

資料

広島県内の犬における重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルス抗体の保有状況

高尾 信一, 島津 幸枝, 東久保 靖, 西川 英樹*, 河村 美登里**

Seroepidemiological survey of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus (SFTSV) infection in dogs, Hiroshima Prefecture

SHINICHI TAKAO, YUKIE SHIMAZU, YASUSI TOUNKUBO, HIDEKI NISHIKAWA and MIDORI KAWAMURA

重症熱性血小板減少症候群ウイルス (SFTSV) を保有するマダニ類の広島県内における分布状況を推定するために、県内で飼育・保護された犬 311 頭について SFTS 患者から分離された SFTSV に対する抗体保有状況を間接蛍光抗体法により調査した。その結果、全体の 7.7% (24/311) の犬で抗体陽性 (抗体価 1:40 以上) が確認された。抗体陽性犬は広島県内の複数の市町 (9 市町) で確認された。各犬別にみた SFTSV に対する抗体保有と、日本紅リケツチアに対する抗体保有との間には相関は認められなかった。

Key words : 重症熱性血小板減少症候群, SFTS, 犬, 抗体

緒 言

重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) は、中国において 2006 年頃より患者の発生が報告されるようになり、当初はアナプラズマ病と考えられていたが、2011 年に初めて原因ウイルスがブニヤウイルス科フレボウイルス属に分類される新種のウイルスであると報告された、新しいダニ媒介性の感染症である [1]。我が国においても 2013 年 1 月に国内初の患者が報告されて [2] 以降、2014 年 1 月 9 日の時点で、近畿、中国、四国、九州での 13 県において合計 52 名の患者 (広島県の 5 名を含む) が発生が確認されている [3]。本感染症は、SFTS ウイルス (SFTSV) を保有するマダニ類が媒介すると考えられているが [1, 4]、ヒトでの患者発生の実態やウイルスを保有するマダニ類の種類及びそのウイルス保有マダニ類の生息状況等については、未だ解明されていない。マダニ類は自然界では野生動物を吸血源としているが、家畜や犬等の動物も吸血されることもあり、その際に吸血したマダニ類が SFTSV を保有していれば、それらの動物もウイルスに感染する可能性が考えられる。今回我々は、広島県内におけるウイルス保有マダニ類の分布状況を推定するために、県内の犬について SFTSV に対する抗体保有状況を調査したので概要を報告する。

対象および方法

1 対 象

2008 年 9 月から 2013 年 4 月の間に、広島県動物愛護センターに収容された犬 311 頭 (推定年齢は 0 歳 ~ 20 歳齢, 平均 4.8 歳齢) を対象とした。それらの内訳は、野犬 (野外で保護した犬で、首輪の装着がないもの) 160 頭, 放浪犬 (野外で保護した犬で、首輪の装着があったもの) 62 頭および飼犬 89 頭を血液採取の対象とした。なお、2013 年 12 月末現在で広島県内には 23 市町があるが、検体採取の対象とした犬は、それらを保護した地点、あるいは飼育場所が、合計 20 市町に由来したものである。

2 SFTSV に対する抗体測定方法

間接蛍光抗体法により犬の SFTSV 血清抗体価を測定した。すなわち、広島県内の SFTS 患者から分離された SFTSV 株 (Hiroshima-1/2012 株) を Vero 細胞に感染させ、34°C で 9 日間培養した後、凍結・融解により細胞を分散させ、0.2% ホルマリンを用いて 37°C で 1 時間不活化処理したものを抗原とした。不活化抗原は 12 穴リングマークスライドグラスに 0.25 μ L 点置き、風乾後にアセトン固定したものを抗原プレートとして用いた。

SFTSV に対する抗体価の測定は、各犬血清をリン

*現広島県感染症・疾病管理センター：Hiroshima Prefectural Center for Disease Control and Prevention.

**広島県動物愛護センター：Hiroshima Prefectural Animal Mangement and Welfare Center.

酸緩衝生理食塩水 (PBS) で 20 倍から 1280 倍まで階段希釈したものを, 上記の不活化抗原と 37℃ で 1 時間反応させた後, PBS で 4 回洗浄した. これを風乾後, PBS で 40 倍に希釈した FITC 標識抗犬 IgG 血清 (ROCKLAND 社) と 37℃ で 1 時間反応させ, PBS で 4 回洗浄後, 蛍光顕微鏡でウイルス特異的と思われる蛍光の有無を確認した. なお, 血清希釈 40 倍以上を示したものを SFTSV に対する抗体陽性と判定した.

結 果

1 犬の SFTSV に対する抗体保有状況

対象とした 311 頭のうち 24 頭 (7.7%) が抗体陽性であり, それらの抗体価は 40 倍 ~ 1280 倍の間であった. 犬の飼育状況別に見た陽性率は, 野犬が 11.3% (18/160), 放浪犬が 3.2% (2/62), 飼犬が 4.5% (4/89) であり, 野犬において抗体保有率が高かった. なお, SFTSV に対する抗体陽性例ではホルマリン不活化 Vero 細胞において, ウイルス特異的と思われる蛍光が細胞質に認められた (図 1).

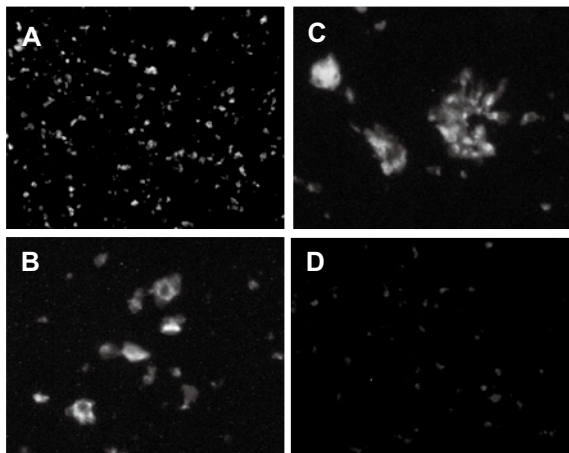


図 1 間接蛍光抗体法による SFTSV 抗原観察像
A: SFTSV 陽性細胞 (× 40), B: 同 (× 100),
C: 同 (× 200), D: SFTSV 陰性細胞 (× 40)

2 広島県内の市町別にみた SFTSV 抗体陽性犬の分布

犬血清の検体採取がされた 20 市町のうち 9 市町の犬においては SFTSV に対する抗体が陽性であった. なお, データは示していないが, 市町別にみた抗体陽性率については, 2.4% (1/41) ~ 46.2% (6/13) であり, 地域により犬の抗体陽性率には差が認められた.

3 SFTSV と日本紅斑熱リケッチアに対する抗体価の比較

今回対象とした 311 頭については, 過去の調査 [6]

において日本紅斑熱リケッチアに対する抗体価を測定していたので, それらについて SFTSV と日本紅斑熱リケッチアに対する抗体価を比較した (図 2). その結果, 245 頭については, SFTSV と日本紅斑熱リケッチアのいずれに対しても抗体を保有していなかった. 残りの 66 頭のうち, 24 頭は SFTSV に対する抗体を, 51 頭は日本紅斑熱リケッチアに対する抗体 (いずれも抗体価 40 倍以上) を保有していたが, 両方に対する抗体を保有していたのは 9 頭のみであった. なお, いずれか, あるいは両方に対する抗体保有が認められた 66 頭について, SFTSV と日本紅斑熱リケッチアに対する抗体価の相関を確認したが, それらの抗体価には相関は認められなかった ($r=0.16$).

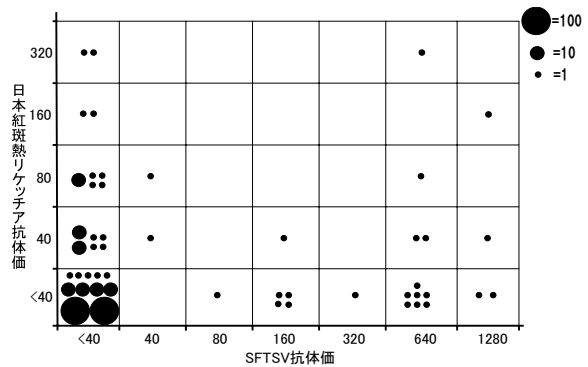


図 2 SFTSV と日本紅斑熱リケッチアに対する抗体価の分布

考 察

SFTS は 2013 年 1 月に日本国内で患者が初めて報告された新興感染症の 1 つである [2]. 患者の国内発生を受けて, 国立感染症研究所から SFTSV を検出するための遺伝子検査法が示され, 全国的に検査体制が整備されたことにより [5], 国内の患者発生の実態も明らかになりつつある. 遡り調査の結果も含めると 2005 年から 2014 年 1 月 9 日の時点までに合計 52 名の患者が九州・四国・中国・近畿地方の 13 県 (佐賀, 長崎, 熊本, 宮崎, 鹿児島, 徳島, 愛媛, 高知, 山口, 広島, 岡山, 島根, 兵庫県) から報告されており [3], それらの地域では SFTSV が自然界に存在していると考えられる [6].

現在のところ, SFTSV の感染機序は SFTSV を保有するマダニ類がベクターとなり, 自然界ではマダニ類とマダニ類に吸血される動物との間でウイルスが循環・維持されていると考えられている [1, 6]. 従って, 地域における SFTSV の分布状況を把握するためには, 野外でマダニ類を採取し, それらからウイルスを検出することが最も望ましいが, この方法は多大な労力と経費が必要になる. そのため我々は, 犬における SFTSV 抗体の

保有を調べることで地域における SFTSV の浸淫状況および地域的な分布の概要が把握できるのではないかと考え、今回の調査を行った。広島県内で飼育・保護された犬 311 頭について、SFTSV に対する抗体価を測定したところ、それらの 7.7% が抗体価 40 倍以上の陽性であった。SFTS の発生が最初に報告された中国においても、患者の発生が認められている地域では、そこで飼育されている犬の 38% が SFTSV に対する抗体を保有していたという報告があり [7]、また、日本国内において国立感染症研究所によって実施された調査でも、九州、四国、近畿の 8 県で飼育されていた猟犬の 12% で抗体が検出されている [6]。抗体を保有しているということは、当該ウイルスに対する感染既往があることを示している [6] ことから、伴侶動物のうち、少なくとも犬は SFTSV に対して感受性があり（ただし、動物は感染しても発症しないと考えられている [6]）、地域におけるヒトへの感染リスクを推定する指標動物として有用ではないかと、我々は考えている。

現在、広島県内には 23 市町があるが、今回の調査では、そのうち 20 市町由来の犬を対象とすることができた。市町別に抗体の保有状況をみると、犬の抗体保有率には地域により差が認められたことから、広島県内における SFTSV の分布には地域により偏りがある可能性も考えられる。ただし、今回の調査対象とした犬の約 7 割を占める野犬と放浪犬については、該当の犬が保護された場所で市町を分類しているため、実際の感染場所は不明である。今後、飼育場所が明らかになっている飼犬での調査が、より正確な SFTSV の分布を知るためには必要であると思われる。

先にも述べたが SFTSV はマダニ類がベクターとしてウイルスを媒介していると考えられている [1, 6]。本病の発生が最初に報告された中国では、SFTSV の主なベクターはフタトゲチマダニとされている [4]。一方、日本国内において実施された調査では、国内に生息するマダニ類のうち、フタトゲチマダニ、ヒゲナガチマダニ、オオトゲチマダニ、キチマダニおよびタカサゴキラマダニといった、複数のマダニ類種から SFTSV が検出されている [6]。広島県内では SFTSV を保有しているマダニ類の種類は未だ明らかになっていないが、県内では SFTS と同様に、マダニ類がベクターとなっている日本紅斑熱の患者が毎年 20 名前後確認されている [8]。この日本紅斑熱の原因となっているリケッチアは、広島県内ではヤマアラシチマダニが保有していることが我々の調査で判っている [8]。そこで、仮に日本紅斑熱リケッチアを保有するマダニ類が SFTSV も併せて保有していると仮定した場合には、犬の個体における両者への抗体保有に関連が認められるのではないかと考え、両者の病原体に対する抗体価を比較したが、抗体保有に関連

は認められなかった(図 2)。このことから、少なくとも、SFTSV と日本紅斑熱リケッチアを共に保有しているマダニ類が存在する可能性は低いと考えられる。

SFTS については、国内で患者が確認されてから 1 年しか経過しておらず、不明な点も多い。SFTS の主な臨床症状は、発熱と消化器症状（嘔吐、下痢、腹痛など）、神経症状（頭痛、筋肉痛、意識障害）、リンパ節の腫脹、皮下出血や下血などの出血症状であり、血液検査所見では白血球と血小板の顕著な減少が特徴的である [1-3, 5]。各地方自治体の衛生研究所（広島県では当所）においては、そうした臨床的に SFTS が疑われた患者については病原体検査を実施しているが [5]、医療機関を受診しても軽症で回復した症例については、病原体の検査が行われず、原因不明になってしまう症例も少なからず存在するのではないかと、我々は考えている。今回我々が実施した犬における SFTSV に対する抗体保有状況調査の結果や、国立感染症研究所が実施した犬や野生動物の抗体保有状況調査およびマダニ類の SFTSV 保有調査結果 [6] から、広島県を含めた日本国内の広い地域で SFTSV を保有するマダニ類が分布している可能性が示唆されたが、そのことを合わせ考えると、日本国内で SFTS と検査診断されたヒトの症例数 [3] は必ずしも多くないと思われる。その理由として、軽症のために病原体診断されていない症例が多い可能性、SFTSV を保有するマダニ類に刺咬されても感染しない可能性、あるいは、感染しても不顕性感染となる場合が多い可能性などが考えられる [10]。本感染症のさらなる実態を解明するためには、ヒトでの SFTSV に対する血清疫学調査が必要であろう。

文 献

- [1] Yu XJ, Liang MF, Zhang SY, Liu Y, Li JD, Sun YL, Zhang L, Zhang QF, Popov VL, et al. Fever with Thrombocytopenia associated with a novel Bunyavirus in China. *New Engl J Med*. 2011;364:1523-1532.
- [2] 西條政幸, 下島昌幸, 山岸拓也, 大石和徳, 森川茂, 長谷川秀樹. 国内で初めて診断された重症熱性血小板減少症候群患者. *病原微生物検出情報月報*. 34 (2), 40-41.
- [3] 山口県感染症情報センター. 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) [internet] http://kanpokken.pref.yamaguchi.lg.jp/jyoho/page9/sfts_1.php [cited 2014 Jan 20].
- [4] Zhang YZ, Zhou DJ, Qin XC, Tian JH, Xiong Y, Wang JB, Chen XP, Gao DY, He YW, Jin D, et al. The ecology, genetic diversity, and phylogeny of

- Huaiyangshan virus in China. *J. Virol.* 2012;286(5): 2864-2868.
- [5] 厚生労働省, 重症熱性血小板症候群 (SFTS) に関する Q&A [internet] http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou19/sfts_qa.html [cited 2014 Jan 20].
- [6] 森川茂, 宇田昌彦, 加来義浩, 木村昌伸, 今岡浩一, 福士秀悦, 吉河智城, 谷英樹, 下島昌幸, 安藤秀二, 他. <速報>重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルスの国内分布調査結果 (第1報). *病原微生物検出情報月報.* 2013;34(10):17-18.
- [7] Niu G, Li J, Liang M, Jiang X, Jiang M, Yin H, Wang Z, Li C, Zhang Q, Jin C, et al. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus among domesticated animals, China. *Emerg Infect Dis.* 2013;19(5):756-63.
- [8] 広島県, 日本紅斑熱について [internet] http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou19/sfts_qa.html [cited 2014 Jan 20].
- [9] 井内新, 青野純典, 福野天, 朝田完二, 長瀬教夫, 西條敦朗, 東桃代, 木下勝弘, 西岡安彦, 藤田博己 他. <国内情報>フタトゲチマダニ刺咬後に早期診断され良好な経過をたどった重症熱性血小板減少症候群の1例. *病原微生物検出情報月報.* 2013;34(7):23-24.
- [10] Zhao L, Zhai S, Wen H, Cui F, Wang L, Xue F, Wang Q, Wang Z, Zhang S, Song Y, et al. Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus, Shandong Province, China. *Emerg Infect Dis.* 2012;18(6): 963-965.