

20020619

厚生労働科学研究費

新興・再興感染症研究事業

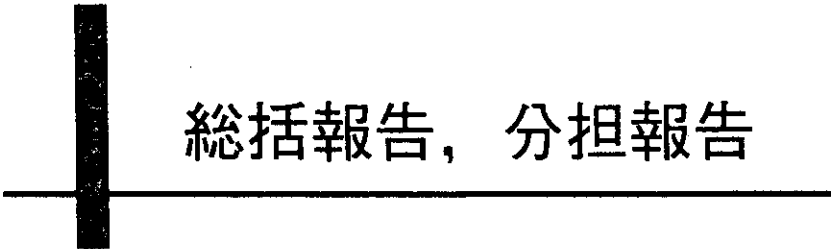
輸入動物が媒介する動物由来感染症の実態把握
及び防御対策に関する研究

平成 14 年度 研究成果報告書

平成 15 年 3 月

班長 吉川 泰弘

東京大学大学院農学生命科学研究科



総括報告，分担報告

総括研究報告書

輸入動物が媒介する動物由来感染症の実態把握及び防御対策に関する研究

主任研究者 吉川泰弘

(東京大学大学院農学生命科学研究科)

研究要旨

本研究班では本年度、齧歯類由来感染症、特に輸入ハムスターに関する血清疫学検査を実施した。ペットとして輸入されるハムスターのリスク評価を行うためのデータとして、広範囲な病原体に関して調査を進めた。霊長類に関してはBウイルスの鑑別診断、潜伏感染の解析を実施した。三叉神経節でのウイルスゲノムの検出、潜伏ウイルスの遺伝子発現に関して、分子生物学的および形態学的解析を進めた。動物園を中心にリスザル、爬虫類の感染症とヒトへの感染の可能性について検討を進めた。エルシニアなどの動物由来感染症病原体のアウトブレイクケースに関して調査した。また主要な齧歯類由来感染症である腎症候性出血熱(HFRS)ウイルスに関しては捕獲野鼠及び腎透析患者抗体保有状況の検索を進めた。ウイルス出血熱に関してはアフリカのエボラ出血熱、アジアのレストン株、マールブルグウイルスの鑑別診断法の確立、中国新疆ウイグル地区でのクリミアコンゴ出血熱の疫学調査を進めた。またイヌブルセラ症、コウモリの基盤研究を開始した。このほか、行政研究の一環として、危機管理対応のための国内動物流通及び輸入動物トレーサビリティ確保のためのコンピュータソフトウェア開発を進めた。

分担研究者：所属氏名

本藤 良 (日本獣医畜産大学獣医学部)
田中義枝 (厚生省成田空港検疫所)
内田幸憲 (厚生省神戸検疫所)
神山恒夫 (国立感染症研究所獣医科学部)
宇根有美 (麻布大学獣医学部)
森川 茂 (国立感染症研究所外来性ウイルス室)

A. 研究目的

ニパウイルス感染症、ウエストナイルウイルス感染症、SARS など国際的に感染症の発生が増加する傾向がみられ、各国ともその防疫体制の確立に努力している。動物由来感染症に関しては、わが国ではこれまでエキゾチックアニマルなどが無検疫で輸入されており、危機管理対応の難しさが懸念されている。平成12年感染症

法の改正に伴いサル類のエボラ出血熱、マールブルグ病を対象とした検疫並びにネコ、キツネ、アライグマ、スカンクを対象にした狂犬病の法定検疫が開始された。さらに平成 15 年 3 月にはペスト感染のリスクから、プレーリードッグの輸入禁止措置がとられた。本研究班の輸入動物調査結果を受けて平成 13 年からは、財務省が貿易税関統計に 12 種類の哺乳類を新たに組み込むことになり、リアルタイムで動物輸入実態を把握することが出来るようになった。15 年度からはマウスとラットも追加された。本研究班では、輸入動物由来感染症について基盤研究を行うとともに、将来の行政対応を考慮し、実態調査を行い、動物由来感染症のリスク評価、防御のため診断・予防システムの確立をはかるべく研究を進めている。

B・C 方法と結果

本研究班では、輸入動物が媒介する動物由来感染症の実態把握及び防御対策に関する研究を進めている。①財務省貿易統計では哺乳類だけでも年間約 120 万頭が輸入されているが、この統計だけでは十分な情報は得られない可能性がある。輸入動物由来感染症の流行を防止する方策として、その流通実態を把握し、特定の動物において感染症流行の恐れを生じた場合は、輸入業者から国内の販売業者や飼育者に至る経路を遡って調査し、感染防止措置等を講ずることが必要である。そのため、日本へ輸入される動物のデータベースを作成することを目的に開発した「輸入動物データベース用入力ソフト」を用い、試行試験を行い、このソフトの実用化に向けての課題を把握した。試行試験では輸入されたほ乳類 180 件約 5 頭分の情報が送付され、ソフトには関税統計では得られない細かい分類の動物について、輸入目的、繁殖・野生の別、健康証明書の有無、到着時死亡の数等の情報が得られた。

② 1 類感染症やその他ヒトに感染する恐れがある感染症を媒介する動物で成田空港から輸入された齧歯類の内、愛玩用ハムスターについて動物由来感染症であるペスト、腎症候性出血熱、リンパ球性脈絡髄膜炎、およびレプトスピラ抗原および抗体価の保有調査を行なった。チェコ、台湾および国産のハムスター 150 頭について実施した。その結果、腎症候性出血熱、リンパ球性脈絡髄膜炎、およびレプトスピラ抗原および抗体価の検査はすべて陰性であり、これらの繁殖されたペット用ハムスターが比較的クリーンであることが明らかにされた。また捕獲された野鼠についても病原検索を進めた。

③ 仮性結核菌 (*Yersinia pseudotuberculosis*) は、種々の動物とヒトに感染し疾病を生じる人畜共通感染症の病原体である。国内の 6 つのリスザル施設においてエルシニア症の集団発生が見られたので、これらのケースについて病原学的・病理学的調査を行った。またリスザルの *Klebsiella pneumoniae* (K. p) による髄膜炎、咽頭炎の集団発生を疫学および病理学的に検索した。原発施設より口腔検査で陰性の 1 頭の雌を繁殖用として他の施設に移動したところ、同居の他のリスザル 2 頭が K. p 症を発症した。このことから、リスザルは K. p のキャリアーになり、これを介して感受性を有するサルに水平感染することが明らかにされた。

④ 4 全国港湾地域のネズミ族にハンタウイルス (HFRS ウイルス) 感染が継続的に発生している中、人への感染実態を検証するため、血液透析患者の血清抗体検査及びアンケート調査を行い、『時間 - 場所 - 人』の関連性につき疫学的検証を行った。愛知県、大阪府、兵庫県、岡山県、広島県の 31 病院、1382 名から協力が得られた。その結果、血液透析患者の居住・勤務地とネズミの HFRS ウイルス抗体陽性地域は強く関連性がみられ、発生時期も近似しているものと思われた。

⑤ 霊長類に関してはBウイルスの鑑別診断、潜伏感染の解析を実施した。三叉神経節でのウイルスゲノムの検出、潜伏ウイルスの遺伝子発現に関して、分子生物学的および形態学的解析を進めた。Bウイルス抗体陽性カニクイザル10頭と20頭の2郡を検査したところ、それぞれ

50%、35%でウイルスゲノムが陽性であった。しかしこれらの個体の白血球ではウイルスゲノムは陰性であり、また神経節ではウイルス蛋白の発現は見られなかった。このことから本疾患によるウイルスの再活性化は低い可能性が示唆された。

⑥ 4類感染症のブルセラ症に関してPCR、リアルタイムPCR法を確立し、*B. abortus*, *B. canis*の検出が可能か否か検討した。翼種目については、コウモリ由来ウイルス感染症が世界的に問題となっているため、翼種目に由来する感染症の疫学的解明のための基礎技術開発を進めた。その結果mtDNAの解析結果からa)大翼手亜目と小翼手亜目は同一の起源から分岐したと考えられ、b)霊長類や食虫目から進化したと言う説を支持するものではなく、偶蹄目や奇蹄目、食肉目と同じ起源を持つと考えられた。c)ヒナコウモリ上科群から小翼手亜目の各分類群が分岐し、d)大翼手亜目はキクガシラ、サシオコウモリ上科群と共通の祖先から分岐したと考えられた。e)ルーセットオオコウモリは大翼手目の中で最も早く分岐し、アフリカから東アジア・オーストラリアに広がった可能性が考えられた。また抗血清を作成しオオコウモリIgGと他動物種IgGの抗原エピトープについて検討した。交差性は5?20%までの低い値を示したのに対し、翼手目では、大翼手亜目・小翼手亜目共に95%以上の高い値を示した。また、近縁種と考えられている霊長目や食虫目とは、翼手亜目としての分岐に比べかなり以前に分岐したと考えられた。オオコウモリから腎臓を無菌的に摘出し、0.25%トリプシンPBSで細胞を分離し経代

培養した。条件検討として0, 1, 2, 5, 10%FCS-DMEMを用いて条件検討を行った。また、一部を用いてPrV, CPIVの感受性について評価した。

⑦クリミア・コンゴ出血熱(CCHF)の流行地である中国新疆自治区で1966?88年の間に分離されたCCHFウイルス遺伝子の分子系統学的解析から、この地域のCCHF流行地には、少なくとも3種類のCCHFウイルスが存在することを明らかにした。また、CCHFウイルス中国分離株のS-RNAの塩基配列から得られる分子系統樹は、M-RNAの配列から得られるものと同様であった。このことは型間でRNA分節の入れ替えによるreassortant virusが容易には出現しないことを示唆する。また1966年と2001年に分離されたウイルスのS-RNA遺伝子全長の配列の比較から、35年間にウイルス遺伝子の変異がほとんど起きないことも明らかになった。

D. 考察

感染症新法に新しく動物由来感染症が組み込まれるまでは、医学部でも獣医学部でも動物由来感染症を対象とする教育・研究は十分なされて来なかった。従って、この分野の感染症に関する研究・情報ネットワークは、それまで全く欠落していた。本研究班では新感染症法で検疫対象となった霊長類を対象に「サル類の疾病と病理に関する研究会」を平成12年に組織した。また平成13年には広く医師、獣医師、行政あるいは地方の公衆衛生官などを対象にネットワークを確立すべく「ヒトと動物の共通感染症研究会」を発足させ、14年には「爬虫類・両性類の疾病に関する研究会」を組織して、小動物獣医師を含め第1回の研究会を発足させた。こうして、この分野の感染症の流行調査と情報収集が可能になった。本研究班におけるウイルス出血熱の診断法確立やブルセラ症の診断法、翼手目の分岐と分布に関する研究の様な基盤的研究、輸入動物の国内流通に関する

行政的研究、HFRS 感染の疫学や動物園サル類の疾病疫学研究、B ウイルスの潜伏感染状態の解析などの研究は、それぞれの分野の研究において指導的役割を果たしている。

また、これらの成果は各研究会、獣医学会、小動物獣医師会、獣医師会、実験動物学会、霊長類学会や公開講座等多くの特別講演やシンポジウムで紹介されて、各研究会のHPでも紹介されている。さらに感染症新法の見直しのあたり、本研究班で進められたリスク分析のためのデータ、及び手法は法改正に当たって有効に利用された。

E. 結論

本研究班では本年度、齧歯類由来感染症、特に輸入ハムスターに関する血清疫学検査を実施した。ペットとして輸入されるハムスターのリスク評価を行うためのデータとして、広範囲な病原体に関して調査を進めた。霊長類に関してはB ウイルスの鑑別診断、潜伏感染の解析を実施した。三叉神経節でのウイルスゲノムの検出、潜伏ウイルスの遺伝子発現に関して、分子生物学的および形態学的解析を進めた。動物園を中心にリスザル、爬虫類の感染症とヒトへの感染の可能性について検討を進めた。エルシニアなどの動物由来感染症病原体のアウトブレイクケースに関して調査した。また主要な齧歯類由来感染症である腎症候性出血熱（HFRS）ウイルスに関しては捕獲野鼠及び腎透析患者抗体保有状況の検索を進めた。ウイルス出血熱に関してはアフリカのエボラ出血熱、アジアのレストン株、マールブルグウイルスの鑑別診断法の確立、中国新疆ウイグル地区でのクリミアコンゴ出血熱の疫学調査を進めた。またイヌブルセラ症、コウモリの基盤研究を開始した。

このほか、行政研究の一環として、危機管理対応のための国内動物流通及び輸入動物トレーサビリティ確保のためのコンピュータソフトウ

ェア開発を進めた。

F. 研究発表等

1. Inenaga, T., Nishida, E., Kawamura, S., Yoshikawa, Y. Renal function tests on diabetes-induced and non-induced APA hamsters. *Exp. Anim.* 51, 437-445, 2002

2. Kamiya, K., Kikkawa, Y., Ishii, T., Kyuwa, S., Yoshikawa, Y. Changes in mRNA expression in mouse postnatal cochlea by differential display methods. *Exp. anim.* 51, 431-435, 2002

3. Ikegami, T., Miranda, EG., Caraor, A.B., Manalo, D., Miranda, Nj., Niikura, M., Saijo, M., Une, Y., Nomura, Y., Kurane, I., Ksiazek, TG., Yoshikawa, Y., Morikawa, S. Histopathology of natural Ebola virus subtype Reston infection in cynomolgus macaques during the philippine outbreak in 1996. *Exp. Anim.* 51, 467-455, 2002

4. Horiuchi, K., Takatori, a., Inenaga, T., Ohta, E., Yamanouchi, J., Kawamura, S., Ishii, T., Kyuwa, S., Yoshikawa, Y. The effect of probucol on atherosclerosis in streptozotocin induced diabetic hyperlipidemic APA hamster in different stages of atherosclerosis. *Exp. Anim.* 51, 457-464, 2002

5. Ikegami, T., Saijo, M., Niikura, M., Miranda, EG., Calaor, AB., Hernandez, M., Malano, DL., Kurane, I., Yoshikawa, Y., Morikawa, S. *Microbiol. Immunol.* 46, 633-638, 2002

6. Negishi, T., Ishii, Y., Kawamura, s., Kuroda, Y., Yoshikawa, Y. Cryopreservation and primary culture of cerebral neurons from cynomolgus monkeys. *Neurosci. letters*, 289, 21-24, 2002
7. Negishi, T., Ishii, Y., Kawamura, S., Kuroda, Y., Yoshikawa, Y. Cryopreservation of brain tissue fro primary culture. *Exp. Anim.* 51, 383-390, 2002
8. Lee, WW., Nam, KH., Terao, K., Yoshikawa, Y. Age-related telomere length dynamics in peripheral blood mononuclear cells of healthy cynomolgus monkeys measured by flow FISH. *Immunol.* 105, 458-465, 2002
9. Furuta, T., Kikuchi, T., Miyadera, H., Yoshikawa, Y. Pneumocystis carinii infection in red-bellied tamarins and cynomolgus monkeys, and the characterization of the mitochondrial large subunit ribosomal RNA gene of P. carinii. *J. Euk. Microbiol.* s107-108, 2002
10. Miranda, ME., Yoshikawa, Y., Manalo, DL., Calaor, AB., MInrada, NL., Cho, F., Ikegami, T., Ksiazek, TG., Chronological and spatial analysis of the 1996 Ebola REston virus outbreak in a monkey breeding facility in the Philippines. *Exp. Anim.* 51, 173-179, 2002
11. Yamanouchi, J., Takatori, A., Nishida, e., Kawamura, s., Yoshikawa, Y. Expression of lipoprotein receptors in the aortic walls of diabetic APA hamsters. *Exp. Anim.* 51, 33-41, 2002
12. Takatori, A., Nishida, E., Inenaga, T., Horiuchi, K., Kawamura, S., Itagaki, S., Yoshikawa, Y. Functional and histochemical analysis on pancreatic islets of APA hamsters with SZ-induced hyperglycemia and hyperlipidemia. *Exp. Anim.* 51, 9-17, 2002
13. Hatta, Y., Kanai, T., Matsumoto, Y., Kyuwa, S. Hayasaka, I., Yoshikawa, Y. Analysis of cDNA coding MHC class IIbeta chain of the chimpanzee (Pan troglodytes). *Exp. Anim.* 51, 133-142, 2002
14. Tsutsui, S., Itagaki, S., Kawamura, S., Harada, K., Karaki, H., doi, K., Yoshikawa, Y. D-galactosamine induced hepatocyte apoptosis is inhibited in vivo and in cell culture by a calcium calmodulin antogonist. *Exp. anim.* 52, 43-52, 2003
15. Kwon, J., Kikuchi, T., Setsuie, R., Ishii, Y., Kyuwa, S., Yoshikawa, Y. Characterization of the testis in congenitally ubiquitin carboxy-terminal hydrolase-1 defective (gad) mice. *Exp. anim.* 52, 1-9, 2003
- 吉川泰弘 霊長類を用いた老人病モデルの研究
平成13年度厚生科学研究 14-32,
2002
- 吉川泰弘 動物実験と福祉 アニテックス15,
18-22、2003
- 吉川泰弘 生命科学と実験動物 学術の動向
31-34 2002, 9

我が国におけるハンタウイルス感染症(腎症候性出血熱)の疫学的検証
…腎炎・透析患者血清抗体価調査とそ族のハンタウイルス抗体調査…

分担研究者 内田 幸憲(神戸検疫所)

協力研究者 井村 俊郎、鎌倉 和政、多賀 賢一郎、林 昭宏、勝部 宗幸
(神戸検疫所)

榎野 博史、市川 晴夫(岡山大学大学院医歯学総合研究科 腎・免疫・内分
泌代謝内科学)

大阪透析研究会・同透析医学会合同感染症対策委員会
(代表 今田 聡雄)

兵庫県透析医会(代表 宮本 孝)

愛知県透析医会(代表 渡邊 有三)

研究要旨

全国港湾地域のネズミ族にハンタウイルス(HFRS ウイルス)感染が継続的に発生している中、人への感染実態を検証するため、血液透析患者の血清抗体検査及びアンケート調査を行い、『時間 - 場所 - 人』の関連性につき疫学的検証を行った。愛知県、大阪府、兵庫県、岡山県、広島県の31病院、1382名から協力が得られ、すべて医学倫理委員会規程に基づき取り扱われ、プライバシー等は保護されている。結果分析により、血液透析患者の居住・勤務地とネズミ族 HFRS ウイルス抗体陽性地域は強く関連性がみられ、発生時期も近似しているものと思われた。

A. 研究目的

国内におけるハンタウイルス感染症(腎症候性出血熱)の発生は1960年代の梅田熱として初めて確認され、その後1970年代から1980年代までは大学動物実験施設内における医師、研究者に感染発生が続いた。1982年から1984年には厚生化学研究調査で全国横断的に5078名の人血清疫学調査が行われ、人における腎症候性出血熱(HFRS)抗体保有率は0.53%(0~1.34%)と報告がなされた。またHFRSウイルス抗体陽性ネズミが高率に確認された東京湾埋立地従業員732名の抗体保有率は2.73%と報告されている。これらの報告の背景にはいずれもドブネズミ、ラットなどのネズミ族の関与が指摘されている。そして全国港湾

地域におけるネズミ族のHFRSウイルス抗体保有調査が断続的に行われ、多くの港湾でHFRSウイルス抗体陽性ネズミの報告がなされている(表1)。我々の全国的調査でも、多くの港湾でHFRSウイルス抗体陽性ネズミを確認している(表2)。しかし動物実験施設での感染例を除くと1970年以降HFRS患者発生の市中における報告はなされていない。一方米国における最近の研究によれば急性及び慢性腎炎患者の腎生検及びHFRS特異IgG、IgM、IgA抗体検査により、HFRSウイルスは急性・慢性腎炎発症の大きな原因となっているとの報告がある(Am. J. Kidney Dis, 33: 734-737, 1999)。

本研究では血液透析患者のHFRSウイルス

抗体検査および腎炎発症時期、居住・勤務地等のアンケート調査を行い、これまでに調査しえた港湾区域および市街地で捕獲されたネズミ族の HFRS ウイルス抗体陽性地域等との関連性につき疫学的検証を行った。

B. 研究方法

名古屋港・大阪港・神戸港の港湾地域および名古屋市内・神戸市内での HFRS ウイルス抗体陽性ネズミが確認されていることから、愛知県・大阪府・兵庫県そして広島県・岡山県地域における血液透析患者を対象に表 3-1、3-2 に示す協力依頼、承諾を得て表 3 に示すアンケート調査を行った。アンケート調査を含む本研究は神戸検疫所医学倫理委員会の審査により了承された。アンケート集計結果、血清の HFRS ウイルス抗体価測定の結果及び市内・港湾地域 HFRS ウイルス抗体陽性ネズミ族の分布結果を『時間 - 場所 - 人』の 3 つの因子を軸に疫学的に検討した。HFRS ウイルス抗体測定は間接蛍光抗体法 (IFA) と HI 法により行い、それぞれ 32 倍以上、10 倍以上を陽性とした。また ELISA 法により IgG 抗体、IgM 抗体を測定した。抗体陽性血清の一部 (8 件) についてはウエスタン-ブロット法での検討も行った。ハンタウイルス抗原としては SR-11 株、B-1 株、76-118 株を使用した。また、急性または亜慢性腎炎患者 78 名には腎生検を行い病理組織的検討も併せて行った。

C. 結果

血液透析患者からの血清提供とアンケート調査には、愛知県北部、名古屋市、豊橋市、大阪市北部、大阪市、大阪市南西部、兵庫県南部 (特に神戸市東部、神戸市中央部) の全域、岡山県西部、広島県東部及び海岸部に立地している 30 ヶ所の血液透析病院通院中

の 1304 名の患者同意が得られ、血清の提供とアンケート記入がなされた。また腎生検を受けた急性・慢性腎炎患者 78 名からも同意が得られ、血清の提供とアンケート記入がなされた。いずれも個人の特定がなされない配慮のもとに行われた。

1) 病院別透析患者の HFRS ウイルス抗体陽性率 (表 4)

府県別病院名イニシャル、主たる通院患者の居住地、協力者数、抗体陽性者数、陽性率を示す。陽性者は名古屋、大阪、堺、泉佐野、神戸、そして福山の 6 地域 9 病院の 14 名であった。病院別の抗体陽性率は Ka 病院 1.4%、E 病院 5.0%、O 病院 9.5%、Ka 病院 0.9%、KS 病院 5.3%、Ha 病院 2.3%、Hi 病院 5.0%、MK 病院 8.3%、T 病院 0.9%であった。その他 22 病院での 800 名は陰性であった。

2) HFRS ウイルス抗体陽性者のウイルス抗原別抗体価と ELISA の結果 (表 5)

抗体陽性者 14 名血清においてウイルス抗原別に抗体価を検討した。症例 No.2 のケースでは感染ウイルスはハンタン型と強く推測され、その他の 13 名のケースではソウル型であると推測された。ウエスタン-ブロット法での確認検査で 1 例はハンタン型、他の 13 症例はソウル型であった。また ELISA 法検査により IgG 抗体は全例陽性であり、IgM 抗体は全例陰性であった。

3) HFRS ウイルス抗体陽性者の背景 (表 6)

抗体陽性者 14 名の調査時年齢、性別、腎炎発症時期、初期症状、居住・勤務地、動物接触歴、HFRS 抗体価そして患者の生活圏での抗体陽性ネズミの存在について表 5 に示す。男性 6 名、女性 7 名、性別不明 1 名であり、調

査時年齢は 47 歳から 86 歳、平均年齢は 69.5 歳であった。腎炎発症時期は不明 3 名、他の 11 名は 1971 年から 2000 年にわたるが発症時期に抗体陽性ネズミが近くに存在していた可能性は高い。腎炎初期症状は 7 名に浮腫、高血圧、蛋白尿のいずれかが認められているが、5 名は無症状または無自覚であった。居住地域または勤務地域は表 6 に示す。症例 No.7、14 以外はこれまでのネズミ族調査で HFRS ウイルス抗体陽性ネズミが確認されている地区と同一地区で極めて近い地域で居住・勤務していたか、居住・勤務地が陽性ネズミの活動エリアに隣接する地域であることが確認された。また、症例 No.11 は 1943 年頃にネズミに咬まれた既往があり、No.12、No.13 は港湾関連施設での業務に関わっていたことが確認された。ペット動物等との接触歴においては有意差は認められなかった。

4) 抗体陽性ネズミ棲息地域と抗体陽性者居住状況(図 1、図 2、図 3)

これまでに確認し得たハンタウイルス(HFRS ウイルス)抗体陽性ネズミの棲息地域と血液透析患者でハンタウイルス(HFRS ウイルス)抗体陽性者の居住・勤務地域を名古屋地区(図 1)、大阪地区(図 2)、神戸地区(図 3)に示した。本研究で確認し得た 14 名の抗体陽性者のうち泉佐野市居住の 1 名、広島県芦品郡の 1 名についてはネズミ族の調査が全くなされていない地域のため図には示さず除外した。名古屋地区で抗体陽性者は中川区及び海部郡蟹江町の居住者それぞれ 1 名であり、名古屋港地域で抗体陽性ネズミが確認されているポイントはわりと近い地域であるか、名古屋市内で陽性ネズミが確認されている地区との中間点に居住している透析患者であった。愛知県北部や東部の透析患者 122 名は全員陰性であった。

大阪地区での抗体陽性者は港区 3 名、西成区 1 名、堺市 1 名の計 5 名であった。港区の 3 名は抗体陽性ネズミ棲息地域にかなり近い居住者であり、西成区、堺市の各 1 名は抗体陽性ネズミの棲息域にわりと近い地域に居住している。その他大阪北部、東部の居住者には抗体陽性者は確認されなかった。神戸地区での抗体陽性者は 5 名でありいずれも抗体陽性ネズミの棲息地域に極めて近い地域に居住するか勤務をしていた。神戸地区東部、北部、西部での居住者に抗体陽性者は確認されなかった。

5) HFRS ウイルス抗体陽性者と抗体陽性ネズミ族の関連性(表 7)

14 症例の腎炎発症時期、勤務・居住地、腎炎発症時期の抗体陽性ネズミの存在、患者生活圏での抗体陽性ネズミの存在の各ファクターにつき、表 1、表 2、図 1、図 2、図 3 の結果も総合的に判断して人の腎炎発症と抗体陽性ネズミの関連性について検討した。総合的に判定すると 14 名の HFRS 抗体陽性者のうち抗体陽性ネズミの存在と強く関連があると判定されたのは 6 名、ある程度関連ありと判定されたのは 4 名、関連があるかもと推定されたのは 2 名、関連があるか否か判定できなかった症例は 2 例であった。

D. 考察及び結論

腎症候性出血熱はハンタウイルス感染により引き起こされる。ハンタウイルスはハンタウイルス感染ネズミの持続感染及び垂直感染によりネズミ族の中で存続する。感染ネズミから人へのウイルス感染は感染ネズミに咬まれたり、傷口等に感染ネズミの尿、唾液、排泄物が直接接触したり、さらに排泄物が乾燥してほこりなどととも吸引されることで成立する。これま

で我が国での HFRS 患者の発生は先述したごとくであるが、その後も海外との貿易の窓口となっている全国港湾地域においては HFRS ウイルス感染ネズミ(抗体陽性ネズミ)は継続的にその存在が確認されている(表 1、表 2)。

また、1982 年からの 3 年間に厚生科学研究として行われた全国横断的な血清検査や、東京湾埋立地従業員の調査では埋立地従業員の抗体陽性率 2.73%、血液透析患者では 1.06%、その他血清バンクの血清では 0.53%、健康な東京都民では 0.19% と報告されている(表 8)。

HFRS の人での報告は動物実験施設でのラットからの感染を除けば 1960 年代の梅田熱以後、統計的には皆無であるが、全国の主要港湾地域で HFRS ウイルス感染ネズミが存続すること、東京湾埋立地従業員では抗体陽性率が高いことから、今回の研究調査を行った。また、これまでの全国港湾地域でハンタウイルス感染ネズミが高率に発見される名古屋港、大阪港、神戸港を中心に地域差の検討を行うことを目的に対象調査地域を愛知県、大阪府、兵庫県、そして広島県、岡山県をコントロール地域として選択し、採血がしやすく腎炎の終末過程にある血液透析患者の方々に協力を求めることとして『時間 - 場所 - 人』の 3 つの疫学的因子の関連性について結果分析を行った。表 6、表 7 に示すように、ハンタウイルス感染時期は確定できないが腎炎発症時期を感染時期と同一と判断して時間 - 場所 - 人について関連性をみると、14 名中 10 名において疫学的に強い関連性を指摘できるものと思われた。

また、ハンタウイルス感染ネズミ棲息地域が確認されている地域において抗体陽性患者の発見率は高く、逆に海岸部から離れた地域や国際物流の玄関である検疫港ではない海岸

部での抗体陽性患者の発見は低率または皆無であった。

HFRS ウイルス抗体が陽性であり、かつ ELISA 法による IgG 抗体が陽性で IgM 抗体は全例陰性であることは、過去にハンタウイルス感染があった明確な証拠である。しかし腎症候性出血熱(HFRS)における腎炎症状は医学教科書的には急性期のみ記載され慢性化に関する記載は一切ない。また今回抗体陽性が確認された 14 症例中腎炎初期症状がなかったとする症例が 5 症例存在することはどう理解したらよいか、今回の調査では不明である。

また、Am. J. Kidney Dis. (1999)には急性・慢性腎炎の 26% 近くは HFRS ウイルス感染によることが強く示唆されるとの報告がみられたが、今回、岡山地区を中心に腎生検を行った腎炎患者において HFRS ウイルス抗体陽性者は皆無であった。地域性的の問題もあり、HFRS ウイルス感染が腎炎発症にどのようにかかわるのか、判断することは不可能であった。

結論的には港湾地域または市街地域に存在するハンタウイルス感染ネズミ(HFRS ウイルス抗体陽性ネズミ)から低率ではあるが人への感染は断続的に発生していることが強く推測されることが証明されたと思われる。

E. 謝辞

本研究において快く御協力いただいた愛知県透析医会、大阪透析研究会・同透析医会合同感染症対策委員会、兵庫県透析医会の諸先生方と岡山大学関連透析病院の諸先生方に感謝いたします。

また、抗体陽性血清についてウエスタン - ブロット法による検討をいただいた北海道大学医学部付属動物実験施設教授有川二郎先生に深謝いたします

表1. 過去の報告から見たネズミ族の抗ハンタウイルス抗体陽性率(%)

港湾区域	捕獲年			
	1975 ~	1980 ~	1985 ~	1990 ~ 1995
小樽				2.6
函館	0			
新潟	4.0~53.8			
千葉			6.7	
東京		19.7~34.8	15.8	42.9 0
横浜	2.4~3.0	0~5.1	0	
清水		17.9		3.0
伏木・富山			13.0	
名古屋			2.2~13.0	28.3~46.8
大阪		41.0		
神戸	21.2	2.7	0~38.9	0~43.3
岩国		0		
門司		2.5		
博多		0.5		
長崎		1.9		
那覇			15.0~17.6	

森田(1983), 鈴木(1984), 小松(1985), Ma(1985), 杉山(1993, 1995), 内田(1997)の報告より

表2. 港湾区域におけるネズミ族のハンタウイルス抗体測定結果(1996-1998)

検疫所		検体数	陽性検体数	陽性率(%)
小	樽	49	5	10.2
仙	台	1	0	
新	潟	26	2	7.7
成	田 空 港	99	0	
東	京	8	1	12.5
横	浜	135	12	8.9
清	水	8	0	
名	古 屋	180	53	29.4
関	西 空 港	55	7	12.7
大	阪	21	4	19.0
神	戸	44	12	27.2
徳	山 下 松	93	9	9.7
広	島	8	1	12.5
松	山	36	3	8.3
門	司	75	11	14.7
福	岡	90	20	22.2
長	崎	30	4	13.3
那	覇	166	1	0.6
計		1124	145	12.9

表 3-1. 腎疾患の治療を受けておられる方へ

輸入される動物等の輸入実態と国内流通の実態、及び輸入動物等に由来する感染症の実態調査とそれに基づいた有効な防御対策の構築を目的とした厚生科学研究が実施されております。この研究調査の一環として、最近では国内での病気発生報告はありませんが、ネズミ族が媒介するウイルス性疾患である腎症候性出血熱(HFRS)とリンパ球性脈絡髄膜炎(LCM)という病気について実態調査を試みることとなりました。これまでの調査でこれらの病気の病原体であるウイルスを持つネズミ族が国内に存在していることが確認されています。しかし、ヒトへの系統だった実態調査は行なわれておりません。そこでこの度、平成 14 年度厚生科学研究の一環としてこの 2 疾患の病原体ウイルスに対するヒトの抗体価調査のために血清の提供及びアンケート調査をお願いしています。ご協力頂けますよう、宜しく願い申し上げます。病気の概要は下記の通りです。

『腎症候性出血熱』

- ◎ 病原体はハンタウイルスと呼ばれるウイルス疾患
- ◎ 感染したネズミに咬まれたり排泄物に接触することによりヒトに感染(乾燥した尿による空気感染も考えられている) ヒトからヒトへの感染はない
- ◎ 東欧・北欧(軽症型)から極東アジア(重症型)にかけて広く分布
- ◎ 急性期においては発熱・腎障害が主な症状だが、重症例では出血を伴うものもあり、死亡例もある
- ◎ 日本では軽症～中等度までのものが主流で入院・治療を伴わないものが多い
- ◎ 軽症型ではごく軽度の発熱・蛋白尿・血尿のみ
- ◎ 潜伏期間は 10～30 日

『リンパ球性脈絡髄膜炎』

- ◎ 病原体は LCM ウイルスと呼ばれるウイルス疾患
- ◎ ハツカネズミは唾液・糞尿・乳などで感染するがヒトへの感染経路は不詳ヒトからヒトへの感染はない
- ◎ 世界中に広く分布していると考えられる
- ◎ インフルエンザ様の症状を示すものと脈絡髄膜炎・脳炎まで進むものがある
- ◎ 無症状で終ることが多く、致死率は低い
- ◎ 潜伏期間は 5～6 日

2 つの疾患とも対症療法による治療が行なわれています。病原体ウイルスは急性症状がある時期には血液に存在しますが、十分量の抗体が産生され、回復すれば抗体のみが存在すると考えられています。このことは子供の頃に麻疹(はしか)にかかった場合には、ほぼ一生麻疹ウイルスに対する抗体が保持されていることに通じています。すなわち今回お願いしている調査は過去に気付かないうちにこの 2 つの病原体ウイルスに接触したがどうかの調査と考えて下さい。ご協力の程、宜しく願い致します。

表 3-2. 承諾書

この用紙は主治医の先生の手元で保管され、主治医の先生が番号を付けられて血清を供して下さるシステムになっており、アンケート用紙にも同番号がつけられることになっています。血清の検査を担当している部署及び調査研究している部署でも個人名が特定出来ることはありません。

検査結果につきましては、番号で主治医の先生に報告させて頂き、皆様には主治医の先生を通じてお知らせさせて頂きます(採血量: 5 mL)。

また、採取させて頂きました血清につきましては本調査研究以外の目的に使用されることはありませんし、残余の血清につきましても本調査研究の終了時まで神戸検疫所で責任をもって保管、処理させて頂きます。

◎調査に協力して頂けますか。該当するものに○印をお願い致します。

はい

いいえ

署名: _____
(『はい』の方は署名をお願いします)

平成14年度厚生科学研究:新興・再興感染症研究事業

『輸入動物が媒介する動物由来感染症の実態把握及び防御対策に関する研究』

分担研究者 神戸検疫所長:内田 幸憲

主治医

表 3-3. HFRS 及び LCM 抗体調査アンケート

1. 患者(血清) 番号_____ 2. 性別：男、女 3. 年齢_____
4. 診断名(臨床診断_____，病理診断_____)
5. 合併症等_____
6. 腎炎発症時の急性期症状：有()，無
7. 腎症状出現前数年間の状況
 - a. 居住地(市、町、村まで)：
 - b. 勤務地(市、町、村まで)：
 - c. 職業：
 - d. 港湾(空港、保税倉庫含) 関連業務の関与： 有，無
 - e. ネズミ族との直接接触：有(いつ頃：)，無
8. ペット動物の飼育：有

[ペット動物名：]
	いつからいつまで：	

，無
9. 腎炎発症時期：_____歳頃 (昭和、平成 _____年頃)
10. 血液透析開始年齢：_____歳 (血液透析継続期間：_____年)

(病院名_____ 担当医_____)

表 4. 透析患者の HFRS ウイルス抗体陽性率(病院別)

府県	病院	地域	人数	陽性者数	陽性率(%)
愛知県	Ka	名古屋市	148	2	1.4
	T	愛知県東部(豊橋市)	66	0	0
	KS	愛知県北部(春日井市)	56	0	0
大阪府	Ki	高槻市・茨木市	25	0	0
	E	大阪市港区・西区	40	2	5.0
	O	大阪市港区	21	2	9.5
	KS	堺市	19	1	5.3
	Ka	貝塚市	106	1	0.9
	H	富田林市	27	0	0
	P	富田林市	70	0	0
兵庫県	AE	尼崎市	15	0	0
	Mi	西宮市	20	0	0
	Ku	宝塚市	20	0	0
	Su	神戸市東灘区	18	0	0
	Sa	神戸市東灘区・灘区	96	0	0
	O	神戸市中央区・東灘区	56	0	0
	Ji	神戸市中央区	24	0	0
	Mo	神戸市中央区	20	0	0
	Ha	神戸市中央区・長田区	128	3	2.3
	MK	神戸市兵庫区	12	1	8.3
	Hi	神戸市中央区・長田区	20	1	5.0
	KK	神戸市長田区	20	0	0
	Si	神戸市須磨区	8	0	0
	Sa	神戸市北区	12	0	0
	Ta	高砂市	3	0	0
	Jo	姫路市	20	0	0
A	兵庫県氷上群	18	0	0	
岡山県	S	岡山県西部	82	0	0
	O	(岡山大腎生検患者)	78	0	0
広島県	T	福山・府中周辺	107	1	0.9
	I	因島周辺	27	0	0
合計	31病院		1382	14	1.0

表 5. 抗体陽性者のハンタウイルス抗原別抗体価とELISAの結果

症例 No.	IFA			HI			ELISA (FOCUS 社製、Hantaan 型)	
	SR-11	B-1	76-118	SR-11	B-1	76-118	IgG	IgM
1	256	256	128	20	20	10	陽性	陰性
2	128	256	512	20	20	80	陽性	陰性
3	1,024	512	128	80	80	20	陽性	陰性
4	512	512	128	80	40	20	陽性	陰性
5	128	128	64	10	10	<10	陽性	陰性
6	256	256	128	20	20	10	陽性	陰性
7	32	32	16	20	10	<10	陽性	陰性
8	256	128	64	10	10	10	陽性	陰性
9	1,024	1,024	512	40	40	20	陽性	陰性
10	128	128	32	10	10	<10	陽性	陰性
11	32	32	32	10	10	10	陽性	陰性
12	256	256	256	40	40	40	陽性	陰性
13	256	256	256	40	40	40	陽性	陰性
14	1,024	1,024	512	160	80	40	陽性	陰性

SR-11, B-1 (Seoul 型)、76-118 (Hantaan 型)

表6. HFRS ウイルス抗体陽性者の背景

症例 No.	年齢	性別	発症時期	腎炎初期症状	居住・勤務地	動物接触の有無	抗体価 (IFA, HI)	生活圏でのネズミの存在
1	64	女	1989	有(?)	海部郡蟹江町	無	256, 20	(陽性ネズミ生息)
2	75	男	2000	浮腫	名古屋市中川区	無	512, 80	(陽性ネズミ生息)
3	47	女	1999	浮腫	大阪市西成区	有 (猫、1997~1999)	1024, 80	陽性ネズミ生息
4	75	男	不明	無	大阪市港区	無	512, 80	陽性ネズミ生息
5	54	男	1997	無	大阪市港区	有 (犬、1997~)	128, 10	陽性ネズミ生息
6	81	女	不明	不明	大阪市港区	無	256, 20	陽性ネズミ生息
7	86	女	1999	無	泉野市	有 (犬、1984~1994)	32, 20	不明
8	74	不明	1999	無	堺市	無	256, 10	(陽性ネズミ生息)
9	55	女	1985	高血圧	神戸市兵庫区	不明	1024, 40	陽性ネズミ生息
10	67	男	1992	無	神戸市長田区	有 (犬)	128, 10	陽性ネズミ生息
11	79	女	不明	不明	神戸市長田区	有 (ネズミに咬まれる、1943)	32, 10	陽性ネズミ生息
12	68	男	1996	蛋白尿・浮腫	神戸市中央区	不明	256, 40	陽性ネズミ生息 (港湾関連業務)
13	70	男	1981	高血圧・蛋白尿 ・糖尿	神戸市中央区	不明	256, 40	陽性ネズミ生息 (港湾関連業務)
14	78	女	1971	高血圧・蛋白尿	広島県芦品郡	有 (犬、1990)	1024, 160	不明

表 7. HFRS ウイルス抗体陽性者と抗体陽性ネズミ族の関連性

症例番号	発症時期 (年)	勤務・居住地	腎炎発症時期の抗 体陽性ネズミの存在	生活圏での抗体 陽性ネズミの存在	判定
1	1989	海部郡蟹江町	○	△	△
2	2000	名古屋市 中川区	○	△	△
3	1999	大阪市 西成区	○	○	○
4	?	大阪市 港区	?	◎	○
5	1997	大阪市 港区	○	◎	◎
6	?	大阪市 港区	?	◎	○
7	1999	泉佐野市	△	△	?
8	1999	堺市	○	○	○
9	1985	神戸市 兵庫区	◎	◎	◎
10	1992	神戸市 長田区	○	◎	◎
11	?	神戸市 長田区	○	◎	◎
12	1996	神戸市 中央区	◎	◎	◎
13	1981	神戸市 中央区	◎	◎	◎
14	1971	広島県 芦品郡	?	?	?

判定: ◎強く関連あり ○関連あり △関連推定 ?判定できず ×関連なし