

話題の感染症

獣医学の立場から見た重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルス

しも だ ひろし くわ た りゅう せい まえ だ けん
 下 田 宙： 鋏 田 龍 星： 前 田 健
 Hiroshi SHIMODA Ryusei KUWATA Ken MAEDA

はじめに

2012年11月末にSFTSウイルスを分離する機会を得た。その後12月26日に分離ウイルスがSFTSウイルスであることが判明し、翌年の1月30日に厚生労働省からの発表となった。SFTSウイルスは2011年に中国より報告されたダニ媒介性の新興感染症 (Emerging Infectious Diseases) である。現在まで、国内での致死率30%前後であり、注意すべき感染症の一つとなっている。本稿ではこれまで明らかになっている知見を概説したあと、獣医学の立場から解説する。

I. 国内での発生

山口県の50代女性が発熱、嘔吐、全身倦怠感、黒色便を主訴として山口県総合医療センターに来院した。初診時に、39.6℃以上の高熱、白血球減少(400/ μ l)、血小板減少(8.9 $\times 10^4$ / μ l)が認められ、入院となった。CK, LDH, AST, ALT値の上昇なども認められた。残念ながら、回復することはなかった。現在なら、症状はSFTSの典型症状であり、医師はSFTSの可能性も考えると思われる。しかし、当時は中国で報告されているのみで、国内に存在すると考える医師は存在しなかった。山口県総合医療センターの高橋徹先生、石堂垂希先生方は、死因を究明しようと努力なされた。ウイルス感染が強く示唆されたことから、ウイルス分離を試みている山口大学共同獣医学部獣医微生物学教室に検査依頼がきた。

II. ウイルス分離から同定

試料として血清が送付されてきた。全身感染が疑われていたことから、一般のウイルス分離に用いられるVero細胞と猫を飼育していたことから猫の単球系の細胞であるfcwf-4細胞に血清を100 μ lずつ接種した。ウイルス分離開始4-5日後に細胞変性が若干認められたことから、再度、両細胞に接種したところ、細胞変性が再確認されたため、ウイルス分離に成功したと考えた。(伝え聞いたところ、Vero細胞における微妙な細胞変性を見つけ出したことがすごいとの評価を得ている。)しかし、ヒトのウイルスを専門に研究しているわけではないため検査の術もなかった。以前より、コウモリなどさまざまな動物から新規ウイルスを分離した際は、ウイルスの網羅的同定法の専門家である東京農工大学の水谷哲也先生に検査の依頼をしていた。そこで、今回も水谷先生に次世代シーケンサーによる解析を依頼した。(この連携および水谷先生方の遺伝子解析技術があったからこそ、迅速な同定に至ったと考えている。)その結果が12月26日に返ってきた。その時点で、ほぼ全長のSFTSウイルスの遺伝子が解析されていた(YG1株)(Takahashi et al., 2014)。

III. 確定診断へ

12月26日の夕方に国立感染症研究所の森川茂先生にSFTSウイルスが分離されたとメールで報告した。森川先生に連絡したのは理由があった。国立感染症研究所では、2011年の中国での報告以降、SFTSウイルスの診断法を開発しており、既に国内

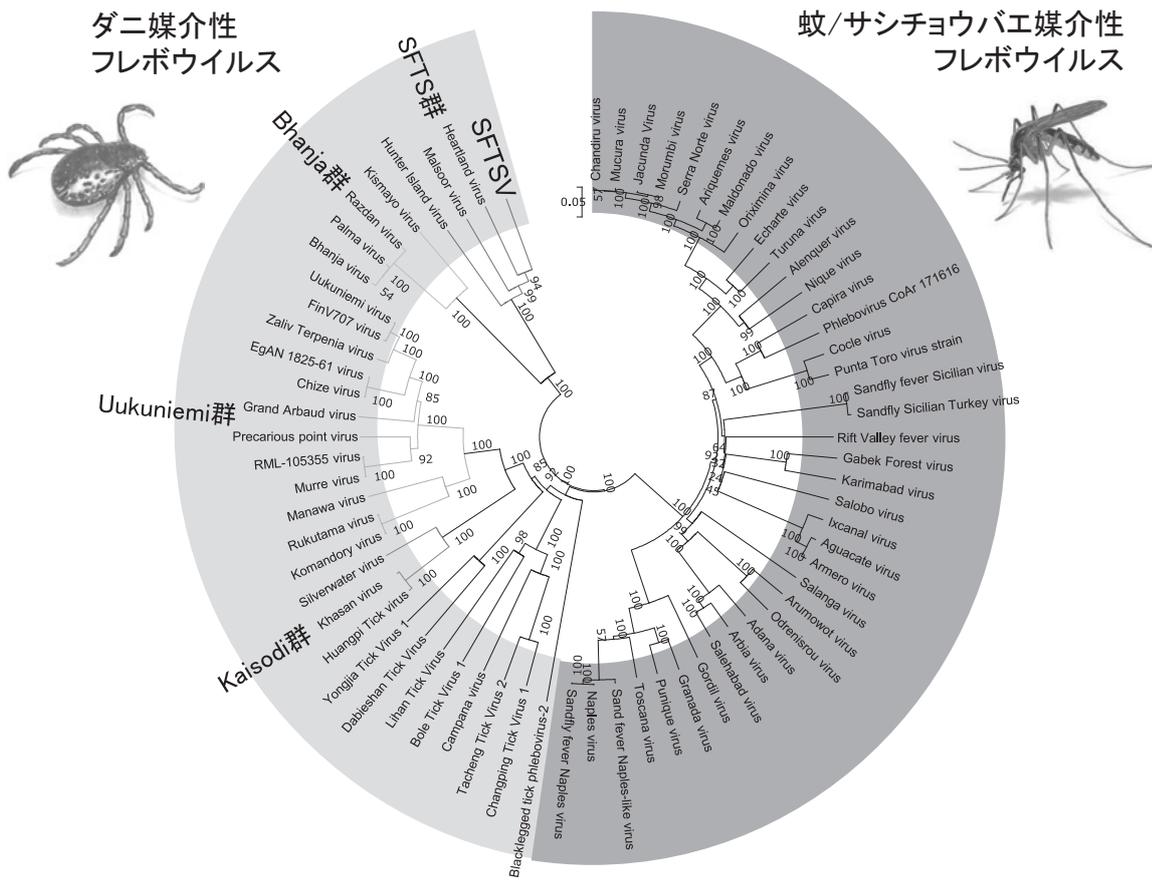


図 1

(図 1 は巻末のカラーページに掲載しています)

にウイルスが存在する可能性を考えて、野生動物の感染症の研究をしていた著者にシカ血清を集めるように依頼していた。(国立感染症研究所の凄さを改めて実感している。) 27日には感染研で会議が開かれるとともに、著者が高橋先生、石堂先生に報告に伺い、28日には感染研の西條先生、森川先生、下島先生、山岸先生が山口県総合医療センターにきてウイルスを運搬するとともに、確定診断のための調査が開始され、1月30日の厚生労働省からの発表となった。非常に迅速な対応であった。

IV. SFTS ウイルスについて

SFTS ウイルスはブニヤウイルス科フレボウイルス属に属する(図 1)。3分節(L分節, M分節, S分節)のマイナス鎖RNAをゲノムとして保有している。エンベロープを有する約110nmのウイルスである。SFTS ウイルスは系統学的にダニ媒介性フレボウイルスに属しており、SFTS ウイルス群、Bhanja ウイルス群、Uukuniemi ウイルス群、Kaisodi ウイ

ルス群の4つのクラスターに分類される。SFTS ウイルス群には、アメリカで同様の感染症を引き起こすHeartland ウイルス、インドでデマレルーセットオオコウモリより分離されたMalsoor ウイルスが含まれている。

ウイルスゲノムRNAの3'末端と5'末端は相補的な配列となっており、ウイルス粒子内では結合してパンハンドル構造をとっている(図 2)。L分節はウ

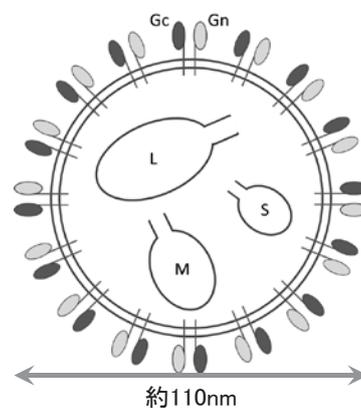


図 2 SFTS ウイルスの模式図

ウイルス RNA の複製、転写に必要な RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ (RdRp)、M 分節はウイルスの集合、粒子形成、標的細胞への吸着に必要な糖蛋白質 N (Gn) と糖蛋白質 C (Gc) の前駆体となる M 蛋白、S 分節はアンピセンス様式を取り、核タンパク質 (NP) と抗インターフェロン作用を有する非構造蛋白質 (NSs) をコードしている。ウイルスの細胞への吸着には細胞の表面蛋白である非筋肉型ミオシン重鎖 IIA (non-muscle myosin heavy chain IIA) が感染に関与している。

V. 国内での発生状況

国内での最初の報告以降、現在までに判明してきた知見を列挙する。

1. 患者発生地域

西日本を中心に和歌山県以西のほとんどの県（鳥取県、香川県を除く）で患者が報告されている。特に愛媛県と宮崎県での感染者数は突出している（図 3）。

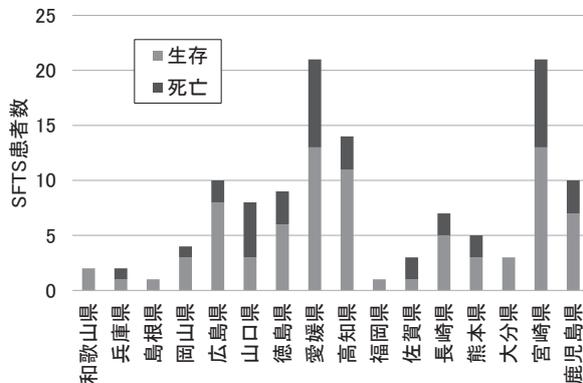


図 3 SFTS 患者発生の地域別の比較

2. 患者の年齢

福岡で 5 歳の患者の発生報告があったが、多くは 50 歳代以降の高齢者に発生が多い。また、死者も 50 歳代以降で多く認められ、高齢になるほど死亡率は高い傾向がある（図 4）。

3. 発生時期

SFTS 患者は 4 月から 8 月にかけての発生が多い。

これはダニの活動とも一致している。しかし、一年中発生がある（図 5）。

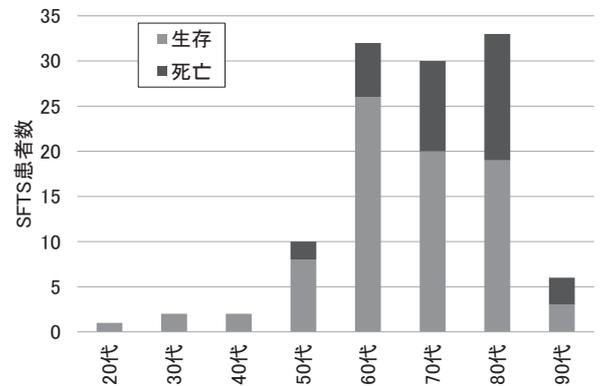


図 4 SFTS 患者発生の年齢別の比較

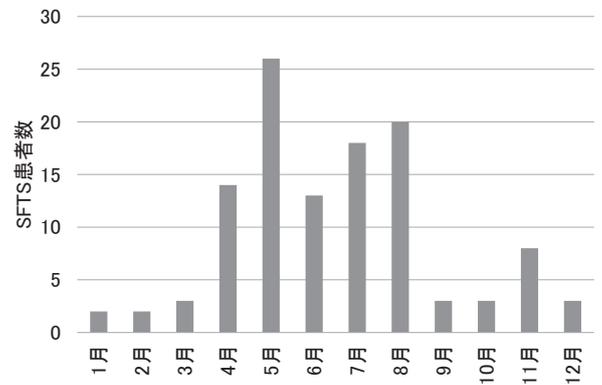


図 5 SFTS 患者の月別の比較

4. ウイルスの遺伝子塩基配列から由来を考察

日本で検出される株の多くは、中国で報告されているウイルスと大きく異なっている。すなわち、中国に存在する SFTS ウイルスと日本に存在する SFTS ウイルスは進化的にかなり以前に分岐しており、それぞれで独自の進化をしていることが証明された。更に、2005 年には長崎県で患者が発生されていたことから、一般的には、「以前より SFTS ウイルスは存在していたが、診断できるようになったのが最近である」との考えが主流となっている。しかし、数は多くないが、鳥根県、和歌山県、鹿児島県で検出されたウイルスは中国株に近縁で、中国や韓国で分離されるウイルスの一部が日本株に近縁であることが判明してきた (Yoshikawa et al., 2015)。これは、稀ではあるが、SFTS ウイルスが大陸と日本を行き来している可能性を示唆している。

VI. 国外での発生

1. 中国

中部を中心として12省でSFTSの発生が報告されている。2011と2012年の2年間で、患者数は2,047名報告され、患者の年齢は1-90歳で平均年齢は58歳であった。死亡患者の平均年齢は64歳で回復者と比べ有意に高かった。患者の多くが山岳地帯の農業もしくは林業従事者であり、5-8月の発生が多い。患者発生地域の健常者の0.4-5.5%から抗SFTSウイルス抗体が検出され、ウイルス遺伝子が検出された例もある。

2. 韓国

2013年には35名の患者が報告され、致死率は47.2%であった。患者の多くが50歳以上であり、農業従事者であった。患者が報告された地域のフタトゲチマダニの0.46%がウイルス遺伝子陽性であった。

3. アメリカ

2009年に原因不明の高熱、血小板減少、白血球減少、肝機能障害等を呈したミズーリ州の患者2名の白血球から、Heartlandウイルスが分離され、系統的にSFTSウイルスと近縁であることが判明した。Heartlandウイルスは*Amblyomma americanum* (Lone Star Tick)というSFTSウイルスも媒介するキララマダニ属のダニが媒介している。

4. インド

SFTSウイルスやHeartlandウイルスに近縁なMalsoorウイルスがデマレルーセットオオコウモリから分離されているが、ヒトにおける報告はない。

VII. SFTSウイルスの感染環

SFTSウイルスの感染はマダニで維持されている。ダニは、幼ダニ、若ダニ、成ダニのステージがあり、その度に吸血して脱皮する。成ダニのメスが吸血したのちは産卵し、卵が孵化して幼ダニとなる(図6)。

マダニが成長する過程でSFTSウイルスは維持されており、SFTSウイルスの“ダニサイクル”と

いう。動物がウイルス保有ダニによって刺咬されると、吸血の際にウイルスが動物へと感染する。感染動物で増殖したウイルスは血液中を流れており、同時に感染動物を吸血中のすべてのダニがウイルスに感染することになる。特に野生動物には多数のマダニが寄生していることから、一匹の感染動物から、多数のSFTSウイルス保有ダニが生じることとなる。これを“動物サイクル”という。さらに、患者の排泄物などを介して感染する“ヒト-ヒト感染”も存在する(図7)。

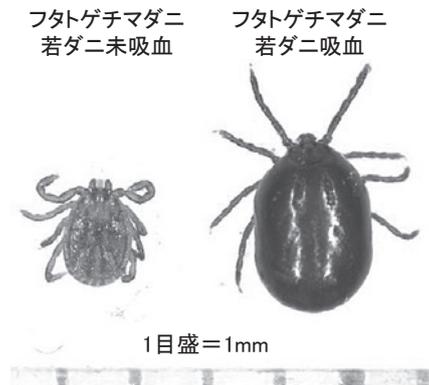


図6

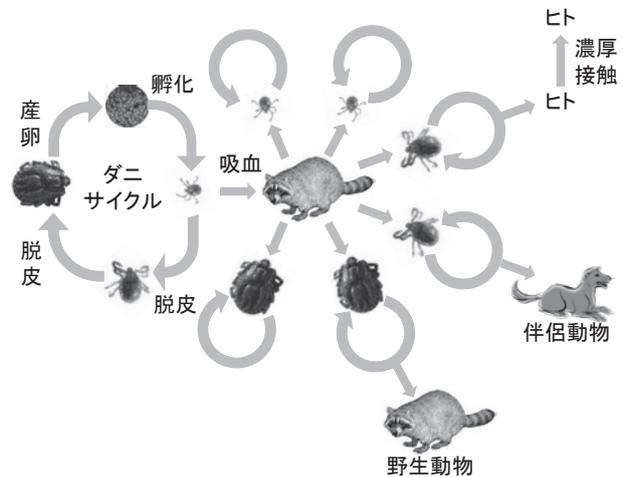


図7 SFTSウイルスの感染環

VIII. 臨床症状

一般的にダニに咬まれてから発症までの潜伏期は5-14日とされている。発熱(38-41℃)、頭痛、倦怠感、筋肉痛、消化器症状の症状が認められ、血小板減少、白血球減少、リンパ節の腫大が認められる。この期間、血中には大量のウイルス(ウイルス血症)

が認められる。多臓器不全期では急速に症状が進行し、肝臓・心臓に次いで肺・腎臓に症状が出る。この時期に生存者では血中のウイルス量が徐々に減少するが、死亡者では高いままである。出血、神経症状、血液凝固異常といった症状は死亡リスクの高い症状である。ウイルスの複製と宿主の免疫応答はSFTSの重症化および予後に密接に関わっており、高度のウイルス血症、トロンビン時間の延長、活性化部分トロンボプラスチン時間の延長、高値のASTなどが死への転帰にかかわっている。

IX. 診断法

診断は時期、地域、ダニの刺咬歴、臨床兆候、血液検査所見（血小板減少、白血球減少）に基づいて行う。臨床兆候が類似している腎症候性出血熱、デング熱、血小板減少性紫斑病、腸チフス、レプトスピラ症、ヒトアナプラズマ症とは鑑別診断が必要である。Vero細胞、VeroE6細胞、L929細胞、DH82細胞、fcwf4細胞を用いてウイルスは2-5日で分離できる。しかし、細胞変性効果が明瞭でないまたは全くない場合も多いので、遺伝子検出を行う必要がある。

迅速かつ特異性、感度ともに高い診断方法はRT-PCRによる遺伝子検出である。通常のRT-PCRと比べて、感度、特異性が高く、迅速に診断できるReal-time PCRも有用である。

特異的抗体の検出も診断には有用である。抗SFTSウイルス抗体は発症後1週間で検出可能で、IgM抗体は4ヶ月間、IgG抗体は5年間検出できる。SFTSウイルス感染はIgM抗体の検出、またはIgG抗体の有意な上昇を検出することにより診断される。抗体の検出にはウイルス中和試験がゴールドスタンダードとされるが、実験手技が煩雑であり、BSL3の生きたウイルスを使用する必要があるため特定の研究機関しか実施することができない。そのため、安価で簡便なELISA法が開発され、疫学的調査に用いられている。また、金コロイドを用いた迅速かつ簡便な抗体診断系も開発されている。

X. 治療法

SFTSに対する特異的な治療法は開発されていな

い。対処療法が主となる。細菌や真菌による二次感染を引き起こした場合は適切な抗生物質を投与する。リバビリンは同じブニヤウイルス科のリフトバレー熱ウイルスやクリミアコンゴ出血熱ウイルスを含む複数のウイルスの治療薬として承認されており、細胞レベルではSFTSウイルスの活性を阻害することが明らかとなっているが、患者の予後にかかわらず、臨床では血小板数や血中ウイルス量に改善は認められない。SFTSウイルス感染に対しての臨床的な効果は限定的である。

SFTSウイルスに中和活性を示すヒトモノクローナル抗体は既にいくつか開発されており、これらをヒト-ヒト感染のリスクが高い医療従事者や患者の家族などに接種することで予防的効果が期待されている。

XI. 予防法

現状ではSFTSウイルスに対するワクチンは存在しない。そのため、媒介するマダニの刺咬を可能な限り防ぐことが、SFTSウイルスに対する最も効果的な予防となる。

- 1) 野外では、腕・足・首などの肌の露出を少なくする必要がある。長袖・長ズボン、首にタオルを巻き、軍手や手袋の着用、長靴あるいは靴下でズボンの裾を覆う、シャツの袖口は軍手や手袋の中に入れる。マダニは、衣類や皮膚についた後、吸着するための場所を見つけるために移動する。そのため、皮膚に入り込まないように、ダニの進入経路を遮断する事が重要である。
- 2) 上着や作業着は家の中に持ち込まない。家族の衣類についてダニが室内に運び込まれる例がある。しかし、室内に気付かずに持ち込まれても、マダニは乾燥に弱い。
- 3) 屋外活動後は、シャワーや入浴でダニがついていないか確認する。マダニは、ヒトについた後、しばらく吸着するための場所を探すため、入浴やシャワーにより洗い流すことが可能である。また、吸着していても、見つけやすい。
- 4) ダニが服についている場合、ガムテープなどで取り除く。ダニは、ガムテープで封じ込めて、ゴミ箱に捨てる。ガムテープで封じ込めれば動くことはない。

- 5) ダニの忌避剤 (DEET など) を衣服の上から塗布する。ヒトに使用できる忌避剤は、国内では濃度が薄いため、効果の持続時間が非常に短い。直接皮膚に塗ると汗などで流れるので、衣類の上から塗布すること。
- 6) 散歩に連れていくイヌには優れたダニ忌避剤があるので、獣医師に処方してもらう。イヌを守るために、あるいはイヌについてダニが運ばれないために、定期的に獣医師にイヌ用のダニ忌避剤を処方してもらうことが重要である。
- 7) イヌの散歩で草むらに入った場合は、外でブラッシングした後、室内に入れる。ダニは散歩中に犬にくっついた後、しばらくの間、吸血するための場所を探して、イヌの体を動き回っているため、散歩直後の移動中のダニはブラッシングで落とすことが可能である。

マダニが吸血していた場合は、

- 1) 速やかに皮膚科などの医療機関に行き、ダニをとってもらう。
- 2) 個人でとる場合に注意すべき点は、ダニをつぶさないようにすることが重要である。先の細いピンセットで、可能な限り皮膚に近いダニの頭部をはさみ、皮膚に垂直にとることが重要である。中途半端だと、ダニの口部が体内に残り炎症反応の原因となる。
- 3) ダニに咬まれた場合は、2週間程度発熱に気をつける。発熱した場合は、速やかに医療機関を受診し、必ず“ダニに刺された”ことを医師に伝える。医師に、ダニによる感染症の可能性を考慮してもらえれば、日本紅斑熱やツツガムシ病などの、他の重篤な感染症に対する対応もできる。SFTS 以外の感染症には治療薬がある。

XII. 獣医学の立場から

今回、ウイルス分離をさせていただいたことをきっかけに、SFTS ウイルス感染症に携わる機会をいただいた。そこから得た知見を紹介する。

- 1) われわれは、人獣共通感染症、特に節足動物媒介人獣共通感染症のヒトへのリスクを知る上で伴侶動物の調査は非常に有用であると考えている (Shimoda et al., 2011)。伴侶動物 (イヌ・ネコ)

はヒトと居住空間を共にしていることから、伴侶動物への感染はヒトへのリスクを知る上で重要になると考えている。SFTS ウイルスは 2013 年 3 月には BSL3 の病原体となった。そのため、SFTS ウイルス感染細胞と非感染細胞の抽出物を国立感染症研究所の森川先生に調整していただき、さまざまな動物の抗体と結合する ProteinA/G を用いた ELISA 系を樹立した (Suzuki et al., 2015)。この系を利用して、まずはイヌでの抗体価の測定を実施した。全国の都道府県から、2013 年に動物病院に来院したイヌの血清を分与していただき、SFTS ウイルスに対する抗体保有状況の調査を実施した。その結果、743 頭中 5 頭が陽性となった。陽性犬が出たのは、山口県、宮崎県、熊本県の西日本 3 県で、ヒトでの発生と一致していた。

- 2) 中国ではヒツジ、ヤギ、ウシでの抗体保有率が高いとの報告がある。同じ反芻動物であるシカとイノシシにおける SFTS ウイルス抗体保有状況の調査を 2010-2014 年にかけて山口県にて実施した。その結果、山口のシカは 24-54% の年間抗体保有率であったのに対して、山口の同地域のイノシシは年間 0-12% の抗体保有率であった。反芻動物が SFTS ウイルスに対して感受性が高いのか、あるいは SFTS ウイルス保有ダニの反芻動物嗜好性が原因であるかは不明であるが、イノシシは感染率が低いようである。中国からの報告で、ブタでの抗体保有率がほかの動物と比較して低いことと一致している。
- 3) 和歌山県の野生動物の血清を用いて SFTS ウイルスに対する抗体保有率を調査した。その結果、アライグマ、タヌキ、イノシシ、シカ、アナグマ、ハクビシン、サルが SFTS ウイルス感染既応を持つことが判明した。SFTS ウイルスは、ほぼすべての哺乳動物に感染することが示唆された。中国では、ニワトリへの感染も報告されている。
- 4) 和歌山県の野生動物での調査を詳細に解析すると、驚くべき真実が発覚した。2007 年にはアライグマの抗 SFTS ウイルス抗体保有率は 0% であったのに対して、2014 年には 24.2% となった (図 8)。タヌキも同様の上昇傾向が認められた。それと一致するように、2013 年までは患者の発生がなかった和歌山県で 2014 年に 2 名の SFTS

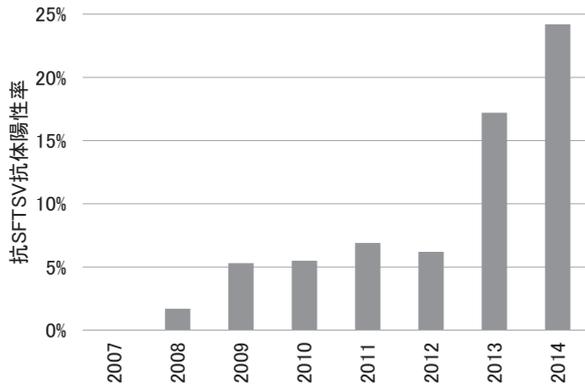


図8 アライグマの SFTSV 感染状況の推移

患者が発生した。野生動物での感染が、ヒトでのリスクを知る上で非常に有用であることが判明した。

- 5) 和歌山県で現在 SFTS ウイルス感染が拡大中であることが判明したため、アライグマ血清中の SFTS ウイルス遺伝子の検出を試みた。その結果、3.5% がウイルス遺伝子陽性となった。更に、血清中からウイルス分離を試みた結果、4 頭のアライグマの血清からウイルスが分離された。SFTS ウイルス分離陽性の 2 頭から各種臓器を得る機会があったので、各種臓器でのウイルス検出を試みた結果、糞便中にウイルスが検出され、腸管リンパ節にウイルス抗原が検出された。このことは、糞便中にもウイルスが排泄されていることを示している。これらの結果は、動物の血液中におけるウイルスの存在、糞便中におけるウイルスの存在を証明しており、血液や排泄物を介した動物から人への感染も危惧された。
- 6) 和歌山県のサルに抗 SFTS ウイルス抗体陽性サルが見出されたため、サルからの SFTSV 遺伝子検

出を試みた結果、サルからもウイルス遺伝子が検出され、霊長類への感染も確実に存在することが明らかとなった。

- 7) 愛媛県の家族内で患者が複数発生した家族の 2 頭の飼育犬にダニが付いているとの相談を受け、その調査を行った (図 9)。

2 頭とも抗 SFTS ウイルス陽性であった。それらに付着していたフタトゲチマダニは SFTS ウイルス遺伝子強陽性となった。さらに、犬小屋周辺のダニを旗振り法で採集して SFTS ウイルス遺伝子の検査をした結果、すべてのステージのダニが SFTS ウイルス遺伝子陽性となった。SFTS ウイルスがダニ間、“ダニサイクル”にて維持されることが証明された。

- 8) われわれは前出のイヌに吸着、およびイヌの周りに存在するフタトゲチマダニにおける SFTS ウイルスの存在を証明した。更に、ツキノワグマに吸着していたタイワンカクマダニ、和歌山の森林で採集したキチマダニから SFTS ウイルス遺伝子の検出に成功した。その結果、少なくともフタトゲチマダニとキチマダニは SFTS ウイルスのベクターとなる可能性が示された。
- 9) 2013 年に患者が 2 名発生した県があった。患者は 2 名とも同じ病院で診察されていた。その県では SFTS ウイルスが蔓延していると信じて野生動物の調査を実施したが、すべて陰性となった。不思議に思い、患者が来院した病院周辺の野生動物の過去血清を調べた結果、イノシシから抗 SFTS ウイルス抗体が検出された。このことは、SFTS ウイルスの存在するいわゆるホットスポットが存在する可能性を意味している。

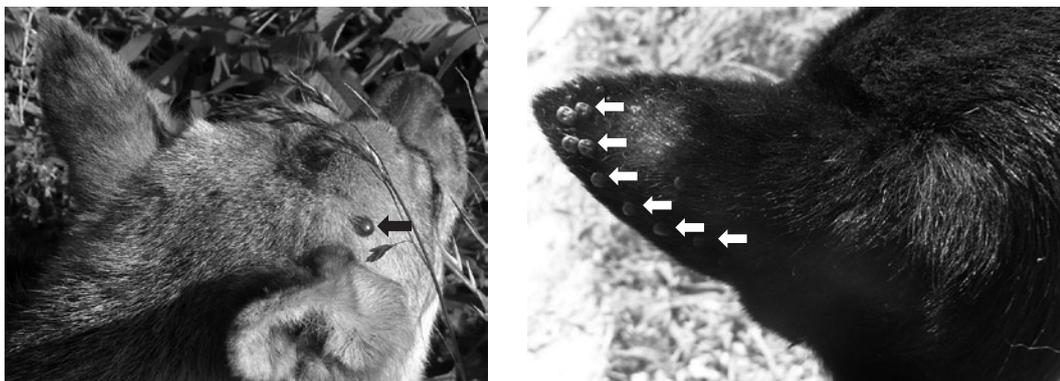


図9 SFTS 患者が飼育していたイヌを吸血しているマダニ

- 10) 中国、韓国、日本で発生があり、アメリカでも似たようなウイルスが存在することから、世界中で SFTS ウイルス様のウイルスが存在していると考え、台湾とモンゴルの反芻獣を調べたが、現在まで抗 SFTS ウイルス抗体陽性動物は検出されていない。SFTS ウイルスあるいは SFTS ウイルス様ウイルスは世界中に存在するわけではなく、特定の地域に局在していることが示唆された。ちなみに、現在まで沖縄のイヌから抗 SFTS ウイルス抗体は検出されていない。
- 11) 山口県の飼育犬の血清を調査した結果、抗 SFTS ウイルス抗体保有率は 3.7%、SFTS ウイルス遺伝子保有率は 1.5%であった。血清中のウイルスが感染能を有しているかは不明であるが、非常に高い陽性率だと思われる。
- 12) 関東、近畿、中国、九州地方のイノシシの抗 SFTS ウイルス抗体保有率を比較した結果、関東地方のイノシシは 349 頭調べても抗体陽性個体は存在しなかった。このことは、他の調査結果と一致している。中部・関東・東北地方および北海道は SFTS ウイルスの浸潤度が低いことが再確認された。

おわりに

今回の調査結果でも判明したように、動物での疫学調査は、感染症のヒトへのリスクに関して非常に多くのことをわれわれに教えてくれる。動物に耳を傾けることが、感染症のヒトへのリスクを知ることができる近道だと信じて今後も調査・研究を進めていきたい。今回、SFTS ウイルスの国内での発見の経緯を冷静に考えると、1) 山口県総合医療センターの高橋先生・石堂先生の原因究明に対する強い熱意があったこと、2) 著者が PCR に頼らないウイルス分離という旧態依然とした方法を実施していたこ

と、3) 東京農工大学の水谷先生が、未同定のウイルスを網羅的に同定する方法を見出しており、著者との緊密な連携が取れていたこと、4) 国立感染症研究所の森川先生、西條先生方が SFTS ウイルスの国内への侵入を予測して、診断法を開発していたこと、などの偶然が重なったために成功した例だと思われる。ここで思うのは、人脈、学会等で他の研究者の仕事内容の把握、最先端の方法 (PCR/RT-PCR など) の欠点の理解、などが重要であると再確認できた。今後も、最先端の研究を理解しながら、感染症の調査・研究を進めていきたい。

謝 辞

本研究は、多くの方々の協力により、研究材料が集められた。また、本研究の一部は、AMED からの研究費 (e-Asia プログラム、H25-新興-一般-006) により実施された。

文 献

- 1) Takahashi T †, Maeda K †, Suzuki T † et al., The first identification and retrospective study of severe fever with thrombocytopenia syndrome in Japan. *Journal of Infectious Diseases* 2014 Mar ; 209(6): 816-827. († Equally contributed)
- 2) Yoshikawa T, et al., Phylogenetic and geographic relationships of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in China, South Korea and Japan. *Journal of Infectious Diseases* 2015 ; 212(6) : 889-898.
- 3) Shimoda H, Ohno Y, Mochizuki M, Okuda M, Iwata H, Maeda K. Dogs as sentinels for human infection with Japanese encephalitis virus. *Emerging Infectious Diseases*. 2010 ; 16(7) : 1137-1139.
- 4) Suzuki J, Nishio Y, Kameo Y, Terada Y, Kuwata R, Shimoda H, Suzuki K, Maeda K. Canine distemper virus infection among wildlife before and after the epidemic. *Journal of Veterinary Medical Science* 2015 ; 77(11) : 1457-1463.