

## 内 容

- ・ 第5期における動物衛生研究部門の取り組み
- ・ 特集：アフリカ豚熱（ASF）
- ・ 研究：研究者の素顔
- ・ 報告：令和2年病性鑑定実施状況
- ・ Hot Topics

## 第5期における動物衛生研究部門の取り組み

TSUTSUI Toshiyuki  
動物衛生研究部門 所長 **筒井 俊之**

今後5年間の農研機構全体の研究計画を定めた農研機構中長期計画（第5期）が新たに策定され、令和3年度から第5期中期計画に基づく活動がスタートしました。農研機構全体としては、我が国の農業・食品産業分野の中核的な研究機関として、「食料の自給力向上」、「農業・食品産業の競争力強化と輸出の拡大」、「生産性の向上と環境保全の両立」を我が国の農業・食品産業が実現を目指すべき姿として、科学技術イノベーションの創出と研究開発成果の最大化に取り組んでいます。

私ども動物衛生研究部門も新たな中期計画の下、これまでに開発してきた診断や予防に関する技術をさらに深化させ、機構内外、また、国内外の研究機関と協力しながら、動物疾病の制御を通じた農業・食品産業の安定的発展と競争力強化に寄与する成果を迅速に創出することを目指しています。

第5期中期計画においては、農研機構内全体の研究課題を4つのセグメントにまとめて推進する体制になっています。動衛研は食品研究部門、畜産研究部門とともにセグメントI（アグリ・フードビジネス）の中で、これらの研究部門と連携しながら、研究開発を進めています。中期計画において動衛研が取り組むべき課題は「家畜疾病・人獣共通感染症の診断・防除技術の開発・実用化」と位置付けられ、具体的には以下の4つの課題を重点的に取り組みます。

- ・ ワンヘルスアプローチによる人獣共通感染症の監視体制の構築
- ・ 国際連携による越境性家畜感染症のまん延防止
- ・ 先端バイオ技術を応用した動物感染症の診断法及びワクチンの開発・実用化による被害低減
- ・ データ駆動型疾病管理システムによる衛生管理の高度化と省力化

これらの研究課題の実施のために、第5期においては組織体制を図のように変更し、4つの課題それぞれ

を担当する領域を設置しています。

人獣共通感染症研究領域では、人獣共通感染症の監視体制の構築に関する課題に取り組み、新興ウイルスグループがインフルエンザやウイルス性の人獣共通感染症を、また、腸管病原菌グループが、食中毒菌や薬剤耐性菌に関する研究を行います。

越境性家畜感染症研究領域では、越境性感染症発生時の迅速な対応を可能とする技術開発を行います。この領域では、東京都小平市にある小平海外病研究拠点に配置された海外病グループが、高度封じ込め施設を活用したアフリカ豚熱、豚熱、口蹄疫などの海外病の研究に取り組みます。疫学・昆虫媒介感染症グループでは、感染症の伝播に関する疫学研究をつくばで、アルボウイルスを中心とした研究を鹿児島研究拠点で取り組みます。

動物感染症研究領域では、野外に常在する動物感染症を主な研究対象として、新たな診断法やワクチンの開発に取り組みます。この領域には、ウイルスグループと細菌グループを設置し、それぞれの病原体によって起こる動物感染症を対象に研究開発を行います。

衛生管理研究領域では、農場における労働力不足解消と生産病による損害低減に向けて、家畜衛生管理の高度化と省力化のためのデータ駆動型の疾病管理システムの開発を目指します。この領域では、衛生管理グループが生体センサや画像解析技術を用いた疾病管理システムの開発を行い、病理・生産病グループが病理画像診断技術や乳房炎の制御技術の開発に取り組みます。乳房炎を中心とする技術開発は北海道の札幌研究拠点で行います。また、生化学に関する病性鑑定は衛生管理グループで対応します。

以上のような体制で研究課題の推進に努めていきますが、一方で、国内の動物疾病対策に貢献することも我々の重要な使命と考えています。動物疾病の確定検査や病性鑑定、生物学的製剤の製造、都道府県の家畜衛生担当者などを対象とする多くの研修・講習についても継続していきます。さらに、国際獣疫事務局(OIE)

第5期における動物衛生研究部門の取り組み

から認定を受けたコラボレーティングセンターやレファレンスラボラトリーとしての活動、海外研究機関との国際共同研究、開発途上国への技術協力など国際活動も進めています。特に、病性鑑定業務については、これまで研究推進室に配置していた行政連携調整役が農水省や都道府県への窓口として対応していましたが、新たに疾病対策部に行政連携室を設置し、一元的に対応する仕組みとしました。

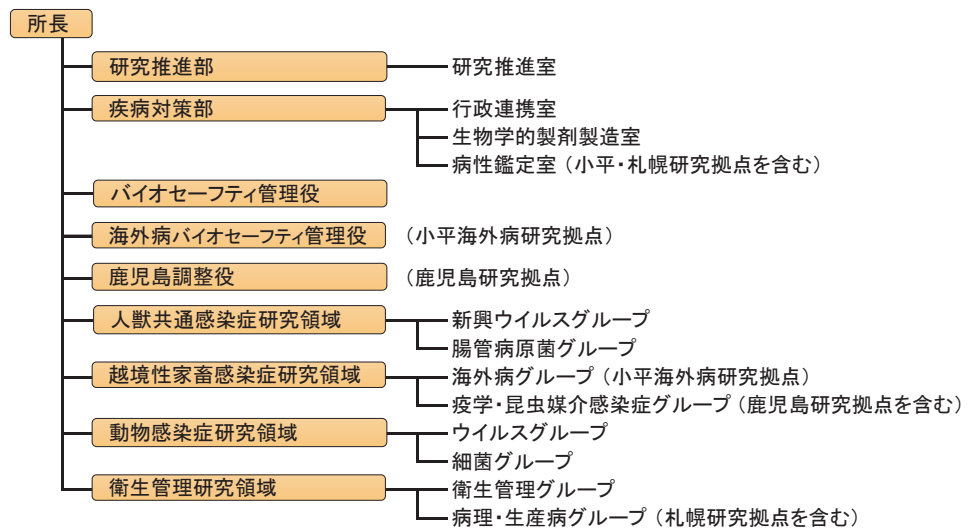
現在、動物衛生をとりまく状況は以前にも増して厳しいものとなっています。昨年度は高病原性鳥インフルエンザの流行により、国内飼養羽数の3%に達する970万羽の鶏が処分されるなど過去最大規模の被害が生じました。また、豚熱の発生が依然として継続しており、イノシシでの感染拡大も続いています。海外に目を向けると、アジアや欧州でアフリカ豚熱の発生が継続しており、海外からの旅客が持ち込んだ肉製品からウイルスが分離されるなど、より一層の警戒が必要な状況になっています。また、国内に常在する慢性感染症や生産病なども依然として、農家経営に悪影響を与えており、人手不足にも対応した省力的かつ効果的な疾病制御技術の開発が求められています。これらの課題に対応するため、新たな体制におきましても、都道府県、生産者、大学、民間企業などの関係者と連携し、野外における疾病発生状況やニーズを把握した上で、現場で必要とされる診断法、ワクチン、疾病管理技術などの研究開発を進めていきます。特に、開発した診断法やワクチンなどの成果を迅速に生産現場に届けるため、民間企業とも積極的に連携して製品化も進めていきます。

また、既に紹介したように第5期において新たに人

獣共通感染症の研究に取り組む領域を立ち上げました。近年、動物由来の人獣共通感染症や食中毒菌・薬剤耐性菌など動物が保有する病原体が人へのリスクとして顕在化してきています。これらのリスクへ対応するため、ワンヘルスの考え方に基づく動物側からのアプローチとして課題解決に取り組み、公衆衛生上の貢献も行っていきます。

様々な分野でグローバル化や技術革新が進展する一方、新型コロナウイルス感染症の流行によって社会のあり様が大きく変化しています。このような中、新たな未来の創造に貢献できるよう、積極的に技術開発を進めていきますので、関係者の皆様には引き続きご支援とご協力を賜りますようお願い申し上げます。

農研機構 動物衛生研究部門の組織 (令和3年4月1日現在)

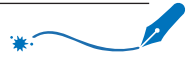


**農研機構  
動物衛生研究部門 (つくば)**  
〒305-0856  
茨城県つくば市観音台3-1-5  
Tel 029-838-7713 (代表)  
Fax 029-838-7880

**札幌研究拠点**  
〒062-0045  
北海道札幌市豊平区羊ヶ丘4  
Tel 011-851-5226 (代表)  
Fax 011-853-0767

**小平海外病研究拠点**  
〒187-0022  
東京都小平市上水本町6-20-1  
Tel 042-321-1441 (代表)  
Fax 042-325-5122

**鹿児島研究拠点**  
〒891-0105  
鹿児島県鹿児島市中山町2702  
Tel 099-268-2078 (代表)  
Fax 099-268-3088



## 特集 アフリカ豚熱 (ASF)

### はじめに

YAMAKAWA Makoto

越境性家畜感染症研究領域長 山川 睦

かつては風土病であったアフリカ豚熱 (African Swine Fever ; ASF) が、2007 年に黒海とカスピ海に挟まれたジョージアに飛び火して以降、徐々に周辺国に拡大し続け、ついに 2018 年 8 月、世界最大の養豚国かつ豚肉消費国である中国に侵入しました。その後じわじわとアジアの国々に拡散しつつあり、2021 年 6 月の段階で東アジアおよび東南アジア地域で清浄性を保っている国は、日本、台湾およびタイのみとなっていました。わが国の養豚場や野生イノシシへの侵入を許していないとはいえ、2019～2020 年には、アジア地域の発生国より入国した旅行客の違法持ち込み豚肉ソーセージが動物検疫所において相次いで摘発され、その一部から感染力のある ASF ウイルスが分離されています。まさに ASF の脅威が足下まで迫っていることを示す典型的な事例と言えます。現在では新型コロナウイルス感染症の影響で海外からの来訪者が激減している状況にありますが、今後、世界情勢が正

常に戻れば ASF の侵入リスクが高まると懸念されます。

農研機構動物衛生研究部門小平海外病研究拠点は、家畜伝染病予防法で重点管理病原体に指定されている ASF ウイルスを取り扱うことのできる国内唯一の研究機関です。我々は 2007 年以降の ASF の世界的拡散を受け、緊急事態に備えるため、いち早く海外研究機関 (国際獣疫事務局 ASF レファレンスラボラトリー) から流行株を導入して診断法を整備するとともに、動物実験を通じて臨床症状や病変の特徴を明らかにしてきました。また、最近では生物機能利用研究部門と共同で、世界に先駆けて ASF ウイルスを効率的かつ安定的に増殖させることのできる豚マクロファージ由来細胞株 (IPKM 細胞) の開発に成功し、未だ実用化されていないワクチンの開発への道筋をつけました。本特集では、ASF とはどのような疾病か、国内ではどのような研究が進められているかをご紹介します。

## アフリカ豚熱総論

KOKUHO Takehiro

越境性家畜感染症研究領域 海外病グループ グループ長補佐 國保 健浩

### アフリカ豚熱

アフリカ豚熱 (ASF) は ASF ウイルス (ASFV) 感染によって引き起こされるイノシシ科 (Suidae) 動物の熱性感染症です。サバンナではイボイノシシ (*Phacochoerus aethiopicus*) やヤブイノシシ (*Potamochoerus larvatus*) 等のアフリカ固有の種と、同じ地域に生息する軟マダニ (soft tick) の間で ASFV の自然感染環 (sylvatic cycle) を形成しています。ASFV はこれらの動物の間をダニによる咬刺のみを介して水平伝播するのですが、これらの動物種は感染しても概ね無症状で、発症に至ることはありません。

一方、アフリカ大陸においては外来種に当たる豚やイノシシ (Sus 属) がダニを介してウイルスに感染 (pig-tick cycle) すると、数日の潜伏期の後に発熱 (>41℃) し、沈鬱、食欲廃絶等の症状を呈して数日

内にほぼ全頭が死に至ります。これがいわゆる急性型の ASF で、現在、世界にまん延している欧州・アジア流行株の感染によく見られます。剖検時には脾臓やリンパ節の腫大と暗赤色化、腸漿膜や腎臓の出血、血液凝固不全等が高頻度に認められますが、いずれも ASF に固有の病変と言えるものではなく、また経過の早い症例では往々にして重度な病変を呈さないため、病理所見のみから本病を診断することは困難です。そのため、現在、我国では豚熱 (CSF) との類症鑑別を考慮した遺伝子検査が、特定症状を示して死亡したすべての豚を対象に実施されています (「遺伝子診断」参照)。

豚やイノシシが ASF に罹患した場合、自然宿主とは違って明瞭な臨床症状を表すことに加えて、ウイルスの伝播様式もそれまでとは異なる様相を呈するよう

## 特集 アフリカ豚熱 (ASF)

になります。豚・イノシシでは、発症と相前後して血液や唾液中に大量のウイルスが出現しますが、これが血液の凝固不良とあいまって、創傷部からの持続的な出血とともに大量のウイルスの排泄を招き、畜舎環境を高度に汚染することになります。これに未感染の個体が接触することで、もはやダニの介在を必要としない様式でのウイルス伝播（直接的な pig-pig cycle）が成立します。ASFV は自然環境下で抵抗性が高く、排泄物や死骸の中で長期間残存することに加え、感染豚に由来する精肉や非加熱の加工品（ハム・ソーセージ等）の中で数日間から数年間も感染力を保持します。そのため、このような汚染物との接触（摂取）を介した豚間での伝播も成立します（間接的な pig-pig cycle）。実際に、2007 年に黒海沿岸地域から始まった現在の世界的流行でも、アフリカ発の外国航路の船内で旅客に提供された ASFV 汚染豚肉の残渣を現地の豚に給与したのが発端であったと推察されています。また、今なお続く流行においても、このような伝播様式が感染イノシシの移動に伴う伝播とともに流行域拡大の主要因になっていると考えられています。

この他、ASF では、ウイルス株の違いや宿主の感受性の差異等によって亜急性型、慢性型等のやや緩慢な病態を示す病型を見ることがあります。このような症例では発症経過の延長とともに致死率が低下する傾向にあり、例えばアフリカ在来の豚（local pig）は欧州原産の品種よりも ASF に抵抗性が高いことが知られています。

本病が恐れられる理由としては、何と言ってもその高い致死率が挙げられますが、他方、病原体である ASFV に関する我々の理解が不十分なことや、本病に有効な対処法が未だに開発されていないこと等にもその一因があります。ASFV は巨大核質 DNA ウィルス（Nucleocytoplasmic large DNA virus; NLDV）群に含まれるアスファウイルス科（Asfaveridae）のウィルスです。この群のウィルスは、その名の通り巨大な DNA をゲノムに持ち、その構造も他のウィルスと比べて遥かに複雑です。この群の中では小さい部類の ASFV ですら 190,000 塩基対に及ぶ長大な直鎖状の二本鎖 DNA ゲノムに 170 種以上のタンパク質をコードし、そのうち少なくとも 60 種を用いて 0.26-0.3 $\mu\text{m}$  もの巨大な粒子を形成します（図）。ゲノムの塩基配列も極めて特徴的で、これまでに知られている他のいかなる生物種の遺伝子とも殆ど相同性が見出せません。そのため ASFV がコードするタンパク質の実に 1/3 以上のものは未だにその機能が解明されていません。

豚やイノシシに感染したウイルスは組織や血液中に存在するマクロファージや単球に侵入して増殖します。細胞質に内在化したウイルスは核の近傍に viral factory と呼ばれる構造物を形成し、自らがコードする遺伝子産物の機能によって宿主の免疫機能やアポトーシスを抑制しつつ、急速な複製過程を経て出芽します。多くのウイルス感染症では、こうして生じるウイルス血症（viremia）の間に中和抗体の産生が誘導され、力価の上昇に伴って viremia 状態が改善されます。しかし ASF では、そもそも病状の進行が早く、抗体産生の始動を前に死に至る例が殆どであり、また稀に亜急性型や慢性型のように緩慢な経過を辿った場合でも、産生される抗体にウイルス中和能が無いためウイルスと抗体が長期間血中に保持されます。これらの事実から「体液性免疫はウイルス排除に無効である」ことが推察されますが、果たしてこれまで試みられてきた不活化ワクチンの開発が概ね不首尾に終わってきた事実が、その推察が正しいことを支持しているようです。

一方、弱毒ウイルス株を接種した豚や強毒ウイルスの感染に耐過した豚に、抗原性の類似した強毒株を再感染させると ASF の発症を免れること、またこのような豚に抗原性の異なる強毒株を再感染させた場合には典型的な ASF を発症することが報告されており、任意の ASFV 株に対して少なくとも“株特異的な”獲得免疫が成立すると考えられます。現在、ASFV はゲノムの相同性に基づいて 24 種の遺伝子型（I～XXIV 型）に分類されていますが、例えば、現在の流行株である遺伝子型 II 型株のみを防ぐワクチンといったものであれば、実用化はそう遠くない将来に実現する可能性はあるでしょう。

しかしながら、現時点では本病に有効なワクチンや治療法が開発されていないことから、感受性動物を ASFV との直接的、間接的な接触から守ること—すなわち、バイオセキュリティレベルを向上すること—が本病の流行を阻止する手立てはありません。

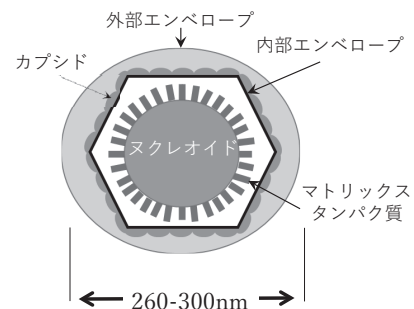
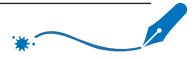


図 ASFV の粒子構造の模式図



## わが国での状況 ～輸入検疫摘発例～

越境性家畜感染症研究領域 海外病グループ 上級研究員 **MASUJIN Kentaro**  
**舩甚 賢太郎**

### 世界の ASF 発生状況

アフリカ常在の豚及びイノシシの熱性感染症であるアフリカ豚熱（ASF）が、2007年7月に黒海沿岸の国ジョージアで突如として摘発されました。この発生におけるウイルスの侵入経路として、アフリカからの船舶内で提供された ASF ウイルス（ASFV）に汚染された豚肉または豚肉加工品残渣の豚への給与が考えられています。その後、同年11月に ASF はロシアへ浸潤し、2021年6月までに欧州19カ国に発生が認められています。ユーラシア大陸を西進していた ASF の発生は、遂には東進し、2018年8月に中国にてアジア圏初の ASF の発生が確認されると、わずか3年弱という短期間にその発生地域を広げ、東アジア及び東南アジアの15カ国で発生が確認されています。今なお、欧州及びアジア諸国で ASF の発生が続いており、甚大な被害をもたらしています。

### わが国の現状

#### ASF の浸潤と水際対策

現在までに日本での ASF の発生は認められていません。中国での ASF の発生を受けて、2018年8月以降、農林水産省動物検疫所（動物検疫所）では外国人旅客による不法な畜産物の持ち込みに対する監視が強化されています。不法な畜産物として収去された豚肉加工品については ASFV 遺伝検査が実施されており、2021年6月現在までに計95例の ASFV 遺伝子陽性例が見つかっています。

#### 旅客携帯品からのウイルス分離

これまでに旅客携帯品として海外から持ち込まれた輸入禁止の豚肉加工品から直接 ASFV を分離したという報告はありませんが、過去の発生例を鑑みると海外から不法に持ち込まれる豚肉加工品によりウイルスが国内に持ち込まれる危険性があります。そこで、我々は、ASFV の侵入阻止に資するため、動物検疫所にて収去した ASFV 遺伝子検査陽性の豚肉加工品から ASFV の分離を試みました。

ASFV 遺伝子陽性検体95例のうちカタラーゼ加熱確認試験により、加熱不十分とみなされた13検体（ソーセージ13件）及び加熱処理済みと判定された9検体

（ソーセージ7件、豚肉入りちまき1件、豚肉まん1件）に非加熱の1検体（餃子1件）を加えた計23検体についてウイルス分離を実施しました。ウイルス分離は、豚の肺より回収した初代肺胞マクロファージ（PAM）細胞に検体乳剤を接種することで行いました。ASFV 分離時の指標には、ASFV 感染細胞で特異に認められる血球吸着（HAD）反応を利用した HAD 法を用いました。その結果、接種後3日目以降に加熱不十分であったソーセージ4検体で HAD 陽性反応が確認されました（図1）。

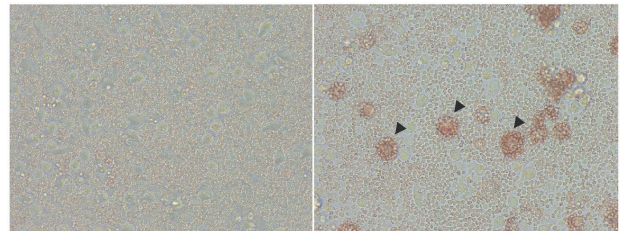


図1 HAD 反応による ASFV の検出（接種後4日目）  
 左：陰性コントロール、右：豚肉加工品乳剤接種、  
 矢頭：HAD 反応陽性

HAD 陰性となった19検体を含む全ての検体について、接種後7日目の培養上清を別途用意した PAM 細胞に接種・継代したところ、HAD 陽性の4検体については継代することでより強く HAD 陽性反応が認められましたが、他の19検体に陽性反応は観察されませんでした。この19検体について、さらに継代培養を実施しましたが、HAD 反応は認められず、培養上清にも ASFV 特異遺伝子が検出されなかったことからウイルス分離陰性と判断しました。一方、HAD 陽性を示した検体の継代培養上清中からは ASFV 特異的遺伝子が増幅され、PAM 細胞の細胞質内には ASFV の増殖を示すウイルス抗原が検出されました（図2）。

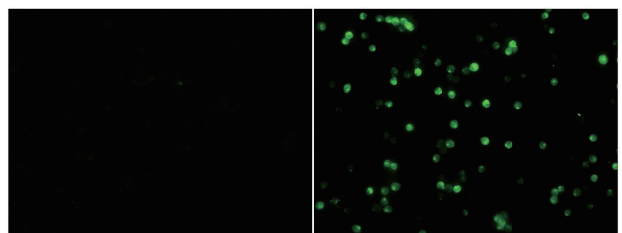


図2 直接蛍光抗体法により PAM 細胞中の ASFV 抗原の検出  
 左：陰性コントロール、右：HAD 陽性検体接種、  
 緑：ASFV 特異抗原陽性

## 特集 アフリカ豚熱 (ASF)

分離された ASFV は分子系統樹解析から、現在欧州やロシア、中国、東南アジア等で流行している流行株と同一または極めて近縁の ASFV であることが明らかとなりました。

我々が実施したウイルス分離試験により、旅客携帯品の加熱不十分ソーセージ4件から感染性のある ASFV が分離されました。このことは、ASF の流行地において ASFV に感染した豚由来の精肉や豚肉加工品が流通していることや、ASF 発生地域から豚肉加工品を介して日本国内に ASFV が持ち込まれるリスク

が極めて高いことを示しています。このような ASFV に汚染された豚肉加工品やその残渣が十分に加熱処理されずに豚やイノシシに摂取された場合、国内で ASF が発生する可能性が考えられます。アフリカ大陸では新たな ASF の発生も依然として続いています。欧州及びアジア諸国での発生に終息がみられない現状において、人の移動が制限されている昨今であっても、アジア諸国からの侵入に加え、欧州やアフリカ諸国からの ASFV の侵入にも十分に警戒することが必要です。

## 遺伝子診断

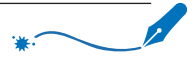
越境性家畜感染症研究領域 海外病グループ グループ長補佐 KOKUHO Takehiro 國保 健浩

現在世界的な流行を見せる遺伝子型 II 型の ASFV は豚やイノシシに対して極めて強い毒性を示し、これに感染した動物は典型的な急性型の ASF を発症します。感染個体の致死率 (case mortality rate) は概ね 100% に達し、外貌においては発熱や沈うつ、食欲不振、体表の紅斑等を示し、また諸臓器においては脾臓やリンパ節を中心に出血性ないしはうっ血性の病変を呈して発症から数日で死に至ります。しかし、これらの所見はいずれも ASF に限って認められるというようなものではなく、病理学的な所見のみから本病を的確に診断するのは困難です。鑑別を要する疾患としては、豚繁殖・呼吸障害症候群や豚皮膚炎腎症候群、豚丹毒、オーエスキー病等が挙げられますが、特に現在国内で広くまん延する CSF は、臨床症状が酷似することや豚群への侵入の経緯や拡大の様子といった疫学的特徴が似通っていることから、その識別は慎重に行う必要があります。

現在 OIE が定める標準的な ASF の抗原検査法としては、ウイルス分離、蛍光抗体法酵素抗体法および遺伝子検査法が挙げられていますが、検査の感度や特異性が高く、かつ経済性や利便性に優れる遺伝子検査法—PCR 法およびリアルタイム PCR 法が一般に広く用いられています。既に述べた通り、これまで ASFV には主要なカプシドタンパク質のひとつである P72 をコードする遺伝子配列に基づいて 24 の遺伝子型に区別されており、その違いが流行の地理的、時間的關係性を解析する上で有用なことから、この遺伝子が PCR

の標的としても最もよく利用されています。OIE マニュアルにおいても、P72 遺伝子を標的としたコンベンショナル PCR (cPCR) 法として Agüero らの方法 (2003) が、またリアルタイム PCR (qPCR) 法として King らの方法 (2006) と Fernández-Pinero らの方法 (2013) が記載されていますが、その他にもこの遺伝子を標的とする多くの系が報告されています。筆者が 2019 年に訪れたハンガリーでは、当時既に多数の ASFV 陽性イノシシが摘発されており、同国の国内参照研究室では核酸自動抽出装置で精製した試料を用いた King らの方法による qPCR 検査が採用されていました。しかし、既に当時から「多数の検体を取り扱う際には増幅産物の汚染による偽陽性反応が否定できない」ことが指摘されており、同研究室においても別の qPCR 系を用いた確定検査が実施されていました。

異なる検査法を採用する意義はベトナムでの ASF の事例でも別の形で示されています。同国では初発を疑う事例の摘発に際して、複数の機関が遺伝子診断を実施したのですが、qPCR 法のみを採用していた機関では遺伝子の検出ができず、cPCR 法および qPCR 法を実施していた機関においてのみ cPCR 法で ASFV の遺伝子が検出されたことから、結果の不一致が診断の確定に影響を与えました。結果的には cPCR 法による検査データが正しかったわけですが、この原因として qPCR 法で広く採用されていたプローブ配列と野外株のゲノムに 1 塩基のミスマッチがあったことが後に明らかにされています。この事例は、我々に複数の検査



法を採用することの重要性に加えて、DNA ウィルスである ASFV のゲノム配列にも一定の不安定さがあることを改めて認識させるものと言えます。

現在、国内ではこれらの点を加味し、疑い事例の一次スクリーニングとして、当所から配布するプライマーセットと陽性対照 DNA を用いて King らの方法に準じた cPCR 検査（参考資料）を都道府県の家畜保健衛生所（以下、家保）で実施することとなっています（ASF に関する特定家畜伝染病防疫指針）。このスクリーニング検査では増幅産物の汚染による偽陽性反応の識別のため、陽性対照 DNA に人為的な変異が導入されています。万一、家保で陽性を疑う結果が得られた場合には、当部門海外病グループが家保からの検体の提供を受けて King らの方法とは異なる qPCR による確定検査（および必要に応じてシーケンス解析）を実施することになります。

幸いにもこれまで我国で ASF の発生を見たことはありませんが、その一方で CSF による豚、イノシシでの陽性事例が継続して摘発されていることや、農林

水産省消費・安全局から発出されている CSF および ASF の検査実施の基準となる両疾病の「特定症状」に違いがないこと等を勘案すると、試料の採取から検査結果の取得にかかる一連の検査工程を見直して、両疾病の検査手順を可能な限り共通化することが求められます。そのため我々は、現在、令和 2 年度から開始された農林水産省委託研究事業「官民・国際連携による ASF ワクチン開発の加速化」において、既存の方法とは異なる新しい遺伝子検査法の開発に取り組んでおり、その成果を近日中に社会実装することを想定しています。

（参考資料）

農研機構動物衛生研究部門 2019 年度普及成果情報  
「迅速かつ高精度な ASF(アフリカ豚熱) 遺伝子検査法の開発」

[https://www.naro.go.jp/project/results/4th\\_laboratory/niah/2019/19\\_053.html](https://www.naro.go.jp/project/results/4th_laboratory/niah/2019/19_053.html)

（令和 3 年 6 月 30 日閲覧）

## 細胞培養系の樹立

越境性家畜感染症研究領域 海外病グループ 上級研究員 MASUJIN Kentaro 舩甚 賢太郎

### はじめに

アフリカ豚熱（ASF）の病原体である ASF ウィルス（ASFV）は、宿主である豚及びイノシシの単球やマクロファージなどの免疫に関わる細胞に感染し、増殖します。そこで ASFV の実験及び診断には、豚から採取したマクロファージ初代細胞が広く用いられています。しかし、マクロファージ初代細胞は、不死化細胞とは異なり、生体外で安定的に培養することが難しくかつ増殖しません。そのため実験室内で ASFV を増殖させることは容易ではなく、研究やワクチン開発の妨げとなっています。ASFV 研究及びワクチン開発を加速させる重要なツールとして、ASFV に高感受性かつウィルスの増殖効率に優れた不死化細胞株の樹立が求められています。そこで、私たちは、ASFV を効率良く増殖できる豚由来の不死化細胞株の樹立を試みました。

### 不死化マクロファージ細胞の樹立

豚の腎臓から回収したマクロファージ様細胞に、細胞の不死化に必要な 2 種類の遺伝子をウイルスベクターを用いて導入することで、増殖能力のある継代培養が可能な不死化腎マクロファージ（IPKM）細胞株の樹立に成功しました。IPKM 細胞の性状解析から、当該細胞株はマクロファージ初代細胞に非常に類似した性状をもつ細胞であることが明らかとなりました。

### IPKM 細胞株の特性

樹立した IPKM 細胞株について、ASFV に対する感受性、ウィルス増殖効率及びその特性を解析しました。その結果、IPKM 細胞株は、ASFV 野外株並びに異種動物細胞に馴化した ASFV 継代馴化株のどちらの ASFV に対しても感受性を示し、ASFV 感染細胞に特異に認められる赤血球の吸着（HAD）反応が観察されました（図 1）。

## 特集 アフリカ豚熱 (ASF)

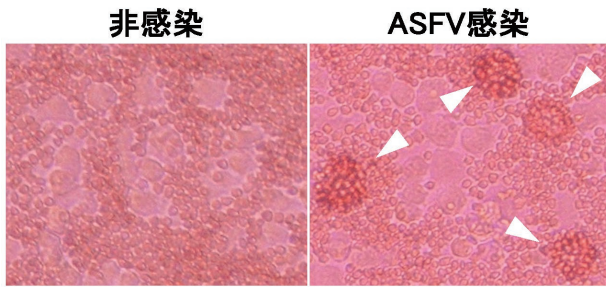


図1 ASFV感染IPKM細胞株における血球吸着反応  
矢頭：血球吸着反応

また、ASFVに感染したIPKM細胞株は、明瞭な細胞変性効果（CPE）を伴いながら死滅することも分かりました（図2）。

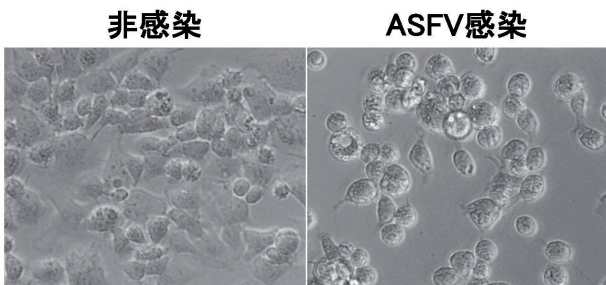


図2 ASFV感染IPKM細胞株における細胞変性効果

IPKM細胞株は単層のシート状に増殖します。そこで、この特性を生かしたプラークアッセイ法を試みたところ、マクロファージ初代細胞を用いた場合よりも明瞭なプラークが形成されることが確認できました（図3）。

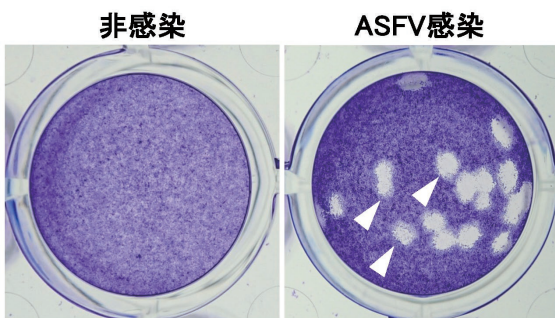


図3 ASFV感染IPKM細胞株におけるプラーク形成  
矢頭：プラーク

IPKM細胞株のウイルス増殖効率をマクロファージ初代細胞と比較した結果、IPKM細胞株はマクロファージ初代細胞と同等程度あるいはそれ以上の効率でASFV野外株及び継代馴化株を増殖させることが分かりました（図4）。

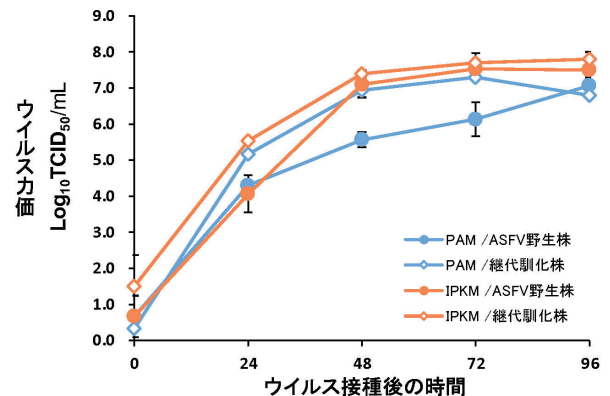


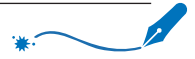
図4 肺泡マクロファージ初代細胞（PAM）とIPKM細胞株におけるASFVの増殖曲線

ASFV野外株を異種動物の細胞に継代・馴化させるとその過程でウイルスゲノムに大きな欠損や塩基置換などの遺伝子変異が生じ、ウイルスの性状が変化することが知られています。これらのASFV継代馴化株は、試験管内で容易に増殖できることからASFV研究の重要なツールとされてきましたが、継代・馴化に伴う遺伝子変異はASFVの生態解明やワクチン開発の妨げとなっています。一方、ASFV野外株をIPKM細胞株に15代連続継代しても、継代開始前とのウイルスゲノムの相違は極めて小さく、性状変化も認められませんでした。このことから、IPKM細胞株はASFV野外株の性状を変化させることなく、ASFVを大量に増幅できる細胞株であることが分かりました。

IPKM細胞株は、野外株及び継代馴化株と多様なASFVに感受性を示し、ウイルスの分離や増殖に優れ、さらにはCPE、HAD反応やプラーク形成数を指標としてウイルスの定量も可能であることが分かりました。これらのIPKM細胞株の性状は診断用ツールとしての適性を十二分に満たしており、マクロファージ初代細胞に代わるものとして、ASF診断に広く利用されることが期待されます。

これまでにASFに有効なワクチンは確立・実用化されていません。現在、最も期待されるASFワクチン候補として、ASFVの増殖、複製及びウイルス毒性に関与が知られる遺伝子を欠損させ弱毒化した遺伝子組換え弱毒ASFV株を主とする遺伝子組換え生ワクチンが挙げられています。遺伝子組換え弱毒ASFV株の作出には、マクロファージ初代細胞が使用されていますが、初代細胞は豚から採取するためその労力もさることながら、1度に回収できる細胞数に限りがあり、またその生存率や品質にはばらつきがあることから、遺伝子組換え弱毒ASFV株の安定かつ効率的な作出を





困難にしています。我々が樹立した IPKM 細胞株を遺伝子組換え弱毒 ASFV 株の作出に用いることで、均一の条件下で繰り返しの検討が可能となり、効率面でも大幅な向上が期待されます。また、有効なワクチン株が開発された場合には、IPKM 細胞株は生体由来の病原体が混入する心配の無い安定した ASF ワクチンの製造に大いに利用できると思っています。

ASFV は他に類似するウイルスがなく、その起源や生態は未だ多くの謎に包まれています。IPKM 細胞株は、豚マクロファージ初代細胞と同等の性状を保持し、かつ容易に試験管内で増殖することから、ASFV の病原性因子の同定や ASFV の性状解析などワクチン開発につながる基礎研究分野にも大きく貢献することが期待されます。

## ニホンイノシシ感染試験

農研機構本部 広報部広報課ウェブチーム長 兼

研究推進部研究推進室 兼 衛生管理研究領域 病理・生産病グループ

YAMADA Manabu

山田 学

ASF の制御が困難な理由の一つとして、野生イノシシによって広範囲に ASF ウイルスの拡散が引き起こされる点が挙げられます。2007 年から流行が続く欧州では、ASF ウイルスがヨーロッパイノシシに感染したことにより域内に広く拡散し、撲滅を著しく困難なものにしています。万一 ASF が日本で発生した場合も野生のイノシシを介してウイルスが拡散することが懸念されますが、国内に生息するニホンイノシシの ASF ウイルスに対する感受性や感染後の病態は明らかにされていません。そこで本試験では ASF ウイルスのニホンイノシシに対する病原性を検証しました。

現在アジアやヨーロッパ諸国で広く流行している ASF ウイルス Armenia07 株をニホンイノシシ 4 頭の筋肉内に接種し、臨床症状を 6 日間観察しました。死亡もしくは安楽殺後に解剖検査を行い、病変を観察しました。

臨床症状については、ASF ウイルスを豚に接種した場合と同様に、接種後 4 日目から元気消失・食欲不振を示して、接種後 5 日目に 1 頭が、また接種後 6 日目には 2 頭が死亡し、残りの 1 頭も瀕死状態に陥りました。このことから、ASF ウイルスのニホンイノシシに対する病原性は豚に対するものと同程度であることが確認されました。

解剖時の肉眼病変としては、ASF に特徴的な脾臓の黒色化と著しい腫大（図 a）ならびに腹腔内リンパ節の暗赤色化（図 b）が全頭で確認されました。また ASF ウイルス感染豚と同じように肺水腫や消化管粘膜の出血、血液の凝固不全が観察されました。これらの病変は、ASF と豚熱を含めた他の疾病との鑑別において重要な所見であると考えられます。

遺伝子検査によりウイルスの排泄状況を調べたとこ

ろ、接種後 3 日目には全頭で循環血液中および鼻腔ぬぐい液中に ASF ウイルスの遺伝子が検出され、うち 2 頭では唾液中にも、さらに 1 頭では糞便中にもウイルスの遺伝子が検出されました。

以上のことから、現在流行している ASF ウイルスは、ニホンイノシシにも感染して、豚と同じような症状を引き起こすとともに、体外へも排泄されることが確認されました。国内に侵入した場合は、野生イノシシによる ASF の拡散に対して警戒が必要です。本試験で得られた知見は、農林水産省が主導する本病の防疫対策に活用されます。



図 ASF ウイルスを接種したイノシシの解剖所見。

上：黒色調を呈して著しく腫大した脾臓。

下：胃の周囲のリンパ節の暗赤色化（矢印）。

通常周囲の脂肪組織にまぎれて目視しにくい胃の周囲のリンパ節も色調の変化により容易に確認できます。

# 研究者の素顔

## “Connecting the dots”

SAITO Takehiko  
疾病対策部長 西藤 岳彦

タイトルの言葉は2005年にスティーブ・ジョブズがスタンフォード大学の卒業式式辞の中で語った有名な言葉です。これまでの研究生生活を振り返ると、過去の職場での経験や、そこで出会った人達が、その後の研究生生活の中で重なっていたと言う事に気付かされます。

大学院での修士論文のテーマは、レプトスピラと言う細菌の分類で、長年の研究テーマである人獣共通感染症病原体との関わりはここから始まっています。一方で、講座の助教授はインフルエンザ研究の第一人者である喜田宏先生でしたが、その後長く関わり続けるインフルエンザウイルスにはこの時はまだ関わりがありませんでした。インフルエンザとの関わりが始まったのは、修士課程を修了後、外資系製薬会社の研究所に勤務していたころ、その会社の米国と日本の研究所の間での学位保有者数の差に愕然とした事がきっかけでした。翌年には長男が生まれるのですが、バブル景気に浮かれていた私は、仕事を辞めてアメリカに行き、あちらの仕事で論文を書いて母校で学位を取ろうと、無謀な決意をしました。その決意をサポートくださったのが喜田先生でした。先生の紹介のおかげでインフルエンザ研究の世界的権威であるウェブスター博士の研究室で、獣医ならポスドクとして採用してくれるということになり、1991年米国メンフィスの聖ユダ小児研究病院ウェブスター研究室で、その後30年に及ぶインフルエンザとの長い付き合いが始まりました。

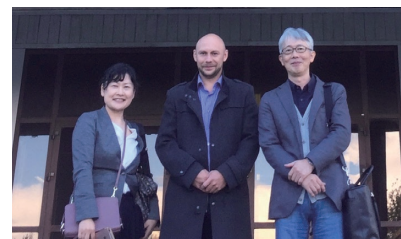
メンフィスでは現在東大医科研教授をされている河岡義裕先生が同じフロアに研究室を構えておられ、まさに Rising sun の勢いの仕事ぶりを目の当たりにする事になりました。また、米国での学会、研究所でのセミナー、ジャーナルクラブ等で見ると米国のプレゼンテーションに、カルチャーショックを受けました。生物物理の専門家との共同研究で、自らワークステーションを操作して三次元構造を見ながら考えた経験は、自身のその後の研究に大きな影響を与えました。

2年8ヶ月の米国での生活を終え、学位を取得、神戸大学農学部で3年間勤務した後、感染研に異動しました。感染研では、季節性インフルエンザワクチン製

造株選定のためのサーベイランスの他、パンデミック対策として1999年香港でのH9N2亜型インフルエンザのヒト感染事例ウイルス解析や、2003年SARSの流行時の国内疑い事例の診断にも携わりました。2004年ベトナムでH5N1亜型高病原性鳥インフルエンザのヒト感染が多発した際には、WHOの専門家としてホーチミン市のパスツール研究所での診断ラボの立ち上げ、診断に参加しました。これらの緊急対応の経験は、動衛研での高病原性鳥インフルエンザの緊急対応に生かす事ができました。また、WHOのパンデミック対策として東南アジア向けの研修などで一緒にお仕事をした感染研感染情報センターの進藤奈邦子先生は、その後WHOの職員になりましたが、2014年に農研機構シンポジウムを企画した際には、忙しい仕事の合間を縫って来日して、WHO職員として貴重な講演をしてくださいました。

動衛研では、2005年から15年にわたり文科省・AMEDの海外拠点プロジェクトに携わり、タイ・ベトナムでの豚インフルエンザの調査を行いました。異国で調査・研究を行うための協定の締結や実験設備の整備など様々な困難がありましたが、同僚やカウンターパートの研究者など色々な人達との繋がりを感じる仕事でした。共同研究の成果は、豚インフルエンザのOIEリファレンスラボラトリーやWHO/OIE/FAOによるインフルエンザ専門家グループOFFLUのメンバーとして対外的に認知される為に役立ちました。また、国外での研究の成果が、国内で豚インフルエンザワクチンの研究に取り組むきっかけになり、豚インフルエンザの新たな共同研究も生まれました。

バブルに浮かれて転がり出した研究生生活ですが、それぞれの職場で得た経験や知り合った人達とその後の



現在のロシアとの共同研究の主役 Kirill Sharshov 博士とノボシビルスクで

職場の思わぬところで繋がりました。これからの“Dots”が将来の新たな“Dots”に繋がっていく事を楽しみにしています。

# 報告

## 令和2年 病性鑑定実施状況

### (1) 口蹄疫病性鑑定

	検査件数	検査頭数	検査結果	
			陽性頭数	陰性頭数
令和2年1月1日～12月31日	0	0	0	0

「口蹄疫に関する特定家畜伝染病防疫指針」（令和2年7月1日公表、令和3年3月31日一部変更）

### (2) 高病原性鳥インフルエンザの病性鑑定

	検査件数	検査例数	検査結果（例数）	
			高病原性鳥インフルエンザ	低病原性鳥インフルエンザ
令和2年1月1日～12月31日	50 (31)	578 (338)	50 (31)	0 (0)

※（ ）は緊急病鑑対応数

「高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザに関する特定家畜伝染病防疫指針」（令和2年7月1日公表）

### (3) CSF の病性鑑定

	検査対象	検査件数	検査例数	検査結果（件数）	
				陽性件数	陰性件数
令和2年1月1日～12月31日	豚	25 (17)	419 (298)	10 (5)	15 (12)
	イノシシ	24 (12)	166 (69)	24 (12)	0 (0)

「豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針」（令和2年7月1日公表、令和3年3月31日一部変更）

※（ ）は緊急病鑑対応数

### (4) ASF の病性鑑定

	検査件数	検査頭数	検査結果	
			陽性頭数	陰性頭数
令和2年1月1日～12月31日	0	0	0	0

「アフリカ豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針」（令和2年7月1日公表）

### (5) 経口ワクチン散布地域における野生イノシシのCSF サーベイランス

	検査件数	検査頭数	検査結果	
			陽性頭数	陰性頭数
令和2年1月1日～12月31日	25	40	37	3

### (6) 伝達性海綿状脳症（TSE）サーベイランス

	検査件数	検査頭数	検査結果	
			陽性頭数	陰性頭数
令和2年1月1日～12月31日	409	598	0	598

「伝達性海綿状脳症（TSE）検査対応マニュアル」（平成27年4月1日最終改正）

### (7) 鳥インフルエンザサーベイランス

	検査対象	検査件数	検査例数	検査結果	
				陽性例数	陰性例数
令和2年1月1日～12月31日	野鳥	4	10	9 <sup>*</sup>	1

\*：高病原性鳥インフルエンザ（H5N8 亜型）、低病原性鳥インフルエンザ（H5N8 亜型）、鳥インフルエンザ（H1N1 亜型、H4N6 亜型、H6N8 亜型）

「野鳥における高病原性鳥インフルエンザに係る対応技術マニュアル」（環境省自然環境局、平成30年10月改訂）

### (8) 一般病性鑑定集計表

ア. つくば・研究拠点別病性鑑定実施状況

単位：例数（件数）

区分	つくば	海外病研究拠点	北海道研究拠点	九州研究拠点	合計
牛	1,052 (79)	34 (1)	80 (15)	26 (7)	1,192 (102)
豚・イノシシ	1,554 (63)	0 (0)	9 (2)	4 (1)	1,567 (66)
馬	51 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	51 (1)
めん羊・山羊	40 (4)	0 (0)	0 (0)	12 (2)	52 (6)
鹿	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
家きん	45 (12)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	45 (12)
その他	33 (8)	27 (8)	0 (0)	0 (0)	60 (16)
計	2,775 (167)	61 (9)	89 (17)	42 (10)	2,967 (203)

イ. 過去5年間の一般病性鑑定の推移

単位：例数（件数）

区分	平成28年	平成29年	平成30年	令和元年	令和2年	対前年比（%）
牛	846 (93)	1,056 (98)	1,280 (127)	1,068 (104)	1,192 (102)	112 (98)
豚・イノシシ	973 (56)	989 (56)	1,111 (65)	687 (56)	1,567 (66)	228 (118)
馬	3 (1)	11 (2)	7 (2)	20 (1)	51 (1)	255 (100)
めん羊・山羊	243 (10)	21 (10)	166 (18)	92 (7)	52 (6)	57 (86)
鹿	3 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	—
家きん	214 (13)	790 (17)	107 (13)	94 (11)	45 (12)	48 (109)
その他	234 (23)	655 (18)	70 (9)	100 (16)	60 (16)	60 (100)
計	2,516 (197)	3,522 (201)	2,741 (234)	2,061 (195)	2,967 (203)	144 (104)

# 令和2年病性鑑定実施状況（細目）

単位：例数

対象疾病等	目的・検査方法等	結 果	本所	海外病	北海道	九州	合計
<b>牛</b>							
<b>牛</b>							
牛 RS ウイルス感染症	シーケンス、系統樹解析	検体はすべて遺伝子型Ⅲに分類された。IW02 株と最も近縁で一致率 95.9 ~ 96.7% を示し、ワクチン株 rs-52 株とは 89.2 ~ 89.8% を認めた。	46				46
牛 RS ウイルス感染症	RT-PCR、nested PCR、ダイレクトシーケンス法、分子系統樹解析	1 検体は系統樹解析から、2009-2016 年にかけて同管区で流行していた株に、極めて類似している。			1		1
牛アデノウイルス感染症	nested PCR、シーケンス、系統樹解析	hexon 遺伝子、protease 遺伝子を基にした分子系統樹解析で牛アデノウイルス 4 型に分類された。	2				2
牛アデノウイルス感染症	シーケンス、系統樹解析	hexon 遺伝子を基にした分子系統樹解析で牛アデノウイルス 3 型に分類された。	7				7
牛アデノウイルス感染症	シーケンス、系統樹解析	5 検体の全てが hexon 遺伝子を基にした分子系統樹解析で牛アデノウイルス 3 型に分類された。3 株は WBR 株に、2 株が中国で 2009 年に分離された HLJ0955 株と近縁であった。	5				5
牛アデノウイルス感染症	シーケンス、系統樹解析	分子系統樹解析で牛アデノウイルス 3 型に分類され、2013 年に米国で採取された BRS16 株に 100% 一致した。	5				5
牛アデノウイルス感染症	PCR、系統樹解析	7 検体は BAdV3 型、2 株は BAdV4 型に分類され、No13、14、19 は BA d V3 型 WBR-1 株に近縁であり、一致率は 98.5% であった。一方 No15 ~ 18 は中国分離の同 HLJ0955 型と一致率 97.2 ~ 98.3% を示した。さらに BAdV4 型の No20 ~ 21 は BA d V4 型 THT/62 株と一致率 99.1% となった。	9				9
牛アデノウイルス感染症	PCR、系統樹解析	肉用育成牛の尿より分離されたウイルスは <i>Atadenovirus</i> 属に分類されるが、Protease 領域での解析では同定不可で未分類の <i>Atadenovirus</i> と判定した。	1				1
牛アデノウイルス感染症	PCR、系統樹解析	鑑定材料から牛アデノウイルス遺伝子を検出する事は出来なかった。	3				3
牛ウイルス性下痢	RT-PCR、系統樹解析	63 株は 1b 型及び 2a 型に近縁であった。同一農場に由来する検体は概ね近縁のクラスターに分類されたが、異なる農場で同じクラスターに分類されるあるいは同一農場で 1b,2a の両方のウイルスが検出される場合も認められた。	63				63
牛ウイルス性下痢	RT-PCR、系統樹解析	検体は 1a 型、1b 型及び 2a 型に分類され、同農場に由来する検体は概ね近縁のクラスターに分類された。	11				11
牛ウイルス性下痢	RT-PCR、系統樹解析	31 株中 2 株は全長の解読不能となったが、残り 29 株が 1b 型 (22 株) 及び 2a 型 (7 株) に分類された。	31				31
牛ウイルス性下痢	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析、相同性解析	4 検体は全て BVDV1b に分類され、1999 年に北陸地方で分離された株と最も高い相同性を示した。				4	4
牛コロナウイルス感染症	シーケンス、系統樹解析	26 検体のうち Group3 が 13 検体、Group4 が 13 検体となった。	60				60
牛コロナウイルス感染症	RT-PCR、nested PCR、ダイレクトシーケンス法、分子系統樹解析	検体は全て、4 型に分類された。			18		18
牛ロタウイルス	RT-PCR、PFGE、ダイレクトシーケンス、系統樹解析	7 検体は、VP7 および VP4 に関する系統樹解析の結果、いずれも G8P[14] 遺伝子型に分類された。			7		7
牛ロタウイルス	RT-PCR、電気泳動、ダイレクトシーケンス	2 検体の牛 RVB は、いずれも既報の国内牛 RVB 株と遺伝的に近縁であった。			2		2
牛トロウイルス感染症	シーケンス、系統樹解析	8 検体すべてが BToV-Breda lineage に分類された。株間の一致率は 92.8 ~ 100% であった。No.1 は 2005 年の北海道分離株と No.2 ~ 8 は 2014 年の鹿児島分離株と最も近縁であった。	16				16
牛鼻炎ウイルス感染症	RT-PCR、シーケンス	Bovine rhinitis A virus と類似性が高い配列であることが明らかになった。		34			34
牛ヘルペスウイルス 1 型感染症	シーケンス、系統樹解析	9 株中 8 株の塩基配列が決定され、100% 一致した。系統樹解析では主に呼吸器症状を呈するサブタイプである遺伝子型 1 (BHV1-1) に近縁であることが示唆された。	18				18
牛ロタウイルス感染症	RT-PCR、シーケンス	VP4 遺伝子における各類似性は Nemuro 株と検体 1 で 88%、検体 2 で 89%、VP7 ではそれぞれ 94%、96% であった。	2				2
牛流行熱	ウイルス分離、RT-PCR	2 検体から BEFV が分離された。				4	4
ブルータング	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	1 頭が BTV に感染していたことが明らかになった。今回の流行株はアジア及びオーストラリアの流行株と同一のクラスターに属していたが、過去の日本の流行株とは異なるグループであった。				3	3
ビートンウイルス感染症、サシュペリウイルス感染症、流行性出血病	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	1 株はこれまで国内で分離された PEAV と近似していた。2 株は 2019 年に鹿児島で分離された SATV と近似していた。1 株は 2019 年に宮崎で分離された EHDV 血清型 7 と近似していた。				4	4
ビートンウイルス感染症	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	送付されたウイルスはビートンウイルスと同定され、これまでの国内分離株と遺伝学的性状が近似した。				1	1
アカバネ病、サシュペリウイルス感染症	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	1 検体はアカバネウイルスの genogroup I に属し、2013 年及び 2015 年国内分離株と近似していた。3 株は 2019 年に鹿児島で分離されたサシュペリウイルスと高い相同性が認められ、これまでの国内分離株と近似していた。				4	4

対象疾病等	目的・検査方法等	結 果	本所	海外病	北海道	九州	合計
ブルータンク、シャモンダウイルス感染症	RT-PCR、シークエンス、系統樹解析	2 検体から SHAV 遺伝子が検出され、2015 年に鹿児島で分離された株と近縁であった。また、1 検体から BTV 遺伝子が検出され、過去に日本や台湾で分離された株と近縁であった。				6	6
インフルエンザウイルス感染症	TR-PCR、ダイレクトシーケンシング、遺伝子配列の比較・解析	本株は、前回病鑑で解析した B 農場由来株と全てのセグメントに関して高い遺伝子配列一致率を示した。			1		1
バビロームウイルス感染症	PCR、塩基配列の解析、BLAST 検索	各検体において、単一もしくは複数の遺伝子型の牛バビロームウイルスの存在が認められた。			6		6
大腸菌症	PFGE 解析	7 菌株の PFGE パターンはすべて同一であることから、乳房炎の母牛と敗血症の子牛からそれぞれ分離された大腸菌に関連性を認めた。	7				7
大腸菌症	PCR	鑑定材料 9 株の遺伝子保有状況は全て同一であった。	9				9
大腸菌症	大腸菌免疫血清を用いた凝集反応	3 株が O15、1 株が O118 又は O88、残り 2 株は OUT であった。	7				7
大腸菌症	大腸菌免疫血清を用いた凝集反応	9 株が Og7、2 株が Og26 であった。	11				11
大腸菌症	大腸菌免疫血清を用いた凝集反応	27 株のうち 1 株は O7、O19、O78、O91、O98 O119、O140、O145 O153 の 9 種、2 株は O8、O45、O73、O88、O109 の 5 種、3 株は O15 で、残り 5 株が OUT であった。	27				27
大腸菌症	O-genotyping PCR	Og26 であった。	1				1
大腸菌症	O-genotyping PCR	Og98 及び Og26 は国内の牛由来大腸菌で多い遺伝子型であり、Og139 及び Og149 は豚由来大腸菌の主要な遺伝子型である。またカラス由来の Og166 は国内外の報告は少ないが、野鳥には多い遺伝子型であった。	57				57
サルモネラ症	SNP 遺伝子型別、最小発育素子濃度測定	SNP 遺伝子型別により、105 株は 1、7、9 型のいずれかに型別された。また平成 19 年度分離株と比較し、平成 27 年度分離株では KM の耐性率、MIC <sub>50</sub> 、MIC <sub>90</sub> が低下し、TMP の耐性率、MIC <sub>50</sub> 、MIC <sub>90</sub> が上昇した。	105				105
サルモネラ症	PFGE 解析	被検菌株は 3 つの PFGE 型（Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ型）に区分され、さらにⅠ型は 2 つの亜型、Ⅲ型は 3 つの亜型に細分された。	8				8
サルモネラ症	PFGE 解析	被検菌 16 株からそれぞれ Xba I では 4 つ、Bln I では 5 つの異なる PFGE プロファイルを確認した。	16				16
サルモネラ症	SNP 遺伝子型別、MLVA	SNP 遺伝子型別では被検体株 4 株のうち 2 株が SNP9 型、1 株が SNP8 型、1 株が SNP3 型に区別され、PFGE 像では 5 つのクラスター（Ⅰ～Ⅴ型）に区分された。	8				8
サルモネラ症	SNP 遺伝子型別、MLVA	SNP 遺伝子型別では 2007 ～ 2019 年の根室管内分離株 108 株を合わせた計 116 株中 42 株が SNP 9 型、29 株が SNP 1 型、27 株が SNP 7 型、14 株が SNP 8 型、1 株が SNP 5 型、3 株が型別不能となった。また MLVA では 39 種類のプロファイルが検出され、ⅠからⅣのクラスターに分類された。	8				8
ヒストフィルス感染症	PCR、シークエンス、PFGE 解析	症例 1 は遺伝的に異なる株であったが、症例 2、3 は遺伝的に近縁であった。	8				8
ヒストフィルス感染症	シークエンス、PFGE	MOMP 遺伝子塩基配列は完全に一致し、また PEFG パターンは 7 株同一のパターンとなった。	7				7
ヒストフィルス感染症	病理組織学的検査、免疫組織化学的検査	3 検体では <i>H.somni</i> が病変形成の原因と考えられた。	15				15
ヒストフィルス感染症	病理組織学的検査、免疫組織化学的検査	心臓に見られた壊死性化膿性病変は <i>H. somni</i> による心筋炎と考えられる。	4				4
パスツレラ感染症	病理組織学的検査、免疫組織化学的検査	本症例の化膿性気管支肺炎には <i>P. multocida</i> が強く関与していた。	3				3
マンヘミア（パスツレラ）感染症	PFGE 解析	37 株は 3 つのクレード、5 つのサブクレードに分類された。	37				37
マンヘミア感染症	16S rRNA 遺伝子の塩基配列解析	データベースの中で最も配列の一致率が高かったのは菌種名が正式に決定していない <i>Mannheimia</i> 属菌として登録された株であったため、菌種同定には至らなかった。	1				1
マンヘミア感染症	病理組織学的検査、免疫組織化学的検査	症例 1 では微小壊死巣に細菌塊は観察されず <i>M. varigena</i> の関与は低いと考えられ、また症例 2 では多数の細菌塊を伴う多発性壊死巣を認めたが、抗体に反応する細菌はごく一部のみ観察され、症例 2 についても病変形成の寛容は低いと考えられた。	4				4
マンヘミア感染症	16S rRNA の塩基配列解析、相同性検索	最も類似度が高かったのは、 <i>Mannheimia granulomatis</i> で 96.0% であった。			1		1
エンテロバクター感染症	16S rRNA 遺伝子の塩基配列解析	鑑定材料 3 株は全て <i>Enterobacter hormaechei</i> と同定された。	3				3
クレブジラ感染症	病理組織学的検査、免疫組織化学的検査	<i>Klebsiella pneumoniae</i> が病変変性の原因であった。	15				15
モラクセラ感染症	シークエンス	2 株の塩基配列は完全に一致し、 <i>Moraxella bovoculi</i> と同定した。	2				2
モラクセラ感染症	16S rRNA の塩基配列決定、相同性解析	2 検体は、 <i>Moraxella</i> 属菌と類似度が高く、 <i>Moraxella bovis</i> CCUG 2133 株の類似度は、99.8% であった。			2		2
モラクセラ感染症	16S rRNA の塩基配列解析、相同性検索	相同性解析の結果、2 検体の配列は全く異なっており、検体 1 は <i>Moraxella bovoculi</i> とは 98.7% と最も高かった。検体 2 は、病原性を示す菌種が上位にヒットしてこなかった。			2		2
カンピロバクター症	PCR	3 株は全て、 <i>C. fetus subsp. fetus</i> (Cff) である。			3		3
カンピロバクター症	PCR	2 株は、 <i>C.fetus subsp.fetus</i> (Cff) であると考えられる。			2		2

対象疾病等	目的・検査方法等	結 果	本所	海外病	北海道	九州	合計
カンピロバクター症	PCR	一検体は、 <i>C.fetus subsp.fetus</i> (Cff) であると考えられる。			1		1
肺炎	病理組織学的検査、免疫組織化学的検査	本病変の一次的な病原体を特定する事は困難であったが、 <i>T.pyogenes</i> , <i>P.multocida</i> の肺炎の進行に伴う二次的な感染があった。	2				2
ストレプトコッカス感染症	亜種同定用 PCR	<i>S.galloyticus subsp.galloyticus</i> と同定した。	2				2
ストレプトコッカス感染症	16S rRNA 遺伝子解析、 <i>Streptococcus ruminantium</i> 特異的 PCR、 <i>Streptococcus suis</i> 特異的 PCR	5 株が <i>Streptococcus ruminantium</i> 、1 株が <i>Streptococcus suis</i> と同定した。	6				6
ストレプトコッカス感染症	シークエンス、系統樹解析	1 件目の PCR 産物は全て <i>arcA</i> 遺伝子由来であることが確認された。また 2 件目の PCR 産物は <i>Streptococcus ruminantium</i> の 16S rRNA 遺伝子由来であることを確認した。	2				2
ストレプトコッカス感染症	PCR、シークエンス	脳および腎臓由来株はいずれも <i>Streptococcus parasuis</i> と同定した。	2				2
コリネバクテリウム感染症	16S rRNA の塩基配列解析、相同性検索	最も類似度が高かったのは、 <i>Corynebacterium cystitidis</i> で、99.6% であった。			1		1
クロストリジウム感染症	PCR、シークエンス、アミノ酸配列の比較	分離株の $\epsilon$ 毒素遺伝子配列に機能を阻害する変異はなく、機能をもつ $\epsilon$ 毒素遺伝子を保有していた。	2				2
クロストリジウム感染症	PCR、シークエンス	3 株は <i>Paeniclostridium sordellii</i> 、1 株は <i>Clostridium perfringens</i> と同定した。	4				4
クロストリジウム感染症	シークエンス	心臓には <i>C.novyi</i> type B または typeC が、脾臓増菌培養液中には <i>C.novyi</i> type C 株がいる可能性が示唆された。	9				9
クロストリジウム感染症	16S rRNA の塩基配列解析、相同性検索	2 株の 16SrRNA 遺伝子配列は同一で、相同性検索の結果、最も類似度が高かったのは <i>Clostridium perfringens</i> で 99.9% であった。			2		2
皮下気腫	PCR、シークエンス	分離 3 株は比較的近縁な関係を認めた。	30				30
皮下気腫	PCR、シークエンス	牛及びめん羊由来 3 株は系統樹上で離れた枝に位置する異なる系統の株であった。	27				27
皮下気腫	PCR、シークエンス	牛由来 2 株は比較的近縁な関係となった。それ以外はそれぞれ系統樹上で離れた枝に位置した。なお皮下気腫症例由来株を 3 株で認めた。	31				31
ヨーネ病	ELISA による牛 IFN- $\gamma$ 検出、ヨーネスクリーニング・プルキエによる抗体検査、ヨーネ遺伝子検出、定量	14 頭全頭抗体陰性であったが、2 頭は遺伝子検査陽性、IFN- $\gamma$ 検査陽性であり、感染後の排菌を認められた。他の 2 頭は IFN- $\gamma$ 検査陰性であるが、少量の遺伝子が検出され、感染及び間欠的排菌の個体の可能性があった。	42				42
ヨーネ病	培養検査	いずれも検体からもヨーネ菌は分離されなかった。	6				6
ヨーネ病	MLSSR 解析、シークエンス解析	31 検体は、locus7 の CCG 反復数は全て 4 であった。Locus1 および 2 の G 反復数は様々であった。Locus 1 および 2 の反復数の組み合わせは 27 タイプに型別された。			31		31
結核、ヨーネ病	PCR、リアルタイム PCR	全臓器において結核菌群及び結核菌特異遺伝子は検出されなかったが、下顎以外のリンパ節から抗酸菌共通遺伝子、鳥型結核菌群の遺伝子が検出された。	12				12
鳥型結核菌感染症	PCR、リアルタイム PCR、シークエンス	検査菌株（回腸、結腸由来）はともに <i>Mycobacterium avium subsp. Hominissuis</i> と同定された。	2				2
マイコプラズマ感染症	Hybridizaion pobe による融解曲線解析、DNA シークエンス	TET 並びに 16MML 感受性低下 SNP は全株で認め、ML 全般並びに LCM 感受性低下 SNP は 2 株で確認された。また FQ 感受性低下 SNP は 6 株で確認されたが、SPM 感受性低下に関する SNP は検出されなかった。	7				7
マイコプラズマ感染症	Hybridizaion pobe による融解曲線解析、DNA シークエンス、PFGE 解析、MLST 解析	TET 並びに 16MML 感受性低下 SNP は全株で認められた。PFGE 解析では 2016 年分離株内と 2020 年分離株内ではそれぞれ同一のパターンを示し、MLST 解析では全株とも old st5 型 new st21 型を示した。	8				8
マイコプラズマ感染症	Hybridizaion pobe による融解曲線解析、DNA シークエンス	TET 並びに 16MML 感受性低下 SNP は全株で認められた。一方 ML 全般、LCM 感受性低下 SNP、SPM 感受性低下 SNP、FQ 感受性低下 SNP は認められなかった。	3				3
マイコプラズマ感染症	融解曲線解析、シークエンス	TET、16MML、FQ 感受性低下 SNP は全株で認められ、FQ 感受性低下 SNP については全て高感受性低下に関する SNP の組み合わせであった。	7				7
マイコプラズマ感染症	融解曲線解析、シークエンス、PFGE、MLVA	TET、SPM、16MML、ML 全般、LCM、FQ 感受性低下に関する SNP は検査 8 株のいずれも認めなかった。また PFGE では同一の puls pattern を示し、MLVA では 6 株が 3-9-3na、1 株ずつ 3-4-3-na、2-9-3-na を示した。	11				11
マイコプラズマ感染症	融解曲線解析、シークエンス、PFGE、MLVA	TET、16MML 感受性低下 SNP は全株で認めた。FQ 感受性低下に関する SNP は HAZ2050 以外の 5 株で認めた。また ML 全般、LCM 感受性低下 SNP、SPM 感受性低下に関する SNP は検出されなかった。	6				6
アスペルギルス感染症	病理組織学的検査、免疫組織化学的検査	第四胃の真菌は <i>Fusarium solani</i> の可能性が高かったが、胎盤の真菌は確定できなかった。	3				3
アスペルギルス属感染症	培養と形態観察、分子疫学的解析	検査 3 株とも表面ビロード状で、貴白色のコロニーを形成し、 <i>Aspergillus</i> 属真菌 ( <i>Aspergillus terreus</i> ) と同定した。	3				3
カンジダ感染症	シークエンス	<i>Candida albicans comple</i> と同定した。	1				1
カンジダ感染症	シークエンス	1 株のみ 24bp の BLAST 解析が行え、 <i>Aspergillus</i> 属もしくは <i>Neosartorya</i> 属真菌が候補として挙げられた。	4				4

対象疾病等	目的・検査方法等	結 果	本所	海外病	北海道	九州	合計
カンジダ感染症及びクロストリジウム感染症	病理組織学的検査、免疫組織化学的検査	免疫組織化学的検査により食道、第一、二、三胃及び分離株の各ブロックで <i>Candida albicans</i> の陽性反応を認めるとともに、食道、第一、二、三胃では、 <i>Clostridium sp</i> に対する反応も陽性であった。	5				5
真菌症	培養と形態が殺、シーケンス	<i>Rhizopus microspores</i> と同定した。	1				1
真菌症	分子疫学的解析	3 検体の No.1 は PCR 産物を得られたが有意な塩基配列を得られず、また No.2 及び 3 もその産物が認められず、真菌同定は不可能と判断した。その原因として複数の真菌種が混在している。あるいは真菌が組織に感染してから経過日数が長く DNA 抽出効率が低下していた等が疑われた。	3				3
真菌症	分子疫学的解析	PCR 産物として 750bp 付近にバンドを認め、シーケンス後 650bp の塩基配列を得たが、当該遺伝子領域で類似性の高い真菌種 (90%以上) は認められず、同定不能と判断した。原因について不明であるが、真菌種の単離が不十分である他、DNA のコンタミが発生している等が考えられた。	3				3
真菌症	ポテト・デキストロース寒天平板培養	真菌の発育は認めなかった。	8				8
真菌症	病理組織学的検査、免疫組織化学的検査	病変内の真菌は接合菌と考えられ、病変形成の原因と考えられた。	8				8
真菌症	病理組織学的検査、免疫組織化学的検査	病変内の真菌はアスペルギルス属菌と考えられ、病変形成の原因と考えられた。	1				1
銅中毒	原子吸光度法	死亡した子牛の症例 4 及び症例 8 は銅中毒と考えられた。また子牛用の配合飼料では人工乳、代用乳、育成用配合飼料とも日本飼料標準肉用牛に示す適正範囲 (4 ~ 10mg/kg) を超えるものが多かった。	84				84
銅中毒	原子吸光度法	死亡牛の肝臓中濃度は 500µg/g を超え、銅中毒と考えられた。	7				7
銅中毒	原子吸光度法	肝臓 954µg/g、腎臓 117µg/g となり、銅中毒と診断された。	2				2
銅中毒	原子吸光度法	肝臓中銅濃度の症例 1 は 308µg/g、症例 2 は 384µg/g、症例 3 は 277µg/g となり、銅中毒と診断された。	3				3
銅中毒	原子吸光度法	2 農場由来の症例 1 から 4 の臓器の肝臓の銅濃度では、中毒の目安となる 150µg/g を大きく超え、215 ~ 412µg/g を認めた。また腎臓では正常値の約 5µg/g を全て超えていた。	31				31
銅中毒	原子吸光度法	肝臓の銅濃度は 426µg/g 湿重量、腎臓では 8µg/g 湿重量と非常に高かった。	3				3
亜鉛欠乏症の疑い	原子吸光度法、蛍光分光光度法	当該牛の亜鉛濃度はむしろ高く、さらに吸収の競合因子である銅濃度も高かった。臨床症状では脱毛と皮膚炎の症状を呈していたが、原因は特定できなかった。	8				8
セレン、ビタミン E 欠乏症	蛍光分光光度法、HPLC 法	血清中セレン濃度はほぼ充足されていたが、血清ビタミン E 濃度については正常範囲の下限付近からそれ以下の値を示し、発症牛で特に非常に低かった。	10				10
先天性嚢胞性腺腫様肺奇形	HE 染色、アザン染色、エアラスチカ・ワン・ギンソン染色、PAS 染色、トルイジン・ブルー染色、抗サイトケラチン免疫染色、抗ビメンチン免疫染色、SMA 免疫染色	1 種類の実質細胞の増殖を特徴とする腫瘍と異なり、肺の既存の組織構成細胞が組織構造を維持しながらそれぞれ増殖している組織奇形である事を確認した。	1				1
<b>豚・イノシシ</b>							
<b>豚</b>							
CSF (緊急病性鑑定)	シーケンス	CSF と判定した。		166			166
CSF (緊急病性鑑定)	シーケンス	PCR 産物はワクチン株である GPE- 株由来と判定した。		108			108
CSF (緊急病性鑑定)	シーケンス	PCR 産物は BVDV 由来と判定した。		24			24
CSF	シーケンス	CSF と判定した。		51			51
CSF	シーケンス	PCR 産物はワクチン株である GPE- 株由来と判定した。		45			45
CSF	リアルタイム PCR	CSF と判定した。		25			25
豚繁殖・呼吸障害症候群	RT-PCR、シーケンス	ワクチン株が属するクラスター II に分類される野外株と推察された。	18				18
豚繁殖・呼吸障害症候群	RT-PCR、シーケンス	12 検体中 10 検体の PCR 産物を確認し、全ウイルス株はクラスター IV に分類されると推察された。	24				24
豚繁殖・呼吸障害症候群	RT-PCR、シーケンス	供試ウイルス株はクラスター II、III、IV に分類される野外株と推察された。	43				43
豚繁殖・呼吸障害症候群	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	27 株中 21 株から PCR 産物得られ、クラスター II、III、IV にそれぞれ分類された。	5				5
豚繁殖・呼吸障害症候群	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	10 株から PCR 産物得られ、全てクラスター IV に分類された。	20				20
豚繁殖・呼吸障害症候群	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	供試試料はクラスター IV に分類され熊本県に浸潤した株あるいは鹿児島県に浸潤した株とそれぞれ近縁な野外株であった。また一部はクラスター I 又は II にそれぞれ分類された。	44				44
豚繁殖・呼吸障害症候群	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	分離ウイルスは PRRSV の市販弱毒生ワクチン株に対し高い類似性を認め、クラスター II に分類された。一方 PCV3 については ORF2 遺伝子との類似性は低く特異反応を認めなかった。	29				29
豚繁殖・呼吸障害症候群	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	5 検体から PCR 産物得られ、2 株がクラスター II、3 株がクラスター IV に分類された。	10				10

対象疾病等	目的・検査方法等	結 果	本所	海外病	北海道	九州	合計
豚繁殖・呼吸障害症候群	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	14 株から PCR 産物が得られ、10 株がクラスターⅡ、4 株がクラスターⅣに分類された。	28				28
豚繁殖・呼吸障害症候群	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	31 株から PCR 産物が得られ、クラスターⅠ、Ⅱ、Ⅳにそれぞれ分類された。	62				62
豚繁殖・呼吸障害症候群	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	血清 75 検体中 12 検体、組織 11 検体中 6 検体から PCR 産物が得られ、計 18 株中 17 株がクラスターⅣに、1 株のみクラスターⅡに分類された。	86				86
豚繁殖・呼吸障害症候群	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	被検材料 6 株から得られた遺伝子の塩基配列を有するウイルスは、クラスターⅢに分類される野外株であった。	6				6
豚繁殖・呼吸障害症候群	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	被検材料 22 株はクラスターⅣに分類され、千葉県及び茨城県に浸潤している野外株あるいは米国で浸潤している野外株と近縁であった。残りの各 2 株がクラスターⅢ又はクラスターⅡに分類されたが、1 株のみ RT-PCR による PCR 産物を認められなかった。	27				27
豚繁殖・呼吸障害症候群	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	被検材料 16 株から得られた遺伝子の塩基配列解析によりクラスターⅠ、Ⅱ、Ⅳの 3 種に分類された。	32				32
豚繁殖・呼吸障害症候群	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	被検材料 5 株から得られた遺伝子の塩基配列解析では、すべてⅣに分類された。	8				8
豚繁殖・呼吸障害症候群	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	被検材料 6 株の遺伝子の塩基配列解析ではクラスターⅡに分類された。また 3 株はクラスターⅣとなったが、今まで大分県で分離されたクラスターⅣの Oita16-26 との類似性が高くなかった。	9				9
豚繁殖・呼吸障害症候群	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	被検材料 9 株の遺伝子の塩基配列解析により、クラスターⅣに分類される野外株を認めた。	15				15
豚繁殖・呼吸障害症候群	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	被検材料の遺伝子の塩基配列解析により、クラスターⅡ、Ⅲ、Ⅳに分類される野外株を認めた。	96				96
豚繁殖・呼吸障害症候群	間接蛍光抗体法による PRRSV 抗体検査	No7 のみ北米型のウイルス抗原に対し 20 倍で特異抗体が検出された。	20				20
豚サーコウイルス感染症	RT-PCR、シーケンス	分離ウイルス 5 株中、2 株が PCV3a1、3 株が PCV3b1 に分類された。	10				10
豚サーコウイルス感染症	PCR、シーケンス	5 検体のうち 4 検体から PCR 産物が得られ、1 検体は PCV2a、3 検体が PCV2b に分類された。	7				7
豚サーコウイルス感染症	PCR、シーケンス	12 検体の PCR 産物が得られ、6 検体は PCV2d-2、6 検体が PCV 3a1 に分類された。	18				18
豚サーコウイルス感染症	PCR、シーケンス	PCV2 は 2017、2018 年の病性鑑定で検出されたウイルスと近縁で 2 b に属する野外ウイルスと推察され、また PCV3 は 2018 年の病性鑑定で検出されたウイルスと近縁で、サブグループ a1 に属する野外ウイルスと推察された。	30				30
豚サーコウイルス感染症	PCR、シーケンス	PCV2 は 2017 年の病性鑑定で検出されたウイルスと近縁で PCV2 b に属する野外ウイルスと推察され、また PCV3 は農場 A、B、C、D 由来ではサブグループ a1 に属し、農場 E 由来では同 b1 及び b2 の 2 種類に属する野外ウイルスと推察された。	58				58
豚サーコウイルス感染症	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	被検材料 4 株から検出された PCV2 は近年海外で PCVAD の発症に関与しているとされている PCV2d-2 に属していた。	8				8
豚サーコウイルス感染症	PCR、シーケンス、系統樹解析	PCV3 の 3 検体は全て a1 に属する野外株であった。	6				6
豚サーコウイルス感染症	PCR、シーケンス、系統樹解析、ウイルス分離	1 頭につき 1 あるいは 2 検体を選定した 42 検体の PCR 産物のシーケンスの結果、a1、a2、b1 に分類された。ウイルス分離は陰性であった。	258				258
豚サーコウイルス感染症	病理組織学的検査、免疫組織化学的検査	グラム陽性桿菌を左右腎臓の変性した糸球体の毛細血管に多数確認し、栓塞性化膿性肺炎の関与を認めた。しかし検査した臓器での抗 PCV2 家兔血清に対する陽性反応はなかった。	4				4
豚繁殖・呼吸障害症候群、豚サーコウイルス感染症	RT-PCR、PCR、シーケンス、系統樹解析	PCR 産物が得られた PRRSV の 12 検体はクラスターⅡまたはⅢに分類された。PCV2 の 2 検体は 2d-2 に属した。また PCV3 の 11 検体では a1 又は a2 に属していた。	30				30
豚繁殖・呼吸障害症候群、豚サーコウイルス感染症	RT-PCR、PCR、シーケンス、系統樹解析	PRRSV の 15 検体はすべてクラスターⅡに分類された。PCV2 の 3 検体はすべて 2b に属した。	27				27
豚繁殖・呼吸障害症候群、豚サーコウイルス感染症	RT-PCR、PCR、シーケンス、系統樹解析	PRRSV の 20 検体はクラスターⅡまたはⅢに分類された。PCV2 の 7 検体は a1 または a2 に属した。	29				29
豚繁殖・呼吸障害症候群、豚サーコウイルス感染症	RT-PCR、PCR、シーケンス、系統樹解析	PRRSV の 4 検体は 1 株がクラスターⅢ、3 株がⅣに分類された。PCV3 の 12 検体は全て a1 に属した。	17				17
豚繁殖・呼吸障害症候群、豚サーコウイルス感染症	RT-PCR、PCR、シーケンス、系統樹解析	PRRSV の 3 検体はクラスターⅡに分類された。PCV2 の 11 検体は 3 株が PCV2b、8 株が PCV2d-2 に属した。PCV3 の 15 検体は 13 株がサブグループ a1、2 株がサブグループ a2 であった。	50				50
豚繁殖・呼吸障害症候群、豚サーコウイルス感染症	RT-PCR、PCR、シーケンス、系統樹解析	PRRSV の 6 検体はクラスターⅡに分類された。PCV2 の 6 検体はサブグループ a1 に属した。	17				17
豚繁殖・呼吸障害症候群、豚サーコウイルス感染症	RT-PCR、PCR、シーケンス、系統樹解析	PRRSV の 10 検体のうち 7 株はクラスターⅡ、3 株はⅣに分類された。PCV2 の 7 検体は 6 株が PCV2 b、1 株が PCV2d-2 に属した。PCV3 の 11 検体は全てサブグループ a1 に属した。	58				58
非定型豚ベステウイルス感染症	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析、ウイルス分離	NS5 の遺伝子増幅産物 578bp の塩基配列の解析で、最も高い類似性を示した検体は 2014 年に米国で検出された株であった。ウイルス分離は陰性となった。	30				30
非定型豚ベステウイルス感染症	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	豚 No3 脳抽出 RNA から得られた遺伝子増幅残物は、以前検査した APPV の遺伝子配列と同一であった。	12				12



対象疾病等	目的・検査方法等	結 果	本所	海外病	北海道	九州	合計
非定型豚ベステチウイルス感染症	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	子豚 No.1、2 の血清と口腔内液、肥育豚の口腔液プールの No.1 ~ 5 の全ての材料から 578bp の非定型豚ベステチウイルスの PCR 産物が得られ、その塩基配列は平成 29 年 12 月の病性鑑定材料の塩基配列と 100%一致した。	10				10
オーエスキー病	中和反応	被検血清による CPE の出現抑制は観察されなかった。	1				1
豚インフルエンザ	シーケンス	両ウイルスは H1N2 亜型と同定した。またすべての内部遺伝子は A(H1N1)pdm09 ウイルスと近縁であった。	2				2
豚インフルエンザ	シーケンス	被検材料は H1N2 亜型と同定した。その遺伝子分節の組成は A/swine/Gunma/1/2012(H1N2 亜型) と同じであった。	4				4
豚エンテロウイルス感染症疑い	RT-PCR、PCR	増幅された遺伝子産物は非特異反応と考えられ、原因ウイルスを同定するに至らなかった。	6				6
豚サイトメガロウイルス感染症	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析、病理組織学的検査、免疫組織化学的検査	病理組織学的検査、免疫組織化学的検査により 3 頭の全身に豚サイトメガロウイルス抗原の分布が確認され、またウイルス遺伝子も検出された。	23				23
豚伝染性胃腸炎	RT-PCR、シーケンス	S 領域が最も高い類似性を示したのが 2012 年韓国で分離された K T 3 株であり、ORF3a、ORF3b の各領域が最も高い類似性を示したのは 2002 年韓国で分離された K T 2 株であった。	6				6
日本脳炎	ウイルス分離、RT-PCR	初回、2 回目の分離ウイルス接種後、乳のみマウスに神経症状は認めなかった。また 4 検体全て RT-PCR 陰性であった。				4	4
大腸菌症	MLST 解析	同一農場内で 4 年間に分離された大腸菌の系統は多様であり、mcr-1 を含むプラスミドの水平伝播が起こっている可能性が示唆された。	50				50
大腸菌症	PFGE 解析	供試 8 菌株のうち 7 株は 0139 に属し、4 株と 3 株がそれぞれ同一または類似のパターンを示し、残り 1 株は 0141 に属した。	8				8
大腸菌症	大腸菌免疫血清を用いた凝集反応	3 株が O141 または O149、残り 2 株は OUT であった。	8				8
大腸菌症	O-genotyping PCR	24 株が Og149、3 株が Og86、3 株が Og121、3 株が Og139、1 株が Og84 が、1 株が Og141、1 株が OgUT であった。	36				36
大腸菌症	O-genotyping PCR	21 株が Og139、6 株が Og116、5 株が Og147 であった。	55				55
サルモネラ症	制限酵素 Xba I 消化後の PFGE	26 株から 4 種類の異なる PFGE パターンが検出され、2 つの遺伝子型 (I 型、II 型) に区分され、II 型は 3 亜型 (II a、II b、II c) に細分された。	26				26
サルモネラ症	制限酵素 Xba I 消化後の PFGE 解析、MLVA	18 株は 3 つのクラスター (PFGE 1 型 ~ 3 型) に区分され、さらに PFGE1 型は 4 つの亜型 (1 a 型 ~ 1 d 型) に細分された。また MLVA では 4 種類のプロファイルが検出され、プロファイル間の相違は 2 遺伝子座位以内であった。	18				18
サルモネラ症	制限酵素 Xba I 消化後の PFGE 解析、薬剤感受性試験	PFGE では大きく I、II、III 型に区分された。また薬剤感受性試験では供試 11 株は 3 種類以上の薬剤に耐性を示した。	13				13
アクチノバチルス感染症	16S rRNA 遺伝子のシーケンス	分離 4 株は 100%一致し、羊血液寒天培地で溶血を示し、16S rRNA の解析で、基準株と 99.66%で一致したことから、 <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> と同定した。	4				4
アクチノバチルス感染症	凝集試験、ゲル内沈降試験	血清型 15 参照株で凝集陽性となった。またすべての株に血清型 15 参考株加熱抽出抗原で観察される沈降戦と融合する沈降戦が観察された。			4		4
アクチノバチルス感染症	シーケンス、Blast 検索	16S rRNA 遺伝子の解析から分離菌は <i>A.minor</i> あるいは <i>A.porciconsiliartum</i> の基準株の遺伝子の塩基配列と 97%以上の類似性を示した。	1				1
アクチノバチルス感染症	病理組織学的検査、免疫組織化学的検査	免疫組織学的検査により、 <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> 血清型 15 の陽性反応を認めた。	3				3
アクチノバチルス感染症	病理組織学的検査、免疫組織化学的検査	<i>A.pleuropneumoniae</i> 血清型 15 が豚の肺における病変に関与した。	2				2
バチルス菌感染症	16S rRNA 遺伝子解析、ファージテスト	16S rRNA 遺伝子の解析から分離菌は <i>Bacillus cereus</i> group の配列と 99 %以上一致した。またファージテストにより <i>B.anthraxis</i> を否定した。	1				1
豚丹毒	シーケンス	2 株とも同一の遺伝子配列列を認め、ERH1440 遺伝子は血清型 1 a 型菌と同一となった。	2				2
ブラキシピラ感染症	嫌気培養、PCR	鑑定材料は全て陰性であった。			5		5
レプトスピラ属菌感染症	病理組織学的検査、免疫組織化学的検査	グラム染色と Warthin-Starry 染色により病変部に好銀性グラム陰性の細長らせん菌を確認し、らせん菌に一致して <i>Leptospira icterohaemorrhagiae</i> RG 型株家兎血清に対する陽性反応を認めた。	5				5
混合感染症	病理組織学的検査、免疫組織化学的検査	病理組織学的、免疫組織学的検査により、サルモネラ属菌、レプトスピラ属菌、グラム陽性菌の陽性反応を認めた。	3				3
真菌症	PCR、シーケンス	検査 4 株はいずれも <i>Trueperella abortusuis</i> と同定した。	4				4
真菌症	シーケンス	検体は <i>Candida parapsilosis</i> 由来であると判断した。	8				8
真菌症	病理組織学的検査、免疫組織化学的検査	肺に多数の酵母用真菌を伴う多発性巣状壊死を認め、PAS 及びグロコット染色により肺と結腸に酵母用真菌を確認した。また抗 <i>Candida albicans</i> ウサギポリクローナル抗体のみ陽性反応を示した。	4				4
<b>イノシシ</b>							
CSF(緊急病性鑑定)	シーケンス	CSF と判定した。		69			69
CSF	シーケンス	CSF と判定した。		97			97

対象疾病等	目的・検査方法等	結 果	本所	海外病	北海道	九州	合計
CSF(経口ワクチン散布地域におけるサーベイランス)	シークエンス	CSF と判定した。	33	63			96
CSF(経口ワクチン散布地域におけるサーベイランス)	シークエンス	PCR 産物は経口ワクチン株 C-Strain 由来と判定した。	6				6
CSF(経口ワクチン散布地域におけるサーベイランス)	シークエンス	1 頭は CSF と判定した。2 頭の PCR 産物は経口ワクチン株 C-Strain 由来と判定した。	9				9
CSF(経口ワクチン散布地域におけるサーベイランス)	RT-PCR、シークエンス	CSF と判定した。		4			4
<b>馬</b>							
<b>馬</b>							
セレン過剰症	蛍光分光光度法	健常馬ではセレン濃度は平均約 0.5μg/g であるが、蹄葉炎馬ではこの値を超え、いくつかの例で非常に高値を示した。	51				51
<b>めん羊・山羊</b>							
<b>めん羊</b>							
ブルータンク	RT-PCR、シークエンス、系統樹解析	3 頭の塩基配列は 100%一致し、2015 年にオーストラリアで分離された BTV-5DPP9230 株と最も近縁であった。				6	6
ブルータンク	RT-PCR、シークエンス、系統樹解析	めん羊 2 頭は BTV に感染していたことが明らかになった。今回の流行株はアジア及びオーストラリアの流行株と同一のクラスターに属していたが、過去の日本の流行株とは異なるグループであった。				6	6
皮下気腫	PCR、シークエンス	牛及びめん羊由来 3 株は系統樹上で離れた枝に位置する異なる系統の株であった。	3				3
クロストリジウム感染症疑い	PCR、シークエンス、系統樹解析	2 株は離れた枝に位置する異なる系統の株であり、牛由来の岩手県分離株が近縁であった。	30				30
銅中毒	原子吸光度法	当該羊の肝臓の銅濃度は 435μg/g 湿重量であり、著しく高値で銅中毒と診断される。なお腎臓でも 40μg/g 湿重量の高値を示し、また胃内容では中毒量の基準はないが、実測値は要求量の上限である 11mg/kg であり、給与飼料、飲水からなる胃内濃度としても高い事を認めた。	3				3
<b>山羊</b>							
リステリア感染症	PCR、シークエンス	4 株は互いに 100%一致し、いずれも <i>Listeria monocytogenes</i> と同定した。	4				4
<b>家きん</b>							
<b>鶏</b>							
鳥インフルエンザ(緊急病性鑑定)	HA、NA 亜型の同定、HA タンパク質開裂部位の推定アミノ酸配列の決定	H5N8 亜型高病原性鳥インフルエンザと判定した。	326				326
鳥インフルエンザ(緊急病性鑑定)	A 型インフルエンザウイルス、HA、NA 亜型の同定、HA タンパク質開裂部位の推定アミノ酸配列の決定	H5N8 亜型高病原性鳥インフルエンザと判定した。	12				12
鳥インフルエンザ	HA、NA 亜型の同定、HA タンパク質開裂部位の推定アミノ酸配列の決定	H5N8 亜型高病原性鳥インフルエンザと判定した。	240				240
トリアデノウイルス感染症	シークエンス、系統樹解析	分離ウイルスはトリアデノウイルスの血清型 2 の標準株 SR-48 株と 97.2%の類似性を示し、両検体とも血清型 2 の系統に属した。	2				2
トリアデノウイルス感染症	シークエンス、系統樹解析	分離ウイルスはトリアデノウイルス血清型 8a の標準株 TR-59 株と 99.7%の類似性を示し、血清型 8a の系統に属した。	1				1
鶏伝染性喉頭気管炎	免疫組織化学的検査	2 羽の鶏の気管及び分離ウイルス接種後の漿尿膜においてウイルス抗原陽性となった。	4				4
マレック病	PCR	増幅された遺伝子は非特異反応であり、遺伝子解析は実施できなかった。	1				1
サルモネラ症	スライド凝集反応、試験管凝集反応	本株の血清型は Cerro と判定した。	2				2
サルモネラ症	スライド凝集反応、試験管凝集反応、PCR	本株の血清型は IS200 遺伝子検出の PCR により増幅産物サイズ 1000bp を認め、Typhimurium の単相変異株と判定した。	1				1
サルモネラ症	サルモネラの血清型別	O 抗原は 8、H 抗原は 1 相が r、2 相が z 6、血清型は Altona であった。	1				1
サルモネラ症	PFGE 解析	14 株中 13 株が同一の PFGE パターンを示し、同一由来株と考えられた。	14				14
サルモネラ症	PFGE 解析	被検菌株は 3 つの PFGE 型 (I、II、III 型) に区分され、さらに I 型は 2 つの亜型、III 型は 3 つの亜型に細分された。	7				7
大腸菌症	O-genotyping PCR	1 株は Og78、1 株は Og53 であった。	2				2
マイコプラズマ感染症	PFGE 解析	4 株うち 2 株は同一のバルスパターン (PT) を示したが、いずれのワクチン株、他県株と異なった。1 株はいずれの供試の株とも異なり、また 1 株はワクチン株と同一の PT を示した。	4				4
マイコプラズマ感染症	PCR、シークエンス、BLAST 解析	6 株中の 1 株は <i>Mycoplasma gallinarum</i> の <i>rrs</i> と残り 5 株は <i>Mycoplasma glycophilum</i> の <i>rrs</i> と高い類似性を示した。	6				6

対象疾病等	目的・検査方法等	結 果	本所	海外病	北海道	九州	合計
<b>その他</b>							
<b>兎</b>							
兎ウイルス性出血病	RT-PCR、シーケンス	肝臓由来 RHDV の塩基配列は 2019 年愛媛県、茨城県の各検出事例との類似性が高く、RHDV の遺伝子型 G1.2 に分類された。	1				1
兎ウイルス性出血病	RT-PCR、シーケンス、系統樹解析	3 検体から全て PCR 産物が増幅され、その類似性は 99.9 ~ 100% となった。また愛媛県、茨城県で確認された遺伝子型 G1.2 に分類され、それぞれ 95.2-96.2%、99.6-99.7 % の類似性を示した。	6				6
<b>ヘビ</b>							
真菌症	培養性状、シーケンス	<i>Trichoderma</i> 属菌であると判定した。	1				1
真菌症	シーケンス	<i>Purpureocillium lavendulum</i> であると判定した。	1				1
<b>豚肉製品</b>							
ASF	PCR、シーケンス、ウイルス分離	PCR にて ASFV 遺伝子が検出され、欧州や中国等で分離された ASFV と同一又は極めて近縁であった。ウイルス分離は陰性であった。		2			2
ASF	PCR、シーケンス、ウイルス分離	PCR にて ASFV 遺伝子が検出され、欧州や中国等で分離された ASFV と同一又は極めて近縁であった。ウイルス分離は陰性であった。		3			3
ASF	PCR、シーケンス、ウイルス分離	PCR にて ASFV 遺伝子が検出され、欧州や中国等で分離された ASFV と同一又は極めて近縁であった。ウイルス分離は陰性であった。		3			3
ASF	PCR、シーケンス、ウイルス分離	PCR にて ASFV 遺伝子が検出され、欧州や中国等で分離された ASFV と同一又は極めて近縁であった。ウイルス分離は陰性であった。		3			3
ASF	PCR、シーケンス、ウイルス分離	PCR にて ASFV 遺伝子が検出され、欧州や中国等で分離された ASFV と同一又は極めて近縁であった。ウイルス分離は陰性であった。		3			3
ASF	PCR、シーケンス、ウイルス分離	PCR にて ASFV 遺伝子が検出され、欧州や中国等で分離された ASFV と同一又は極めて近縁であった。ウイルス分離は陰性であった。		2			2
ASF	PCR、シーケンス、ウイルス分離	PCR にて ASFV 遺伝子が両材料から検出され、欧州や中国等で分離された ASFV と 100% 一致した。また豚ソーセージからウイルス分離されたが、豚肉まんからは分離されなかった。		6			6
ASF	PCR、シーケンス、ウイルス分離	PCR にて ASFV 遺伝子が検出され、欧州やロシア、中国、東南アジア等で流行している遺伝子型 II の株と同一又は極めて近縁の株であることが示唆された。ウイルス分離は陰性であった。		5			5
<b>環境（グラスサイレージ）</b>							
ヨーネ病	培養検査（液体培地、寒天培地）	ヨーネ菌は分離されなかった。		9			9
ヨーネ病	培養検査（液体培地、寒天培地）	ヨーネ菌は分離されなかった。		11			11
ヨーネ病	培養検査（液体培地、寒天培地）	ヨーネ菌は分離されなかった。		3			3
<b>ヒト</b>							
豚丹毒	血清型別	血清型は同定できなかった。	1				1
<b>TSE サーベイランス</b>							
<b>めん羊</b>							
TSE(伝達性海綿状脳症)	ウエスタンブロット法 (WB)、免疫組織化学的検査 (IHC)	陰性		379			379
<b>山羊</b>							
TSE(伝達性海綿状脳症)	ウエスタンブロット法 (WB)、免疫組織化学的検査 (IHC)	陰性		207			207
<b>鹿</b>							
CWD(慢性消耗病)	ウエスタンブロット法 (WB)、免疫組織化学的検査 (IHC)	陰性		12			12
<b>鳥インフルエンザサーベイランス（環境省）</b>							
<b>野鳥</b>							
鳥インフルエンザ	HA 亜型・NA 亜型の特定、病原性の確認 (HA 亜型が H5 又は H7 の場合に限る)	1 検体を H5N8 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルス、3 検体を H5N8 亜型低病原性鳥インフルエンザウイルス、1 検体を H6N8 亜型鳥インフルエンザウイルスと同定した。		5			5
鳥インフルエンザ	HA 亜型・NA 亜型の特定、病原性の確認 (HA 亜型が H5 又は H7 の場合に限る)	H1N1 亜型鳥インフルエンザウイルスと同定した。		3			3
鳥インフルエンザ	発育鶏卵接種法によるウイルス分離および次世代シーケンスによる HA、NA 亜型の同定	H4N6 亜型鳥インフルエンザウイルスが分離された。		1			1
鳥インフルエンザ	発育鶏卵によるウイルス分離	2 代の発育鶏卵接種でウイルスは分離できなかった。		1			1

## Hot Topics

### プレスリリース：今季国内の高病原性鳥インフルエンザウイルスの遺伝的多様性

2020年11月5日から2021年2月16日までに国内の家禽かきん及び野鳥から得られた検体のうち、H5N8亜型高病原性鳥インフルエンザウイルス57株の全ゲノムを解読しました。これらのウイルスが保有する8本の遺伝子分節の組み合わせを解析したところ、5種類の遺伝子型のウイルスが国内に侵入していることが明らかになり、家禽での発生には4種類の遺伝子型のウイルスが関与していることがわかりました。

[https://www.naro.go.jp/publicity\\_report/press/laboratory/niah/138711.html](https://www.naro.go.jp/publicity_report/press/laboratory/niah/138711.html)

### プレスリリース：アフリカ豚熱ウイルスが効率よく増殖できる豚由来の細胞株を開発

アフリカ豚熱ウイルスの安定した増殖に適し、かつ連続して培養することが可能な(不死化された)豚由来の新しい細胞株を開発しました。本細胞株を用いれば、アフリカ豚熱ウイルスの病原性などの生物学的性状を詳細に解析できます。本成果は、アフリカ豚熱の診断法の改良やワクチン開発に役立つと期待されます。

[https://www.naro.go.jp/publicity\\_report/press/laboratory/niah/138839.html](https://www.naro.go.jp/publicity_report/press/laboratory/niah/138839.html)

### 長期講習生受け入れ

令和3年5月12日から、家畜衛生講習会(病性鑑定特殊講習会)が始まりました(12月10日まで)。つくば並びに札幌、小平海外病、鹿児島各研究拠点で、講習生31名がウイルス、細菌、病理、生化学の各分野に分かれ、監視伝染病を含めた家畜疾病の診断技術等の学理及び技術実習を目的とする講習を受けています。

### JVMS 優秀論文賞(2020)受賞

衛生管理研究領域病理・生産病グループ上級研究員山本佑が責任著者として執筆した論文「Pathological and virological analysis of concurrent disease of chicken anemia virus infection and infectious bronchitis in Japanese native chicks(日本の地鶏における鶏貧血ウイルス感染症と鶏伝染性気管支炎の併発事例の病理学的ウイルス学的解析)JVMS 82(1): 128-136, 2017」がThe Journal of Veterinary Medical Science (JVMS) 優秀論文賞(2020)に選出されました。受賞者: 細川久美子(広島県)、今井邦俊(帯畜大)、小川晴子(帯畜大)、Hieu Van DONG(帯畜大)、鈴藤和(広島県)、Sandi Htein LINN(動衛研)、黒川葵(動衛研)、山本佑(動衛研)

### 【編集後記】

オンラインで開催される会議や研修会にもすっかり慣れてしまいました。移動の時間が節約できるのは良いけれど、何となく物足りないような気もします。軽い運動や雑談など気分転換できる機会が減っているからでしょうか。