

## 2002年度日中医学協会共同研究等助成事業報告書

— 日本人研究者派遣 —

2002年6月24日

財団法人 日中医学協会  
理事長 殿

訪中者氏名 福島 博   
所属機関名 白根県保健環境科学研究所  
部署・役職 感染症疫学科・主任研究員  
所在地 〒690-0122 松江市西次佐陀町582  
電話 0852-36-8181 内線 \_\_\_\_\_

1. 中国側招請機関名 吉林省地方病第一防治研究所  
所在地 吉林省白城市海明西路85号  
招請責任者氏名 江 森林 職名 所長

2. 中国滞在日程 (訪問都市・機関名等主な日程を記入して下さい)

5月12日 北京市  
13日 吉林省白城市 吉林省地方病第一防治研究所  
14日  
15日  
16日  
17日  
18日  
19日  
20日 吉林省長春市 (検体採取)  
21日  
22日  
23日  
24日  
25日 北京市

### 3. 交流報告書

別紙「研究報告書の作成について」の体裁に倣い、講演・指導内容、訪問地の状況・課題、今後の交流計画等を指定の用紙で作成し報告して下さい。

講演・手術指導等の写真を添付して下さい。

※訪中記等発表に当っては、日中医学協会助成金による旨を付記して下さい。

## 吉林省におけるペスト制御を目的としたエルシニア菌の分布調査

研究者氏名 福島 博

日本研究機関 島根県保健環境科学研究所

### 要旨

ペスト菌 (*Yersinia pestis*) はペスト菌より病原性の弱いエルシニア菌 (*Y. pseudotuberculosis* と *Y. enterocolitica*) と共にエルシニア (*Yersinia*) 属に含まれる極めて病原性の強い病原菌であるが、これらの3菌種はプラスミド内に再感染阻止に関与するV抗原を保有し、3菌種のいずれかに感染した動物は同一菌種又は他の菌種に暴露されても再感染は阻止される。この理論に基づき、野生動物にエルシニア菌が分布する地域ではV抗原に対する免疫を獲得した動物がペストバリアーとして働き、ペスト菌の拡散が阻止されペストの流行が抑制されると指摘されている。吉林省では1940年代まで人ペストの発生、1986年まで動物ペストの流行が観察されたことからペスト自然疫源地に指定され、現在でも動物ペストの流行の監視が継続されている。本調査はペスト自然疫源地の中心に位置する吉林省白城市周辺とペスト自然疫源地外にある长春市周辺において、野生動物と家畜におけるエルシニア菌の分布状況を把握し、動物ペストの終息へのエルシニア菌によるペストバリアーの関与の可能性を探求することを目的に実施した。併せて、野生動物および家畜におけるエルシニア菌の調査法と菌検査法についての技術指導を行った。白城市周辺ではペスト保菌動物である黄鼠と沙趾鼠77匹をはじめ、野鳥5羽、犬103頭、豚169頭、兎64羽、合計420頭、长春市南部の農村地帯では豚219頭、兎101羽、犬10頭、合計350頭の動物の糞便を採取し、両地域で合計770頭の動物について保菌状況を調査した。その結果、白城市周辺の豚3頭(1.8%)から*Yersinia enterocolitica* 血清型03菌(1頭)と血清型09菌(2頭)、长春市周辺の豚2頭(0.9%)から血清型03菌が検出されたが、野ネズミと兎、犬、野鳥からはエルシニア菌は検出されなかった。今回の調査で調査地域にはペストバリアーとなるエルシニア菌が豚に低率ではあるが分布していることが初めて明らかにされた。しかし、本調査は短期間かつ限定地域で実施したため、今後広範囲にわたる継続調査により吉林省におけるペストバリアーの把握の必要性が指摘された。

**Key Words** ペスト、エルシニア菌、*Yersinia enterocolitica*, 豚

### 緒言

中国では建国以来、ペスト予防対策として衛生教育をはじめ生活環境の改善やげっ歯類の駆除、げっ歯類が生息する草原の縮小のための植林等が講じられ、人ペストの発生は激減している。中国におけるペストの実態は今回の共同調査の中国側招聘機関である吉林省地方病第一防治研究所の元所長である高崇華先生によって1990年に初めてわが国に紹介されているが、今回の訪中で中国における最新のペスト流行調査データを入手したので紹介する。表1に中国における人ペストの発生状況、表2に動物ペストの発生状況、表3にネズミおよび寄生ノミからのペスト分離状況を示すように、中国にはげっ歯類などの野生動物にペストが流行するペスト自然疫源地が内陸部の10地域に分布し、多くのペスト自然疫源地でネズミやノミからペスト菌が検出され、人ペストによる死亡者の発生は今でも雲南省や青海省、四川省、内蒙古自治区などで報告されている。今回の調査地域である吉林省では1940年代に人ペストの発生がみられたが、以後発生は報告されていない。動物ペストの流行は1986年まで省北部で観察されたが、1987年以降は観察されていない。しかし、吉林省では白城市から東に120Kmの地点に設置されたペスト流行監視点で今でも動物ペストの流行の監視が継続されている。ペスト菌 (*Yersinia pestis*) はペスト菌より病原性の弱いエルシニア菌 (*Y. pseudotuberculosis* と *Y. enterocolitica*) と共にエルシニア (*Yersinia*) 属に含まれる極めて病原性の強い病原菌であるが、これらの3菌種はプラスミド

表 1. 中国における人ペスト発生状況、1985-2000 年

年代	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	合計
病例数	6	8	7	8	10	75	33	35	29	7	12	98	43	24	14	254	663
死亡数	6	3	2	5	6	2	11	5	6	4	11	7	0	7	5	3	83

表 2. 中国における動物ペスト流行状況(省)、1985-2000 年

省	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	合計
青海		14	10	5	4	5	7	8	7	4	5	3	5	4	3	3	87
チベット		1	1	3	2	5	4	7	5	9	8	13	14	13	8	5	98
甘肅		3	2	3	3	2	2	3	3	3	2	3	4	3	4	4	44
ウイグル		5	6	5	8	5	3	9	3	3	4	3	4	4	4	5	71
内モンゴ		6	10	8	7	9	5	4	1	10	11	10	11	6	2	7	107
寧夏				1		1	1		1								5
キョウ西			1														2
河北										1	1						2
四川													1		1	1	3
雲南		3	2	2	2	6	8	9	6	8	11	17	19	19	19	16	147
広西																	1
貴州																	2
吉林		1															1
合計		33	32	27	26	33	30	40	26	38	42	49	58	49	41	46	570

表 3. 中国におけるペスト菌分離および血清学的検査結果、1985-2000 年 (高崇華氏提供)

年代	動物		間接凝集		昆虫	
	検体数	菌株数	検体数	陽性数	検体数	菌株数
1985	12,525	183	6,830	374	12,105	128
1986	15,470	180	54,915	394	6,687	114
1987	157,992	477	185,668	466	32,913	
1988	148,579	164	166,012	328	33,999	67
1989	55,025	186	36,279	607	19,383	47
1990	142,488	517	138,103	719	52,668	190
1991	149,002	288	131,514	361	11,675	65
1992	144,436	382	133,243	341	35,936	121
1993	132,895	184	135,736	295	56,966	46
1994	117,278	435	124,109	220	26,299	128
1995	120,773	370	118,631	534	30,367	66
1996	119,434	606	113,647	312	30,845	99
1997	132,581	149	120,074	234	28,305	129
1998	126,955	395	109,430	143	26,158	137
1999	138,740	234	123,057	189	34,220	51
2000	138,635	418	121,494	377	25,888	175
合計	1,852,808	5,168	1,818,742	5,894	464,414	1,563

内に再感染阻止に関与するV抗原を保有し、3菌種のいずれかに感染した動物は同一菌種又は他の菌種に再度感染することはない。本現象により、野生動物にエルシニア菌が分布する地域ではペスト菌の拡散が緩慢にはあるが阻止され、ペストの流行は抑制されるという理論がフランスのパスツール研究所のMorallet博士らにより提唱されている。しかし、実際にペスト自然疫源地において本理論を証明した研究は報告されていなかったが、私たちは1997～1999年に実施した中国寧夏回族自治区との共同研究において、2つのペスト自然疫源地でのエルシニア菌の分布を調査し、本理論に基づくペスト制御が可能であることを指摘した。

エルシニア菌の研究は1960年代に欧米で始まり、わが国では1970年代初めに相次いで発生した集団食中毒を契機に盛んに行われたが、食中毒事例が減少した現在では激減し、研究者も減少している。中国でも1970年代後半にエルシニア菌の全国調査が実施されているが、エルシニア菌の検査法はあまり普及していない。特に、ペスト流行監視点である地方病防治所ではペスト菌の監視が重視され、エルシニア菌の検査は元よりペスト菌とエルシニア菌の疫学的関係についての研究は全く行われていない。このような現状において、中国のペスト研究者とわが国のエルシニア菌研究者が協力し、エルシニア菌の再感染阻止の現象に基づくペストバリアーとしての働きをペスト自然疫源地で実証することは中国をはじめ世界各地に点在するペスト自然疫源地におけるペスト予防対策にとって極めて重要なことである。さらに、本共同調査によりエルシニア菌の検査技術を指導し、中国で自主的に調査を継続できる体制を確立することが重要である。

今回は、極めて短期間の滞在期間に実施した調査ではあったが、ペストバリアアートなるエルシニア菌が豚から検出されたのでその概要を報告する。

## 対象と方法

### 検査材料

吉林省地方病第一防治研究所鼠疫科と協議し、調査地域をペスト自然疫源地内にある白城市周辺とし、対象地域としてペスト自然疫源地外にある長春市南部の農村地帯を選定した。白城市周辺地域においてはエルシニア菌検査法の指導と疫学調査を兼ねた作業を実施する約1ヶ月前に野ネズミと豚、兎、犬の検体を採取し、材料を燐酸緩衝液に10%に浮遊し、冷蔵庫に保存し低温増菌したものを検査材料とした。検体採取法の指導を兼ね、白城市周辺地域ではさらに豚と兎、犬の糞便を追加採取した。長春市南部では農村地帯の農家を訪問し豚、兎、犬の糞便材料を採取した。一連の検体採取作業により、白城市周辺ではペスト保菌動物である黄鼠と沙趾鼠77匹をはじめ、野鳥5羽、犬103頭、豚169頭、兎64羽、合計420頭、長春市南部の農村地帯では豚219頭、兎101羽、犬10頭、合計350頭の動物の糞便を採取した。野ネズミについては回腸末端部の材料と直腸内容又は糞便、腸間膜リンパ節の3部位から材料を採取した。両地域で合計770頭の動物から924検体の材料を採取し検査に供した。

### 検査方法

白城市周辺地域で採取し、低温増菌培養した材料はアルカリ処理法で夾雑菌を除去した後、IN培地に塗布し、28℃24時間培養した。現地で採取した検査材料は直接分離培養と低温増菌培養に供した。直接分離培養は検査材料の10%浮遊液をアルカリ処理した後、IN培地に塗布し、28℃24時間培養した。また、現地で採取した材料の低温増菌培養液は3週間後に吉林省地方病第一防治研究所鼠疫科がエルシニアの分離培養を行う予定である。エルシニア菌の分離は上記の2つの方法で培養した寒天平板を観察し、寒天平板上に発育した菌のなかでエルシニア菌と疑われる菌の集落を釣菌し、TSI, LIM, エスクリン培地、トリプトケースソイ培地に28℃または37℃、24時間培養し、スクリーニング検査を行った。エルシニア菌と推定される菌株は更に生化学性状の検査を行い同定した。血清型別はデンカ生研のエルシニア型別用抗血清を用いて行った。

## 結 果

白城市周辺の豚3頭(1.8%)から*Y. enterocolitica*血清型03菌(1頭)と血清型09菌(2頭)、長春市周辺の豚2頭(0.9%)から血清型03菌が検出され、*Y. pseudotuberculosis*は検出されなかった。

表 4. 吉林省における動物からのエルシニア菌の検出結果

地域	動物	陽性頭数				
		検査頭数	合計	<i>Yersinia enterocolitica</i>		
				生物型 2	生物型 3VP 陰性	血清型 O3
			(%)	血清型 O9	血清型 O3	
白城市周辺	野ネズミ	77	0			
	野鳥	5	0			
	豚	169	3	(1.8)	2	1
	兎	64	0			
長春市南部地域	犬	103	0			
	豚	219	2	(0.9)		2
	兎	101	0			
	犬	10	0			
	合計	748	5	(0.7)	2	3

### 考 察

吉林省白城市周辺地域の家畜、特に豚から *Y. enterocolitica* 血清型 O3 生物型 3VP 反応陰性菌と血清型 O9 生物型 2 菌が、長春市南部の農村地帯では *Y. enterocolitica* 血清型 O3 生物型 3VP 反応陰性菌が検出された。吉林省においては 1985～87 年の全国調査において下痢症患者 4 名から *Y. enterocolitica* 血清型 O3 菌の検出が報告されているが、同時に調査された家ネズミ 80 匹と黄鼠 170 匹からは *Y. pseudotuberculosis* や病原性をもつ *Y. enterocolitica* は検出されていない。*Y. enterocolitica* の主な保菌動物は豚であるが、これまで吉林省では調査されておらず、今回の共同調査で吉林省においても豚が *Y. enterocolitica* を保菌していることがはじめて明らかにされた。全国調査によると豚における *Y. enterocolitica* の分布は血清型 O3 菌が福建省と江西省、寧夏回族自治区、青海省、遼寧省などで、血清型 O9 生物型 2 菌が江西省と寧夏回族自治区、青海省、黒竜江省などで報告されている。私たちは 1995～97 年の寧夏回族自治区との共同研究でベスト自然疫源地内の農村地域に飼育されている豚が *Y. enterocolitica* 血清型 O3 生物型 3VP 反応陰性菌と血清型 O9 生物型 2 菌を保菌していることを確認している。これらの成績から、中国の豚には *Y. enterocolitica* 血清型 O3 生物型 3VP 反応陰性菌または血清型 O9 生物型 2 菌が広く分布していることが推察される。

私たちは寧夏回族自治区との共同研究で 40 年前に人ベストが発生し、1991 年に動物ベストが流行した甘寧黄土高原ベスト自然疫源地の海原県と今でも動物ベストが流行している内蒙古ベスト自然疫源地の西端に位置する塩池県でエルシニア菌の分布状況を調査した。その結果、海原県では豚を中心にエルシニア菌が分布し *Y. enterocolitica* 血清型 O3 と血清型 O9 菌が豚から 6.7%、犬から 5.2%、農家の周辺に生息するネズミから 8.3% 検出されたが、塩池県ではエルシニア菌がほとんど分布せず、豚の 0.1%、犬の 1.8%、野ネズミの 0.5% から検出されたにすぎなかった。このことから、家畜や野生動物にエルシニア菌が分布している海原県ではベスト菌の侵入が阻止されるが、今でもベスト菌が流行する内蒙古ベスト自然疫源地の塩池県ではエルシニア菌の侵入が阻止されているであろうことを考察した。今回の吉林省の調査ではエルシニア菌の分布が極めて希薄であり、豚の 0.7% から *Y. enterocolitica* が検出されたのみで、野ネズミや犬、家兎からはエルシニア菌が全く検出されなかった。このことは過去におけるベスト菌の流行によりエルシニア菌の侵入と流行が阻止されたことによるのか、地理、気象等の影響によるのか、また他に何かの要因があるのかは短期間における限定された地域における調査結果のみでは考察することができなかった。これらの課題を解明するためにはより広範な地域における野生動物と家畜を対象とした系統的な疫学調査の必要が指摘された。

作成日：2002 年 6 月 24 日

## 交流報告書

### 吉林省におけるペスト制御を目的としたエルシニア菌の分布調査

研究者氏名 福島 博  
日本研究機関 島根県保健環境科学研究所

#### 講演

吉林省地方病第一防治研究所鼠疫科の職員を対象とし、「極東地域に分布するエルシニア菌とペスト菌の起源に関する研究」について講演した。

#### 指導内容

エルシニア菌の分布調査に必要な野外での検体採取とエルシニア菌の検査法について以下の点を重点に共同作業しながら指導した

- 家畜からの検体採取と疫学データの収集
- げっ歯類および家畜の糞便からのエルシニア菌の分離法
- 分離菌株の同定法
- 分離菌の血清型別法

#### 訪問先の状況

訪問先の検査施設は写真に示すように極めて貧弱なものであった。例えば、培地滅菌用の高圧滅菌器は自動滅菌装置、タイマー等がなく常時監視と圧力調節を必要とする機種であった。分離培養に不可欠なシャーレ、試験管、試験管立て等も数量が少なく、滅菌洗浄し再利用しなければならない。しかし、小型の高圧滅菌器と手洗いによる試験管の洗浄ではシャーレや試験管を効率よく回転利用することが困難であった。事前の打ち合わせで施設・器具・機材の現状を把握できたので、滅菌済みプラスチックシャーレ 500 枚と試験管 1000 本を日本から送付し、調査に供した。

地方病第一防治研究所の職員の労働時間は午前 8 時半から 11 時 30 分、午後 2 時から 5 時と短く、5 時以後は残業ができないため、日本で行っていると同様な検査は困難であり、いかに効率的な作業を計画するかが、成功のポイントであった。

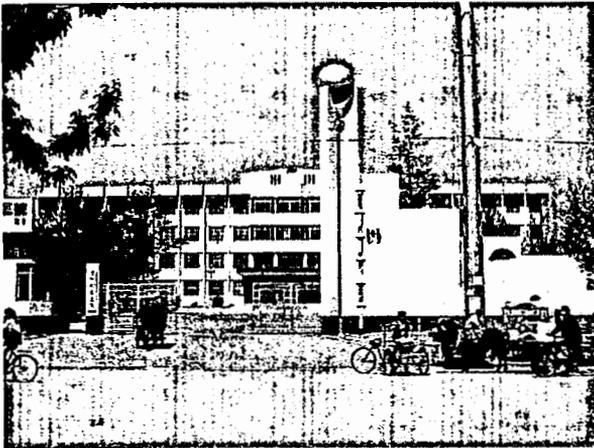
#### 課題

共同調査を担当した職員は今後エルシニア菌の分布調査を継続する意志は強いが、継続に必要な欧米製の培地類の調達に極めて困難であり、我々が調達した培地類がなくなった後の入手方法と、担当のルーチン業務を主体に行っている他職員の積極的な協力が得られるかが課題である。

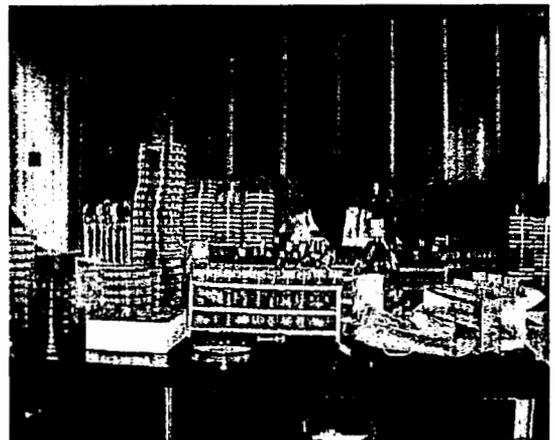
#### 今後の交流計画

今後、島根県から研究員が中国を訪問し共同調査等を実施する計画はないが、地方病第一防治研究所の独自の調査で得られた成績等の情報を交換し、成績の解析・指導等を地道に実施する予定である。

吉林省地方病第一防治研究所でのエルシニア菌の分布調査と講演



吉林省地方病第一防治研究所正面



エルシニア菌検査作業



実験準備室の様子 日本の 30 年前の設備と機械 (オートクレーブ) が使われている



家兎、豚、食用犬からの検体採取作業

学術報告会

