

—アジア地域臨床獣医師等総合研修事業における研修報告等(XVIII)—

**TRAINING REPORT OF TRAINING PROGRAM
FOR ASIAN VETERINARIANS II (TPFAV II)
4th BATCH**

アジア獣医師研修プログラムⅡ (TPFAV Ⅱ) 第4期 研修報告書

Trainee name : Nguyen Thi Ngoc
(Training venue : Tokyo University of Agriculture and Technology)

グエン・ティ・ゴック
(ベトナム・研修先：東京農工大学)

※指導教官：東京農工大学農学部共同獣医学科 獣医伝染病学研究室 古谷哲也[†]

Applying for this training program was the best decision that I have ever made. I was lucky to be selected as a candidate for the TPFAV-II in 2022-2023 at the Tokyo University of Agriculture and Technology. I would like to express my deepest appreciation to Japan Racing and Livestock Promotion Foundation (JRL), the Japan Veterinary Medical Association (JVMA) as well as the Japanese veterinary system that have implemented financial support and organized the training program. Also, I would like to share all express my experiences stay over in Japan. During my training time period, I studied at four laboratories rotationally. The outline of this report includes my life in Japan, my study program in Japan, and acknowledgment.

この研修プログラムに応募したことは、私が今までに下した最良の決断でした。2022-2023年度の東京農工大学でのTPFAV-IIに選ばれたことは幸運でした。全国競馬・畜産振興会(JRL)、日本獣医師会(JVMA)、そして日本の獣医制度に深く感謝します。彼らは財政支援を提供し、この研修プログラムを組織しました。また、私の日本での経験についても共有したいと思います。この報告書では、私の日本での生活、研究プログラム、そして謝辞について述べます。

1. Life in Japan
(日本での生活)

To start with, I was provided with a Japanese class by JICE to foster Japanese language proficiency among trainees to prepare for my life in Japan and then I also received good support for initially settling in including immigration-related procedures and all housing equipment that was necessary for living conditions.

最初に、JICEから日本語のクラスが提供され、日本での生活に備えました。さらに、入国手続きや住居に必要な設備についてもしっかりとサポートを受けました。

During my stay in Japan, I was provided with a health insurance card and basic medical equipment such as COVID-19 rapid test Kit, thermometers, etc. so I can be assured about the coronavirus. Not only I was provided with all the daily necessities but JVMA and supervisors are also always open and supportive friendly which makes me feel comfortable when talking about my current situations or concerns about my daily life or the academic environment in the university during training time. In addition, all students and people whom I met are supportive and enthusiastic. Therefore, my life has been smooth here.

[†] 連絡責任者(指導教官)：古谷哲也 (東京農工大学農学部共同獣医学科 獣医伝染病学研究室)

〒183-8509 府中市幸町3-5-8 ☎・FAX 042-367-5255

日本滞在中には、健康保険証や基本的な医療機器 (COVID-19 迅速検査キット, 体温計など) も提供されました。日常必需品はもちろん, JVMA や指導教員も常にオープンでフレンドリーなサポートを提供してくれました。それにより, 現状や日々の生活, 大学での学術環境について話しやすく感じました。さらに, 出会った全ての学生や人々もサポートを惜みず, 熱心でした。そのおかげで, 私の日本での生活はスムーズでした。

Moreover, Japan is one of the most amazing destinations in the world. It is not only to mention the tourist places that offer a host of delicious cuisine, the traditional architecture of temples and shrines, the beautiful nature of rivers, mountains, and sea but also the daily life is very wonderful, peaceful and convenient: no noise, no smock, well public services anywhere. I enjoyed nature around me in all four seasons: at university, in the parks, or on the road that I have been there. In spring, I enjoyed sakura blooming anywhere in Japan (Picture 1). Going camping by the river was my favorite hobby in the hot summer. In Autumn, the leaves begin to change their color, creating breathtaking vistas of vibrant red, orange, and yellow leaves in the country's many trees. In Winter, the weather is colder, and many places in Japan get snow. Although snowfall in Tokyo takes a short time period, I also enjoyed the changing shape of the city under the snow. The city looked so wonderful when it was covered in white and very romantic.

日本は世界で最も素晴らしい場所の一つです。観光地で提供される美味しい料理, 伝統的な寺院や神社の建築, 川や山, 海の美しい自然だけでなく, 日常生活も非常に素晴らしく, 平和で便利です。騒音や大気汚染がなく, 公共サービスもどこでも整っています。四季折々の自然を楽しみました。春には,



Picture 1 : Enjoy bloom Sakura viewing wearing a traditional Kimono

写真 1 : 着物姿で桜の花見を楽しみました

日本中で桜が咲くのを楽しみました (図 1)。暑い夏には川でキャンプするのがお気に入りでした。秋には, 葉が色づき, 国内の多くの木々で鮮やかな赤, オレンジ, 黄色の葉が美しい風景を作り出します。冬には, 寒くなり, 日本の多くの場所で雪が降ります。東京での降雪期間は短いですが, 雪の下で都市の形が変わるのも楽しんでいました。都市が白く覆われると, 非常にロマンチックで美しいです。

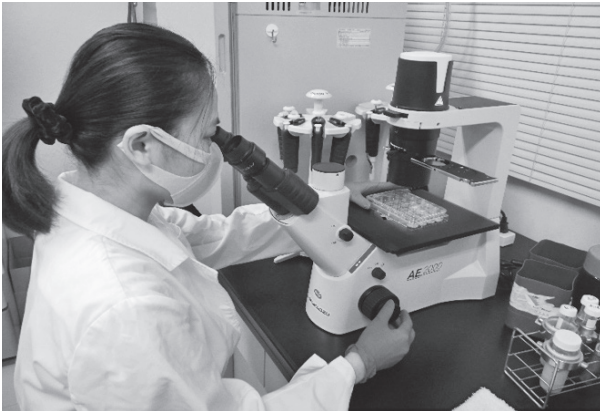
2. My study program in Japan (日本での研究プログラム)

TPFAV-II has been a great learning opportunity for my study in Japan. As an animal pathologist in a laboratory in my country with my knowledge limitation, I have had several questions that relate to infectious diseases and the techniques for detection and disease control measurements. Almost my problems have been answered in Japan. My study in Japan is more like an interesting academic story. I really enjoyed my study here.

TPFAV-II は, 私の日本での学習にとってもよい機会を提供してくれました。自国では研究室の動物病理学者として知識の不足から, 感染症やその検出, 病気の制御手段に関するいくつかの疑問がありました。ほとんどの問題は日本で解決されました。日本での研究は, 興味深い学術的な物語のようで, 学習を心から楽しめました。

2.1 Beginning in the “Center for Infectious Disease Epidemiology and Prevention Research” under the guidance of Professor Tetsuya MITZUTANI, this laboratory focuses on emerging and re-emerging infectious diseases that have highlighted the global risk-affecting of animals and human society.

Here, professors, researchers, and laboratory students helped me to understand that to get the most effective results from the experiments, every researcher must master helpful lab techniques. And I studied several important methods including (1) Next-generation sequencing (genome sequencing); (2) Western blot; (3) Cell culture, I learned how to maintain a clean environment using the appropriate medium, incubation, and subculturing of cells at the appropriate time is essential for the success of cell culture, cryopreservation of cells, and storage. I practiced with a variety of cells: MA104 (from African Green Monkey kidney), Vero cell line 9103, CrFK (from Crandell feline kidney), and MDCK (from Madin – Darby canine kidney); (4) Tissue Culture Infectious Dose (TCID₅₀) Assays; (5)



Picture 2 : The cells were observed under a microscope

写真 2 : 顕微鏡を使った細胞の観察

Plaque formation assay (PFA); (6) Virus isolation. It is interesting when I applied these techniques for the next experiments in the next laboratories (Picture 2).

2.1 研究プログラムの始まり

「感染症未来疫学研究センター」での研究は、水谷哲也教授の指導の下、動物と人間の社会に影響を与える新興及び再興感染症に焦点を当てています。

ここでは、教授、研究者、研究室の学生が、実験から最も効果的な結果を得るためには、各研究者が有用な実験室の技術を習得する必要があるということを理解させてくれました。私はいくつかの重要な方法を学びました。具体的には、(1) 次世代シーケンシング (ゲノムシーケンシング)、(2) ウェスタンブロット、(3) 細胞培養、ここでは適切な培地、播種、前培養が細胞培養の成功には必須であること、細胞の凍結保存方法を学びました。扱った細胞はアフリカミドリザル胎児腎細胞由来の MA104、Vero 細胞、ネコ腎由来株化細胞 (CrFK)、イヌ腎由来 MDCK 細胞などです。また (4) 組織培養感染性量 (TCID₅₀) 試験、(5) プラーク形成試験 (PFA)、(6) ウイルス分離などを学びました。習った手技を別の研究室で応用するのは非常に楽しい経験でした (図 2)。

2.2 The second laboratory was in the “Public health laboratory”. Professor Kanako ISHIHARA and Hayato HARIMA sensei organized a nice schedule for me. I studied (1) how to isolate *Salmonella* spp. from pig fecal samples and determine the O & H antigen; (2) the antimicrobial susceptibility test by agar dilution method; (3) the detection of transmission of antimicrobial resistance genes in bacteria and also



Picture 3 : Wearing Personal protective equipment to minimize introducing pathogens to the farm

写真 3 : 農場への病原体侵入を防ぐための防護服着用

practice these techniques on pig feces from farms and wild animal feces. (4) Screening the pathogen by PCR method: detection of SFTSV (Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus), Rabies virus, Rotavirus, Orthoreovirus and Avian influenza type A (M and NP gene) on wild animal samples, and detection of PEDV (Porcine epidemic diarrhea virus), PDCoV (Porcine deltacoronavirus), TGEV (Transmissible gastroenteritis coronavirus), Rotavirus and Orthoreovirus on pig feces.

From the results of the testing samples, I had questions about biosecurity and farm management in Japan. Fortunately, in Autumn study trip program organized by JVMA, other trainees and I visited Mizuho farm in Nasushiobara city which is the second biggest dairy farm production. Infectious diseases are always challenges in the health management of dairy cattle. I am interested in biosecurity measures on farms which is the best way to prevent introducing pathogens from entering farms (Picture 3). In my mind, the question was “how to evaluate the biosecurity measures in farms” This question had been answered in the next laboratory.

2.2 公衆衛生学研究室

第二の研究室では、石原加奈子准教授と播磨勇人助教が私のために素晴らしいスケジュールを組んでくれました。私は (1) 豚の糞便サンプルからサルモネラ属を分離し、O・H 抗原を特定する方法、(2) アガー希釈法による抗菌薬感受性試

験, (3) 細菌の抗菌耐性遺伝子の伝播の検出などを学びました. さらに, (4) PCR法による病原体のスクリーニングも行いました. PCR法による病原体のスクリーニングでは, 野生動物のサンプルから SFTSV (重症熱性血小板減少症候群ウイルス), 狂犬病ウイルス, ロタウイルス, オルソレオウイルス, 及び鳥インフルエンザタイプ A (M 及び NP 遺伝子) の検出, 豚の糞便からは PEDV (豚流行性下痢ウイルス), PDCoV (豚デルタコロナウイルス), TGEV (伝染性胃腸炎コロナウイルス), ロタウイルス, オルソレオウイルスの検出を行いました.

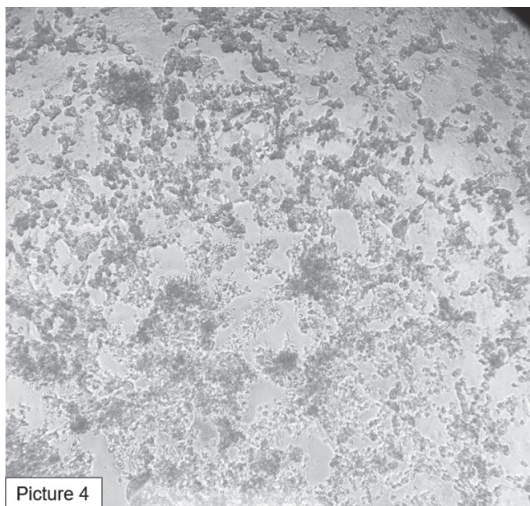
試験サンプルの結果から, 私は日本のバイオセキュリティと農場管理について疑問を持ちました. 幸いなことに, 日本獣医師会が主催する秋の研修旅行プログラムで, 他の研修生とともに那須塩原市にある瑞穂農場を訪れました. この農場は日本で二番目に大きな酪農生産地です. 感染症は, 酪農牛の健康管理において常に課題です. 私は, 農場での病原体の侵入を防ぐ最良の方法であるバイオセキュリティ対策に興味を持っています (図 3). 私の心にあった疑問は「農場でのバイオセキュリティ対策をどのように評価するか」でした. この疑問は次の研究室で解決されました.

2.3 The third laboratory was in the “Laboratory of Animal Health” under the guidance of Professor Kazuaki TAKEHARA, sensei and his stu-

dents helped me how to evaluate disinfectants used at farms. The experiments “Evaluation of Mix 0.08% $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and 0.05% quaternary ammonium compound (QAC) towards Bovine coronavirus (BcoV), Bovine Rotavirus using suspension test and plastic carrier tests in the presence of organic materials (5% fetal bovine serum). BcoV was titrated in HRT-18 cells (Human Rectum Adenocarcinoma), TCID_{50} was applied in this experiment, and Bovine Rotavirus was titrated in MA104 cell, plaque forming assay was applied in this experiment. TCID_{50} and PFA are to determine the virus titer in the control group and treatment group. The experiments were performed with disinfectant contacting the viruses at different contact long times to find out how long the disinfectant could be against the viruses effectively. These experiments were attractive to me for the whole time here (Picture 4, 5).

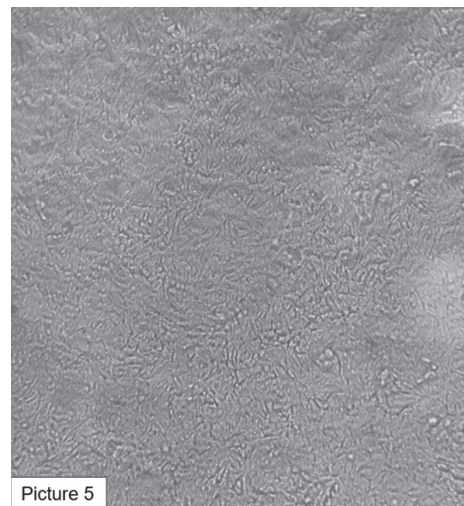
2.3 家畜衛生学研究室

第三の研究室では, 竹原一明教授とその学生たちが, 農場で使用される消毒剤の評価方法を教えてくれました. 具体的には, 0.08% $\text{Ca}(\text{OH})_2$ と 0.05% 四級アンモニウム化合物 (QAC) を用いたウシコロナウイルス (BcoV), ウシロタウイルスに対する評価を行いました. この実験では, 有機物 (5% 胎牛血清) の存在下での懸濁試験とプラスチックキャリア試験を使用しました. BcoV は HRT-18 細胞 (ヒト直腸腺癌由来) を用いた TCID_{50} により定量しました. ウシロタウイルス



Picture 4 : Virus BcoV induced cytopathic effect (CPE) in the positive control group

写真 4 : ウシコロナウイルスによる細胞変性効果 (陽性対照群)



Picture 5 : Inactivation efficacy against the virus BcoV, no CPE in this treatment group

写真 5 : ウシコロナウイルスの不活化により処置群で細胞変性効果が消失

は MA104 細胞を用いたプラーク形成試験 (PFA) で定量しました。TCID₅₀ と PFA は、対照群と処理群とでウイルス量を決定するために使用されました。これらの実験は、消毒剤がウイルスに対してどれだけ長く効果的であるかを見つけるために、異なる接触時間で消毒剤がウイルスに接触するように行われました。これらの実験は、とても魅力的でした (図 4, 5)。

2.4 The last one was “Laboratory Veterinary Microbiology” under the guidance of professor Tetsuya FURUYA. It was also wonderful when I studied experiments about the “Evaluation of Chinese herbal supplement towards Avian influenza type A titrated on MDCK cell.” In addition, sensei and his students guided me on how to design primers and probes for PCR and real-time PCR techniques.

During this time here, Furuya sensei suggested me to attend an intensive lecture course named “Advanced Biology” (Picture 6). This opportunity has helped me to understand more about ‘life’ at the cellular and molecular levels, and modern molecular techniques: chromosome integration; cellular screening, cellular culture, molecular cloning, transfection, and protein expression... it was also interesting for me to practice molecular cloning in the laboratory: designing primers for DNA cloning using Gibson Assembly Master Mix, DNA/RNA amplification, DNA purification, prepare linearized vector by restriction digestion, inserting interest gene to vector, bacterial transformation, recombinant vector extraction and I hope that I have other opportunities to study next step of protein expression: transfection vector to the host express protein, identify the function of the protein.

2.4 最後の研究室は「獣医微生物学研究室」

古谷哲也教授の指導の下で、私は「MDCK 細胞を用いた漢方サプリメントの鳥インフルエンザタイプ A に対する評価」についての実験を学びました。さらに、先生とその学生たちは、PCR 及びリアルタイム PCR 技術のためのプライマーとプローブの設計方法についても指導してくれました。

この期間中、古谷先生は私に「最新生物学」という集中講義コースに参加するよう提案しました (図 6)。この機会は、細胞レベルと分子レベルでの「生命」、及び現代の分子技術についてより深く理解するのに役立ちました。具体的には、染色体の統合、細胞のスクリーニング、細胞培養、分



Picture 6 : Working group to prepare a presentation discussing Avian influenza disease in “Advanced Biology” class

写真 6 : 最新生物学の講義で鳥インフルエンザに関するプレゼンテーションの相談をしているところ

子クローニング、トランスフェクション、タンパク質発現などです。さらに、分子クローニングの実験も行いました：Gibson Assembly Master Mix を使用した DNA クローニング用のプライマーを設計、DNA/RNA の増幅、DNA の精製、制限酵素消化による線形化ベクターの調製、興味のある遺伝子をベクターに挿入、細菌への形質転換、組換えベクターの抽出などです。今後、宿主へのベクターによるトランスフェクションやタンパク質機能の同定といった、タンパク質発現の次のステップを学ぶ機会があることを願っています。

2.5 Autumn study trip (time 10-21 November, 2022)

Beginning with the 21st Federation of Asian Veterinary Associations (FAVA) Congress held from November 11 to 13, 2022, in Fukuoka City, The Organizing Committee of the FAVA 2022 devoted its best effort to preparing one of the most meaningful and enjoyable congresses. The theme of the 21st FAVA Congress was “One Health Approach from Asia” which has improved my awareness and understanding of “One Health” broadly. The concept of “One Health” is human health, animal health, and environmental health. However, it is not only for the present but also for passing on a healthy earth to the next generation.

For the next days in study trip programs, we had the interim report about what we had learned in Japan in TPFV II and the country report about the domestic veterinary service system. Moreover, we visited the National Veterinary Assay Laboratory, Fujita Pharmaceutical

Company Ltd, National Institute of Animal Health, Mizuho farm in Nasu Shiobara Branch, Shibaura Meat Sanitary Inspection Station, and sightseeing in Hakone. This wonderful study tour provided other trainees and me with practical experiences with a variety of veterinary service concepts in Japan. Moreover, it developed veterinarians' response to discovering the veterinary medical world, and encouraged us to ask questions and do our own research or practice in the future. This would widen our perspectives and knowledge regarding various veterinary medical concepts and will have a long-lasting impact. This program also built strong relationships between trainees and all Asian veterinarians whom we met together. When I was exposed to different cultures and ethnicities, I learned and acquired a lot of information that was unknown before. I get significant valuable information.

2.5 秋の研修旅行 (2022年11月10～21日)

研修旅行は2022年11月11～13日に福岡市で開催された第21回FAVA大会に始まりました。大会組織委員会の努力により非常に有意義で楽しい大会でした。大会テーマは「アジアからのワンヘルスアプローチ」で、私はワンヘルスに関する知見を広げることができました。ワンヘルスの概念とは、人と動物、環境の健全性が一つであるというもので、今だけでなく、次の世代に健全な地球を引き継ぐということです。

次の数日間の研修旅行プログラムでは、TPFAVIIで学んだことについての中間報告と、出身国の獣医サービスシステムについての報告会を行いました。さらに、農林水産省動物医薬品検査所、フジタ製薬株式会社、農研機構動物衛生研究部門、瑞

穂農場那須支店、芝浦肉衛生検査所、そして箱根を訪問しました。この素晴らしい研修旅行は、私たち研修生に、日本の獣医サービスのさまざまな側面を経験する機会を与えてくれました。私たち獣医師が疑問にぶつかった際に、将来自分自身でどのように研究や実践をするべきか問を投げかけてくれました。さまざまな獣医学の概念に対する私たちの視野と知識が広がったことで、長期的な影響をもたらすでしょう。このプログラムはまた、研修生と私たちが出会った全てのアジアの獣医師との強い関係を築きました。異なる文化や民族に触れ、以前には知らなかった多くの価値ある情報を得ました。

3. Acknowledgment (謝 辞)

Finally, I am really grateful to Japan Veterinary Medical Association and Japan Racing and Livestock Promotion Foundation, and TPFVAV II for advising me and introducing living skills in Japan to me in an easy-to-understand way which has helped me complete my training program easily and effectively time.

I would like to express my special thanks of gratitude to four Professors Tetsuya MITZUTANI, Kanako ISHIHARA, Kazuaki TAKEHARA, and Tetsuya FURUYA who guided me in the training program (Picture 7). They provided me with invaluable pieces of advice and helped me in difficult periods. Their enthusiastic help has contributed tremendously to the successful completion of the training program.

Besides, I would like to thank all the teachers and students in the four Labs who helped me by giving



Picture 7 : Enjoy barbecue with Furuya sensei and laboratory friends
写真7：古谷先生、研究室の仲間たちとバーベキューを楽しみました

me advice and providing the equipment which I needed during my studies in Japan.

I am dearly obliged to National Veterinary Assay Laboratory, Fujita Pharmaceutical Company Ltd, National Institute of Animal Health, Mizuho farm in Nasu Shiobara Branch, as well as Shibaura Meat Sanitary Inspection Station who gave me the golden opportunity to have wonderful study trip programs, which also helped me in discovering a part of the veterinary medicine industry as well as the administrative structure and operation of academies in Japan and I came to know about so many new things. I am really thankful to them.

Also, I would like to thank Vietnam Veterinary Association which supported me during applying procedure for this training program.

最後に、日本獣医師会、全国競馬・畜産振興会、そして TPFVII に非常に感謝しています。彼らは私に日本での生活を分かりやすく紹介し、助言をくれました。これにより、私は研修プログラムを簡単かつ効果的に完了することができました。

水谷哲也教授、石原加奈子准教授、竹原一明教授、及び古谷哲也教授には特別な感謝の意を表します(図7)。彼らは研修プログラムで私を指導し、貴重なアドバイスを提供し、困難な時期に助けてくれました。彼らの熱意ある支援が研修プログラムの成功に大いに貢献しています。

さらに、日本の4つの研究室で私を支えてくれた全ての教員と学生に感謝します。彼らは私が日本で の研究に必要な機器を提供し、アドバイスをしてくれました。

また、動物医薬品検査所、フジタ製薬株式会社、動物衛生研究部門、瑞穂農場那須支店、芝浦肉衛生検査所にも感謝します。彼らは私に素晴らしい研修旅行プログラムの機会を提供し、日本の獣医医学産業や学術機関の運営構造の一部を発見する手助けをしてくれました。

最後に、この研修プログラムへの申込みの際にサポートしてくれたベトナム獣医師会にも感謝します。