トピック

マレーシアで発生した豚のニパウイルス感染症

山川 睦¹, 筒井俊之²¹農林水産省家畜衛生試験場海外病研究部²農林水産省畜産局衛生課国際衛生対策室The Outbreak of a New Emerging Disease,
Nipah Virus Infection in Malaysia

Makoto YAMAKAWA and Toshiyuki TSUTSUI

1998年、マレーシアにおいて宿主域を越えて感染する新しいパラミクソウイルスが出現し、家畜衛生のみならず公衆衛生上も大きな問題として取り上げられた。1999年11月、台湾で開催された第21回 OIE アジア・極東及びオセアニア地域委員会で得られた豪州家畜衛生研究所及び米国疾病管理・予防センター（CDC）の情報をもとに、動物（特に豚）のニパウイルス感染症に関してこれまでに得られた知見の概要を紹介する。

1 発生疫学

マレーシア半島において、1998年10月から始まった新たな豚及び人の疾病であるニパウイルス感染症は、1999年5月に終息するまで、105名の死者と90万頭以上の豚の殺処分をもたらした。これまで、マレーシアにおいては、豚、人及び犬がこの疾病に感染したことが知られているが、馬や猫などの他の動物についても感染豚と接触した場合に感染が成立したと考えられている。人でのウイルス性脳炎が問題となっていた時期に実施された人への感染源を特定するための疫学調査の結果、人への感染は主に豚、特に発症豚との直接接触であることが明らかとなった。豚以外の動物が感染源となることは完全に否定しきれないが、大規模な豚の殺処分の実施以降に新たな感染が起こっていないことも、豚が感染源として重要な役割を果たしていることを示している。

疫学調査の結果、ニパウイルス感染症の初発地域はイ

ポー地域であることが示唆されているが、初発生の感染源や豚への感染ルートは未だ不明である。また、自然界のレゼルボアも不明であるが、流行地域の野生動物の調査の結果、Pteropus 属のフルーツコウモリに中和抗体が確認されている。豪州におけるヘンドラウイルス感染症も同種のコウモリの関与が疑われていることから、現在、米国の CDC がウイルス分離と PCR 検査を用いた調査を実施しており、今後これらコウモリの役割についてさらなる研究が行われる予定である。

2 伝播様式

ニパウイルス感染症は、マレーシア半島中部に位置する Perak 州を初発地域とし、その後感染豚の移動によって南部の Negeri Semblian 州及び Selangor 州に広がったと考えられている。マレーシア半島においては従来から豚の取り引きが活発に行われているが、特に、初発地域の Perak 州でニパウイルス感染症が流行した時期に多くの豚が他の地域に廉価で販売された結果、潜伏感染豚を介して他地域の農場に広がっていったと考えられる。これは、感染農場の近隣農場であっても、感染したおそれがある豚を導入していない農場は、その後のサーベイランスによっても感染豚が摘発されなかったことから明らかである。また、感染のおそれのある農場から肥育用豚を導入した農家が直ちにすべての肥育豚を淘汰した場合、その後の検査においてその農場から抗体陽性豚が摘発されていないが、汚染地域から繁殖豚を導入した農場からは抗体陽性豚が摘発されていることもサーベイランスで明らかとなっている。これは、一般的に肥育豚は繁殖豚と別棟で飼養されており、肥育豚から繁殖豚に接触する機会がなかったことによるものと考えられている。

集落内の農場間の伝播要因としては、種豚の精液、犬猫の機械的伝搬が疑われている。また、農場内での伝播は、尿、鼻汁等を介した感染豚からの直接伝搬、注射針などの診療用具を介した伝搬、人工授精を介した伝搬などが原因と考えられている。豪州の家畜衛生研究所における豚への感染実験の結果、豚は経口及び非経口感染が成立し、感染豚は鼻口からウイルスを排出することが証明されている。この実験においては、直接接触のない豚も感染し、14日目に中和抗体が検出されている。

3 豚以外の動物における感染

(1) 犬及び猫ニパウイルス感染症が豚に流行した時期に行われた流行地域である Bukit Pelanduk 及び Sepang における犬の抗体検査の結果は、それぞれ55% (36/66)、23% (6/26)であった。初発生から3ヶ月経過した本年5月中旬に、両地域において再度犬の血清学的サーベイランスが行われた。血液サンプルは発生地域を中心として8 km 以内の地域、8～15km の地域及び15km 以上の地域に区分して、88頭の野犬と161頭のペット犬から採取された。これらの血清を用いた抗体検査の結果、8 km 以内の地域の3頭(2.8%)及び8～15km の地域の1頭(1.3%)が抗体陽性であった。15km 以上の地域においては抗体陽性犬は認められなかったこと及び高汚染地域近郊の犬の抗体陽性率が極めて低かったことから、犬の間の感染は起こっていないこと及び犬の感染は豚での感染が高率に起こっている地域のみが起こることが強く示唆された。2頭の猫の実験感染が豪州家畜衛生研究所で行われ、1頭は呼吸器症状を示し瀕死の状況に陥ったが、他の1頭は発熱後回復した。2頭の猫の尿からニパウイルスが分離された。流行後に Perak 州の犬396頭及び猫114頭の血液サンプルが豪州家畜衛生研究所に送付され、中和検査が行われたが全て陰性であった。

(2) 馬

本年3月及び4月に3,200以上の血清サンプルが競走馬、競技用馬から採取され、豪州家畜衛生研究所で中和検査及びELISA 検査が行われた。その結果47頭が飼養されているポロクラブの2頭の馬のみが抗体陽性であった。当該陽性馬は臨床症状を示しておらず、剖検においても病変は確認されなかった。サンプルが採取され、豪州家畜衛生研究所に送付されたが、免疫組織化学的検査及びPCR 検査においても陰性であり、ウイルスも分離されなかった。疫学調査によれば、この2頭の馬は一時的に養豚農家に係留されており、この時点で暴露されたと考えられている。これらのことから、馬から馬への感染は起こっていなかったものと考えられている。

(3) その他の動物

流行時期である本年3月に Bukit Pelanduk 及び Sepang において、多くの動物の血液サンプルが採取され米国 CDC で検査が行われた結果、山羊1.5% (1/65)、猫6.4% (1/24)、鳥6.4% (7/109)、齧歯類0.4% (1/278)が抗体陽性であった。しかしながら、これらの動物の間でニパウイルス感染症がひろがっているという証拠は認められていない。現在、ウイルス分離及びPCR 検査が引き続き行われている。

4 ニパウイルスの性状

Negeri Sembilan 州の Sungai Nipah 村の脳炎患者から分離されたウイルスは、CDC による詳細な研究により、パラミクソウイルス科に属し、オーストラリアで分離されたヘンドラウイルス (1994年に発生した競走馬及び人の重篤な呼吸器病の原因ウイルス) と血清学的に交差することが確認された。そのため当初ヘンドラ様ウイルス (Hendra-like virus) と呼ばれていたが、遺伝子解析の結果、ヘンドラウイルスとは異なるウイルスであることが明らかとなり、分離された地名にちなんでニパウイルスと命名された。また、塩基配列をもとに行った分子系統樹解析の結果から、ニパウイルスはヘンドラウイルスとともにモルビリウイルス属 (犬ジステンパーウイルスや牛痘ウイルス、小反芻獣疫ウイルス等が含まれる) に近縁であるが、パラミクソウイルス科の既存のどの属にも分類し得ないことが判明した。現在、両ウイルスから構成される新しい属をもうけることが提唱されているが、まだ属名は決まっていない。ニパウイルスを Vero 細胞等の培養細胞に接種すると、特徴的な CPE (細胞変性効果) を見ることができる。すなわち、シンシチウム (細胞融合による合胞体) が出現し、やがて多核巨細胞を形成する。ウイルス粒子の電子顕微鏡観察では、パラミクソウイルス特有の矢筈 (herringbone) 型のヌクレオカプシド構造 (長さ約1.6nm, 平均直径21nm) が認められる。ウイルス粒子のサイズは100nm 以下であるが、多形性を示す粒子のサイズにはばらつきがある (平均500 nm)。エンベロープ上には、長さ約10nm の突起 (projection) が散在している。異なる動物種 (人、豚、犬) から分離されたニパウイルスの塩基配列は、今まで調べられた限りでは、全く同じである。

5 臨床症状

一般に死亡率は低い (5%程度)、感染率が高い (養豚場によっては95%に及ぶことがある)。感染豚の多数は症状を示さない。7～14日の潜伏期を経て発症する呼吸器あるいは神経症状を伴う急性熱性疾患であるといえる。呼吸器症状としては、呼吸数増加、開口呼吸、強制呼吸、

激しい発咳等がみられる。神経症状としては、頭を押しつける、柵を噛むというような症状の他に、振戦、テタニー性痙攣、筋肉攣縮等が観察される。年齢によって症状が若干異なり、成豚では神経症状が、食用豚では呼吸器症状が強く現れる傾向にある。繁殖雌豚、種豚では時に無症状のまま、あるいは鼻孔からの出血を伴って死に至ることがある。また妊娠豚が感染した場合には、流産が認められることがある。

6 病 理

感染豚には顕著な肺及び脳病変が観察される。肺水腫、点状及び斑状出血等の種々の程度の肺病変が認められる。広範囲にわたる出血と肺血管内皮細胞の巨細胞形成を主徴とする間質性肺炎が特徴である。一般的に線維素様壊死を伴う血管炎、出血、血栓症の原因となる単核細胞の浸潤が肺、腎臓、脳組織にみられる。脳には、これら以外にも非化膿性髄膜炎、神経膠症が認められる。血管内皮細胞には大量のウイルス抗原が検出されるが、特に肺において著明である。上部気道管腔内の細胞片や滲出物にウイルス抗原がみられることから、気道を経てウイルスが排出され、伝播していく可能性が示唆されている。

7 診 断

ニパウイルスは豚だけでなく、人を含むその他の動物にとっても危険な病原体であるため、ウイルス分離、PCR、ウイルス中和試験による確定診断、診断用 ELISA 抗原の調整、動物接種試験等、生ウイルスを使用するすべての操作は、バイオセーフティレベル 4 (BSL4) の施設内で熟練したスタッフによって実施されなければならない。ニパウイルス感染が疑われる地域での獣医師の活動 (サンプリング等)、確定診断のために BSL4 施設に持ち込むまでの (通常実験室での) サンプル処理法については、安全指針が作られている。

(1) 血清学的診断

もっとも確実な血清診断法は、言うまでもなくウイルス中和試験である。上記のとおり、東南アジア地区で採取された血清サンプルを用いた中和試験は、豪州家畜衛生研究所の BSL4 施設内で行われている。ニパウイルス感染症発生当初は、ヘンドラウイルスを抗原とする間接 ELISA 法が採用されていた (ニパウイルスと交差反応性を示すため) が、現在ではニパウイルスそのものを抗原とする方法に切り替えられている。被検血清は感染性を不活化するため、界面活性剤を加えて加熱処理した後に用いられている。この ELISA 法では、特異性が高い分、非特異反応がみられることも多く、中和試験による確定診断が必要な場合がある。したがって、現行の ELISA 法

は、サーベイランス計画の中で汚染農場を摘発するためのスクリーニングテストとして用いるには最も有効な方法であるが、ニパウイルス感染を示す決定的診断方法とはならない。また、ニパウイルス感染とヘンドラウイルス感染の鑑別も困難である。

(2) 免疫組織化学染色

肺や脳等のホルマリン固定感染組織内のウイルス抗原をイムノペルオキシダーゼ検出系を用いた発色によって検出する方法で、ウイルス感染を直接証明する上で最も有効である。固定した組織を用いるため、病理組織検査が可能な実験室であればどこでも採用できる安全な診断法であり、ニパウイルス感染症の診断において最も推奨される。サンプリングには急性期にある動物を選ぶのが理想的であり、可能な限り多くの動物 (特に豚の場合) を検査する必要がある。

(3) RT-PCR 法

RT-PCR (reverse transcriptase polymerase chain reaction) 法は、必要機器・試薬、ノウハウを持つ実験室において、上記の方法に代わるウイルス検出法として用いることができる。すでに核タンパク質遺伝子 (Ngene) を標的としたニパウイルス特異的プライマーが設計されている。感度、迅速性・特異性に優れている反面、サンプル採取・処理過程におけるコンタミネーションによる偽陽性 (誤診) の問題がつきまとうのが難点である。また、PCR の材料として感染ウイルスを含む新鮮組織を用いる関係上、術者への感染が危惧されることから、BSL4 施設以外では実施すべきではない。

(4) ウイルス分離

マレーシアにおける豚のニパウイルス感染は、Vero 細胞等を用いたウイルス分離によって確認されたが、ウイルス分離操作は、実験室スタッフにとって非常に危険な作業を伴う。ニパウイルス感染症の野外調査を行うような場合、当然のことながらウイルス分離を主体とすべきではない。

8 そ の 他

これまで、本病が豚肉の摂食を介して人に感染することは知られておらず、米国及び豪州の専門家も食品衛生上の問題として扱うことには否定的であったが、マレーシアにおいては本病の発生に伴って豚肉の消費が低下し、多大の損害を受けたということであった。マレーシアでのニパウイルス感染症の発生は一応の終息をみたが、今後、自然宿主の特定、豚における持続感染の有無、豚以外の動物の感染源としての可能性等についてさらなる調査・研究を行っていく必要がある。オーストラリア側の意見によれば、上記のようにニパウイルスを扱う試験研

究には BSL4の施設が必要なため、研究の推進に制約が生じているとのことであった。