

地球規模課題対応国際科学技術協力

(感染症研究分野「開発途上国のニーズを踏まえた感染症対策研究」領域)

モンゴルにおける家畜原虫病の疫学調査と社会実装可能な診断法の

開発

(モンゴル)

平成 25 年度実施報告書

代表者：井上 昇

帯広畜産大学 原虫病研究センター 感染免疫研究部門・教授

<平成 25 年度採択>

1. プロジェクト全体の実施の概要

本プロジェクトでは研究期間(5年間)を通じて地球規模で家畜の健康被害をもたらしている原虫病、特にトリパノソーマ病、ピロプラズマ病および媒介マダニについて、モンゴル全国規模での大規模疫学調査を実施し、現在流行している原虫野生株の樹立とマダニの種同定ならびに流行・発生時期の動向調査を実施する。得られた詳細な疫学情報をもとにプロジェクト3年目と5年目には原虫病と媒介マダニの流行分布地図を作成し、地域ごとの原虫病分布動向を明らかにするとともに、重点的に対策すべき高度流行地域とそこに分布する原虫種およびマダニ種を明らかにする。さらに、疫学調査と同時進行で感染家畜由来血液材料から原虫野生株を樹立し、プロジェクトの1年後半から4年目前半にかけて主要抗原および遺伝子解析を実施してモンゴル国内で流行している原虫種に最適な診断用抗原と診断標的遺伝子配列を決定する。このようにして得られたモンゴルで流行している原虫の詳細な遺伝子レベルでの情報を現実の家畜衛生対策に反映させるために、モンゴルで現在行われている原虫病診断法の問題点や改善すべき点を精査し、日本側研究グループが有するイムノクロマト法(ICT)、LAMP法、ELISA等の最先端診断技術基盤をどのようなフォーマットで提供すればモンゴルでの社会実装が可能かについて検討する。プロジェクトのゴールとして4～5年目までにモンゴルで実用可能な簡易迅速診断キットの完成を実現する。モンゴルのような家畜原虫病高度汚染国での大規模疫学調査とそれに立脚した原虫病対策は、世界規模での原虫病対策を策定する上でも極めて有用かつ具体的なモデルとなることが期待できる。

2. 研究グループ別の実施内容

① 研究のねらい

- (1) 原虫病及び媒介マダニの特異診断・分類技術を用いてモンゴルにおけるトリパノソーマ病、ピロプラズマ病および媒介マダニの大規模疫学調査を実施し、その存在、分布と被害の実態を明らかにすること。
- (2) 疫学調査で得られた感染材料から原虫野生株を樹立し、原虫野生株由来材料を活用してモンゴルで社会実装可能な簡易迅速診断キットを開発して普及し、同国の家畜原虫病対策に貢献すること。

② 研究実施方法

- (1) 原虫病および媒介マダニによる家畜の健康被害と冷害死との因果関係を明らかにするため、トリパノソーマ(*Trypanosoma equiperdum*と*T. evansi*の2種)、ピロプラズマ(*Babesia bovis*, *B. bigemina*, *B. equi*, *B. caballi*, *Theileria* spp.の5種)および媒介マダニ(*Ixodes* spp., *Haemaphysalis* spp., *Dermacentor* spp.の3属)の流行・分布状況を調査し、サンプリング時期情報とGPS位置情報を統合した各県別の原虫およびマダニ分布マップを作成する。
- (2) 原虫感染動物の早期摘発に活用するための簡易迅速診断法を確立するために、上記(1)で収集した現在モンゴルで流行している原虫野生株の抗原遺伝子型を明らかにする。その結果を解析して血清および遺伝子診断に最適な抗原候補遺伝子や原虫特異的遺伝子配列を決定し、得られた遺伝子情報に基づいて、組換え抗原と診断用遺伝子プライマーを作製し、簡易迅速血清診断法であるICTを主力にしつつ、その開発過程で得られる遺伝子・組換え抗原等を用いた他の手法による簡易迅速診断キットの開発も行い、これらをモンゴルに社会実装する。
- (3) 原虫病の国際的研究資源を確保する目的で、上記(1)で収集したトリパノソーマ2種およびピロプラズマ5種の野生株を試験管内培養またはマウスに適応させ、セルバンクにて凍結保存して保管管理し、関連法規の下で行われる利用申請に応じて分与できる体制を整える。

③ 当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況

(1) 平成25年5月のプロジェクト採択を受けて暫定予算の下、プロジェクト全体計画の精査、プロジェクト実施に必要な合意文書締結(R/D、MOU、JICA 取り決め 他)を実施し、平成26年2月をもって完了した。

(2) 平成26年3月19日にモンゴル側研究グループと平成26年度調査研究計画について打ち合わせを実施し、下記の計画で調査研究を実施することとした。

調査地(1)

調査地:Bayan-Olgii 県 および Hovd 県

調査対象:

Bayan-Olgii 県:ピロプラズマ病

Hovd 県:トリパノソーマ病

調査家畜・ベクター:ウシ、ウマ、ラクダ、マダニ

調査日程:2014年7月を予定

調査地(2)

調査地:Selenge 県

調査対象:ピロプラズマ病とトリパノソーマ病

調査家畜・ベクター:ウシ、ウマ、ヤギ、ヒツジ

調査日程:2014年8月を予定

調査地(3)

調査地:Arhangay 県

調査対象:ピロプラズマ病とトリパノソーマ病

調査家畜・ベクター:ヤク、ウシ、ウマ、ヤギ、ヒツジ

調査日程:2014年9月を予定

採取する検体

血液(塗抹標本・血清・DNA用)

ダニ(分類・標本・DNA用)

採取予定検体数

動物 年間予定数(検体)

(ピロプラズマ病用)

1. ウシ	300
2. ヤク	150
3. ウマ	1,000
4. ヤギ・ヒツジ	1,000

(ベクター)

- | | |
|--------------|--------|
| 1. マダニ | 10,000 |
| 2. アブ(オプション) | 500 |

(トリパノソーマ病)

- | | |
|--------|-------|
| 1. ウマ | 1,000 |
| 2. ラクダ | 100 |
| 3. ウシ | 300 |

調査時に収集すべき検体情報

1. 採取位置情報(GPSデータ)、畜主名
2. 動物種・品種
3. 採取日(DD/MM/YYYY)
4. 性/年齢
5. 治療・ワクチン・疾病履歴

④ ウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む)

(1) マダニ由来DNAからのピロプラズマ遺伝子増幅・検出法をJST予算で招聘したモンゴル人研究員に対して技術移転した。

(2) 疫学調査地、調査方法ならびに検体処理に関する意見および技術情報の交換を実施した。

⑤ 当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば)
なし

3. 成果発表等

(1) 原著論文発表

- ① 本年度発表総数(国内 0 件、国際 0 件)
- ② 本プロジェクト期間累積件数(国内 0 件、海外 0 件)
- ③ 詳細情報

(2) 特許出願

- ① 本年度特許出願内訳(国内 0 件、海外 0 件、特許出願した発明数 0 件)
- ② 本プロジェクト期間累積件数(国内 0 件、海外 0 件)

4. プロジェクト実施体制

(1) 「帯広畜産大学」グループ(モンゴルにおける家畜原虫病の疫学調査と社会実装可能な診断法の開発)

- ① 研究者グループリーダー名: 井上 昇(帯広畜産大学・教授)
 - ② 研究項目
1. 家畜原虫病簡易迅速診断法の開発

- 1-1. トリパノソーマ病、ピロプラズマ病の野生株を収集・分離し馴化培養する。
 - 1-2. 1-1 で収集した野生原虫株の抗原遺伝子型解析を行い、標的抗原遺伝子を同定する。
 - 1-3. 組み換え抗原を作製する。
 - 1-4. 組み換え抗原の反応特性と実用性を LAMP 法や ELISA 法などを活用して評価し、免疫クロマト法 (ICT) に利用可能な抗原タンパク質を得る。
 - 1-5. 組み換え抗原を用いて ICT による簡易迅速診断キットを試作する。
 - 1-6. 簡易迅速診断法の自然感染宿主を用いた評価を実施する。
 - 1-7. 開発した簡易迅速診断法の野外における社会実装性評価 (2-1 の疫学調査と並行して実施) と改良を行う。
-
2. 疫学調査による家畜原虫病と媒介マダニの存在、分布および被害状況把握
 - 2-1. 原虫病と媒介マダニの疫学調査を実施し、原虫病に関する情報並びに感染動物の一般臨床症状や病理組織学情報を収集する。
 - 2-2. 原虫病および媒介マダニ分布データの GPS 位置情報を解析する。
 - 2-3. 原虫病および媒介マダニの流行分布マップを作成する。
-
3. 社会実装可能な原虫病予防・対策方法の提案
 - 3-1. 疫学調査で得られた情報を元に、原虫病予防・対策のモデル地区を決定する。
 - 3-2. 原虫病の予防・対策方法を検討し、モデル地区にて試行実施する。
 - 3-3. 原虫病感染による健康被害の実態と家畜生産性の関係についての分析を行う。

以上