

赴日研習家禽流行性感冒疫苗研發技術報告

報告日期：93年3月18日

行政院及所屬各機關出國報告提要

系統識別號 C09300616

出國報告名稱：赴日研習家禽流行性感胃疫苗研發技術報告

頁數 20 含附件：☒是 ☐否

出國計畫主辦機關/聯絡人/電話

行政院農業委員會家畜衛生試驗所/鄭明珠/(02)26212111 轉 503

出國人員姓名/服務機關/單位/職稱/電話

鄭明珠/行政院農業委員會家畜衛生試驗所/疫學研究組/副研究員/(02)26212111 轉 503

陳燕萍/行政院農業委員會家畜衛生試驗所/疫學研究組/助理研究員/(02)26212111 轉 509

出國類別：☐1 考察☐2 進修☐3 研究☒4 實習☐5 其他

出國期間：92.12.07~92.12.21 出國地區：日本

報告日期：93.03.18

分類號/目

關鍵詞：家禽流行性感胃、正黏液病毒、疫苗

內容摘要：（二百至三百字）

本次出國的主要目的係前往日本北海道大學獸醫學研究所之微生物學研究室研習家禽流行性感胃之疫苗研發技術。以現有疫苗株之狀況研習禽流感病毒增殖、濃縮、純化技術並佐以其他技術以監視每一研製過程病毒的含量及純度的確認。同時由指導教授喜田宏老師提供疫苗種毒株篩選技術，以便未來能篩選出適用性高的高力價疫苗株以提高研發的商用價值。北海道大學喜田宏教授多年致力流行性感胃病毒的病因學、致病學、流行病學及預防控制學的研究，經驗豐富。本文包括引言、研習機構及之研究室簡介、研習日程、研習心得、綜合建議及致謝等部份，附錄家禽流行性感胃神經氨酸酶試驗、家禽流行性感胃病毒純化等相關實驗詳細操作方法。

本文電子檔已上傳至出國報告資訊網

目 次

引言	第 4 頁
研習機構及研究室簡介	第 5 頁
研習日程	第 6 頁
研習心得	第 6 頁
綜合建議	第 8 頁
誌謝	第 10 頁
附錄一：北海道大學獸醫學研究所簡介一份	第 11 頁
附錄二：家禽流行性感冒病毒濃縮與純化程序	第 12 頁
附錄三：神經氨酸酶試驗	第 16 頁
附錄四：神經氨酸酶抑制試驗	第 17 頁
附錄五：高增殖性 H5、H7 流感疫苗病毒株篩選方法	第 18 頁
附錄六：Preparation of a panel of avian influenza virus of different subtypes for vaccine strains against future pandemics (籌備各種不同亞型家禽流行性感冒病毒以應用於未來大流行之疫苗株) 論文一篇	第 19 頁

赴日研習家禽流行性感疫苗研發技術

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

疫學研究組 鄭明珠 陳燕萍

引言

鳥類流行性感病毒廣佈全世界，一般對家禽不致有太大影響，但高病原性的病毒株（HPAI）卻會引起雞隻大量死亡及惡性傳播之可怕結果。近幾年來禽流感在亞洲地區悶燒著，從 1997 年底香港爆發 H5N1 人畜共通傳染之高病原性家禽流行性感，造成 18 人感染 6 人死亡開始，去年（2003 年）12 月和今年（2004 年）年 2 月期間，一下子連續有 9 個亞洲國家爆發 H5N1 高病原性禽流感，並造成 33 人感染及 23 人死亡。而台灣雖然沒有爆發 H5N1，但是每年有成千上萬的候鳥遷徙往來，這些病毒隨時都有可能被傳播入境。我國近兩年在養鴨場監測到 H5N2 及 H7N7 弱毒株，今年 1 月則發現另一株 H5N2 弱毒散佈於養雞場。這些病毒雖然目前並沒有造成養雞場的最大威脅，但為考量未來可能突變成為強毒株之危機，我國政府目前採行病毒陽性檢出場強制撲殺策略，現階段仍不使用疫苗免疫策略。家禽流行性感疫苗現已有商品化疫苗，但為避免一旦爆發需緊急採購而有缺貨之虞，國內仍應建立研發技術及自行研發疫苗，以備所需。

本所過去進行疫苗研發工作上，採行由現有的國外分讓標準株及台灣野外分離株中選擇病毒株來當作疫苗株試製不活化疫苗，然而不活化疫苗的製造上需要較高的抗原力價才能達到免疫效果，所以必須將病毒濃縮才能達到效價。因此，如何將現有疫苗株增殖的病毒濃縮、純化以便製造達效價的疫苗，以及如何進行疫苗株的篩選以便獲得高力價的疫苗株，是當前我們研發疫苗上需要的重要技術。

此次臨危受命到北海道大學研習家禽流行性感之研發技術，則以現有疫苗株之狀況研習禽流感病毒增殖、濃縮、純化技術並佐以其他技術以監視每一研製過程病毒的含量及純度的確認。同時由指導教授喜田宏老師提供疫苗種毒株篩選技術，以便未來能篩選出適用性高的高力價疫苗株以提高研發的商用價值。

研習機構及研究室簡介

北海道大學位於日本東北部北海道札幌市市區內，學校創立於1876年，當時稱為札幌農學院（Sapporo Agricultural College），經過東北帝國大學（1907年）的改稱，直到1947年才稱為北海道大學（Hokkaido university）。獸醫學研究所（Graduate school of veterinary medicine）源於農學院時期的獸醫學講座（1910年），下設診斷治療學講座（Department of veterinary clinical sciences）、疾病控制學講座（Department of disease control）、生物醫學講座（Department of biomedical sciences）及環境獸醫學講座（Department of environmental veterinary sciences）四個講座。疾病控制學講座包括四個研究室，微生物學研究室、傳染病研究室、寄生蟲學研究室及實驗動物學研究室。每一研究室置教授、助教授及助手各一名。此次研習地點為疾病控制講座的微生物學研究室，教授喜田宏（Kida, Hiroshi）先生為現任獸醫學研究所所長，助教授岡崎克則（Okazaki, Katsunori），助手迫田義博（Sakota, Yoshihiro）。該研究室主要目標為研究動物及人類重要傳染病的預防及控制，探討病原體的病因學，因此研究範圍涵蓋宿主、個體、組織、細胞甚至到分子的層次。目前該研究室的研究重點有1)病原在自然界的來源、發展、及生生不滅的機致探討 2)傳染病的宿主範圍、傳播途徑、致病機制及免疫學，經由 *in vivo* 及 *in vitro* 來探討宿主與病原間的關係。3) 開發傳染病預防與控制策略。這些研究結果不僅對獸醫學貢獻良多，而且對於公共衛生學、野生動物病因學、及生命科學都有所助益。目前研究主題有 1. 流行性感胃病毒於自然界的起源與演化：預測新興的流行病毒株 2. 疱疹病毒、正黏液病毒、副黏液病毒之糖蛋白的結構與功能 3. 正黏液病毒與副黏液病毒之致病因素研究 4. 疱疹病毒之早期蛋白與流行性感胃病毒之聚合酶複合物 (polymerase complex) 結構與功能 5. 黏膜免疫：發展鼻用與口服用的 peptide 疫苗及 DNA 疫苗。

研習日程

月/日	星期	上午	下午	晚上
12/7	日		CX580 抵札幌	
12/8	一	參觀實驗室及設備	雞胚胎病毒接種	
12/9	二	討論研習內容及實驗方法	神經胺酸酶 (NA) 試驗	參加研究室研討會
12/10	三	NA 試驗	神經胺酸酶抑制 (NI) 試驗	
12/11	四	病毒抽取、離心濃縮	NI 試驗	
12/12	五	參加 6 年級生畢業論文發表會		
12/13	六	放假		
12/14	日	放假		
12/15	一	蔗糖液梯度離心純化病毒		
12/16	二	示範即時聚合酶鏈反應儀器應用於螺旋桿菌之種別鑑定		參加研究室研討會
12/17	三	病毒純化，包括病毒液 HA 力價、蛋白質濃度與蔗糖濃度的測定		
12/18	四	電子顯微鏡檢查		
12/19	五	最後討論		
12/20	六	放假		
12/21	日	CX581 返國		

研習心得

一、 研究環境：

十二月的北海道已開始偶爾飄雪，在此冰天雪地的環境裡，研究室裡的各個研究人員們仍衝勁十足，一點也沒被冰雪冰封住。為期兩週的研習日子裡，讓我們深刻體會與感動日本人研究工作之認真與執著，負責研究室內所有事務的助手 Sakoda 先生督促研究生每日的實驗及問題討論，即使是來研習的我們也不能例外。在這個研究室裡要求研究生白天必須進實驗室工作，約在下班的時間與教授討論當日研究情形，然後才能坐在電腦桌前整理資料及撰寫報告，因此研究室的研討會都不會佔用白天研究工作時間，一律在每週二的晚上進行。北海道大學購有豐富的校園網路電子期刊，提供研究人員非常方便的研究參考資訊，學校位於北海道札幌市的市中心內，交通方便，校園環境優美，學校每年提供海外留學申請並提供獎學金，所以有許多留學

生，在校園裡經常可看到來自不同國家的研究生來此進修，所以英語的流通在此還算普遍。

二、 研究人員：

喜田教授目前除了主持微生物學研究室外並兼任獸醫學研究所所長，所務繁忙，每天有不少的大小會議，沒有時間進實驗室工作。所有研究室內大小事務皆由助手 Sakoda 先生包辦。Sakoda 先生曾在此研究室獲取博士學位，具有完整的博士訓練過程，並曾經在家畜衛生試驗場做豬瘟研究，具有豐富的研究資歷，不管對研究生或對自己的要求都很嚴格。該研究室的研究生很多，除了進行獸醫學位論文的大學部 5、6 年級研究生一群之外，博士班研究生就有七位，有來自非洲、外蒙、中國大陸等國家。每位研究生進行的研究題目都不只一題，至少有三題，通常在畢業前選研究成果最順利的一題做為論文。助手 Sakoda 先生雖然瑣事繁多，但他進行中的研究也有 5 題，包括 135 株疫苗候選株的建立、豬瘟病毒病原性探討、牛病毒性下痢 (BVD) 單源抗體診斷試劑開發、H9 流感病毒抗體新診斷方法建立等，每一個研究主題的成果都有最高標準的自我要求，是喜田教授非常得力的助手。研習期間的所有研習項目皆由 Sakoda 先生安排博士班或資深的 6 年級研究生分別帶領我們進行各別項目研習。

三、 研究儀器設備：

我們實習的研究室分為分生及生化實驗室與感染性微生物室，生化室內經常進行神經胺酸酶試驗，最後步驟需添加 butanol 離心抽出雜質，butanol 屬揮發性有機溶劑，抽取之廢液需收集於規定的容器桶內。感染性微生物室中另闢一間三級生物安全室，供進行可感染人的香港禽流感病毒相關實驗用。進入感染性微生物實驗室需更換實驗衣，以藍、白不同顏色的實驗衣來區分感染性微生物室或非感染性實驗室用衣著。實驗動物舍也分成一般研究用及感染性研究用動物舍，一般動物舍裡飼養做為採血用雞隻及產製高免疫血清的雞隻或兔子用，飼養籠設計為自動定時沖洗排泄物，沖洗水的排出處完全密封包住，非常乾淨，沒有任何蚊蠅等昆蟲。感染性動物舍為負壓動物舍，進行任何具感染性物質的動物實驗用，實驗的小動物每隻放置一個隔離籠，每個隔離籠具有獨立的空氣過濾系統。實驗動物由研究生輪班負責清洗飼料槽、飲水容器及餵飼。每個實驗處理都需詳實的紀錄於動物舍出入口處的資料櫃。在實驗動物舍內令人感覺很舒服，沒有任何動物排泄物等氨氣或異味，安靜而沒有噪音，動物健康、皮毛乾淨，動物舍不會潮濕，沒有任何蚊蠅昆蟲老鼠等。在那裡使人深刻體認到實驗動物舍的環境好壞代表著他們對實驗動物的尊重程度，一個乾淨、

管理良好的實驗動物室或許也可同時提升國際訪客對於這個國家的形象吧！

四、 研習內容：

研習內容由助手 Sakoda 所安排，主要分為疫苗製作上的病毒純化程序及 Kida 教授希望我們加強的病毒 NI 鑑定兩大項試驗。我們從家禽流行性感全病毒死毒疫苗製作程序上進行起，包括 AI 病毒增殖、病毒回收、血球凝集力價測定、超高速離心濃縮病毒、以蔗糖梯度離心分液收集病毒、分液收集管之血球凝集力價測定、蛋白質濃度測定及其蔗糖濃度測定、各分液收集管之相關濃度測定值繪圖，最後將純化的 AI 病毒進行電子顯微鏡觀察。以上實驗由博士班研究生白小姐、6 年級研究生 Isoda 先生帶領我們進行，最後的電顯操作由專門負責電顯的博士班研究生 Kameyama 先生帶領進行。NI 試驗則由博士班研究生 Kishida 小姐和 6 年級研究生 Haraguchi 帶領我們進行。每位被指定帶領的研究生都有熟練的技術，先講解技術原理，再詳細教授每一基本步驟。雖然上述實驗的操作程序與一般研究報告中所寫的沒兩樣，但是這裡的研究生都受過非常好的基礎訓練，教授的實驗操作細節都令我們獲益匪淺，此時方領悟到實驗技術的傳承與對研究工作的態度之重要性。即使研究方法不是最先進的，只要有優良的實驗室基礎操作技術之傳承與訓練，這樣的實驗室進行的任何實驗往往都讓人肯定。如果實驗室的基礎操作能力不佳，即使進行多麼尖端的研究，這樣的實驗室研究成果的品質也會令人質疑。

綜合建議

一、 加強拓展實驗室國際觀：此次北海道大學研習，發覺喜田教授的研究室經常有他國研究人員到那兒去進修、研習或作博士後研究，喜田教授長年來也不斷拓展與他國相關實驗室的合作關係，他遠赴阿拉斯加、西伯利亞採集研究用樣本，發現了歐亞大陸鳥類帶禽流感病毒的來源與美洲不同，他深入中國大陸採集豬和禽的研究樣本研究，證實 1968 年亞洲發生的人類流感大流行 A/Hong Kong/68(H3N2) 病毒，是在中國大陸的禽類流感病毒和人類流感病毒在豬隻體內基因重新洗牌而來。1998 年他受邀來台灣指導我們建立禽流感實驗室診斷技術，之後連續 2 年他極力遊說我政府及亞洲各國來合作進行亞洲地區國際間的鳥類流感研究，研提世界衛生組織的研究計畫，然因台灣的特殊政治關係，這個計畫沒有通過。2001 年開始，他將北極圈候鳥棲息繁殖地的研究

往下延伸，進行外蒙古湖泊的鳥類採樣研究，得到的病毒株比西伯利亞更豐富。現在他進行各種亞型流感病毒的疫苗候選株基因庫的收集，以備禽流感突變成會感染人類時，能有即時的疫苗種株可資應用。有感於此，建議政府應鼓勵研究室國外合作研究的計畫與強化經費補助（尤其是農政方面），使國內農政方面的研究人員可拓展更寬廣的國際觀，將具水準的研究成果應用於國際間。

二、妥為規劃研究人員技術的傳承：日本的大學研究室內的編制都是一位教授、一位助教授和一位助手，下面帶領博士研究生和大學部研究生，明顯表現了實驗技術傳承的制度。喜田教授雖然公務繁忙，但助手訓練出的研究生卻熟練各個實驗技術。他們注重實驗室紀律、遵守實驗室規範，每位研究生都必須經過嚴格的獨立思考訓練，這樣的研究生畢業之後，如果進入研究部門工作，可以很快擔任具有獨立思考性與作業的能力的工作。我們應該從現在開始，馬上建立一套有制度的訓練規劃，從大學部獸醫系的學生開始，讓有意從事實驗室研究工作的學生接受逐步嚴格的訓練，落實實驗室安全理念及遵守實驗室紀律。政府試驗單位的技術傳承更不可失，雖然有些技術老舊，但是訓練本身就是磨練個人的操作及思考能力，所以我們應該妥為規劃實驗室研究技術的傳承，研究的成果才會受信任，機關的知名度才會受肯定。

三、禽流感監測與研究工作分流制：國際間對於流感的研究從 1997 年之後炒得熱滾滾的，反觀國內對於流感投入的研究人力與研究深度都差太多。因禽流感屬於惡性傳染病，所以本所責無旁貸需肩負起監測與診斷的工作，但流感病毒不斷變化，宿主範圍廣泛，監測的工作愈顯繁重，而永無止日之感。以香港 1997 年爆發 H5N1 禽流感的病毒株為原點，上游可追溯到病毒來自 1996 年廣東的鵝病毒株，下游至目前則可分出複雜的諸多基因群，表示才 6 年的演化，這個備受矚目的病毒已經繁衍成多群不同的子代。所以 H5N1 已經成為亞洲地區的地雷，隨時可能有再爆發的危機，監測的工作陸續會積壓在每個國家的一群工作人員身上。因此建議對於禽流感的監測與研究工作應採分流制，並鼓勵學術單位投入禽流感的研究，提供研究成果予政府擬定具體而有效的防疫措施，不會因為監測的繁重工作影響研究發展工作。

誌謝

本次研習決定匆促，感謝 Kida 教授在短時間內，毫無猶豫接受我們的研習，雖然他一直強調反對政府使用疫苗來控制高病原性家禽流行性感冒的這種策略，但他仍樂意給予我們在疫苗研發上實驗技術的指導，並於百忙當中親自到新千歲機場接送。感謝 Dr. Sakoda 安排研習期間的一切，並不吝給予指導、協助解決研究的困難；感謝研究室博士研究生白小姐花許多時間帶領進行實驗操作，並充當我們的小翻譯官。帶領我們進行其他試驗操作的研究生們，在此也一併致謝。

附錄一：北海道大學獸醫學研究所簡介一份

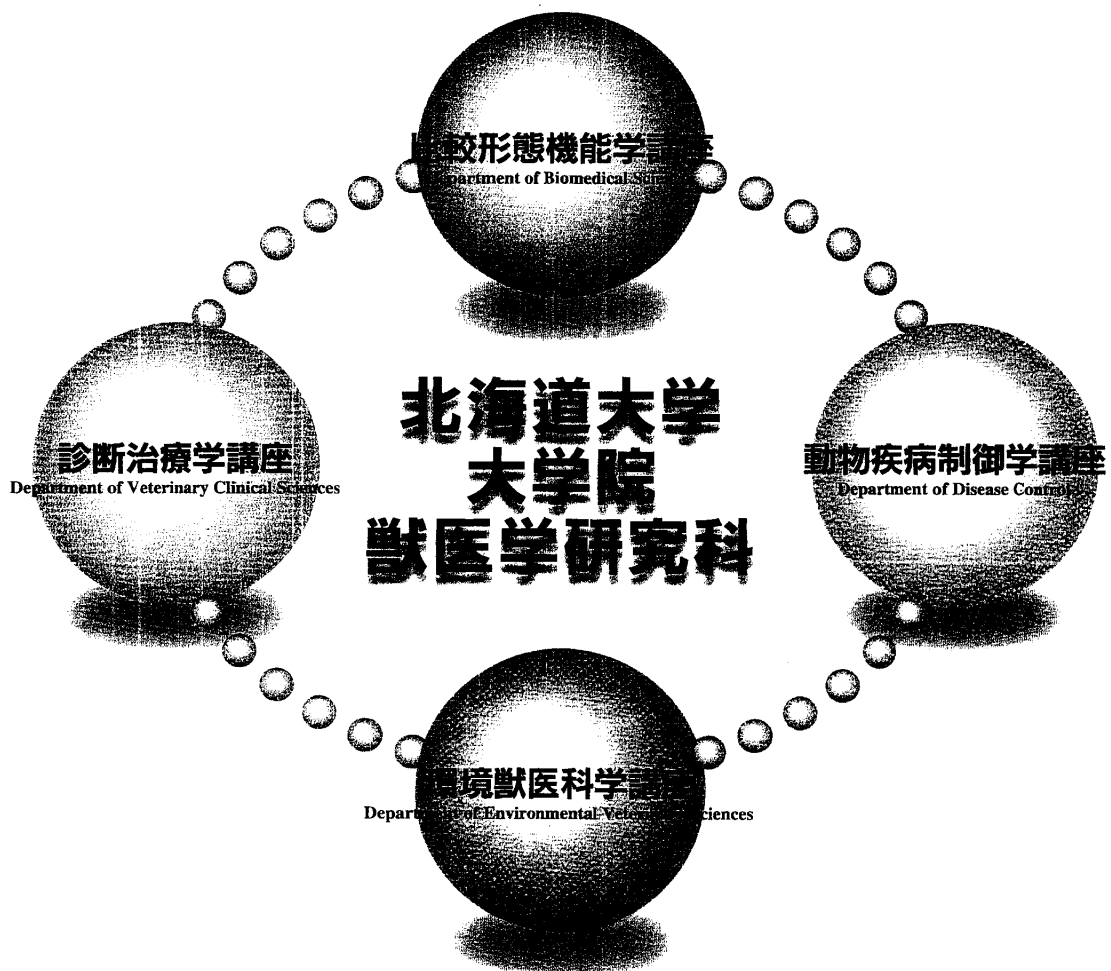


THE GRADUATE SCHOOL OF
**VETERINARY
MEDICINE**

北海道大学 獣医学研究科
大 学 院

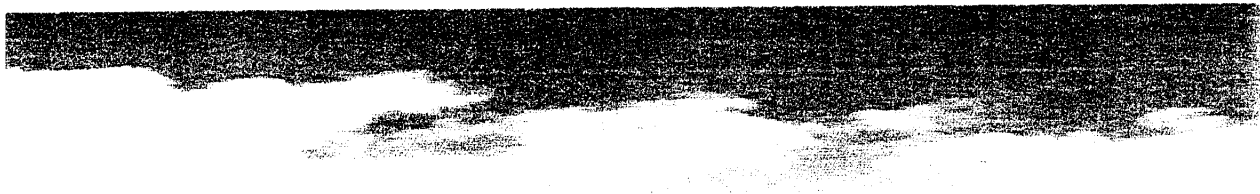


Hokkaido University



北海道大学大学院獣医学研究科はその下に国立唯一の獣医学部を擁し、診断治療学講座、比較形態機能学講座、動物疾病制御学講座、環境獣医科学講座の4つの大学院大講座を柱とする教育研究組織で、我が国の獣医学研究のメッカとされています。古くは市川厚一博士による世界初の人工タール癌の作出、新しくは鴨が運びブタが育むヒトのインフルエンザの伝播経路の解明や、エキノコックスの研究など、数々の輝かし





CONTENTS

大学院の概要	②
大学院の現況	④
国際交流	⑥
研究環境について	⑦
大学院での生活	⑨
獣医学研究科の授業	⑫
診断治療学講座	⑬
動物疾病制御学講座	⑬
比較形態機能学講座	⑮
環境獣医科学講座	⑳
附属動物病院	㉑
学位(課程博士)授与一覧	㉒



北海道大学 大学院獣医学研究科の概要

クラーク精神 Clarkii Spirit

北海道大学の前身、札幌農学校の初代教頭クラーク博士はアメリカ独立戦争を戦ったマサチューセッツの地に生まれ、南北戦争で北軍が大儀としたアメリカ独立宣言の精神の発揚した時代を生きた。マサチューセッツ農科大学の学長でもあったクラーク博士の教育精神は、キリスト教的良心に基づく民主主義と、アメリカ独立宣言の思想である自由、自主、独立と平等の精神であったと言える。

博士は札幌農学校の開校祝辞で、「長年の間、東洋の国々を暗雲のごとく包んで来た因習と身分制度の暴政からの素晴らしい解放は、教育を受けようとする全ての学生達の胸に高邁なる大志を抱かさずにはおかない。」と述べ、明治維新の士農工商の身分制度の廃止と封建制度からの解放により、人々が平等と自由を獲得したことは実に素晴らしいことであり、学生達の胸に大きな志を持たせるものであることを述べた。

また、札幌農学校教頭としてクラーク博士は、多くの細かな校則を排して、「紳士たれ」の一言を校則とし、学生達の独立心、自律心を目覚めさせ、個の確立を促した。明治31年発行の「札幌農学校」は同校生徒の手による書であるが、名著として当時の多くの青年に読まれた。その中で、札幌農学校の学生が目指すものは、自主独立と不撓不屈の精神であるとしている。クラーク博士が札幌を去る時、島松まで見送りに来た学生達に残した言葉「ボーイズ、ビーアンビシャス（青年よ、大志を抱け）」はあまりにも有名であるが、学生達は、その大志達成のための精神的支柱もしっかりと教育されていたわけである。わずか8カ月あまりの日本滞在ではあったが、クラーク博士は札幌農学校の一期生達に鮮烈な印象と大きな精神的影響を与えて札幌農学校の基を築いた。クラーク博士の信仰と教育における精神を一期生達はクラーク精神（Clarkii Spirit）と呼び、自らを律する糧とした。

北海道大学獣医学研究科／獣医学部の歴史

北海道大学における獣医学教育の歴史をたどると、札幌農学校の設立当初にまで遡ることができる。札幌農学校では、学生達に教養科目、農学諸科目とともに獣医学を教育することが決まっていた。

札幌農学校の本格的な獣医学の専門教育はカッター博士に



水産学をも講じ、また、英語、英文学をも教えた多彩な才能の持ち主であった。1910年に獣医学講座が開設され、1913年には獣医学部の前身、畜産学科第二部が設置された。この年、後にウサギの耳に世界初の人工がんを作ることになる市川厚一博士が卒業している。1949年に農学部獣医学科となり、平戸勝七教授の尽力で、1952年には獣医学部として農学部より独立した。現在でも他の国立大学では、農学部の学科として獣医学教育が行われており、北大獣医学部は国立大学唯一の獣医学部である。学部設立当初から米国型の、臨床のみに重きをおいた教育方針は採らず、我が国の実情に応じた教育体勢として、動物生命科学全般に渡る基礎研究の講座をも併設し、臨床講座でも研究を重視し、「研究の北大」と言われるほど高度の研究レベルを維持してきた。北大獣医学部のこうした教育体勢が我が国の獣医学教育体勢に与えた影響は少なくない。1995年北大獣医学部は大学院にその重点を移行し、正式名称を北海道大学大学院獣医学研究科とし、研究重視を制度面でも支える体勢となった。

獣医学研究科のもとに存在する獣医学部は、獣医師と言う職業人の養成とともに、将来、大学院に進学し、研究者となることを希望するものの基礎教育をも役割としてになっている。本学部の目指すところは、国際レベルの質の高い獣医師の養成であり、本研究科の目指すところは、国際レベルの質の高い研究者養成である。生命科学の研究者である前に獣医師であることが研究の展開に幅を持たせる結果になることは言うまでもない。また、獣医師となる前に、基礎研究のトレーニングを受けることは、獣医師として臨床に臨み、質の高い医療を行う上で重要である。

研究重視に加え、本研究科・学部のもう一つの特徴は、国際性である。研究科では多数の外国人研究者との共同研究プロジェクトや、シベリア、北方4島、東南アジア、南米、アフリカ等をフィールドとした海外学術調査が進行中である。また、世界各国から多数の留学生が本研究科で学んでいる。同



北海道大学 大学院獣医学研究科の沿革

- 明治 9 (1876) 札幌農学校が開校する（北大の前身）
W.S.クラーク博士着任
10 (1877) 4.16クラーク博士離任
11 (1878) J.C.カッター博士着任、明治13年より獣医学を開講
36 (1903) 現キャンパスへ移転
40 (1907) 東北帝国大学農科大学と改称
43 (1910) 獣医学講座が開設される
大正 2 (1913) 畜産学科第二部が出来る
(これが獣医学部の前身である)
タール癌で有名な市川厚一博士はこの年の卒業
7 (1918) 北海道帝国大学として独立
昭和22 (1947) 北海道大学と改称
24 (1949) 農学部獣医学科となる
27 (1952) 獣医学部獣医学科となり、以下の講座がおかれた。家畜内科学・家畜外科学・家畜衛生学・比較病理学・家畜解剖学・獣医生理学・獣医公衆衛生学講座
28 (1953) 家畜病院が設置され、家畜生化学・家畜伝染病学講座が増設される
北海道大学大学院に獣医学研究科を設置
29 (1954) 家畜薬理学・家畜臨床繁殖学を増設
30 (1955) 家畜寄生虫病学講座を増設
41 (1966) 農学部から現在の北18条に移転
44 (1969) 獣医放射線学講座を増設
59 (1984) 学校教育法の一部改正により、獣医学教育が6年制になる
61 (1986) 実験動物学講座を増設
平成 2 (1990) 毒性学講座を増設
7 (1995) 従来の2専攻15学部講座を1専攻4大学院講座に再編、大学院の教育・研究に重点をおいた組織に移行
12 (2000) 研究棟本館改修



カッター博士



北海道大学大学院獣医学研究科は日々に新た



春の中央ローン

獣医学が関わりをもつ分野は、動物の疾病の予防、治療のための臨床獣医学はもとより、公衆衛生、医薬品開発、動物愛護、動物資源や環境の保護や保全など広範囲にわたっています。すなわち、獣医学は動物のみならず人の健康にも大きく関わっており、その進展が生命科学の重要な一翼を担っていると云えましょう。本獣医学研究科は従来から、数多くの研究者を養成し社会に送り出して参りましたが、さらに多様な時代の要請に応えるべく、平成7年4月1日をもって大学院研究科講座化を果たし、大学院の研究教育を主目的とする所謂大学院大学に衣替えをしました。これによって、従来からの専門分野における研究の一層の深化と、それらの総合化をめざす体制となりました。

さて、下表の入学者内訳から明らかなように、本研究科は国内的にも国際的にも大きく開かれ、他学部学科の修士課程終了（見込み）者や企業で活躍されている技術者や研究者など社会人も受験できます。専門科目（社会人は小論文）と英語の筆記試験および口述試験に合格しますと入学が許可されます。入学後は指導教官のもとで、あるいは社会人はそれぞれの職場で研究を行います。必要な単位を取得し、研究成果を論文にまとめ、学位審査をパスすると学位「博士」（獣医学）が授与されます。

■入学者内訳

入学年度	入学者数	本学出身	他大学出身	他大学内訳及び留学生内訳
平成12年	15	7	8	酪農学園大1, 北大地球環境研1, 東京大1, ロンドン大1, スリランカ1, 韓国1, 中国1, タイ1
11年	17	8	9	酪農学園大2, 鳥取大1, 韓国2, バングラデシュ1, ザンビア2, スーダン1
10年	31	12	19	酪農学園大3, 東京農工大1, 北里大1, 日本大3, 鳥取大2, 宮崎大1, 中国1, フィリピン3, エジプト2, 韓国1 (鳥取大)
9年	18	7	11	北大農1, 酪農学園大1, 帯広畜産大1, 日本大1, 鳥取大1, フィリピン1, インドネシア2, エチオピア1, ザンビア1, アメリカ1
8年	21	3	18	北大薬1, 酪農学園大1, 帯広畜産大2, 岩手大学, 筑波大1, 京都工芸大1, 鳥取大1, 韓国5, フィリピン1, カンボジア1, スーダン1, ザンビア1

The Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, consists of 1 division, Veterinary Science, which contains 4 chairs, Biomedical Sciences, Disease Control, Veterinary Clinical Sciences and Environmental Veterinary Sciences. Each chair consists of 4 to 5 special subjects which are concerned with the basis of veterinary science, control of infectious disease, diagnosis and therapy of diseases, and the effect of toxic materials on environmental living bodies. The Graduate School awards the Doctor of Veterinary Medical Science (Ph.D.) degree for successful completion of the approved graduate course and research.

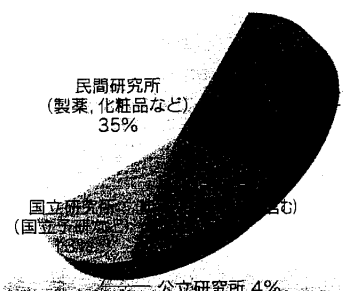
To qualify for admission into the Doctor of Veterinary Medical Science (Ph.D.) course, an applicant must be a graduate (B.V.M.) of a six-year (undergraduate) course in Veterinary education or have a Masters degree and must pass the entrance examination. To receive the Doctor of Veterinary Medical Science degree (Ph.D.), students must do research work for a period of at least four (4) years in any of the specialized research laboratories, submit a dissertation and pass an oral examination.

非常に高い 獣医学大学院修了者のニーズ

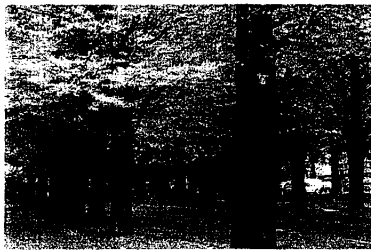
卒業生の就職先

下の円グラフに示すように、本研究科の卒業生の約半数は国内外の国、公、私立大学において、獣医学、医学、生物学、その他の領域の教官として教育・研究に従事しており、次いで民間の研究所、国公立の研究所の順になっています。民間研究所で研究に従事している卒業生の研究分野は医薬品、食品、化粧品などの開発研究です。

■就職先



平成15年



秋のイチョウ並木―北大薬学部付近

獣医学博士が社会に貢献する分野

ベテリナリー・メディカルサイエンス

Veterinary Medical Sciences

- 教育・研究 ————— Education and Research
- 畜産水産分野 ————— Animal Husbandry and Fisheries
- 野生動物の保護 ————— Protection of Wild Life
- 環境保全 ————— Environmental Protection
- 国際協力 ————— International Cooperation
- 臨床 ————— Veterinary Practice
- 公衆衛生 ————— Public Health
- 医薬品開発 ————— Research and Development of Drugs
- 医薬品、食品安全性 — Food and Drug Safety
- 実験動物研究 ————— Experimental Animals

獣医学研究科入学者（日本人）の進路

獣医学研究科に入学した学生のうち単位を取得し論文をまとめ修了する場合と、途中で大学の助手等の就職のため退学する場合がある。学生の進路について各入学年度で修了者と退学者を合わせた合計で示す。

なお、平成2年度入学者から大学院は4年制へ移行した。

入 学 年 時 修 了 年 時	平成6年度 (平成10年3月修了)	平成7年度 (平成11年3月修了)	平成8年度 (平成12年3月修了)
日本人入学者数 (外国人入学者数)	18 (8)	18 (1)	12 (9)
就職先			
大学の助手等	6	8	5
公立の研究機関	1	3	1
民間、研究所等	1	1	
動物病院、自営	3	1	
そ の 他	7	5	6

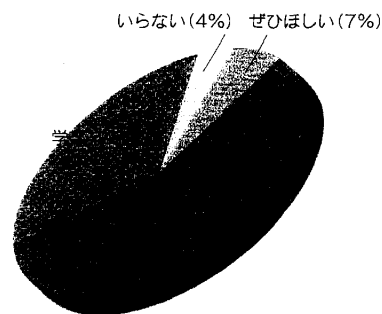
北大獣医学部では平成4年6月、北海道大学大学院獣医学研究科における大学院教育の社会的ニーズに関するアンケート調査を、国公立研究所、一部上場製薬・化学関連企業など130ヶ所に対して行いました。以下はその結果の一部です。

1. 昔学士様、今博士様

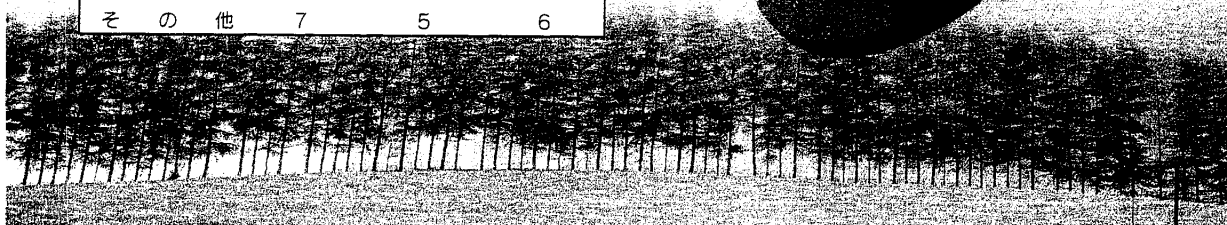
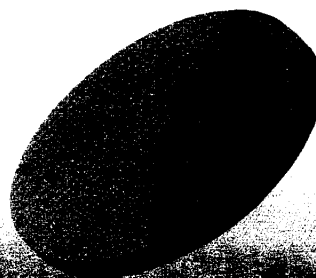
獣医学部は6年制をとっており、学部終了者は他学部修士課程修了者相当であることをことわった上で、大学院修了者（博士号取得者）の必要性をたずねたところ、円グラフで示すような結果となりました。国公立の研究所では「是非必要である」「必要である」を合わせて100%で、全ての研究所が獣医学大学院修了者を求めています。一方、驚いたことに、一般企業の66%もが獣医学の博士号取得者を必要としており、「学部出身者で充分である」（30%）を大きく上回りました（円グラフ参考）。これは最近の新しい傾向といえるでしょう。欧米のコピー製品製造から自社開発製品へと日本の企業が体質改善しつつあることがこのニーズを生んだものと考えられます。

【大学院博士課程修了者のニーズ】

■民間企業からの回答



■国公立研究所からの回答



2. 活躍が期待される職場と分野

獣医学大学院出身者の活躍の場として国公立の研究機関と大学が第一にあげられ、次いで民間研究所、国連等国際研究機関、政府等があげられていました。本研究科の卒業生の進路とほぼ一致した結果といえます。

活躍が期待される分野としては、基礎医学研究、創薬研究、教育、臨床、畜産、バイオテクノロジー関連、その他の順となっています。

3. 強い大学院改革への要請

アンケート対象の93%が近年の科学技術の高度化と多様化に対応するため、大学院の改革が必要であると答えています。さらに、大学院の教育・研究に投ずる国の予算については98%が充分とはいえないと回答しており、大学院の教育研究設備と民間の研究所のそれとの格差については、「大学院は民間以上の設備を備え、民間を指導できる態勢にすべきである」という回答が最も多く、次いで「民間レベルまで改善すべきである」が多数を占め、両者で94%が大学院設備の改善を求めています。この回答には明治以来日本の大学の技術教育が今日の日本の科学技術の発展を支えてきたという評価と、最近までの行政の大学軽視に対する批判と、これからも大学は科学技術の発展のため指導的立場にあって欲しいという社会的要請と期待が反映されているものと考えられます。本アンケートに限らず最近このような社会的要請がマスコミ等で明らかにされつつあり、行政側の対応も少しずつ改善されてきているようです。

4. 大学院に社会人対象の卒後教育コース！

これまでも大学卒業生であれば誰でも、研究生又は受託研究員という形で自分の選んだ講座に所属し、研究を行う方法がありましたが、周辺分野の知識も含めて系統的に知識および技術を収得できる正式な卒後教育コースが平成7年度より、新たに設置されました。先のアンケートで卒後教育のニーズを尋ねたところ81%がその必要性を指摘し、84%がそのような制度があれば希望者に教育を受けさせると回答しています。このことから高度の技術教育を受けた人材がいかに必要とされているかが分かります。

これを受けて獣医学研究科では平成7年度より社会人入学制度を実施しています。

国際交流

1995年に獣医学部から大学院獣医学研究科に改組され、教育・研究の国際化をめざしてきました。国際会議の開催、海外出張、国際共同研究の推進、協定締結大学との交流、留学生や外国人研究員、研修員の受け入れなど、従前にも増して国際交流活動が活発に行なわれています。これらの活動については、教官個人およびグループに加えて、研究科国際交流委員会が対応しています。

1. 国際共同研究、国際会議など

文部省科学研究費や日本学術振興会事業などの支援による国際共同調査・研究が毎年2—3件実施されているのを始め、教官の個人レベルでの国際共同研究も活発に行われています。また本研究科教官が主催する国際会議、シンポジウム、集会も毎年1—2件開催され、海外への出張、研修等を通じての国際的な活動は年間40—50件にのぼります。

2. 学部および大学間交流協定

本研究科は現在、ザンビア大学獣医学部（1991年）および慶北大学獣医学部（韓国、2000年）と学部間協定を締結し、研究者の派遣や受け入れ、共同研究の実施など、学術交流を図っています。また、ソウル大学獣医学部及び全北大学獣医学部（韓国）とも学部間協定を締結してきましたが、これらの協定は大学間協定に変更され一層交流が深まっています。ソウル大学とは毎年大学間協定にもとづくシンポジウムがソウルと札幌で交互に開かれており、我々もこのシンポジウムに毎年参加しています。1999年には全北大学獣医学部から9人の学生と1名の引率教官が研修の為、8日間の日程で初めて来道しました。今後、これらの大学に加えて、北海道大学と大学間交流協定を締結している獣医学部のある大学（米国のハイオ州立大学など）との交流も推進されることになっています。

3. 留学生、外国人研究員

本研究科では、アジア・アフリカを中心に世界各国から多数の留学生を受け入れています。2001年10月現在の在籍留学生は37名で、学部学生6名、研究生5名の他は全て大学院学生で、国費（文部省）18名、私費15名、その他4名となっております。留学生に対しては、専任教員（留学生担当）が配置され様々な支援を行っておりますが、学生が年々増加しつつあり、教育・研究や支援体制などを早急に整備拡充する必要があります。

また、国際共同研究や技術協力事業の推進に伴い、本研究科で受け入れる外国人の客員研究員や研修員の数は、1995





春のエルムの森—北大理学部付近

International Academic Exchange

By conducting outstanding research, we aim to become an internationally recognized center for Veterinary Science. In order to contribute to the development of life sciences as well as veterinary medicine, we carry out fundamental and interdisciplinary research projects.

The school actively participates in international academic organizations and carries out collaborative projects with researchers from other countries. We have research and educational exchange agreements with the Faculty of Veterinary Medicine of the Seoul National University, the Chonbuk National University, Kyungnook National University of Korea, and the University of Zambia. In the last 5 years (1995~1999), there has been increasing interest from foreign scientists and we have hosted 235 visiting scientists from many countries.

Currently (Oct , 2001), we have 6 undergraduate students, 5 research students (kenkyu-sei) and 26 graduate students enrolled from many countries. Of these, 18 are recipient of Japanese government (Monbusho) scholarship, 15 with private scholarships and 4 with foreign government scholarship grants.

It is our hope that this page will prove useful to those interested in the research activities of our Graduate School. Please feel free to contact us if we could be of help or for further inquiries.

Foreign Student Advisor: Tadayoshi YAMAZAKI Dr. Sc.

研究科の研究費と設備について

平成7年度より獣医学部は大学院重点化されて獣医学研究科が主体となりましたので、より一層研究に力を入れて、レベルが高く国際的にも評価される成果を発表することが求められております。そのためには、教官やポストドク研究員、大学院生など、誰でもが必要に応じて効率よく円滑に研究を実施できるような環境（研究体制、経費、施設・設備など）が整っていないとできません。

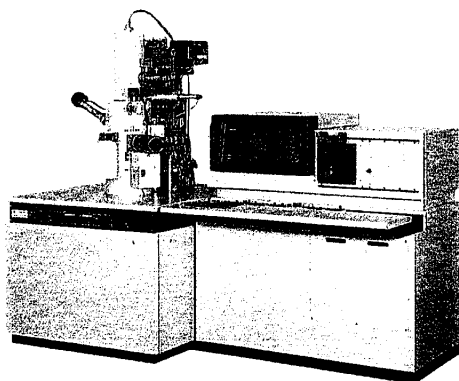
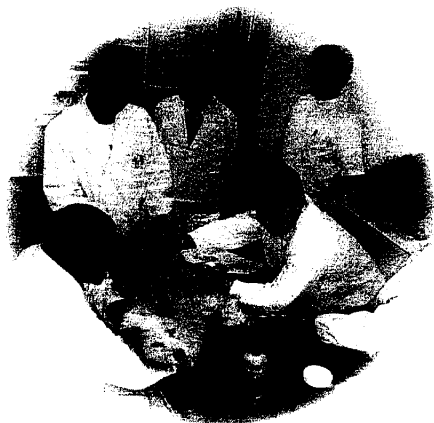
研究は、各教室が最小単位を形成して行われていますが、そのなかで更にいくつかの小グループに分かれたり、複数の教室が共同して一つのプロジェクト研究を行なう場合もあります。更に研究科内にとどまらず国内外の他の研究者との共同研究も活発に行なわれています。これらの多様な研究に必要な費用は、文部科学省からくる経常的な校費が基本になりますが、光熱水料などの管理費・共通経費を除くと教室当たり400万円ほどにしかならず、大幅に不足します。従って、科学研究費補助金（科研費）や各種省庁・民間機関などからの資金（奨学寄付金や受託研究費）を得ることが必須になります。このためには、研究計画を提案申請し審査をパスする必要がありますが、最近はこの様な提案公募型・競争的研究資金の比率が高くなりつつあります（例えば平成12年度は校費の約2倍）。

この様な研究費によって、個々の研究者や教室の日常的研究、実験、調査などの研究が実施されますが、最近では研究が高度化・専門化するに従い、高額な大型機器が必要になることが多くなりつつあります。これらの機器は個人・教室で購入するには高額すぎますので、研究科全体で購入して共同実験室にまとめて設置にしています。日常的管理運営は専門の教官と技官が担当し、利用マニュアルを作成して誰でも容易に使用できるように便宜をはかっています。主な共通機器は次の表にある通りです。

■研究科内の主な共通大型機器

- 透過型電子顕微鏡 ●走査型電子顕微鏡
- レーザー共焦点顕微鏡 ●超遠心機
- 高精度画像記録装置 ●X線撮影装置
- 超音波診断装置 ●動物用CT ●ペプチドシークエンサー
- DNAシークエンサー ●フローサイトメーター
- 電子スピン共鳴装置 ●キャピラリー電子泳動装置
- ハイハイメーションアライザー ●生体高分子構造解析装置





Scientific Equipments of the Graduate School of Veterinary Medicine

In April 1995, the Faculty of Veterinary Medicine was reorganized as the Graduate School of Veterinary Medicine with the goal of promoting outstanding science research. To achieve this goal both sufficient funds and modern scientific equipments are indispensable. In order to carry out research project efficaciously, each laboratory is organized into research units having the necessary equipment for routine work. Since it is difficult for individual laboratories to purchase large expensive equipments, they are bought and maintained as common equipments in our Graduate School. Manuals explaining how to use these apparatuses safely and effectively are prepared by professors.

獣医学研究科動物施設

獣医学は、家畜・伴侶動物を含めたあらゆる動物が対象であり、これらの動物を収容する動物施設は教育・研究上不可欠です。

平成7年4月末に糞尿処理施設（245m²）を併設した鉄筋4階建ての動物施設（建物面積866m²、延面積1588m²）が完成しました。この動物施設ではマウス、ラット等の実験小動物から、ウシ、ウマ等の大動物に至るまで多種類の動物を飼育できます。一階の一部は中大動物の感染実験ができるように設計されています。また、本館屋上には、感染小動物飼育室（マウス・ラット）、感染中動物飼育室（ニワトリ）、寄生虫感染動物飼育室があり、感染実験ができるように設計されています。また、野生動物飼育室（齧歯類）も設置されています。平成11年にはダイオキシン対策を施した焼却炉もできました。

本動物施設は、獣医学研究科実験動物委員会ならびに動物施設運営委員会により2名の動物施設担当技官の助けをかりて運営されています。

Experimental Animal Facility

The Experimental Animal Facility was completed in April 1995. It consists of a 4-story building which has 1588m² of total floorage. Both small and large animals can be raised in the Facility. We also have areas for experimental inoculation of both small and large animals with infectious agents.

This Facility is managed by the Experimental Animal Committee with the assistance of two technicians. The Facility was constructed with careful consideration given to the problem of environmental pollution due to animal excretions and infectious agents.



■動物病院

目的：獣医学の臨床教育および研究を効果的に行うために、附属施設として家畜病院（通称：動物病院）が設置されています。家畜病院には、地域社会に獣医療の場を提供するほか、卒後研修や獣医師間の情報交換の場としての機能も求められています。

施設・設備：診療部門では大動物診療手術室、小動物用の診察室、処置室、手術室、入院室などが整備されています。検査部門では血液検査、臨床生化学検査、ME検査、X線検査などのための各検査室が設置されています。主な設備としては多目的X線TV撮影システム、X線CT断層撮影装置、超音波診断装置、大動物用回転手術台、全自動多項目血球計数装置、臨床生化学自動分析装置などがあります。教育部門の施設として視聴覚設備を整えた講義室、臨床検査実習室、小動物手術実習室などが整備されています。

診療体制：診療は、1名の病院専任教官と11名の大学院診断治療学講座の兼務教官により、第一および第二内科、外科、繁殖科の4診療科体制で行われています。さらに一般臨床検査、特殊検査、病理検査および画像診断の4部門からなる臨床検査科が設置されており、より高度な検査・診断が可能な体制を整えています。

（病院担当助教授 田島 誉士）

Veterinary Teaching Hospital

The Veterinary Teaching Hospital is the facility in the Faculty with responsibility for clinical practice and research work on veterinary education. In 1995, the Hospital building was renovated as a two-story building with approximately 2,800 m^2 of floorage. In the building, the following rooms or suites are to be found on the first floor: Large animal clinic wards with treatment and surgery rooms; small animal clinic wards with 5 treatment rooms, 2 surgery rooms and 5 hospitalization rooms; a radiology suite; a medical engineering examination room; a clinical pathology and laboratory examination room; a pharmacy and administration area; a lecture room with audio-visual equipment; clinical practice rooms and a consulting room for foreign students.



研究者としての第一歩を札幌で First steps as a professional in Sapporo

北海道大学大学院獣医学研究科に進学するに当たって、特に他大学出身者の場合には入学後の研究テーマや札幌での生活費など幾つかの不安があるでしょう。ここでは実際に大学院の学生生活を送っている2人の学生の感想をご紹介しますとともに、育英会の奨学金等について説明します。



診断治療学講座
繁殖学教室 博士課程4年

石川 明子

新しい環境に身をおくことは緊張と不安を惹起しますが、新たな出会いや刺激によって喜びを得ることも少なくありません。私の場合、同学の獣医学部を卒業後そのまま大学院に進学しましたので、新たな環境に飛び出したわけではありません。しかし、短期間ではありますが、学生の頃に他大学の実験室に滞在し、刺激的で充実した毎日を過ごしたことが大切な経験となりました。

大学院に進学したのは、卒業論文の研究テーマをもう少し進めたいという理由からです。進学を決める際には、指導教官である先生方に相談し、4年間の研究計画を立てました。なかなか計画通りに進まないということは身をもって知りましたが、指導していただく先生方と本人との間に研究の骨子に対するコンセンサスがあることは重要だと思います。

大学院生となり自らの研究を進めるなかで、様々な分野の研究者の方々と出会いました。そういった出会いは私にとって貴重な討論の機会であり、今まで考えもしなかった研究のヒントを与えてくれる場でもあります。とすると、勝手知ったる住み慣れた教室の中だけで生活することが多くなってしまうので、研究者に限らずできるだけ様々な人々との関わりを持つように心がけています。

私の所属する繁殖学教室は、獣医外科学教室、獣医内科学教室および臨床分子生物学教室と同様に午前中には附属動物病院での診療を行っており、教官と共に学生および大学院生が参加しています。また、近接して農学部附属農場があり、そこでの繁殖管理にも携わっています。こうした小動物や大動物と接する機会を持つことで、実験室にいると忘れがちな動物に向き合う感覚を維持することになっているのではないかと思います。

大学院生活の経済的な状況についてですが、私の場合は日本育英会の奨学金が主要な生活費となっています。その他に、学生実習のティーチングアシスタント、および獣医学研究科の動物飼育施設で休日にウシ、イヌ、ニワトリといった実験に供される動物たちの世話をするアルバイトをして収入を得ています。したがって、身も心も寒くなるようなことはありません。

あらゆる環境にいる場合と同様に、大学院での生活が私にとって100パーセント常に幸せというわけではありませんが、時間の自由があり、自分で組み立てた研究を行うことができ、研究成果を共に分かち合える仲間がいるという環境にいることは、恵まれていると思います。



Graduate Student Life in Veterinary Surgery

Edward F. Barroga, DVM

Ph. D. Student from the University of the Philippines, Laboratory of Veterinary Surgery, Department of Veterinary Clinical Sciences

It was through the generous acceptance of Professor Toru Fujinaga of the Laboratory of Veterinary Surgery that enabled me to do my Ph. D. research work for 5 years in the graduate school of Veterinary Medicine at Hokkaido University. My first year was a year of both enthusiasm and adjustment to a whole new way of life and culture and educational system. The daily intensive Japanese language course given to us during the first six months prepared us for our full time study later on as we entered our own faculties. By October of the same year, I passed my Ph. D. entrance examination before being officially accepted into the laboratory of veterinary surgery. From here

on, the next 6 months ushered me in first time to a very unique learning experience, one that will sharpen my flexibility, patience, endurance, skill and knowledge in a very unique and extraordinary way.

The second year was the year of serious business. By this time, regular and daily participation in the numerous veterinary clinical cases and the bi-weekly surgeries in the veterinary teaching hospital, ranging from soft tissue, tumour, dental and orthopaedic surgeries that came in sizable numbers gave me wide actual learning experiences in veterinary surgery. Clinical cases involving the use of computed tomography (CT), magnetic resonance imaging (MRI), doppler ultrasound, echocardiography, photodynamic laser therapies and radiotherapy have been tremendously educational. Delicate surgeries involving correction of patent ductus arteriosus, spinal tumors and those regular triple pelvic osteotomies were all worth the efforts of those long surgical hours of learning.

It was also during the second year that the bulk of my experimental research work started. I have been working on the theme, Differentiation therapy of osteosarcoma, one of the most lethal bone tumors affecting dogs, and as such had to do a lot of clinical oncology in vitro and in vivo experiments that aimed to inhibit the proliferation and suppress the malignant properties of the neoplasia through the initiation of normal differentiation process and induction of programmed cell death.

The third year became a year of great strides. While many more clinical cases and surgeries came, coupled with one's pressing experiments, some parts that had already been completed made preliminary manuscript write-up's and publications possible. I also had some opportunities to present my initial research findings in international conferences held in other parts of Japan. All finally culminates at the graduation research defense presentation in Japanese towards the end of the fourth year.

Life and study here has been a continuous learning process. It was those rare national holidays, summer and winter vacations that gave me a breather and time to relax and visit different places in Hokkaido and sometimes the beautiful southern parts of Japan. It is indeed both a privilege to be learning and to be part of the veterinary surgery laboratory.



奨学金その他

1. 日本育英会奨学生

経済的理由によって就学が困難な大学院生には日本育英会奨学生の制度があります。最近5年間の採用状況は表1のとおりですが、本学獣医学研究科では希望者のほとんどが奨学生に採用されています。平成13年度入学者の奨学金の支給月額11万9千円で、この額は札幌で学生生活を送る上で、贅沢はできませんが、ほぼ充分な金額となっています。

2. 日本学術振興会特別研究員制度

日本学術振興会では4年制大学院博士課程の学生に対し、研究計画を審査の上2年次から特別研究員（DC）として採用し、年額約90～150万円の研究費（旅費含む）と給与月額約20万5千円を2～3か年間にわたって支給する特別研究員制度を設けております。これは若手研究者の萌芽的・先端的研究を進展させるために始められた制度ですが、本学獣医学研究科大学院生は毎年1～2名が採用されています。なお、これに採用されますと日本育英会奨学生は辞退することになります。

3. 授業料免除制度

授業料の納入が困難で、かつ学業優秀なものに対して授業料免除制度があり、希望者は入学後申請します。最近の採用状況は表2のとおりです。

4. ティーチングアシスタント制度

大学院生は学部学生の実習の際には教官の指導の元に実習を円滑に進め、また研究室においては学部学生の卒業論文研究などのための実験に助言を与えたり、実験方法を指導したりしています。さらに、臨床系講座の大学院生は本学附属動物病院における診療や学部学生の実習における教官の補助をするなど、学部教育におけるスタッフの一員としてなくてはならない存在となっています。一方、大学院生にとってこのような経験は将来における指導者としての資質を養う上で貴重な経験となるはずで、この様なことから、大学院生を「ティーチングアシスタント」として採用し、賃金が支給されるようになりました。まだ十分な額ではありませんが、平成5年度は年額約4～6万円が支給されております。

5. 私費外国人留学生に対する奨学金および授業料免除

私費外国人留学生に対して様々な奨学金制度があり、支給額は月額3～15万円です。希望者は大学院入学後申請しますが、現在は希望者の半数が支給を受けております。また、授業料免除制度もあり、希望者は入学後申請しますが比較的許可されやすいようです。

■日本育英会奨学生志願者および採用者数

入学年度	入学者	留学生を除いた数	奨学金志願者	採用者
平成12年度	15	11	9	9
平成11年度	17	11	9	9
平成10年度	31	23	18	18
平成9年度	18	12	7	7
平成8年度	21	12	11	11

注：奨学生に採用されるには

1. 人物・学業ともに特に優れ、かつ健康であること。
2. 本大学院において、研究継続に奨学金の貸与が必要と認められる者。
3. 本人の収入が年間472万円までの者。

■授業料免除申請者および免除者数

年 度	前 期			後 期		
	申請	全免	半免	申請	全免	半免
平成12年度	27 ⁹	14 ⁶	4 ⁰	25 ⁹	16 ⁶	2 ¹
平成11年度	30 ⁶	26 ⁵	4 ¹	30 ⁸	27 ⁷	3 ¹
平成10年度	30 ¹⁰	24 ⁸	1 ⁰	29 ⁸	22 ⁶	4 ⁰
平成9年度	33 ⁵	15 ²	8 ⁰	31 ²	17 ²	5 ⁰
平成8年度	26 ⁰	20 ⁸	3 ¹	26 ¹⁰	23 ⁰	20 ⁰

（博士課程合計の数値で、上段は1年生の数値〔内数〕）

注：授業料免除の基準

1. 授業料の納入が困難で、かつ、学業成績優秀な者。
2. 1の納入が困難な理由としては、
 - ①風水害等災害を受けた場合
 - ②学費負担者が死亡した場合
 - ③その他
3. 前年の年間収入額から各種控除した後の金額が
 - 200万円程度が全額免除対象
 - 300万円程度が半額免除対象
 但し、家族数、所在地等により若干違いがあります。

Scholarships and exemption from tuition fees for self-supporting students.

Self-supporting students may apply to various kinds of organizations for scholarships ranging from ¥30,000-150,000/month. Eligible students may apply for these scholarships after admission to the course.

Exemption from tuition fees may also be available for self-supporting students. Application may also be made after admission.



獣医学研究科の授業内容

北海道大学大学院獣医学研究科の授業内容は平成7年、大学院大学への移行にともない大幅に改訂された。改訂の主旨は、広い視野を有する優れた研究者を養成するために、研究中心のあり方から授業を充実することとした。具体的には複数の教官が事前に協議して詳細な授業計画を立て、教育効果の向上に資することとした。新しい授業の開講形態として夏休み・冬休みを利用することにしたが、受講者数が少ないことなどの問題点が指摘され、平成11年度から以下の方法で開講している。

必修としては特別研究（学位論文）18単位、獣医科学演習（教室のセミナー）6単位と実験計画法2単位があり、選択は4単位以上を履修することになっている。このうち実験計画法の2単位と選択の4単位については毎年開講され、夏休みから10月頃にかけて集中で実施している。必修の実験計画法はⅠとして1年目に共通機器の操作と実験実例ならびに実験動物を用いた実験計画・統計処理をとりあわせている。Ⅱとして2年目に研究経過討論を実施している。また増えてきた留学生への配慮として英語による講義も実施している。選択科目としては毎年、獣医学特論（1単位）を2つ開講している。これは、当研究科の教官が中心となり外部の講師と一緒に2日間にわたり集中講義を行うものである。昨年は“サイトカインと病態”と“環境ホルモン学”の2つを開講した。今年は“遺伝子診断・治療”と“分泌の科学”の2つを開講する。この他に2～3の全学共通講義（生化学や脳科学など）がある。学生は4年間に選択を4単位以上履修する必要がある。

学生は4大講座のいずれかに属し、その講座内で研究計画に関する知識、研究遂行に必要な技能を実際の研究を通じて修得する。また研究成果の評価や研究論文の作成に関しては大講座内で討論を通じ、研究者として必要な基礎的な訓練を受ける。

上記の授業の外に各講座が必要に応じて開講する講義は以下の通りである。その授業内容は、各学問分野の先端的な領域をカバーしており、学生がレベルの高い学位論文を作成するのに寄与することが期待されている。さらに学生は所属講座の授業のみならず、他講座が開講する授業も積極的に聴講し、研究者として視野を広げ、独創性を涵養することが要請されている。

比較形態機能学講座

比較形態学特論、免疫組織学特論、比較生理学特論、

神経学特論、比較解剖学特論、比較生化学特論、

動物疾病制御学講座

遺伝子解析学、実験動物学特論、寄生物学特論、ウイルス進化学、伝染病比較病態学特論、原虫免疫学特論、寄生虫免疫学特論、寄生虫進化生態学特論

診断治療学講座

臨床血液学特論、獣医内科学特論、比較麻酔学特論、獣医外科手術学特論、細胞工学特論、臨床繁殖学特論、疾病病態学、外科病理学特論、臨床検査学特論

画像診断学、遺伝子病学

環境獣医科学講座

比較毒性学特論、環境病理学、疾病制御学、人獣共通伝染病学特論、遺伝子制御学特論、発癌機構学、動物生態保全学特論



An outline of the doctoral program

The aim of the doctoral program is to develop the student's ability as an independent researcher in a specific field as well as to accrue a detailed knowledge of his speciality. The program offers many lectures and seminars on advanced veterinary medicine which covers basic, applied and clinical sciences.



診断 治療学 講座

Department of Veterinary Clinical Sciences

診断治療学講座

診断治療学講座には、DNA、遺伝子および分子レベルでの基礎的研究を行う分子生物学教室があり、そして内科学・外科学・繁殖学の臨床教室が各種疾病に対する診断・治療などの臨床関連の研究を行い、更に比較病理学教室があつて臨床病理検査を含む各種の検査が行われる態勢にあり、獣医学の基礎・臨床・応用が密接な協力体制を持って教育・研究に当たっている。

教育・研究内容の特色は、動物疾病の精度の高い診断法、特に臨床病理学的・血液学および生化学的検査を基にした総合的臨床診断法や近年発展の著しい画像診断および遺伝子診断などの新しい診断法であり、もう一つは、内科学的・外科学および繁殖学的治療法の組み合わせによる効果の高い治療法に関する教育・研究で、人工臓器・血液の開発、臓器移植ならびに不妊症治療や生殖の人為的支配としての人工授精、胚移植、体外受精や核移植などを含む高次治療法の教育・研究である。

Department of Veterinary Clinical Sciences

The activities and research work of the Laboratory of Pathobiology are concerned with hemodialysis in domestic animals, radiology, clinical biochemistry in dairy cows and the application of ultrasonics to veterinary clinical diagnosis. The main research areas at the Laboratory of Internal Medicine are comparative hematology and blood parasite diseases. The Laboratory of Surgery is concerned with the pathophysiology of acute-phase reactive proteins, clinical oncology, tumor cytokine therapy and general anesthesia.

The Laboratory of Theriogenology is concerned with the physiology and pathology of the male and female reproductive systems including the biotechnology of animal reproduction. The Laboratory of Comparative Pathology focuses on viral, protozoan, hereditary and nutritional diseases; chlamydiosis, calicivirus and herpesvirus infections, Newcastle disease, cyclosporiasis, myopathy, neuropathy, lead poisoning and many others.

獣医内科学教室
Laboratory of Internal Medicine

獣医外科学教室
Laboratory of Veterinary Surgery

比較病理学教室
Laboratory of Comparative Pathology

繁殖学教室
Laboratory of Theriogenology

臨床分子生物学教室
Laboratory of Pathobiology



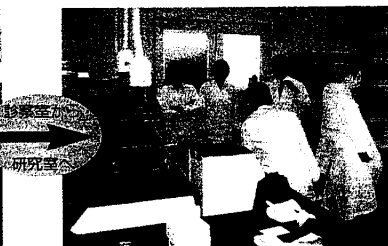
獣医内科学教室

Laboratory of Internal Medicine

教授 前出 吉光 Maede, Yoshimitsu
 講師 大和 修 Yamato, Osamu
 助手 山崎 真大 Yamasaki, Masahiro



生命を救う 研究は血液の一滴から



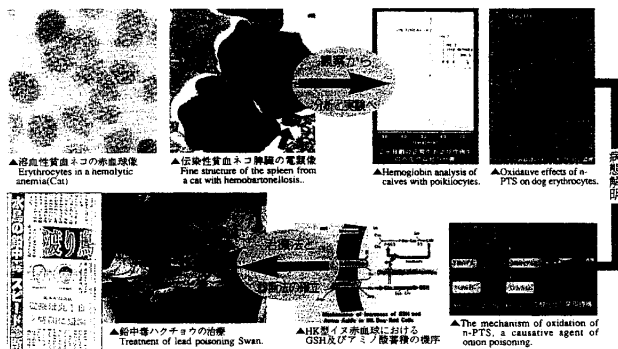
内科学(medicine)は、病気の動物についてその原因と病態を明らかにすることにより、適切な診断・治療を行い、回復させることを目的とする臨床科学です。したがって当教室の研究目的は、種々の病気の原因究明および疾患動物体内に発生する病的変化を解析して病気の成り立ちを解明するとともに病気の診断・治療法を確立することです。この目的達

成のために当教室ではいろんな研究手法が用いられています。病原体や細胞の培養、電子顕微鏡や超音波診断装置、レントゲンによる形態観察、各種クロマトグラフや吸光光度計、電気泳動装置などの分析用機器による体液や体細胞の生理生化学的分析、遺伝子診断や遺伝子治療のための分子生物学的解析などですが、これらは動物の病気を解明するための手

段に過ぎません。しかし、これらを駆使することによって赤血球の遺伝的異常をもつイヌやウシの発見、タマネギ中の貧血原因物質の発見、バベシア原虫の培養法の確立、重油汚染海鳥の死因解明や鉛中毒水鳥の治療及び診断法の確立など、当教室独自の業績を挙げることができました。現在は主に以下のテーマに関して研究が行われています。当教室は本学附属動物病院で内科診療を担当していますが、病院には原因不明の病気の動物（最近は野生動物も増加）が多数来院します。したがって今後は新しい研究テーマがさらに増えていくでしょう。君も私達と一緒に、動物の生命を救う研究を始めてみませんか。

(現在の主要研究題目)

- 犬の熱性溶血性疾患であるバベシア原虫(Babesia gibsoni)感染症に関する研究
 1. バベシア原虫の感染による赤血球の酸化障害機序に関する研究
- ネギ(Allium)属植物により発症する溶血性貧血に関する研究
 1. タマネギ中毒発症メカニズムの分子論的解明
 2. ニンニクの血液毒性の解明
 3. Allium属植物含有化合物の機能性の検索
- 動物のリソソーム病に関する研究
 1. イヌのGM1ガングリオシドーシスの疾患モデル化
 2. イヌのGM1ガングリオシドーシスの遺伝子診断法および治療法の検討
 3. リソソーム病発症動物の検索

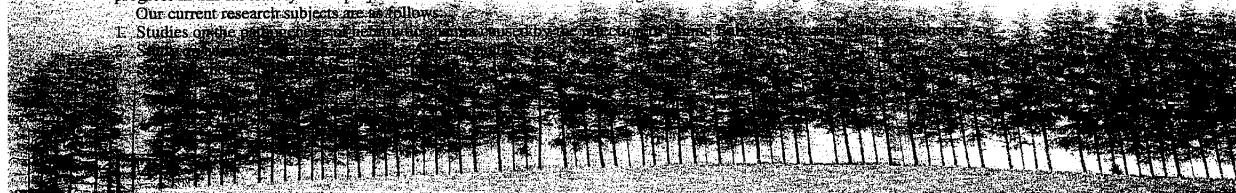


Laboratory of Internal Medicine

This laboratory has been studying the pathogenesis of hemolytic anemia caused by infectious agents, chemicals and hereditary erythrocyte disorders. These researches investigate biophysical and biochemical changes of erythrocytes from animals with hemolytic anemia. Currently, a different project is in progress in this laboratory. This project studies molecular mechanisms of genetic disorders in dogs.

Our current research subjects are as follows:

1. Studies on the pathogenesis of hemolytic anemia caused by infectious agents, chemicals and hereditary erythrocyte disorders.



獣医外科学教室

Laboratory of Veterinary Surgery

教授 藤永 徹 Fujinaga, Toru

講師 康澤 剛 Kadosawa, Tsuyoshi

助手 奥村 正裕 Okumura, Masahiro



科学のメスを入れるのは君だ!!



当教室では、獣医学部学生に対して獣医外科学に関する教育・研究指導ならびに本学部附属動物病院における外科診療科を担当し、実際の臨床例を通して臨床教育を実施しています。動物病院における診療は、毎週月・水・金曜日の午前中が一般外来動物の外科疾患の診療を、火・木曜日が外科疾患に対する外科手術を行っています。動物病院の診療および学生の教育は、本教室教官3名の他、非常勤獣医師、ティーチング・アシスタントなどが参加し、実施しています。学生は、一般外

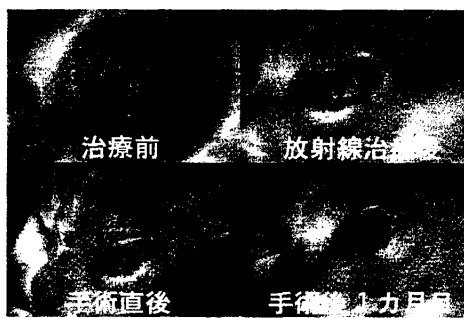


来診療日には診療終了後の症例検討会、手術日には手術ミーティングを通して外科診療に関する治療手技等を総合的に学習します。

その他、当教室では外科疾患に対してさらに理解を深めることを目的に、週1回の外科臨床に関わる最新文献を用いたセミナー、月1回の症例発表会を実施しています。また、各学部学生に課される卒業研究は、外科臨床の発展に寄与しうる内容を、週1回の研究報告会および月1回のリサーチ・ディスカッションにおいて指導を受けながら行います。

研究科案内 (研究内容のみ変更)

1. 動物の創傷治癒促進治療の開発・応用
2. 小動物腫瘍の診断・治療法の開発・応用
3. 動物の関節疾患に関する病態解析および新しい診断・治療法の確立
4. 麻酔動物における血行動態、心肺機能評価、および周術期管理の改善
5. 小動物の歯牙疾患の新しい治療法の改善
6. 産業動物における蹄葉炎の発生調査および病態解明
7. 牛の呼吸器疾患の診断・治療法の開発



放射線と外科手術による猫の扁平上皮癌の治療



犬の尺骨内側鉤状突起離断症
CT3D像
CT断層像

Laboratory of Veterinary Surgery

1. Improvement of wound-healing acceleration therapy in animals.
2. Studies on diagnostic and therapeutic modalities for cancer in small animals.
3. Establishment of new diagnostic and therapeutic devices in animals with joint diseases.
4. Hemodynamic analysis, evaluation of cardiopulmonary function and improvement of perioperative management in anesthetized dogs.
5. Improvement of periodontal and endodontic therapy in dogs.



教室紹介

比較病理学教室

Laboratory of Comparative Pathology

教 授 梅村 孝司 Umemura, Takashi

助教授 落合 謙爾 Ochiai, Kenji

助 手 木村 享史 Kimura, Takashi



どういう病気？ なぜ病気になるの？



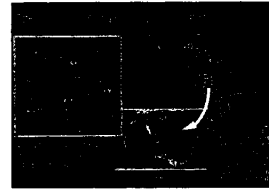
解剖風景
Dissection room



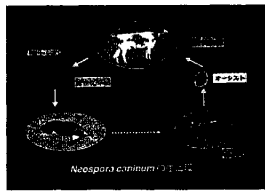
超薄切片の作製
Making ultrathin sections



鉛中毒で衰弱したマガン
Debilitated White-fronted goose due to lead poisoning



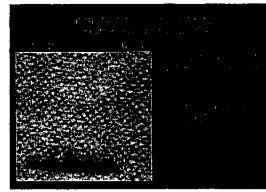
水鳥の鉛中毒症の原因
Cause of lead poisoning in waterfowl



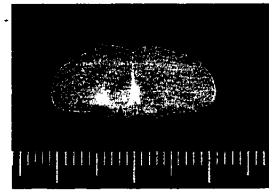
Neospora caninumの生活環
Life cycle of Neospora caninum



Neospora caninumのタキゾイト
Tachyzoites of Neospora caninum



馬の組織中に検出されたヘルペスウイルス遺伝子
Herpes virus gene detected in equine tissues



チャボの脳腫瘍 (いわゆる fowl glioma)
Brain tumor (so-called fowl glioma) of Japanese bantam

当教室は1922年に設置されました。初代教授の市川厚一博士は“獣医病理学は基礎医学にも貢献する学問領域である”との観点から比較病理学という教室名を付けられ、その精神は今日も受け継がれています。

当教室における研究業務は二つに大別されます。一つは、どういう病気か？を明らかにすることです。つまり、犬猫などの愛玩動物、牛や馬などの産業動物、動物園や水族館で飼育されている動物、および野生動物の病気を診断し、病気の原因を明らかにし、治療や予防に役立てることです。その中で、動物

の新しい病気や病気の原因を発見することがあり、それを研究発表しています。

二つめは、なぜ病気になるのか？を明らかにすることです。病気とは細胞死に始まって次々に展開される生体反応のカスケードであり、その全容を明らかにして病気の診断、治療、予防に役立てようというものです。

以上の二つの研究を行うため、光学顕微鏡および電子顕微鏡を使った形態学的手法の他、免疫学および分子生物学的手法も多用されています。現在行われている研究の主なテーマは下記のものです。

1. ネオスポラ症
2. イタイタイ病の動物モデル
3. 馬のヘルペスウイルス脳炎
4. インフルエンザ脳炎
5. 犬のガングリオンドーシス
6. 鳥のウイルス性脳腫瘍



脳腫瘍中に発見された鳥痘ウイルスの電子顕微鏡写真
Electron micrograph of virus particles found in the brain tumor of Japanese bantam

Laboratory of Comparative Pathology

Our laboratory was established in 1922 and was named "Comparative Pathology", since the first professor Dr. Kouichi Ichikawa thought veterinary pathology should contribute to human medical science as well as veterinary science. His concept on veterinary pathology has been kept by his successors.

Researches in our laboratory are largely divided into the following two activities. The first is the diagnosis of animal diseases. Our laboratory diagnoses and searches for the cause of the diseases of companion animals such as dogs and cats, farm animals such as cattle and horses, the animals kept at zoological gardens and aquariums, and of wild animals. Our results are applied for the treatment and prevention of the animal diseases. The subjects of scientific reports derive from the researches on the diseases of animals.



繁殖学教室

Laboratory of Theriogenology

教授 高橋 芳幸 Takahashi, Yoshiyuki
 助教授 片桐 成二 Katagiri, Seiji
 助手 永野 昌志 Nagano, Masashi



21世紀のバイオテクノロジーに挑む 受精卵移植で世界をリード



図2. エゾヒグマの胎子（分娩18月前）。エゾヒグマは6月に交尾を行うが、胚は約59日間も発育停止状態で子宮内に浮遊している（着床遅延）。胚の着床は11月頃に起こり、34日後の冬眠中（翌年2月頃）に未熟子を分娩する。
 Fetus of Hokkaido brown bear (*Ursus arctos yesoensis*).

当教室は、昭和29年に家畜臨床繁殖学講座として家畜外科学講座より独立し、家畜の人工授精に関する研究、特に細胞遺伝学的研究と精子の形態・機能学的研究を行ってきました。昭和57年頃からは、牛の受精卵（胚）移植の研究が主体となり、胚の採取、培養、保存および移植に関する研究や技術面の実用化および普及に大きく貢献してきました。

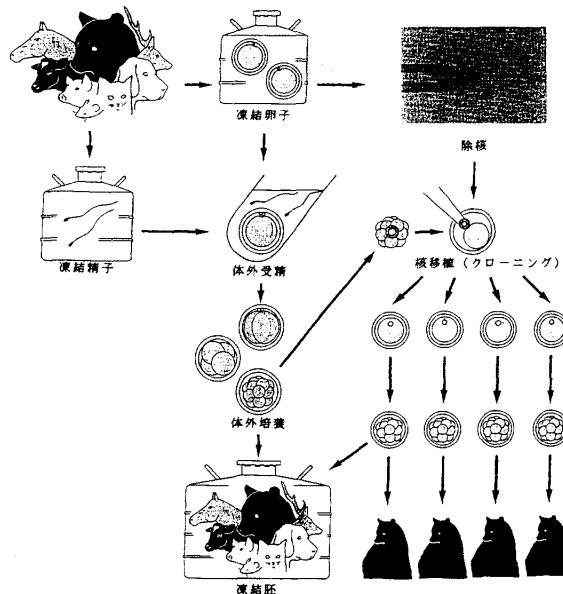
最近、胚移植技術に伴って発達してきた家畜胚の体外生産（原始卵胞の培養、体外受精、核移植）に関する研究をメインテーマと

して、基礎的研究に重点を置いています。このほか哺乳動物胚の着床に至る過程での胚と子宮の相互作用に関する研究や、野生動物、特に北海道に生息するエゾヒグマの繁殖生理学的研究なども進めています。将来的には、これらの研究成果を犬猫などの伴侶動物や野生動物を含めた哺乳動物の保存と増殖、繁殖障害（卵胞発育、排卵、胚発生および着床の異常）の機序解明や関連する疾病の新しい診断治療法の開発に応用することを目指しています。

研究題目

1. 家畜胚および卵母細胞の体外生産と保存
2. 哺乳動物胚の着床のメカニズム
3. 野生動物、特にエゾヒグマの繁殖生理と人工繁殖技術に関する研究

図1. 将来の繁殖技術：精子と卵子は長期低温（凍結）保存され、解凍後に体外受精が行われる。受精後は体外で培養後、再び低温（凍結）保存され、必要に応じてrecipientに移植して子孫を得る。また、核移植によるクローニングも行われ、同一遺伝形質を有する動物個体が多数作出される。
 Emerging reproductive technologies.



Laboratory of Theriogenology

Our laboratory was established in 1954 to undertake research on artificial insemination in domestic animals, especially on cellular genetics and the physiology and morphology of sperm. From 1972 onwards, bovine embryo transfer was the main field of research, embryo recovery, culture, cryopreservation and



臨床分子生物学教室

Laboratory of Pathobiology

教授 橋本 晃 Hashimoto, Akira

講師 滝口 満喜 Takiguchi, Mitsuyoshi



診断・治療法の変革と 進展を追求する

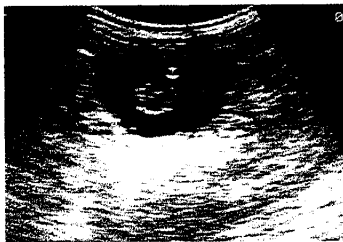


図1. 超音波ガイド下羊水内接種時の超音波画像
Ultrasonogram of ultrasound-guided intraamniotic sac inoculation.

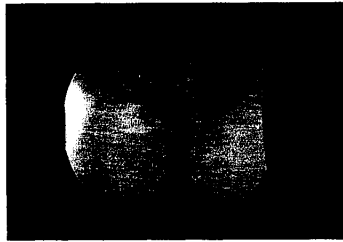


図2. 超音波内視鏡による膵臓抽出の操作を示すX線透視像
Fluoroscopic image displays imaging procedure of canine pancreas using endoscopic ultrasonography.

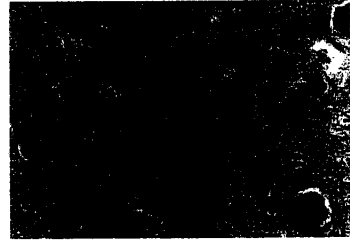


図3. 潜伏した犬ヘルペスウイルスの再活性化による三叉神経節炎
Trigeminal ganglionitis induced by reactivation of latent canine herpesvirus.

当教室は難治性疾患、高次診断および先端獣医療の3つをキーワードとして1995年に新設された。動物に発生する難病を含む種々疾患の原因や病態を、細胞あるいは分子レベルで解明し、その成果に基づいた診断・治療法の開発に関する教育・研究を行うことを目標とする。今日、獣医学の進展に、分子生物学的解析は欠かせない手法となり、臨床獣医学においてもその必要性は高まっている。その背景には、分子生物学の基本をなす遺伝子は特殊な遺伝子疾患にとどまらず、臨床で問題と

なる多くの疾患に多かれ少なかれ関係しており、疾患の診断や治療におけるその役割の大きいことが明らかにされつつあるという事実がある。

現在の教室の研究テーマはまだキーワードの一部に関係した内容にとどまっているが、臨床獣医学という立場からの分子生物学的アプローチは今後の教室の課題となるであろう。また、臨床系教室として、動物病院における内科診療を担当するが、日常の診療を介した研究の進展をめざす。

(現在の研究課題)

1. 画像診断法の臨床および病態解析への応用に関する研究
2. 犬の外分泌性膵疾患の臨床病理学的研究
3. 犬ヘルペスウイルス感染症に関する研究
4. 全身性紅斑性狼瘡モデルマウスにおけるCD/28CTLA4-B7経路の役割に関する研究



図4. 犬膵臓の腺房性萎縮症の比較的早期の病変
Histopathological lesion of canine pancreatic acinar atrophy in early stage of the disease.

Laboratory of Pathobiology

The laboratory of pathobiology was newly established in 1995 and has the following three key-words: intractable diseases, high-level diagnosis and up-to-date veterinary medicine. Our laboratory has two goals. The first is to perform cellular and molecular analyses of the pathogenesis and pathophysiology of various diseases. The other is to enhance research and education in the development of diagnostic and therapeutic methods based on these analyses.

It has been proved that the gene is associated with many diseases and plays an important role in the diagnosis and therapy of the diseases. Today, molecular biological analysis is also essential to progress in veterinary medicine, especially its increased application in the clinical area.

The present researches in our laboratory are focused on 1) establishment of the diagnostic imaging techniques and their application to clarify disease conditions, 2) the cellular and molecular approach to various diseases. Although the second topic is as yet limited, the molecular biology from a clinical standpoint will be the main research subject in the future.



動物疾病 制御学 講座

Department of Disease Control

動物疾病制御学講座

動物疾病制御学講座は、遺伝子解析に形態学的手法を導入した疾患モデル動物に関する研究を行う実験動物学教室に加えて、寄生体 parasitic agents: ウイルス、原虫、蠕虫（吸虫、条虫、鉤頭虫、線虫）、節足動物などを扱う微生物学、感染症学、寄生虫学教室の4研究室から構成されている。宿主と寄生体の相互作用を双方の個体群から分子にいたる様々なレベルで解明し当該疾病の制御法の確立を目指している。寄生体の系統分類、進化、生態、環境適応性などについての研究が、実験室のみならず国内外のフィールドで進行中である。インフルエンザ、ピロプラズマ、エキノコックス（包虫）等については南北アメリカ大陸、アフリカ、東南・中央アジア地域での国際共同研究が実施されている。特に包虫症については、OIE（世界獣疫事務局：獣医学領域のWHO）リファレンス・ラボに指定されている。現在、進行中の研究には基礎研究と応用研究の中間にあつて近い将来、その成果が、地球的規模の家畜衛生の向上に应用される可能性のある課題も含まれている。

本講座の構成員が中核となつて、研究者の自由で創造的な知的興味を満足させ、かつ、国際貢献に参画することのできる「高度研究体制」の確立が計画されている。具体的には、開発途上国からの要請による特定疾患研修コース、研究ネットワーク、センター・オブ・エクセレンス（COE）の設置などである。

Department of Disease Control

This department consists of 4 laboratories including the Laboratory of Experimental Animal Science which deals with gene analysis using animal disease research models. The rest of the laboratories (i.e. Microbiology, Parasitology and Infectious Diseases) deal with disease agents such as bacteria, virus, protozoa, helminths (Trematoda, Cestoda, Acanthocephala & Nematoda), and arthropods.

Studies on host-parasite interaction from population to molecular level will contribute to disease control. Moreover, studies on phylogeny, evolution, behavior and environmental adaptation of parasitic agents are presently on-going. Collaborative studies on influenza, piroplasmiasis, echinococcosis/hydatidosis with research laboratories in north and south America, Asia and Africa are also on-going. Furthermore, the Parasitology laboratory has been designated as reference laboratory for echinococcosis/hydatidosis by OIE (International Office of Epizootics).

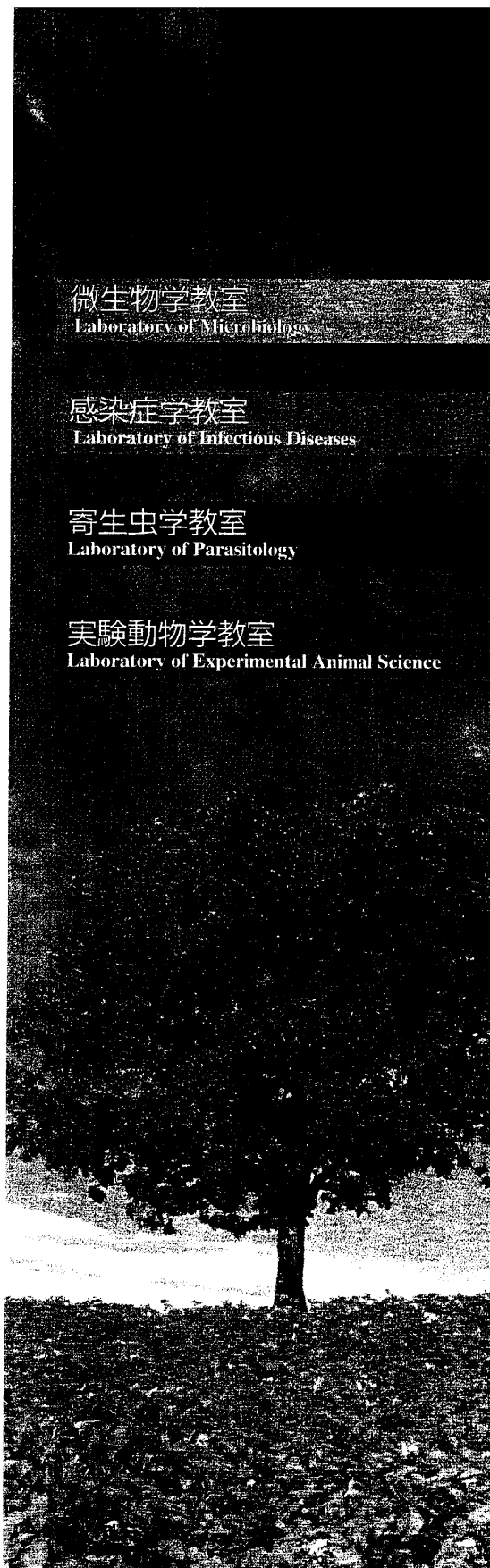
In the near future, results obtained will provide a sound basis for solving animal health problems globally. Researchers of this department are encouraged to freely pursue their individual scientific interests and creativity to the highest level of excellence. We are planning to provide international training courses in the control of specific diseases. Moreover, we also envision the setting up of an international research-related network linking our department with other institutions to create a Center of Excellence (COE).

微生物学教室
Laboratory of Microbiology

感染症学教室
Laboratory of Infectious Diseases

寄生虫学教室
Laboratory of Parasitology

実験動物学教室
Laboratory of Experimental Animal Science



微生物学教室

Laboratory of Microbiology

教授 喜田 宏 Kida, Hiroshi
 助教授 岡崎 克則 Okazaki, Katsunori
 助手 迫田 義博 Sakota, Yoshihiro



ウイルスを斬る：微生物界の開拓者

Ecology of the Microbial World



病原微生物の生態を宿主動物の集団、個体、組織、細胞そして分子レベルで解明し、もって疾病を制圧することが当教室の研究目標です。従って、1) 病原体の起源と進化そして自然界における存続のメカニズムを解明し、2)

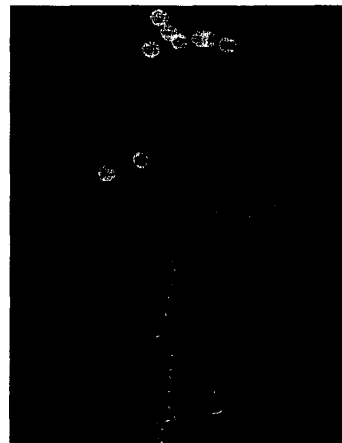
宿主との相互作用の解析によって、宿主域、伝播経路、病原性および免疫を究明し、3) 当該疾病の予防・制圧法を開発することを目指しています。これまでの研究で得られた成績は獣医学のみならず、公衆衛生、動物生態学および生命科学にも大きく貢献しています。

進行中の主な研究は次の通りで、教官、大学院学生と学部学生が国内外の研究者と共にたゆまぬ努力を傾注しています。

〈研究課題〉

1. インフルエンザウイルスの起源と進化および自然界における存続機構の解明ならびに新型ウイルスの出現予測
2. ヘルペスウイルス、インフルエンザウイルスおよびパラミクソウイルス糖蛋白質分子の構造と機能の解析
3. インフルエンザウイルスとニューカッスル病ウイルスの病原性発現に与る諸因子の解析
4. ヘルペスウイルスの前初期および初期蛋白ならびにインフルエンザウイルスのポリメラーゼ蛋白複合体の構造と機能の解析

5. 粘膜免疫機構の解析と経鼻・経口ペプチドおよびDNAワクチンの開発
6. ウイルスおよび細菌感染症の高感度迅速診断法の開発



Laboratory of Microbiology

The goal of the research in this laboratory is prevention and control of important infections of animals and man. For this purpose, the ecology of pathogens is thoroughly studied at the levels of their host animal populations, individuals, tissues, cells and molecules. The research efforts thus focus on 1) the origin, evolution and perpetuation mechanism of pathogens in nature, 2) host range, route of transmission, pathogenesis and immunology of the infections, through in vivo and in vitro analyses of the "host-pathogen relationships" and 3) development of strategies for prevention and control of infections. The results hitherto obtained from these studies contribute enormously not only to the fields of veterinary medicine, but also to public health, the ecology of wildlives, and life sciences.

The main ongoing research projects by the staff, graduate and undergraduate students in collaboration with other laboratories throughout the world are as follows:

1. Origin, evolution, and mechanism of perpetuation of influenza viruses in nature; Prediction of emerging pandemic strains
2. Structure and function of the glycoproteins of herpes-, paramyxo-, and orthomyxoviruses
3. Factors involved in the pathogenesis of ortho- and paramyxoviruses
4. Structure and function of the immediate-early and early proteins of herpesviruses and the polymerase complex of influenza viruses
5. Mucosal immunity; Development of nasal and/or oral peptide and DNA vaccines



感染症学教室

Laboratory of Infectious Diseases

教授 小沼 操 Onuma, Misao
助教授 大橋 和彦 Ohashi, Kazuhiko



病原体に学ぶ

—— 生命の知恵とサバイバル戦略 ——

ワクチンや抗生物質の開発、改良、衛生状態の改善などによって私たちの周囲から赤痢、コレラに代表されるような伝染病は消え去りつつあり、人類が病原体を制圧することも不可能ではないと信じられてきました。しかし、薬剤耐性や新たな病原因子の獲得、抗原変異による免疫回避などさまざまなメカニズムにより病原体の逆襲もおきています。獣医学領域でも、主要な急性細菌、ウイルス感染症はワクチンなどにより予防治療が可能になっていますが、うまくコントロールし得ない感染症も多くあります。地球的規模で考えると家畜の伝染病による経済的被害は膨大な額になり、人類の限られた居住可能空間で最大限の

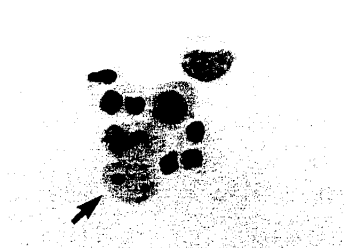
蛋白質生産を行うためには、感染症のコントロールは最重要課題のひとつと考えられます。

本講座は各種動物におけるウイルスおよび原虫による感染症の病態解明とその制圧を目指して研究を行っており、現在の研究テーマは以下のとおりです。

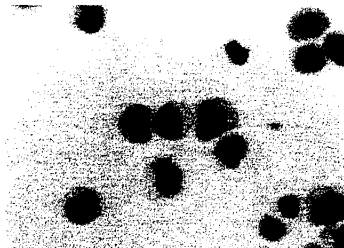
1. 動物の住血原虫感染症、特に牛・馬のピロプラズマ症に関する研究：遺伝子工学、蛋白質工学的技術を用いた予防・診断法の開発、原虫媒介マダニに対するワクチン開発
2. 牛白血病ウイルスに関する研究：細胞性免疫、特に細胞傷害性T細胞を活性化するワクチンの開発と癌化抑制機序の解明
3. 各種動物のサイトカインに関する研究：牛、

鶏等で発現するサイトカインと種々の感染症の病態進行との関連について解析

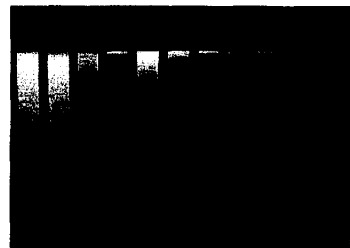
4. 鶏マレック病ウイルスに関する研究：マレック病ウイルス潜伏感染維持の分子機構の解析、感染により誘導されるアポトーシスの生物学的意義とワクチン効果との相関機序の解析
5. 牛レンチウイルスに関する研究：ウイルス感染と病態発現に関する研究、疫学調査
6. 植物における動物遺伝子発現による有用物質の産生：サイトカイン等の遺伝子発現植物の開発と粘膜ワクチンへの応用



1-1. マレック病感染鶏由来の末梢血リンパ球一矢印で示した細胞にアポトーシス特異的变化が観察される（クロマチン凝集等）。
1-1. Peripheral blood lymphocytes prepared from Marek's disease virus-infected chickens. The arrow indicates a cell showing apoptosis-specific morphological changes (i.e. chromatin condensation).



1-2. 正常鶏由来の末梢血リンパ球—アポトーシスは観察されない。
1-2. Peripheral blood lymphocytes prepared from normal chickens. No morphological changes are observed.



2. マレック病感染鶏由来の胸腺細胞におけるDNAの断片化—感染後あるいは一定の時期（2～3週後）。
2. DNA fragmentation observed in thymic cells of Marek's disease virus-infected chickens. DNA laddering is demonstrated in T cells in the thymus in Marek's disease virus-infected chickens (1st and 2nd lanes from the left) at 2-3 weeks after infection.

Laboratory of Infectious Diseases

Inventions of more effective antibiotics and vaccines, and dramatic improvements in sanitation and public health have accelerated the downward trends of many infectious diseases, such as dysentery and cholera, promising that infectious agents can be eradicated from the earth. However, many infectious diseases remain among the greatest health problems in the world as microorganisms have developed several strategies to escape host immune forces and to strike back (i.e. acquired resistance to antibiotics, new virulent factors, and active antigenic shift or mutations). In the veterinary field, although major bacteria and virus infection have been brought under control by effective vaccines and antibiotics, many infectious diseases which are not successfully controlled are still present. Since enormous economic losses of livestock are caused by those infectious on a global scale, establishment of effective preventive measures to control these infections is the most important subject to maintain maximum food production in the restricted spaces we have on the earth.

For these reasons, research activities of the Laboratory of Infectious Diseases are concentrated on systematic analysis of the pathogenesis of viral and protozoan infections of domestic animals, and our current research activities are as follows:

1. Research on protozoan infections of animals, especially piroplasmosis of horses and calves, development of preventive and diagnostic methods using genetic and protein engineering, tick vaccine development.
2. Studies on bovine leukemia virus (BLV) such as characterization of the antitumor effect of cell-mediated immunity (CMI), including induction of cytotoxic T lymphocytes (CTL), experimental development of the vaccines activating CTL.

3. Analysis of the effects of cytokine expression on development of infectious and parasitic infection.



寄生虫学教室

Laboratory of Parasitology

教授 神谷 正男 Kamiya, Masao
助教授 奥 祐三郎 Oku, Yuzaburo
助手 野中 成晃 Nonaka, Nariaki



旅をする寄生虫

Wandering Parasite

その分子進化, 生物多様性, 病気……を探る

生物が他の生物の体内または体表に生活する現象を寄生といいます。そのうち動物界に属する寄生体を、特に寄生虫といい、線虫、吸虫、条虫、原虫や節足動物などが含まれます。この教室では未知の寄生虫の探索を含む生物多様性Biodiversity、寄生虫の宿主あるいは環境における生活環life-cycleや適応戦略などの解明とそれらの防除法を探索する方向に進んでいます。対象としては、家畜、野生生物のみならず人と動物に共通の寄生虫も含まれます。近年、世界各地で分布を拡げて問題になっているエキノコックス（包条虫）の研究では国際的研究拠点となっています。1994年からOIE（国際獣疫機構）の研究拠点機関となりました。

国内外の研究ネットワークが、南北アメリカ大陸、東南アジア、中央アジアへとひろがっています。この教室に集まる教官、ポストドクトラル・フェロー（JSPS）、客員研究員や大学院生には、実験室にいても地球を1個の生命体とみなすことのできるような創造的な「眼」とフィールドワークに強い「考える足」を備えていることが望まれます。

【当面の研究課題】

- 1) 南北アメリカ大陸のエキノコックスの環境適応性
- 2) モンゴルを含む中央アジアの寄生虫の多様性とその維持機構
- 3) 東南アジアを中心にした寄生虫の系統分類
- 4) 蠕虫類の分子進化：宿主転換と適応放散の意義

- 5) 宿主の遺残行動ならびに遺伝子を指標にしたエキノコックスの起源
- 6) 糞便内抗原検出による寄生虫病の診断法の開発
- 7) 条虫感染時にみられるガストリン血症の特徴とその機序
- 8) 集約酪農地帯における終宿主対策によるエキノコックス症防除法の確立



生態：エキノコックスの流行状況の把握
Ecology: Ecological survey to evaluate the prevalence of *E. multilocularis*



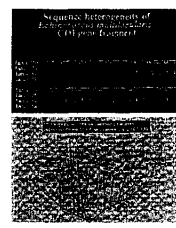
エキノコックスの分布の現状：エキノコックスは北方圏を中心に拡大しつつある
The present distribution of *Echinococcus multilocularis*: Its distribution is extending from the northern hemisphere



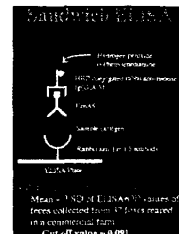
エキノコックスの生活環：通常、キツネなどの食肉類と野生齧歯類で生活環を維持しているが、ときにヒト、ブタなどに感染する
Life cycle of *E. multilocularis*: In nature, the life cycle of *E. multilocularis* is maintained between carnivores (fox, etc) and wild rodents, but occasionally this parasite infect man or domestic pigs.



終宿主の代替モデル：管腔類のみでエキノコックスの生活環が完成
Alternative definitive host: The life cycle of *E. multilocularis* can be completed using only rodents.



進化・種内変異：ミトコンドリアCOI遺伝子の比較により寄生虫の系統関係を解析する
Evolution - Intraspecific variation: Determination of the phylogenetic relationships of cestode parasites by biochemical analysis of mitochondrial COI gene



診断：糞便内抗原検出による寄生虫病診断法の開発
Diagnosis: Development of diagnostic procedures for parasitic disease by detection of coproantigen



予防（ワクチン）：終宿主（ネコ）腸粘膜のエキノコックス虫体の表面、好酸球の付着
Prevention (Vaccine): Eosinophils adhering to *E. multilocularis* scolex tegument in the intestinal mucosa of definitive host (cat)

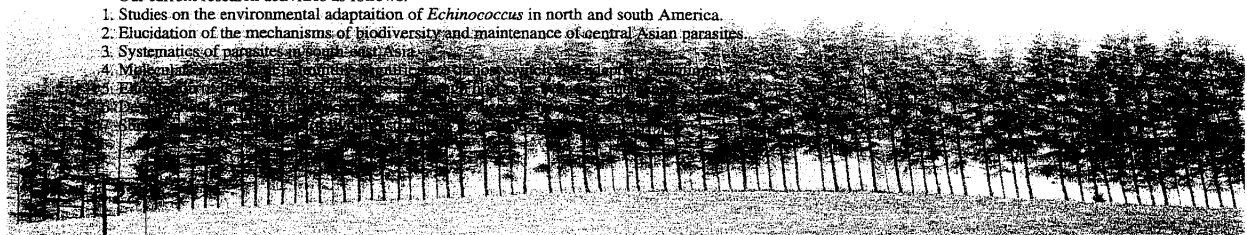
Laboratory of Parasitology Expedition to their molecular evolution, biodiversity and diseases

Parasitism is an intimate relationship between two organisms in which one lives at the expense of the other. Organisms which live at the other's expense are termed "parasites" and in the Animal Kingdom there are nematode, cestode, trematode, protozoa and arthropod parasites. Research activities of the Laboratory of Parasitology are directed toward parasite biodiversity, host-parasite interaction, diagnosis and control of parasite infection. Research in our laboratory is not only limited to animal parasites but includes zoonotic parasites as well. In the study of *Echinococcus*, one of the most important zoonotic parasites in the world, our laboratory is an active international base for research. From 1994, our laboratory has been designated as reference laboratory for echinococcosis by the OIE.

A research network has been established in Japan and extended overseas, including north and south America, south-east Asia and central Asia. It is therefore necessary for researchers in our laboratory to keep "creative eyes" by which the earth can be regarded as one life organism, and "thinking foot" in field work.

Our current research activities as follows:

1. Studies on the environmental adaptation of *Echinococcus* in north and south America.
2. Elucidation of the mechanisms of biodiversity and maintenance of central Asian parasites.
3. Systematics of parasites in south-east Asia.
4. Molecular evolution of cestode parasites by biochemical analysis of mitochondrial COI gene.



実験動物学教室

Laboratory of Experimental Animal Science

教授 渡辺 智正 Watanabe, Tomomasa

助教授 昆 泰寛 Kon, Yasuhiro

助手 浅野 淳 Asano, Atsushi



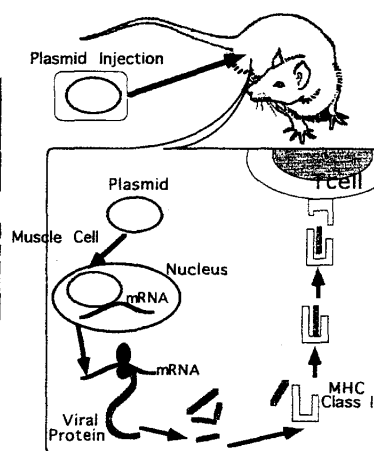
疾患モデル動物の解析から 生命現象の本態にせまる!

近年、多くの研究分野で生命現象を遺伝子の構造と機能で解析しようという試みがなされていますが、当教室では種々の疾患モデル動物を、形態解析ならびに遺伝子解析から明らかにしようとしています。

1. ラバやレオポンはなぜ不妊なのでしょう?
不妊や流産は遺伝性疾患であることが最近明らかになってきました。近交系マウス (*M. m. domesticus*) と野生由来マウス (*M. spretus*, *molossinus*, *musculus* など) との交配で高率に不妊マウスが作出されます。そのマウスの精巢の形態と遺伝子を解析することで不妊のメカニズムを明らかにしようとしています。
2. 動物はなぜ感染症に罹るのでしょうか?
感染症に罹りやすい、罹りにくいという特徴は遺伝子によって規定されていることが徐々に明らかになってきました。結核菌に抵抗性を示す *Nramp1* 遺伝子、インフルエンザウイルスに抵抗性を示す *Mx* 遺伝子を解析することで、抗病性家畜の開発を目指しています。
3. マウスやラットには多数の近交系が存在していますが、それぞれの系統は実験の目的によって使い分けなければいけません。各系統にはまだまだ知られていない特徴があり、その有用性を検討していくことは実験動物学に重要なことです。精子形成細胞の分化、レニン-アンギオテンシン系の解析、野生由来マウスの遺伝的ならびに形態的解析を通して、系統差を明らかにしようとしています。

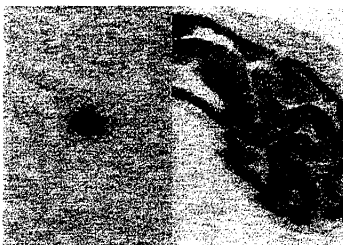
当教室では、さらに4) 中軸骨格異常マウスの解析、5) 新規遺伝子 *Stap* の解析、などの研

究を行っており、生命科学のあらゆる分野にチャレンジしています。



DNAワクチンの成立機序

▲DNAワクチンの成立機序
Mechanism for DNA vaccination.



▲腎臓レニンと凝固腺レニンのハイブリッド組織化学。
Hybridohistochemistry for kidney and coagulating gland renin.



▲C57BL/6と *M. m. musculus* とのF1の精巣。
Histological section of F1 between C57BL/6 and *M. m. musculus*.

Laboratory of Experimental Animal Science

In the Laboratory of Experimental Animal Science we have been investigating disease mechanisms using the production of animal models, gene handling and morphological methods.

1. Why are mules and leopon sterile? Recently, it has been suggested that sterility and abortion are hereditary diseases. We have been producing animal models by mating laboratory mice (*M. m. domesticus*) with wild-derived mice (*M. spretus*, *molossinus* and *musculus* etc.), and analysing the resulting offspring via in vitro and in vivo procedures.

2. Why are animals infected? Recently, the resistance against microorganisms has been evidenced to be controlled by gene. We are investigating *Nramp1* and *Mx* genes for resisting *Mycobacterium* and influenza virus, respectively.





市川厚一博士

タール癌

癌研究史上不滅の業績、当時ノーベル賞の候補にもなったあのタール癌は本学部の先輩、市川厚一博士の忍耐と努力の結晶のたまもの。茨城県出身のこの俊才は現北大獣医学部の前進、東北帝国大学農科大学畜産学科を卒業後、大学院に進むとただちに東京帝国大学の山極勝三郎の下に特別研究生として師事した。1913年のことである。彼は発癌刺激説（ドイツのウィルヒョウがはじめて提唱した）を固く信じ、来る日も来る日もウサギの耳にタールをぬり続けた。実験例数101、期間70～450日、癌の出来たのは31頭。東大に来てから、3年の月日経っていた。この仕事はノーベル賞候補に挙げられたが、対立候補のデンマークのフィビガーがねずみの胃にゴキブリを中間宿主とする特殊な寄生虫で癌



を発生させたということで、1926年にノーベル賞を受賞した。今日、癌に関する欧米の教科書にはフィビガーの名前は出てこないが、Yamagiwa and Ichikawaのタール癌は必ず記載されている。二人はこの仕事で1919年学士院賞を受賞した。市川厚一、31歳。後に北大獣医学部に戻り、比較病理学講座を創設、獣医学部長も勤めた。今でも学部の会議室には市川博士の「努力」「忍耐」の書が飾られている。写真は市川博士がつくったうさぎの耳のタール癌。獣医学部標本室に展示されている。



比較形態 機能学 講座

Department of
Biomedical Sciences

比較形態機能学講座

本講座を構成する解剖学、生理学、生化学と薬理学の4教室の研究と教育の内容は、それぞれの教室の項目に説明されております。本講座は、これら4教室が分担する自然科学の専門領域の研究と教育を行うことによって、獣医学の基礎分野を担っております。平成7年度から大学院講座として発足することになり、構成4教室でこれまで行ってきた各専門領域の研究を更に発展させると共に、各教室の構成員の間に共通する研究領域を探り、共同研究によって一層の研究発展を計ろうとしております。これら共同研究のテーマとしては、ニューロンとパラニューロンの細胞生物学、刺激-分泌連関、細胞内シグナル、中枢神経系におけるエネルギー代謝などが考えられます。構成員相互の研究内容、目的と興味について、お互いの理解が進むに連れて、これらのテーマの共同研究の実をあげ、更には新しい境界領域の開発研究をも進展させ、我が国と世界の生命科学の研究発展に寄与してゆきたいと考えております。

Department of Biomedical Sciences

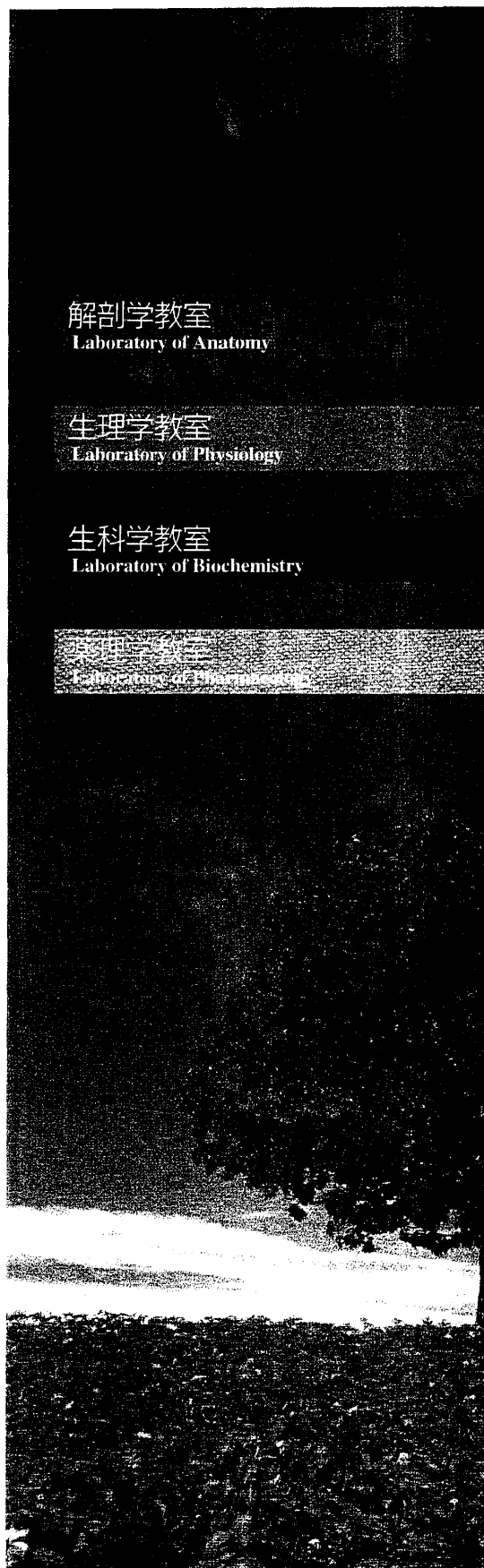
The common aim of the four laboratories in this Department is to apply the natural sciences (morphology, physiology, biochemistry, and pharmacology) to education and the study of veterinary medicine. To accomplish that aim, in addition to individual investigations, we are making concerted efforts to collaborate in fields of common interest, such as cell biology of neurons and paraneurons, stimulus-secretion coupling, intracellular signaling and, energy metabolism in the central nervous system.

解剖学教室
Laboratory of Anatomy

生理学教室
Laboratory of Physiology

生科学教室
Laboratory of Biochemistry

薬理学教室
Laboratory of Pharmacology



解剖学教室

Laboratory of Anatomy

教授 岩永 敏彦 Iwanaga, Toshihiko
 助教授 橋本 善春 Hashimoto, Yoshiharu
 助手 今野 明弘 Konno, Akihiro



機能は形態に表れる

— Beauty is truth. Truth beauty. —

解剖学は、形態学的手法を駆使して組織や細胞のしくみを解析することにより機能を明らかにする学問分野です。「機能は必ず形態に表れる」と「自分の目で見たものだけを信じる」という信念をもって以下のような研究を行っています。

1. 腸上皮細胞のアポトーシス（細胞死）機構

腸の上皮細胞は陰窩で絶えず増殖し、成熟しつつ絨毛の先端へ向かって移動します。生まれてわずか2.3日後には絨毛の先端で死を迎えるわけですが、その細胞死の誘導機構や、上皮のもつバリアー機能を破壊せずに細胞を除去する機構など、興味はつきません。これまでに、上皮内の特殊なリンパ球が細胞死を誘導し、固有層のマクロファージが死んだ細胞を貪食することなどを明らかにしてきましたが、決定的な動物差も認められ、謎解きはこれからです。この研究は、アポトーシスの研究に最適の材料を提供するばかりでなく、消化管疾患や栄養学上の問題点とも深く関わりがあります。

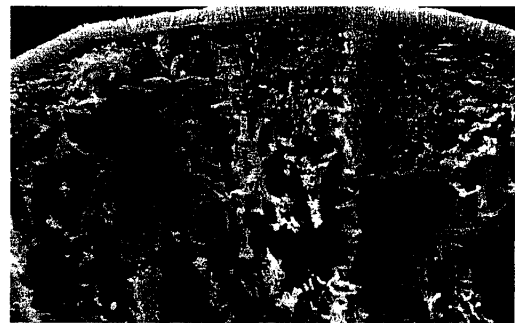
2. リンパ球の体内分布と機能的役割

リンパ球のサブセットに対するモノクローナル抗体を用いて、リンパ性器官、消化管、卵管、乳腺におけるそれらの分布と動態を研究しています。動物による差、性成熟や妊娠に伴う変動、特殊なリンパ球であるglobule leucocyteの本態解明などで成果が上がり、家畜の免疫機構を明らかにする上での基礎データを提供してきました。

3. ニューロン・パラニューロンの細胞生物学 アミン/ペプチド性の内分泌細胞と感覚細胞

細胞は、形態・生理・信号物質の点でニューロンと共通点が多く、パラニューロンと一括されます。この基盤に立って、ニューロンとパラニューロンの形態学的特徴を細胞レベルで解析し、そこに含まれる信号物質（神経伝達物質とホルモン）を同定し、受容分泌機構のメカニズムを明らかにするのが目的です。と

くに、胃腸脾の内分泌細胞、副腎髄質細胞、気道と尿道の内分泌細胞、末梢のペプチド性ニューロンを中心に研究しています。



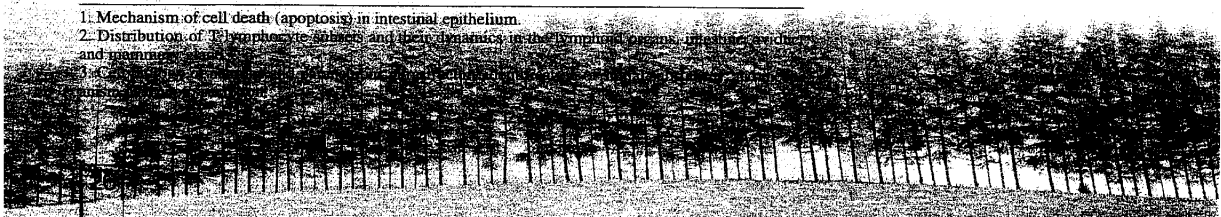
▲小腸上皮のリンパ球を走査電顕でみる。上皮内には細胞傷害性の強い $\gamma\delta$ 型Tリンパ球が多く存在し、上皮細胞の更新に関与している。
Scanning electron microscopic view of two intraepithelial lymphocytes in the small intestine.



▲大腸粘膜のVIP含有神経（whole mount 標本）。陰窩(C)を取り巻いてVIP神経の密なネットワークがみられる。VIPは下痢を起こすペプチドである。
VIP (vasoactive intestinal polypeptide)-immunoreactive nerves in a whole mount preparation of guinea pig colon. C: crypts

Laboratory of Anatomy

1. Mechanism of cell death (apoptosis) in intestinal epithelium.
2. Distribution of T lymphocyte subsets and their dynamics in the lymphoid organs, intestine, and mammary gland.



生理学教室

Laboratory of Physiology

教授 葉原 芳昭 Habara, Yoshiaki

助教授 石川 透 Ishikawa, Toru

助手 北村 直樹 Kitamura, Naoki



細胞から個体へ 命の仕組みを解き明かす

当教室は1950年に創設されました。現在に至るまでの教室の研究課題は、生体のストレス反応、寒冷適応のメカニズム、消化生理学、分泌細胞の細胞生理学でしたが、現在もこれらの伝統が色濃く残り、当面の研究課題に強い影響を与えております。

生理学は、生命の仕組みを研究する学問分野です。獣医生理学では、哺乳類・鳥類を中心に、個々の動物種が備えている、生きるための機能を解説・比較しながら、動物に共通する生命原理と各動物種に特有の仕組みを理解することに焦点をあてています。

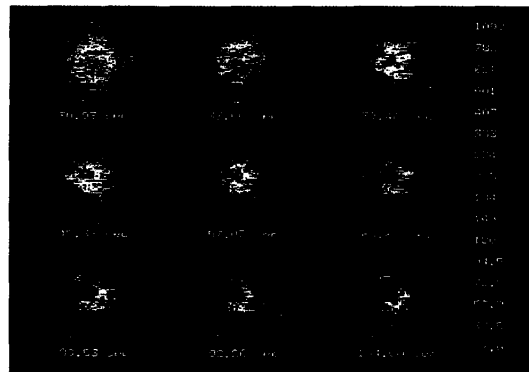
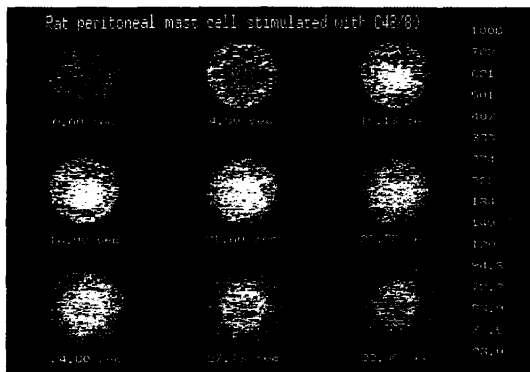
現在は、細胞内情報伝達系やイオンチャネルに関する細胞生理学が研究テーマであり、細胞内情報伝達物質、特にカルシウムイオンの時間的変化をリアルタイムにとらえること

のできる蛍光顕微測光法、時間的・空間的変動を可視化できる蛍光顕微画像解析法、細胞膜やイオンチャネルを介する電流変化が記録できるパッチクランプ法に分子生物学的手法を組み合わせて研究を進めています。また、反芻動物のモデルとしてヒツジ・シバヤギを用い、脳室にプローブを留置した慢性個体実験も計画しています。

生命の仕組みの全体像を知るためには、細胞下、細胞、組織、器官、個体と、ミクロからマクロまでの広い視野と知識が必要です。日常の研究ではややもすれば当面の研究課題に集中してしまい広い視野を忘れがちになりますが、そうならぬよう肝に銘じながら以下の研究課題を探索しています。

（現在の主要研究課題）

1. 内・外分泌細胞における刺激—分泌連関における細胞内カルシウムイオンの役割
2. 光増感作用と細胞内カルシウムイオン動態
3. 一酸化窒素と細胞内カルシウムイオン動態
4. 反芻動物の脳における代謝特異性
5. 上皮性Na⁺チャネルの細胞内調節機構
6. 反芻動物の唾液分泌機構：K⁺チャネルの役割



▲Indo-1というCa²⁺感受性蛍光色素を取り込ませ、走査型レーザー共焦点蛍光顕微画像解析法で記録されたラット腹腔内肥満細胞の細胞内Ca²⁺濃度変動。8/30毎に画像を取りながら、compound 48/80で刺激した。刺激後、局所の細胞内Ca²⁺が上昇（赤色）して分泌が起こっていることが確認できる。
Spatiotemporal dynamics of intracellular Ca²⁺ concentration recorded by a laser scanning confocal microscope in an indo-1-loaded rat peritoneal mast cell. Images obtained were analyzed and shown with false colors. Images were recorded every 8/30 sec and the cells were stimulated with compound 48/80. Localized Ca²⁺ increase and exocytosis is visible.

Laboratory of Physiology

Our research projects of interest are as follows:

1. The role of Ca²⁺ in stimulus-secretion coupling in endocrine and exocrine glands
2. The role of Ca²⁺ in stimulus-secretion coupling in endocrine and exocrine glands



生化学教室

Laboratory of Biochemistry

教授 斉藤 昌之 Saito, Masayuki

助教授 木村 和弘 Kimura, Kazuhiro

助手 北村 浩 Kitamura, Hiroshi



脳の時代を開拓する 分子の道具を手にしたブレインサイエンスたち



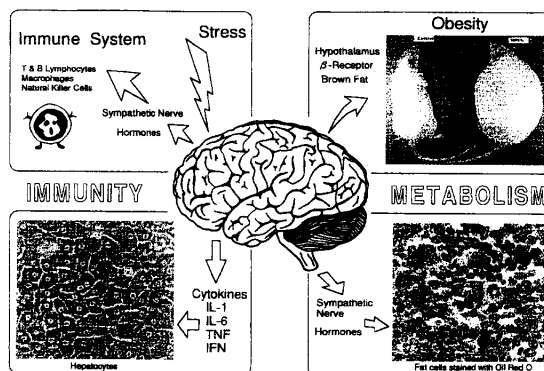
21世紀は、脳の時代です。私達の研究室では分子生物学や生化学・生理学の知識と技術を基本にして、脳・神経の機能に関する以下のテーマを中心に研究を行っています。いずれも、日進月歩の領域ですが、教官・学振特別研究員・大学院生がチームを組み、更に内外の研究室との共同研究を積極的に進めています。

1. 脳・神経による代謝調節：エネルギー基質であるグルコースや中性脂肪の代謝に対する視床下部と交感神経の調節機構について、in vivo, in vitro両面から調べています。特に、脂肪細胞に特有の情報伝達機構や遺伝子の発現調節系の解明は肥満や成人病の成因・予防と関連して注目されています。

2. 脳と免疫系の相互作用：脳・神経系と免疫系は相互作用をしながらホメオスタシスを保

っています。このメカニズムについて、サイトカインの脳への作用機構と、自律神経による免疫細胞や肝細胞の機能調節に焦点を当てて解析しています。科学的興味だけでなくスト

レスや炎症の制御という応用展開も期待され、今後いっそう重要な課題となるでしょう。



Laboratory of Biochemistry

The following two research projects relating to neuroscience are now in progress in the *Laboratory of Biochemistry*.

1. **Neural control of metabolism:** The metabolism of nutrients is under strict control by the autonomic nervous system as well as various hormones. To clarify the cellular and molecular mechanisms of sympathetic control of lipid metabolism, synthesis and degradation of triglyceride in fat cells are investigated with special reference to the effects of catecholamines on the gene expressions of some key proteins. The results are contributing to our better understanding of the etiology of some metabolic diseases such as obesity and diabetes.

2. **Immune system**



薬理学教室

Laboratory of Pharmacology

教授 伊藤 茂男 Ito, Shigeo

助教授 太田 利男 Ohta, Toshio



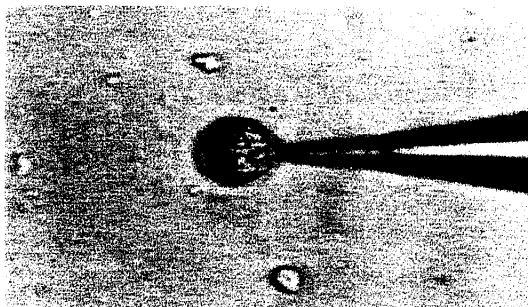
未知なる生体機能の解明を目指して 薬のダイナミズムより迫る

伝達物質やホルモンに対する受容体の一次アミノ酸構造が明らかになり、細胞膜受容体の活性化がその細胞に固有な反応を引き起こす過程、すなわち細胞内情報伝達過程を調べる重要な課題の一つとなっています。薬理学教室の研究目標は、生体から細胞に至る色々なレベルでの薬物反応を分析し、伝達物質や薬物による受容体の活性化が細胞応答を引き起こすまでの細胞内情報伝達過程を解明することです。現在研究対象としている組織・細胞は、平滑筋、アミン含有細胞、神経細胞であり、これらを組織のま

ま、あるいは酵素処理して細胞を分離して研究を行っています。これらの研究を行うために導入している方法は、カテコールアミンやアデニンヌクレオチドの化学的定量、環状ヌクレオチドや各種ペプチドのラジオイムノアッセイ、細胞膜を破壊し収縮系を維持した平滑筋

(スキンドファイバー)の張力測定、平滑筋収縮と細胞内カルシウム濃度の同時測定、単一平滑筋や副腎髄質細胞の膜電位固定法による膜電流と細胞内カルシウムイオン濃度測定及びパッチクランプ法による単一チャンネルを流れる電流測定などです。

現在進行中の主な研究課題は、1) ムスカリン受容体刺激によるカテコールアミン分泌機序、2) 平滑筋における筋小胞体の機能的役割、3) 血管平滑筋収縮における細胞内情報伝達機構、4) アミン含有化学受容細胞の情報伝達機構です。



▲ホールセル電位固定下の副腎髄質細胞とパッチクランプ電極



▲パッチクランプ実験



▲平滑筋張力測定実験

Laboratory of Pharmacology

The research in our Laboratory (pharmacology) is currently concerned with the signal transduction involved in biogenic amine secretion and smooth muscle contraction. Experiments are performed using whole tissues and various preparations such as isolated adrenal glands and smooth muscle segments, cells isolated from these tissues and cultured adrenal chromaffin cells and PC12 cells. The techniques employed to accomplish these are chemical assays of neurotransmitters, hormones and polypeptides, tension recording of small bundles of intact smooth muscles and skinned muscle fibers, simultaneous measurement of contraction and intracellular Ca^{2+} concentration, measurement of the ionic concentration in a single cell and measurement of electrical activities by an amplifier, computer and patch-clamp recording.





重要文化財モデルバーン三景

クラーク先生設計の牧舎、明治10年（1877）建設。「日本畜産業のモデルとすべし」というクラークの意思と使命感が Model Barn という呼称にうかがえる。明治43年に現在地に移築。昭和44年8月国の重要文化財に指定された。



「モデルバーンには冬景色がよく似合う。もっぱら冬のためにこの建物は建てられたのだから、それが当然である。北海道は一年の半分以上が雪のした、『このような土地で農業を成功させようとするなら、まず何よりも、動物たちに半年間の食料とねぐらを保証出来る快適な牧舎が絶対必要である。』とクラーク自身が『札幌農学校第一年報』に書いている。」岩沢健蔵著「北大歴史散歩」より。



環境 獣医科学 講座

Department of
Environmental
Veterinary Sciences

環境獣医科学講座

産業廃棄物に由来する汚染物質の増加と拡散、オゾン層の破壊と地球温暖化、乱開発による自然破壊や生態系の攪乱など、我々を取り巻く環境は悪化の一途をたどっている。また、これらに触発され新たな動きを見せる病原微生物等も、新興・再興感染症の原因として人類や動植物の脅威となっている。環境獣医科学講座は、このような環境問題をキーワードに、「人類と野生動物の健全な存続」を目的とする研究を行っている。

Department of Environmental Veterinary Sciences

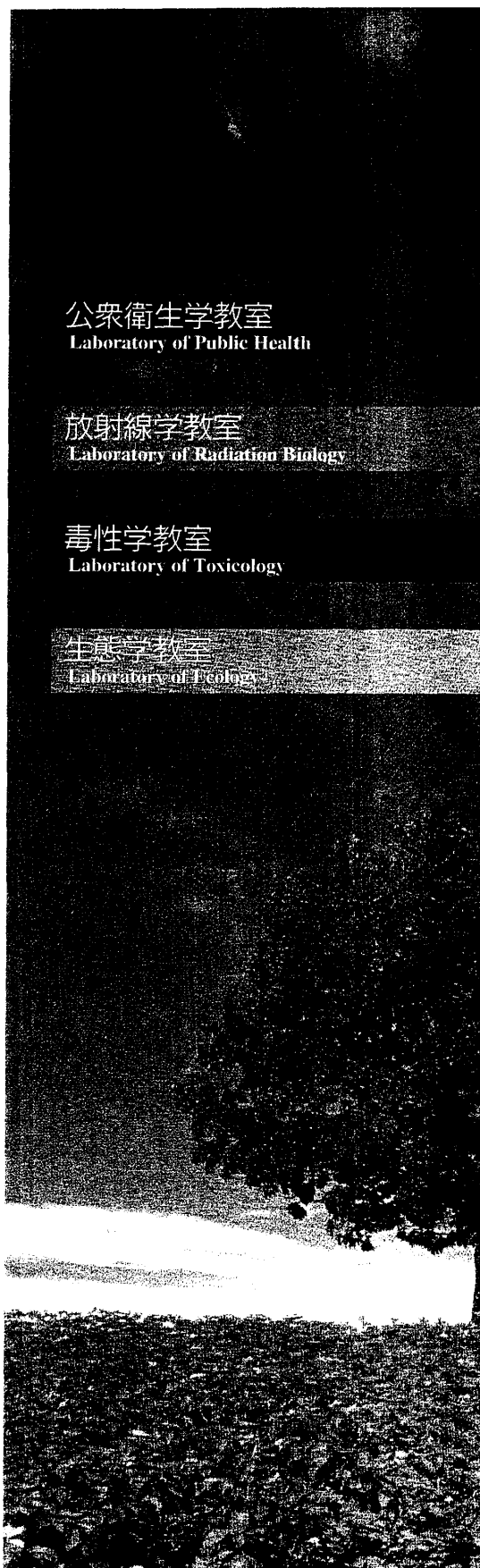
Ever increasing man-made environmental pollutants, the resulting destruction of the ozone layer, global warming, and the destruction of the natural environment by excessive "development" result in the alteration of the global environment and the loss of ecological balance. These alterations may unexpectedly mobilize pathogens or the carrier animals of an otherwise local disease. All these may be harmful to animals and man. The Department of Environmental Veterinary Sciences concerns the protection of endangered animal species and investigates the environmental causes of the extinction of animal species.

公衆衛生学教室
Laboratory of Public Health

放射線学教室
Laboratory of Radiation Biology

毒性学教室
Laboratory of Toxicology

生態学教室
Laboratory of Ecology



公衆衛生学教室

Laboratory of Public Health

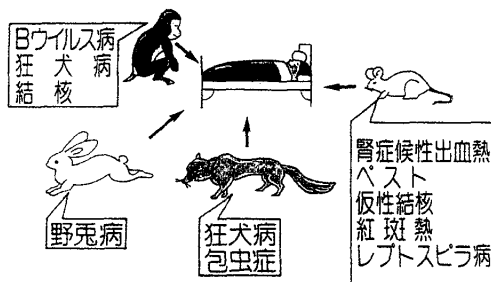
教授 高島 郁夫 Takashima, Ikuo
 助教授 荻和 宏明 Kariwa, Hiroaki
 助手 水谷 哲也 Mizutani, Tetsuya



自然界のウイルス存続の謎を解く

ウイルス性人畜共通伝染病の予防を目指して

野生動物からの人の感染症



1. 野生動物が保有する人畜共通伝染病：Zoonoses and wild animals



2. 旗ざり法によるダニの採集：Tick collection by flagging method.

最近、世界各地でエボラ出血熱に象徴されるように新種の人畜共通伝染病（Zoonoses）が次々と出現しています。これらの流行は森林伐採・農地開墾などにより病原体保有野生動物や媒介節足動物と人との接触の機会が飛躍的に増大したことによると考えられています。

1993年北海道の渡島管内でこれまでわが国で発生のなかったロシア春夏脳炎の患者が発見されました。本疾患はマダニにより媒介され、致死率が30%にも及ぶ危険度の極めて高いウイルス性感染症です。現在、媒介マダニと病原菌となる野ネズミの種を同定する研究を精力的に進めています。

腎症候性出血熱はげっ歯類を病原菌とするウイルス性疾患で、北海道の野ネズミが本ウ

イルスを高率に保有するので、人の疾患との関連やウイルスの起源について研究を進めています。

日本脳炎は、蚊（コガタカイエカ）によって媒介される東アジアの代表的なウイルス性疾患で、毎年夏に流行を繰り返しています。しかし、蚊の活動の休止する冬の間ウイルスがどこに潜んでいるかについては不明で、現在、豚の体内にウイルスが潜伏し、初夏に豚から蚊にウイルスを伝播する可能性を検討しています。

このように、当研究室ではわが国のウイルス性人畜共通伝染病の予防のため、自然界におけるこれらのウイルスの存続様式の解明を目指しています。

ダニ脳炎ウイルスの感染環 Transmission cycle of tick-borne encephalitis virus

腎症候性出血熱ウイルスの伝播 Transmission of hemorrhagic fever with renal syndrome virus

日本脳炎ウイルスの越冬機序 Overwintering mechanism of Japanese encephalitis virus



3. 野ネズミからのウイルス分離作業：Field work for virus isolation from rodents

Laboratory of Public Health

Newly emerging zoonoses such as Ebola are now causing biological hazards to humans.

The first case of Russian spring summer encephalitis in Japan was reported in 1993 in Hokkaido. Extensive studies are now being carried out to identify the vector tick and reservoir rodents.

Indigenous rodents in Hokkaido were found to carry the causative virus of hemorrhagic fever with renal syndrome and the human incidence of the infection is now being investigated.



放射線学教室

Laboratory of Radiation Biology

教授 桑原 幹典 Kuwabara, Mikinori

助教授 稲波 修 Inanami, Osamu

助手 浅沼 武敏 Asanuma, Taketoshi



ラジオ波, マイクロ波そして高品位X線, 21世紀を透視する新しい光

レントゲンがX線（波長の短い光）を発見してから100年以上がたち、そのライフサイエンスへの影響は計り知れません。今、21世紀に向けて新しい光を利用した技術が考案されています。特にX線より長い波長を持つラジオ波やマイクロ波、エネルギー均一性に優れた高品位X線が注目されています。本教室では、数年前より獣医学へのラジオ波を利用した「強磁場下磁気共鳴画像撮像法, MRI」、マイクロ波を利用した「バイオラジカル検出法, ESR法」、高品位X線を利用した「新しい照射技術」の研究に取り組んでいます。MRIは実験小動物を対象に、組織内微小イメージングと脳代謝等の脳機能計測のために、バイオラジカル検出法は白血球のNADPHオキシダーゼ活性化機構の解明と白血球粘着不全症の白血球機能異常の解明に、新しい照射技術は腫瘍の放射線によるアポトーシス誘導に着目した増感剤の開発や制癌剤と放射線との併用利用などの腫瘍の新しい治療法開発の基礎研究を行っております。また、近年、放射線をは

じめとする酸化的刺激に対する組織損傷機構をより詳細に明らかにするために、細胞内シグナルに着目したアポトーシスなどの細胞死誘導機構の研究も着手しています。

(研究題目)

1. 強磁場下磁気共鳴画像撮像法 (MRI) による実験小動物組織変化
2. マイクロ波バイオラジカルセンサーによる高感度DNA損傷検出法: ヌクレオシド分子内

化学変化の観察

3. マイクロ波バイオラジカルセンサーによる牛白血球粘着不全症の白血球からの活性酸素生成の解析とNADPHオキシダーゼの活性化機構の研究
4. アポトーシス誘導に着目した放射線とイミダゾール系放射線増感剤、ヌクレオチド系制癌剤との併用効果
5. 細胞内伝達機構からみた酸化ストレスに対する細胞応答の解析

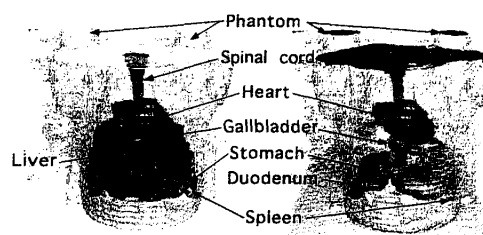
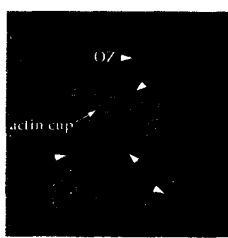


図1. 二次元MRI画像(プロトン強調像)から再構成された三次元画像: 胸部から上腹部までの三次元MRI画像。(左) 二次元MRI画像において臓器の色分け処理をしていない領域の透過率を15%にして再構成。(右) 色分け処理をしていない領域の透過率を15%にし、肝臓と胆嚢の透過率を0%にして再構成。
Figure 1. Three-dimensional magnetic resonance images of a normal mouse from the thorax to the upper abdominal region: Each of two-dimensional magnetic resonance multi-slice proton-density images was pseudo-colored, then these 3-D images were reconstructed using pseudo-colored 2-D MR images; (left) constructed by changing the opacity of non-colored regions to 15% and (right) constructed by changing the opacities of non-colored regions to 15% and those of the liver and gallbladder to 0%.

図2. 牛多形核白血球の貪食の共焦点レーザー顕微鏡による観察。緑はFITC-ファロイジンによるF-アクチン染色。△印はサイモザンを示し、矢印は貪食している白血球の貪食にアクチンの集積 (actin cup) が起こっていることを示している。
Figure 2. Confocal laser microscopic observation of phagocytotic polymorphonuclear leukocytes. △, Zymosan particles. Green fluorescence showed F-actin detected by FITC-conjugated phalloidine and arrow indicated the accumulation of F-actin (actin cup) of phagocytotic cell.



A Control



B X rays (7.5 Gy)

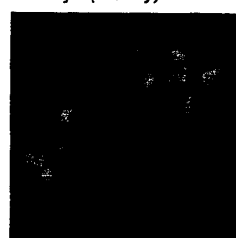


図3. 放射線によって誘導されたアポトーシス細胞。(A) 非照射のMOLT-4細胞 (コントロール) と (B) 7.5Gy照射した10時間培養後のMOLT-4細胞のキヌスト33258による染色像。照射した細胞ではクロマチンの断片化と凝縮が観察される。
Figure 3. Radiation-induced apoptosis in human lymphoblastoid MOLT-4 cell. (A) Unirradiated control, (B) MOLT-4 cell were incubated and stained with Hoechst 33258 after irradiation of 7.5 Gy. In irradiated cells, the chromatin fragmentation and condensation were observed.

Laboratory of Radiation Biology

One century after Roentgen discovered X-rays, newly developed radiation technologies using radio frequencies, microwaves and X-rays are being integrated into life science research. We recently introduced magnetic resonance imaging (MRI) using radio frequency waves, bioradical sensing using microwaves, and new radiation techniques using high-quality X-rays in our laboratory for observing histological alterations in tissues of laboratory animals, analyzing NADPH oxidase and the abnormal functions of neutrophils from Holstein calves with bovine leukocyte adhesion deficiency syndrome, and elucidating the



毒性学教室

Laboratory of Toxicology

教授 藤田 正一 Fujita, Shoichi

助教授 数坂 昭夫 Kazusaka, Akio

助手 石塚真由美 Ishizuka, Mayumi

野生動植物からの警告を聞け!

環境汚染を毒性学で斬る

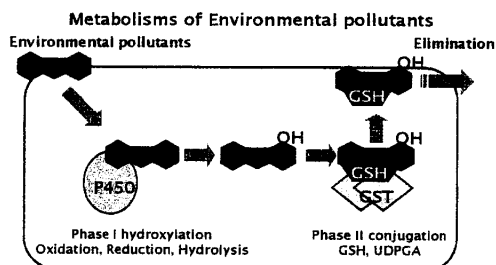
人類が創り出した文明の副産物、環境破壊と環境汚染は地球上の生命の棲息域、生活環境を劣悪化し、「我々が作り出す汚染物質が地球上全ての動植物の生態系を狂わせ、やがては地球は死の惑星と化してしまうのではないか」との恐怖心を抱かせるまでに至ってしまいました。しかし、この問題を科学的に解決することを始めたのは最近のことです。それまでは人間さえ安全ならばという態度で公害問題の解決が計られてきました。今、ようやく人類は人を含めた森羅万象のエコシステムの保全が必要不可欠であるということに気づ

き始めました。このような背景の下に1990年6月、当教室が国立大学唯一の毒性学教室として発足しました。発足以来当教室ではエコトキシコロジーとバイオトキシコロジーの融合を目指して、多くの生物種に広く分布し、汚染物質や薬物の代謝的解毒を行う酵素、チトクロームP450を中心に研究を進めてきました。この酵素を指標として環境汚染の評価を試みる一方、この酵素の生体防御への役割、環境浄化への役割、その反応と機能、生化学的性質の解明などの基礎的研究にも従事してきました。さらに、グローバルな視点から、海洋

汚染の広がりや海洋生物の汚染物質代謝能力の変動の調査などの取組みを開始しています。

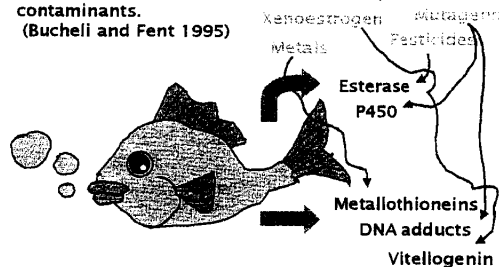
現在進行中の研究課題は：

1. 生態系および動植物体内での汚染物質の動態
2. 化学発癌および活性酸素による発癌の機構の解明
3. 生体内物質によるP450の調節機構
4. 異物代謝の多形の分子遺伝学的検討
5. 植物の環境浄化に関する役割



In the most of organisms, cytochrome P450 is the major phase I enzyme. Although P450 is important in the biosyntheses of endogenous compounds like steroid, fatty acid, leukotrienes, pheromones and vitamins, the largest numbers of P450 substrates are foreign chemicals, such as drugs, plant metabolites, food additives and environmental pollutants.

Biomarkers : The biomarker can be defined as a measurable response at any level of biological organization that can be related to an impact of contaminants. (Bucheli and Fent 1995)



Laboratory of Toxicology

Environmental pollution is of toxicological concern, because pollutants that cause imbalances in the homeostasis of living organisms or disturb the ecological balance are considered to be toxic substances. We are concerned with xenobiotics oxidizing enzymes, cytochrome P450 in particular. This enzyme is widely distributed in animals and plants, and functions as part of the body's self-protection mechanism from xenobiotics, such as pollutants and drugs. This enzyme also engages in the metabolic activation of otherwise non-toxic substances, at times, to form active metabolic intermediates.

Some of the currently ongoing research themes are as follows:

1. Dynamics of xenobiotics and contaminants in the whole ecosystem and in organisms
2. Characterization of xenobiotic metabolism and detoxication by cytochrome P450



生態学教室

Laboratory of Wildlife Biology

教授 大泰司紀之 Ohtaishi, Noriyuki

助教授 鈴木 正嗣 Suzuki, Masatsugu



成長途中の袋角（ふくらつづ）をもつ雄のエゾシカ。シカ類の角は生物学的に特殊な器官であり、その発生や行動学的意義について盛んに研究されている。



マレーシアの保護施設に収容されたマレーグマ。熱帯に生息するこのクマの生態は、温帯のクマ類とは大きく異なっている。

1995年に設立された、国公立獣医系大学では初の野生動物専門研究室です。主として大型哺乳類を対象に、個体群動態、繁殖生理、形態、遺伝、系統進化等に関する研究を進めています。野生動物の保護（Conservation）や

野生動物の管理（Management）には、個体群の動態を知ることが最も重要であり、そのポイントとなる繁殖（増加）と死亡（減少）の研究は、獣医学の得意とする分野です。また遺伝的な多様性や変異に関する知見は、野生下・飼育下を問わず個体群の存続をはかる際に必須とされています。欧米の獣医学研究では伝統的に野生動物も扱われ、その成果は世界中の保全生物学の現場で役立てられています。わが国の獣医学は基礎分野も充実しており、今後欧米をしのぐ野生動物獣医学の発展が期待されます。当教室でも、野生動物の保護管理が必要な世界各地での研究を展開していきます。

研究項目

1. 陸生中・大型哺乳類の保護管理学的研究：シカ・クマ類などの個体群動態（分布・密度・移動・年齢構成・繁殖・死亡要因など）の解明
2. 鰐脚類・ウミガメ類の個体群動態：特に減少の著しいトドおよびタイマイの保全を目的とした研究
3. アジア産哺乳類の進化系統：大型有蹄類・食肉類などの比較形態・分子遺伝と動物地理学的研究
4. チベット・新疆の動物相：中国チベット自治区および新疆ウイグル自治区の鳥類・哺乳類群集の分類・分布・進化生態学的研究
5. 北方四島の生物相：世界的に見ても貴重な

自然が残されている、北方四島における生物相の現状把握とその保全を目指した研究

6. 移入動物対策：アライグマやホンDOIタチなど本来北海道に生息していなかった動物の分布・繁殖状況などに関する研究



知床のヒグマ。彼らとの共存は、北海道の抱える難しい問題の一つである。



砂州に上陸しているゴマフアザランの群れ（8月）。日本人にとって最もなじみ深いアザランでありながら、その生態には未解明な部分が多い。

Laboratory of Wildlife Biology

Laboratory of Wildlife Biology was established in 1995. Some of our research themes are as follows:

1. Population dynamics of big game mammals (deer etc.) for management.
2. Population dynamics of marine animals (Steller sea lion, hawkbill turtle etc.) for conservation.
3. Systematics and evolution of cervids, deer.
4. Systematics and evolution of ursids, bears.



附属家畜病院

病院組織

病院長	教授	藤永 徹	Fujinaga, Toru
病院専任教官	助教授	田島 誉士	Tajima, Motoshi
診療科	第一内科 (科長) 教授	前出吉光	Maede, Yoshimitsu
	講師	大和 修	Yamato, Osamu
	助手	山崎真大	Yamasaki, Masahiro
	第二内科 (科長) 教授	橋本 晃	Hashimoto, Akira
	助教授	田島 誉士	Tajima, Motoshi
	講師	滝口満喜	Takiguchi, Mitsuyoshi
	外科 (科長) 教授	藤永 徹	Fujinaga, Toru
	講師	廉澤 剛	Kadosawa, Tsuyoshi
	助手	奥村正裕	Okumura, Masahiro
	繁殖 (科長) 教授	高橋芳幸	Takahashi, Yoshiyuki
	助教授	片桐成二	Katagiri, Seiji
	助手	永野昌志	Nagano, Masashi
臨床検査科	(科長) 教授	小沼 操	Onuma, Misao
	一般臨床検査部門 (主任) 助教授	田島 誉士	Tajima, Motoshi
	特殊検査部門 (主任) 教授	喜田 宏	Kida, Hiroshi
	病理検査部門 (主任) 教授	梅村孝司	Umemura, Takashi
	画像診断部門 (主任) 講師	廉澤 剛	Kadosawa, Tsuyoshi



家畜病院は附属施設であり、専任教官が一名配置されていますが独立した研究室ではありません。しかし大学院獣医学研究科の各講座、特に診断治療学講座と密接な連携をとりながら大学院レベルでの研究が実施されています。大学院の各講座を構成する研究室とは異なり、大学院生が病院の研究室に所属することはできませんが、専任教官の助言の基で研究を遂行することは可能です。

病院教官の研究室では病気の発症機序の解明と発症予防を目指して、分子生物学的解析を実施しています。近年、ほとんどの疾患の発病因子として遺伝子が深く関与していることが明らかにされつつあります。獣医臨床領域においても、様々な疾患と遺伝子異常との関係が解明されています。臨床獣医学では、診断治療技術の向上とともに防疫予防システムの確立が重要です。そのためには、発病に

関与する遺伝子の役割を解明することは必要不可欠な過程です。現在進行中の研究課題は以下のとおりです。

1. ウシウイルス性下痢粘膜病におけるウイルス遺伝子型と病態との関係
2. 家畜の遺伝性疾患の原因遺伝子の究明と治療の可能性
3. ウシの抗病性に関与する遺伝子の探求と病気に強いウシの確立



学位(課程博士) 授与一覧(1999, 2000年度)

学位(課程博士) 授与一覧(1999, 2000年度)

Hokkaido University granted the degree of Doctor of Veterinary Science (equivalent to Ph.D.) to the following graduates of the Graduate School of Veterinary Medicine during the past two years, 1999, 2000.

1999年度

氏名	所属教室	論文題目
駒込聖佳	生化学	神経系細胞の分化における低分子GTP結合タンパク質Rhoの役割に関する研究
湖本士敏	生化学	視床下部—交感神経系による脾臓リン/球機能の調節 —中枢制御部位と関与ペプチドの探索—
菊 培東	生化学	Sympathetic regulation of hepatic Interleukin expression during non-invasive stress (非炎症性ストレスによる肝インターロイキン産生とその交感神経性調節)
徐 光源	実験動物学	Genetic and developmental study of tattered-Hokkaido (<i>Tdtm</i> mouse [Tattered-Hokkaido (<i>Tdtm</i> マウスにおける遺伝子学的および発生学的研究]
田中 淳	解剖学	小脳プルキンエ細胞におけるシナプス伝達分子の局在に関する形態学的研究
松尾加代子	寄生虫学	多包糸虫 [<i>Echinococcus multilocularis</i>] 代替終宿主モデルの改善とフォーゲル包糸虫 [<i>E. vogeli</i>] への応用
森嶋康之	寄生虫学	北海道における多包糸虫 [<i>Echinococcus multilocularis</i>] の動物疫学
ハロガ エドワード フオンタニリア	外科学	A study on the differentiation therapy of canine osteosarcoma with Vitamin D and retinoids (イヌの骨肉腫に対するビタミンDおよびレチノイドによる分化誘導療法に関する研究)
李 成一	感染症学	Differences in infectivities and genomic structures between oncogenic and non-oncogenic Marek's disease viruses (腫瘍原性および弱毒マレック病ウイルスの遺伝子構造と感染性の相違に関する研究)
陳 喜慶	実験動物学	Molecular characterization and antiviral activity analysis of the interferon inducible <i>Mx</i> gene in mice (マウスにおけるインターフェロンで誘導される抗ウイルス遺伝子 <i>Mx</i> に関する分子生物学的研究)
八田正人	微生物学	Analysis of structure-function of RNA polymerase of influenza A virus (インフルエンザAウイルスRNAポリメラーゼの構造と機能の解析)
手 碩柱	毒性学	Mechanism of free radical induced oxidative injury and activation of signal transduction in rat liver mambrane with acute hepatitis - spectroscopic observation (ラット肝においてフリーラジカルが誘発する膜の酸化的損傷と細胞内情報伝達活性化機序の解明)
モハメッド タール モハメッド サイド	繁殖学	Bovine nuclear transfer using embryonic blastomeres and cumulus cells (割球および卵丘細胞を用いたウシの核移植)

2000年度

氏名	所属教室	論文題目
メアス ソティー	感染症学	Seroprevalence, molecular epidemiology and vertical transmission of bovine retroviruses (ウシレトロウイルスの血清ならびに分子疫学調査と垂直伝播に関する研究)
渡邊孝文	臨床分子生物学	A fundamental study on the gene therapy of human bladder cancer using the dominant negative H-ras mutant N116Y (H-ras 優性抑制性変異体N116Yを用いた膀胱癌遺伝子治療の基礎的研究)
上野博史	外科学	キトサンによる創傷治癒促進の機構解析
渡邊一弘	外科学	イヌの根尖部apical deltaの形成と歯周疾患に対するエナメルマトリックスタンパクの歯周組織再生効果
アディ ウィナルト	解剖学	Involvement of KATP channels in development and survival of pancreatic islet cells in mice (マウスの膵島細胞の発達と生存におけるKATPチャネルの関与)
モワ チシンバサン	解剖学	The cellular distribution of estrogen receptor α and β mRNA in the reproductive organs of the rat: an <i>in situ</i> hybridization study (ラットの生殖器官におけるエストロゲン受容体 α と β mRNAの組織発現: <i>in situ</i> hybridization法による研究)
クリストファ ビションガ	繁殖学	<i>In-vitro</i> culture of mouse preantral follicles and its application to the analysis of transforming growth factor- β 1 expression in the developing follicles (マウス前卵巣卵細胞の体外培養法と発育卵胞におけるトランスフォーミング増殖因子- β 1発現解析への応用)
エコワティ ハンダルヤニ	比較病理学	Pathomorphological studies of cholangiohepatitis in broiler chickens (ブロイラー鶏における胆管肝炎の病理形態学的研究)
澤田信美	比較病理学	<i>Neospora caninum</i> の診断系の開発とウシおよびヒトにおける血清調査
豊西洋平	薬理学	副腎髄質細胞及びPC12細胞におけるカテコールアミンとATP放出のオンライン同時測定
マーフィ、マイケル ユジン	公衆衛生学	Studies on the antiviral activity of lactoferrin and ribabirin upon hantavirus (ハンタウイルスに対するラクトフェリンとリバビリンの抗ウイルス活性に関する研究)
丸山 豊	毒性学	内因性ドパミン神経毒6, 7-dihydroxy-1, 2, 3, 4-tetrahydroisoquinoline (norsalsolinol) のドパミン分泌に与える影響とその細胞内動態
山本秀樹	毒性学	Long-Evans cinnamon (LEC) ラットにおける銅蓄積に伴う活性酸素種の生成機構の解明とその急性肝炎発症への寄与に関する解析
岩崎 忠	感染症学	Studies on experimental asthmatic model using NC/Nga mice (NC/Ngaマウスをもちいた実験的喘息モデルに関する研究)



大学院募集案内

北海道大学大学院
獣医学研究科博士課程

- 募集人員／19名
- 試験科目／専門科目 2科目・英語
面接及び健康診断
- 試験／10月中頃(2月上旬)
- 合格発表／10月末(2月末)
()内は欠員補充の場合

お問い合わせ及び資料請求先

〒060-0818
札幌市北区北18条西9丁目
北海道大学大学院 獣医学研究科
TEL.(011)706-5175 (教務掛)

附錄二：家禽流行性感冒病毒濃縮與純化程序

I. 病毒亞型確認及稀釋倍數計算

材料

預備純化之病毒株

抗生素 (PS: Penicillin 1000U/ml、Streptomycin 1 mg/ml)

Brain-hart-infusion (BHI) (或以 PBS 取代)

方法

1. 預備純化之病毒株再次確認亞型 (進行 HI、NI 試驗)
2. 添加抗生素 (每 10ml 添加 PS 200ul) 後 10 倍階段稀釋成 $10^0 \sim 10^6$, 取各稀釋階接種於 10 日齡雞胚蛋每個 0.1mL, 35°C 培養 48 小時
3. 收取尿囊液, 測定 HA 力價, 以最高 HA 力價做為稀釋倍數的計算

II. 接種稀釋之病毒液

材料

預備純化之病毒株

抗生素 (PS: Penicillin 1000U/ml、Streptomycin 1 mg/ml)

Brain-hart-infusion (BHI) (或以 PBS 取代)

方法

1. 從 I 試驗計算出病毒稀釋倍數 (一般稀釋為 10^4), 添加抗生素 (每 10ml 添加 PS 200ul)
2. 稀釋好之病毒液取 0.1mL 接種於 10 日齡雞胚蛋 (每接種 100 個蛋需泡製 10ml 稀釋之病毒液), 35°C 培養 48 小時
3. 接種後 1 日照蛋檢查 (1 日死亡之蛋廢棄不要, 可能為接種受傷造成, 其病毒的力價不高)
4. 第 2 日照蛋 (第 2 日死亡的蛋可以使用), 將蛋移至 4°C

III. 尿囊液回收及超高速離心

材料

0.08% NaN₃ in PBS

方法

0. 準備 2000ml 錐形瓶及紗布 (回收尿囊液用的容器)
1. 以 10ml 玻璃針筒回收尿囊液 (每個蛋約可回收 7~8 ml 以上尿囊液), 經紗布過濾收集於錐形瓶, 分裝至 1000cc 離心瓶四瓶, 瓶底殘餘的病毒液進行 HA test (檢測結果有 2^8 HA 力價)。

2. 4°C 離心 5000rpm 30 分鐘 (大容量冷卻離心機: himac CR7B3 最大容量 1000ml/bottle), 收集離心後上清液
3. 超高速離心 35,000rpm、4°C、1.5 小時(himac CP80 α P45AT, accel : 9、decel : 9) (100 個蛋收取的尿囊液全部病毒液需進行兩次離心才完成)
4. 離心後將底部濃縮的病毒每管加 200ul 0.08% NaN₃-PBS, 4 °C 浸泡 2 天 (可浸泡更長的時間 3~6 晚, 每日輕輕搖動一次)

IV. 蔗糖梯度離心

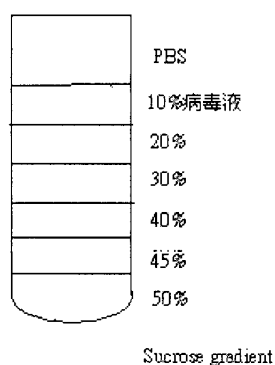
材料

蔗糖液 (50%、45%、40%、30%、20%)

0.08% NaN₃ in PBS

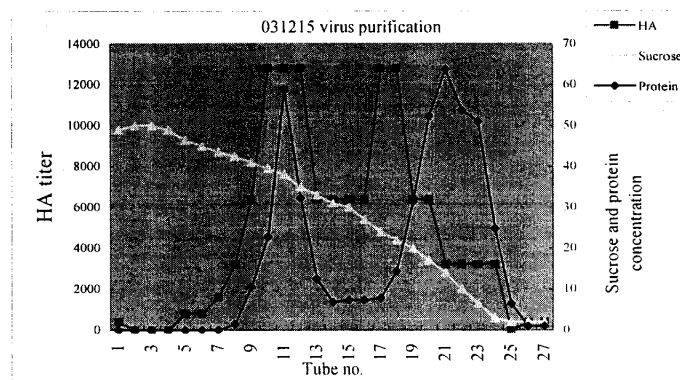
方法

1. 將超高速離心後之病毒放置 PBS 兩天, 以 Tip 沖散, 過程不可有氣泡, 然後全部收集於 15ml 離心管, 3000rpm 10 分鐘, 收集上清液
2. 加 50% Sucrose 使病毒懸浮液成 10% Sucrose solution。
3. 另一方面製作 Sucrose gradient (20%~50%), 以長針分別取 20% : 5ml、30% : 5ml、40% : 4ml、45% : 4ml、50% : 5ml 加到 40PA 離心管, 每加一層用簽字筆標示位置, 最上層覆以 10% Sucrose 的病毒懸浮液 (例如濃縮病毒總量為 2ml 則加 50% 蔗糖液 0.5ml), 最後剩餘空間以 PBS 補滿, 如下圖。



4. 27,000rpm、4°C、離心 1.5 小時 (himac CP80 α 40PA 容量 35.6ml, accel : 5、decel : 5 設定緩慢上升及緩慢下降)
5. 以特製收集器分段收集離心後液體, 收集於微量離心管每管約 1ml, 共約 30 管 (編號 No1~No30), 檢測每管的 HA 力價、Protein 濃度及 Sucrose 含量

6. HA 檢測時先將每管稀釋 100 倍 in PBS，再進行兩倍連續稀釋 6 孔檢測，每孔 25ul。
7. 蛋白質濃度以分光光度 280 及 260nm 波長測定，計算蛋白質含量 (mg/ml) 計算方式於機器內有自動設定 (檢測四次 A1: $\lambda=280$ 、A2 $\lambda=280$ 、A3 $\lambda=260$ 、A4 $\lambda=260$)。
8. 各分注管的 Sucrose 濃度以糖度測定器檢測，每次取 25ul 測定糖度，讀取值為百分率濃度。
9. 完成各分注管 HA、Protein、Sucrose 含量的相關圖表。將相關值輸入電腦 Excel 檔內，點選折線圖。



10. 找出 HA 力價最高且蛋白質含量高的分注管編號 (得知其 Sucrose 濃度為 30~40%濃度範圍，以後純化病毒時可直接收取此範圍病毒層)，將此範圍病毒層的分注管 (No 9~13) 集中倒入超高速離心管內
11. 加 PBS 充滿整管後再以 35000rpm 離心 1.5 小時 (P45AT)
12. 離心後，上清液捨棄，使離心管乾燥，再加 200ul 0.08%Na3 in PBS 浸置。
13. 4°C 靜置 1 晚
14. 將純化的病毒收集於保存管內
15. 再次測定純化後病毒的 HA 力價和蛋白質含量，HA 測定前先稀釋成 100 倍及 1000 倍稀釋度分別測定 HA 力價，檢測結果 HA 力價為 1,024,000 HAU (No. 9~13) 及 204,800 HAU (No. 17~19)，取剩餘的 10 倍稀釋管稀釋成 200 倍後進行蛋白質測定，結果蛋白質含量為 74.16 mg/ml (No. 9~13) 及 20.62 mg/ml (No. 17~19)。
16. 保存於 -80°C (使用於免疫注射則添加 Formalin 終濃度 0.1 % 使病毒不活化，福馬林先以 PBS 稀釋成 10% 濃度備用，添加後靜置 4°C 7 日，以蛋內接種兩代後測定尿囊液 HA 來確認

病毒已不活化才可當疫苗免疫用)。

附錄三：神經氨酸酶試驗 (Neuraminidase test)

試劑

磷酸緩衝液 (PB) : 0.4M Na_2HPO_4 19ml, 0.4M NaH_2PO_4 81ml, pH 5.9 + 6ml CaCl_2

受質: fetuin 500mg in 10ml DW + 10ml PB

過碘酸劑: NaIO_4 4.28g in 38 ml DW + 62ml phosphoric acid, 保存於暗色瓶子

砷劑: NaAsO_2 10g, Na_2SO_4 7.1g in 100ml DW + 0.3ml conc H_2SO_4

硫巴比妥酸劑 (TBA): TBA 1.2g, Na_2SO_4 14.2g in 200ml DW 溶於沸水中

丁醇試劑: n-butanol 100ml+ 5ml conc HCl 保存於暗色瓶子

方法

神經氨酸酶試驗

1. 病毒試驗株以 PBS 稀釋 20 至 2560 倍
2. 每個稀釋倍數取 25uL 加入玻璃試管中, 加入 25uL PBS 與 50uL 受質, 混合均勻後於 37°C 隔夜感作。
3. 加入 50uL 過碘酸劑, 在室溫感作 20 分鐘, 並準備一沸騰水。
4. 加入 500 uL 砷劑並充分搖晃至棕色消失。
5. 加入 1.25mL TBA, 混合均勻。
6. 置於沸騰水中 15 分鐘。
7. 冰浴以降溫, 加入 1.5 mL 丁醇試劑, 充分混合。
8. 離心 4,000 rpm 10 分鐘使分層。
9. 於 549 nm 測量吸光值, 判讀。
10. 理想的病毒 NA 值為吸光度 0.5
11. 結果試驗株 NO1 的 NA 力價為 60 倍, NO2 的力價為 250 倍。

附錄四：神經氨酸酶抑制試驗 (Neuraminidase inhibition test):

試劑

磷酸緩衝液 (PB): 0.4M Na_2HPO_4 19ml, 0.4M NaH_2PO_4 81ml, pH 5.9 + 6ml CaCl_2

受質: fetuin 500mg in 10ml DW + 10ml PB

過碘酸劑: NaIO_4 4.28g in 38 ml DW + 62ml phosphoric acid, 保存於暗色瓶子

砷劑: NaAsO_2 10g, Na_2SO_4 7.1g in 100ml DW + 0.3ml conc H_2SO_4

硫巴比妥酸劑 (TBA): TBA 1.2g, Na_2SO_4 14.2g in 200ml DW 溶於沸水中

丁醇試劑: n-butanol 100ml+ 5ml conc HCl 保存於暗色瓶子

方法

神經氨酸酶抑制試驗

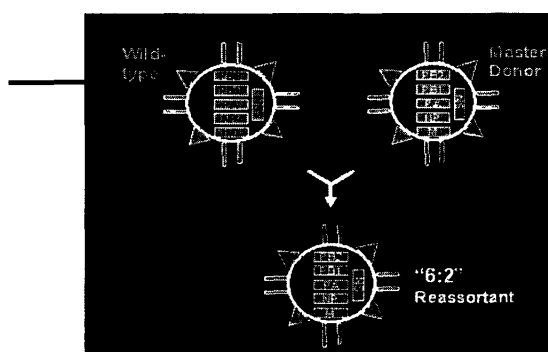
12. 病毒試驗株以 PBS 稀釋 (No1 進行 60 倍稀釋, No2 進行 250 倍稀釋)
13. 將血清 10 倍稀釋, 每種血清取 25uL 加入玻璃試管中
14. 加入 25uL 已稀釋之病毒, 於室溫感作 1 小時。
15. 加入 50 uL 受質, 混合均勻後於 37°C 隔夜感作。
16. 加入 50uL 過碘酸劑, 在室溫感作 20 分鐘, 並準備一沸騰水。
17. 加入 500 uL 砷劑並充分搖晃至棕色消失。
18. 加入 1.25mL TBA, 混合均勻。
19. 置於沸騰水中 15 分鐘。
20. 冰浴以降溫, 加入 1.5 mL 丁醇試劑, 充分混合。
21. 離心 4,000 rpm 10 分鐘使分層。
22. 於 549 nm 測量吸光值, 判讀。
23. 檢測樣本 / 陽性對照 $\times 100 = \text{抑制率}\%$, $\geq 50\%$ 表抑制陰性, $< 50\%$ 表抑制陽性
24. 檢測結果病毒 No1 為 N1, 病毒 No2 為 N2。

附錄五：高增殖性 H5、H7 流感疫苗病毒株篩選方法

方法

自然雜交法 (Natural reassortment)

1. 準備 H5 或 H7 野毒株與選取高增殖性野毒株
2. 等量混合，取 1.0ml 接種於 9~11 日齡雞胚胎蛋培養 48 小時
3. 收取尿囊液，進行 10 倍階段稀釋
4. 各稀釋階分別接種於 6 cm 平皿培養的 MDCK 細胞，進行病毒斑試驗
5. 選擇具 5~20 個病毒斑的細胞盤
6. 挑出單依病毒斑接種於 9~11 日齡雞胚胎蛋 48 小時
7. 檢測每個接種蛋之尿囊液的 HA 力價
8. 選取增殖力價高的尿囊液進行 H 及 N 亞型鑑定（進行 HI 及 NI 試驗）
9. 選取 H5 或 H7 亞型之高增殖雜交株進行八片段基因序列分析
10. 候選之病毒株-80℃保存（後續需進行病原性試驗，確定安全無虞才可做為疫苗候選株）



附錄六：Preparation of a panel of avian influenza virus of different subtypes for vaccine strains against future pandemics
（籌備各種不同亞型家禽流行性感冒病毒以應用於未來大流行之疫苗株）論文一篇

**Preparation of a panel of avian influenza viruses of different subtypes
for vaccine strains against future pandemics**

Yoshihiro SAKODA^a, Toshihiro ITO^b, Katsunori OKAZAKI^a, Ayato TAKADA^c, Yuki ITO^a,
Kyuzo TAMAI^a, Masatoshi OKAMATSU^a, Kennedy F. SHORTRIDGE^d, Robert G.
WEBSTER^e, Hiroshi KIDA^a

a) Department of Disease Control, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Japan

b) Department of Veterinary Public Health, Faculty of Agriculture, Tottori University, Japan

c) Division of Virology, Department of Microbiology and Immunology, Institute of Medical Science, University of Tokyo, Japan

d) Department of Microbiology, The University of Hong Kong, Hong Kong SAR, China

e) Department of Virology and Molecular Biology, St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, USA

Author for correspondence: Hiroshi Kida: Laboratory of Microbiology, Department of Disease Control, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Hokkaido 060-0818, Japan

TEL; 81-11-706-5207 FAX, 81-11-706-5273

E-mail; kida@vetmed.hokudai.ac.jp

Abstract

For the prediction of future influenza pandemics, global surveillance of avian influenza has been continued since 1991 and carried out in Russia, Mongolia, China, and Japan from 2000 to 2003. Influenza virus isolates of 50 combinations of HA and NA subtypes have been identified and 3 strains selected from each of those are stocked. In addition, 47 other combinations have been generated by standard genetic reassortment procedure in the laboratory. Since we have already shown that influenza viruses have been fully adapted to ducks and cause no disease signs and are in evolutionary stasis in their natural reservoirs, virus isolates from ducks are ideal as vaccine strains. Thus, influenza viruses of 97 combinations of HA and NA subtypes are now available as vaccine strain candidates against emerging pandemic influenza in humans, domestic animals, and poultry.

Keywords

global surveillance; vaccine; avian influenza virus; pandemic

1. Introduction

Pandemic influenza viruses arise by genetic reassortment between human and non-human viruses [1, 2]. All of the known subtypes of influenza A virus (H1 to H15 and N1 to N9) are circulating in aquatic birds, especially in migratory ducks [3, 4]. Antigenic and genetic analyses of influenza virus isolates from migratory ducks, domestic ducks, pigs, and humans indicated that the hemagglutinin (HA) gene of A/Kong Kong/68 (H3N2) strain was introduced into the precedent human H2N2 Asian influenza virus by genetic reassortment in pigs through domestic ducks from an H3 influenza virus circulating in migratory ducks in southern China [5-7]. In experimental infection of pigs, most tested strains of each HA subtype of H1-H13 avian influenza viruses replicate in the upper respiratory tracts of the animals. Co-infection of pigs with a swine virus and with an avian virus enable to replicate in this animal generated reassortant viruses that could be passaged in them [8]. The results indicate that avian viruses of any subtype can contribute genes in the generation of reassortants and so that none of the 15 HA and 9 neuraminidase (NA) subtypes can be ruled out as potential candidates for future pandemics. It is, therefore, important to store a panel of vaccine strains of 135 combinations of 15 HA and 9 NA subtypes in order to prepare for the emergence of future pandemics. The direct transmission of H5N1 [9, 10] and H9N2 [11, 12] influenza viruses from poultry to humans in Hong Kong further emphasized the need to prepare effective vaccine candidates for the emergence of future pandemics.

To provide information on the precursor genes of future pandemic influenza viruses, virological global surveillance of avian influenza was been continued since 1991 in Alaska and

Siberia [13, 14]. In the present study, this surveillance was carried out from 2000 to 2003 in Russia, Mongolia, China, and Japan, where ducks congregate on their flyway of migration from Siberia. More than 400 isolates in these surveillances were systematically stored as vaccine strain candidates for all 135 subtypes of influenza A virus.

2. Materials and Methods

Virus isolation and identification

A total of 4,771 fecal samples were collected from ducks including mallards, teals, and pintails in Siberia of Russia, Mongolia, China, and Japan. The samples were kept in the cool, transported to Hokkaido University, and stored at -80 °C until assayed. Each sample was inoculated into the allantoic cavity of 10-day-old embryonated eggs. After 2 days incubation at 35 °C, the allantoic fluids were tested for hemagglutinating activity. All hemagglutinating agents were identified by hemagglutination-inhibition (HI) and neuraminidase-inhibition (NI) tests using specific antisera to the reference strains of influenza viruses [15].

Generation of genetic reassortment virus

To generate the reassortant virus, two parental viruses were mixed and injected into the allantoic cavity of embryonated eggs. The allantoic fluid from the eggs was harvested after incubation at 35 °C for 48 h. Fifty microliters of fluid was mixed with appropriate chicken antisera and incubated at 37 °C for 1h prior to plaque cloning of the viruses in MDCK cells. Subtypes of HA and NA of the cloned virus were identified with HI and NI tests. To provide

HA gene to reassortant virus, Pintail/Shimane/324/98 (H1N9), Duck/Hokkaido/95/01 (H2N2), Duck/Hokkaido/5/77 (H3N2), Mallard/Alberta/223/79 (H4N2), Duck/Hokkaido/67/96 (H5N3), Duck/Pennsylvania/10128/84 (H5N2), Duck/Hokkaido/120/01 (H6N2), Duck/Hong Kong/301/78 (H7N2), Duck/Hokkaido/9/99 (H9N2), Duck/Hokkaido/18/00 (H10N4), Swan/Shiname/48/97 (H11N2), Duck/Hokkaido/66/01 (H12N5), Mallard/Astrakhan/263/82 (H14N5), and Duck/Australia/341/83 (H15N8) were propagated As NA gene provider, Duck/Mongolia/47/01 (H7N1), Duck/Hokkaido/5/77 (H3N2), Mallard/Ireland/PV46B/93 (H9N3), Duck/Hokkaido/18/00 (H10N4), Duck/Hokkaido/1058/01 (H4N5), Duck/England/1/56 (H11N6), Seal/Massachusetts/1/80 (H7N7), Duck/Hokkaido/8/80 (H3N8), Duck/Memphis/546/74 (H11N9) were prepared.

3. Results

Isolation of influenza A viruses from fecal samples of waterfowls

In total, 4,771 fresh fecal samples of ducks were collected in Siberia of Russia, Mongolia, China, and Japan. From these samples, 274 agents were serologically identified as influenza viruses (Table 1). Twelve HA subtypes (H1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, and 15) and all 9 NA subtypes were identified in these isolates. These results indicate that a variety of subtypes of influenza virus are maintained by ducks nesting in Siberia or congregating on their flyway of migration from Siberia. However, some combinations of HA and NA are dominant in each subtype (i.e. H3N8 in H3 subtype, H4N6 in H4 subtype), all 135 combinations of 15 HA and 9 NA could not be prepared from nature.

Generation of genetic reassortment virus

More than 400 isolates in these surveillances since 1991 were systematically stored as vaccine strain candidates for all subtypes of influenza A virus. Totally 50 combinations of HA and NA were stocked as vaccine candidates (Fig. 1). To complete the preparation of vaccine candidates of all 135 combinations, genetic reassortants were generated for the combinations that are hardly isolated from nature. By standard genetic reassortment procedure, 47 new reassortants were generated from each parental virus and stored as new combinations (Fig. 1). Thus, influenza viruses of 97 combinations of HA and NA subtypes have been stored as vaccine strain candidates against emerging pandemic influenza.

4. Discussion

Intensive surveillance study of aquatic birds is stressed to provide information on the future pandemic influenza virus. The findings together with the proposed hypothesis for the emergence of the pandemic viruses [6, 16], indicate that pandemic influenza virus strains should inherit the genes from the viruses maintained by ducks nesting in Siberia [14]. In the global surveillance in 2000-2003, 12 HA subtypes (H1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, and 15) and all 9 NA subtypes were identified in these isolates. The present results indicate that none of the 15 HA and 9 NA subtypes can be ruled out as possible precursor viruses for future pandemics. It is, therefore, important to establish a library of a panel of vaccine strains isolated from ducks in order to provide vaccine strains for future pandemics.

The antigenicity, immunogenicity, pathogenicity, and yield in chicken embryo are the most important criteria for vaccine strains. On the basis of the antigenic analysis of pandemic strains, proper strain should be selected immediately for vaccine production. Several strains in the same subtype must be stored for the future pandemics, since the difference of antigenicity in one subtype is already known [17]. Selection and generation of vaccine strain with low pathogenicity and high yield in chicken embryo are required for vaccine production [18]. Further generation of reassortant virus from original vaccine candidates might be necessary for these points. The preparation of the vaccine strain candidate from waterfowls in nature or reassortant viruses of them by standard technique must be the best choice since vaccine prepared from duck isolates was potent enough to protect mice from challenge with lethal dose of the pathogenic influenza virus A/Hong Kong/483/97 (H5N1) [19].

Figure legends

Figure 1 Panel of 97 combinations of HA and NA subtypes as vaccine strain candidates against emerging pandemic influenza. Field isolates of 50 combinations of HA and NA subtypes (shown in black) including new isolates in 2000-2003 have been selected from our library of virus isolates. Forty-seven combinations (shown in gray) have been generated by standard genetic reassortment procedure in the laboratory. Thus, influenza viruses of 97 combinations of HA and NA subtypes have been stocked as vaccine strain candidates.

References

- [1] R. G. Webster, W. G. Laver, Studies on the origin of pandemic influenza. I. Antigenic analysis of A 2 influenza viruses isolated before and after the appearance of Hong Kong influenza using antisera to the isolated hemagglutinin subunits, *Virology* 48 (1972) 433-444.
- [2] S. Ludwig, L. Stitz, O. Planz, H. Van, W. M. Fitch, C. Scholtissek, European swine virus as a possible source for the next influenza pandemic?, *Virology* 212 (1995) 555-561.
- [3] C. Rohm, N. Zhou, J. Suss, J. Mackenzie, R. G. Webster, Characterization of a novel influenza hemagglutinin, H15: criteria for determination of influenza A subtypes, *Virology* 217 (1996) 508-516.
- [4] R. G. Webster, W. J. Bean, O. T. Gorman, T. M. Chambers, Y. Kawaoka, Evolution and ecology of influenza A viruses, *Microbiol Rev* 56 (1992) 152-179.
- [5] H. Kida, Y. Kawaoka, C. W. Naeve, R. G. Webster, Antigenic and genetic conservation of H3 influenza virus in wild ducks, *Virology* 159 (1987) 109-119.
- [6] H. Kida, K. F. Shortridge, R. G. Webster, Origin of the hemagglutinin gene of H3N2 influenza viruses from pigs in China, *Virology* 162 (1988) 160-166.
- [7] J. Yasuda, K. F. Shortridge, Y. Shimizu, H. Kida, Molecular evidence for a role of domestic ducks in the introduction of avian H3 influenza viruses to pigs in southern China, where the A/Hong Kong/68 (H3N2) strain emerged, *J Gen Virol* 72 (Pt 8) (1991) 2007-2010.

- [8] H. Kida, T. Ito, J. Yasuda, Y. Shimizu, C. Itakura, K. F. Shortridge, Y. Kawaoka, R. G. Webster, Potential for transmission of avian influenza viruses to pigs, *J Gen Virol* 75 (Pt 9) (1994) 2183-2188.
- [9] E. C. Claas, A. D. Osterhaus, R. van Beek, J. C. De Jong, G. F. Rimmelzwaan, D. A. Senne, S. Krauss, K. F. Shortridge, R. G. Webster, Human influenza A H5N1 virus related to a highly pathogenic avian influenza virus, *Lancet* 351 (1998) 472-477.
- [10] K. Subbarao, A. Klimov, J. Katz, H. Regnery, W. Lim, H. Hall, M. Perdue, D. Swayne, C. Bender, J. Huang, M. Hemphill, T. Rowe, M. Shaw, X. Xu, K. Fukuda, N. Cox, Characterization of an avian influenza A (H5N1) virus isolated from a child with a fatal respiratory illness, *Science* 279 (1998) 393-396.
- [11] Y. Guan, K. F. Shortridge, S. Krauss, P. S. Chin, K. C. Dyrting, T. M. Ellis, R. G. Webster, M. Peiris, H9N2 influenza viruses possessing H5N1-like internal genomes continue to circulate in poultry in southeastern China, *J Virol* 74 (2000) 9372-9380.
- [12] M. Peiris, K. Y. Yuen, C. W. Leung, K. H. Chan, P. L. Ip, R. W. Lai, W. K. Orr, K. F. Shortridge, Human infection with influenza H9N2, *Lancet* 354 (1999) 916-917.
- [13] T. Ito, K. Okazaki, Y. Kawaoka, A. Takada, R. G. Webster, H. Kida, Perpetuation of influenza A viruses in Alaskan waterfowl reservoirs, *Arch Virol* 140 (1995) 1163-1172.
- [14] K. Okazaki, A. Takada, T. Ito, M. Imai, H. Takakuwa, M. Hatta, H. Ozaki, T. Tanizaki, T. Nagano, A. Ninomiya, V. A. Demenev, M. M. Tyaptirganov, T. D. Karatayeva, S. S. Yamnikova, D. K. Lvov, H. Kida, Precursor genes of future pandemic influenza viruses are perpetuated in ducks nesting in Siberia, *Arch Virol* 145 (2000) 885-893.

- [15] H. Kida, R. Yanagawa, Isolation and characterization of influenza A viruses from wild free-flying ducks in Hokkaido, Japan, *Zentralbl Bakteriol [Orig A]* 244 (1979) 135-143.
- [16] C. Scholtissek, W. Rohde, V. Von Hoyningen, R. Rott, On the origin of the human influenza virus subtypes H2N2 and H3N2, *Virology* 87 (1978) 13-20.
- [17] Y. Guan, K. F. Shortridge, S. Krauss, R. G. Webster, Molecular characterization of H9N2 influenza viruses: were they the donors of the "internal" genes of H5N1 viruses in Hong Kong?, *Proc Natl Acad Sci U S A* 96 (1999) 9363-9367.
- [18] H. Chen, K. Subbarao, D. Swayne, Q. Chen, X. Lu, J. Katz, N. Cox, Y. Matsuoka, Generation and evaluation of a high-growth reassortant H9N2 influenza A virus as a pandemic vaccine candidate, *Vaccine* 21 (2003) 1983-1988.
- [19] A. Takada, N. Kuboki, K. Okazaki, A. Ninomiya, H. Tanaka, H. Ozaki, S. Itamura, H. Nishimura, M. Enami, M. Tashiro, K. F. Shortridge, H. Kida, Avirulent Avian influenza virus as a vaccine strain against a potential human pandemic, *J Virol* 73 (1999) 8303-8307.

Table. 1 Isolation of influenza viruses from fecal samples of waterfowls in 2000-2003

Country	Location	No. of samples with virus/ total no. of samples tested			
		2000	2001	2002	2003
Rossisa	Magadan	0 / 295			
	Irkutsk	2 ^a / 290	7 ^b / 445		
Mongolia	Erhelt nuur		37 ^d / 725	101 ^e / 452	
	Ugii nuur			8 ^e / 489	38 ^f / 395
China	Huhhot			0 / 233	
Japan	Sapporo		12 ^g / 210	7 ^h / 224	28 ⁱ / 242
	Wakkanai	16 ^j / 571	17 ^k / 105	1 ^l / 95	

No. of each antigenic subtypes of the isolates were as follows:

^a H3N8: 2

^b H3N8: 4, H4N6: 3

^c H1N1: 2, H3N3: 2, H3N6: 20, H3N8: 48, H4N6: 12, H4N7: 1, H4N8: 1, H7N1: 1, H7N7: 9, H8N4: 5

^d H1N1: 1, H3N2: 1, H3N6: 3, H3N8: 11, H4N2: 1, H4N6: 12, H5N2: 1, H5N3: 6, H7N1: 1

^e H1N1: 1, H3N8: 5, H4N6: 2

^f H2N2: 1, H2N3: 2, H3N6: 5, H3N8: 14, H4N6: 12, H8N1: 1, H10N5: 3

^g H1N1: 8, H3N6: 1, H4N5: 1, H4N6: 2

^h H3N8: 3, H5N3: 1, H11N9: 3,

ⁱ H3N8: 12, H6N8: 1, H7N7: 13, H8N4: 1, H15N8: 1

Sakoda et al.

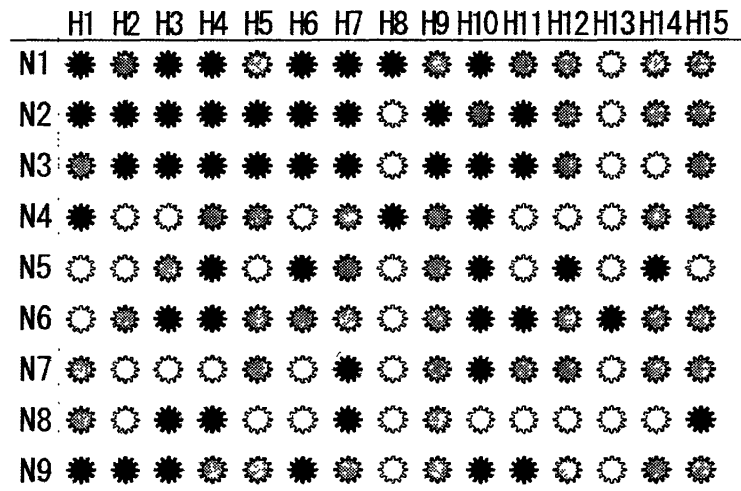


Fig. 1 Sakoda et al.