

名古屋市の飼育犬における重症熱性血小板減少症候群ウイルス (SFTSV) の抗体保有調査

大島太一 山崎翼 小林祐介 小島健太郎 水野景介
名古屋市獣医師会

はじめに

重症熱性血小板減少症候群 (Severe fever with thrombocytopenia syndrome: SFTS) は 2011 年に中国で発見されたブニヤウイルス目フェヌイウイルス科バンダウイルス属に分類される新しいウイルスによるダニ媒介性の人獣共通感染症である。国内では、2013 年 1 月に海外渡航歴のない人が SFTS に罹患していることが初めて報告され、それ以降他にも SFTS 患者が確認されるようになった¹⁾。SFTS ウイルス (SFTSV) はマダニに刺咬されることで感染することが一般的であるが、感染・発症した人や動物からの人一人感染や動物一人感染も報告されている²⁾。人が SFTSV に感染すると 6 日～14 日の潜伏感染の後、発熱や消化器症状 (食欲不振、嘔吐、下痢など) が多くの症例で見られ、その他、頭痛、筋肉痛、神経症状、リンパ節腫脹、皮下や下血などの出血症状などを起こす。血液検査の特徴としては白血球減少、血小板減少、および AST、ALT、LDH の上昇が多くの症例で認められ、致死率は 10～30%と報告されている³⁾。2021 年 7 月 28 日現在、国内では 641 人の患者が報告されており、届け出時点の年齢中央値は 74 歳であり、そのうち 80 名が死亡している。現在のところ、SFTS の発生は西日本での発生が多く確認されているが、静岡県、千葉県などでも人患者が確認されている。また、愛知県でも 2021 年 7 月 8 日に半田保健所に SFTS の発生届が提出されている⁴⁾。そのため現在流行していない地域でも十分な警戒が必要であると考えられる。

犬においても、SFTS の発生は現在のところ西日本のみで報告されており、名古屋市での犬の SFTS の発生は 2021 年 10 月時点で報告されていない⁵⁾。一方、これまで名古屋市内の飼育犬における SFTSV 感染の疫学調査は行われておらず、名古屋市内での SFTSV の発生状況は分からないことが多い。今回の調査では、名古屋市内の飼育犬 (n=128) を対象に飼育実態と共に SFTSV 抗体を測定し、飼育犬での SFTSV 感染を調査し市内における SFTSV の発生状況について検討した。

材料と方法

(1) 調査対象

名古屋市内（16区）の飼育犬 128 頭（各区につき 8 頭）

(2) 調査期間

令和 3 年 10 月 22 日～11 月 12 日

(3) 検査材料

血清 0.5ml 以上

(4) 検査委託先

国立感染症研究所

(5) 検査方法（SFTSV ELISA）

抗原及び抗体

1) 抗原

SFTSV HB-29 感染 Huh-7 細胞抗原（1% NP40/PBS-）、Mock Huh-7 細胞抗原（1% NP40/PBS-）を使用した。−80℃で保存し、Coating buffer で 5ug/ml に希釈して Coating した。

2) 二次抗体

Anti-IgG(H+L), Dog, Goat-Poly, HRP (Bethyl Laboratories, A40-123P) を 50%グリセロールを添加し、−20℃、遮光下で保存した。その溶液を Dilution buffer で 2500 倍希釈して使用した。

使用する既製品の材料、キット、装置等

1) ブロッキング剤

ブロックエース粉末 (DS ファーマバイオメディカル)を使用した。

上記粉末を 4g/ 100ml で milli-Q 水に溶解する。これを以下ブロックエースと呼称した。適量で分注し、小分けして−20℃で保存。使用前に溶かし、4℃に保存して使用した。

2) 発色液

KPLABTS® Peroxidase Substrate System 2-Component(SeraCare Life Sciences, Inc. Cat. No. 5120-0033)を使用した。

3) 吸光プレートリーダー

iMark™ マイクロプレートリーダー (Biorad)を使用した。

4) 抗原貼り付け用 96well プレート

MAXISORP 96 well Nunc-Immuno Plate (Thermo Scientific 439454) を使用した。

使用する Buffer

1) ELISA Coating Buffer

NaHCO₃ 2.856g、Na₂CO₃ 1.696g、Milli-Q 500 ml で試薬を混合した。

121℃、15 分でオートクレーブ、4℃で保存した。

2) ELISA Blocking buffer

滅菌 P B S に 1/3 量のブロックエースを添加し、最終濃度 1%ブロックエースとして使用した。

3) ELISA Washing buffer

滅菌した PBS 1000ml に Tween-20 0.5 ml を混合して使用した。

4) ELISA Dilution buffer

ELISA Washing buffer に 1/9 量のブロックエースを添加し、最終濃度 0.4%ブロックエースとして使用した。

た。

5) 発色停止液

1% SDS 溶液を作製し、室温で保存した。

手順

1) 抗原のコーティング

Coating Buffer で抗原を希釈し、100 µl/well でプレートにアプライした。プレートをシールした後、37℃、2 時間インキュベートし、4℃オーバーナイトで保存した。

2) ブロッキング

抗原希釈液を除去、200 µl/well で Blocking buffer を添加し、37℃、30 分インキュベートした。

3) 一次抗体の添加

血清、血漿材料を 60℃、30 分でインキュベートし、プレートから Blocking buffer を除去、Washing buffer で 3 回 well を洗浄した。血清、血漿材料を Dilution buffer で 100 倍希釈し、作製した希釈液を 100 µl/well でアプライ、37℃、30 分インキュベートした。

4) 二次抗体の添加

血清・血漿希釈液を除去、Washing buffer で 3 回 well を洗浄した。二次抗体を希釈後 100 µl/well でアプライし、37℃、30 分インキュベートした。

5) 発色

二次抗体希釈液を除去、Washing buffer で 3 回 well を洗浄した。Substrate Kit A 液と B 液を 1:1 の割合で混合し、作製した混合液を 100 µl/well でアプライした。マイクロプレートミキサーで攪拌しながら室温(25℃)で 30 分インキュベートした。

6) 発色の停止、測定

発色停止液を 100 μ l/well で添加、数十秒攪し、405nm の波長で吸光度を測定した。
感染細胞抗原の吸光度から非感染細胞抗原の吸光度を引いた値が 0.646 以上のとき、
陽性と判定した。OD 値 0.132 以上の場合は中和試験で最終確認をおこなった。

(6) 調査対象犬の環境調査

調査対象となる犬について、以下の項目の調査を実施した。

1) 飼育動物 (犬)

1. 品種

2. 性別 ☐オス ☐メス ☐去勢オス ☐避妊メス

3. 年齢 _____歳 _____ヵ月

4. 入手先

☐ブリーダーより購入 ☐ペットショップより購入

☐一般家庭で繁殖した個体を譲り受け ☐保護犬シェルター、愛護センターより譲渡

☐不明

5. 駆虫薬の投与 ☐有 (最近接種日 年 月) ☐無 ☐不明

6. 狂犬病ワクチン接種 ☐有 (最近接種日 年 月) ☐無 ☐不明

7. 混合ワクチン接種 ☐有 (最近接種日 年 月) ☐無 ☐不明

8. マダニ予防薬の投与 ☐有 (最近投与日 年 月) ☐無 ☐不明

9. マダニ刺咬歴 ☐有 (最近刺咬日 年 月) ☐無 ☐不明

10. 便の状態 ☐良便 ☐下痢便

11. 来院理由

()

12. その他の既往歴

☐なし ☐あり ()

2)飼育状況

1. 飼育場所

☐完全室内飼育 ☐室内、屋外 (散歩など) を出入り ☐完全屋外飼育

2. 食餌内容

☐ドライフード ☐缶詰・パウチ ☐ドライフードと缶詰・パウチ ☐その他

3. トイレの場所

☐室内 ☐屋外 ☐室内と屋外

4. 同居の動物

☐犬 ☐猫 ☐犬と猫 ☐その他

3) 飼育者の住居

1. 住居区（名古屋市_____区）
2. 住居（☐一戸建 ☐マンション・アパート ☐その他）

4) 飼育者と飼育動物との関係（これまで経験のあるものを回答）

1. 飼育動物に咬まれる
☐有 ☐無
2. 飼育動物と同じ箸やスプーンを使って食事をする、キスをする
☐有 ☐無
3. 飼育動物と同じ寝具で眠る
☐有 ☐無

結果

(1) 抗体検査の結果

抗体検査の結果、128 頭中のうち陽性は 0 頭（0%）であった（図 1）。また、OD 値が 0.132 以上のサンプルは中和試験で最終判定したが全例で陰性であった。

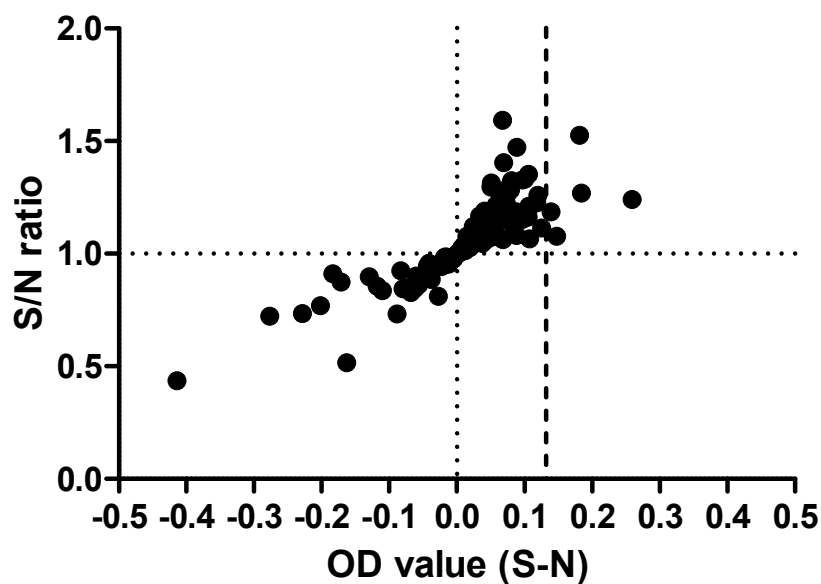


図 1 ELISA における SN 比と吸光度（OD 値）の測定値 (n=128)。OD 値 0.646 以上で陽性と判定した。

(2) 調査票の集計結果

1)品種

トイ・プードル 23 頭、ミニチュア・ダックスフンド 18 頭、雑種 13 頭、チワワ 9 頭、ラブラドル・レトリバー 7 頭、ゴールデン・レトリバー 6 頭、ヨークシャー・テリア 6 頭、柴犬 5 頭、ミニチュア・シュナウザー 3 頭、ミニチュア・ピンシャー 3 頭、パグ 3 頭、シー・ズー 2 頭、マルチーズ 2 頭、ジャック・ラッセル・テリア 2 頭、ペキニーズ 2 頭、パピヨン 2 頭、カニンヘン・ダックスフンド 1 頭、グレート・ピレニーズ 1 頭、シェットランド・シープドッグ 1 頭、ブリタニー・スパニエル 1 頭、キャバリア・キング・チャールズ・スパニエル 1 頭、フレンチ・ブルドッグ 1 頭、ウェスト・ハイランド・ホワイト・テリア 1 頭、ボストン・テリア 1 頭、バーニーズマウンテン・ドッグ 1 頭、ワイアー・フォックス・テリア 1 頭、ボーダー・コリー 1 頭、ウェルシュ・コーギー 1 頭、秋田犬 1 頭、ドーベルマン 1 頭、ケアーン・テリア 1 頭、ビーグル 1 頭、不明 1 頭であった。

2)性別

雄 15 頭、雌 18 頭、去勢雄 46 頭、避妊雌 49 頭であった。

3)年齢

0～19 歳 （平均 8.7 歳、中央値 9 歳）

0 歳 5 頭、1～3 歳 18 頭、4～10 歳 54 頭、11～18 歳 50 頭、不明 1 頭であった。

4)入手先

ペットショップより購入 75 頭、ブリーダーより購入 20 頭、一般家庭で繁殖した個体を譲り受け 17 頭、保護犬シェルター・愛護センターより譲渡 12 頭、不明 4 頭であった。

5)駆虫薬の投与

有 112 頭、無 12 頭、不明 4 頭であった。

6)狂犬病ワクチン接種

有 117 頭、無 10 頭、不明 1 頭であった。

7)混合ワクチン接種

有 108 頭、無 16 頭、不明 4 頭であった。

8)マダニ予防薬の投与

有 98 頭、無 26 頭、不明 4 頭であった。

9)マダニ刺咬歴

有 4 頭、無 108 頭、不明 16 頭であった。

10)便の状態

良便 122 頭、下痢便 5 頭、軟便 1 頭であった。

11)飼育環境

完全室内飼育 62 頭、室内・屋外（散歩など）を出入り 62 頭、完全屋外飼育 4 頭で

あった。

12)食餌内容

ドライフード 89 頭、ドライと缶詰・パウチ 28 頭、缶詰・パウチ 2 頭、その他 9 頭であった。

13)トイレの場所

室内 42 頭、室内と屋外 67 頭、屋外 19 頭であった。

14)同居の動物

犬 39 頭、犬と猫 10 頭、猫 8 頭、その他 20 頭、なし 51 頭であった。

15)住居

一戸建 97 頭、アパート・マンション 30 頭、その他 1 頭であった。

16)飼育動物に咬まれる

有 28 頭、無 100 頭であった。

17)飼育動物と同じ箸やスプーンを使って食事をする、キスをする

有 17 頭、無 111 頭であった。

18)飼育動物と同じ寝具で寝る

有 60 頭、無 68 頭であった。

考察

これまで、国内での動物における血清抗体保有状況の調査は SFTSV 流行地である愛媛県、長崎県、鹿児島県などで報告されている^{6,7)}。これらの地域では野生の猪（18.9～53.9%）や鹿（25.0～34.6%）で高い抗体保有状況が示されている。また、犬の血清抗体保有調査は鹿児島県や愛媛県などで報告されており^{7,8)}、鹿児島県では 9.6%（11/114 頭）、愛媛県では 9.1%（3/33 頭）であった。

SFTSV は感染した野生動物を吸血したマダニが SFTSV 保有マダニとなり、他の野生動物や伴侶動物、人を吸血することによりウイルス血症を起こす。そのため、野生動物や伴侶動物での SFTSV 抗体保有状況を調査することは SFTSV の広がりを検討するうえで重要となってくる。実際に、野生動物（猪、鹿、アライグマなど）において一定以上の抗体保有率が確認された地域では、人の SFTSV 感染リスクが高まることが報告されている²⁾。また、犬において抗体が検出されたすべての県で人の患者が報告されている⁹⁾。

今回、名古屋市の飼育犬を対象に SFTSV の血清抗体保有調査をしたところ 128 頭全例で SFTSV の抗体は認められなかった。また、ELISA における OD 値が 0.132 以上の場合には、中和試験を実施したが、すべて陰性であった。臨床的にも SFTSV 感染の症状がないため、全ての犬において SFTSV の感染はないと診断した。

今回、調査した飼育犬で SFTSV 抗体が認められなかった要因として、市内のマダニにおける SFTSV の浸潤が確認されていないことが挙げられる。名古屋市では、平成 25 年度

から 29 年度にかけて名古屋市内に生息するマダニ類の SFTSV 遺伝子検査を行ない、検査した全て (n=573) のマダニ類で SFTSV 遺伝子は検出されなかったと報告している¹⁰⁾。この結果は SFTSV 感染野生動物にマダニが寄生する機会が少ないことを示唆し、現在のところ名古屋市内の SFTSV 感染野生動物は SFTS が発生している地域と比較して少ないと考えられる。その他の要因としては、調査対象の飼育犬のほとんど (124/128 頭) が室内飼育であるため、マダニに刺咬される機会が多くはない (刺咬歴のある犬は 3.1% [4/128 頭]) と考えられること、また、マダニ予防薬の投与が 76.6% (98/128 頭) と多くの犬に行われていることが考えられる。

しかしながら、過去の調査では SFTSV 流行地域以外の中部地方や関東地方でも一部の地域で野生動物の SFTSV 抗体保有率の上昇している地域があった²⁾。また、隣接するすべての県 (三重、岐阜、静岡、長野) においてマダニから SFTSV が検出されている¹¹⁾。愛知県でも 2021 年 10 月に初めて人での SFTSV 感染事例が報告されている¹²⁾。これらのことから、名古屋市周辺でも SFTSV が存在している可能性は十分に考えられるため、市内での SFTSV 感染の発生については注意が必要である。

名古屋市などの都市部では野生動物の生息数が多いとはいえないため SFTSV の流行が起こりにくいかもしれない。しかし、郊外でのレジャーに飼育動物を連れていく傾向などもあり、流行して感染して名古屋で発症するなどの可能性も否定できない。また、SFTS の感染は確実に拡大している。SFTS は人が感染すると重症化し、致死率も決して低くはない感染症であり、その動向には注意が必要である。今後も名古屋市での SFTS の流行の可能性をいち早く認識するためにマダニ類、野生動物や伴侶動物の SFTSV 抗体保有調査を継続していくことが重要であると思われる。そして SFTS ウイルス対策の重要性を再認識し、防護などによる獣医診療関係者の感染予防や市民の公衆衛生の管理に努める必要がある。

謝辞

本研究の遂行にあたり、研究内容の講演と検査解析において厚生労働省 国立感染症研究所 獣医科学部 部長 前田健、研究員石嶋慧多先生にご協力いただいた。ここに感謝の意を表する。

参考文献

- (1) 国立感染症研究所. 重症熱性減少症候群 (SFTS) とは.
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/sfts/3143-sfts.html>
- (2) 前田健、野口慧多、立本完吾ら. 動物における SFTSV 感染の疫学調査. 病原微生物検出情報 (IASR) . 2019; 40(7): 116-117.
- (3) 厚生労働省. 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) について.
<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000169522.html>

- (4) 愛知県ホームページ（県内初の重症熱性血小板減少症候群(SFTS)患者の発生について、
<https://www.pref.aichi.jp/soshiki/kansen-taisaku/0000016955.html>
- (5) 前田健、野口慧多、立本完吾ら. SFTS 発症動物について（ネコ、イヌを中心に）病原微生物検出情報月報. 2019; 40(7): 118-119.
- (6) Kimura T, Fukuma A, Shimojima M, et al. Seroprevalence of Severe Fever with thrombocytopenia Syndrome (SFTS) virus antibodies in humans and animals in Ehime prefecture, Japan, an endemic region of SFTS. J Infect Chemother. 2018; 24(10): 802-806.
- (7) Hamasaki D, Fuxun Y, Yoshikawa A, et al. Seroepidemiological evidence of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infections in wild boars in Nagasaki, Japan. Trop Med Health. 2016; 44: 6.
- (8) Matsuu A, Hamakubo E, Yabuki M. Seroprevalence of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in animals in Kagoshima Prefecture, Japan, and development of Gaussia luciferase immunoprecipitation system to detect specific IgG antibodies. Ticks Tick Borne Dis. 2021; 12(5): 101771.
- (9) 前田健. 動物における SFTSV 感染状況. 病原微生物検出情報（IASR）. 2016; 37(3): 51-53.
- (10) 川西里佳、天野賢、松田純治ら. 名古屋市におけるマダニ類生息状況調査 5 年間のまとめ. 第 64 回名古屋市公衆衛生研究発表会. 1998.
- (11) 森川茂、宇田晶彦、木村昌伸ら. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルスの国内分布調査結果（第二報）. 病原微生物検出情報（IASR）. 2015; 35(3): 75-76.
- (12) 伊藤雅、安達啓一、廣瀬絵美ら. 愛知県内で初めて検出された重症熱性血小板減少症候群の 1 例. 病原微生物検出情報（IASR）. 2021; 42(10): 232-233.