

# 日生研おより

第65巻 第4号(通巻613号)  
2019年(令和元年)10月

## 挨拶・巻頭言

若手人材の研究力と未来マップ  
.....山手 丈至 (2)

## レビュー

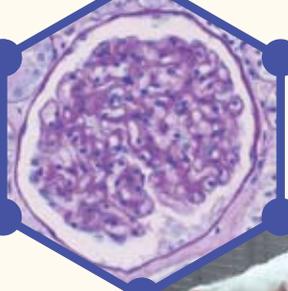
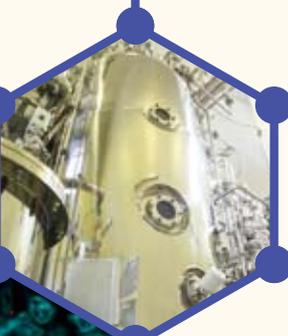
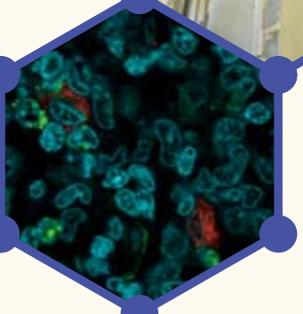
ウエルシュ菌の各種検査法と鳥獣での  
保有調査状況.....上塚 浩司 (3)

## 文献紹介

動物におけるボルナウイルス感染症に  
関して.....小野 浩輝 (10)

## 発表論文紹介

日本国内における豚サーコウイルス  
3型の初検出.....矢野(林)志佳(14)



## 若手人材の研究力と未来マップ

山手丈至

少子化、多様性、国際化の時代を向かえ大学改革が急激に進んでいます。「THE 世界大学ランキング」が毎年発表され、2019 年は 86 カ国 1,250 校の順位が示されました。残念ながら日本の大学は徐々にランクを下げています。ランキングには、教育、研究、国際性が評価ポイントとなっています。研究力とは、所属する教員・研究者の国際誌への掲載論文数（量）や被引用数（質）が重視されています。このようなランキングのために、大学では「競争のために競争を煽る」ようなやや偏向した考えも生じています。一方で、量・質では判断できない研究の価値として、その大学の「厚み」が見直されています。この「厚み」は、ある特定の分野のみが国際的にトップクラスであることよりも、いろいろな分野の研究者が押しなべてある程度の国際性のある研究を進めていることの方がより価値があるとする考えです。「厚み」を判断できる一つの指標として外部資金、特に科研費の獲得額が相関するとされています。「量×質×厚み」を基に基礎から応用の幅広い研究分野を底上げすることが、日本の研究力の向上に繋がると思います。

民間の研究所もしくりで、諸外国に比べ研究力が相対的に低下しつつあることが懸念されています。バブル崩壊を受けて、1990 年代においていわゆる中央研究所が廃止され、基礎研究からの撤退が起きています。日本の博士課程入学者も、2003 年をピークに減少傾向にあり、企業に就職する若手の研究者（人材）の割合が減っています。リストラされた企業研究者のアジア諸国への頭脳流出なども問題視されています。

特に民間研究所では、目先の利益を追究する研究を行わせることで、若い研究者の知的好奇心の芽を摘んではいないでしょうか？ 研究は、研究者の純粋な好奇心から始まり、その後ステップを踏んで実用・実装を目指した応用的・実践的な研究へと展開できるものと思っています。やや大上段に構えると、研究の究極的な目標としては、人類の福祉や平和にどの程度貢献できるのかが問われると思います。

地球上から根絶された感染症として天然痘と牛痘が知られています。天然痘は紀元前から大流行を繰り返し、死に至る疫病として恐れられていましたが、1796 年英国の開業医 Edward Jenner が牛痘から種痘を発明したことをきっかけに、天然痘の予防法が開発されたことはよく知られています。WHO は 1980 年 5 月天然痘の世界根絶宣言を行っています。牛痘も、紀元前から幾度となく大流行し 18 世紀の中世ヨーロッパにおいては 2 億頭以上の牛が大量死したとの記録があります。その後も、アフリカや中東地域を中心に牛、水牛や山羊で発生があり、大きな経済的損失が生じていましたが、ワクチンの開発により予防され、2011 年 5 月に OIE から世界的な根絶が宣言されました。このような事例から、積み重ねてきた基礎研究を基にし、多くの研究者の叡智を結集することで「人類の福祉・平和への貢献」を改めて考えることができます。

国連が提唱する「持続可能な開発目標（持続可能な世界を実現するための 17 のゴール）(SDGs)」と関連し、IoT、人工知能 (AI)、ビッグデータ等の情報技術を社会生活に取り入れてイノベーションを創出し、一人ひとりのニーズに即した新たな世界を構築する「Society 5.0」の実現に向けたスマート社会のプロジェクトが動いています。

SDGs の目標を踏まえると「安全・安心な動物性タンパク質の提供により貧困をなくし、飢餓をゼロにし、そしてすべての人に健康と福祉をもたらす。」ことのできる研究を進めることが私たちに求められています。若手の研究者が歩む「未来マップ」を示すことで高度人材が育成できると思います。40 年近く獣医病理学の研究・教育に携わってきた身として、このようなことを考える日々です。

(評議員・大阪府立大学研究担当副学長)

## ウエルシュ菌の各種検査法と鳥獣での保有調査状況

上塚 浩司 (茨城大学農学部動物保健衛生学研究室)

家畜衛生の分野では、さまざまな病原性微生物が研究されている。その中のひとつであるウエルシュ菌は、家畜や家禽に腸炎を起こし、ヒトの食中毒の原因菌としても知られているが、正常な腸内細菌叢の構成要素のひとつでもあり、いわゆる“悪玉菌”と言われ加齢とともに増えて来ると言われている [45]。

「ウエルシュ菌」とは、クロストリジウム属の細菌である *Clostridium perfringens* の別名である。このウエルシュ菌という別名は、*C. perfringens* が古い時代に *C. welchii* (ウエルチ) と呼ばれていたことに由来している。*C. welchii* は発見者である William Henry Welch の名前に由来している [42]。ウエルシュ菌は、家畜衛生分野ではニワトリに起こす壊死性腸炎を筆頭に、各種家畜に腸疾病を引き起こす原因菌として有名である。ヒトの公衆衛生では、食中毒の原因菌として知られているが、作った翌日に温め直したカレーで起こるという例がよく使われ、発生件数の多い食中毒だが、最近の日本での発生件数では、カンピロバクターやノロウイルスに上位を奪われている (表 1)。

私たちの研究室では、カラス、スズメ、ムクドリといった留鳥でのウエルシュ菌の保有を調べている。留鳥というのは野鳥の中でも渡りを行わずに地域に定着して暮らす鳥のことであり、地域における人や家畜の生活との関わりが大きい存在である。しかしながら、野鳥についてはその生態を調べた書籍は多数みられるものの、腸内に保有する細菌について記述した書籍は見当たらないようであり、学术论文も多くないようである。

留鳥でのウエルシュ菌の保有調査に取り組むにあたり、ウエルシュ菌の検査方法と、他の動物や鳥類でのウエルシュ菌の保有調査の状況に関して、論文を検索し整理を行った。今回、日生研たよりへの原稿依頼を頂いたので、その内容を紹介させて頂く。

### 1. ウエルシュ菌の各種検査法

留鳥でのウエルシュ菌の保有調査を行い、多数のウエルシュ菌株が得られてくると、それらの菌株を識別する必要があることが予想される。菌株の識別のためには、検査によって何かしらの特徴を調

表 1 病因物質別 食中毒発生状況 (平成 27 ~ 29 年度)

病因物質	平成 29 年		平成 28 年		平成 27 年	
	件数	患者数	件数	患者数	件数	患者数
総数	1,014	16,464	1,139	20,252	1,202	22,718
ウイルス	221	8,555	356	11,426	485	15,127
ノロウイルス	214	8,496	354	11,397	481	14,876
その他のウイルス	7	59	2	29	4	251
細菌	449	6,621	480	7,483	431	6,029
カンピロバクター	320	2,315	339	3,272	318	2,089
ウエルシュ菌	27	1,220	31	1,411	21	551
サルモネラ属菌	35	1,183	31	704	24	1,918
ぶどう球菌	22	336	36	698	33	619
腸炎ビブリオ	7	97	12	240	3	224
病原大腸菌	28	1,214	20	821	23	518
セレウス菌	5	38	9	125	6	95
その他の細菌	5	218	2	212	3	15
寄生虫	242	368	147	406	144	302
アニサキス	230	242	124	126	127	133
クドア	12	126	22	259	17	169
その他の寄生虫			1	21		
化学物質	9	76	17	297	14	410
自然毒	60	176	109	302	96	247
その他	4	69	3	16	1	2
不明	29	599	27	322	31	601

厚生労働省 \_ 食中毒統計資料より引用 (一部改変)

べ、それによって分類することが必要になるだろう。そこで、ウエルシュ菌の各種検査法を調べ、整理してみた。

### (1) 毒素産生性

ウエルシュ菌は、4種類の毒素 ( $\alpha$ 毒素、 $\beta$ 毒素、 $\varepsilon$ 毒素、 $i$ 毒素) の産生性に依りてA型からE型までの5種類の毒素型に分類されている(表2)。人や動物が保有しているウエルシュ菌の大半はA型である。A型とは $\alpha$ 毒素のみを産生し、 $\beta$ 毒素、 $\varepsilon$ 毒素、 $i$ 毒素は非産生のものをいう。これら毒素の産生性を調べる検査として、古くは動物を用いて毒素の中和で調べる検査法が報告されている[5]。具体的には、モルモットの脇腹の皮膚に菌を接種し壊死病変の有無で判定する方法と、マウスに静脈内投与して48時間以内の生死で判定する方法である。この *in vivo* アッセイ系に対して、*in vitro* の免疫学的アッセイ法として逆受身赤血球凝集反応法と一元放射免疫拡散法の2つのアッセイ系を比較した $\varepsilon$ 毒素タンパク検出の検査法が報告されている[4]。さらにELISA法が利用されるようになると、 $\alpha$ 毒素タンパクの検出に応用したELISA検査法の報告[27]、および $\beta$ 毒素と $\varepsilon$ 毒素の検出系として従来のマウスでの毒性試験やウエルシュ菌の培養検査にELISA法が代用可能かどうかを検討した論文[9]が報告された。また、ラテックス凝集反応を利用した $\varepsilon$ 毒素タンパクを検出する検査法をELISA法と比較した論文[23]も報告されている。その後PCR法が登場すると、各種毒素の遺伝子の保有を迅速に調べることでPCR法が従来の方法にとって代わり、検査法の主流となった。通常のPCRでは1本のチューブで1種の目的遺伝子を検出するが、複数種の毒素遺伝子を1本のチューブで同時に検出することが可能なMultiplex PCRの検査システムが報告されている。Meerらは、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\varepsilon$ 、 $i$ 毒素の4種に加えてエンテロトキシンを加えた5種の遺伝子を一度に検出することが可能なMultiplex PCRシステムを報告した[25]。その後、このMeerらのシステムに不具合があるとして、Heikinheimoらは $\alpha$ 毒素遺伝子のプライマーを差し替えた修正Multiplex PCRシステムを報告した[15]。さらに、Grecoらは、

表2 ウエルシュ菌の毒素型の分類表

毒素型	$\alpha$ 毒素	$\beta$ 毒素	$\varepsilon$ 毒素	$i$ 毒素
A型	+	-	-	-
B型	+	+	+	-
C型	+	+	-	-
D型	+	-	+	-
E型	+	-	-	+

+ : 毒素産生性あり、- : 毒素産生性なし

Meerらのシステムで検出可能な5種の遺伝子にさらに $\beta$ 2毒素遺伝子を加えた6種の遺伝子を一度に検出可能なMultiplex PCRシステムを報告した[10]。エンテロトキシンについては後述するが、 $\beta$ 2毒素はウエルシュ菌の産生する毒素のひとつであり、病原性に関連する可能性が示唆されている[41]。しかしながら、実験的投与による壊死性腸炎病変の再現性はとれていない。

### (2) エンテロトキシンの産生

エンテロトキシンはヒトの食中毒の原因とされる毒素タンパクである。ウエルシュ菌は芽胞形成菌なので栄養型と芽胞型があり、エンテロトキシンは芽胞型菌が産生する。食品と共に摂取された大量のウエルシュ菌が、腸管内で芽胞を形成する際にエンテロトキシンが産生・放出され、腸管粘膜に作用して食中毒症状が起こる。しかし、エンテロトキシン遺伝子を保有している菌株がすべて、エンテロトキシンのタンパク質を産生するとは限らない。そこでKokai-kunらは、エンテロトキシン遺伝子の保有について調べる手法であるDIGラベルGeneプローブアッセイとPCRアッセイの特異性と感度を検証し、さらにエンテロトキシンタンパク質の産生について調べる手法であるWestern blotアッセイの特異性と感度を検証した。そして、①エンテロトキシン遺伝子の保有の有無、②培地中での芽胞形成の有無、③エンテロトキシンタンパク質の産生の有無、この三者の関係性の検出の正確性について、多数のリファレンス菌株を用いて検証を行った。非常に丁寧な仕事である[20]。

HarmonとKautterは、日本のデンカ生研から市販されている検査キットを用いた逆受身ラテックス凝集反応を行い、ウエルシュ菌の培養上清サンプルおよびウエルシュ菌食中毒患者の下痢サンプルからエンテロトキシン検出を行い、ELISA法での検出結果と比較した[13]。

Mahonyらは、Vero細胞を用いてエンテロトキシンの検出を行った[22]。彼らの論文のイントロダクション中の記述によれば、ウエルシュ菌による腸管毒血症の検出のための試験法には、生物学的試験法(biological tests)、血清学的試験法(serological tests)、組織培養アッセイ法(tissue culture assays)の3つのカテゴリーがあり、その中で、Vero細胞を用いた試験法は、組織培養アッセイ法に該当する。いずれのカテゴリーも、毒素を検出するのが目的の試験法である。

### (3) 遺伝学的多様性の解析

ウエルシュ菌の遺伝学的多様性の解析に関する論文としては、以下のものがある。

Hassan らは、毒素型分類と遺伝学的解析との対応について報告している [14]。ウエルシュ菌の現在の毒素型分類を遺伝学的に解析してみた結果、A 型菌は B ~ E 型菌に関連しているプラスミドが欠如しており、この点が A 型菌と他の毒素型株との間における大きな遺伝学的差異であった。Hassan らは、さらにそれぞれの毒素型ごとの遺伝学的特徴を明らかにするために、ゲノム解析を進める必要があるとしている。

リボタイピング法とは、別名フィンガープリンティング法とも呼ばれる。フィンガープリントとは指紋のことなので、リボタイピング法は菌株の同一性および近縁性を調べるための遺伝学的な手法である。2009 年にイタリアとチェコ共和国で行ったニワトリでのウエルシュ菌の保有調査を報告した論文で、ウエルシュ菌の菌株の遺伝学的解析にリボタイピングが有用であったことが述べられている [6]。

ホスホリパーゼ C 遺伝子についての系統樹解析が報告されている [36]。系統樹解析は、どの遺伝子について実施するののかによって、出来上がる解析結果が異なるが、この論文はホスホリパーゼ C 遺伝子 (*plc* 遺伝子) の塩基配列、アミノ酸配列、ハプロタイプなどを調べたものであり、先行して発表されていた Tsutsui らの論文よりも解析したシーケンスの数が多いためである。ホスホリパーゼ C とは別名、 $\alpha$ 毒素のことであり、ウエルシュ菌であれば全ての菌株が持っている遺伝子であるから、ウエルシュ菌の系統樹解析には都合がよいのかと思っただが、報告は多くないようである。この論文のディスカッション中で、他の遺伝学的多様性の解析手法として、プラスミドのプロファイリング、リボタイピング、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE)、増幅断片長多型解析 (AFLP : Amplified fragment length polymorphism)、rep-PCR といった手法があることが紹介されていた。これらの手法による解析結果の論文報告としては、バクテリオシン・タイピングとプラスミドのプロファイリングおよびリボタイピングについての報告 [33]、増幅断片長多型解析法 (AFLP) についての報告 [24] を見つけた。

また、一つの遺伝子のみについての解析ではなく、7 種類 (ウエルシュ菌の場合は 8 種類) のハウスキーピング遺伝子に基づいた遺伝学的解析を行うのが、多座位配列タイピング法 (MLST : Multilocus sequence typing) である。ヒトの食中毒の原因であるエンテロトキシン遺伝子 (*cpe* 遺伝子) を染色体上に保有しているウエルシュ菌株は、MLST 解析では *cpe* 遺伝子をプラスミド上に保有している菌株、および *cpe* 遺伝子を保有していない菌株とは別のク

ラスターに分類されるという内容の報告がある [44]。このほかに、ブタ由来の菌株について MLST 解析を行った報告もある [18]。

最後に、ウエルシュ菌同定の方法として、16S rRNA 遺伝子のシーケンス解析が挙げられる。この手法を用いた論文として、Hung らの報告 [16] を挙げておく。Hung らは水素を産生するための目的でクロストリジウム属菌について研究しており、その際のクロストリジウム属菌の分類のために、16S rRNA 遺伝子のシーケンス解析を利用している。その PCR で用いるプライマーとして、従来のユニバーサルプライマーとオリジナルのクロストリジウム属菌特異的プライマーのどちらの方の有用性が高いのか比較して論じた内容である。結論としては、オリジナルのプライマーの方の有用性が高いということになっていた。

## 2. 鳥獣でのウエルシュ菌保有についての調査状況

私たちの研究室で、留鳥での保有調査にとりかかるとあって、他の動物種や鳥類でのウエルシュ菌保有状況は調査されているのかどうか論文検索を行った。まず、健康な動物での保有調査についての検索結果を以下に紹介する。

### A. 健康な動物でのウエルシュ菌保有調査

#### (1) 健康な野生動物

健康な野生動物では、トナカイとホッキョクグマでの調査報告があった。野生動物としているが、どちらも正確には半家畜化された状態である。ウエルシュ菌感染症は農場の家畜において非常に重要な経済的意味をもつ。北欧ではトナカイを家畜として利用しているが、トナカイでのウエルシュ菌感染情報はごくわずかである。しかし、放し飼いのトナカイで A 型ウエルシュ菌が原因の腸管毒血症が報告されたことから、トナカイ畜産での A 型ウエルシュ菌の重要性が示された。そこで、トナカイとその他動物そしてヒトにおける健康リスクの推定に役立てることを目的として、Aschfalk らは半家畜化された健康なトナカイで、糞便サンプルからウエルシュ菌の毒素型を調査した。結果は分離率 59% で、分離株は全て A 型であった。陽性トナカイ 98 頭のうち、15 頭に由来する分離株が  $\beta$  2 毒素陽性、2 頭に由来する分離株がエンテロトキシン陽性であった [2]。もう一つの方の論文であるホッキョクグマでの報告では、92 頭のホッキョクグマが基本的に放し飼いであったが、他の科学的理由から特定地点に immobilize (固定する、動かなくする) されたそうで、論文中の図にはノルウェーの Svalbard という

鳥の中に46地点が示されていた。材料には、綿棒で直腸から採取した糞便サンプルが用いられ、検査まで4℃で保存された。個人的な疑問として、この糞便サンプルはどうやって採取したのか（麻酔した状態のホッキョクグマから採取したのであろうか？）が気になったが、その答えについては記述されていなかった。結果として、全体としての分離率は44%（92頭中40頭から分離）であり、分離された中から30株を調べたところ全てA型であり、1株だけがβ2毒素遺伝子を保有していたが、エンテロトキシン遺伝子を保有する株はなかった。調査したのは臨床症状のない健康な個体であることから、ホッキョクグマにおいてもウエルシュ菌は正常な腸内細菌叢の構成要素の一つとみなされた [17]。

### (2) 健康な家畜

健康な家畜での保有調査として引用している論文 [40] のタイトルには、「様々な動物 (various animals)」と記述されている。しかし、その論文で調査しているのは代表的家畜であるウマ、ウシ、ニワトリ、ブタである。結果として、それぞれ50サンプル（糞便）（ニワトリのみ59サンプル）を調べて、ウエルシュ菌の分離率がウマ、ウシ、ニワトリ、ブタでそれぞれ24%、36%、80%、2%であった。このうちエンテロトキシン遺伝子を保有するのはそれぞれ14%、22%、10%、0%であった。ブタでの保有率は0%だが、他の家畜での保有率は個人的にはかなり高いと思った。しかし論文の最後には、“All these results indicate that only a relatively small fraction of the *C. perfringens* strains isolated from faeces are enterotoxigenic.”（エンテロトキシン産生株は比較的少ない）と記述されており、「少ない」とする感覚には個人差があると感じた。他に、“In the intestinal tract multiplication of *C. perfringens* has been observed before sporulation occurs. Up till now the incidence of CPE-producing strains is not known. The reason is that no practical tests are available. It is generally thought that CPE is synthesized during sporulation. However, various strains of *C. perfringens* do not sporulate in the recommended sporulation media.”（腸管内ではウエルシュ菌の増殖は芽胞形成の前に観察される。現在までにCPE産生株の頻度は分かっていない。これは実際に実施可能な検査方法がないことが理由である。CPEは一般的に芽胞形成の間に合成されると考えられているが、芽胞形成に推奨されている培地ではウエルシュ菌の大半の菌株は芽胞を形成しないのである。）などのような非常に参考になる簡潔なコメントが散見される論文であった。

### (3) 健康なニワトリ

家畜の中でも特にニワトリでの調査についての検索結果を別個にまとめる。なぜならウエルシュ菌はニワトリでの壊死性腸炎の原因菌として家禽産業の業界内では悪名高く有名であるため、調査への関心は高いと思われるからである。

古くは1984年にShaneらのグループが発表したニワトリでの保有調査では、ニワトリの腸内容物からのウエルシュ菌の分離はめったに起こらない (infrequent isolation) と結論されていたが、具体的な数字は残念ながら明記されていない [34]。Shaneらは、「Timmsの論文とBarnesらの論文の結果が確認された」と書いているが、Timmsの論文 [39] とはコクシジウム症のニワトリの腸内フローラを調べるための基礎調査として行われたものであって、ウエルシュ菌分離の結果は分離率など数字ではっきりとは示されておらず、**These were often absent from the small intestine but appeared in low numbers more regularly in the caecum.**（小腸からは分離されないことが多かったが、それに比べれば盲腸からは細菌数自体は少ないながらもっと分離の頻度は高かった。）との記載が、Shaneらのグループの論文の「ニワトリの腸内容物からのウエルシュ菌の分離はめったに起こらない」という結論と同じと言えばそう言えなくもない。これに対してBarnesの論文 [3] とは孵化後数日以内のヒヨコを用いた実験の内容であり、各種細菌の培養上清や、成鶏の腸内容物を孵化直後のヒヨコに接種させ、嗉嚢や腸の内部の細菌の組成や数がどう変化するかを調べた内容である。そのときに腸内の細菌としてウエルシュ菌（正確にはクロストリジウム属菌）が登場してくるが、正確な数の記載もなく、そもそもウエルシュ菌としては同定されていないため、Shaneらはこの論文を参考文献として引用しているが、これをニワトリでのウエルシュ菌の保有調査に関連する文献として引用するのは適切ではないと思われる。おそらく、孵化後数日以内の、つまり1週齢のニワトリでのデータとしてShaneらは参考文献として引用したものと思うが、あまり実際の役に立つデータではないと思われる。

もっと最近でのニワトリにおけるウエルシュ菌の保有調査としては、2005年にトルコ [19] で、2009年にイタリアとチェコ共和国で調査を行った論文 [6] がそれぞれ報告されている。イタリアとチェコ共和国の論文はリボタイピングにも関連している。

### (4) ニワトリの飼育環境

ニワトリでは汚染ルートを明らかにする目的で、ニワトリの飼育環境からのウエルシュ菌分離を行っ

た調査報告もみられる。

ブロイラー鶏の孵化場の調査が2001年に報告されている [8]。孵化場で孵化したヒヨコは、他所の育成場に出荷されていくため、孵化場の汚染はヒヨコを通じて他所へと汚染を拡散させていくことになる。このため、汚染のリスクをコントロールする上で非常に重要なポイントとなることはサルモネラでよく報告されている。この論文では、ブロイラー鶏の孵化場のウエルシュ菌の汚染について初めての報告であり、3ヵ所の孵化場に由来する卵の殻、ヒヨコの綿毛、ヒヨコに敷いた紙製床敷についてウエルシュ菌の分離を試みた。その結果、高い確率でウエルシュ菌が分離されることが示された。サルモネラと違い、ウエルシュ菌は芽胞を形成するので、より厳密な衛生管理が必要ということである。

また、ブロイラー鶏のブリーダー、孵化場、育成場、処理場からなる一通りの行程での調査が2003年に報告されている [7]。ブロイラー鶏の品種を維持するブリーダーからは、孵化場に卵が出荷される。この卵を孵化して孵化場から育成場にヒヨコが出荷される。ヒヨコは育成場から40日齢くらいで出荷されて、食鳥検査所へ行くことになる。このブロイラー鶏の流れ、すなわち、ブリーダー⇒孵化場⇒育成場⇒食鳥検査所、この一連の行程がこの論文でいうところの“Integrated operation”である。分離されたウエルシュ菌のリボタイプを調べて、この行程のそれぞれの場所がつながるかどうか、すなわち同一のリボタイプの菌が行程上の異なる場所から分離されるかどうかを試してみた論文である。ブリーダー、孵化場、育成場、食鳥検査所の4ヵ所全てで共通して分離されたりボタイプは検出されなかったが、行程の間でウエルシュ菌が拡散されてゆく可能性が推察された。

#### (5) 市販の動物肉

日本で市販されている動物肉（ウシ、ブタ、ニワトリ、アヒル、ヒツジ）について、ウエルシュ菌の分離調査を実施し、その分離頻度、分離された菌の毒素型（A型－E型：全てA型だった）、加えて $\beta$ 2遺伝子とエンテロトキシン遺伝子の保有を調べた [26]。エンテロトキシン遺伝子を保有するウエルシュ菌の分離株については、染色体に保有しているのか、それともプラスミドに保有しているのかを、(1) 遺伝子型、(2) *sod* (superoxide dismutase) 遺伝子のPCRとその増幅産物のシークエンスによる系統樹解析、(3) D100 (100°Cで菌数が10分の1になるのに要する時間) の3つの手法で調べ、プラスミドに保有していると結論づけられた。従来ヒトの食中毒では染色体に保有する株が大半であったが、

最近ではヨーロッパや日本でプラスミドに保有する菌が増えているとのことである。プラスミドに保有する菌株の芽胞の方が短時間の加熱処理で効果を示すことから、プラスミド菌株での食中毒の原因としては不十分な加熱処理、もしくは調理中の混入が考えられると推察されていた。また、染色体に保有する菌株が原因の食中毒は classical type (古典型)、プラスミドに保有する菌株が原因の食中毒は emerging type (新興型) と呼ばれるとの記載もあった。

#### (6) 健康な実験動物での調査

健康な実験動物での保有調査としては、ラットでの保有調査 [21] が挙げられるが、これは健康な実験動物でのウエルシュ菌の保有を直接的に調査した論文ではない。この論文は Sprague-Dawley (SD) ラットを用いて、遺伝子操作した *Lactobacillus plantarum* 590株のプロバイオティクス効果を、遺伝子操作する前の元株と比較して調べた内容である。ここでいう遺伝子操作とは、食品添加物として使用されている抗菌性タンパク質であるナイシンに対する抵抗性を高めるための遺伝子の挿入を指す。この論文の中で、ウエルシュ菌の数の変動が評価項目として挙げられているため、健康なSDラットが腸管内にウエルシュ菌を保有していることを裏付ける論文にあたると考えていた。しかし論文ではウエルシュ菌の数の変動はリアルタイムPCRを用いて評価しており、さらに使用したプライマーはウエルシュ菌に特異的ではなく、クロストリジウム属に共通した配列で設計されているため、ウエルシュ菌の菌量を正確に調べているとは言えない。腸内容物を直接プレートに培養して、ウエルシュ菌の分離を調べてはいないので、SDラットがウエルシュ菌を保有しているかどうかは何も分からない。とりあえず、リアルタイムPCRではクロストリジウム属の細菌が検出された結果が示されているにすぎない。

#### B. 病気の動物での調査

##### (1) 病気の動物

病気の動物の症例報告としては、ツキノワグマでの毒血症の症例がある [11]。

##### (2) 病気の鳥類

病気の鳥類の症例報告としては、まず野生のハシブトカラスでの壊死性腸炎の報告がある [1]。さらに、コリンウズラでの潰瘍性腸炎に類似した疾患の症例報告 [35] があり、オオライチョウではウエルシュ菌に関連した腸、筋胃、肝臓での壊死性病変の発生が報告されている [38]。他に野生ガン [43]、ヒインコ [28]、ローリー (インコ的一种) [30]、キジオライチョウ [12]、野生のハクチョウ [31]、コブ

ハクチョウ [29] で症例報告がなされている。ローリーの症例報告は、正確には *C. colinum* によるウズラ病（潰瘍性腸炎）なのだが、ウエルシュ菌もちらっとだけ登場する。

健康なダチョウと病気のダチョウの両方でのウエルシュ菌の保有調査が2014年に報告されている [32]。健康個体と病気個体で、分離菌の分離頻度や菌型構成に特に違いは見られなかった。A型菌が大半で、C型菌も分離された。 $\beta$ 2毒素遺伝子の保有が健康個体と病気個体の両方で高率に認められたが、エンテロトキシン遺伝子を保有する菌株は無かった。急性の壊死性腸炎と診断されたダチョウの群れが15群、健康なダチョウの群れが15群、合わせて30群から得られた30個体のウエルシュ菌の分離株を用いて菌の型別を行っている。従って、分離率については不明である。しかし、1羽の鳥からは1つの分離株だけを採用しているらしい。これもちょっと腑に落ちない点ではある。ディスカッションの中で、この論文がダチョウ由来のウエルシュ菌の遺伝子型別についての2番目の調査報告であると記されている。ダチョウ由来のウエルシュ菌の1番目の調査報告であるとして引用されている論文は、1996年に報告されている [37]。しかし、その実際の内容はウエルシュ菌の毒素型別の検査法について、従来の検査法の代用としてのPCR検査法の有用性を示したものであり、その中で調べた菌株の中にダチョウ由来のものが含まれていた、というのが正確なところである。また、multiplex PCRで調べた調査報告として引用されているが、実際に論文を読んでもmultiplex PCRは行われておらず、論文の最後に今後の目標として、multiplex PCRシステムの開発の必要性が述べられていることが分かった。しかし、ウエルシュ菌に関してPCR以外の検査方法についても多数の文献を引用しているので、各種の検査方法を整理するのに非常に有用な文献であった。

### 3. 最後に

私たちの研究室で行ったカラス、スズメ、ムクドリといった留鳥でのウエルシュ菌の保有調査は学会発表は行ったものの論文としてはまだ発表しておらず、調査成績を論文発表する準備を進めている。今後は、ウエルシュ菌の保有を調査する対象の鳥類および動物種を広げて研究を継続したいと考えている。得られたウエルシュ菌株の識別および分類についてはMLST法で遺伝学的解析を行っており、同一種内および異種間で遺伝学的な多様性を検討する予定である。

### 引用文献

1. Asaoka Y, Yanai T, Hirayama H, Une Y, Saito E, Sakai H, Goryo M, Fukushi H, Masegi T : Fatal necrotic enteritis associated with *Clostridium perfringens* in wild crows (*Corvus macrorhynchos*). *Avian Pathology* 33, 19–24 (2004)
2. Aschfalk A, Valentin-Weigand P, Muller W, Goethe R : Toxin types of *Clostridium perfringens* isolated from free-ranging, semi-domesticated reindeer in Norway. *Veterinary Record* 151, 210–213 (2002)
3. Barnes EM, Impey CS, Cooper DM : Manipulation of the crop and intestinal flora of the newly hatched chick. *The American Journal of Clinical Nutrition* 33, 2426–2433 (1980)
4. Beh KJ, Buttery SH : Reverse phase passive haemagglutination and single radial immunodiffusion to detect epsilon antigen of *Clostridium perfringens* type D. *Australian Veterinary Journal* 54, 541–544 (1978)
5. Carter GR : *Diagnostic Procedures in Veterinary Microbiology*. Thomas CC, Springfield, IL. (1984)
6. Cesare AD, Borilova G, Svobodova I, Bondioli V, Manfreda G : *Clostridium perfringens* occurrence and ribotypes in healthy broilers reared in different European countries. *Poultry Science* 88, 1850–1857 (2009)
7. Craven SE, Cox NA, Bailey JS, Cosby DE : Incidence and tracking of *Clostridium perfringens* through an integrated broiler chicken operation. *Avian Diseases* 47, 707–711 (2003)
8. Craven SE, Cox NA, Stern NJ, Mauldin JM : Prevalence of *Clostridium perfringens* in commercial broiler hatcheries. *Avian Diseases* 45 : 1050–1053 (2001)
9. el Idrissi AH, Ward GE : Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of *Clostridium perfringens* enterotoxemias. *Veterinary Microbiology* 31, 389–396 (1992)
10. Greco G, Madio A, Buonavoglia D, Totaro M, Corrente M, Martella V, Buonavoglia C : *Clostridium perfringens* toxin-types in lambs and kids affected with gastroenteric pathologies in Italy. *Veterinary Journal* 170 : 346–350 (2005)
11. Greco G, Madio A, Martella V, Campolo M, Corrente M, Buonavoglia D, Buonaboglia C : Enterotoxemia associated with beta2 toxin-producing *Clostridium perfringens* type A in two Asiatic black bears

- (*Selenarctos thibetanus*). Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 17, 186–189 (2005)
12. Hagen CA, Bildfell RJ : An observation of *Clostridium perfringens* in Greater Sage–Grouse. Journal of Wildlife Diseases 43 : 545–547 (2007)
  13. Harmon SM, Kautter DA : Evaluation of a reversed passive latex agglutination test kit for *Clostridium perfringens* enterotoxin. Journal of Food Protection 49 : 523–525 (1986)
  14. Hassan KA, Elbourne LDH, Tetu SG, Melville SB, Rood JI, Paulsen IT : Genomic analyses of *Clostridium perfringens* isolates from five toxinotypes. Research in Microbiology 166 : 255–263 (2015)
  15. Heikinheimo A, Korkeala H : Multiplex PCR assay for toxinotyping *Clostridium perfringens* isolates obtained from Finnish broiler chickens. Letters in Applied Microbiology 40 : 407–411 (2005)
  16. Hung C–H, Cheng C–H, Cheng L–H, Liang C–M, Lin C–Y : Application of *Clostridium*–specific PCR primers on the analysis of dark fermentation hydrogen–producing bacterial community. International Journal of Hydrogen Energy 33, 1586–1592 (2008)
  17. Jores J, Derocher AE, Staubach C, Aschfalk A : Occurrence and prevalence of *Clostridium perfringens* in polar bears from Svalbard, Norway. Journal of Wildlife Diseases 44 : 155–158 (2008)
  18. Jost BH, Trinh HT, Songer JG : Clonal relationships among *Clostridium perfringens* of porcine origin as determined by multilocus sequence typing. Veterinary Microbiology 116, 158–165 (2006)
  19. Kalender H, Etras HB : Isolation of *Clostridium perfringens* from chickens and detection of the alpha toxin gene by polymerase chain reaction (PCR). Turkish Journal of Veterinary Animal Science 29, 847–851 (2005)
  20. Kokai–kun JF, Songer JG, Czczulin JR, Chen F, McClane BA : Comparison of Western Immunoblots and Gene detection assays for identification of potentially enterotoxigenic isolates of *Clostridium perfringens*. Journal of Clinical Microbiology 32, 2533–2539 (1994)
  21. Liu H–Y, Xu W–T, Yuan Y–F, Cao S–S, He X–Y, Li S–Y, Huang K–L, Luo Y–B : The effect of genetically modified *Lactobacillus plantarum* 590 on the gut health of Sprague–Dawley rats. IUBMB Life 64, 617–627 (2012)
  22. Mahony DE, Gilliat E, Dawson S, Stockdale E, Lee SHS : Vero cell assay for rapid detection of *Clostridium perfringens* enterotoxin. Applied and Environmental Microbiology 55, 2141–2143 (1989)
  23. Martin PK, Naylor RD : A latex agglutination test for the qualitative detection of *Clostridium perfringens* epsilon toxin. Research in Veterinary Science 56, 259–261 (1994)
  24. McLauchlin J, Ripabelli G, Brett MM, Threlfall EJ : Amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis of *Clostridium perfringens* for epidemiological typing. International Journal of Food Microbiology 56, 21–28 (2000)
  25. Meer RR, Songer JG : Multiplex polymerase chain reaction assay for genotyping *Clostridium perfringens*. American Journal of Veterinary Research 58 : 702–705 (1997)
  26. Miki Y, Miyamoto K, Kaneko–Hirano I, Fujiuchi K, Akimoto S : Prevalence and characterization of enterotoxin gene–carrying *Clostridium perfringens* isolates from retail meat products in Japan. Applied and Environmental Microbiology 74 : 5366–5372 (2008)
  27. Naylor RD, Martin PK, Barker LT : Detection of *Clostridium perfringens* a toxin by enzyme–linked immunosorbent assay. Research in Veterinary Science 63 : 101–102 (1997)
  28. O’ Toole D, Mills K, Ellis R, Farr R, Davis M : Clostridial enteritis in red lories (*Eos bounea*). Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 5 : 111–113 (1993)
  29. Pennycott T, Young FM, Metcalf JS, Codd GA : Necrotic enteritis in mute swans associated with cyanobacterial toxins. The Veterinary Record 154, 575–576 (2004)
  30. Pizarro M, Hofle U, Rodriguez–Bertos A, Gonzalez–Huecas M, Castano M : Ulcerative enteritis (Quail disease) in lories. Avian Diseases 49, 606–608 (2005)
  31. Pritchard G, Ainsworth H, Brown M, Duff JP : Suspected necrotic enteritis in wild swans. The Veterinary Record 15, 480 (2004)
  32. Razmyar J, Kalidari GA, Toloee A, Rad M, Movassaghi AR : Genotyping of *Clostridium perfringens* isolated from healthy and diseased ostriches (*Struthio camelus*). Iranian Journal of Microbiology 6, 31–36 (2014)
  33. Schalch B, Eisgruber H, Schau HP, Wiedmann M, Stolle A : Strain differentiation of *Clostridium perfringens* by bacteriocin typing, plasmid profiling

- and ribotyping. Journal of Veterinary Medicine B 45, 595-602 (1998)
34. Shane SM, Koetting DG, Harrington KS : The occurrence of *Clostridium perfringens* in the intestine of chicks. Avian Diseases 28, 1120-1124 (1984)
  35. Shivaprasad HL, Uzal F, Kokka R, Fisher DJ, McClane BA, Songer AG : Ulcerative enteritis-like disease associated with *Clostridium perfringens* type A in bobwhite quail (*Colinus virginianus*). Avian Diseases 52, 635-640 (2008)
  36. Siqueira FF, Almeida MO, Barroca TM, Horta CCR, Carmo AO, Silva ROS, Pires PS, Lobato FCF, Kalapothakis E : Characterization of polymorphisms and isoforms of the *Clostridium perfringens* phospholipase C gene (plc) reveals high genetic diversity. Veterinary Microbiology 159, 397-405 (2012)
  37. Songer JG, Meer RR : Genotyping of *Clostridium perfringens* by polymerase chain reaction is a useful adjunct to diagnosis of Clostridial enteric disease in animals. Anaerobe 2, 197-203 (1996)
  38. Stuve G, Hofshagen M, Holt G : Necrotizing lesions in the intestine, gizzard, and liver in captive capercaillies (*Tetrao urogallus*) associated with *Clostridium perfringens*. Journal of Wildlife Diseases 28 : 598-602 (1992)
  39. Timms L : Observations on the bacterial flora of the alimentary tract in three age groups of normal chickens. British Veterinary Journal 124, 470-477 (1968)
  40. Tschirdewahn B, Notermans S, Wernars K, Untermann F : The presence of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* strains in faeces of various animals. International Journal of Food Microbiology 14, 175-178 (1991)
  41. van Asten AJ, Nikolaou GN, Grone A : The occurrence of *cpb2*-toxigenic *Clostridium perfringens* and the possible role of the b2-toxin in enteric disease of domestic animals, wild animals and humans. The Veterinary Journal 183, 135-140 (2010)
  42. Welch WH, Nuttall GHF : A gas-producing bacillus (*Bacillus aerogenes capsulatus*, Nov, Spec.) capable of rapid development in the body after death. Bull. John Hopkins Hosp 3, 81-91 (1891)
  43. Wobeser G, Rainnie DJ : Epizootic necrotic enteritis in wild geese. Journal of Wildlife Diseases 23, 376-385 (1987)
  44. Xiao Y, Wagendorp A, Moezelaar R, Abee T, Wells-Bennik MHJ : A wide variety of *Clostridium perfringens* type A food-borne isolates that carry a chromosomal *cpe* gene belong to one multilocus sequence typing cluster. Applied and Environmental Microbiology 78, 7060-7068 (2012)
  45. 光岡知足 : 人の健康は腸内細菌で決まる！ 善玉菌と悪玉菌を科学する, 技術評論社, 東京 (2011)

## 文献紹介

# 動物におけるボルナウイルス感染症に関して

小野浩輝

## はじめに

最近、病理の勉強会に参加し、ボルナウイルスに感染したインコの病理症例報告を目にする機会があった。ボルナウイルス自体、私にとってあまり身近なものではなかったことに加え、鳥類のボルナウイルス感染症は哺乳類のボルナウイルス感染症と症状が異なることを、この時に初めて勉強させていただいた。ボルナウイルス感染症に興味を湧いたため、ボルナウイルスに関していくつかの文献を調べてみた。本稿では、それらの文献を踏まえて、筆者の視

点からそのまとめを簡単に紹介させていただこうと思う。

## ボルナウイルス

ボルナウイルスは、非分節一本鎖のマイナスセンスのRNAをゲノムとして持つエンベロープを有したウイルスで、モノネガウイルス目ボルナウイルス科に分類される。現在では哺乳類をはじめ、オウムや水鳥、爬虫類など様々な動物におけるボルナウイルス感染症および実験的に広範囲の動物種に感染す

るボルナウイルスの存在が知られている。ボルナウイルスのゲノムは約 8.9 kb であり、その中に少なくとも 6 つ <N (p40)、X (p10)、P (p24)、M (p16)、G (p57)、L (p190)> のタンパク質がコードされている。ボルナウイルスは感染した細胞の核内で増えるという特徴を持つ。

### 哺乳類のボルナウイルス感染症

1885 年、1894 年および 1896 年にドイツ東部ザクセン州のボルナという町周辺において、大量に発生したウマやヒツジの神経症状（知覚過敏や行動異常、痙攣、麻痺など）を主徴とした死に至る疾患に対して、その発生地にちなんでボルナ病として命名された [14, 19]。ボルナ病は最初の報告以降、主にヨーロッパのウマやヒツジを中心に発生が持続し、とりわけ第一次世界大戦前に軍馬の罹患が問題となり、ドイツを中心として盛んに研究が行われた。1929 年にボルナ病が感染性因子による疾病であることが証明されたが、ボルナ病ウイルス (Borna disease virus; BDV) が初めて証明され、ボルナ病の原因病原体として認識されたのは 1990 年以降であった [3]。哺乳類においてはウシ、ヒツジ、イヌ、キツネおよびネコでボルナウイルスの感染が知られているが、発症した場合、ボルナウイルス感染によって中枢神経系での非化膿性脳脊髄炎が引き起こされるため、知覚過敏や振戦などの神経症状をはじめとした様々な臨床症状が認められる [2, 18]。感染動物の中枢神経系に対して抗 BDV 抗体を用いた組織免疫染色を実施すると、神経細胞の細胞質あるいは核が陽性を示す [9]。

日本においては、ネコで神経症状を示す BDV 感染症の報告がある [11]。Someya らは都内の動物病院に来院したネコ 199 頭に対して BDV-p24 (ポリメラーゼコファクター、P) あるいは -p40 (ヌクレオプロテイン、N) に対する抗体保有検査を実施したところ 54 頭 (27.1%) が抗体陽性となり、陽性個体の 33.3% が神経症状を伴っていたことを報告している [16]。

また、ウシやイヌなどの多くの動物種で不顕性感染が示唆されており、ウシでは感染していても、生涯神経症状を示さない例が多いとされている [17, 19]。

一方で、我が国のウマにおいては一部抗 BDV 抗体が陽性を示す個体がいるものの、ボルナ病発症の報告は現在までになされておらず [21]、一見、国内のウマは BDV に汚染されていないように思われる。しかし、ウマヘルペスウイルス 1 型感染の鼻肺炎症

例の脳から、BDV 抗原と遺伝子を証明した報告 [5] があること、さらに、谷山 [20] がこれまでに剖検した競走馬について明らかな非化膿性脳炎像を示す例は得られていないものの、19% が BDV 抗体陽性を示し、この内の 80% が何らかの運動器疾患もしくは運動障害を呈した。また、BDV 抗原や遺伝子が証明される症例も多数にのぼることを述べていることから、国内のウマにも BDV が蔓延していると考えられる。実際、Hagiwara らは、北海道における競走馬 125 頭の血清疫学調査を実施し、BDV-p24 および -p40 に対する抗体の有無を検査したところ、47.2% がいずれかの抗体に陽性を示し、BDV の遺伝子に対する *in situ* hybridization を実施すると中枢神経系に陽性像を認めた [6]。これら BDV 抗体陽性の競走馬は陰性の個体と比較して、運動器疾患（浅指屈筋腱炎、頸椎骨軟骨症、離断性骨軟骨炎など）が見られる割合が顕著に高く、BDV 感染がこれらの運動器疾患に関与する可能性が示唆されたことを報告している。

BDV の蔓延状況を把握するにはウシやヒツジに加えて、ネコやウマの BDV 感染症も引き続き監視していく必要があるものと考えられる。

### 鳥類のボルナウイルス感染症

前胃拡張症候群 (proventricular dilatation disease; PDD) はオウム類に発生する疾患で、1970 年代にボリビアからヨーロッパと北アメリカに輸出されたコンゴウインコではじめて報告された [1, 4]。PDD は前胃が食渣充満によって拡張した病態のことを指すが、これは下部消化管の機能不全により食渣がうまく消化管内を運ばれないことに起因する。PDD はこれまでに 80 種以上のオウム類で報告があるが、発症したオウムは体重減少や嘔吐といった臨床症状に加え、震戦や運動失調、失明などの神経症状を呈し死亡する場合もある [7]。

PDD の原因は長らく不明のままであったが、2008 年に Kistler ら [10] によってその病因がボルナウイルス科に属するウイルスであることが明らかにされ、トリボルナウイルス (Avian borna virus; ABV)\*<sup>1</sup> と命名された。ABV が明らかとなる以前には、前述の BDV のみが 1 属 1 種としてボルナウイルス科のウイルスとして知られていた\*<sup>2</sup> [22]。

ABV は遺伝子型で ABV-1 ~ 7 に分類されており、それに加えてカナリアから分離された ABV-canary とカナダガンから分離された ABV-CG の計 9 つの遺伝子型が知られている。なかでも ABV-2 と ABV-4 は世界各地で最も一般的に検出される遺伝子型

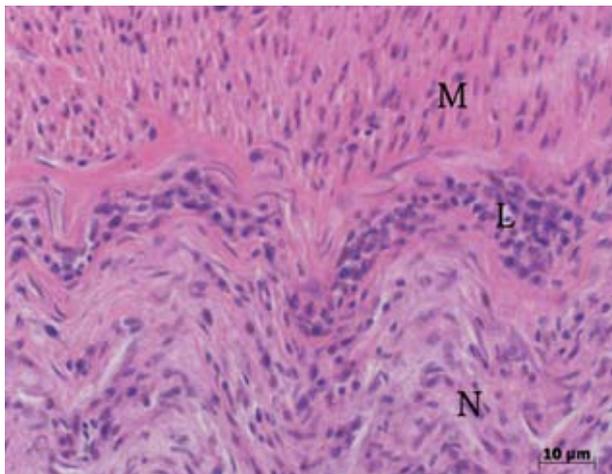


写真1 ABV罹患ルリコンゴウインコ (*Ara ararauna*) における筋胃漿膜面の非化膿性末梢神経炎、HE染色 (麻布大学 相原尚之先生より提供)  
M; 筋層 N; 神経束 L; リンパ球浸潤

で、日本においても同様と言われている [12, 15]。ABVはPDDの唯一の病因ウイルスとされるが、感染しても必ずしもトリがPDDを発症するわけではなく、長期に渡り不顕性感染する場合もある。

Sharmanらのレビュー報告 [7]によると、PDDを発症したオウムでは、中枢神経系および末梢神経系におけるリンパ球・形質細胞浸潤が認められ、特に消化管神経叢で顕著に見られる (写真1)。消化管神経叢がABV感染により障害を受けることで消化管機能に支障をきたし、食渣の滞留、PDDを引き起こすと考えられている。また、小脳におけるPurkinje細胞の減数も感染オウムに見られる特徴的な変化の一つである。しかしながら、感染オウムの小脳に抗ABV抗体を用いた免疫染色を実施するとPurkinje細胞ではなく、Purkinje細胞の機能を補助するBergmann膠細胞 (星状膠細胞の一種) が陽性となる。このことからABV感染オウムで見られる神経障害は、ABVによる直接的な障害ではなく、むしろ、細胞傷害性T細胞の活性化によるBergmann膠細胞の減少がPurkinje細胞の減数を引き起こす、二次的に起こる間接的な障害と考えられている。

国内におけるPDDの最初のトリ症例は2011年にOgawaらによって報告されている [13]。報告では、国内ブリードにより育成されていた5ヵ月齢、雌のコキサカオウム (*Cacatua sulphurea citrinocristata*) がPDD疑いで死亡し、剖検所見および病理組織所見において、前胃拡張や神経節におけるリンパ球・形質細胞浸潤といったPDDに特徴的な所見が得られた。症例とABVとの関与を明らかとするためABV特異的核酸を検出するためのRT-PCRを実施したところ、確かにABV特異的DNAが増幅され、

得られた増幅DNAの塩基配列からABVの系統樹解析を行ったところ、遺伝子型ABV-2であることが証明された。この報告以降、論文報告数は少ないものの、国内にもABV感染オウム類が多数存在することが明らかになりつつある。また、2016年にはHorieらによって国内で初めてABVが分離されたことが報告されており [8]、それと同時にQT6細胞 (ウズラ線維芽様細胞) がABVの分離に適していることが述べられ、今後はこの細胞を用いたABV分離報告も増加すると推察される。

#### おわりに

今回、BDVとABVの2種類のボルナウイルスに関して、国内の状況を簡単に紹介させていただいた。これらを比較してみると、病変部を組織免疫染色した際にBDVでは神経細胞が、ABVではBergmann膠細胞がウイルス抗原陽性になるというそれぞれのウイルスの組織局在性が異なる点について、特にウイルスのトロピズムの観点から興味深く感じた。BDVでは中枢神経系の異常にくわえ、運動器疾患に由来する臨床症状を示しやすく、ABVではPDDのような消化器系末梢神経系の病態を示すのも、ウイルスのトロピズムが異なることが影響しているのかもしれない。ボルナウイルスは、ヒトにおいても神経・精神障害のキーファクターとして注目されている。現在のところボルナウイルスに対するワクチンは存在しないが、このウイルスの解明が進むにつれ、主にヨーロッパのウシ、ヒツジで、将来的に日本でもワクチンの需要が出てくる可能性は否定できないと考えられる。

<sup>1</sup> ICTV2018版でBornavirus科の分類が見直され鳥類のボルナウイルスはPsittaciform 1 orthobornavirus、Psittaciform 2 orthobornavirus、Passeriform 1 orthobornavirus、Passeriform 2 orthobornavirus、Waterbird 1 orthobornavirusに種名が分けられている。

<sup>2</sup> ICTV2018版ではBornavirus科はCarbovirus属、Cultervirus属、Orthobornavirus属の3つに分けられ、BDVおよびABVはOrthobornavirus属に含まれる。

#### 引用文献

- Berhane Y, Smith DA, Newman S, Taylor M, Nagy É, Binnington B, Hunter B: Peripheral neuritis in psittacine birds with proventricular

- dilatation disease, *Avian Pathol*, 30, 563–570 (2001)
2. Cantile C, Youssef S : Nervous System, Jubb, Kennedy Palmer's Pathol. Domest. Anim. Vol. 1. 250–406 (2016)
  3. Carbone KM : Borna disease virus and human disease, *Clin. Microbiol. Rev*, 14, 513–527 (2001)
  4. Gregory CR : Proventricular dilatation syndrome, pp. 439–450, In: *Avian Viruses*, 1st ed, (Ritchie, B. W. eds.) Wingers Publishing, Florida (1995)
  5. Hagiwara K, Kamitani W, Takamura S, Taniyama H, Nakaya T, Tanaka H, Kirisawa R, Iwai H, Ikuta K : Detection of borna disease virus in a pregnant mare and her fetus, *Vet. Microbiol*, 72, 207–216 (2000)
  6. Hagiwara K, Okamoto M, Kamitani W, Takamura S, Taniyama H, Tsunoda N, Tanaka H, Iwai H, Ikuta K : Nosological study of borna disease virus infection in race horses, *Vet. Microbiol*, 84, 367–374 (2002)
  7. Hoppes SM, Tizard I, Shivaprasad HL : Avian bornavirus and proventricular dilatation disease: Diagnostics, pathology, prevalence, and control, *Vet. Clin. North Am. – Exot. Anim. Pract*, 16, 339–355 (2013)
  8. Horie M, Ueda K, Ueda A, Honda T, Tomonaga K : Detection of avian bornavirus 5 RNA in *Eclectus roratus* with feather picking disorder, *Microbiol. Immunol*, 56, 346–349 (2012)
  9. Jacobsen B, Algermissen D, Schaudien D, Venner M, Herzog S, Wentz E, Hewicker-Trautwein M, Baumgärtner W, Herden C : Borna disease in an adult alpaca stallion (*Lama pacos*), *J. Comp. Pathol*, 143, 203–208 (2010)
  10. Kistler AL, Gancz A, Clubb S, Skewes-Cox P, Fischer K, Sorber K, Chiu CY, Lublin A, Mechani S, Farnoushi Y, Greninger A, Wen CC, Karlene SB, Ganem D, DeRisi JL : Recovery of divergent avian bornaviruses from cases of proventricular dilatation disease: Identification of a candidate etiologic agent, *Virology*, 5, 1–15 (2008)
  11. Nakamura Y, Nakaya T, Ikuta K, Watanabe M, Kamitani W, Taniyama H, Nishimura Y, Tsujimoto H, MacHida S : High prevalence of Borna disease virus in domestic cats with neurological disorders in Japan, *Vet. Microbiol*, 70, 153–169 (1999)
  12. Nedorost N, Maderner A, Kolodziejek J, Lussy H, Nowotny N, Weissenböck H : Identification of mixed infections with different genotypes of avian bornaviruses in psittacine birds with proventricular dilatation disease, *Avian Dis. Dig*, 7, e23–e24 (2012)
  13. Ogawa H, Sanada Y, Sanada N, Kudo M, Tuchiya K, Kodama T, Uetsuka K : Proventricular dilatation disease associated with avian bornavirus infection in a citron-crested cockatoo that was born and hand-reared in Japan, *J. Vet. Med. Sci*, 73, 837–840 (2011)
  14. Richt JA, Pfeuffer I, Christ M, Frese K, Bechter K, Herzog S : Borna disease virus infection in animals and humans, *Emerg Infect Dis*, 3, 343–352 (1997)
  15. Sassa Y, Bui VN, Saitoh K, Watanabe Y, Koyama S, Endoh D, Horie M, Tomonaga K, Furuya T, Nagai M, Omatsu T, Imai K, Ogawa H, Mizutani T : Parrot bornavirus-2 and-4 RNA detected in wild bird samples in Japan are phylogenetically adjacent to those found in pet birds in Japan, *Virus Genes*, 51, 234–243 (2015)
  16. Someya A, Fukushima R, Yoshida M, Tanahashi Y, Prapeuk T, Iizuka R, Hiramami H, Matsuda A, Takahashi S, Kurita G, Kimura T, Seo M, Funaba M, Nishino Y : A study on borna disease virus infection in domestic cats in Japan, *J. Vet. Med. Sci*, 76, 1157–1160 (2014)
  17. Takino T, Okamura T, Ando T, Hagiwara K : Change in the responsiveness of interferon-stimulated genes during early pregnancy in cows with borna virus-1 infection, *BMC Vet. Res*, 12, 16–19 (2016)
  18. Tizard I, Ball J, Stoica G, Payne S : The pathogenesis of bornaviral diseases in mammals, *Anim. Heal. Res. Rev*, 17, 92–109 (2016)
  19. 西野佳以 : ボルナ病ウイルス感染症, p. 163. In: *動物の感染症*, 第3版 ed, (明石博臣 eds.) 近代出版 (2011)
  20. 谷山弘行 : わが国における動物のボルナ病. [http://nichiju.lin.gr.jp/mag/05401/00\\_1.htm](http://nichiju.lin.gr.jp/mag/05401/00_1.htm).
  21. 吉原豊彦 : 競走馬の神経系と神経疾患 その2, *BTC ニュース*, 2–5 (2015)
  22. ICTV : [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_9th\\_report/negative-sense-rna-viruses-2011/w/negrna\\_viruses/195/bornaviridae](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/negative-sense-rna-viruses-2011/w/negrna_viruses/195/bornaviridae).  
(研究員)

# 日本国内における豚サーコウイルス3型の初検出

矢野(林) 志佳

### 要約

豚サーコウイルス関連疾病 (PCVAD) は、豚サーコウイルス2型 (PCV2) が関与することによって引き起こされる多様な病態の総称である。近年、原因不明の全身性炎症を呈した豚において、新たな豚サーコウイルスである豚サーコウイルス3型 (PCV3) が同定された。本研究では、2016年に日

本の養豚場において採材した野外材料を用いて、PCV3 ゲノムの検出を試みた。その結果、73 検体中7 検体から PCV3 ゲノムが PCR 法によって検出された。国内の株間におけるゲノム配列の相同性は、ゲノム全長で 99.5% であり、オープンリーディングフレーム 2 遺伝子領域で 98.9 ~ 99.2% であった。本研究で得られた成績は、既に国内の養豚場に PCV3 が浸潤していることを示唆するものである。

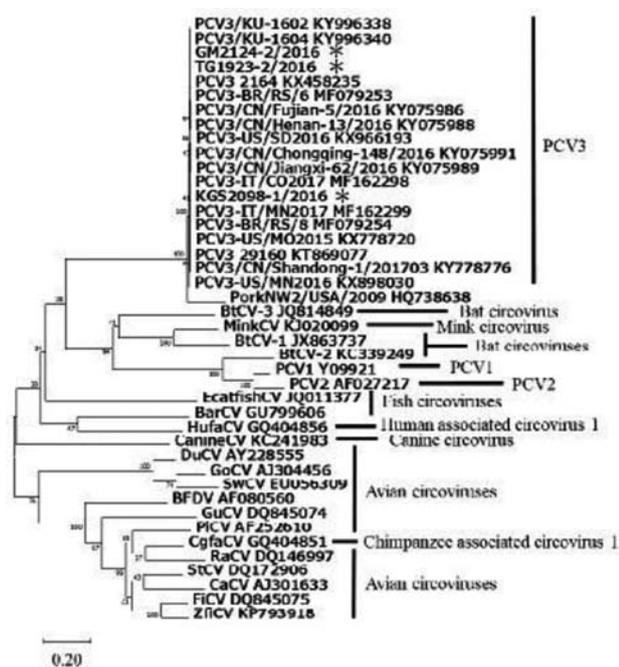


Fig.1

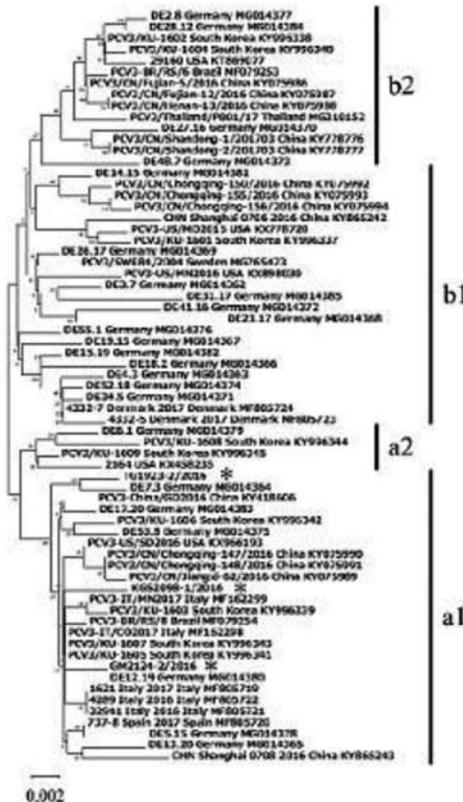
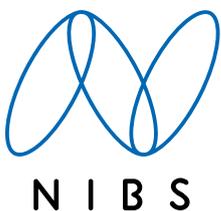


Fig.2



—— テーマは「生命の連鎖」——  
 生命の「共生・調和」を理念とし、生命体の豊かな明日と、研究の永続性を願う気持ちを快いリズムに整え、視覚化したものです。カラーは生命の源、水を表す「青」としています。

表紙題字は故中村稔治博士による揮毫です。

日生研たより 昭和30年9月1日創刊(年4回発行)  
 (通巻613号) 令和元年9月25日印刷 令和元年10月1日発行(第65巻第4号)  
 発行所 一般財団法人日本生物科学研究所  
 〒198-0024 東京都青梅市新町9丁目2221番地の1  
 TEL: 0428(33)1520(経営企画部) FAX: 0428(31)6166  
 URL: <http://nibs.lin.gr.jp/>  
 発行人 土屋耕太郎  
 編集委員 安田早織(委員長)、古澤貴章、小野浩輝  
 事務 経営企画部  
 印刷所 株式会社 精興社  
 (無断転載を禁ず)