

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 21 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2012

課題番号：21406012

研究課題名（和文）東南アジア地域に分布する未知の吸血昆虫媒介性ウイルスの網羅的探索

研究課題名（英文）Novel virus discovery from blood-feeding insects inhabiting Southeast Asian area

研究代表者

沢辺 京子（SAWABE KYOKO）

国立感染症研究所・昆虫医科学部・部長

研究者番号：10215923

**研究成果の概要（和文）：** 網羅的ウイルス探索法（RDV 法）を改良することによって、多様なウイルス種の同定と発見が可能になった。ベトナム捕集蚊から日本脳炎ウイルス、Dak Nong virus（新規のメソニドウイルス科）、Culex flavivirus, Nam Dinh virus, Banna virus を分離した。フィリピンの *Culex vishnui* から Negev virus を分離し、加えて複数の感染性因子の存在を明らかにした。本邦産 *Culicoides* 属ヌカカから Shamonda virus と Sathuperi virus を分離し、それらウイルスの遺伝子情報を基にウイルス診断系を確立した。フィリピンルソン島ではネッタインマカが主要なデング熱媒介蚊であることを推察し、ピレスロイド系殺虫剤抵抗性の遺伝子を持つ集団がルソン島全域に分布していることを明らかにした。

**研究成果の概要（英文）：** Improved system for rapid determination of viral RNA sequences (RDV) contributed to the identification and discovery of various types of the viruses. In Vietnam, Japanese encephalitis virus, Dak Nong virus (unclassified *Mesonidoviridae*), Culex flavivirus, Nam Dinh virus and Banna virus were isolated from mosquitoes. In the Philippines, Negev virus was isolated from *Culex vishnui*, and several infectious agents were found in mosquito pools. Shamonda virus and Sathuperi virus were isolated from *Culicoides* biting midges in Japan. PCR-based virus diagnosis was established based on the genetic information of these virus isolates. It was suggested that *Aedes aegypti* is regarded as the primary vector of Dengue fever in Luzon island, Philippines. The sensitivity to pyrethroid insecticide was low in *Ae. aegypti*. It was clarified that the pyrethroid resistance gene is widely spread throughout Luzon island.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	4,700,000	600,000	5,300,000
2010 年度	4,200,000	600,000	4,800,000
2011 年度	2,600,000	450,000	3,050,000
2012 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2013 年度	0	0	0
総計	13,500,000	2,250,000	15,750,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：寄生虫学（含衛生動物学）

キーワード：RDV 法・蚊媒介性ウイルス・ヌカカ媒介性ウイルス・疾病媒介昆虫・野外調査

### 1. 研究開始当初の背景

近年の地球温暖化，交通網のグローバル化

に伴い，わが国における新興・再興感染症に対する流行監視体制の強化が望まれている。

温暖化に代表される地球環境の変化に最も影響を受ける疾病の一つが節足動物媒介性感染症である。温帯地域にある日本、およびその他の東アジア諸国では、気温上昇や降水量の増加により、蚊やヌカカ、ダニなどの吸血昆虫類の分布域の拡大、活動期間の延長が懸念され、それに伴い節足動物媒介性ウイルスの流行地域の拡大や流行頻度の増大、変異ウイルス出現頻度の上昇、さらには熱帯・亜熱帯地域からの新たなウイルスの侵入も予想されることから、アルボウイルス感染症に対する新たな調査・研究の必要性が増してきている。

(1) 蚊媒介性ウイルス感染症においては、1999年以降、北米大陸に流行拡大したウエストナイル熱の我国への侵入が危惧され、アジア・オセアニア諸国においては依然として日本脳炎やデング熱が流行し、熱帯アフリカ・中南米においては黄熱病、最近ではインド洋周辺におけるチクングニア熱の流行など、世界中にアルボウイルス感染症が広く蔓延している。申請者らは、2003年よりウエストナイルウイルス (WNV) の日本国内への侵入を監視するための全国調査、2005年からは日本脳炎ウイルス (JEV) の分布調査を開始した (厚生労働科学研究費補助金による)。国内でWNVの存在は確認されなかったが、日本とインドネシアの蚊から新規のフラビウイルス ( *Culex flavivirus*, *Aedes flavivirus*: Hoshino *et al.*, 2007, 2009), 国内捕集蚊から新規のトティウイルス ( *Omono River virus*: Isawa *et al.*, 2011) が分離され、JEVがアジア全域で依存として活発であることも判明した。また、ベトナム捕集蚊からは *Nam Dinh virus* (Nga *et al.*, 2012), *Banna virus* (Nabeshima *et al.*, 2008) が分離され、JEVのみならず、これらウイルスも東南アジアから日本に運ばれてくる危険性が指摘された。

(2) ヌカカ媒介性ウイルス感染症においては、アカバネウイルスによるウシの抗体陽転が九州・沖縄地方で毎年確認され (Kurogi *et al.*, 1987), 2002年には九州・関西地方でアインウイルス感染症が流行した (Yanase *et al.*, 2005)。また、これまで海外でのみ分布しているとみなされていたピートン、サシュペリ、シャモンダウイルス (Matsumori *et al.*, 2002; Yanase *et al.*, 2004, 2005) が1999年以降、九州・中国地方でも分離され、これらウイルスが熱帯・亜熱帯地域から我国に侵入したことが強く示唆された。

これらアルボウイルスの移動は、渡り鳥などウイルスの保有・増幅動物が移動してくる可能性や、媒介昆虫が偏西風・台風に伴い飛来してくる可能性などが指摘されていた。本

研究の調査地であるフィリピンおよびベトナムは、日本に飛来する渡り鳥や長距離移動性昆虫の発生源、あるいは移動経路上にある地点と考えられるが、フィリピンにおいては、保有動物および媒介昆虫類からのアルボウイルス分離に関する報告はほとんどされていなかった。また、本研究で用いた網羅的ウイルス探索法 (RDV: Rapid determination system of viral RNA sequences) は、コウモリ (Maeda *et al.*, 2007), ダチョウ (Sakai *et al.*, 2008) などからの新規ウイルスの分離・同定に貢献したが、媒介昆虫類への本格的な応用は本研究が初めての試みである。

(3) デング熱媒介蚊における殺虫剤抵抗性においては、フィリピンは全土的にデング熱が流行しており、東南アジア諸国の中でもデング熱の流行が最も深刻な国の一つである。これまでの研究で、主要なデング熱媒介蚊はネッタイシマカであると示唆されたが、それはマニラ市およびその周辺の都市部での結果であり、実態は不明である。デング熱対策として3か月毎にピレスロイド系殺虫剤が散布されているが、その後の媒介蚊発生状況および殺虫剤抵抗性のモニタリングはほとんど行われておらず、薬剤散布の効果は評価されていない。毎年デング熱が流行することを考えると、流行対策が効果的ではない可能性も指摘されている。また、近年、ヒトスジシマカが主要な媒介蚊となっているチクングニア熱の発生も報告されるようになり、これらヤブカ2種の分布を正確に把握することが急務である。

## 2. 研究の目的

東南アジア諸国に分布する主要な媒介昆虫である蚊とヌカカを材料とし、それらが媒介するヒトや家畜の未知病原ウイルスをRDV法により迅速に同定し、ウイルス学的諸性状を明らかにしようとするものである。本研究の調査地であるフィリピンおよびベトナムは、日本に飛来する渡り鳥や長距離移動性昆虫の発生源、あるいは移動経路上にある地点であることから選定した。この重要な2国に分布するアルボウイルスを網羅的に探索することによって、東南アジア地域におけるアルボウイルスの多様性の実態を把握しようと考えた。また、RDV法によるウイルスの迅速な同定と遺伝子解析システムの確立により、ヒトや家畜に感染・蔓延する未知のウイルス感染症が突如出現する事態に際して、危機管理の観点から事前対応型の防疫システムの構築に繋がることを期待される。

ベトナムにおいては、従来より蚊の捕集調

査とウイルス分離が精力的に行われており、アルボウイルスに関する情報は徐々に蓄積されてきている。このため、本研究では友好的に共同研究を進める中で、様々な手技・手法の基本的情報を共有し標準化することを主たる目的とした。フィリピンにおいては、アルボウイルスに関する研究はほとんど行われていないことから、蚊・ヌカカの分布調査のみならず、ウイルス分離法に関する技術提供も目標の一つである。また、全土的に問題となっているデング熱の防除に向けた殺虫剤抵抗性の発達状況調査を視野に入れた調査・研究も行うこととした。

### 3. 研究の方法

(1) ①蚊の捕集：フィリピン・ベトナムにおいて、成虫を CDC 型ドライアイストラップ、スウィーピング法、動物囿法、吸虫管等により捕集した。捕集蚊は、形態的特徴や遺伝子配列を基に種の同定を行い、種構成と分布状況を明らかにした。その後ウイルス分離用にプールを作成し、速やかに冷凍（-80℃）保存した。②ウイルス分離と検出：捕集蚊の種類を同定し、種別・捕集地別にウイルス分離用の乳剤を作成した。これらの乳剤を材料として蚊由来細胞 C6/36 を用いてウイルス分離を行った。2 回の盲継代の後、細胞病変 (CPE) が観察された培養上清を回収し、病原性因子の同定を試みた。培養上清より RNA を抽出し、既知のアルボウイルスを検出する RT-PCR およびその増幅産物の塩基配列の解析を行い、ウイルスの同定を試みた。③ウイルス粒子の精製と電子顕微鏡による観察：培養上清から PEG 沈殿法でウイルス粒子を回収し、ショ糖密度勾配法で遠心して精製したウイルス粒子を電子顕微鏡を用いて観察した。④遺伝子解析：精製粒子から RNA を抽出し、逆転写反応により cDNA ライブラリーを合成した。Nextera (イルミナ社) を用いてアンプリコンを作成し、Miseq により解析した。cDNA ライブラリーの遺伝子配列を CLC 遺伝子解析ソフトの De novo assembly 機能を用いて large contig を得た後、NCBI の Blast program で得られた配列の由来を調べた。

(2) ①ヌカカの捕集：九州・沖縄地域で牛の血液を採取し、アルボウイルス媒介ヌカカを定期的に捕集した。フィリピンにおいてトラップによるヌカカ捕集を実施し、捕集されたヌカカは形態学的手法により種を同定した。一部の個体は、ミトコンドリア遺伝子 (cox1 および cox2) の配列を決定し、日本および他

の東南アジア諸国で捕集された個体と比較した。②ウイルス分離と検出：牛の血液およびヌカカ乳剤はハムスター由来細胞 (HmLu-1 および BHK21)、もしくは Vero 細胞に接種し、CPE を示す材料を選抜した。培養上清からの病原性因子の同定は前述したと同様である。次いで、材料を接種した培養細胞の透過型電子顕微鏡観察を行い、ウイルス粒子の有無を確認した。CPE を示したが、RT-PCR 法による遺伝子の増幅が認められなかった材料の培養上清から RNA および DNA を抽出し、RDV 法によってウイルスの遺伝子断片の取得を試みた。

(3) ①蚊の捕集および種の同定：2010年フィリピンルソン島において、国道沿いに保管されている古タイヤを調査し、水溜りに発生するデング熱媒介蚊幼虫の有無を調べた。自動車修理工場もしくは住民の所有する敷地内に古タイヤが認められた場合は、柄杓、小魚用ネット、ピペット等を用いて幼虫を採集した。同時に水の溜まっている古タイヤの数、家屋の位置情報 (GPSによる) を記録した。採集可能な地点が多数存在する場合は10km 毎に調査を行った。採集された幼虫は、殺虫試験に使用する個体 (20頭/個所) を除き、99.5%エタノールに保存した。形態学的特徴を基に種を同定し、分布地図を作製した。②殺虫試験および遺伝子解析：殺虫試験用の幼虫は、0.1および0.4ppmのd-アレスリン水溶液にそれぞれ10頭入れ、半数の個体が死亡するのに要した時間から感受性スコアを算出した。殺虫試験に用いた幼虫は試験後すべて99.5%エタノールに保存し、個体ごとにDNA を抽出しPCRの後、ダイレクトシーケンスにより神経伝達ナトリウムチャンネルに存在するkdr遺伝子の有無を調査した。

### 4. 研究成果

(1) ベトナム捕集蚊 12,621 頭をウイルス分離に供し、JEV (図 1)、Nam Dinh virus, Culex flavivirus, Banna virus を分離し、新たに分離された未分類の *Mesonidoviridae* ウイルスを Dak Nong virus (DKNV) と命名した。現在、これら分離株の情報をもとにベトナム国内におけるウイルス分布マップを作製中である。RDV 法の技術的改良が進んだことにより、さらに複数の新規ウイルスが同定された可能性が示唆されたが、本研究終了までに、コガタアカイエカから分離されたエンベロープを有する球状ウイルスを、ニドウイルス目メソニドウイルス科に属する新規 RNA ウイルスであると同定し (図 2, 3),

Dak Nong virus (DKNV) と命名した。脊椎動物に対する感染性や病原性については不明であるが、今後詳細な調査が望まれる。

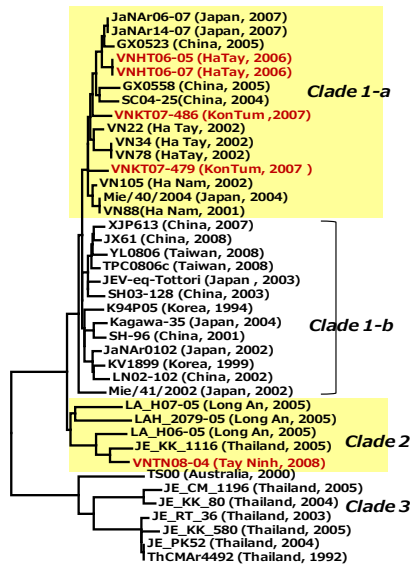


図 1. 遺伝子 I 型 JEV エンベロープ領域の塩基配列をもとに近隣結合法 (NJ 法) で作製した分子系統樹。赤字は本研究で分離された JEV.

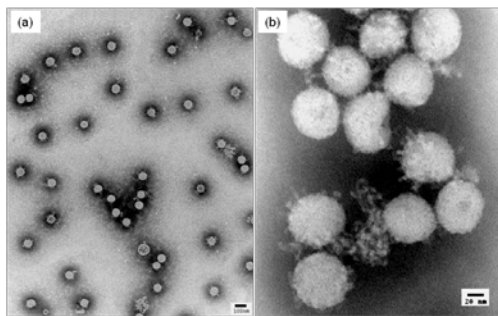


図 2. DKNV の精製ウイルス粒子の電子顕微鏡像。

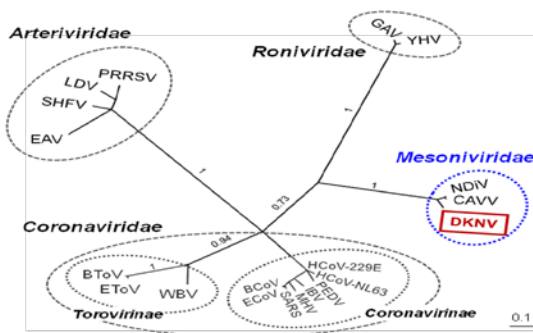


図 3. エンベロープ領域の塩基配列をもとに NJ 法で作製した分子系統樹。赤字は本研究で分離された DKNV.

フィリピン捕集蚊からは、C6/36 細胞に CPE を示す蚊プールが得られ、*Culex vishnui* から分離された株 (PL17) は、培養上清の電子顕微鏡による観察から、米粒状のウイルス様構造物が多数確認された (図 4)。精製物から核酸を抽出し、High-throughput 解析を行った結果、約 9kbp の large contig が得られ、Blast 解析で一本鎖(+)-RNA ウィ

ルス Negev virus (Vasilakis *et al.*, 2013) と高い相同性を示したことから、PL17 は Negev virus と同定された (図 5)。今後、本株の詳細な解析を行い、病原性や宿主範囲についても検証する。

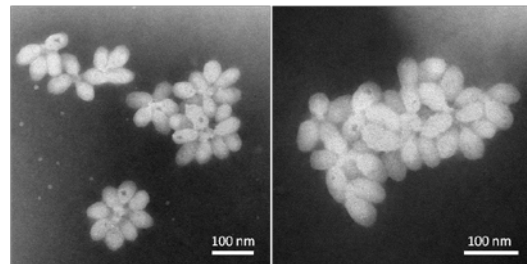


図 4. PL17 株の精製ウイルス粒子。

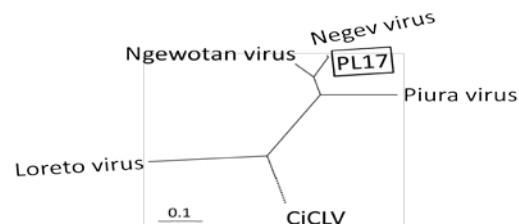


図 5. RdRp モチーフ配列をもとに NJ 法で作製した分子系統樹。(外群) CiCLV; citrus leprosis virus C. 赤字は本研究で分離された Negev virus PL17 株.

(2) 牛およびヌカカから分離されたブニャウイルス属オルソブニャウイルス科およびレオウイルス属オルビウイルス科ウイルスの塩基配列を決定し、それぞれのウイルスの系統関係を明らかにするとともに、PCR 法による検出法の検討を行った。

牛の血液から分離された KSB-1/P/03 株を感染させた培養細胞を透過型電子顕微鏡で観察し、ウイルス粒子を確認した (図 6)。

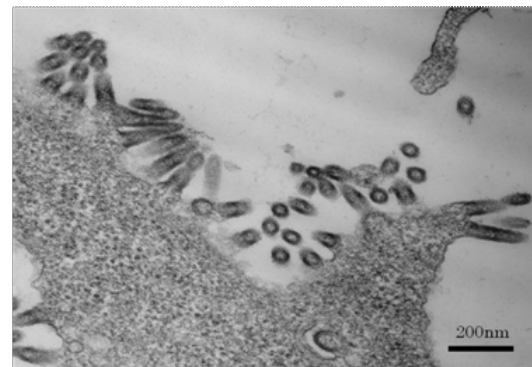


図 6. KSB-1/P/03 株感染細胞の電子顕微鏡像。

ウイルス遺伝子断片を RDV 法などによって取得し、それらの配列を決定した結果、本株がラドウイルス科エフェメロウイルス属の新規のウイルスであることが明らかになった。同様に牛の血液から分離された ON-6/P/05 株を感染させた培養細胞の透過型



電子顕微鏡で観察し、抽出した 2 本鎖 RNA ゲノムのアガロースゲル電気泳動像から、本株がレオウイルス科オルビウイルス属の新規のウイルスである可能性示唆された。また、フィリピン産ウシヌカカの一部が本邦産種と同じ遺伝型に含まれることがミトコンドリアの配列に基づく系統樹解析から明らかとなり、東南アジアがヌカカ媒介性ウイルスの供給源となっていることが示唆された。

(3) フィリピンルソン島での幼虫調査から、ネッタイシマカは島のほぼ全域に分布し、ヒトスジシマカは局地的に分布することが明らかになった。また、ネッタイシマカのピレスロイド系殺虫剤に対する感受性の低下は島の全域で認められ、抵抗性kdr遺伝子が高頻度に見つかった(図7)。しかし、殺虫試験で低感受性であってもkdr頻度が低い集団もあり、kdr遺伝子以外の要因が抵抗性発達に関わる可能性も示唆された。

ルソン島で主要なデング熱媒介蚊であると思われるネッタイシマカのピレスロイド系殺虫剤に対する感受性は一様に低下していたことから、各自治体で行っている殺虫剤散布を見直す必要があることを指摘した。また、チクングニア熱の発生が報告された地域のヒトスジシマカの密度は高く、本種の関与が疑われるため、詳細な調査が必要である。

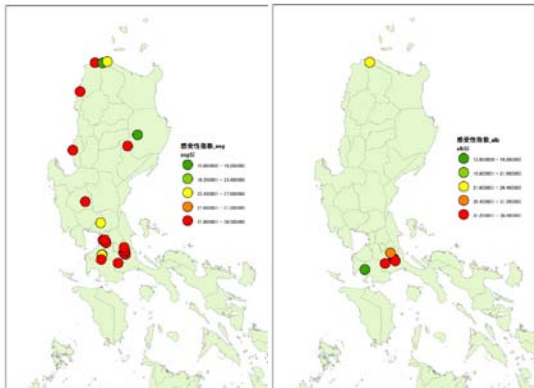


図 7. ピレスロイド系殺虫剤に対する感受性スコア。左：ネッタイシマカ、右：ヒトスジシマカ。スコアは赤(抵抗性)→緑(感受性)を示した

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 22 件)

- ① Kuwata R., Satoh T., Isawa H., Yen N.T., Phong T.V., Nga P.T., Kurashige T., Hiramatsu Y., Fukumitsu Y., Hoshino K., Sasaki T., Kobayashi M., Mizutani T., Sawabe K., Dak Nong virus, a novel insect nidovirus isolated from *Culex* mosquitoes in Vietnam, Arch. Virol., 査読有, 2013, 158: (in press). (10.1007/s007
- 05-013-1741-4)
- ② Sakai K, Nagata N, Ami Y, Seki F, Suzaki Y, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Fukushi S, Mizutani T., Yoshikawa T, Otsuki N, Kurane I, Komase K, Yamaguchi R, Hasegawa H, Saijo M, Takeda M, Morikawa S. Lethal canine distemper virus outbreak in cynomolgus monkeys in Japan in 2008. J. Virol., 査読有, 2013, 87: 1105-1114. (10.1128/JVI.02419-12)
- ③ Kuwata R. Nga P.T., Yen N.T., Hoshino K., Isawa H., Higa Y., Hoang N.V., Trang B.M., Loan D.P., Phong T.V., Sasaki T., Tsuda Y., Kobayashi M., Sawabe K., Takagi M. Surveillance of Japanese encephalitis virus infection in mosquitoes in Vietnam from 2006 to 2008. Am. J. Trop. Med. Hyg., 査読有, 2013, 88: 681-688. (10.4269/ajtmh.12-0407)
- ④ Isawa H., Kuwata R., Tajima S., Hoshino K., Sasaki T., Takasaki T., Kobayashi M., Sawabe K. Construction of an infectious cDNA clone of *Culex* flavivirus, an insect-specific flavivirus from *Culex* mosquitoes. Arch. Virol., 査読有, 2012, 157: 975-979. (10.1007/s00705-012-1240-z)
- ⑤ Yanase T., Kato T., Aizawa M., Shuto Y., Shirafuji H., Yamakawa M., Tsuda T. Genetic reassortment between Sathuperi and Shamonda viruses of the genus Orthobunyavirus in nature: implications for their genetic relationship to Schmallenberg virus. Arch. Virol., 査読有, 2012, 157: 1611-1616. (10.1007/s007-5-012-1341-8)
- ⑥ Higa Y. Dengue vectors and their spatial distributions (Review). Trop. Med. Health, 査読有, 2011, 39: 17-27. (10.2149/tmh.2011-S04)
- ⑦ Isawa H., Kuwata R., Hoshino K., Tsuda Y., Sakai K., Watanabe S., Nishimura M., Satho T., Kataoka M., Nagata N., Hasegawa H., Bando H., Yano K., Sasaki T., Kobayashi M., Mizutani T., Sawabe K. Identification and molecular characterization of a new nonsegmented double-stranded RNA virus isolated from *Culex* mosquitoes in Japan. Virus Res., 査読有, 2011, 155: 147-155. (10.1016/j.virusres.2010.09.013)
- ⑧ Kuwata R., Isawa H., Hoshino K., Tsuda Y., Yanase T., Sasaki T., Kobayashi M.,

Sawabe K. RNA splicing in a new rhabdovirus from *Culex* mosquito. J. Virol., 査読有, 2011, 85: 6185-6196. (10.1128/JVI.00040-11)

[学会発表] (計 18 件)

- ① 加藤友子, 掘脇浩孝, 白藤浩明, 山川睦, 津田知幸, 梁瀬徹. 鹿児島県におけるおとり牛およびヌカカからのアルボウイルスの分離状況, 第 155 回日本獣医学会, 2013 年 3 月 29 日~30 日, 東京.
- ② Kuwata, R., Isawa, H., Hoshino, K., Tsuda, Y., Yanase, T., Sasaki, T., Kobayashi, M., Sawabe, K. A new insect rhabdovirus from *Culex tritaeniorhynchus* mosquitoes utilize host's nuclear splicing machinery. International Congress on Invertebrate Pathology and Microbial Control (SIP), 2012 年 8 月 4 日~10 日, プエノスアイレス市, アルゼンチン.
- ③ 比嘉由紀子, Bertuso, A.G., 徳久晃弘, 永田典子, 沢辺京子. フィリピン・ルソン島における古タイヤから発生するデング熱媒介蚊の分布調査, 第 64 回日本衛生動物学会, 2012 年 3 月 29 日~31 日, 上田市.
- ④ 梁瀬徹, 加藤友子, 白藤浩明, 山川睦, 田中省吾. アカバネウイルスに対する日本産 *Culicoides* 属ヌカカの感受性, 第 64 回日本衛生動物学会, 2012 年 3 月 29 日~31 日, 上田市.
- ⑤ 伊澤晴彦. 昆虫特異的フラビウイルスの多様性と宿主蚊との関係, 第 18 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会, 2011 年 11 月 11 日, 東京.
- ⑥ Bertuso, A.G., 比嘉由紀子, 沢辺京子, 小林睦生. Distribution and abundance of *Aedes aegypti* (Linnaeus) and *Aedes albopictus* (Skuse) in selected dengue endemic areas in the Philippines, 第 63 回日本衛生動物学会, 2011 年 4 月 14 日~16 日, 東京.
- ⑦ 山川睦. 国内で発生が懸念される新興ウイルス感染症-アルボウイルス感染症-, 第 5 回日本家畜臨床感染症研究会緊急シンポジウム, 2010 年 12 月 10 日, 東京.
- ⑧ 沢辺京子, 楢田龍星, 星野啓太, 伊澤晴彦, 佐々木年則, 比嘉由紀子, 津田良夫, Yen, N.T., Nga, P.T., 高木正洋, 小林睦生. 2006-2008 年ベトナムにおける日本脳炎ウイルスおよび媒介蚊調査, 第 62 回日本衛生動物学会, 2010 年 4 月 2 日~4 日, 鹿児島市.

[図書] (計 3 件)

- ① 水谷哲也, 未知・既知のウイルスの網羅的検査法, 医薬品の品質管理とウイルス安全性, 文光社, 2011, 318.
- ② 水谷哲也, レオウイルス, 広範囲血液・尿化学検査, 免疫学的検査(3)-その数値をどう読むか-(第 7 版), 日本臨床, 2010, 4.
- ③ 水谷哲也, 原因不明疾患における感染因子の網羅的解析-川崎病との関わり-, Progress in medicine, ライフサイエンス社, 2010, 4.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

沢辺 京子 (SAWABE KYOKO)  
国立感染症研究所・昆虫医科学部・部長  
研究者番号: 10215923

### (2) 研究分担者

佐々木 年則 (SASAKI TOSHINORI)  
国立感染症研究所・昆虫医科学部・主任研究官  
研究者番号: 10300930  
伊澤 晴彦 (ISAWA HARUHIKO)  
国立感染症研究所・昆虫医科学部・室長  
研究者番号: 90370965  
水谷 哲也 (MIZUTANI TETSUYA)  
東京農工大学・農学部・教授  
研究者番号: 70281681  
山川 睦 (YAMAKAWA MAKOTO)  
独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・動物衛生研究所・上席研究官  
研究者番号: 40355186  
(2012 年度に研究分担者を梁瀬徹と交代)  
梁瀬 徹 (YANASE TOHRU)  
独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・動物衛生研究所・研究員  
(2012 年度に山川睦と交代)  
比嘉 由紀子 (HIGA YUKIKO)  
長崎大学・熱帯医学研究所・助教  
研究者番号: 40404561

### (3) 連携研究者

梁瀬 徹 (YANASE TOHRU)  
独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・動物衛生研究所・研究員  
(2012 年度に研究分担者を山川睦と交代)  
研究者番号: 90355214  
白藤 浩明 (SHIRAFUJI HIROAKI)  
独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・動物衛生研究所・研究員  
研究者番号: 40414726