : 1-7, 2005
- 2) 題 目: Virulence characteristics of *Yersinia pseudotuberculosis* isolated from breeding monkeys in Japan
著 者 名: Iwata, T., Une, Y., Okatani, A. T., Kato, Y., Nakadai, A., Lee, K., Watanabe, M., Taniguchi, T., Elhelaly, A. E., Hirota, Y. and Hayashidani, H.
学術雑誌名: *Veterinary Microbiology* に発表予定
巻・号・頁・発行年: () : , 2008

既発表学術論文

- 1) 題 目 : Sensitive and specific detection of *Yersinia pseudotuberculosis* by loop-mediated isothermal amplification
著 者 名 : Horisaka, T., Fujita, K., Iwata, T., Nakadai, A., Okatani, A. T., Horikita, T., Taniguchi, T., Honda, E., Yokomizo, Y. and Hayashidani, H.
学術雑誌名 : Journal of Clinical Microbiology
巻・号・頁・発行年 : 42(11) : 5349-5352, 2004

- 2) 題 目 : わが国に輸入されたカメおよびトカゲ類における *Salmonella* の保有状況
著 者 名 : 中臺文, 加藤行男, 黒木俊郎, 宇根有美, 岩田剛敏, 堀坂知子, 中野康子, 名塚岳宏, 小原嘉明, 林谷秀樹
学術雑誌名 : 日本獣医師会雑誌
巻・号・頁・発行年 : 58(11) : 768-772, 2005

- 3) 題 目 : Prevalence of *Salmonella* spp. in rice-field rats in the Mekong Delta, Vietnam
著 者 名 : Phan, T. T., Tam, N. T., Khai, L. T. L., Ogasawara, N., Nakadai, A., Iwata, T., Kamada, T. and Hayashidani, H.
学術雑誌名 : Journal of Veterinary Epidemiology
巻・号・頁・発行年 : 9(2) : 85-88, 2005

- 4) 題 目 : Immuno-magnetic separation and agar layer methods for the isolation of freeze-injured *Yersinia enterocolitica* O:8 from water
著 者 名 : Koujitani, E., Horisaka, T., Nomura, Y., Hara-Kudo, Y., Okatani, A. T., Iwata, T., Kumagai, S. and Hayashidani, H.
学術雑誌名 : Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年 : 68(3) : 195-199, 2006