

平成 29 年度 事業報告

平成 29 年度は、当財団の設立目的に則り、動物衛生、延いては公衆衛生に寄与するために以下の事業を展開した。

1. 畜水産科学に関する研究、発明及び調査

(1) 研究

下記のア及びイの研究を行った。

ア. アユ冷水病不活化ワクチンの開発に関する研究

これまで実施したアユの攻撃試験（滋賀県、神奈川県及び和歌山県の各水産試験場で実施）では、浸漬ワクチンの一部で有効性が確認できるものの、有効性を得やすい試験条件は精査されていなかった。これは、ワクチン浸漬法、攻撃方法、アユの由来や継代数等の条件設定が複雑で、統一できていなかった事が一因である。

そこで本年度は、有効性を得やすい試験条件を絞り込むため、当財団が攻撃試験案を作成し、各試験場で可能な限り試験法を統一して攻撃試験を実施した。試作ワクチンは、強毒の SG08 株超音波処理ワクチンと、大腸菌（JM109 株）発現トキシノイドを作成し、超音波処理ワクチン単独またはトキシノイドとの併用で使用した。

その結果、ワクチン併用区において、湖産アユまたは継代数の少ない人工産アユを、やや毒性の弱い PH0424 株で攻撃した場合に有効性を得やすい傾向が見られた。一方、継代数の多い人工産アユを用いた場合や、強毒の SG08 株で攻撃した場合は有効性を得にくかった。また、湖産は人工産よりも冷水病菌に対する抵抗性が強い傾向にあり、やや高濃度で攻撃した方が有効性を得やすい傾向も見られた。

本年度は上記の攻撃試験に加え、トキシノイドのさらなる改良に着手した。従来の枯草菌（SP3 株）発現および大腸菌（JM109 株）発現コラゲナーゼは、ホルマリンで失活せず冷凍保存が必要だった。そこで、京都大学より新たに分与を受けた失活型コラゲナーゼ発現大腸菌株（BL21(DE3)株）の培養方法、発現条件、回収方法を検討した。

その結果、50 μ g/mL Ampicillin 添加 BBL Select APS LB Broth Base (BD) を用い、16 時間の前培養後、2 時間本培養し、終濃度が 0.05mM になるよう IPTG を添加してさらに 5~6 時間の本培養により、菌体が十分に増殖し、これにより失活型コラゲナーゼが大量に得られた。また、失活型コラゲナーゼは菌体内に不溶性タンパクとして発現するが、60 分間の超音波処理により菌体を破壊した後、13,000 \times g の遠心により不溶性画分として効率よく回収できた。回収後の失活型コラゲナーゼは、ホルマリン PBS に再懸濁し、4 $^{\circ}$ C で保存可能である。

イ. ヒラメのスクーチカ症に関する研究

本年度はまず、スクーチカ繊毛虫 (*Miamiensis avidus*) の培養方法を検討した。培地の成分や、攪拌培養の旋回強度を変えることで、従来の最大虫体密度の約 2 倍の虫体密度が得られた。

また、論文化されているプロトコル (Folgueir et al., 2018) を参考に冷凍保存法の検討を行ったが、当財団で使用している培地では良好な成果を得られなかった。

(2) 調査・情報交換

上記「(1) 研究」に関する調査及び情報交換を行った。

① 当財団会議室

派遣日：平成 29 年 6 月 23 日

目的：アユ冷水病トキソイドの発現系についての意見交換

派遣人数：4 名

② 当財団会議室

派遣日：平成 29 年 12 月 25 日

目的：ヒラメのスクーチカ症についての意見交換

派遣人数：4 名

2. 畜水産科学に関する技術者の養成及び知識の普及

(1) 学会、研究会等への参加

獣医学及び水産学に関係する学会、研究会等に当財団職員を参加させ、最新の学術・技術情報を収集させた。

① 平成 29 年度関東・東京合同地区獣医師大会

開催日：平成 29 年 9 月 10 日

場所：都市センターホテル

派遣人数：1 名

② 平成 30 年度日本魚病学会春季大会

開催日：2018 年 3 月 3～4 日

場所：東京海洋大学品川キャンパス

派遣人数：3 名

③ 第 13 回アユ冷水病研究会

開催日：平成30年2月7日
場所：当財団会議室
参加人数：12名
派遣人数：5名

(2) 講習会等への講師の派遣

該当なし

(3) 所内セミナー等の開催

所内セミナーを開催し、当財団職員に対して学術情報等についての講演を行い、また意見交換を行った。

- ① 開催日：平成30年2月9日
講師：当財団研究員 本川祥吾
参加人数：11名
演題：スクーチカ織毛虫の培養方法について

(4) 所内見学等の受け入れ

該当なし

3. 微生物学の研究並びにその成績に基づく畜水産用、愛玩動物用及び野生動物用の生物学的製剤及びその他医薬品の製造

該当なし

4. 人と動物の共通感染症の予防のための動物衛生の研究、調査及びそれを基にした公衆衛生知識の普及啓発

(1) 狂犬病についての知識及び狂犬病予防注射の普及に関する啓発活動

ア. 狂犬病啓発用リーフレットの作成・配布

啓発用リーフレット「ご存知ですか？狂犬病」を作成し、全国の獣医師会等に配布した。

イ. 狂犬病啓発用ポスターの作成・配布

啓発用ポスター「狂犬病のない国でありつづけるために」を作成し、関東周辺の獣医師会等に配布した。

(2) 狂犬病防疫に関する海外支援

ア. 狂犬病ワクチン製造の技術支援

引き続き、中国における狂犬病防疫に資するため、中国国内で安価で良質なワクチンの製造供給が可能となるよう、当財団より職員を派遣し、中国の動物薬メーカーに対し、狂犬病ワクチンの製造に関する技術支援活動を行った。

5. 研究、発明及び調査の成績を公にするために、内外での発表会の開催、印刷物の刊行またはホームページ等への公表

(1) 学会等における研究成果の公表

学会、学術誌等において、上記「1. 畜水産科学に関する研究、発明及び調査」の「(1) 研究」の成果を公表した。

ア. 論文「Genetic characterization of low-pathogenic avian influenza viruses isolated on the Izumi plain in Japan: possible association of dynamic movements of wild birds with AIV evolution.」

学術誌名：Arch Virol **163(4)**:911-923. 2018

著者：Hiroko Nakagawa¹, Kosuke Okuya¹, Toshiko Kawabata¹, Aya Matsuu^{2,3}, Kozo Takase^{2,3,4}, Masakazu Kuwahara⁵, Shigehisa Toda⁶, and Makoto Ozawa^{1,2,3*}

¹Laboratory of Animal Hygiene, Joint Faculty of Veterinary Medicine, ²Transboundary Animal Diseases Center, Joint Faculty of Veterinary Medicine, ³United Graduate School of Veterinary Science, ⁴Laboratory of Animal Microbiology, Joint Faculty of Veterinary Medicine, Kagoshima University, ⁵Matsuoka Research Institute for Science, ⁶Kagoshima Crane Conservation Committee, Izumi, Kagoshima, Japan

イ. 論文「Distribution of gene segments of the pandemic A(H1N1) 2009 virus lineage in pig populations.」

学術誌名：Transbound Emerg Dis. 2018 (印刷中)

著者：Kosuke Okuya^{1#}, Aya Matsuu^{2,3}, Toshiko Kawabata², Fumiko Koike⁴, Masako Ito⁵, Tokujiro Furuya⁶, Akira Taneno⁷, Shinichi Akimoto⁸, Eizaburo Deguchi⁹, Makoto Ozawa^{1,2,3*}

¹Laboratory of Animal Hygiene, Joint Faculty of Veterinary Medicine, Kagoshima University, ²Transboundary Animal Diseases Research Center, Joint Faculty of Veterinary Medicine, Kagoshima University, ³United Graduate School of

Veterinary Science, Yamaguchi University, ⁴Swine Management Consultation K.K., ⁵Central Livestock Hygiene Service Center of Aichi Prefecture, ⁶Kyodoken Institute for Animal Science Research & Development, ⁷Vaxxinova Japan K.K., ⁸Matsuoka Research Institute for Science, ⁹Laboratory of Farm Animal Production Medicine, Joint Faculty of Veterinary Medicine, Kagoshima University

6. 特定事項の研究の受託

(1) 病性鑑定、試験検査受け入れ

該当なし

7. 畜水産科学に関する研究の助成及び補助事業

(1) 研究助成

宮崎大学、鹿児島大学及び愛媛大学に対し研究助成を行った。

ア. 宮崎大学農学部海洋生物環境学科魚類感染症学研究室
研究課題：ノカルジア等ブリ族魚類の疾病の予防研究
研究責任者：吉田照豊教授

イ. 鹿児島大学共同獣医学部動物衛生学分野
研究課題：豚ウイルス感染症の研究
研究責任者：小澤真准教授

ウ. 愛媛大学沿岸環境科学研究センター
研究課題：魚類感染症に関する研究
研究責任者：北村真一准教授

(2) 研究委託

滋賀県水産試験場及び神奈川県水産技術センター内水面試験場に対し、アユ冷水病不活化ワクチンの開発に関する研究委託を行った。