

## 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

岩田剛敏

### Studies on the epidemiology and the prevention of Yersiniosis in breeding monkeys

Taketoshi IWATA

*Yersinia* 属菌は、腸内細菌科に属するグラム陰性通性嫌気性桿菌で、現在14菌種に分類されている。そのうち、食中毒起因菌である *Yersinia enterocolitica* および仮性結核菌である *Yersinia pseudotuberculosis* の2菌種、すなわち病原性 *Yersinia* は、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。ヒトが病原性 *Yersinia* に感染すると、多くの場合、発熱、下痢、腹痛などの胃腸炎症状に留まることが知られており、また、家畜、野生動物など多くの動物種は、病原性 *Yersinia* に不顕性感染し、保菌動物となる。一方、サル類は病原性 *Yersinia* に対して感受性が高く、エルシニア症による感染致死例がこれまでに数多く報告されている。我が国では、とくに冬から春にかけての寒冷な季節に、動物園などのサル飼育施設において飼育サルのエルシニア症が散発しており、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。そこで本研究では、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。

#### 第1章 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* の分離を行い、分離菌株の特徴を調べた。その結果、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23回の感染事例からそれぞれ分離された *Y. pseudotuberculosis* 19株および病原性 *Y. enterocolitica* 4株について血清群、病原性状などの特徴を整理した。*Y. pseudotuberculosis* 19株の血清群は、4b群が8株(42.1%)、1b群が7株(36.8%)、2b、3、6および7群がそれぞれ1株(5.3%)であった。血清群7については、これまで非病原性の血清群とされていたが、本調査により7群が病原性を有していることが明らかになった。さらに、PCR法により分離菌における病原遺伝子の保有状況を調べた結果、19株中17株(89.5%)が *ympA* 遺伝子を保有しており、我が国で飼育されている外国産のサル類が *Y. pseudotuberculosis* に感染した場合、極めて重篤な症状を呈する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 *Yersinia pseudotuberculosis*-Derived Mitogen (YPM) が関与している可能性が示唆された。また、病原性 *Y. enterocolitica* 4株の血清群は、O8群が2株(50.0%)、O3およびO5、27群がそれぞれ1株(25.0%)であり、病原性 *Y. enterocolitica* のうち最も強毒な血清群O8によるヒト以外の動物での自然感染致死事例が初めて確認された。

#### 第2章 我が国の飼育サルに発生した *Yersinia enterocolitica* 血清群O8感染症の疫学的研究

第1章において確認された飼育サルの *Y. enterocolitica* 血清群O8(O8菌)感染例について疫学調査を行った。このO8菌による感染例は、2002年12月～2003年1月の間に、関東地方のサル飼育施設で飼育されていたリスザルに発生・終息した後、2003年4月に同施設内で飼育されてい

たアジルテナガザルが同菌の感染により敗血症死したものである。疫学調査の結果、同施設で飼育されていたリスザル45頭中17頭のほか、他種のサル18種20頭中4種4頭の計65頭中21頭（32.3%）の飼育サルから、また、施設内で捕獲されたクマネズミ33匹中5匹（15.7%）からO8菌が分離された。分離されたO8菌30株について、Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) 法、リボタイピング法およびRestriction Endonuclease Analysis of Plasmid DNA (REAP) 法により遺伝子型別を行った結果、30株中29株は同一の遺伝子型を示し、クマネズミから分離された1株のみ異なる遺伝子型を示した。過去に我が国で分離されたO8菌の遺伝子型は、PFGE法とリボタイピング法の結果の組み合わせでI～VIIの7タイプに型別されているが、今回分離されたO8菌30株中29株は、以前に新潟県のノネズミから分離されたタイプVIと、クマネズミから分離された1株は、以前に山形県のノネズミから分離されたタイプVIIとはほぼ一致していた。以上のことから、本感染事例はO8菌がなんらかの感染源から最初にリスザルの飼育舎に侵入した後、クマネズミを介して、アジルテナガザルを含む同施設内の他の飼育動物に広がったものと考えられ、同施設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。

### 第3章 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、病原性 *Yersinia* が共通して産生する分泌タンパクである *Yersinia* outer membrane protein (Yop) を抗原としたELISAにより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リスザルのYopに対する平均OD値は0.050と低い値を示したため、このリスザル群を陰性対照群とし、この群の平均OD値に標準偏差の3倍を加えた値をYopに対するOD値のカットオフ値として算出すると、カットオフ値は0.113であった。算出されたカットオフ値を基準として、調査したリスザルの抗体保有状況を判定すると、リスザル252頭中164頭（65.1%）が抗体陽性であり、また、この状況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。調査した9飼育施設のうち、リスザルの年齢が把握されていた九州の1施設のデータをもとに、年齢別に抗体保有状況を整理したところ、1歳以上のリスザル（95.7%）

は、1歳未満のリスザル（23.3%）に比べ、抗体保有率が有意に高かった。以上のように、血清疫学的調査により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となった。

### 第4章 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* のホルマリン不活性化全菌体ワクチン（全菌体ワクチン）および膜成分ワクチンを作製して、病原性 *Yersinia* に対する感染防御効果を検討した。まず、*Y. pseudotuberculosis* 4bから作製した全菌体ワクチンおよび膜成分ワクチンをマウスに投与し、その感染防御効果を検討した結果、全菌体ワクチンを皮下投与したマウス群では、26匹中19匹（73.1%）が、膜成分ワクチンを皮下投与したマウス群では、7匹中7匹（100%）が同一生菌の感染に対し耐過生残した。また、*Y. pseudotuberculosis* 血清群1b, 4bならびにO8菌の3菌株から作製した膜成分ワクチンをそれぞれマウスに皮下投与し、交差感染実験を行った結果、菌株間に強い交差免疫が認められた。また、2003年～2007年の間に、エルシニア症が多発する9か所のサル飼育施設で飼育されていた363頭のリスザルに全菌体ワクチンを皮下投与した結果、ワクチン投与による抗体価の上昇がみられなかった2頭を除き、感染致死例は観察されなかった。これらのことから、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。

本研究により、我が国のサル飼育施設ではエルシニア症による飼育サルの感染致死例が多発しており、血清疫学的調査から、これら施設には病原性 *Yersinia* が広く侵淫していることが明らかになった。また、病原性 *Yersinia* が共通して産生する外膜タンパクであるYadAに着目して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と考えられた。飼育サルにおけるエルシニア症は、サル飼育上の最も重要な問題であるのみならず、公衆衛生的な観点からも看過できない問題であり、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る。

岐阜大学大学院連合獣医学研究科 獣医学博士  
平成20年3月13日授与