

T O P I C S

UJNR — 第 37 回家畜・家禽疾病専門部会日米合同会議のトピックス ウエストナイル、CWD、乳房炎、ヨーネ病等の 研究情報ならびに NVSL と NADC の 試験研究体制及び防犯体制の概要

免疫研究部長 横溝 祐一
生産病研究部・病態生理研究室長 高橋 秀之
感染症研究部・ウイルス病研究室長 泉對 博

2002年11月18日、アイオワ州エイムス (Ames) にある National Veterinary Services Laboratories (NVSL) で開催された第37回 UJNR 家畜・家禽疾病部会に、横溝、泉對、高橋の3名が出席した。本部会は1967年以来、日米科学技術協定のもとで日米交互に毎年開催され、重要疾病の防疫に関する調査・研究発表会と意見交換を行ってきた。会議の冒頭で NVSL の Levings 所長、隣接の National Animal Disease Center (NADC) の Murray 所長そして事務局長の NVSL の Davis 病理部長から歓迎挨拶と過去36年間にわたる両国間の研究交流の意義が述べられた。今回は日本側から8題、米国側から14題の演題発表があった(プログラム参照)。以下にいくつかの演題内容と NVSL 及び NADC の研究概要及び業務概要を紹介させていただく。

1) 米国側演題概要

1) ウエストナイルウイルスは2001年末までのIgM抗体検出用ELISAを用いたサーベイランスで米国東部各州における蔓延が確認された。ウイルス分離にはRK13細胞を使用し、東部馬脳炎ウイルスとの類症鑑別には nested multiplex PCR を用いた。発症動物の脳組織乳剤中の病原体証明には multiplex PCR がウイルス分離法よりも高感度であった。2) 慢性消耗性疾患 (CWD) は、コロラドやワイオミング以外の州でも検出され、野生シカだけでなく飼育シカにまで発症が認められた。シカ(cervus)以外にオオジカ(elk)でも発症例があるが、両者の病原体は異なると考えている。発症動物の脳乳剤を接種された牛では臨床症状や脳組織の空胞形成は陰性であるが、プロテアーゼ抵抗性のプリオンが脳内に蓄積され、それらは市販 BSE 検出キットで検出可能であった。本疾病の

伝播様式は不明であるが、感染動物の分娩による環境汚染が疑われた。3) カリフォルニア州のニューカッスル病発生は生ワクチン未接種の家庭鶏群に限定されており、伝搬源として渡り鳥を推定した。4) 家禽コレラの原因となる *P. multocida* 強毒株由来の39kDa 防御抗原は lipoprotein B であることが判明した。5) 淘汰豚のリステリア菌保菌率は出荷肉用豚のそれと有意差はなく、食品加工工程への汚染リスクを高めないことが判明した。6) ビタミンE投与シチメンチョウ群ではTリンパ球が増加し接種リステリア菌の腸内消失がみられた。7) 胎盤停滞牛では好中球機能が分娩後1~2週間にわたり低下していたが、これには胎盤のIL-8産生低下との関連が示唆された。

2) NVSL と NADC で得た試験・研究情報

(1) ウイルス病及びプリオン病関連

泉對は NVSL の Schmitt 博士と Johnson 氏に面接し、ウエストナイルウイルス感染症についての情報聴取を行った。NVSL では馬と鳥類の多数の病性鑑定材料を取り扱っており、米国の大部分の馬が既に抗体陽性であることを確認したが発症率は高くないとのことであった。「日本での疫学調査では、共通抗原をもつ日本脳炎ウイルスによる感染との鑑別が問題となる」との見解を示した。CWD については発症シカの脳乳剤を脳内接種した牛の臨床症状は観察中であるが、経口投与牛では5年間にわたり異常臨床所見が認められないこと(ワイオミング大での実験成績)から、シカから牛への自然感染は極めて可能性が低いという見解であった。プリオン感染動物施設も見学したが、BSE の非発生国のためか、プリオン病の感染実験はシカの CWD とめん羊のスクレイピーに限定し

ていた。飼育施設（P2 相当）への入室時には作業着に着替え、終了後に脱衣し、シャワーで全身洗浄後に退出するように規定されていた。シャワーや動物飼育室からの廃水、動物の糞尿は、すべてオートクレーブ処理していた。しかしスクレイパー感染羊と健康羊の接触感染実験は、通常飼育施設で実施されていた。

(2) 乳房炎及び周産期疾病関連

高橋は NADC の牛周産期病研究部門（動衛研の生産病研究部に相当）の Goff 博士、Kimura 博士、他数名の研究者に対し、本官が国際特許化した乳汁ケミルミネッセンス法利用のポータブル乳房炎診断装置の実用性と組換え GM-CSF による乳房炎治療試験成績を紹介した。NADC では牛の周産期疾病と IL-8 の関連に焦点をあて、胎盤や羊水中の IL-8 の高感度検出法開発、胎盤停滞予防への IL-8 の臨床応用性、乳房炎の予防・治療への IL-8 の利用性への研究に取り組んでいる。また低 Ca 血症の分娩前診断ならびに内分泌・代謝系の調節による予防法の開発、乳房炎診断のための蛋白質の網羅的検索（プロテオーム解析）も研究課題にあげている。周産期疾病部門は周産期疾病、免疫抑制、生化学診断、子牛疾病に関する所内プロジェクト課題を担当しており、部長を含む6名の研究者、11名のテクニシャン、各1名のオーバードクター、学生、秘書で構成されている。また動物管理、衛生検査、豚の SPF、手術業務、映像作成等の各部門も訪問した。そこでの病理、生化学の検査部門と洗浄培養部門での所内業務への有料受注体制ならびに放射線管理、化学毒物処理管理、健康管理等の研究外専門職員の人員配置、そして研究者1名に対するテクニシャン2名の人員配置等の効率的な研究運営体制に大いに感銘を受けた。

(3) ヨーネ病及び人獣共通感染症関連

横溝は NADC の Whipple 細菌研究部長及び4名のヨーネ病研究者に日本のヨーネ病 (paratuberculosis) の防疫体制を紹介した。本官は 1983 年に NADC で開催された第 1 回国際ヨーネ病研究集会 (ICP) で“ヨーネ病診断用の吸収 ELISA (Absorbed ELISA) の開発”を発表した経験をもつが、今回は後に製品化された Absorbed ELISA を約 200 万頭の牛の検査に利用したヨーネ病国家防疫プロ

グラムを披露した。20 年前に開発した Absorbed ELISA については

“Few would have guessed that this pioneering work of Yokomizo would have produced so much investigation and debate over the next 20 years. The absorbed ELISA still featured prominently at the Bilbao meeting. Does this mean that little progress has been made since 1983 in the development of improved serological tests for paratuberculosis?” と、昨年ビルバオ (Bilbao) で開催された第 7 回 ICP の総括記事で論評された (G. W. de Lisle, 7ICP-Bilbao 2002, The Paratuberculosis Newsletter, Vol. 14, No1, Oct, 2-3, 2002)。Absorbed ELISA は米国、カナダ、オーストラリアでもヨーネ病防疫に役だっている。

ついでヨーネ菌の全ゲノム解読と特異遺伝子検出を Bilbao での ICP で発表した Bannantine 博士やヨーネ菌の DNA ワクチン開発により Dr. Merkal 賞を受賞した Huntley 博士とも意見交換を行ったが、すでにプロテオミクスをベースにヨーネ病の診断、予防技術開発を目指しており、ヨーネ菌が感染牛の体内で発現する抗原の中に有望な細胞性免疫診断用抗原を見いだしていた。今後は、同様の研究戦略を展開する動衛研との連携研究の必要性を強く感じた。次に、牛乳中混在ヨーネ菌に対する加熱殺菌条件について造詣の深い Stabel 室長との意見交換において、米国の乳肉牛におけるヨーネ病の汚染度は日本よりもはるかに高いこと、国家防疫実施は予算的に困難であること、またヨーネ病感染牛の食肉利用には全く規制がないこと、そして飲用牛乳の殺菌温度が 73°C、15 秒間であることを知った。わが国のヨーネ病患者のと場搬入規制及び牛乳殺菌条件は米国に比べてはるかに厳しく、わが国の農場での防疫体制と乳肉の安全性に対する行政措置の適性を確認することができた。

訪問日の午後からは食品安全部門の Wesley 博士に面談し、米国ではリステリア、エルシニア、カンピロバクターなどによる食肉製品の汚染度が高く、食中毒が頻発している状況を知った。NADC は USDA の食肉・家禽食肉

法に関わる業務を受け持つため、56名の全研究職の内20%が人獣共通病原体の診断技術の高度化、次世代ワクチンの開発研究に関わっているとのことであった。動衛研が次年度から開始予定の“人獣共通感染症の制圧のための技術開発”に関するプロジェクト研究の推進上、連携研究の必要性を感じた。

3) NVSL と NADC の所轄業務

NVSL、NADC はそれぞれ USDA（農務省）の Agricultural Research Service, The Animal and Plant Health Inspection Service の所轄下にある。NVSL は動物医薬品検査所及び中央病性鑑定所対象は家畜法定伝染病、海外病の病原体や中毒等）としての業務ならびに病原微生物、血清等レファレンスラボラトリーの業務を所轄している。またヨーネ病等の特定疾病の診断法の技術研修と各州の大学、民営の病性鑑定施設の資格認定審査、診断用製剤の有償配布等の業務も担う。隣接の NADC は動衛研に相当する研究機関であり、家畜の細菌病研究、牛の周産期疾病研究、畜産物安全性向上のための腸管感染症研究、家畜の呼吸器病研究、家畜のウイルス・プリオン病研究の五つの部門をもつ。約 \$25million の年間予算のもとで、重点化研究課題として家畜・家禽の感染症、遺伝病及び代謝病等による経済的損害の軽減、食中毒病原体による家畜・家禽の感染と畜産物汚染の軽減をあげている。研究の着眼点が畜産業への応用性におかれているため、基礎的研究の原著論文も家畜衛生や公衆衛生への波及効果の大きい内容となっている。

4) NVSL と NADC の防犯体制

有刺鉄線柵が両所の全敷地を取り囲み、敷地正門には遮断機付きの門衛所が設置され（写真1）、全建造物への出入りは常時施錠の二重ドア付き正面玄関1カ所に限定



写真1: NVSL (右後方建物) を囲む有刺鉄線柵と遮断機付き正門

されていた（写真2）。外来者は玄関外付きインタフォンから警備員に連絡し、職員出迎え下でのみ入館が許可され、受付では拳銃所持の警備員に身分チェックと署名、名札着用を要求される（写真3）。防犯体制は一昨年9月11日の同時多発テロ事件以降に一層厳しくなり、管理棟や研究棟内での訪問者の行動は職員の付添が必須となり、今回の訪問でも単独で面会先に出向くことは許されなかった。加えて外国人訪問研究者の受け入れは大幅に制限されており、共同研究目的の外国人へのVISA発給は停止状態にある。また購入の機械、備品、試薬類は本館外の物品庫に納品されてから納入先の事務室や研究室に担当職員が運搬し、また、試験用動物も専用ゲートからのみ搬入するように管理されていた。NVSLの屋上4カ所には防犯カメラが設置され、管理棟、研究棟、実験動物舎を含む敷地内への外来者の出入は厳しく監視されており、加えて全研修員の顔写真が玄関の壁に掲示され、警備員が認識できるようになっていた。今回の視察訪問は研究情報の収集のみならず、動衛研施設の防犯体制強化を図る上で大いに参考になった。



写真2: NADCの本館（左側）と常時自動施錠の正面玄関の拡大（右側）



写真3: NADCの受付: 中央女性が拳銃携帯警備員、右隣が出迎え職員

第 37 回家畜・家禽疾病専門部会

日米合同会議プログラム

(*は演者)

OPENING REMARKS

(Dr. Yokomizo, Dr. Levings, Dr. Murray, Dr. Davis)

SESSION 1 :

Chairpersons: Dr. Takahashi and Dr. Lehmkuhl

- 1) Mucosal immunoadjuvant activity of the low toxic recombinant Escherichia coli heat-labile enterotoxin produced by Bacillus brevis for the bacterial subunit or component vaccine in pigs and cattle-Yokomizo*, Watanabe, Nakazawa, Imada, Inumaru, Yanaka, and Tsuji, JAPAN
- 2) Regulatory considerations for transgenic vaccines-Foley*, CVB
- 3) Campaign testing of modified live virus vaccines for extraneous bovine viral diarrhea virus-Foley and Wilbur*, CVB
- 4) Comparison of EU and US potency testing procedures for equine influenza-Wilbur*, CVB
- 5) Application of baculovirus expression system to the safety diagnosis for malignant infectious diseases of animals-Sakamoto, Yamakawa, Kaku, Yamazoe, and Murakami, JAPAN (Sentsui presenting)

SESSION 2: Dr. Sentsui and Dr. Payeur

- 1) Antimicrobial susceptibility of Mycobacterium tuberculosis isolates from elephant species-Osorio* and Payeur, NVSL
- 2) Nested multiplex RT-PCR for detection and differentiation of West Nile virus and Eastern equine encephalitis in tissue

samples-Johnson*, Ostlund, and Schmitt, NVSL

- 3) Current progress of national program for controlling bovine paratuberculosis in Japan-Yokomizo*, Mori, and Kojima, JAPAN
- 4) A brief history of chronic wasting disease in the United States with emphasis on the events of 2002 -Gidlewski*, NVSL
- 5) Exotic Newcastle disease in California backyard chickens: An update-Panigrahy*, NVSL
- 6) Molecular diagnosis of atypical mycobacterial infections-Madhusudhan* and Scott, CVB

SESSION 3: Dr. Yokomizo and Dr. Stanton

- 1) Procedurally similar competitive immunoassay systems for the serodiagnosis of Babesia equi, Babesia caballi, Trypanosoma equiperdum, and Burkholderia mallei infection in horses-Katz*, Dewald, and Nicholson, NVSL
- 2) Evaluation of reverse transcriptase 5' Nuclease PCR for the detection of viable heat-injured and resuscitated Listeria monocytogenes in ground pork-Boyapalle, Wesley* Mendonca, NADC
- 3) Production of recombinant equine interferon- γ by baculovirus expression systems and antiviral effect to several equine viruses-Sentsui*, Wu, Murakami, Inoshima, Kokuho, and Inumaru, JAPAN
- 4) The 39 kDa protein of Pasteurella multocida cross-protective factor is the outer membrane lipoprotein B, PlpB-Tabatabai*, NADC
- 5) VSH-1, a generalized transducing bacteriophage of the anaerobic spirochete

Brachyspira hyodysenteriae, appears defective in self-replication-Stanton*, Humphrey, Thompson, Zuerner, NADC

- 6) The age of competence: An update on the international laboratory accreditation scene for veterinary testing laboratories-Wiegers*, NVSL

SESSION 4: Dr. Lehmkuhl and Dr. Davis

- 1) The prevalence of *L. monocytogenes* in cull sows-Wesley*, Larsen, Hurd, McKean, Frana, Cox, Johnson, Nannapaneni, Pinkerton-Hogness, and Rivera, NADC
- 2) Detection of an early stage of mastitis in dairy cows by chemiluminescence-Takahashi*, Odai, Matsue, Arai, Horino, and Yokomizo, JAPAN
- 3) Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta-Kimura*, Goff, and Stabel, NADC
- 4) Effect of intramammary administration of rboGM-CSF on milk levels of chemiluminescence

activity, somatic cell count and Staphylococci count in Holstein cows with Staphylococci-induced subclinical mastitis - Takahashi*, Odai, Mitani, Inumaru, Arai, Horino, and Yokomizo, JAPAN

- 5) Survey of US or EU-type porcine reproductive and respiratory syndrome viruses in Japan-Yoshii, Kaku, Murakam, Shimizu, Kato, and Ikeda, JAPAN (Sentsui presenting)
- 6) Administrations of enterotoxigenic *E. coli* and rboGM-CSF and change in neutrophil chemiluminescence activity in newborn calves-Takahashi*, Tamura, Inumaru, Narita, Ishikawa, Narita, Nakazawa, Arai, Horino, and Yokomizo, JAPAN
- 7) The role of dietary Vitamin E in experimental *Listeria monocytogenes* in turkeys-Zhu, Wesley*, Nannapaneni, Cox, Mendonca, Johnson, and Ahn, NADC

CLOSING REMARKS (Dr. Davis)

