

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月21日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2014～2018

課題番号：26304040

研究課題名(和文) バングラデシュ農村における流産原因となる人畜共通感染症の挙動

研究課題名(英文) Zoonotic diseases causing abortion in Bangladesh

研究代表者

高島 康弘 (Takashima, Yasuhiro)

岐阜大学・応用生物科学部・准教授

研究者番号：2033352

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)：バングラデシュにおけるトキソプラズマをはじめとする人畜共通感染症の家畜における分布状況が明らかになるとともに、それらの病原体がどのような経路で農村に侵入あるいは伝播・維持されているのか把握できた。たとえばトキソプラズマは小型反芻家畜に高頻度に感染しており、母獣から胎児への垂直感染よりも、出生後の水平感染により農村内に広がっていることが分かった。その他の病原体についても、発生頻度の季節性や地域ごとの発生時期の特徴など詳細な情報が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

人畜共通感染症をはじめとする多くの病原体について、農村における循環経路が把握できたことは大きな意義がある。これらの知見を元に、家畜感染症の予防対策や家畜から人への人畜共通感染症の予防対策を立案することができる。この意味で本研究が地域の公衆衛生に資する部分は非常に大きい。またトキソプラズマの垂直感染が反芻家畜において必ずしも高くないことを示した知見は、本原虫の垂直メカニズムや胎児毒性のメカニズムを明らかにするうえで重要な知識基盤となる。

研究成果の概要(英文)：In this study, prevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic animals in Bangladesh was revealed. In addition, it was also revealed that *T. gondii* mainly disseminate by horizontal infection among ruminant animals, rather than vertical transmission. The seasonal pattern, geographical pattern of case of infectious diseases among domestic animals were also described.

研究分野：獣医学

キーワード：流産 バングラデシュ トキソプラズマ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

家畜の感染性流産は畜産業に多大な経済的被害をもたらすのみならず、時として人にも感染して流産・異常産の原因となる。このため発展途上国の家畜における感染性流産をコントロールすることは、畜産生産のみならず地域住民の母子保健上もきわめて重要な課題である。 Bangladesh は 1996 年より毎年 5%以上の経済成長を遂げ、目覚ましい経済発展を遂げつつある (IMF、JETR 統計資料)。これに伴いヒトの乳幼児の死亡率が大幅に減じるなど、人の衛生状態は大きく改善されつつある (UNICEF 統計資料)。ところが申請者の高島らが 2010 年に調査したところ、 Bangladesh の食肉家畜における病原体保有率は 20 年前からほとんど改善されていないことが示唆された [J.Vet. Med. Sci. 73(10):1375-1376]。これはヒトの感染症に比べて家畜感染症の対応が後回しになっていることを示している。衛生状態改善の過程においてヒト-ヒト間で強い感染力を持つ病原体の対策が優先されるのは当然のことである。しかしこのような伝染病がある程度コントロールできるようになった現在、次なる課題として家畜の感染症を制御して畜産生産を向上させること、家畜・食肉に由来する人獣共通感染症によるヒトの健康被害を防ぐことが求められる。

2. 研究の目的

家畜の流産の原因として産業上重要であり、かつ動物・畜産物から感染して人に流産を起こす病原体を調査対象とする。このような病原体は多数存在するが、限られた調査期間中に一定の成果を得るため、産業上・医学上の重要性を鑑みてトキソプラズマを中心に数種類の病原体に限って集中的に調査する。 Bangladesh で食肉として利用される主な家畜のうち、ウシ・ヒツジ・ヤギは互いに入り混じった状態で放し飼いにされており、牧草地だけでなく民家周辺や市街地をも自由に行動している。したがってこれらの動物種と地域住民の接触機会は多く、人と動物の間で病原体が行き来している可能性が高い。またこれら食肉として消費されるため、食品衛生上もこれらの家畜の病原体保有の様子を知ることは重要である。ところが Bangladesh の家畜における人獣共通感染症病原体の保有状況はほとんど知られていない。そこで本研究ではウシ・ヒツジおよびヤギについて病原体病の保有率をまず明らかにする。また、農村で飼育される家畜群において病原体が家畜群の中でどのように維持されているのか明らかにするため、家畜への病原体感染ルートを解明する。すなわち出生後に家畜個体間で病原体が行き来しているのか(水平感染)あるいは無症状のまま潜伏感染した母獣から胎児への垂直感染が頻発することにより家畜の世代を超えて環境中に病原体が維持されるのか(垂直感染)さらにはげっ歯類等の家畜の近くに常在する野生動物を介した病原体の循環がおこっているのかを検証する。さらに食肉に由来する病原体が地域住民へ感染する経路を推定するため、食肉中に存在する病原体の状況を把握する。

3. 研究の方法

(1) PCR 等による病原体遺伝子の検出、血清学的検査による特異抗体の検出

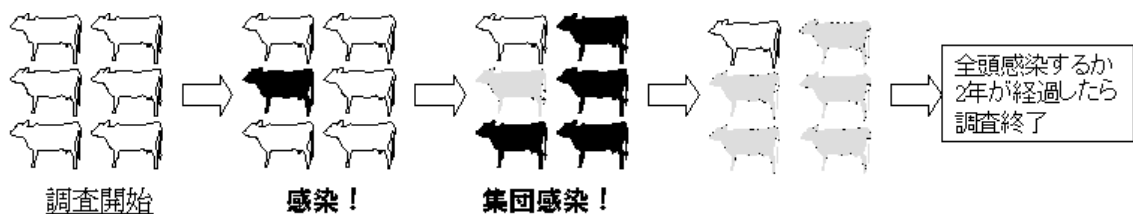
Bangladesh の農村で粗放的に飼育されているウシ・ヒツジ・ヤギの血液および糞を採材する。各動物種・調査地ごとに 200 検体(のべ 1200 検体)を目安に採取。家畜由来サンプルについては月齢が偏らないように幼獣から成獣まで戦略的に採材することに留意する。得られた検体を血清学的検査、PCR に供し、トキソプラズマおよびその他の病原体を検出する。

(2) 家畜間での病原体伝播・維持様式

(1) の調査で得られた結果を家畜の月齢別に解析し、4ヶ月齢以下・5-8ヶ月齢・9-12ヶ月齢・12-24ヶ月齢・25ヶ月齢以上の5群について病原体保有率を比較する。これにより月齢とともに病原体保有率が上昇する地域・病原体と(すなわち出生後の新規感染が頻繁に起こっている)月齢に関わらず感染率が一定の病原体・地域(すなわち垂直感染あるいは出生直後の感染がほとんど)を明らかにする。なおバングラデシュ東部地域のトキソプラズマ感染状況については一部査を実施済みで、ウシとヤギで月齢の増加に伴い感染率が増加すること(出生後の新規感染による水平伝播が頻繁に起こっている)ヒツジではこのような傾向が見られないことを確かめている。バングラデシュにおいては家畜の個体管理が必ずしも厳重になされておらず、家畜の月齢が正確に把握できない可能性がある。この場合は歯列などをもとに月齢を推測する。トキソプラズマに関して行った予備的調査の経験から、家畜の月齢を把握しながらサンプリングするために、当地に多い小規模畜産従事者(数頭を家族で飼育)とどのような人間関係を築けばよいか熟知している。このため大きな問題が生じる可能性は低い。

(3) 前向きコホート調査による家畜の新規感染様態の解明

上記の月齢別調査で出生後の新規感染が主たる感染ルートであると分かった病原体、家畜種、地域については感染の時期や様子(一斉に多数の個体が感染するのか、少数ずつ徐々に感染してゆくのかなど)を明らかにするために、前向きコホート調査を複数年かけて実施する。すなわち未感染の個体を出生時から感染が成立するまで毎月採血し新たな感染がいつ起こるか追跡する[下図参照]。H26年度中にコホート調査の候補地と調査対象個体を確定してサンプリングを開始するところまで作業を進める。ただしヤギのトキソプラズマについては東部地域ですでに前向きコホート調査を開始しており、この作業はH26年度初頭から継続する。



(4) 臨床獣医師の診療記録の分析

バングラデシュ北西部に位置するラジシャヒ管区内 (Rajshahi Division) の3つの県 (District) を調査地とした。バングラデシュにおいては県の下に郡 (Upazilla) が置かれており、郡ごとに国の出先機関である Upazilla Livestock Office (ULO) が設置されている。ULO 職員で獣医師免許を持つ Veterinary Surgeon (VS) が家畜病院 (Upazilla Government Livestock Services, UGLS) を運営している。本研究では各県2郡、計6郡のUGSLにおいて2013年1月から2015年12月の診療記録を閲覧し子牛の出産数と6か月齢以下の牛の死亡数および診療記録に記載された死亡原因を集計した。これに加え、6か月齢以上の牛に発症の多い気腫疽について、6-12か月齢の個体を対象に気腫疽と診断されて死亡した症例数を集計した。これらの診療記録は獣医師によって記載されており、獣医師でないものも一部でも記載することは許されていない。

4. 研究成果

(1) バングラデシュにおけるトキソプラズマの分布状況

バングラデシュ西部における反芻動物のトキソプラズマ感染状況についていくつかの発見があった。第一の成果は当地の小型反芻獣に高確率で感染していることが明らかになった点である。第二の成果としてウシにおいても比較的感染率が高いが小型反芻獣ほどではないことが分かった。さらにバングラデシュの市場で購入した畜産物（現地では一般的に食されるヤギの脳）から高率にトキソプラズマの遺伝子が検出された。当地では畜産物は十分過熱されて食されるのが一般的であるが、生肉の調理時に感染のリスクがあると考えられる。とくに10代後半から30代の女性は家庭において台所仕事の主たるにない手であり、トキソプラズマ感染による流産のリスクが懸念される。生肉を扱った後の十分な手洗いなど、啓もうが必要であると考えられた。

(2) 家畜間での病原体伝播・維持様式

H26年度のもっとも特筆すべき成果として、小型反芻獣においてトキソプラズマ感染の垂直伝播がほとんど起こっていないことをフィールドで示すことができた。これは、トキソプラズマに潜伏感染した雌ヤギから生まれた仔ヤギから（初乳接種前を含めて）経時的に採血し、抗トキソプラズマ抗体価の推移を調べた研究による。調査したすべての個体で出生直後の抗体価は検出限界以下で、初乳接種後に抗体価が上昇した。さらに初乳接種によって上昇した抗体価は3か月程度で低下している。反芻動物が胎仔期に感染した場合、出生後に抗体価が上昇することが知られている。したがった本研究でみられた一過性の抗体価上昇は初乳接種による移行抗体による一過性のものであると判断できる。母親が感染していても、仔ヤギは胎仔期に感染することは非常に稀であることがわかった。また生後2年までに水平感染によってトキソプラズマに感染していることが示唆された。副次的な成果として、トキソプラズマに近縁の原虫であるネオスポラが当地のヤギにも感染していることを示唆するデータを得た。しかし感染率は非常に低く、現時点で適切な予防措置を取れば、当地の小型反芻家畜をネオスポラ症による経済被害から守ることができると考えられる。

(3) トキソプラズマ以外の病原体について

複数種類の家畜の病原体について、飼育携帯の違いが伝播状況にどのように影響しているか分析した。ラジシャヒ市など地方の中心都市周辺では、家畜は小規模な農家の庭で飼育されており放牧の形態を取っていない。このような地域にあっては、家畜の年齢が上昇するに連れて緩やかに感染率が上昇していく病原体が多かった。いっぽう郊外では10頭以上の家畜を飼育する家庭が多く、農家の敷地内だけでなく村落内の草地で放牧する飼育形態がみられた。このような地域では生後数ヶ月から1年以内で多数の家畜に感染が成立しており、それ以降は年齢の上昇に伴う顕著な感染率の上昇は見られなかった。郊外の放牧地が高度に病原体に汚染されており、放牧により短期間のうちに感染が一気に成立している可能性が高い。またいくつかの感染症について発症に季節性がみとめられる地域があった。とりわけ乾燥したシーズンに発症が多く見られている。現時点では、この時期に流行があるのか、以前から無症状のまま感染していたものがこの時期に発症にいたるのかは不明である。しかしながら発症に季節性がある地

域では、発症数が増加する時期に家畜の栄養状態が悪化している傾向が見られた。

(4) 獣医師の診療記録から分かったこと

子牛の出生数と死亡数郡ごとに子牛の出生数にばらつきはあるが、いずれの地域においても出生数の約 10% に当たる数の子牛が 6 か月齢までに死亡していることが分かった。子牛の出生数に顕著な季節特異性は見られず、どの季節にもほぼ同じ数の子牛が出生していた。子牛の死亡数については一部知己で冬季にやや多い傾向がみられたが、複数の地域(郡)に共通して認められる季節特異性はなかった。いずれの郡においても口蹄疫(FMD)による死亡と診断された症例が最も多い。同国における牛の診療において、分子生物学的な手法で口蹄疫ウイルスの存在が確認されることは少ない。本研究で閲覧した診療記録においても、検体を中央政府が管轄する検査機関に送って分子生物学的に確定診断を実施した症例はごく一部で、発熱や口腔・蹄における水疱といった臨床症状から診断を下していた症例が多かった。したがって牛ウイルス性下痢・粘膜病、牛丘疹性口炎など類似症状を示す他の疾患が含まれている可能性は完全には否定できないものの、この地域において口蹄疫の被害が非常に大きいことが強く示唆された。いずれの郡でも冬季の死亡数が多かった。また地域・季節によらず肺炎(PNM)と下痢・赤痢(DR/DS)による死亡数が多い。栄養失調(MLN)や寄生虫疾患(PRS)による死亡も比較的多かった。栄養失調による死亡については、Paba 群および Singra 群でのみ季節ごとの発生数に有意差があった。他の地域では有意な季節特異性は認められず、子牛の栄養失調は 1 年を通じて起こっているものと思われる。その他、深刻な人獣共通感染症である狂犬病(RB)による死亡例も認められた。熱中症(HYP)による死亡は気温の高い夏季および雨季に集中していた。気腫疽による死亡数いずれの郡でも 6-12 か月齢の牛が気腫疽で死亡している事例があった。日本では春から秋にかけて発生しやすいとされるが、調査地域においては Baghmara 群 および Singra 群でのみ有意な季節ごとの発生数に有意差が見られた。しかし前者では夏季および雨季に死亡数が多く、後者では逆に冬季に死亡数が多かった。地域(郡)間で共通した傾向はみられず、バングラデシュにおいては一年を通じて気腫疽の発生があるものと考えられる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 4 件)

Md. Alauddin, Md. Wajed Ali, Md. Jamal Uddin, Lovely Nahar, Moizur Rahman, 高須正規, 高島康弘. 2018. バングラデシュ人民共和国、ラジシャヒ管区における子牛の死亡原因. 農学国際協力 16 14-19. (査読有)

Wajed Md. A., Alauddin, Md. Anam Azad Md. T., Md. Ariful Hasan, Md. Appiah-Kwarteng, C., Takasu. M., Baba, M., Kitoh, K., Rahman, M., Takashima Y. 2016. Theileria annulata seroprevalence among different cattle breeds in Rajshahi Division, Bangladesh. J. Vet. Med. Sci. 78(10):1577-1582. (査読有)

Rahman M., Alauddin Md., Hossain Mozafor KM., Hemayetul Islam Md., Kitoh K., Nagamune K., Takashima Y. 2015. Prevalence and dynamics of antibodies against *Toxoplasma gondii* in kids born from naturally infected goats. Parasitol. Int. 64(5):389-391. (査読有)

Rahman M., Anam Azad Md. T., Nahar L., Rouf. S. Md. A., Ohya K., Chiou S-P., Baba M., Kitoh K., Takashima Y. 2014. Age-specificity of *Toxoplasma gondii* seroprevalence in sheep, goats and cattle on subsistence farms in Bangladesh. J. Vet. Med. Sci. 76(9): 1257-1259. (査読有)

〔学会発表〕(計 1 件)

高島康弘、川原史也、永宗喜三郎、戸田なつき、鬼頭克也 実験感染ニワトリにおける抗トキソプラズマ抗体の産生状況 第85回日本寄生虫学会大会 2016年03月19日～2016年03月20日 宮崎市

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：前川 洋一

ローマ字氏名：Yoichi Maekawa

所属研究機関名：岐阜大学

部局名：大学院医学系研究科

職名：教授

研究者番号(8桁)：10294970

研究分担者氏名：大屋 賢司

ローマ字氏名：Kenji Ohya

所属研究機関名：岐阜大学

部局名：応用生物科学部

職名：准教授

研究者番号(8桁)：50402219

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。