

# アルボウイルスの生態について

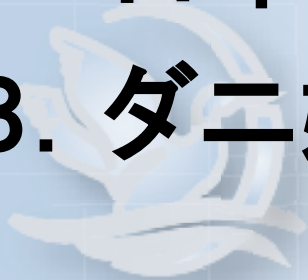


天使大学看護栄養学部

高島 郁夫

# 本日の講義の内容

1. アルボウイルスとは
2. 日本脳炎ウイルスの生態
3. ダニ媒介性脳炎ウイルスの生態



# 1. アルボウイルスとは



# アルボウイルス感染症：

多くの重篤な人獣共通感染症を含む

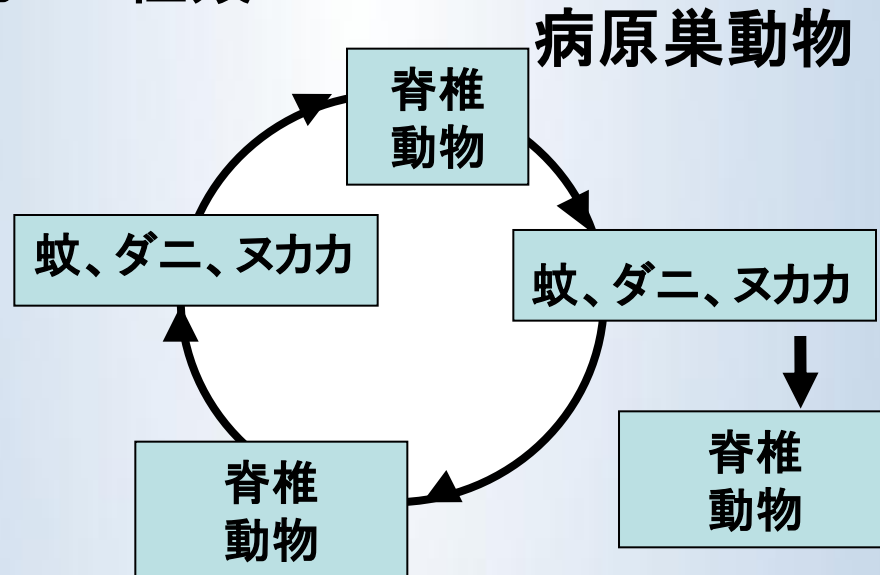
アルボウイルス；Arthropod-borne virus(Arbovirus)

節足動物媒介性ウイルス

- ・蚊やマダニなどの吸血性節足動物体内で増殖し、それらの吸血によって脊椎動物に伝播されるウイルス
- ・人に感染するのは約100種類



吸血性  
節足動物



アルボウイルスの感染環

終末宿主：  
発症、脳炎、  
出血熱

# アルボウイルス感染症

フラビウイルス

黄熱

日本脳炎

ダニ媒介性脳炎

ウエストナイル熱

ブニヤウイルス

クリミアコンゴ出血熱

リフトバレー熱

ラクロス脳炎

# アルボウイルス感染症の研究の必要性

- 自然界に感染環を形成する感染症
- 感染力が強く、重症化し、治療法がないものもある  
一例：日本脳炎、ウエストナイル熱
- **新興・再興感染症\***として出現する場合がある  
病原巣動物や媒介節足棒物が不明のものが多い  
これらの解明のための生態学的研究が重要

\* 新興・再興感染症とはこれまで知られていなかった感染症

## 2. 日本脳炎ウイルスの生態



# 日本脳炎, Japanese encephalitis

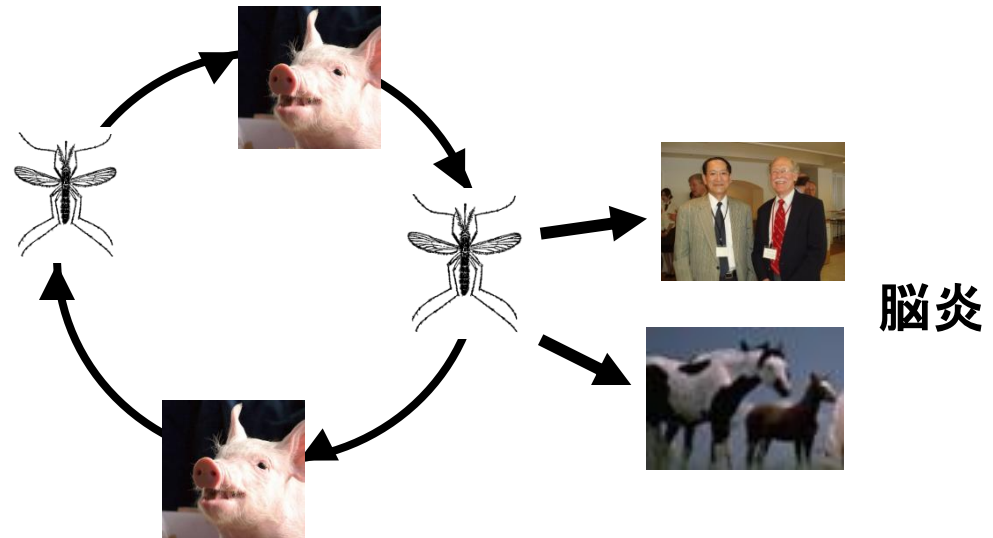
病原体; フラビウイルス属、蚊媒介性ウイルス群

疫学; アジア諸国で流行

コガタアカイエカが主要媒介蚊、豚が増幅動物、  
人と馬が脳炎

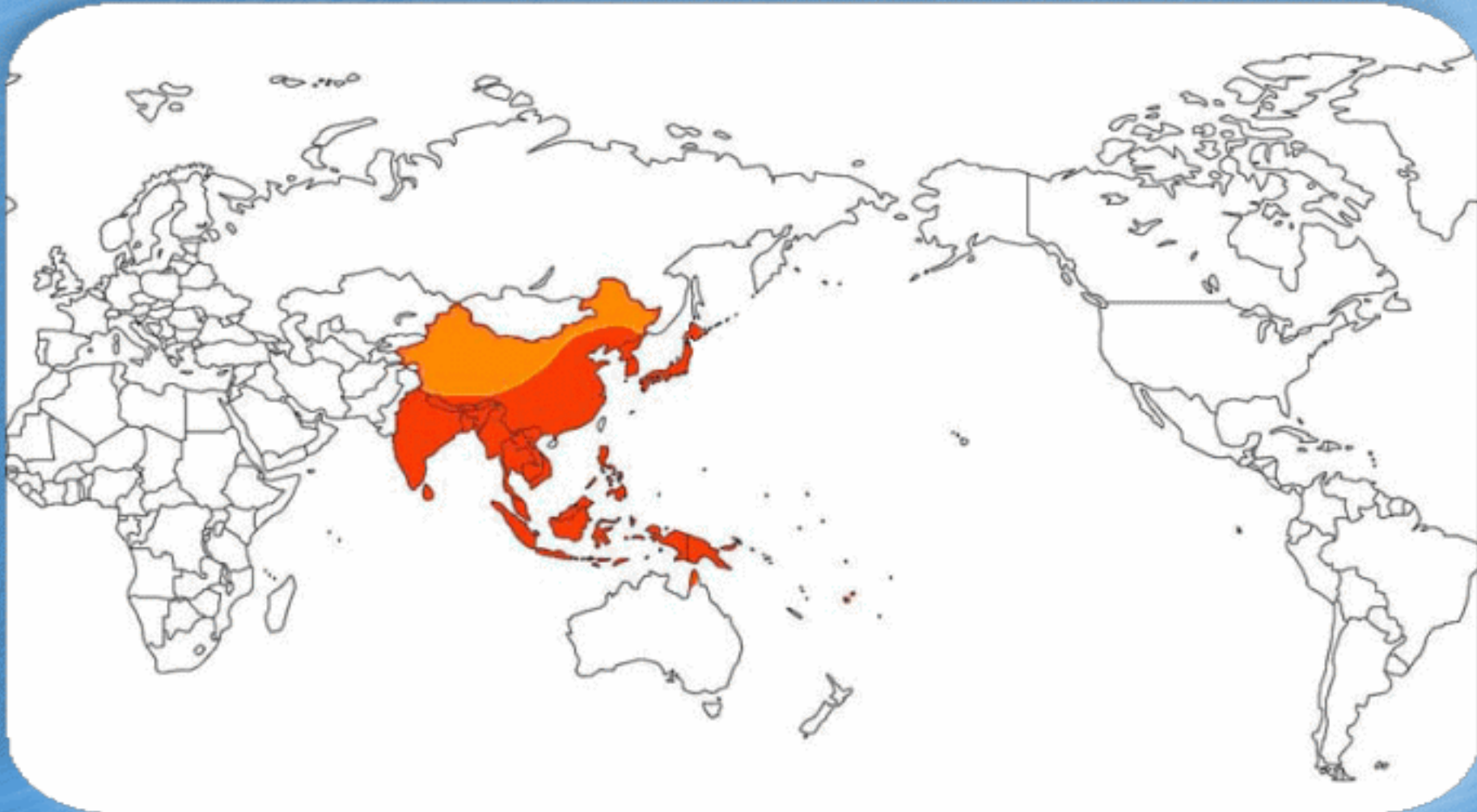
近年日本での患者は毎年10名以下

## 日本脳炎ウイルスの感染環



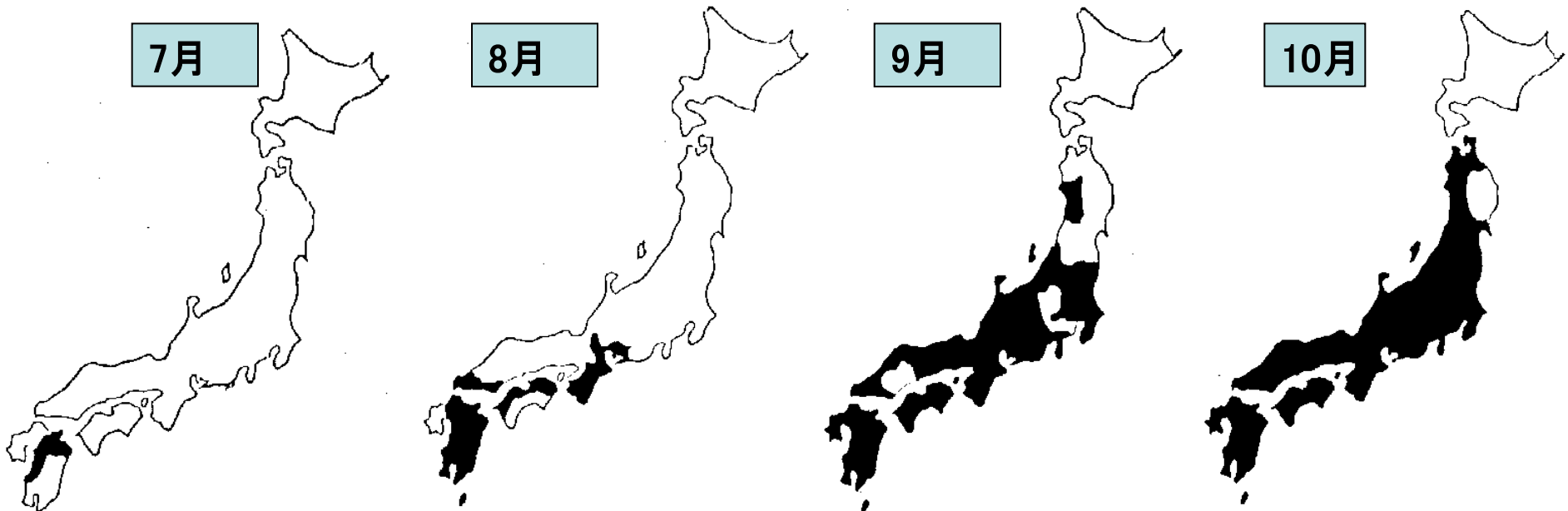


# 日本脳炎ウイルスの流行地域



# 日本脳炎ウイルスの東北進現象

## 6ヶ月齢豚血清の抗体陽性県(50%以上)



ウイルスは毎年7月に活動を開始し10月に終息する。  
蚊が活動しない冬季間ウイルスはどこに潜んでいるのか？

# 日本脳炎ウイルス生態の未解決の問題点

高緯度温帯地域におけるウイルス越冬の機序  
(蚊の活動しない冬の間 of ウイルスの存続様式)

## a. 土着説

脊椎動物体内: ブタ、鳥類

蚊体内: 経卵巣伝達、成虫

## b. 外来説

蚊の飛来

鳥類の飛来

# 北海道の豚における日本脳炎ウイルスの流行 1984-1986年

北海道家畜保健衛生所  
渡辺卓俊先生、田口雅持先生

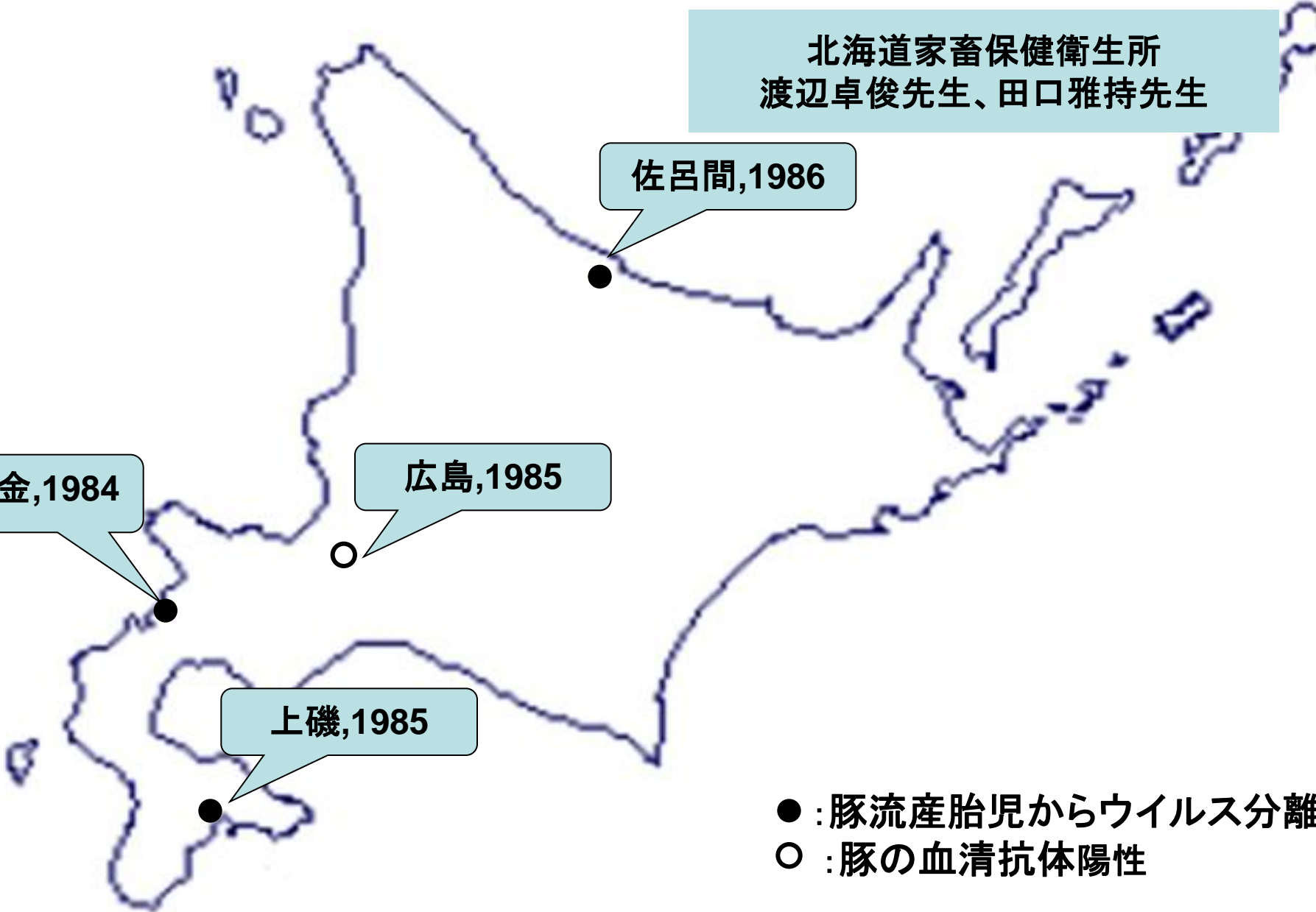
佐呂間,1986

広島,1985

今金,1984

上磯,1985

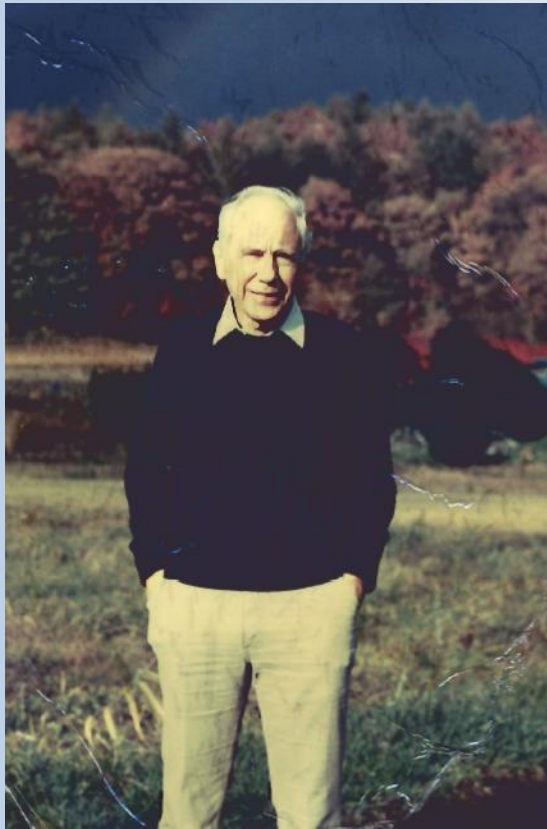
- : 豚流産胎児からウイルス分離
- : 豚の血清抗体陽性



**Dr. L. Rosen : ハワイ大学教授(当時)**

**恩師、共同研究者**

**日本脳炎ウイルスの蚊における経卵巣伝達が  
ウイルス越冬機序である可能性**



**励ましの言葉: 私の座右の銘**

**1. Be unique.**

**: ユニークであれ**

**2. Learn from nature.**

**: 自然から学べ**

**3. Don't wear fashionable clothes.**

**: 流行に流されるな**

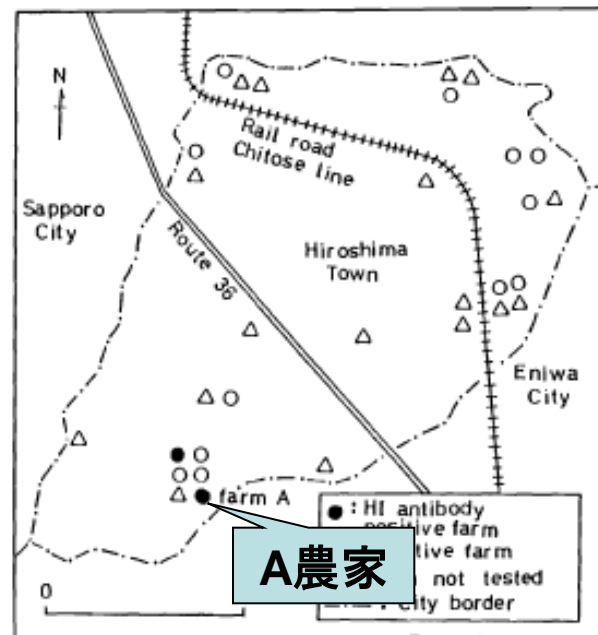
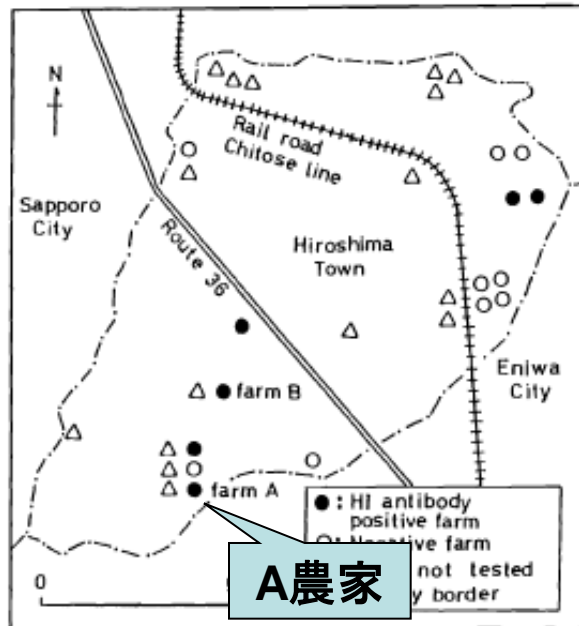
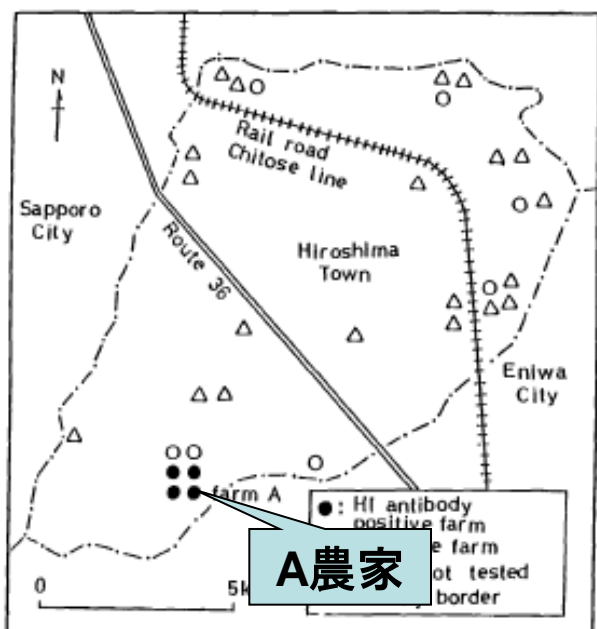
**1985年、広島町**

# 豚の日本脳炎ウイルス抗体陽性農場の分布 広島町、1984～1986年

1984年

1985年

1986年



- : 豚の抗体陽性養豚農場
- : 豚の抗体陰性養豚農場
- △ : 抗体を検査しなかった養豚農場

A農場で3年連続で抗体陽性  
: ウイルスの定着、国内で土着



# ヤマトヤブカ (*Aedes japonicus*)における 日本脳炎ウイルスの経卵巣伝達：実験感染

・なぜヤマトヤブカ？

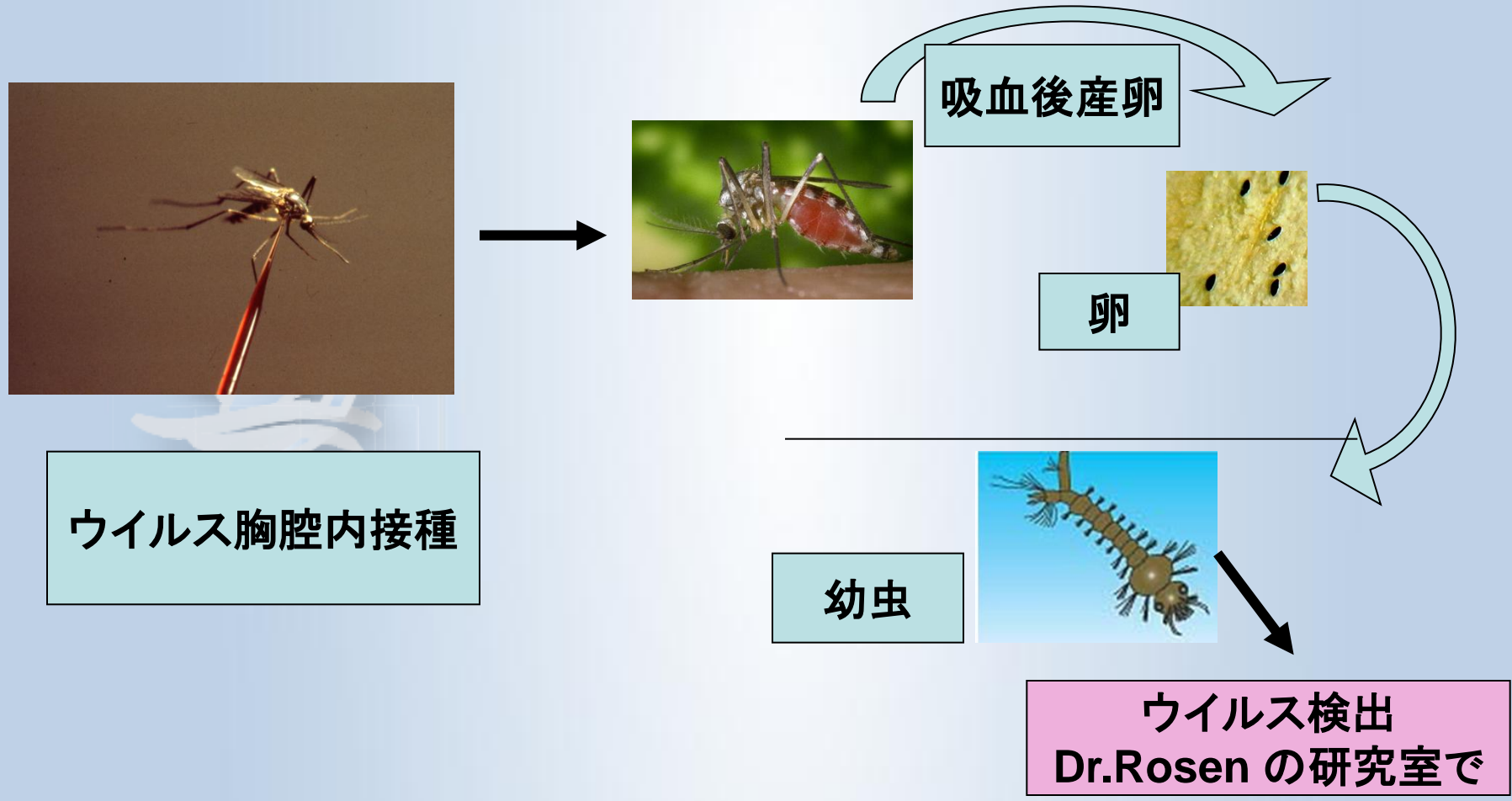
北海道に優勢に生息

卵でのウイルス越冬の可能性



国立感染研、昆虫医科学部

# 日本脳炎ウイルスのヤマトヤブカにおける 経卵巣伝達の実験

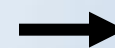




# ヤマトヤブカにおける 日本脳炎ウイルスの経卵巣伝達

Virus strain	Exp. No.	Oviposition days after infection	No. of larvae tested	Pool No.	Positive pool/total	Minimum infect. rate
JANAR-5681	1	0	75	2	0/75	<1.3%
	2	4	533	13	0/533	<0.2%
	3	7	297	5	2/297	0.7%
		19	150	3	1/150	0.7%
Japan	4	9	320	7	2/320	0.6%
	5	15	140	3	1/140	0.7%
			1515	38	6/1515	0.4%

ヤマトヤブカにおいて日本脳炎ウイルスの経卵巣伝達が実験的に証明された。



ウイルスの越冬：  
野外における  
実証が必要

### 3. ダニ媒介性脳炎ウイルスの生態



# ダニ媒介性脳炎

原因:フラビウイルス属、ダニ媒介性脳炎ウイルス  
重篤で致死率の高い脳炎

- ・ロシア春夏脳炎シベリア

極東ロシア地域に分布 致死率30%

- ・中央ヨーロッパ型ダニ媒介性脳炎

ヨーロッパに分布 致死率2%

毎年6,000~10,000名の患者発生

日本における存在は未報告であった。

# ユーラシアにおけるダニ媒介性脳炎の流行地域



subtype 1: CEE  
中央ヨーロッパ型

両型

subtypes 2: RSSE  
ロシア春夏脳炎型  
(極東型)

**北海道における**

**ダニ媒介性脳炎の疫学調査**

**—ウイルス分離の舞台裏—**



# 北海道におけるダニ媒介性脳炎 患者発生地、上磯町、1993年





## 脳炎患者の略歴

患者:37歳(当時)、女性 酪農経営者の主婦、  
海外渡航歴なし

## 脳炎患者の病歴

1993年10月 39度台の発熱、吐気、頭痛、複視などの  
脳炎症状、痙攣発作、挿管し機械的人口呼吸  
11月 運動麻痺など後遺症を残し回復、  
2010年現在 車椅子の生活

# 抗体検査成績

	抗日本脳炎抗体価		抗フラビ中和抗体価	
	IgG- ELISA	IgM- ELISA	日本 脳炎	ダニ媒介 性脳炎
血清(6病日) 急性期	1600	<100	10	640
血清(43病日) 回復期	16000	<100	20	2560



五十嵐章教授  
(当時)  
長崎大熱研



# 疫学調査の開始, 1994年



患者発生地区



聞き取り調査: 橋本先生

# おとりの犬と上田氏、1995年



隣りの農家の上田氏と犬



上田氏の協力により採血

# おとりの犬を用いた抗体検査とウイルス分離 —1995年—

犬 No.	中和 抗体価				
	4月 22日	5月 4日	13日	20日	27日
1	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20
2	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20
3	< 20	<20	< 20	< 20	< 20
4	< 20	160	80	40	80
5	< 20	< 20★	640	320	160
6	< 20	80	80	80	80
7	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20
8	< 20	< 20	< 20	< 20★	160
9	< 20	< 20	< 20	< 20★	160
10	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20

★; 血液からマウス脳内接種を用いウイルス分離

# ヤマトマダニ (*Ixodes ovatus*)からのウイルス分離

## 1996年4~5月

### —媒介マダニの特定—

齡	性	検査 ダニ数	プールの ダニ数	ウイルス陽性 プール数	陽性率 (%)
成虫	メス	300	20	2	2/300 (0.67%)
成虫	オス	300	20	0	ND
	総数	600	20	0	2/600 (0.33%)

ND, no data

ヤマトマダニ(*Ixodes ovatus*)成虫  
左:オス、右:メス、目盛:1mm  
伊東拓也氏(道衛研)撮影



# 野ネズミにおける抗体調査とウイルス分離 —病原巣動物の特定—

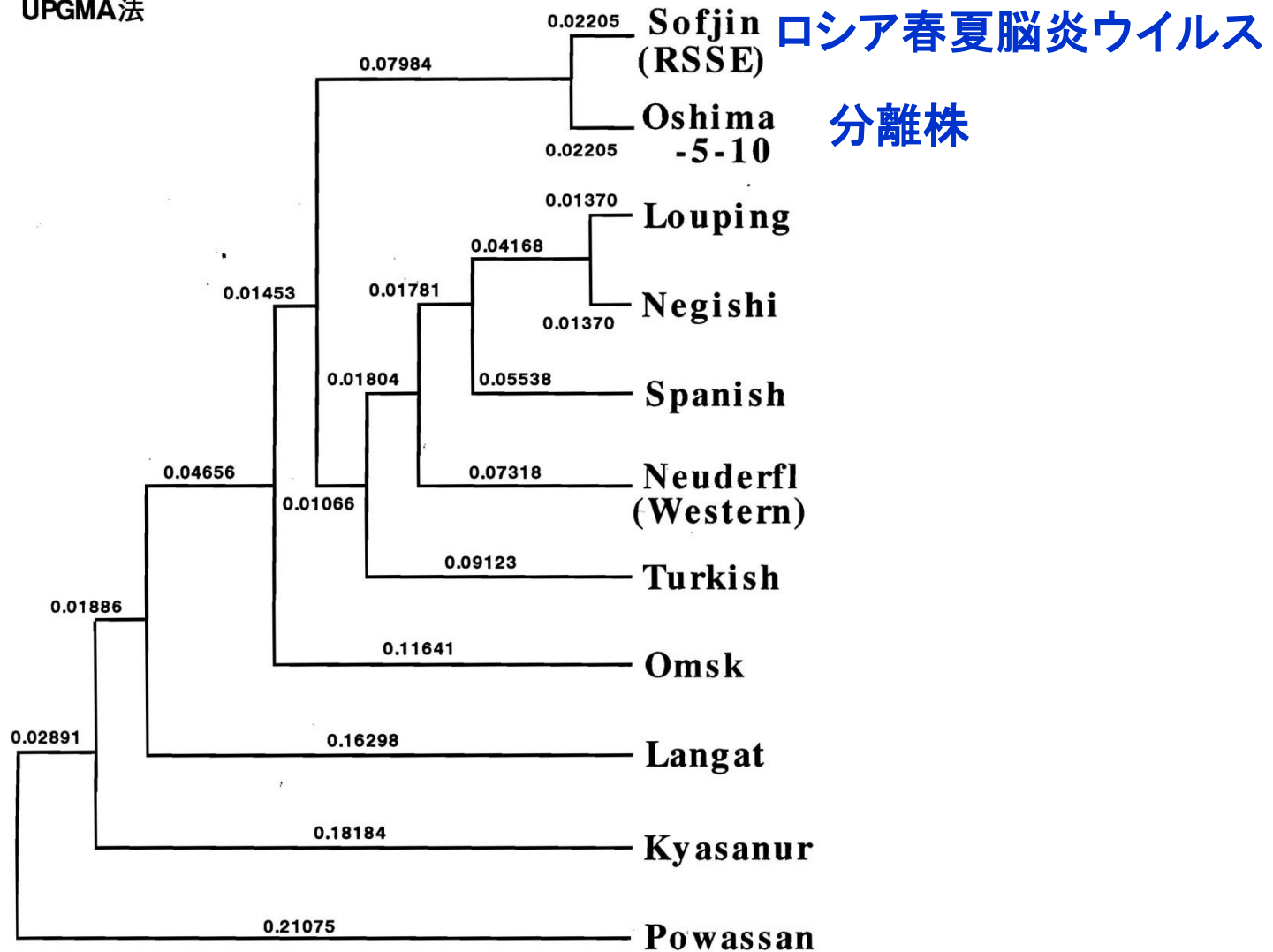
ネズミの種	抗体陽性個体数 / 総数	
	1995	1996
<i>Apodemus speciosus</i> (アカネズミ)	2/11 *	2/13
<i>Clethrionomys rufocanus</i> (エゾヤチネズミ)	3/16	11/79 *
<i>Apodemus argenteus</i>	1/11	0/26
<i>Rattus norvegicus</i>	1/4	1/1

\* 各一匹の脾臓からウイルス分離

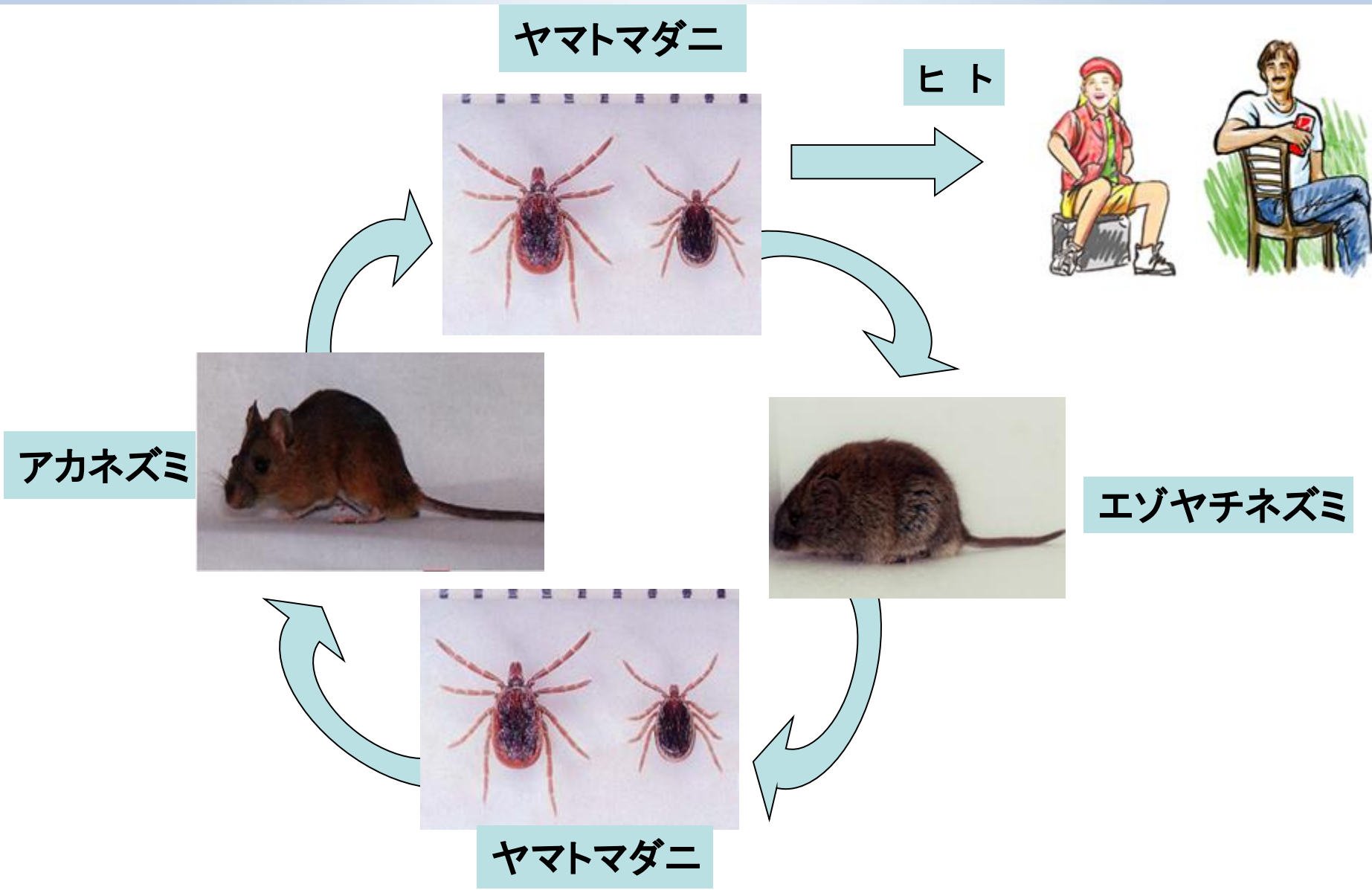


# ダニ媒介性脳炎ウイルスOshima株の系統樹解析

UPGMA法



# 北海道におけるダニ媒介性脳炎ウイルスの感染環





# まとめ

- 北海道でダニ媒介性脳炎の患者が発見された。
- ダニ媒介性脳炎(TBE)ウイルスが北海道の道南に定着している。
- TBEウイルスはヤマトマダニと野ネズミの間に感染環を形成している。

# 日本各地における汚染状況調査

野ネズミを対象とした血清疫学調査を実施し、  
日本各地におけるTBEウイルスの分布状況  
を明らかにする。

学部学生：持舘 景太

助教：好井健太郎

# 疫学調査実施地域と捕獲野ネズミ

野鼠種	北海道	青森	富山	岐阜	愛知	島根	徳島	対馬	計
アカネズミ	45	14	283	4		58	6	28	438
ヒメネズミ	52		11				7	12	82
アカネズミ類							2		2
エゾヤチネズミ	127								127
スミスネズミ			15				8		23
カヤネズミ								1	1
ニホンハタネズミ			29						29
ハツカネズミ								4	4
ドブネズミ			40						40
クマネズミ					92				92
トガリネズミ属							5		5
種不明			3	85					88
計	224	14	381	89	92	58	28	45	931

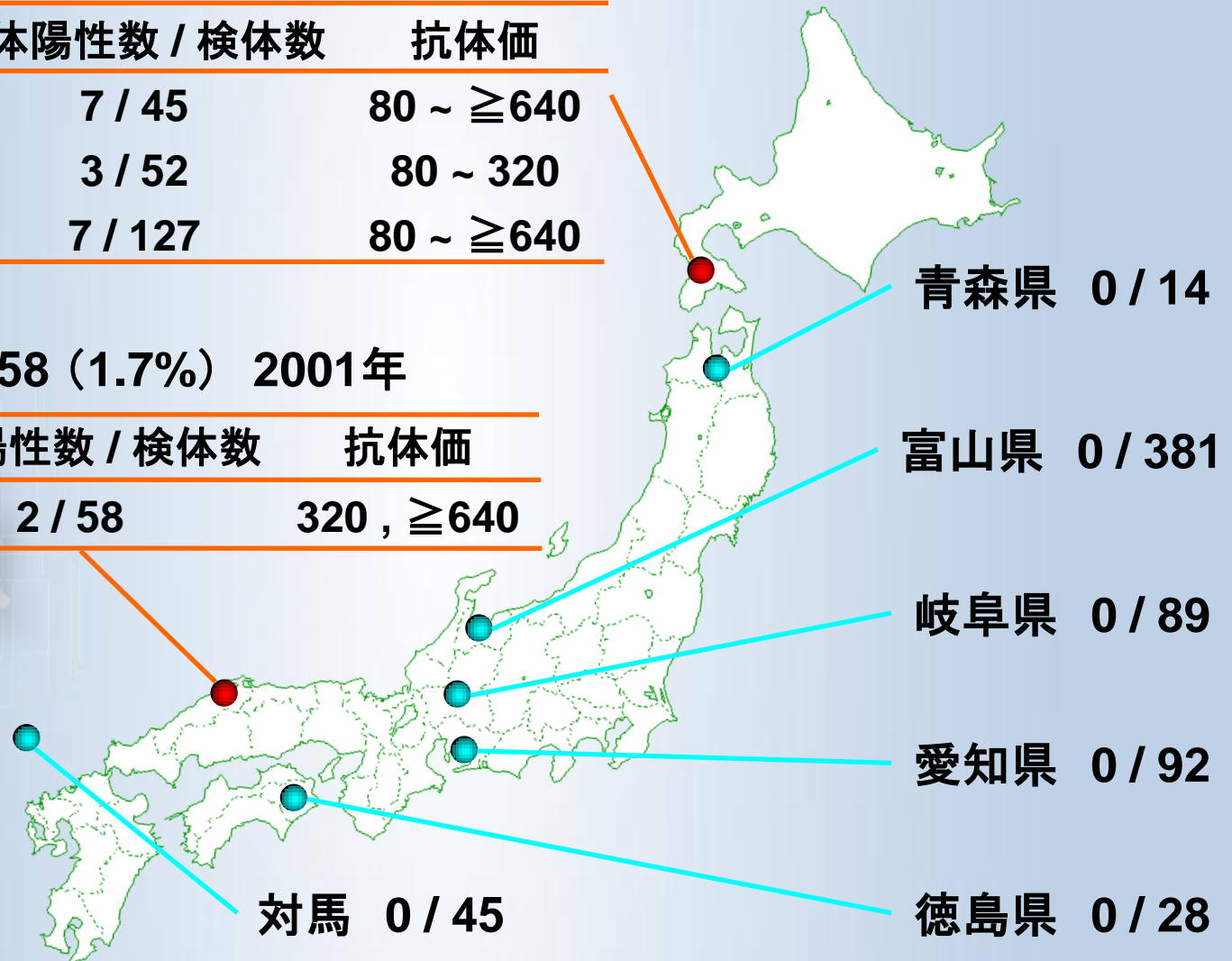
# 日本各地の野ネズミにおける抗体調査成績

北海道 17 / 224 (7.6%) 2001年、2008年

野ネズミ種	抗体陽性数 / 検体数	抗体価
アカネズミ	7 / 45	80 ~ $\geq 640$
ヒメネズミ	3 / 52	80 ~ 320
エゾヤチネズミ	7 / 127	80 ~ $\geq 640$

島根県 2 / 58 (1.7%) 2001年

野ネズミ種	抗体陽性数 / 検体数	抗体価
アカネズミ	2 / 58	320 , $\geq 640$



・道南地域、島根県においてTBEウイルスの流行巢の存在が示唆された。

# 2008年（15年後）の 上磯町での調査

上磯町の野ネズミからウイルスを分離し、  
同地域で現在もウイルスが流行しているか調べる。



# ウイルス分離に用いた野ネズミ検体と分離方法

## 野ネズミ検体(2008年捕獲)



上磯

野ネズミ種	上磯
アカネズミ	3*(13匹)**
ヒメネズミ	3 (11匹)
エゾチネズミ	3 (10匹)
	9 (34匹)

\* プール数 \*\* 個体数

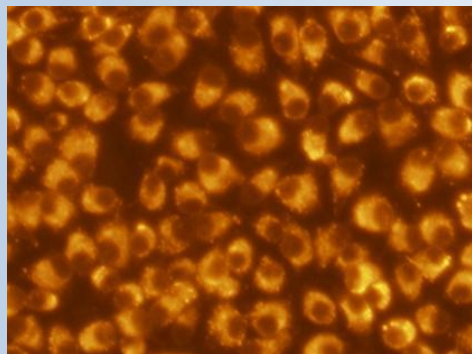
## 分離方法



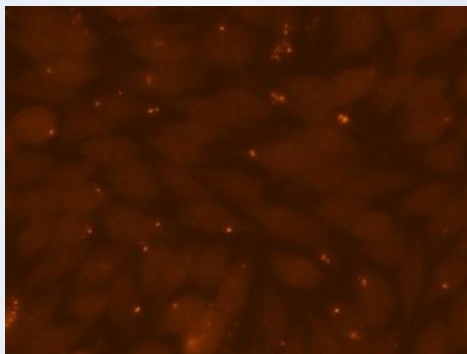
# 道南地域の野ネズミからのTBEウイルスの分離

IFA

AS2w接種細胞

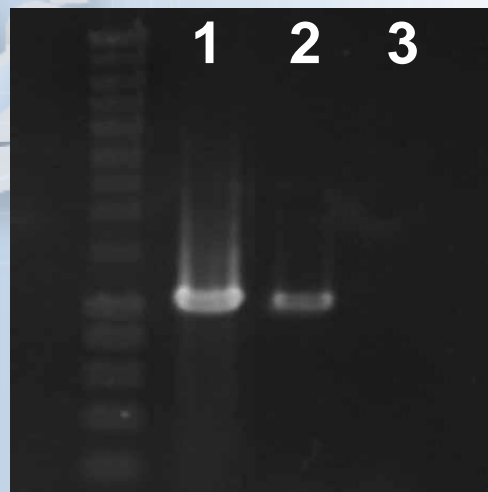


正常BHK細胞



\* TBEウイルス抗原に  
交差反応する抗体を  
使用した

RT-PCR



1:AS2w接種細胞

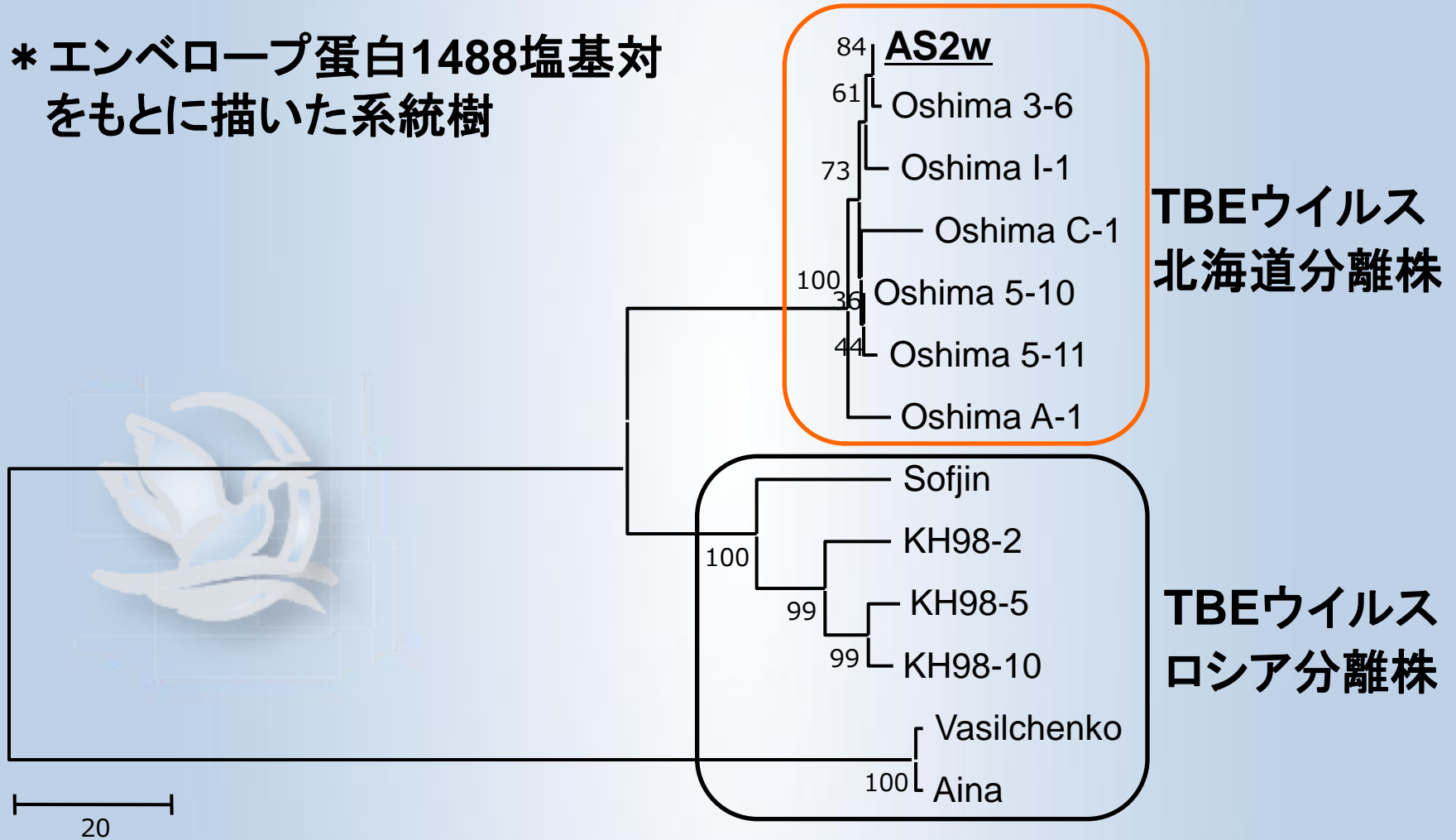
2:PC(TBEウイルス感染細胞)

3:NC(正常BHK細胞)

・上磯で捕獲されたアカネズミよりTBEウイルスの分離に成功した。

# 分離株の系統樹解析

\* エンベロープ蛋白1488塩基対  
をもとに描いた系統樹



・AS2wは北海道分離株であるOshima株と非常に近縁であった。



# まとめ

- 血清疫学調査により、日本では北海道以外で初めて島根県においてTBEウイルスの流行巢の存在が示唆された。
- 北海道道南地域の上磯で捕獲されたアカネズミから、Oshima株に非常に近縁なウイルスが分離された。
- 北海道では10年以上に渡ってTBEウイルスの流行巢が維持されていることが確認された。
- 流行地域の住民のワクチン接種などの対策が必要。

# 極東ロシアにおける ダニ媒介性脳炎の疫学調査

早坂大輔(現長崎大熱研)



極東ロシアで見た夕焼けと虹

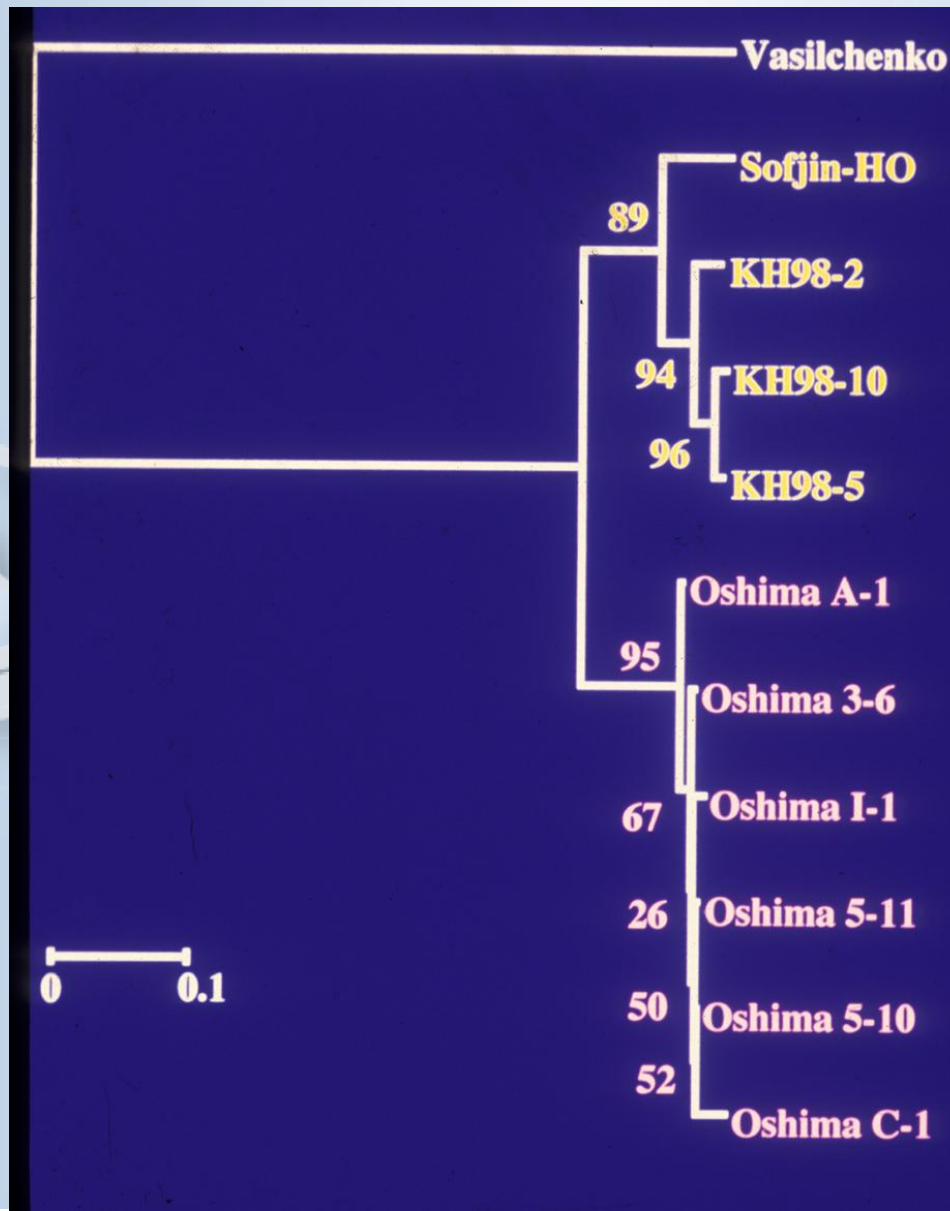
# 極東ロシアにおけるウイルス分離 —北海道Oshima株と極東株の関連性の解明—



# 解析に用いたダニ媒介性脳炎ウイルス

ウイルス株	分離年	分離 地区	由来
Oshima5-10	1995	上磯	犬血液
Oshima5-10	1995	上磯	犬血液
Oshima5-10	1995	上磯	犬血液
Oshima5-10	1995	上磯	アカネズミ
Oshima5-10	1996	上磯	エゾヤチネズミ
Oshima5-10	1996	上磯	ヤマトヤブカ
KH98-2	1998	Khavarovsk	シュルツエマダニ
KH-98-5	1998	Khavarovsk	シュルツエマダニ
KH-98-10	1998	Khavarovsk	シュルツエマダニ
Sofjin	1937	Khavarovsk	ヒト脳

# ダニ媒介性脳炎ウイルス 極東亜型ウイルス株の系統樹



# ダニ媒介性脳炎ウイルス株の 塩基置換率と分岐年

---

ウイルス株

塩基置換率

極東型  
跳躍病

$2.9 \times 10^{-4}/\text{site}/\text{year}$   
 $5.6 \times 10^{-4}/\text{site}/\text{year}$

---

ウイルス株

分岐年

極東型 & Oshima strain  
極東型 & Siberian type

**260~430 年前**  
1700~2100 年前

---

# シベリア地区におけるダニ媒介性脳炎 ウイルスの分離

極東地区におけるダニ  
媒介性脳炎患者はシベリア  
地区にくらべ、致死率が高い。



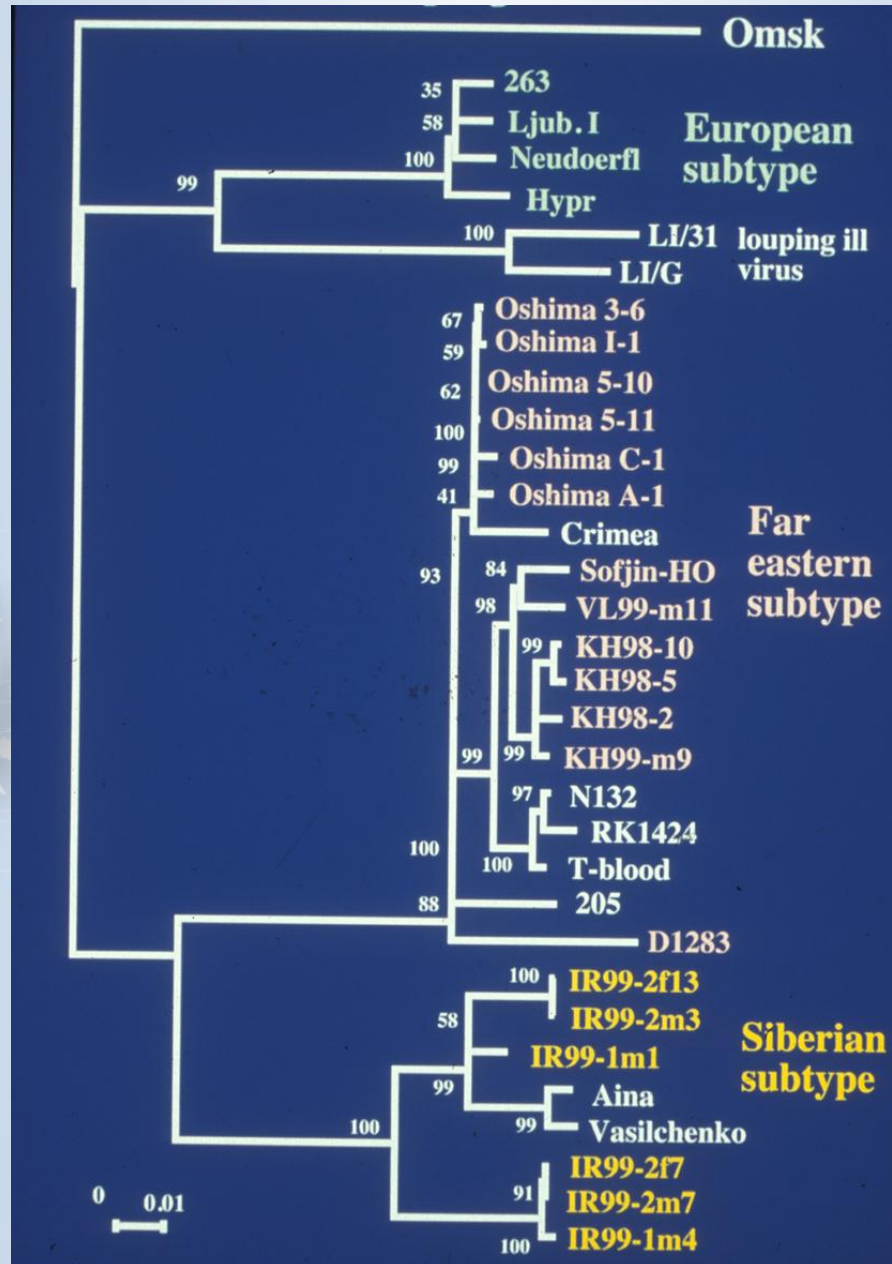
シベリア地区に異なる型が  
ダニ媒介性ウイルスが存在？

イルクーツク周辺で  
疫学調査を実施した。



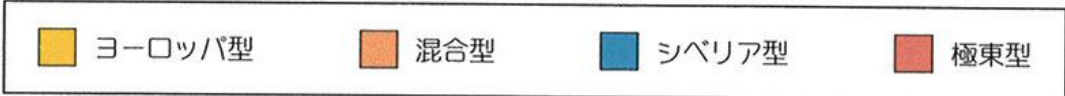


# ダニ媒介性脳炎ウイルス株の系統樹





# ダニ媒介性脳炎ウイルスの分布



# オーストリアにおける 日本人男性の感染・死亡例 —ウィーン大学Dr. F. Heinzの成績—

- オーストリア、2001年6月2日  
ザルツブルグの娘さんを訪問して感染
- 髄膜脳炎、四肢麻痺、意識障害、  
機械的人工呼吸
- 9月6日に右大脳半球の出血で死亡

# 要約

- **ダニ媒介性脳炎(TBE)ウイルスOshima株は数百年前に極東ロシアにおいて祖先株から分岐し進化してきた。**
- **ロシアのイルクーツク地区にTBEウイルスシベリア亜型が分布している。**
- **流行地域への旅行者へのワクチン接種が望まれる。**

# アルボウイルス研究の生態学的、学際的 アプローチの重要性

生態学：環境要因

気温、湿度、降水量、植物叢

医学

動物学

医昆虫学



ウイルス学



獣医学



# 共同研究者（敬称略）

北海道大学

橋本信夫

有川二郎

苅和宏明

好井健太郎

早坂大輔

後藤明子

白戸憲也

村田亮

橋口和明

持館景太

その他多数の公衆衛生学教室員

北海道衛生研究所

高橋健一

伊東拓也

北海道家畜保健衛生所

渡辺卓也

ロシア

Leonid Ivanov

Galina Leonova

米国ハワイ大学

Leon Rosen