

博士学位論文

学位論文内容の要旨および審査結果の要旨

氏 名 水主川 剛賢

学位の種類 博士（獣医学）

学位授与の条件 酪農学園大学学位規程第3条第3項に該当

学位論文の題目 Epidemiological surveys of the avian influenza virus infection in wild birds and countermeasures for the infection to Japanese zoological collections
(野鳥における鳥インフルエンザウイルス感染症の疫学調査と動物園飼育鳥類における感染対策)

審査委員

主査 教授 浅川 満彦（獣医寄生虫学）

副査 教授 桐澤 力雄（獣医ウイルス学）

副査 教授 樋口 豪紀（獣医衛生学）

副査 特任教授 大沼 学（国立環境研究所）

学位論文要旨

Epidemiological surveys of the avian influenza virus infection in wild birds and countermeasures for the infection to Japanese zoological collections

(野鳥における鳥インフルエンザウイルス感染症の疫学調査と
動物園飼育鳥類における感染対策)

酪農学園大学大学院獣医学研究科

獣医学専攻博士課程

獣医寄生虫学 水主川剛賢

本研究では野鳥および日本を含む世界でのフリーレンジングや飼育種における鳥インフルエンザの疫学的調査およびデータ収集を実施し、動物園における飼育鳥の疫学的リスクに対する有効的な対策を示している。

まず、第一の研究での目的は日本への季節的な鳥インフルエンザウイルス(AIV)パターンを観察し、どの渡り鳥が AIV 伝播に重要な役割を担っているか決めることである。2008 年 10 月から 2015 年 3 月までの間に全国 52 箇所計 19,407 の糞便サンプルを収集した。そのサンプルから採取された核酸より RT-LAMP 法を用いてウイルス RNA を検出した。陽性サンプルは計 352 件(陽性率 1.8%)であった。最も高い陽性率は秋の渡り時期に観察され、日本の中部から南部において全体の陽性率より高い陽性率を示していた。したがって、主な AIV 伝播経路は日本海の縦断あるいは朝鮮半島を通過してくる経路が考えられる。また計 352 の陽性サンプルの内 221 サンプルで鳥種の同定に成功した。2 つの主な種のシーケンスは同定され、マガモ/カルガモグループ(61 サンプル、27.6%)とオナガガモ(115 サンプル、52.0%)のものであった。より詳しく日本における AIV の生態および高病原性鳥インフルエンザウイルスの伝播パターンを把握するためには、種ごとの AIV 陽性率、孵化年の渡り鳥の陽性率、渡りのパターンおよび卵接種と分子法を用いた糞便サンプルのウイルス亜型同定の情報が求められる(CHAPTER1)。

東アジア / オーストラリアの渡りルートでのシギ・チドリ類における AIV の疫学的情報は少ない。したがって、2006 年から 2010 年の間、AIV の伝播生態を把握するために飛来地である北海道に飛来するシギ・チドリ類の AIV の陽性率について調査した。27 種・計 1,749

羽のシギ・チドリ類を異なる2箇所がかすみ網を用いて捕まえ放鳥した。喉頭およびクロアカスワブは綿スワブを用いて採取した。インフルエンザAウイルスのRNAはRT-LAMP法を用いて検出した。2010年9月にコムケ湖で捕獲されたメダイチドリ(*Charadrius mongolus*)から唯一のAIV陽性サンプルが検出された。そのAIV陽性サンプルからHA、NA、PA、NP、MPおよびNS遺伝子全ての増幅に成功した。全てのシーケンスはカモ目のウイルス株から得られたシーケンスと最も高く一致していた。シギ・チドリ類はカモ類よりも1ヶ月早く日本へ渡ってくる。したがって、このメダイチドリは繁殖地にいるカモ類のウイルスに感染した可能性がある。HAシーケンスはH10シーケンスと最も高く一致しており、NAシーケンスはN7シーケンスと最も高く一致していた。系統学的解析ではユーラシア系統に属し、2009年にアジアで広く拡散された株に関連したH10N7亜型と示された(CHAPTER2)。

重要な渡りルートである東アジア渡りルートに日本は位置している。このルートでの感染症の発生は鳥類の生息数に影響を与え、飼育鳥にも悪影響を与えかねない。そこで日本におけるフリーレンジングおよび飼育鳥種における鳥インフルエンザの状況の概要を示した。また放し飼いのカモの数や個体管理や全国的なAIVの監視を元に動物園や水族館での鳥インフルエンザの発生の予防および管理についての有効的な対策を提案した。さらに、日本の動物園動物におけるワクチン接種プログラムも提案した(CHAPTER3)。

論文審査の要旨および結果

1 論文審査の要旨および結果

審査は、1)体裁を整え、新規性があり、明確に十分な根拠があるか、2)科学および獣医学の発展に寄与する内容であるかの2点を重点に行われた。

論文の概要について

本論文は3つの章で構成され、野鳥および日本を含む世界でのフリーレンジングや飼育種における鳥インフルエンザの疫学的調査およびデータ収集を実施し、動物園における飼育鳥の疫学的リスクに対する有効的な対策を示した。

まず、第一の研究での目的は日本への季節的な鳥インフルエンザウイルス(AIV)の検出パターンを観察し、いつ、どこに飛来する、どの種の渡り鳥がAIV伝播に重要な役割を担っているかを確認することであった。2008年10月から2015年3月までの間に全国52箇所ですべて計19407の糞便サンプルを収集した。そのサンプルから採取された核酸よりRT-LAMP法を用いてウイルスRNAを検出した。陽性サンプルは計352件(陽性率1.8%)であった。最も高い陽性率は秋の渡り時期に観察され、日本の中部から南部において全体の陽性率より高い陽性率を示していた。したがって、主なAIV伝播経路は日本海の縦断あるいは朝鮮半島を通過してくる経路が考えられる。また計352の陽性サンプルの内221サンプルで鳥種の同定に成功した。2つの主な種のシーケンスは同定され、マガモ/カルガモグループ(115サンプル、52.0%)とオナガガモ(61サンプル、27.6%)のものであった。日本におけるAIVの生態および高病原性AIVの伝播パターンをより詳細に把握するためには、鳥種ごとのAIV陽性率、孵化年の渡り鳥の陽性率、渡りのパターンおよび卵接種と分子法を用いた糞便サンプルのウイルス亜型同定の情報が必要であったが、AIVの日本侵入の時期、ルートおよび鳥種の概要が把握され、防疫面での有効な情報となった(第1章)。

日本にはカモ類同様、シギ・チドリ類も多数飛来する。しかし、東アジア/オーストラリアの渡りルートでのシギ・チドリ類におけるAIVの疫学的情報は少ない。そこで、2006年から2010年の間、AIVの伝播生態を把握するために飛来地である北海道に飛来するシギ・チドリ類のAIVの陽性率について調査した。27種計1749羽のシギ・チドリ類を異なる2箇所ですみ網を用いて捕獲し、材料を採取後、放鳥した。材料は喉頭およびクロアカスワブで、無菌綿棒を用いて採取し、インフルエンザAウイルスのRNAはRT-LAMP法を用いて検出した。その結果、2010年9月にコムケ湖で捕獲された1個体のメダイチドリ(*Charadrius mongolus*)から唯一のAIV陽性サンプルが検出された。そのAIV陽性サンプルからHA、NA、PA、NP、MPおよびNS遺伝子全ての増幅に成功したので、全てについてシーケンスを行った。その結果、既にカモ目のウイルス株から得られたAIVのシーケンス情報と最も高く一致した。また、HAシーケンスはH10シーケンスと最も高く一致しており、NAシーケンスはN7シーケンスと最も高く一致していた。得られたサンプルは系統学的解析でユーラシア系統に属し、2009年にアジアで広く拡散された株に関連した

H10N7 亜型と示された。シギ・チドリ類はカモ類よりも約 1 ヶ月早く日本へ渡ってくる。したがって、このメダイチドリは繁殖地にいる間に、同所的に生息していたカモ類から AIV の感染を受け、日本に飛来した可能性がある。いずれにせよ、AIV の防疫上、カモ類に比べ、シギ・チドリ類はその対象にする必要性は低いことが明らかになった (第 2 章)。

重要な渡りルートである東アジア渡りルートに日本は位置している。このルートでの感染症の発生は鳥類の生息数に影響を与え、飼育鳥にも悪影響を与えかねない。そこで日本におけるフリーレンジングおよび飼育鳥種における鳥インフルエンザ発生状況の概要を示した。また、放し飼いのカモ類の個体数、その個体管理、国外での先行事例、全国的な AIV の監視情報 (第 1 および 2 章) などをもとに、日本国内の動物園や水族館での鳥インフルエンザの発生予防およびその制御についての有効的な対策を省察、提案した。さらに、欧米では先行している方法を参照に、日本の動物園動物におけるワクチン接種プログラムも提案した(第 3 章)。

学位論文の一部を公表した論文

- 1) **Kakogawa M**, Onuma M, Kirisawa R, and Asakawa M. 2019. Countermeasures for avian influenza outbreaks among captive avian collections at zoological gardens and aquariums in Japan. *J.Microbiol. Exp.* 7 (3): 167-171.
- 2) **Kakogawa M**, Onuma M, Saito K, Watanabe Y, Goka K, and Asakawa M. 2019. Epidemiological survey of avian influenza virus infection in shorebirds captured in Hokkaido, Japan. *J.Wildl. Dis.* : in press.(2019 年 9 月 1 日、アクセプト・メール参照)
- 3) Onuma M, **Kakogawa M**, Yanagisawa M, Haga A, Okano T, Neagari Y, Okano T, Goka K, and Asakawa M. 2017. Characterizing the temporal patterns of avian influenza virus introduction into Japan by migratory birds. *J.Vet. Med. Sci.* 79 (5): 943-951. (第 1 および第 2 著者の共同筆頭のため、添付文書参照)

本主論文は適切な体裁を有し、かつ、これまで未知であった鳥インフルエンザウイルスの日本における動態が明らかにされた (新規性)。また、この結果と公表論文の情報を基に、これまでほぼ無策であった日本の動物園における飼育鳥の疫学的リスクに対する有効的な対策を提示出来た。今後は、この論文を参考に有効な防疫手段が構築されるものと期待された。

以上から、水主川 剛賢 氏は博士 (獣医学) の学位を授与されるに十分な資格を有すると審査員一同は認めた。

2 最終試験の結果

審査委員 4 名が最終試験を行った結果、合格と認める。

2020年 2月12日

審査委員

主査 教授 浅川 満彦

副査 教授 桐澤 力雄

副査 教授 樋口 豪紀

副査 特任教授 大沼 学