

厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

分担研究報告書

病原体及び毒素の管理システムおよび評価に関する総括的な研究

(H24-新興-一般-013)

出血熱等ヒトに致死的な病気を引き起こす新興ウイルスのリスク評価に関する研究

| | | |
|-------|------|-----------------|
| 研究分担者 | 福士秀悦 | 国立感染症研究所ウイルス第一部 |
| 研究協力者 | 福間藍子 | 国立感染症研究所ウイルス第一部 |
| | 吉河智城 | 国立感染症研究所ウイルス第一部 |
| | 谷英樹 | 国立感染症研究所ウイルス第一部 |
| | 下島昌幸 | 国立感染症研究所ウイルス第一部 |

研究要旨:重症熱性血小板減少症候群(SFTS)は2011年に中国で同定されたブニヤウイルス科フレボウイルス属のSFTSウイルス(SFTSV)によるダニ媒介性感染症である。2013年には我が国および、韓国でもSFTS症例が報告された。一方、米国では2012年に2名のSFTS様疾患の症状を示す患者からSFTSVに近縁なハートランドウイルスが分離された。これらのウイルスは、1970年代からアジア、アフリカ、ヨーロッパ等でダニから分離されているバンジャウイルスグループに遺伝子学的、血清学的に類似している。本研究では、SFTSVおよび近縁なフレボウイルスであるハートランドウイルス、Bhanjaグループウイルス等のウイルスのヒトへの感染性、感染経路、臨床像、自然宿主の解明の有無などについて情報収集を行った。また、SFTSVと近縁なウイルスを区別する検出技術を開発するため、SFTSVに対するモノクローナル抗体を作製し、その性状を解析した。

A. 研究目的

重症熱性血小板減少症候群(SFTS)は2011年に中国で同定されたブニヤウイルス科フレボウイルス属のSFTSウイルス(SFTSV)によるダニ媒介性感染症で、我が国においても少なくとも2005年からSFTS患者が発生し、2013年も新たに患者

が発生している。また、後方視的研究から、韓国でもSFTS症例が2012年に発生していたことが報告されている。一方、米国では2012年に2名のSFTS様疾患の症状を示す患者からフレボウイルス属のハートランドウイルスが分離されている。これらのウイルスは、1970年代からアジア、アフリ

カ、ヨーロッパ等でダニから分離されているバンジヤウイルスグループに遺伝子学的に類似しており、血清学的にも交差する。さらに最近、インドのルーセットオオコウモリから SFTSV に近縁なウイルス(Maloor ウイルス)が分離された。SFTSV はヒトに致死的な病気を引き起こす新興ウイルスであるが、これに近縁なフレボウイルスが中国、韓国、日本、米国のみならず世界中に存在する可能性を示唆される。今後、新種のフレボウイルスによる新興ウイルス感染症が発生する可能性があることから、これらのウイルスの性状、ヒトへの感染経路、臨床症状等について情報を収集し、ウイルスの侵入に対するバイオセーフティ、バイオセキュリティシステムを整備しておく必要がある。本研究では、我が国および韓国において新たに明らかになった SFTS 症例の病態およびウイルスの性状に関する情報収集を進めるとともに、SFTSV に近縁なフレボウイルスであるハートランドウイルス、Bhanja グループウイルスおよび、インドのルーセットオオコウモリから分離された Maloor ウイルスに関し、文献、資料、国際会議等を通じて、これらのウイルスのヒトへの感染性、感染経路、臨床像、自然宿主の解明の有無などについて情報収集を行った。また、SFTSV と近縁なウイルスを区別する検出技術を開発するため、SFTSV に対するモノクローナル抗体を作製し、その性状を解析した。

B. 研究方法

- (1) 文献検索、学会、国際会議等に参加し、SFTSV および、近縁なフレボウイルスであるハートランドウイルス、Bhanja グループウイルス、Maloor ウイルスに関しウイルスの性状と感染リスクに関する情報収集を行った。
- (2) SFTSV の NP および精製 SFTSV をマウスに免疫し、モノクローナル抗体(mAb)を作製した。

ELISA 及び蛍光抗体法で mAb の特異性を解析した。

C. 研究結果

各病原体のリスク解析の結果を表に示す。

1) 日本で確認された SFTS 症例について(後方視的解析)

2012 年の山口県における日本国内初の SFTS 患者確認を受けて、2013年1月30日の厚生労働省健康局結核感染症課長通知で、SFTS 症例定義に合致する患者に関して、地方自治体を通じて全国の医療機関に情報提供の依頼がなされた。国立感染症研究所において、全国から寄せられた検体の遺伝子検査および抗体検査が実施された。2013年3月末日まで、症例定義に合致する疑い患者の内、11人(山口県の SFTS と初めて診断された患者を含む)が SFTS と診断された(16)。内6名が死亡、他5名は後遺症なく回復した。男性が8名、女性が3名で、すべて50歳以上であった。患者が確認された都道府県は長崎県(3名)、広島県(1名)、山口県(1名)、愛媛県(2名)、高知県(1名)、佐賀県(2名)、宮崎県(1名)である。2名は2005年、1名は2006年、1名は2010年、7名は2012年の発症であった。発症前のダニ咬傷が2名で確認された。すべての患者において、発症初期から発熱、頭痛、嘔吐、下痢、食欲不振などの消化器症状が現れた。また、構音障害、方向感覚の失調、せん妄といった意識レベル低下を伴う意識障害が認められた。検査所見では全ての患者で顕著な血小板減少と白血球減少が確認され、AST、ALT、LDHの上昇も見られた。PT、APTT、FDP、fibrinogen、D-dimer といった血液凝固の検査所見についても異常が見られた。なお、骨髄検査が行われた全ての患者で、血球貪食像が認められた。以上の知見は、中

国での報告と非常によく似ていた。国内患者より得られた SFTSV の遺伝子配列は中国の SFTSV とは異なっていた。このことより、最近、ウイルスが中国から日本へ伝播したのではなく、むしろ、以前より土着の SFTSV として日本の自然界に存在していると考えられた。

2) 韓国における SFTS 症例

韓国春川市在住の 63 歳女性。2012 年 8 月 3 日に発熱により病院を受診。発熱の 2 週間前、農作業中に首に昆虫による咬傷があったとの報告。発病 3 日目から下痢症状がみられ、4 日目以降、血小板減少、リンパ球減少、頸部リンパ節の肥大と壊死が記録されている。その後、病状悪化のため、ソウル大学病院に転院した。検査所見では、汎血球減少、肝酵素高値、フィブリノーゲン減少、蛋白尿がみられた。胸部レントゲンで両側肺血管紋理増加を認め、BNP が高値あったことから心不全と診断された。発病 8 日目に言語障害が認められたが、骨髄検査、脳の画像検査では異常が認められなかった。9 日目には腎機能代替療法が施されたが、10 日目に多臓器不全により死亡した。抗ウイルス剤、免疫抑制薬、免疫グロブリン製剤による治療はなされなかった。7ヶ月後、患者の血清からウイルス分離が行われ、SFTSV が検出された。この症例は韓国において後方視的に確認された最初の SFTS 症例である。その後、SFTS 確定診断例が相次いで報告されている。韓国 CDC の報告では 2011-2012 年に韓国で採取されたフタトゲチマダニから SFTSV が検出されている。

3) SFTSV に近縁なフレボウイルスについて

a) 米国で報告されたハートランドウイルス

2009 年ミズーリ州北西部の別々の農場で働く 57 歳と 67 歳の 2 人の男性が発熱、倦怠感、下痢症状を呈し、検査所見で血小板減少、白血球減少がみられた。記憶障害、食欲衰

退がしばらく続いたが、その後ゆっくり回復した。急性期患者血液から SFTSV に近縁なハートランドウイルスが分離された。患者はダニによる咬傷があった。ミズーリ州で最も多く生息するダニはローンスタダニであり、このダニがウイルスを保有している可能性がある。しかし、現在までのところ、このダニからハートランドウイルスは検出されていない。

b) Bhanja グループウイルス

Bhanja ウイルス (BHAV), Palma (PALV), Forecariah (FORV) は 1970 年代以降、インド、アフリカ、ヨーロッパでダニから分離された。血清学的、遺伝学的に近縁なことから、これらのウイルスは Bhanja グループウイルスと呼ばれている。また、1967 年に米国ケンタッキー州でローンスタダニから分離されたローンスタウイルス (LSV) も、遺伝学系統樹上、このグループに属す。これまで、BHAV の自然感染により脳炎症状を呈した 1 例、実験室感染 3 例 (うち熱、頭痛など軽度の症状 2 例、1 例は無症候) が報告されている。最初の実験室感染例が感染した研究者により、詳細に報告されている。この研究者 (CHC) は Ft. Collins 研究所で BHAV の細胞培養、suckling マウスを使った継代、界面活性剤による不活化、CF, HI, 中和試験等を行っていた。マウスへの実験初日から 34 日後、筋肉痛、頭痛、軽度の羞明が現れ、研究所で医師の診察を受けた。発病初日に採取した血清を suckling マウス 14 匹に接種したところ、すべての個体に運動失調、摂食障害等が認められ、2 匹が死亡した。血清から分離されたウイルスは、研究者が実験に用いていた BAHV と血清学的に同一であることが確認された。

c) Malsoor ウイルス

インド西海岸沿いにある西ガーツ山脈(標高平均 1353m)で捕獲されたルーセットオオコウモリの脾臓および肝臓のホモジネートを Vero E6 細胞に接種したところ細胞変性効果(CPE)が観察された。電子顕微鏡により、培養細胞中にブニヤウイルス科に特徴的な粒子が認められた。フレボウイルス属を網羅的に検出する PCR primer によりウイルス遺伝子が増幅された。遺伝子配列解析からこのウイルスは新種のフレボウイルスであることが明らかとなり、Malsoor ウイルスと命名された。分子系統解析によりフレボウイルスのなかでも SFTSV, BHAV および PALV と同じグループに属することが明らかになった。Malsoor ウイルスは Vero E6 細胞以外に BHK-21, Rhabdomyosarcoma (RD), Porcine stable kidney(PS), Vero CCL81 細胞で CPE を起こした。一方、蚊由来 C6/36 およびコウモリ由来 Pipistrellus bat 細胞には感染しなかった。

4) SFTSV に対する mAb の作製

新興ウイルスのリスク評価を確立するためにはウイルスを検出するためのツールを開発し、これをもちいた特異的抗原/抗体検出法により、ウイルスの性状に関し詳細な科学的エビデンスを得る必要がある。本研究では SFTSV の NP および精製 SFTSV をマウスに免疫し、モノクローナル抗体を作製した。ELISA で mAb 9D3 および 2D11 は SFTSV 感染細胞に特異的に反応した(図)。また、蛍光抗体法により mAb 9D3 および 2D11 は他のブニヤウイルス(クリミア・コンゴ出血熱ウイルス, リフトバレー熱ウイルス, ハンタウイルス)には反応せず、SFTSV にのみ特異的に反応した(結果は示さず)。

D. 考察

本研究は、ヒトに重篤な疾患を引き起こす新興感染症である SFTS について、日本および韓国の症例の詳細な情報収集を行った。臨床的な特徴は日本と韓国の症例は類似していた。しかし SFTS は臨床症状のみでは診断が困難である。このため、PCR、ウイルス分離、抗体検査等の実験室診断が不可欠である。ウイルスの感染リスクを明らかにするためにはダニの広範な調査、ヒトの抗体保有調査が必要である。遺伝子学的な解析から、日本における SFTSV は、最近、中国から入ってきたのではなく以前より土着の SFTSV として日本の自然界に存在していると考えられた。韓国の SFTSV は遺伝子配列が一部しか明らかになっていない。このため、今後の韓国における SFTSV の遺伝子配列の集積とその解析が待たれる。

ダニ媒介性の SFTSV に近縁なフレボウイルスは世界中に分布すると考えられる。本研究では、これらのウイルスの性状について情報収集を行った。SFTSV およびハートランドウイルス以外はヒトに重篤な病気を引き起こすとは考えられていない(Malsoor ウイルスについては不明)。Ft. Collins 研究所での BHAV の実験室内感染例は軽症であったが、感染経路が明確ではない。BHAV 動物実験を行う際のリスク評価が慎重に行われなければならない。

本研究で得られた mAb 9D3 および 2D11 は SFTSV に特異的であることから、SFTSV の疫学調査に有用なツールであると考えられる。今後、ダニ媒介性の新種のフレボウイルスによる新興感染症が発生する可能性があることから、自然界におけるフレボウイルスの広範な調査と、これらのウイルスの性状、ヒトへの感染経路、臨床症状等についてさらに情報収集をすすめる。得られた知見をもとに、ダニ媒介性フレボウイルスの侵入に対するバイオセーフティ、バイオセキュリティシ

ステムを整備しておく必要がある。

E. 結論

- 1) 日本および韓国における SFTS 症例の詳細について情報収集を行った。
- 2) SFTSV に近縁なウイルスの性状について情報収集を行った。
- 3) SFTSV に特異的な mAb の作製とその性状を明らかにした。
- 4) ダニ媒介性の新種のフレボウイルスによる新興感染症が発生する可能性があることから、自然界におけるフレボウイルスの広範な調査と、これらのウイルスの性状、ヒトへの感染経路、臨床症状等についてさらに情報収集を進める必要がある。

F. 健康危険情報

日本においても致死率の高い SFTS の流行が確認された。

G. 研究発表

1 論文発表

- 1) Sakai K, Yoshikawa T, Seki F, Fukushi S, Tahara M, Nagata N, Ami Y, Mizutani T, Kurane I, Yamaguchi R, Hasegawa H, Saijo M, Komase K, Morikawa S, Takeda M. Canine distemper virus associated with a lethal outbreak in monkeys can readily adapt to use human receptors. *J Virol* 87(12):7170-7175. 2013
- 2) Takahashi T, Maeda K, Suzuki T, Ishido A, Shigeoka T, Tominaga T, Kamei T, Honda M, Ninomiya D, Sakai T, Senba T, Kaneyuki S, Sakaguchi S, Satoh A, Hosokawa T, Kawabe Y, Kurihara S, Izumikawa K, Kohno S, Azuma T, Suemori K, Yasukawa M, Mizutani T, Omatsu T, Katayama Y, Miyahara M, Ijuin M, Doi K, Okuda

M, Umeki K, Saito T, Fukushima K, Nakajima K, Yoshikawa T, Tani H, Fukushi S, Fukuma A, Ogata M, Shimojima M, Nakajima N, Nagata N, Katano H, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Yamagishi T, Oishi K, Kurane I, Morikawa S, Saijo M. The First Identification and Retrospective Study of Severe Fever With Thrombocytopenia Syndrome in Japan. *J Infect Dis* 209:816-827, 2014

- 3) 下島昌幸, 福士秀悦, 谷英樹, 吉河智城, 森川茂, 西條政幸. 日本における重症熱性血小板減少症候群 ウイルス 63(1) 7-12. 2013
- 4) 福士秀悦, 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群 皮膚病診療 35(9) 822-826. 2013

2. 学会発表

- 1) 吉河智城, 福士秀悦, 谷英樹, 宇田晶彦, 谷口怜, 福間藍子, 前田健, 高橋徹, 森川茂, 下島昌幸, 西條政幸 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の確定診断に使用されるコンベンショナル PCR の評価, 及びリアルタイム定量 PCR 戸の比較 第 61 回日本ウイルス学会 学術集会, 2013 年 11 月 10 日から 12 日, 神戸
- 2) 福間藍子, 福士秀悦, 谷英樹, 吉河智城, 谷口怜, 下島昌幸, 森川茂, 前田健, 西條政幸 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の血清学的診断法の開発 第 61 回日本ウイルス学会 学術集会, 2013 年 11 月 10 日から 12 日, 神戸
- 3) 長谷川秀樹, 亀井敏昭, 高橋徹, 鈴木忠樹, 片野晴隆, 中島典子, 福士秀悦, 下島昌幸, 前田健, 水谷哲也, 森川茂, 西條政幸 日本国内で発生した重症熱性血小板減少症候群の1剖検例 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 2013 年 11 月 10 日から 12 日, 神戸

- 4) 西條政幸, 高橋徹, 前田健, 水谷哲也, 大松勉, 吉河智城, 谷英樹, 福士秀悦, 下島昌幸, 福間藍子, 緒方もも子, 鈴木忠樹, 中島典子, 片野晴隆, 永田典代, 長谷川秀樹, 山岸拓也, 倉根一郎, 森川茂. 後方視的に重症熱性血小板減少症候群と診断された 11 名のウイルス学的・臨床的・疫学的研究 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 2013 年 11 月 10 日から 12 日, 神戸
- 5) 森川茂, 木村昌伸, 福士秀悦, 福間藍子, 加来義浩, 朴ウンシル, 谷英樹, 吉河智城, 井上智, 今岡浩一, 下島昌幸, 西條政幸, 前田健. SFTS ウイルス抗体陽性動物の調査 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 2013 年 11 月 10 日から 12 日, 神戸
- 6) 谷口怜, 福士秀悦, Masangkay Joseoh, 渡辺俊平, 大松勉, 下田宙, 前田健, 福間藍子, 吉河智城, 谷英樹, 下島昌幸, 西條政幸, 明石博臣, 吉川泰弘, 久和茂, 森川茂. フィリピンのコウモリからの重症熱性血小板減少症候群ウイルスに反応する抗体の検出 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 2013 年 11 月 10 日から 12 日, 神戸
- 7) 宇田晶彦, 福士秀悦, 加来義浩, 吉河智城, 下島昌幸, 新倉綾, 井上智, 安藤秀二, 前田健, 西條政幸, 森川茂. マダニからの SFTS ウイルス遺伝子の検出 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 2013 年 11 月 10 日から 12 日, 神戸
- 8) 下島昌幸, 福士秀悦, 谷英樹, 吉河智城, 福間藍子, 谷口怜, 前田健, 高橋徹, 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群ウイルスに対する ribavirin の in vitro 増殖抑制効果 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 2013 年 11 月 10 日から 12 日, 神戸
- 9) 新倉綾, 福士秀悦, 森川茂, 山田靖子. リフト
- バレー熱ウイルス L 蛋白のポリメラーゼ機能における C 末端領域の重要性 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 2013 年 11 月 10 日から 12 日, 神戸
- 10) 福士秀悦, 谷英樹, 吉河智城, 谷口怜, 福間藍子, 緒方もも子, 下島昌幸, 森川茂, 西條政幸. ナイジェリアにおけるリフトバレー熱の血清疫学 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 2013 年 11 月 10 日から 12 日, 神戸
- 11) 谷英樹, 下島昌幸, 福間藍子, 谷口怜, 吉河智城, 福士秀悦, 森川茂, 前田健, 高橋徹, 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群ウイルス GP を外套したシュードタイプ VSV の作製 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 2013 年 11 月 10 日から 12 日, 神戸
- 12) 高橋徹, 前田健, 亀井敏昭, 水谷哲也, 下島昌幸, 福士秀悦, 谷英樹, 吉河智城, 森川茂, 長谷川秀樹, 中島典子, 鈴木忠樹, 永田典代, 片野晴隆, 山岸拓也, 大石和徳, 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の日本における初症例. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 2013 年 11 月 10 日から 12 日, 神戸
- H 知的財産権の出願・登録状況
現在出願予定はない。

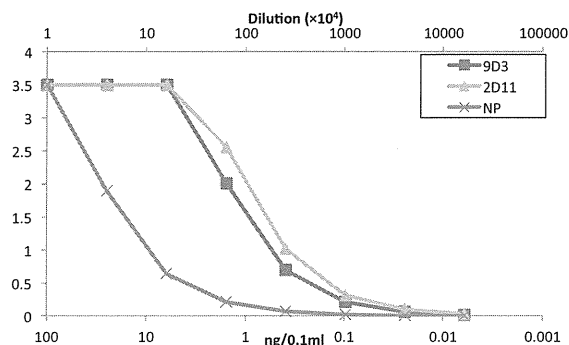
(表) 病原体のリスク解析

| | 病原体名 | 分類(科属等) | ヒトへの感染性 | 宿主 | ヒトへの感染経路 | 分布 | 臨床像 | 致死率 | 有効なワクチンの有無 | 有効な薬剤の有無 | 実験室感染の有無 | 院内感染の有無 | 培養の可否 | 培養可の場合の培養方法 | 病原体の保管方法 | 参考文献 |
|---------|-------------|-----------------|---------|----------------------|-------------------------|----------------|--------------------------------------|------|------------|--------------------|-------------|---------|-------|-----------------------|--------------------|------|
| アルボウイルス | SFTSV | ブニヤウイルス科フレボウイルス | 有り | ダニ | ダニの刺咬、感染した動物、ヒトの体液等との接触 | 中国、韓国、日本 | 熱、血小板減少、全身感染 | 約10% | 無 | in vitroではリバビリンが有効 | 無 | 中国で報告あり | 可 | DH82, Vero E6 など | マイナス80°C (BSL3) | ①-⑨ |
| アルボウイルス | ハートランドウイルス | ブニヤウイルス科フレボウイルス | 有り | ダニ | ダニの可能性大 | 北米 | 熱、血小板減少 | 不明 | 無 | 無 | 無 | 無 | 可 | DH82, Vero E6 | マイナス80°C (BSL3の予定) | ⑩,⑪ |
| アルボウイルス | Bhanjaウイルス | ブニヤウイルス科フレボウイルス | 有り | ダニ | ダニ | インド、ヨーロッパ、アフリカ | 熱、頭痛 (mild) | 不明 | 無 | 無 | 有(マウス感染実験中) | 無 | 可 | DH82, Vero E6 | マイナス80°C (BSL2) | ⑫-⑭ |
| アルボウイルス | ローンスタールウイルス | ブニヤウイルス科フレボウイルス | 不明 | ローンスタールダニ (リスについていた) | 不明 | 北米 | Southern Tick-borne Rash Illnessの可能性 | 不明 | 無 | 無 | 無 | 無 | 可 | HeLa, Vero | マイナス80°C | ⑮ |
| 不明 | Malsoor | ブニヤウイルス科フレボウイルス | 不明 | ルーセツトオオコウモリから分離 | 不明 | インド | 不明 | 不明 | 無 | 無 | 無 | 無 | 可 | Vero, BHK21, RD, PS 等 | マイナス80°C | ⑯ |

(図) mAbを用いたIgG ELISA (抗原：SFTSV感染細胞)

Coating : SFTSV 4A infected Huh7 cells, 1%NP40/PBS sup.

Mock
 ↓ 4°C, overnight
 Wash with PBST (=0.05%Tween20/PBS) ×3
 ↓
 Blocking : MPBST(=5% skim milk/PBST)
 ↓ RT, 2hr
 Wash with PBST×3
 ↓
 1st Ab : mAb 9D3 (100ng/0.1ml ~)
 mAb 2D11 (100ng/0.1ml ~)
 anti-SFTSV rNP rabbit serum (1 : 10,000 ~)
 ↓ RT, 2hr
 Wash with PBST×3
 ↓
 2nd Ab : HRP anti-mouse IgG (H+L) (1 : 1,000)
 ↓ RT, 2hr
 Wash with PBST×4
 ↓
 ABTS
 ↓ RT, 30min
 405nm (ref.490 nm)



病原体リスク解析の参考文献

SFTSV

- ① Discovery of severe Fever with thrombocytopenia syndrome bunyavirus strains originating from intragenic recombination. He CQ, Ding NZ. *J Virol.* 2012 Nov;86(22):12426–30. doi: 10.1128/JVI.01317–12. Epub 2012 Aug 29.
- ② Host cytokine storm is associated with disease severity of severe fever with thrombocytopenia syndrome. Sun Y, Jin C, Zhan F, Wang X, Liang M, Zhang Q, Ding S, Guan X, Huo X, Li C, Qu J, Wang Q, Zhang S, Zhang Y, Wang S, Xu A, Bi Z, Li D. *J Infect Dis.* 2012 Oct 1;206(7):1085–94. doi: 10.1093/infdis/jis452. Epub 2012 Aug 17.
- ③ Clinical progress and risk factors for death in severe fever with thrombocytopenia syndrome patients. Gai ZT, Zhang Y, Liang MF, Jin C, Zhang S, Zhu CB, Li C, Li XY, Zhang QF, Bian PF, Zhang LH, Wang B, Zhou N, Liu JX, Song XG, Xu A, Bi ZQ, Chen SJ, Li DX. *J Infect Dis.* 2012 Oct 1;206(7):1095–102. doi: 10.1093/infdis/jis472. Epub 2012 Jul 30.
- ④ Pathogenesis of emerging severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in C57/BL6 mouse model. Jin C, Liang M, Ning J, Gu W, Jiang H, Wu W, Zhang F, Li C, Zhang Q, Zhu H, Chen T, Han Y, Zhang W, Zhang S, Wang Q, Sun L, Liu Q, Li J, Wang T, Wei Q, Wang S, Deng Y, Qin C, Li D.

- ⑤ Preparation and evaluation of recombinant severe fever with thrombocytopenia syndrome virus nucleocapsid protein for detection of total antibodies in human and animal sera by double-antigen sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. Jiao Y, Zeng X, Guo X, Qi X, Zhang X, Shi Z, Zhou M, Bao C, Zhang W, Xu Y, Wang H. *J Clin Microbiol*. 2012 Feb;50(2):372–7. Epub 2011 Nov 30.
- ⑥ Person-to-person transmission of severe fever with thrombocytopenia syndrome bunyavirus through blood contact. Gai Z, Liang M, Zhang Y, Zhang S, Jin C, Wang SW, Sun L, Zhou N, Zhang Q, Sun Y, Ding SJ, Li C, Gu W, Zhang F, Wang Y, Bian P, Li X, Wang Z, Song X, Wang X, Xu A, Bi Z, Chen S, Li D. *Clin Infect Dis*. 2012 Jan 15;54(2):249–52. Epub 2011 Nov 17.
- ⑦ Fever with thrombocytopenia associated with a novel bunyavirus in China. Yu XJ, Liang MF, Zhang SY, Liu Y, Li JD, Sun YL, Zhang L, Zhang QF, Popov VL, Li C, Qu J, Li Q, Zhang YP, Hai R, Wu W, Wang Q, Zhan FX, Wang XJ, Kan B, Wang SW, Wan KL, Jing HQ, Lu JX, Yin WW, Zhou H, Guan XH, Liu JF, Bi ZQ, Liu GH, Ren J, Wang H, Zhao Z, Song JD, He JR, Wan T, Zhang JS, Fu XP, Sun LN, Dong XP, Feng ZJ, Yang WZ, Hong T, Zhang Y, Walker DH, Wang Y, Li DX. *N Engl J Med*. 2011 Apr 21;364(16):1523–32. Epub 2011 Mar 16.
- ⑧ The First Identification and Retrospective Study of Severe Fever With Thrombocytopenia Syndrome in Japan. Takahashi T, Maeda K, Suzuki T, Ishido A, Shigeoka T, Tominaga T, Kamei T, Honda M, Ninomiya D, Sakai T, Senba T, Kaneyuki S, Sakaguchi S, Satoh A, Hosokawa T, Kawabe Y, Kurihara S, Izumikawa K, Kohno S, Azuma T, Suemori K, Yasukawa M, Mizutani T, Omatsu T, Katayama Y, Miyahara M, Ijuin M, Doi K, Okuda M, Umeki K, Saito T, Fukushima K, Nakajima K, Yoshikawa T, Tani H, Fukushi S, Fukuma A, Ogata M, Shimojima M, Nakajima N, Nagata N, Katano H, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Yamagishi T, Oishi K, Kurane I, Morikawa S, Saijo M. *J Infect Dis*. 2013 Dec 12.
- ⑨ Severe fever with thrombocytopenia syndrome, South Korea, 2012. Kim KH, Yi J, Kim G, Choi SJ, Jun KI, Kim NH, Choe PG, Kim NJ, Lee JK, Oh MD. *Emerg Infect Dis*. 2013 Nov;19(11):1892–4.

ハートランドウイルス

- ① First detection of heartland virus (Bunyaviridae: Phlebovirus) from field collected arthropods. Savage HM, Godsey MS Jr, Lambert A, Panella NA, Burkhalter KL, Harmon JR, Lash RR, Ashley DC, Nicholson WL. *Am J Trop Med Hyg*. 2013 Sep;89(3):445–52. doi: 10.4269/ajtmh.13-0209. Epub 2013 Jul 22.

- ② A new phlebovirus associated with severe febrile illness in Missouri. McMullan LK, Folk SM, Kelly AJ, MacNeil A, Goldsmith CS, Metcalfe MG, Batten BC, Albariño CG, Zaki SR, Rollin PE, Nicholson WL, Nichol ST. *N Engl J Med.* 2012 Aug 30;367(9):834–41. doi: 10.1056/NEJMoa1203378.

Bhanja ウイルス

- ① Characterization of the Bhanja serogroup viruses (Bunyaviridae): a novel species of the genus Phlebovirus and its relationship with other emerging tick-borne phleboviruses. Matsuno K, Weisend C, Travassos da Rosa AP, Anzick SL, Dahlstrom E, Porcella SF, Dorward DW, Yu XJ, Tesh RB, Ebihara H. *J Virol.* 2013 Apr;87(7):3719–28. doi: 10.1128/JVI.02845–12. Epub 2013 Jan 16.
- ② Isolation of Bhanja virus from ticks in Yugoslavia. Vesjenjak-Hirjan J, Calisher CH, Brudnjak Z, Tovornik D, Skrtic N, Lazuick JS. *Am J Trop Med Hyg.* 1977 Sep;26(5 Pt 1):1003–8.
- ③ Human infection with Bhanja virus. Calisher CH, Goodpasture HC. *Am J Trop Med Hyg.* 1975 Nov;24(6 Pt 1):1040–2.

ロースターウイルス

- ① The genome sequence of Lone Star virus, a highly divergent bunyavirus found in the *Amblyomma americanum* tick. Swee A, Russell BJ, Naccache SN, Kabre B, Veeraraghavan N, Pilgard MA, Johnson BJ, Chiu CY. *PLoS One.* 2013 Apr 29;8(4):e62083.

Malsoor ウイルス

- ① Malsoor virus, a novel bat Phlebovirus is closely related to STFS and Heartland viruses. Mourya DT, Yadav PD, Basu A, Shete A, Patil DY, Zawar D, Majumdar TD, Kokate P, Sarkale P, Raut CG, Jadhav SM. *J Virol.* 2014 Jan 3.

分担研究報告書

病原体及び毒素の管理システムおよび評価に関する総括的な研究(H24-新興-一般-013)

身近に潜む病原微生物(特にマダニ媒介性病原体)に関する研究

研究分担者 前田秋彦

京都産業大学 総合生命科学部 動物生命医科学科

研究協力者 染谷梓

京都産業大学総合生命科学部動物生命医科学科

研究要旨:京都市の自然環境中に生息するマダニが保有する病原微生物を分離・同定し、新種であった場合の病原体としてのカテゴライズやその対策を、シュミレーションすることを目的とした。まず、京都市北区の山間部に生息するマダニの季節消長を観察した。次に、マダニからの微生物の分離を試みたところ、濾過性の、抗生物質耐性で、哺乳類動物細胞に CPE を形成する微生物を分離した。この微生物の、ダニ媒介性の各種病原体に対する PCR(RT-PCR)検査は全て陰性であった。今後、分離した微生物の種を同定とともに、ヒトや動物への病原性を確認し、検査法を開発することが重要となる。

A. 研究目的

日本の生活環境および自然環境中には、未知の病原体が存在する可能性がある。その中には、ヒトの感染症や人獣共通感染症を引き起こす可能性のある病原体が存在することも考えられる。これらの病原体については、恐らく、日本の病原体カテゴリーとして未分類であると考えられる。本研究では、環境中に生息している蚊やダニなど節足動物が保有する微生物を分離・同定することを目的とする。その中でも、日本での報告がない微生物で、ヒトへ感染性および病原性を有する可能性のある病原微生物に焦点を絞り、同定後のカテゴライズとその対策の構築をシュミレーションすることを目的とする。

B. 研究方法

本年度は、京都市に生息するマダニ種の季節消長を調査するとともに、培養細胞や寒天培地を用いて病原体分離をおこなった。

1) マダニの捕獲

京都市北区の山間部で調査した(図 1)。2013 年

4 月から 2014 年 2 月に、毎週 1 回、60 分間の旗振り法により、マダニを捕獲した。捕獲したダニは、形態学的に種を同定した。

2) マダニが保有する微生物の分離培養

6 月から 7 月にかけて捕獲したフタトゲチマダニの成虫を、消毒用エタノールに 10 分間浸し、ダニ表面を消毒した。一頭ずつチューブに入れ、PBS(-)を加えホモゲナイザーでダニを破碎し、マダニ抽出液を作製した。次に、マダニ抽出液をサルの腎細胞である Vero E6 細胞に接種し、抗生物質を含まない培養液を用いて、34°C、5% CO₂ の条件で、1 週間培養した。また、抽出液を寒天培地上に塗布し、30°C で培養した。分離された病原体については、各種フラビウイルス種や重症熱性血小板減少症候群ウイルス、日本紅斑熱等に対する PCR あるいは RT-PCR 検査を実施した。

(倫理面からの配慮について)

関係なし

C. 研究結果

1) マダニの季節消長

2013年4月から2014年2月に、毎週1回、マダニを捕獲した。優占種であったチマダニ種 (*Haemophysalis (H.) spp*)の結果を図2に示す。

4月から7月は、若ダニが優勢であった(優先種は、*H. longicornis* (フタゲチマダニ))。成ダニは5月から8月にピークがあり(優先種は *H. longicornis*)、9月半ばから2月まで少数であるが捕獲された。このときの優先種は *H. flava* (キチマダニ)であった。幼ダニは6月半ばから11月半ばまで捕獲された。

2) マダニ抽出液中の微生物分離

7月に捕獲した *H. longicornis* の抽出液を Vero E6 細胞に接種したところ、5日目に細胞変性効果(CPE)が現れた(図3B)。一方、コントロールの Vero E6 細胞にはCPEは認められなかった(図3A)。マダニ抽出液を 0.22 μm のフィルターで濾過し、これを、抗生物質(ストレプトマイシン+ペニシリン、カナマイシン)を添加した培養液中で培養してもCPEが確認された。また、この微生物はハムスター腎細胞である BHK-21 細胞でも、同様な CPE を形成した。PCR あるいは RT-PCR により、これまでに報告されているダニ媒介性病原体の検出を試みたが、全て陰性であった。

寒天培地上にも、少数のコロニーが確認された。

D. 考察

マダニは卵、幼ダニ、若ダニ、成ダニと各ステージを経て成長していく。今回の調査地域である、京都市北区の山間部では、2013年4月の調査開始時点で捕獲されたマダニは、*H. longicornis* の若ダニ種が大多数であった。その後 *H. longicornis* の成ダニが現れ(出現のピークは7月)、産卵後に幼ダニが大多数を占めるようになった(出現のピークは9月)。11月以降、*H. longicornis* の捕獲数は激減し(データは示さず)、*H. flava* が優占種となった。これらの結果から、同一の調査地でも、季節によって捕獲されるマダニ種が異なることが分か

った。春先に優占となる *H. longicornis* の若ダニは、2013年の4月以前に生まれ、幼ダニに成長していたものが次の成長ステージに進んだものと考えられる。しかし、その詳しい経過については不明であり、今後検討する必要がある。

今回、マダニ抽出液から、0.22 μm のフィルターで濾過され、抗生物質耐性で、哺乳類細胞にCPEを形成する微生物を分離できたが、まだ種の同定に至っていない。現在、次世代シーケンスにより、分離微生物の遺伝子配列を解析中である。

マダニ抽出液中に存在し、寒天培地にコロニーを形成した細菌種についても現在解析中である。

今回、分離された微生物が新種であった場合の対策を考えておくことは重要である。種同定後は、病原体として、どのようにカテゴライズするか決定するとともに、ヒトや動物への感染性を確認し、病原体検出(検査)法を開発することが必要となる。

E. 結論

京都市北区の山間部で捕獲したマダニから、濾過性で抗生物質耐性、哺乳類動物細胞にCPEを形成する微生物を分離した。今後は、本微生物を同定し、新種であった場合の対策が必要となる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Makino, Y., Suzuki, T., Hasebe, R., Kimura, T., Maeda, A., Takahashi, H., Sawa, H. Establishment of tracking system for West Nile virus entry and evidence of microtubule involvement in particle transport. *Journal of Virological Methods*, 195: 250-257, 2014
- 2) Maeda, A., Maeda, J. Review of diagnostic plaque reduction neutralization tests for flavivirus infection. *Veterinary Journal*. 195: 33-40, 2013
- 3) 染谷 梓, 池永 充宏, 大西 修, Velado Fernandez, Igor, 西野 佳以, 前田 秋彦. 京都市山科区で駆除されたイノシシに寄生していたマダニ類の解

析. 京都産業大学総合学術研究所報
8:57-62, 2013

2. 学会発表

- 1) Yonejima, M., Nakaya, T., Nihei, N., Tsuda, Y., Koboyashi, M., Watanabe, M. Maeda, A. Effects of land use pattern on spatial distribution of host-seeking mosquitoes within urban areas in Kyoto, Japan. International Geographic Union, Kyoto Regional Conference, Kyoto, (2013. 08)
- 2) 米島万有子, 前田秋彦, 福田美樹, 伊藤亜希, Igor Velado Fernandez, 津田良夫, 渡辺護, 中谷友樹. 第 65 回日本衛生動物学会, 江別, (2013. 8)

- 3) 伊藤亜希, 米島万有子, Igor Velado Fernandez, 福田美樹, 染谷梓, 前田秋彦. 京都市における蚊媒介性フラビウイルス媒介蚊の調査. 第 48 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 熱海, (2013. 5)

H. 知的財産権の出願・登録状況

- 1. 特許取得
なし
- 2. 実用新案登録
なし
- 3. その他
なし

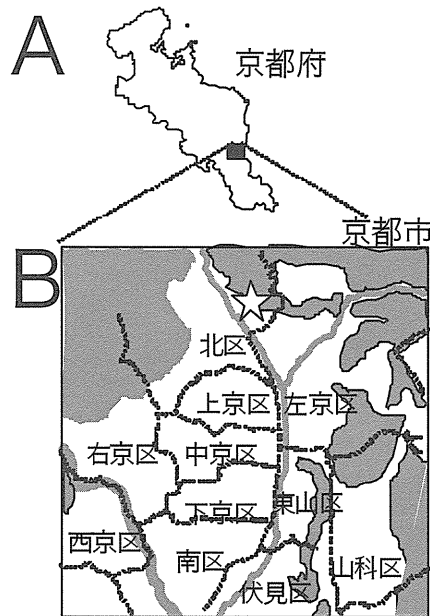


図 1. マダニの調査地. 2013 年 4 月から 2014 年 2 月に実施したマダニ捕獲調査地, 京都府 (A) 京都市 (B) の地図を示す. B の星印が今回の調査地を示している.

病原体及び毒素の管理システムおよび評価に関する総括的な研究

(H24-新興-一般-013)

分担研究項目 ヒトに病原性のある呼吸器感染症起因病原体の解析とリスク分類

研究分担者 西村秀一 国立病院機構仙台医療センター臨床研究部ウイルス疾患研究室長

研究要旨：呼吸器系ウイルス感染症についてのリスク管理に必要な情報を得ることを目的に、情報収集を行い、さらにはそこで不足している情報の取得のための方法論の確立を目的に、独自の実験により、情報収集対象の中での主要な位置を占めるインフルエンザウイルスを対象に、空中浮遊時ならびに環境表面付着時における気温・湿度と活性保持時間の関係を調べ、また特殊装置あるいは特殊化合物の空中への拡散によるウイルス不活化や殺菌作用を謳う市販製品があるが、果たしてそれが実生活環境で効果があるのか、何らかの効果があるとすれば、その効果発揮に必要な条件は何かといった観点で、実際のウイルス不活化/殺菌作用を検証した。

A. 研究目的

呼吸器系ウイルス感染症についてのリスク管理に必要な、具体的情報を含む「病原体等のBSL分類等」の作成を目的とする。

また、そうした呼吸器系の病原体の環境における活性保持あるいは生存と環境条件との関連を研究するシステムの確立も目指した。

験室ならびに関連デバイスをつくり、ある特定の温度・相対湿度条件下でウイルスを含む液滴をネブライザーで飛沫核状態に散布或いは大飛沫中のウイルスの環境表面への付着を想定しガラス等の対象となる板に1 μ l程度の小液滴を滴下し一定に保たれた目的とする温度湿度条件下に目的の時間晒すことが可能となった。

B. 研究方法

1) 情報の収集と整理：文献収集とその内容の分析ならびに、WHO, CDCの発信する情報およびインターネット情報の定期的チェック。

2) インフルエンザウイルスをモデルとした、環境中に排出されたウイルスの活性に対する温度・湿度や特殊物質による不活化の真偽についての独自の検討システムを構築した。

2-1) 温度と相対湿度を自由に変えられる環境試

空中浮遊ウイルスを含む飛沫核は、吸引ポンプで空気を一定量ゼラチンフィルターを通過させることで、同フィルターで捕捉し、フィルターを培養液で溶かすことで回収し、回収されたウイルスの活性 MDCK 細胞を用いたプラーク法で測定した。ガラスのスライド上にごく微量の体積(1 μ l)滴下したのち乾燥させたウイルスについては一定量の培養液で洗い流し、その液中のウイルス活性と遺伝子量で代表され

る絶対的ウイルス量の比を求めた。この実験系により、ある特定の温湿度条件に一定の時間晒されたウイルスの活性低下の程度を知ることが可能となった。なお、以上の系のうちスライドグラス滴下実験は、ウイルスのみならず細菌にも応用可能である。

- 2-2) 上記の実験系を用いて、我々はこれまで、特殊イオン等を標榜する何らかの物質を空中に放出することで、ウイルス不活化や殺菌作用を謳う家電製品について検証し、それらが、感染制御が求められる場はもとより一般生活上そうした効果がないことを明らかにしてきたが、今年度は、二酸化塩素を空間に放出することで空中浮遊あるいは環境表面のウイルスの不活化あるいは殺菌を謳う製品について検証を始めた。

(倫理面からの配慮について)

該当なし

C. 研究結果

- 1) 文献的情報収集により、現在の「国立感染症研究所病原体等安全管理規定」に含まれる「病原体等のBSL分類等」に記載されている呼吸器系ウイルス感染症のリスク分類にある感染症について、ヒトへの感染経路や環境中での活性の持続時間等のリスク管理に必要な情報を得た。
- 2) これまで上記の分類表に記載のなかったパルボウイルス科に属するポカウイルス、ピコルナウイルス科に属するヒトラインウイルス C、エンテロウイルス D に属する 68 型、コロナウイルス HKU1 等の呼吸器系ウイルス感染症を洗い出し、これらについてもリスク管理に必要な情報を収集した。

本研究の開始時あたりに中東地域で新たに

出現したコロナウイルス感染症(MERS)ならびに中国で出現したトリ・インフルエンザ(H7N9)についての種々の情報を収集した。

リスク管理にかかわるウイルスそのものの物理的、ウイルス学的性状についての情報は乏しいものの、現時点における公衆衛生にかかわる疫学情報は、比較的充実している。両者ともリザーバーとなる動物種について決定的なものはないが想定はされている。ただし、必ずしもそれらで説明のつかない症例が多いのも事実である。

ヒト-ヒト感染については、前者では家族内での症例の発生のほか、院内感染例も報告されており、飛沫が媒介する感染の広がりが想定されており、症例が発生した場合の医療現場における注意が求められる。後者におけるヒト-ヒト感染については、家族内の複数例の発生の事例もあることでその可能性がとりざたされることもあるが、ほとんどの症例が個発例であり、現在のところそれが起きている可能性は低い。

In vitro でのウイルス解析や動物実験の成績から、ウイルスには十分なヒト-ヒト感染の必要条件がそろっているようにデータが示されている。だが、我々がまだ知らない大規模なヒト-ヒト感染が起きるための十分条件がある可能性の指摘はなされていない。動物実験によって、ウイルスの遺伝子に特定の変異を起こすことで、飛沫感染による水平伝播がしやすくなることが示唆されている。だが、個体と個体とをつなぐ飛沫とその中のウイルスの存在にどのような違いが生じているのか、あるいは実験個体に症状の差があるのかの等の解析は、なされていない。

重症化の因子としては、双方とも小児というよりは高齢者に偏りがあり、基礎疾患を有する

症例に、死亡を含む重症化が多く認められる傾向が強いものの、未だ確定的見解はない。

H7N7 インフルエンザについては抗ウイルス薬による早期治療が考えられるが、薬剤耐性が生じる可能性が危惧されており、実際に変異を導入したウイルスでの動物実験での薬剤無効性も示されている。

- 3) 空中浮遊粒子としてのインフルエンザウイルスは、A 型ウイルスでは我々の実験系でも Harper らが1960年代初頭に行った古典的実験や Shaffer らによ 1976 年の報告に大筋で同じであった。B 型や C 型ウイルスについても A 型と基本的には同じ傾向を示したが、中湿度における失活の度合いが A 型に比べてやや弱い(抵抗性がある)傾向が認められた。環境表面上のウイルスについても、時間と共にウイルスの失活が認められ、空中浮遊ウイルス同様の湿度と温度に対する傾向が認められた。
- 4) 二酸化塩素を含むゲル基材から生活空間に二酸化塩素を芳香剤のように放出することで生活空間あるいは環境表面のウイルス不活化や殺菌効果を謳う市販製品について、市場最大手の製薬会社 T 薬品の製品 K を対象に、実際の効果を上述の我々の実験系でためてみた。設置してから 2 時間で、米国の労働環境基準上限の許容濃度の 100ppb を超える空間濃度になり、その際のウイルス不活化は、ある程度あったものの桁が違うほどのものではなく、それも湿度に依存しており、70%RH といった高湿度条件下でのみであり冬の室内環境に相当するような乾燥状態 25%RH での効果はほとんどなかった。さらに一般の人が臭気を気にしだすとされる 30ppb の濃度にまで下げた実験では、まったく効果がなかった。一方、黄色ブドウ球菌を用いた実験では、上述の 100ppb 付近の空間濃度であっても殺菌効果は認めら

れなかった。

D. 考察

1. 現在「国立感染症研究所病原体等安全管理規定」に含まれる「病原体等の BSL 分類等」収載されている、あるいは今後収載されるべき呼吸器系ウイルスのさまざまな情報の文献的収集を試みているが、リスク管理上必要と思われる情報が必ずしもそろっているわけではないことが、本事業を遂行している中で、改めて痛感させられた。その問題の解決に安直な道はなく、それらの穴をうめるべく、個々のウイルスについてひとつひとつ地道に実験や疫学的な仕事をしていくほかはない。
2. H7N7 インフルエンザについては、In vitro でのウイルス解析や動物実験の成績から、ウイルスには十分なヒトヒト感染の必要条件がそろっているようにデータが示されて入るものの、現実的にはそれが起きないままに 1 年が過ぎようとしている。我々がまだ知らない大規模なヒト-ヒト感染が起きるための十分条件が未だ満たされていない可能性がある。動物実験でウイルスの特定の遺伝子変異で飛沫感染による水平伝播がおきやすくなることが示唆されているものの、個体と個体とをつなぐ飛沫とその中のウイルスの存在にどのような違いが生じているのか、あるいは実験個体に症状の差があるのかについての解析は、今後必要であろう。また抗ウイルス薬に薬剤耐性が生じる変異を実際に導入したウイルスでの動物実験での薬剤無効性が示されている点も、現時点では仮定の話であり、また実験個体数に限界があったり、実験成績自体にも若干の疑問が残されていることなど、解決すべき課題があることも指摘したい。

E. 結論

1. リスク管理にかかわる病原体の情報については、欠落しているものが多かった。それらについて一つ一つ必要な情報を得ていく地道な努力が必要で、それには長い時間がかかってもやり遂げるという態度が必要である。それが完成するまでの間は、他のウイルスも含めたさまざまな情報を集め、暫定的なものを作り上げ、活用していく方針で間違いないと思われる。
2. 検証した市販のウイルス不活化や殺菌作用を謳う、新規のゲル状二酸化塩素発生製品に宣伝されているような効果は認められなかった。

F. 健康危険情報

H7N9 インフルエンザや MARS については、本報告書を記載している現在、さしあたり目前に迫った大きな脅威は存在しない。だが、そうとはいえ、危機管理という観点からは、油断することなく本邦での発生時の準備を、水面下で粛々と進めておくべきであろう。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takashita E, Ejima M, Miura M, Ohnishi A, Nishimura H, Odagiri T, Tashiro M. A community cluster of influenza A(H1N1)09 virus exhibiting cross-resistance to oseltamivir and peramivir in Japan, November to December 2013. *Euro Surveill.* 19: pii=20666, 2014
- 2) Nguyen, Abe S, Sun G, Matsuoka A, Nishimura H, Ishihara M, Matsui. Rapid screening for influenza using a multivariable logistic regression model to save labor at a clinic in

Iwaki, Fukushima, Japan. *Am J Infect Control*, in press

- 3) Nishimura H, Sakata S, Kaga A. A New methodology for studying dynamics of aerosol particles in sneeze and cough using a digital high-vision, high-speed video system and vector analyses. *PLoS One* 8: e80244, 2013
- 4) Yamaya M, Nishimura H, Nadine LK, Ota C, Kubo H, Nagatomi R. Ambroxol inhibits rhinovirus infection in primary cultures of human tracheal epithelial cells *Arch. Pharm. Res. Arch Pharm Res*, in press
- 5) Yamaya M, Nishimura H, Lusamba Nadine L, Kubo H, Nagatomi R. Tulobuterol inhibits rhinovirus infection in primary cultures of human tracheal epithelial cells. *Physiological Reports* 2013 1: e00041, 2013
- 6) Mizuta K, Abiko C, Aoki Y, Ikeda T, Matsuzaki Y, Hongo S, Itagaki T, Katsushima N, Ohmi A, Nishimura H, Ahiko T. Molecular epidemiology of Coxsackievirus A16 strains isolated from children in Yamagata, Japan between 1988 and 2011. *Microbiol Immunol* 57: 400-405, 2013
- 7) 山口育男, 青山知枝, 山本優, 木下恵子, 伊藤由美, 西村秀一: イムノクロマト法インフルエンザウイルス抗原検出キット BD ベリターシステム Flu における機器判定の感度とその目視判定に対する優越性の検討. *日本臨床微生物学雑誌* 23:39-44, 2013

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

特記事項なし

厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

分担研究報告書

病原体及び毒素の管理システムおよび評価に関する総括的な研究(H24-新興-一般-013)

ヒトに病原性のあるズーノーシス起因病原体の解析とリスク分類の研究

研究分担者 奥谷晶子 国立感染症研究所獣医科学部・主任研究官

研究協力者 井上智 国立感染症研究所獣医科学部・室長

研究要旨:細菌性の動物由来感染症(Zoonoses:ズーノーシス)の中でも新興・再興感染症としてヒトに重篤な症状を引き起こす可能性のある疾病の海外および国内での発生状況を継続的に調査することで発生リスクに応じた備えを可能とするための調査を昨年度に引き続いて行った。その結果、発生報告のある細菌性動物由来感染症の数は増加しており、感染源や感染経路の多様化が明らかとなった。また、薬剤耐性菌の発生は家畜衛生においても大きな懸案事項となっており、公衆衛生と合わせた包括的な発生予防対策を講じる必要があることが示唆された。

A. 研究目的

昨年度に引き続き、海外や国内で発生している細菌性の動物由来感染症の中で、現在あるいは将来においてヒトへの感染・発症リスクが高くなると予想される疾病の発生状況を継続的に調査し、万一の発生に対応するための情報収集システムの構築に必要な基礎データを上積みすることを目的として調査および集計を行った。

ヒトとの接触が近い伴侶動物や家畜から感染しうる細菌性ズーノーシスに焦点を当て、国内および世界においてどのような疾病が、どの程度発生しているか、どのような動物種が関与しているかなどの情報を収集した。本研究の発生動向調査は、PubMedによる文献検索および ProMed, OIE の発生報告を精査し、発生報告のある疾患

についてのリスク分類を行った。

B. 研究方法

1) PubMed を用いた文献ベースでの探索。

細菌性ズーノーシスの発生報告を収集するための文献検索は以下のキーワードを組み合わせて調査集計した。ただし、最近の発生について調査するため、2012年10月から2013年10月までの文献に限定した。

「zoonoses」「bacterial」「human」「patient」「animal」をキーワードとして、抽出された文献を病原体毎に分類した。ヒトへのリスクが高いと思われる疾病を抽出してリスク分類を行った(表1)。

2) ProMed や OIE からの報告による発生動向調

査。
OIE の監視伝染病リストに掲載されている炭疽、ブルセラ症、鼻疽、類鼻疽について、2013 年 4 月 1 日から 2013 年 10 月 31 日までの OIE の発生報告書および ProMed による発生動向(発生国、発生動物など)を調査しリスク分類を行った。

C. 研究結果

1). PubMed による文献検索による最近 2 カ年の発生疾病で、ヒトへのリスク分類が必要な疾患の解析を行い、表 1 及び表 2 のような結果が得られた。ヒトに近いペット(伴侶動物)や家畜で複数の疾病の発生がみられた。また、薬剤耐性菌の発生も家畜領域で複数報告があった。さらに、食品由来の疾病の報告も以前より増えており、様々な領域において細菌性ズーノーシスの発生動向を注視する必要があると思われた。特にリスク分類が必要と思われた病原体としてクロストリディウム・ディフィシル(嫌気性菌、環境および家畜からの感染報告有り)、大腸菌 O157(家畜由来)、ESBL (ESBL: 基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ) 産生大腸菌(鶏由来)、リステリア・モノサイトジェネス(食肉由来)、マイコバクテリウム・ポピス(家畜由来)、ストレプトコッカス・スイス(ペット、家畜由来)について検証した(表 2)。

2). ヒトに病原性のある細菌性ズーノーシスの 2013 年 4 月 1 日～10 月 31 日までの「炭疽、ブルセラ症、野兔病、鼻疽、類鼻疽」の発生動向を ProMed メールアラートによる発生報告を集計した。概要は下記の通りであった。なお、調査期間中での上記疾病の日本での発生はなかった。

なお、昨年同様に ProMed によるアラート数は、ProMED Р у с с к и й, ProMED Anglophone Africa, ProMED Español, ProMED Français, ProMED Mail, ProMED MBDS からの報告集計を合計したものである。

炭疽 anthrax

110 件(のべ 32 ヶ国: 昨年度報告より 60 件, 4 カ国減)

アゼルバイジャン, アメリカ, アルゼンチン, アルメニア, イギリス, イスラエル, イタリア, インド, インドネシア, ウクライナ, ガーナ, カナダ, キルギスタン, ケニア, ジョージア, セルビア, タジキスタン, タンザニ, デンマーク, ドイツ, ナミビア, ノルウェー, ハンガリー, バングラディシュ, フランス, ブルガリア, ベニン, ペルー, モルドバ, モロッコ, ルーマニア, ロシア

ブルセラ症 brucellosis

16 件(のべ 11 ヶ国: 昨年度報告より 18 件, 2 カ国減)

アメリカ, オランダ, カザフスタン, クロアチア, シリア, パナマ, フィジー, ベネズエラ, ホンジュラス, メキシコ, ロシア

野兔病 tularemia

5 件(1 ヶ国: 昨年度報告より 5 件, 3 カ国減)

ロシア

鼻疽 glanders

5 件(1 ヶ国: 昨年度報告より 4 件増)

ブラジル

類鼻疽 mellioidosis

3 件(3 ヶ国: 昨年度報告より 3 件減)

バングラディシュ, ベルギー, マダガスカル

D. 考察

1). 今回文献報告から抽出された病原体について感染源および感染経路の多様化が進んでいることが示唆された。いくつかの特徴的な点が上げられたので下記に列記する。

● 感染源の多様化:

- 家畜由来. ブルセラ属菌, クロストリジウム属菌, 大腸菌 O157, ストレプトコッカス・スイス
- ペット由来. バルトネラ(猫ひっかき病), ストレプトコッカス・カニス
- 食鳥由来. キャンピロバクター・ジェジュニ
- 食肉および環境. リステリア・モノサイトジェネス, サルモネラ, レジオネラなど
- 薬剤耐性菌の出現(特に食鳥肉において):

例: MRSA, 薬剤耐性腸内細菌科, ESBL 産生大腸菌など

● 従来の疾病の重篤化:

例: 牛結核(マイコバクテリウム・ボビス)のヒトへの感染。

家畜由来の感染症に比べると, ペット由来の感染症の啓発活動はこれまであまり重要視されていない分野であるので患者となり得る飼い主のみならず, 治療を行う医師に対しても具体的な症例と共に知識を普及させる活動を行って行く必要があると思われる。

食中毒を含む食品由来の感染症に対する対策は, 従来発生の多くなる初夏から夏にかけて重点的に行われているが, 通年発生するキャンピロバクター属菌によるものや, 冷蔵保存中も菌の増殖がみられるリステリア・モノサイトジェネスによるものの予防対策も行う必要があろう。

薬剤耐性菌は家畜衛生および公衆衛生サイドの両方から実態と浸潤状況についての調査が必要であると思われる。また家畜の飼育環境周

辺への曝露状況の実態も調査が必要である。環境, 家畜およびヒトを含む包括的な耐性菌対策を行う仕組みを構築する必要があるのではないかとと思われる。

2). 昨年からの「炭疽, ブルセラ症, 野兔病, 鼻疽, 類鼻疽」の発生報告数は全疾患で発生件数および発生国の減少がみられた。家畜衛生の向上といった要因の他に, 報告されないものが多数含まれていることが考えられる。自発的な報告が求められる ProMed 報告システムであるため, Underestimate cases の可能性を常に勘案しておく必要があると思われる。

今後も引き続き, 新興・再興および従来の疾病の重篤化について多様な感染源からの報告を注視していく必要がある。

E. 結論

従来型の細菌性動物由来感染症のみならず, これまであまり対策がとられてこなかった疾患の発生報告が目立つようになってきている。発生数は少ないもののヒトに重篤な症状を示すものも少なからず含まれており, これらの疾患に関する情報を効果的に啓発して行く必要があると思われる。そのためにも発生動向調査を継続していくことは非常に重要である。

また, 現状では, 新興・再興感染症の発生情報を収集する手段として, 1) ProMed によるメールアラートおよび 2) PubMed による文献検索以外には国際的かつ網羅的な検索・調査手段がないため, 情報収集源の開拓と情報利用網の構築が課題である。

F. 健康危険情報