

日生研おより

第65巻 第1号(通巻610号)
2019年(平成31年)1月

挨拶・巻頭言

年頭のご挨拶

.....長井伸也(2)

レビュー

核酸を分解する新規細胞内分解経路の
発見とその分子メカニズム

.....株田智弘(3)

学会参加記

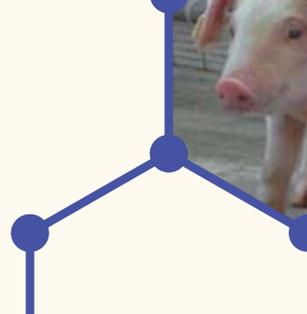
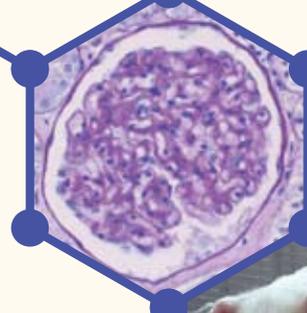
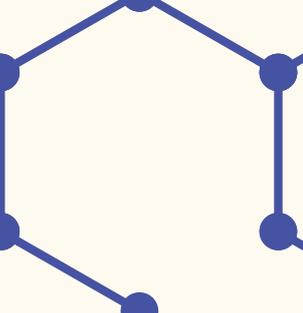
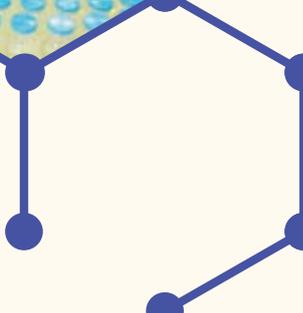
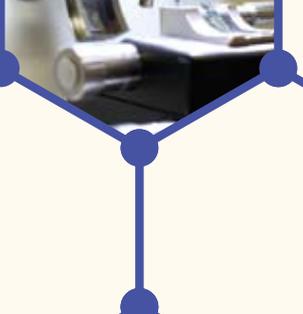
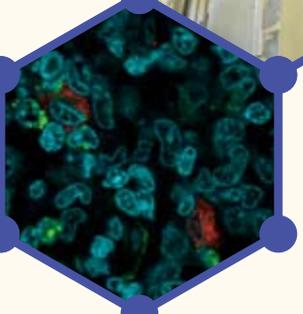
International Pig Veterinary
Society & International PRRS

Symposium 2018.....昆道葉(7)

おしらせ

第161回日本獣医学会学術集会を終えて

.....渋谷一元(11)



年頭のご挨拶

長井伸也

謹んで新年のお慶びを申し上げます。皆様にはご健勝にて輝かしい新年をお迎えのことと存じます。2019年が実り多い年となりますことを心よりお祈り申し上げます。

去る2018年9月11日から13日にかけて、つくば国際会議場にて開催いたしました第161回日本獣医学会学術集会には、直前に大きな自然災害が発生したにもかかわらず、1,578名もの会員・学生・非会員の方にご参加賜り、盛会のうちに終了することができました。これもひとえにご参加・ご支援を頂いた皆様のご協力の賜物と、衷心より御礼申し上げます。

このたびの学術集会では、「One Health－人と動物の健康と共生」をテーマとし、関連する司宰機関およびその共催シンポジウム、各分科会企画のシンポジウム、一般演題を含めて、総計727題の発表がございました。参加者の皆様には活発な討論と学術的な研鑽に加え、多くの情報交換・収集をして頂いたことと存じます。何分不慣れな故、会期中には行き届かない点多々あったかと存じますが、何卒ご容赦賜りますとともに、皆様の温かいご協力・ご支援に対し、重ねて御礼申し上げます。

司宰機関のシンポジウムの一つに「東アジア諸国における動物感染症の発生状況と制御に向けての取組」を、そして緊急公開セミナーとして「アフリカ豚コレラ-知っておくべきこと、考えておくべきこと-」をそれぞれ企画させて頂きました。後者につきましては、農林水産省消費・安全局動物衛生課の伴光先生および農研機構動物衛生研究部門山田学先生にはお忙しい中、ご無理を申し上げて急遽ご講演を賜りましたこと、ここに改めて深く御礼申し上げます。奇しくも意表を突かれた形で学術集会開催の前々日に、岐阜県で26年ぶりの豚コレラの発生が公表されました。感染経路はまだ特定されてはおりませんが、人やモノを通じて海外からウイルスが侵入した可能性も否定できないようです。まさに、周辺国の動物疾病の発生状況に常に目をむけ、水際対策を図るとともに、いざという時に備えて各方面で準備を万端にしておくことの重要性について改めて認識させられました。シンポジウムの中で、ソウル大学のH. S. Yoo教授が、韓国での豚コレラの制御において、野生のイノシシへの感染がその障害となっているということを述べられ、隣国のこととはいえ、非常に示唆に富んだ内容でありました。

では、本年も当研究所に対する皆様方の温かいご指導、ご鞭撻をお願い申し上げますとともに、益々のご健勝とご多幸を祈念致しまして、これにて新年のご挨拶とさせていただきます。

(所長)

核酸を分解する新規細胞内分解経路の発見とその分子メカニズム

株田 智弘 (国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第四部)

はじめに

生物の細胞内では RNA やタンパク質などの生体高分子が常に合成されている。またこれらの高分子は常に分解されることによりバランスが維持されている。そのため、生体の恒常性維持には生体高分子の合成だけでなく適切な分解が必要である。またヒトにおいて、細胞内分解系の異常は神経変性疾患などの病気の原因ともなることがわかってきている。リソソームは細胞内分解を行う重要な細胞内小器官の一つであり、近年リソソームによる細胞内分解の研究分野はマクロオートファジー研究を中心として急速に発展した。しかしながらマクロオートファジー以外のリソソーム性細胞内分解に関する研究は立ち遅れている。本稿では、筆者らが近年発見した新たな細胞内分解経路を中心にリソソーム性の細胞内分解経路について解説する。

リソソームとマクロオートファジー

リソソームは内部に様々な加水分解酵素を含む細胞内小器官であり、タンパク質、RNA、DNA、脂質など様々な生体高分子を分解することができる。リソソームは 1955 年に de Duve (1974 年ノーベル生理学・医学賞受賞) らによって発見された。また 1960 年代には既に、de Duve によってマクロオートファジーという現象は提唱されていた。現在でははっきりとわかっていることであるが、マクロオートファジーとは、脂質二重膜からなる隔離膜が細胞質成分を取り囲みオートファゴソームを形成し、その後オートファゴソームとリソソーム (植物や酵母では液胞) が融合しオートファゴソームの内容物が内膜ごと分解されるという分解経路である (図 1) [1]。しかしながら 1980 年代までマクロオートファジーの研究はあまり進まず、リソソームは主に細胞外分子の分解を行う小器官であると考えられてきた。

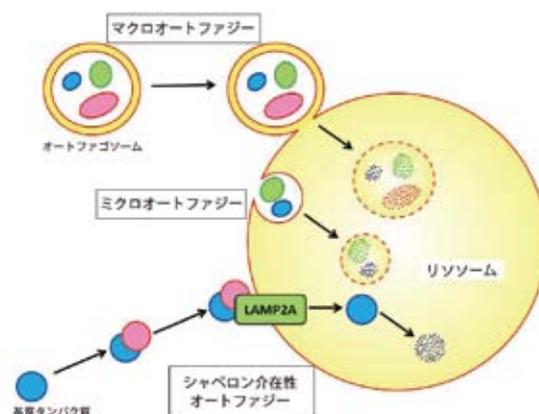


図 1 以前から知られていた 3 種類のオートファジーの模式図 (文献 1 より改変)

そして時を経て 1990 年代以降に大隅 (2016 年ノーベル生理学・医学賞受賞) らによってマクロオートファジーの分子機構が解明されるとともに、リソソーム / 液胞が細胞内タンパク質や小器官の分解にも重要であることが明らかとなった。オートファジーという言葉は狭い意味ではマクロオートファジーのことを指しており、広い意味では細胞内成分のリソソームによる分解を意味するが、本稿では後者の意味で扱う。

ミクロオートファジー

ミクロオートファジーとは、リソソーム / 液胞膜が陥入や変形することによりリソソームが直接細胞質成分を取り込み分解する現象であり (図 1)、1960 年代には概念が提唱されていた。液胞におけるミクロオートファジーに関しては、近年分子機構や生理機能が少しずつ明らかになってきている。ところが、リソソーム (液胞ではなく) におけるミクロオートファジーに関しては、起こる頻度、分子メカニズム、生理機能などについてほとんど研究が進んでおらず不明である。後期エンドソームにおける多胞体形成の際には膜の陥入が起きており、これを後期エンドソームにおけるミクロオートファジーで

あるという考え方も存在する [2]。

シャペロン介在性オートファジー

シャペロン介在性オートファジーはマクロオートファジーともミクロオートファジーとも異なるタイプのオートファジーであると考えられており、1980～1990年代にかけて概念が提唱された。この経路では、細胞質中の特定のタンパク質がシャペロン分子 HSC70 によってリソソーム膜上の受容体 LAMP2A に輸送され、その後 LAMP2A が形成する輸送複合体 (translocation complex) によってリソソーム膜を透過し、内部で分解されると提唱されている (図 1)。すなわちシャペロン介在性オートファジーは膜透過型オートファジーであると考えられるが、LAMP2A が輸送複合体を形成することはまだ実験的に明確に示されていない。LAMP2A は 1 回膜貫通タンパク質 LAMP2 のバリエーション LAMP2A、LAMP2B、LAMP2C の 1 つであり、LAMP2 遺伝子から選択的スプライシングにより発現する。シャペロン介在性オートファジーの基質の特徴は分子内に KFERQ 様モチーフを有していることであり、パーキンソン病の原因となる SNCA タンパク質はこの経路の基質となることが報告されている [3]。ただし、LAMP2 遺伝子のノックアウトマウス脳内では SNCA タンパク質量の増加は観察されておらず [4, 5]、野生型マウスの脳においてシャペロン介在性オートファジーはそもそも機能していない可能性がある。

新たなオートファジー経路の発見

上述の通り、マクロオートファジーと比較して、直接的にリソソームが細胞質成分を取り込む経路に関しては研究が進んでおらず不明な点が多い。このような研究背景のなか、筆者は機能未知のリソソーム膜タンパク質 LAMP2B と LAMP2C に着目した。LAMP2B や LAMP2C も直接的なリソソーム性分解経路に関与していると予測し、これらの細胞質側配列に結合するタンパク質を探索した。その結果、LAMP2C の細胞質側配列に多くの RNA 結合性タンパク質が結合することを見いだした [4]。RNA 結合性タンパク質の結合は RNaseA 処理で完全に消失することがわかり、その後 LAMP2C の細胞質側配列

は RNA と直接結合することを明らかにした。この結果から、リソソームが直接 RNA を取り込み分解するという新たな分解経路の可能性を考えた。既にシャペロン介在性オートファジーの研究においては、単離リソソームと HSC70、ATP、基質タンパク質をバッファー中で混合し 37°C で反応させることで、試験管内でリソソームによるタンパク質取り込み・分解を再構成できることが報告されていた。そこでこの実験系を参考に、筆者らは単離リソソームと精製 RNA (動物組織由来トータル RNA) を HSC70 及び ATP の存在下と非存在下でバッファー中に混合し 37°C に置き、生化学解析や免疫電子顕微鏡解析を行った。そして、ATP 存在下において RNA がリソソームの外側から内側へ移行し、また分解を受けることを世界で初めて発見した。シャペロン介在性オートファジーとは異なり、HSC70 の添加による影響は観察されなかった。筆者らはこの新しい分解経路を RNautophagy と名付けた [4]。

続いて LAMP2C の関与について検討を行った。LAMP2C 過剰発現細胞由来のリソソームでは RNA 取り込み量が増加しており、LAMP2C の発現していない LAMP2 ノックアウトマウス由来リソソームでは RNA の取り込み量が減少していた。培養細胞レベルでは、LAMP2C の過剰発現によって細胞内の RNA 分解量が増加した。以上の結果から、LAMP2C は RNautophagy において、RNA 受容体として機能することができることがわかった。さらに LAMP2 ノックアウトマウス脳内ではトータル RNA 量の増加が観察され、RNautophagy が動物個体において機能していることが強く示唆された [4]。

さて、LAMP2C 結合タンパク質の探索に話を戻すと、結合したタンパク質のなかには RNA 結合タンパク質以外にも DNA 結合タンパク質が複数含まれていた。このことから筆者らは DNA についても同様のことが起こると予想し研究を進めた。結果として、DNA は LAMP2C の細胞質側に直接結合すること、DNA は ATP 依存的に単離リソソームに取り込まれ分解されることを見いだした [6]。この経路に関しては DNautophagy と名付けた。また、LAMP2C は DNautophagy において DNA 受容体として機能することができるという結果も得られた。DNautophagy が細胞レベルで起きているかに関しては、まだ不明であり現在研究中である。

核酸とリソソーム膜タンパク質の結合メカニズム

RNautophagy/DNautophagy (以下 RDA と呼ぶ) の発見後から現在まで、筆者らはその分子メカニズムと生理機能の解明を並行して行っている。まずは核酸と LAMP2C の結合メカニズムの解明を進めた。LAMP2C の細胞質側配列はわずか 11 アミノ酸から構成されており、アルギニン残基が多く含まれている。Arginine rich motif はよく知られている RNA 結合 motif の 1 つであることから、アルギニン残基の必要性について変異を導入して検討を行った。その結果、LAMP2C 細胞質側配列のアルギニン残基が RNA 及び DNA の結合に必要であることが明らかとなった [7]。

一方、核酸側の結合については、RNA としては poly-A、poly-C、poly-G、poly-U、DNA としては poly-dA、poly-dC、poly-dG、poly-dT という単純なオリゴ核酸を準備し、LAMP2C 細胞質側配列 (LAMP2C ペプチド) との結合性を解析した。驚いたことに、LAMP2C ペプチドは poly-G 及び poly-dG と結合し他の 6 種類のオリゴ核酸とは結合しなかった。さらに、上記の 8 種類のオリゴ核酸が単離リソソームへ取り込まれるかを検討したところ、poly-G 及び poly-dG はリソソームへ移行し、他の 6 種類は移行しなかった [8]。すなわち、8 種類のオリゴ核酸については LAMP2C との結合性とリソソームへの移行性が完全に相関した。この発見は 2 つの意味で非常に重要な結果であると考えている。1 つは、RDA はリソソームによる基質取り込みの段階において何らかの選択性をもつことがわかった点、もう 1 つは、RDA はリソソーム膜上の核酸結合タンパク質によって制御された現象であることが強く示唆されたことである。核酸側の結合 motif に関してはまだ全ては解明されていないが、LAMP2C ペプチドは 4 から 6 塩基からなる poly-dG または poly-G と結合したことから [8]、G/dG の連続配列は結合 motif の 1 つとして機能すると考えられた。

核酸輸送体の同定

RDA には LAMP2C が関与することから、筆者らは LAMP2A が仲介するシャペロン介在性オート

ファジーと同様に、RDA は膜透過型オートファジーであると考えた。また既知のトランスポーターやチャネルは全て複数回膜貫通タンパク質であることから、1 回膜貫通タンパク質である LAMP2C はトランスポーターではないと考えた。そこで、筆者らは Gene ontology database を用いて核酸トランスポーターの検索を行った。その結果、SID-1 及びそのオルソログが RNA トランスポーターとして登録されていた。SID-1 は *C. elegans* の複数回膜貫通タンパク質であり、RNA チャネルとして機能することが報告されている [9]。SID-1 の脊椎動物オルソログとしては SIDT1 と SIDT2 が存在し、SIDT2 に関してはリソソームに局在することが報告されていた [10]。これらの知見から、筆者らは SIDT2 が RDA における RNA トランスポーターとして機能していると考えた。はじめに、SIDT2 の細胞内局在を検証し、SIDT2 は主にリソソーム膜に局在する膜貫通タンパク質であることを確認した。次に、単離リソソームを用いた RNA の取り込み・分解アッセイを行った。SIDT2 の過剰発現細胞由来リソソームでは RNA 取り込み量が増加し、SIDT2 をノックダウンした細胞由来リソソームでは RNA 取り込み量が減少した [11]。さらに SID-1 の RNA 輸送活性に必要なセリン残基に相当する Ser564 をアラニンに置換した変異体の過剰発現では RNA 取り込み量は増加しなかった。SIDT2 の発現がリソソームの pH やマクロオートファジー活性に影響していないことも確認した。これらの結果から SIDT2 はリソソームへの直接的 RNA 取り込みを仲介することが明らかとなった。また、マウス胎児線維芽細胞 (MEF) を用いた実験では、SIDT2 のノックダウンにより、最大で細胞内 RNA 分解の約 50% が阻害された。以上の結果から、SIDT2 は RNautophagy における中心的な分子であること、また RNautophagy は細胞内 RNA 分解の主要経路の 1 つであることが強く示唆された。

なお、単離リソソームを用いて 2 本鎖 DNA に関しても RNA と同様の実験を行い、SIDT2 が DNautophagy においてリソソームによる DNA 取り込みも仲介することを示した [12]。*C. elegans* SID-1 は 2 本鎖 RNA の輸送のみに機能しており、DNA や 1 本鎖 RNA を輸送する能力はない。脊椎動物の SIDT2 は進化の過程で異なる

るトランスポート能力を獲得したとも考えられ、興味深い。また、DNautophagyにおいて環状2本鎖DNAよりも直鎖状2本鎖DNA（環状DNAを切断したもの）の方が取り込まれやすいという結果が得られた。実験に用いたリソソーム直径は約200 nm、直鎖状DNAの長さは約1860 nmである。もしマイクロオートファジーでDNAが取り込まれる場合は、DNAがリソソーム直径より小さいサイズの球状に折りたたまれる必要がある。仮にヌクレオソームのようにDNAを折りたたむ機能がリソソーム膜上にあったとしても、直鎖状DNAの方が環状より取り込まれやすいという結果の説明は容易ではない。これらの結果はRDAがマイクロオートファジーではなく膜透過型オートファジーであるという仮説を支持していると考えられる（図2）。

SIDT2の局在制御

SIDT2の制御メカニズムの1つとして、筆者らは細胞内局在の制御について解析を進めた。YXXΦ motifは、リソソーム局在を制御するアミノ酸配列として知られており、SIDT2の細胞質側配列中に3カ所のmotifが見つかった。これら3カ所のmotif全てに変異を導入した変異体（3YS SIDT2）は、培養細胞内ではほとんどリソソームに局在しなかった。また、野生型SIDT2の過剰発現はRNautophagy活性を顕著に増加したのに対し、3YS変異体の過剰発現は活性を増加させなかったことから、3カ所のYXXΦ motifは、SIDT2がリソソーム局在しRNautophagyにおいて機能するのに必要であることが明らかとなった[13]。また、SIDT2のYXXΦ motifにアダプタータンパク質複合体AP-1及び

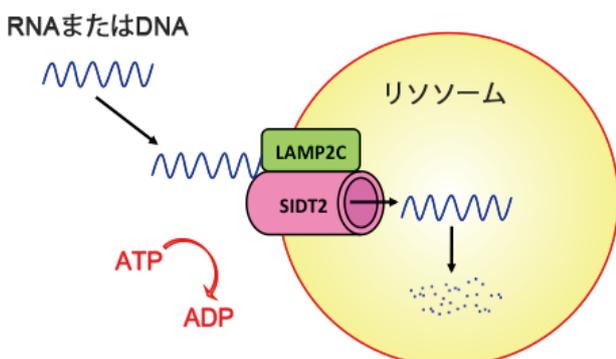


図2 新規オートファジー RDA の模式図（文献1より改変）

AP-2が結合することも明らかにしており、SIDT2はAP-1やAP-2との結合を介してリソソームに輸送されることが示唆された。現在、SIDT2の翻訳後修飾による活性制御についても研究を行っているところである。

おわりに

RDAの生理機能の1つは細胞内RNAの定常的な分解であると考えられ、筆者らは動物個体における生理機能や病態との関連性についても研究を進めている。アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、脊髄小脳変性症など、ほとんどの神経変性疾患は主に高齢で発症し、その後進行するが、これらの疾患に対して神経変性を止めるような根本的治療法は現状全く存在しない。疾患に共通した病理学的特徴としては細胞内凝集体が認められ、タンパク質やRNAなどの生体高分子の細胞内蓄積は病因に深く関与していると一般的に考えられている。今後、このような病態とRDAの関係性が明らかになることが期待される。

引用文献

1. Fujiwara Y, Wada K, Kabuta T : Lysosomal degradation of intracellular nucleic acids—multiple autophagic pathways, *J Biochem*, 161, 145–154 (2017)
2. Sahu R, Kaushik S, Clement CC, Cannizzo ES, Scharf B, Follenzi A, Potolicchio I, Nieves E, Cuervo AM, Santambrogio L : Microautophagy of cytosolic proteins by late endosomes, *Dev Cell*, 20, 131–139 (2011)
3. Cuervo AM, Stefanis L, Fredenburg R, Lansbury PT, Sulzer D : Impaired degradation of mutant alpha-synuclein by chaperone-mediated autophagy, *Science*, 305, 1292–1295 (2004)
4. Fujiwara Y, Furuta A, Kikuchi H, Aizawa S, Hatanaka Y, Konya C, Uchida K, Yoshimura A, Tamai Y, Wada K, Kabuta T : Discovery of a novel type of autophagy targeting RNA, *Autophagy*, 9, 403–409 (2013)
5. Furuta A, Kikuchi H, Fujita H, Yamada D,

- Fujiwara Y, Kabuta T, Nishino I, Wada K, Uchiyama Y : Property of lysosomal storage disease associated with midbrain pathology in the central nervous system of Lamp-2-deficient mice, *Am J Pathol*, 185, 1713-1723 (2015)
6. Fujiwara Y, Kikuchi H, Aizawa S, Furuta A, Hatanaka Y, Konya C, Uchida K, Wada K, Kabuta T : Direct uptake and degradation of DNA by lysosomes, *Autophagy*, 9, 1167-1171 (2013)
 7. Fujiwara Y, Hase K, Wada K, Kabuta T An RNautophagy/DNautophagy receptor, LAMP2C, possesses an arginine-rich motif that mediates RNA/DNA-binding, *Biochem Biophys Res Commun*, 460, 281-286 (2015)
 8. Hase K, Fujiwara Y, Kikuchi H, Aizawa S, Hakuno F, Takahashi S, Wada K, Kabuta T : RNautophagy/DNautophagy possesses selectivity for RNA/DNA substrates, *Nucleic Acids Res*, 43, 6439-6449 (2015)
 9. Shih JD, Hunter CP : SID-1 is a dsRNA-selective dsRNA-gated channel, *RNA*, 17, 1057-1065 (2011)
 10. Chapel A, Kieffer-Jaquinod S, Sagne C, Verdon Q, Ivaldi C, Mellal M, Thirion J, Jadot M, Bruley C, Garin J, Gasnier B, Journet A : An extended proteome map of the lysosomal membrane reveals novel potential transporters, *Mol Cell Proteomics*, 12, 1572-1588 (2013)
 11. Aizawa S, Fujiwara Y, Contu VR, Hase K, Takahashi M, Kikuchi H, Kabuta C, Wada K, Kabuta T : Lysosomal putative RNA transporter SIDT2 mediates direct uptake of RNA by lysosomes, *Autophagy*, 12, 565-578 (2016)
 12. Aizawa S, Contu VR, Fujiwara Y, Hase K, Kikuchi H, Kabuta C, Wada K, Kabuta T : Lysosomal membrane protein SIDT2 mediates the direct uptake of DNA by lysosomes, *Autophagy*, 13, 218-222 (2017)
 13. Contu VR, Hase K, Kozuka-Hata H, Oyama M, Fujiwara Y, Kabuta C, Takahashi M, Hakuno F, Takahashi SI, Wada K, Kabuta T : Lysosomal targeting of SIDT2 via multiple YxxPhi motifs is required for SIDT2 function in the process of RNautophagy, *J Cell Sci*, 130, 2843-2853 (2017)

学会参加記

International Pig Veterinary Society & International PRRS Symposium 2018

昆 道 葉

1. はじめに

2016年4月に日生研に入所して以来、豚用ワクチン開発に従事している。今回、国際養豚獣医学会 (International Pig Veterinary Society ; IPVS) および同時開催の国際豚繁殖・呼吸障害症候群 (PRRS) シンポジウム (IPRRSS 2018) に参加する機会を得たので、得られた知見について報告する。

IPVS は、豚の健康と生産に関する国際的な専門学会であり、特に獣医衛生関係の研究発表や各国間

の情報交換を目的としている。第1回大会が1969年にイギリスのケンブリッジで開催されて以降2年ごとに開催され、今回の中国重慶市での開催は第25回大会 (2018年6月10日～6月14日) であった (写真1)。

重慶は日本ではあまり馴染みがないものの、北京、上海、天津に並ぶ中華人民共和国直轄市であり、面積は北海道ほどもある中国最大の都市となっている。2本の大河、嘉陵江と長江の合流地点が中心市街であり、夜は美しい夜景を楽しむことができる。山を

切り開いて発展したことから、斜面から長い柱を突きたててその上に建物を建てる「吊脚楼」という建築様式が印象的な街並みであった。主な交通手段の一つとして地下鉄があり、安価で本数も多く大変便利であった。学会会場である Yuelai International Convention Center (写真1)にはこちらを利用し、重慶の通勤ラッシュを経験しながら通うこととなった。

参加者は、開催地である中国の人を中心としたアジアの人々が多数を占めており、最終的な参加者数は5,000人以上であった。トピックが国内事情となったホール2では発表・質問が全て中国語で行われたこと、他会場では英語発表であっても英語と中国語への同時通訳機が無料貸し出しされていたことから、中国語で質問し、通訳者を介して質疑応答を行っていたことが大変印象的であった。地元開催の利点を最大限に生かし、通常であれば国際学会には参加しない人々にも機会を提供しようとする取り組みが感じられた。

企業ブースには39メーカーが出展しており、日本国内では目にすることがない製品を見ることができた。特に口蹄疫に対する診断キットやワクチン等が多く、口蹄疫発生国での強いニーズを感じた。

発表演題としては口頭発表165題、ポスター発表738題の総数903題に上り、40カ国から発表があった(写真2)。過去3回の発表演題傾向において最多であったPRRS関連は、今回IPRRSS 2018の中で口頭発表41題およびポスター発表150題の総数191題、IPVS全体では200題以上と全発表の2割以上を占めた。次いでPCV2、PCV3、PED、*Mycoplasma* 関連の演題が多かった。さらにPEDと関連して、2014年に初めて報告された豚デルタコロナウイルスにも注目した発表が10題以上見受け

られ、新しい病原体への注目度を感じた。細菌分野の演題においては、*Mycoplasma*に次いで*Actinobacillus pleuropneumoniae*(App)、*Lawsonia*、*Streptococcus suis*が主要な病原体であった。加えて、2015年の世界保健総会において薬剤耐性に関するグローバル・アクション・プランが採択されたことを受けてか、薬剤耐性菌に関連付けた発表が多く見られたことが印象的であった。この中から特に興味深かった演題について、以下に紹介したい。

2、興味深かった発表演題紹介

《口頭1》

「症例報告：哺乳豚での大腸菌症による急性症例について」

The diagnosis and control of one acute case of suckling piglets related to *E. coli* infection.

Xiangyang Qu *et al.*

【背景】

大腸菌は下痢および脱水症状を起こした哺乳豚において重要な病原体の一つであり、しばしば高い罹患率と死亡率につながる。大腸菌症を疑われる哺乳豚の急性症例において、投与経路が治療効果に大きな影響を与えた一例を紹介する。

【症例】

2017年9月、母豚1,600頭規模のとあるGP農場にて2-4日齢の哺乳豚における急性死が多発した。分娩舎は4週間ごとのシステムとなっており、296頭の哺乳豚が5つの部屋に分かれて飼育されていた。急性死亡豚のボディコンディションは極めて良好であったが、頸部に顕著な浮腫が認められた。元気消失や自発運動の低下が見られた豚は、60%以上と高い死亡率を示し、24時間以内に死亡した。突然死



写真1 IPVS会場



写真2 IPVS会場内の様子

が最初にして唯一の臨床症状であり、一頭発症すれば同腹の子豚の死亡率はかなり高かった。全哺乳豚の40%で黄色水性下痢が認められた。発症子豚の母豚には何の臨床症状も見られず、体温も正常であったのに対し、ほとんどの死亡子豚の生前の体温は36-37℃と通常より低かった。最初の突然死発生からわずか5日で191頭の子豚が死亡し、死亡率は5.13%となった。由来母豚ごとの罹患率に差は見られなかったことから、母豚からの移行免疫では防げなかったと考えられる。病理所見として最も著しい病変は、頸・鼠径部皮膚、腎臓および円錐結腸における浮腫であり、また脾臓は軽度の腫大が認められた。肺、肝臓および扁桃は正常であった。微生物検査の結果、大腸菌とクロストリジウム属菌が分離された。

【治療と結果】

発症初日から部屋ごとに治療方法を検討し、アモキシシリン注射、セフトロキサム注射、エンロフロキサシン注射、ゲンタマイシン経口投与、ドラクシン注射および母豚へのリンコマイシン・スペクチノマイシン投与を組み合わせて実施したが、効果は現れなかった。方針を変更してアモキシシリンまたはペニシリンの経口投与を実施したところ、投与開始後7日で突然死の発生は止まった。また免疫療法として、妊娠後期母豚への馴致と大腸菌・クロストリジウムワクチン（リターガード）の投与を行なった。バイオセキュリティ面では、鉄剤投与器材の衛生管理と分娩舎のオールインオールアウトの徹底を見直した。

【考察と結論】

今回の突然死の病因として、大腸菌またはクロストリジウム属菌による感染症が疑われた。実施した治療方法とその結果から、注射による投薬治療が効果を示さない場合、ペニシリンあるいはアモキシシリン粉末を経口投与する方法が有効であることが示された。特に、細菌による腸管感染症の場合は、投与経路が効果に大きく影響することが示唆された。今回の発生で最終的に6.55%の子豚が死亡したが、治療方針と対応を変更して以来現在まで再発はしていない。

【所感】

投薬経路の変更により劇的な改善が見られた一例である。注射による投薬の時点で複数の治療方針を

検討しており、現場の成功例を知ることができたことは大変勉強になった。

《口頭2》

「豚における *Clostridium difficile* 感染症の出現について」

Emerging *Clostridium difficile* in swine.

Jan Bernardy *et al.*

【背景】

嫌気性菌 *Clostridium difficile* は、ヒト医療において抗生物質療法の際に発症する院内感染下痢症の主要な原因菌の一つであり、高い死亡率とその経済的影響から重要視されている。豚においては、1-3日齢の子豚で感受性があり、*Clostridium perfringens* A型感染の陰に隠れて間接的に生産性の低下を引き起こすとされる。チェコ国内では獣医領域における十分な調査が行われていなかったため、今回養豚業界における *C. difficile* 出現率とその分離菌の遺伝学的な解析を行った。

【材料および方法】

国内で下痢症状を示した哺乳豚178検体とその由来母豚の糞便より *C. difficile* 選択液体培地 (Oxioid) を用いて嫌気培養し、菌分離を実施した。分離菌に対して、キャピラリー電気泳動法による毒素遺伝子 (*tcdA*, *tcdB*, *cdtA* および *cdtB*) リボタイピングを行なった。またヨーロッパおよびアジアの豚由来株との MLVA (反復配列多型) クラスタ解析を実施した。

【結果】

哺乳豚糞便56検体、母豚糞便2検体の計58検体より *C. difficile* が分離され、陽性農場数は11戸であった。PCR リボタイピングの結果、10のプロファイル (011 n=1, 014 n=1, 033 n=10, 049 n=4, 078 n=24, 078 バリエーション n=5, 126 n=1, 150 n=7, 413 n=4, および新型 n=1) に分けられた。リボタイプ (RT) 078型、126型および413型の株は毒素A、毒素Bおよびバイナリー毒素の3種類の遺伝子を持っていた。RT033型株はバイナリー毒素遺伝子のみが陽性で、RT011、014、049、150および新型の株は毒素Aと毒素Bの遺伝子が陽性であった。チェコにおける最も多い株は078、続いて033、049となった。チェコ由来 RT078型株はドイツ由来 RT078型株と同一クラスター、チェ

コ由来 078 バリエーション型は日本および台湾由来 RT078 型株と同一クラスターを形成した。

【結論】

今回供試した哺乳豚検体の約3分の1が *C. difficile* 陽性であり、想定より高い浸潤率であった。チェコ国内農場において最も優位なりボタイプは 078 型であり、これは他のヨーロッパ諸国と同様であった。ほぼ全ての陽性農場（1戸以外）において、*C. difficile* と同時に *C. perfringens* が分離された。この2菌種は豚の腸管内で競合せず、共感染によって増悪する可能性もあることから、*C. difficile* の高い浸潤率は *C. perfringens* に対する治療やワクチネーションの失敗の一因として考えられるかもしれない。

【所感】

日本国内でもヒト医療現場における *C. difficile* 感染症の研究は活発に進められているが、豚においては十分とは言えない現状である。日本国内養豚において対応に悩まされている *C. perfringens* 感染症のコントロールに関連する可能性が示唆されていることから、今後は *C. difficile* の動態にも注目していきたいと感じた。

《ポスター 1》

「台湾において胸膜炎発症豚より分離された App の薬剤耐性と血清型について」

Antimicrobial resistance and serotype of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from diseased pigs in Taiwan, China.

Tsung-Li Yeh *et al.*

【導入】

App は豚の胸膜炎の原因菌であり、世界的に養豚業へ大きな経済的損失をもたらしている。突然死を起こすような深刻な甚急性感染、または何の臨床症状も示さない慢性感染を引き起こす。これらの重篤度の差は血清型に関係することが過去の多くの研究で知られている。一方、患者が App を耐過した場合、肺に残った病巣の治療には長期間を要し、抗生物質が不可欠である。本病のコントロールのため、病巣から分離した App の血清型と薬剤耐性を知る必要がある。

【材料および方法】

2012-2017 年に台湾で分離された 68 株を供試した。血清型別には PCR を用い、薬剤耐性は 14 薬剤について微量液体希釈法で検査した。

【結果】

分離された 68 株の血清型は、1 型：60.3%、5 型：26.5%、2 型：10.3%、および型別不能：2.9% であった。薬剤耐性を示した割合としては、エリスロマイシン：100%、アモキシシリン：99.9%、テトラサイクリン：94.1%、ST 合剤：82.4%、ドキシサイクリン：72.1%、エンロフロキサシン：51.5%、フロルフェニコール：48.5%、チアムリン：19.1%、セフトオフル：8.8%、およびチルミコシン：4.4% であった。

【結論】

台湾において分離される App は血清型 1 が最も優勢であった。深刻なことに App は既に多くの薬剤に対し耐性を示しているが、今回の研究結果より、App による胸膜炎の治療にはチアムリン、セフトオフルおよびチルミコシンが推奨されることがわかった。

【所感】

日本国内でみられる App の血清型もほとんどが台湾と同じく 1、2、5 型である。血清型と薬剤耐性に関連があったかは言及されていないが、日本国内における薬剤耐性 App の報告も増えてきているため、この知見は App 対策において重要であると感じた。

3、おわりに

今回初めて国際学会に参加し、改めて養豚業界の規模の大きさを実感した。特に国と地域によって養豚の形態や発生疾病とその対応方法が様々であることが新鮮であり、今後の研究開発に対して非常に良い刺激となった。中国は豚コレラや口蹄疫の発生国であるため防疫上参加できなかったが、中国有数の養豚施設を巡るツアーが企画されており、大変興味深かった。今回は聴講だけの参加であったが、次は自身の発表を持って参加し、意見交換に参加したいと強く感じた。これほど多種多様の養豚に関するトピックについて、最新情報を知り得る機会は大変貴重である。次回 2020 年はフロリアノーポリス（ブラジル）で開催される。乗り継ぎが 2 回以上と南米は少々遠いがアジアとは異なる切り口の発表が期待されるため、養豚業界に関わる方には是非参加していただきたい。

第 161 回日本獣医学会学術集会を終えて

渋谷 一元

2019年という新しい年を迎えまして、あらためて皆様のご健勝とご多幸をお祈りするとともに、本年もより一層のご支援ご指導の程、宜しくお願い申し上げます。

巻頭言の長井所長の挨拶にもありますように、昨年は弊所として5回目となります日本獣医学会学術集会を司宰させていただきました。本稿では、この学術集会の準備から終了までを事務局の目線からみた所感を述べさせていただきたいと存じます。

弊所が日本獣医学会学術集会開催への応募を決めましたのが2年前の平成28年6月となります。この学術集会を、獣医学系の大学とは異なる民間の1学術研究機関が司宰することにつきましては、弊所の設立からの理念、すなわち、動物の感染症の研究を通じて「獣医畜産分野の学術の振興および畜産の発達ならびに公衆衛生の進歩に寄与する」のもと、学術集会にも積極的に参画するという諸先輩方の強い意志が受け継がれているにほかありません。

開催日につきましては、関係大学の授業カリキュラムを考慮しまして恒例に従い9月開催となりました。会場としましては、都内の会場あるいは近隣の会場を検討した結果、つくば国際会議場に決定しました。現在の日本獣医学会は以前に比べ分科会数が増えておりますが、つくば国際会議場ではすべての分科会の発表会場の確保が可能でした。また、学術集会の会場は予算の範囲内で手配する必要があったため、会場施設・設備の使用料をできるだけ抑える必要がありました。

学術集会の準備は、2年前の日本大学司宰の第159回学術集会のプログラム委員会参加から始まり、1年前に鹿児島大学が司宰された第160回学術集会の後にHPを開設し、本格化してまいりました。学術集会の内容の骨子はこの頃にはほぼ決まり、プログラム委員会における各分科会へのご協力のお願ひ、シンポジウムの講演者への連絡、ランチョンセミナー、広告および展示等の募集要項の作成を始めま

した。

長井大会長による学術集会のテーマ「One Health -人と動物の健康と共生」の決定ならびにその趣意につきましても2017年内には固まり、HPおよび本誌2018年1月発行の「日生研たより」をはじめ、関係印刷物への掲載をいたしました。学術集会の要となるテーマが決まったことで、それから派生する司宰機関シンポジウムのテーマも、グローバル社会の視点から情報として重要な「東アジア諸国における動物感染症の発生状況と制御に向けての取り組み」ならびに人と動物の健康や食の品質に深く関わっている「マイクロバイオームと宿主相互作用」に決定いたしました。講演者は笹川理事長および長井大会長の尽力で国内外の第一線で活躍されている先生方をお願いすることができました。また、開催直前につくば国際会議場の会場割り振りを調整し、中国で発生したアフリカ豚コレラの緊急公開セミナーを急遽開催して情報を提供する機会を設け、そのセミナーにおいて直前に岐阜県に発生した豚コレラの情報についても参加者の方々に提供するという柔軟な対応ができました。急なセッティングにも関わらず対応していただいた講演者ならびに関係者の皆様にあらためて御礼申し上げます。加えまして、本学術集会の開催趣旨に賛同され、多大なご支援、ご協力をいただきましたこと、重ねて御礼申し上げます。

参加登録および演題登録につきましては、WEBサイトからの登録が一般的になっており、運営会社とも密に連絡して登録作業を進めてまいりましたが、獣医系大学とは異なり弊所の専門領域が偏っていたため（主に家畜感染症分野）、すべての分科会と緊密に連携できず、一部に混乱を招いたことは反省すべき点と思います。また、当初はIT化を進め講演要旨集をペーパーレスにすることも検討しましたが、途中で種々の問題点が明らかとなり、これは今後の課題になると考えます。

学術集会の開催期間中の運営につきましては、当初の予測通り初日午前中の受付ブースの混雑を招き、登録にご不便をお掛けしてしまいました。ここに深くお詫び申し上げます。受付ブースを設置したスペースに余裕があったことから、今後のブースの配置についても再考の余地があると感じました。企業展示会場はエントランスホールが広がったことから、余裕をもってブース配置ができ、参加いただきました企業の方々にも好評でした。つくば国際会議場の立地を考慮しましてランチョンセミナーを多く開催したいと考え、結果的に5機関による7つのランチョンセミナーを開催することができました。各ランチョンセミナーとも盛況に開催でき、あらためて参加して頂いた方々および各主催機関の皆様へ深く

御礼申し上げます。

第161回日本獣医学会学術集会の準備から開催、そして終了までの約2年間は忙しくもありましたが、充実した日々を過ごさせていただきました。学術集会の司宰を通じて弊所のスタッフも良い経験ができ、また所員の団結力が一層強まったと感じております。

最後に、本学術集会の司宰を通じまして、微力ながら獣医学の発展ならびに国内外の家畜感染症の理解の深化に多少とも寄与できましたなら幸甚に存じます。今回の司宰により、弊所の諸先輩から受け継いできたものを後輩に引き継ぐことができたかどうか、次回の司宰はまだかなり先のことですが、それを期待しまして筆を置かせていただきます。

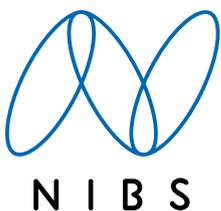
(学術集会事務局長、主任研究員)



企業ブース



第一会場



—— 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610号) 平成30年12月25日印刷 平成31年1月1日発行(第65巻第1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

編集室 委員/小野浩輝(委員長)、安田早織、古澤貴章
事務/経営企画部
印刷所 株式会社 精興社
(無断転載を禁ず)