

—人と動物の共通感染症の最新情報 (Ⅱ)—

ダニ媒介性脳炎

好井健太郎<sup>†</sup> (北海道大学 大学院獣医学研究院 公衆衛生学教室)

1 はじめに

ダニ媒介性脳炎 (TBE) はダニ媒介性脳炎ウイルス (TBEV) を原因とするウイルス性の人獣共通感染症で、感染した人に重篤な脳炎を起こす疾患である。ユーラシア大陸中北部では広く TBE 患者が発生しており、マダニが媒介する重要な感染症の一つとして認知されているが、日本ではほとんど知られていない感染症であった。最近になり、北海道では死亡症例を含む TBE 患者が毎年報告され、また TBEV が北海道のみならず日本に広く分布する可能性も示されており、その流行防止対策の重要性が指摘されている。本稿では TBE について、一般的な情報から日本における状況を含めて概説する。

2 病原体：フラビウイルス

TBEV は、フラビウイルス科フラビウイルス属に属する人獣共通感染症の原因ウイルスである。フラビウイルス属には 70 種以上のウイルスが属しており、人に病原性を示す多くの重要なウイルスを含んでいる [8]。フラビウイルス属のウイルスは、ダニ媒介性ウイルス、蚊媒介性ウイルス、ベクター不明の (no-known vector) ウイルス、節足動物固有のウイルスの 4 つのグループに分かれている。蚊媒介性フラビウイルスには、デングウイルス、日本脳炎ウイルス、西ナイルウイルス、黄熱ウイルス、ジカウイルス等があげられる。近年、これらのフラビウイルスの流行地域の拡大が報告されており、世界人口の大部分が、一つ以上のフラビウイルスの流行地に居住している状況であり、世界的に公衆衛生上重要な問題となっている [27]。

TBEV の属するフラビウイルス属のウイルス遺伝子は + 鎖、一本鎖の RNA であり、約 11,000 塩基で構成される (図 1)。ウイルス遺伝子 RNA は 1 つの ORF をコードしており、ここから約 3,400 アミノ酸の一つの蛋白質として翻訳された後、宿主またはウイルスのプロテアーゼにより 3 つの構造蛋白 (C, prM, E) と 7 つの非構造蛋白 (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B,

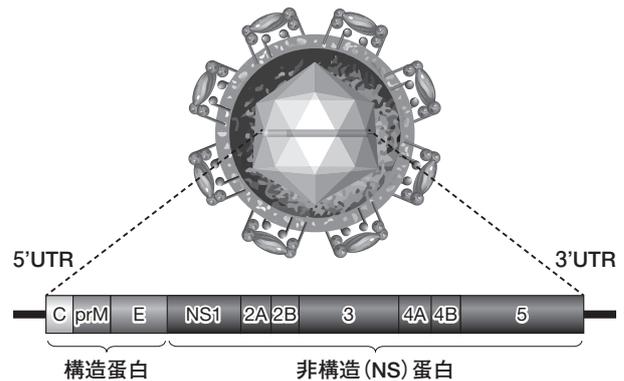


図 1 フラビウイルスの遺伝子 RNA とウイルス粒子構造

NS5) へと切断される [10]。

TBEV の粒子は直径 50nm 程度の正球状の粒子でありエンベロープ膜を持つ。エンベロープ膜の内腔には C 蛋白とウイルス遺伝子 RNA からなる正 20 面体のヌクレオカプシドがある [21]。ウイルスのエンベロープ膜表面は M 及び E 蛋白で構成されている。E 蛋白は糖蛋白であり、主要な抗原エпитープを持っている。またウイルスの細胞への侵入時の細胞表面のレセプターへの結合やエンドソーム膜との pH 依存性の融合にも重要な機能を果たしている。

3 TBEV の感染環と疫学

TBEV は自然界ではマダニによって媒介されており、おもに *Ixodes* 属 [6]、*Dermacentor* 属 [6]、*Haemaphysalis* 属等 [32] の幅広い種のマダニが媒介可能であると報告されている。TBEV はマダニの中で、経齢間伝達 [5] 及び経卵巣伝達 [18] することが知られており、すなわちマダニの中で世代を超えて長期間ウイルスが維持されることが可能である。

小型野生げっ歯類を中心にさまざまな野生動物とマダニの間で感染環が維持されているが、感染マダニの吸血により伴侶動物、家畜動物や人を含めた幅広い動物種に感染する。特に小型野生げっ歯類はウイルス血症を起こ

<sup>†</sup> 連絡責任者：好井健太郎 (北海道大学 大学院獣医学研究院 公衆衛生学教室)

〒 060-0818 札幌市北区北 18 条西 9 丁目

☎ 011-706-5212 FAX 011-706-5213

E-mail : kyoshii@vetmed.hokudai.ac.jp

し、これにより吸血時のダニへの感染を引き起こすとされているが [19]、ウイルス血症を起こしていない動物においても、感染マダニと非感染マダニが同じ場所で吸血することにより (co-feeding)、非感染マダニがウイルスを保有しうることも知られている。さらに、TBEV に感染した家畜動物の生乳や生乳を使用した乳製品を介した人への感染がヨーロッパで報告されている [2]。

ダニ媒介性脳炎 (TBE) はユーラシア大陸の広域で発生しており、年間1万人前後の患者が発生している、患者報告地域も拡大している [22]。TBEV は遺伝子性状から、ヨーロッパ型、シベリア型、極東型の3つのサブタイプに分類される。各サブタイプの地理的分布については、重複する領域もあり、韓国でヨーロッパ型が分離されていたりする等 [15]、ユーラシア大陸内での TBEV の頻繁な移動が示唆されている。

#### 4 TBE の臨床症状とワクチン、治療法

人が TBEV を保有するダニに吸血された場合の発症率は 5~30% と報告されており、通常 7~14 日間の潜伏期を経て発症する [13]。発症初期は頭痛、発熱、関節痛や筋肉痛等の症状がみられ [7]、重症化した場合、髄膜炎により精神錯乱・昏睡・痙攣及び麻痺等の中枢神経症状が認められる [16]。致死率は数%~数十% との報告がされている [2]。脳炎から回復後も 40~60% の患者で知覚障害、運動障害などの後遺症が残る。またウイルス特異的な治療法はなく、過去に TBE 特異的人免疫グロブリン製剤が有効として使われてきたが、近年の研究では副作用が懸念されており推奨はされていない [3]。したがって、TBE 患者への対応には対症療法が中心となる。

動物に対する病原性については十分なデータはないが、犬は比較的感受性が高いと考えられており、感染した際の重症化の可能性は人ほど高くないと考えられているが、脳炎を呈した症例に関しては少なからず報告がある。反芻動物についても同じく感受性は比較的高いと考えられているが、基本的には無症状であると考えられている。

TBE の予防のためのワクチンは海外で数社から製造されている。その中でも Pfizer 社や GSK 社から製造されているワクチンは信頼性も高く、疫学的にもワクチン接種による患者数減少の効果がオーストリアでの研究において示されている [9]。これらのワクチンは日本で分離された TBEV にも防御効果があることが、ワクチン接種者血清の日本分離 TBEV 株に対する中和試験や、マウスモデルを用いた感染防御試験により報告されている [4]。しかしこれらのワクチンは日本では未認可であり、一部のトラベルクリニック等において保険適用外のみ接種可能である。

#### 5 日本におけるダニ媒介性脳炎

日本においては、1990 年代前半まで TBEV は存在しないと考えられてきた。しかし戦後間もない時期に、東京近辺において TBE 患者が発生した疑いが持たれている。1948 年、東京近辺において日本脳炎の流行があり、この時に日本脳炎疑い患者 293 例から 26 株のウイルスが分離された。この内 24 株は日本脳炎ウイルス (JEV) と同定されたが、2 株は血清学的に JEV ではなく TBEV に近縁の抗原性を示した [1]。その後 40 年以上経って、分離されたウイルスは、遺伝子解析により TBEV の 1 遺伝子型である跳躍病ウイルスに分類されることが明らかになり [26]、TBEV の感染者が戦後間もない時期に本州において発生していたことが示された。

1993 年に北海道南部の渡島地方において、国内初の TBE 確定診断症例が発生した。患者は 30 代の女性で、発熱、髄膜刺激症状、全身痙攣、意識障害等の脳炎症状を呈した。当初、ヘルペスウイルス性脳炎を疑われたが陰性で、除外診断として行われた JEV に対する IgG-ELISA 及び HI 試験による抗体検査では、急性期から回復期にかけて有意な抗体の上昇が認められた。しかし、日本脳炎非流行地の函館で、しかも媒介蚊の活動しない 10 月末に日本脳炎患者が発生することは考えにくかったため、さらに詳細な抗体検査が行われた。その結果、JEV に対する中和抗体価は低値であったのに対し、TBEV に対する高い中和抗体価が認められ、かつ有意に上昇していたため、TBEV に感染していたと診断された [17]。

この患者は海外渡航歴もないことから、国内における感染が疑われた。そのため、高島らは患者発生地域近辺における哺乳動物やマダニを対象とした調査を行い、抗 TBEV 抗体保有動物 (犬、野生げっ歯類) を検出するとともに TBEV を分離することで、同地域に極東型 TBEV の流行巣が存在することを示してきた [14, 23-25, 30]。

その後 23 年間、TBE 患者の報告はなかったが、2016 年 8 月に北海道で 2 例目となる TBE 確定診断症例が発生した。患者は道内でダニに吸血され、1 週間程の潜伏期間を経て、発熱、筋肉痛、麻痺、意識障害、痙攣等の脳炎症状を呈し、ダニによる吸血から約 1 カ月後に亡くなった。当初、ライム病を疑われたが陰性で、その後、TBE に対する診断が行われた。PCR による遺伝子検査は陰性で、抗体検査において、簡易検査である蛍光抗体法では抗 JEV、TBEV 抗体ともに陽性であったが、中和試験では TBEV 特異的に抗体価の陽転が認められたため、TBE と確定診断された [31]。さらに、2017 年には函館市及び札幌市において [28]、そして 2018 年には旭川市から、3~5 例目となる TBE 確定診断症例が報告されている。

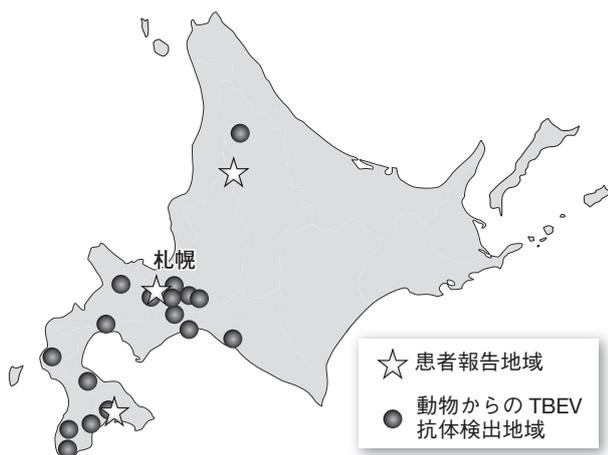


図2 北海道における抗 TBEV 抗体保有動物の調査  
対象動物：犬、馬、野鼠、アライグマ

われわれは国内初の TBE 確定診断症例の発覚以来、継続的に動物を対象とした血清疫学調査を行ってきたが、北海道では広範な地域において、抗 TBEV 抗体を保有する動物が生息していることを明らかにしており、広範囲に TBEV の流行巣が存在していることを示している [23, 25, 30] (図 2)。また道外においても、西日本を中心に TBEV もしくは TBEV 近縁のウイルスに対する抗体を保有している野生動物を検出しており、これらのウイルスの流行巣が存在している可能性が示唆されている。

## 6 TBEV の診断の問題点と新規診断法の開発

TBE は日本では感染症法の定める所の 4 類感染症に当たり、診断の検査基準としては、分離・同定による TBEV の検出、PCR 法による TBEV 遺伝子の検出、IgM 抗体の検出、及び中和試験による抗体の検出（ペア血清による抗体陽転または抗体価の有意の上昇）の 4 つがあげられている。しかし TBEV の感染した患者の体内で、発症後にウイルス血症が認められることはほとんどなく、また髄液中からウイルスが検出される時期も限られるため [20]、TBE の診断は血清学的診断法による特異的抗体の検出が重要となる。

不活化 TBEV を用いた IgG-ELISA、蛍光抗体法、HI 試験等による抗体検出法は簡便ではあるが、感度・特異度が十分ではなく、また他のフラビウイルスに対する抗体との交差反応性も示してしまう [11]。そのため確定診断には IgM-ELISA または中和試験が必要となり、これらは感染症法の規定する診断法にもあげられている。不活化 TBEV を抗原とした IgM-ELISA キットはヨーロッパにおいて販売されている。IgM-ELISA は陽性反応適度は高いが、IgM 抗体であるため検査の時期によっては感染していても検出されないことがあるため、陰性であっても TBE 感染を否定することはできな

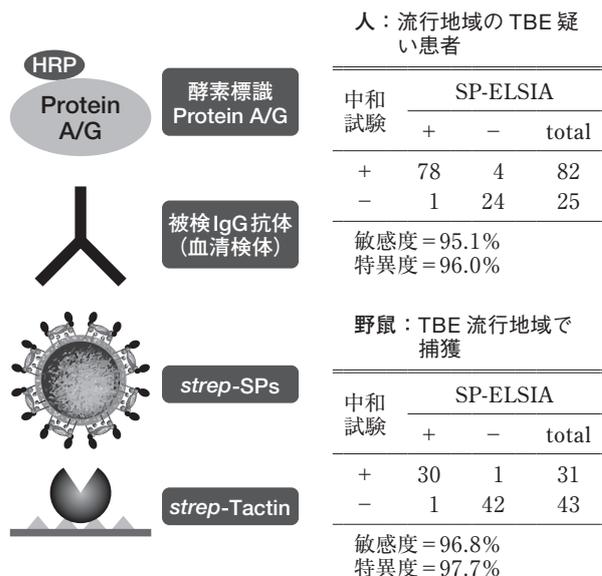


図3 ウイルス様粒子 (SPs) を用いた幅広い動物に適用可能な IgG-ELISA の確立

*strep-tag* を粒子の表面に発現するようにした SPs (*strep-SPs*) を *strep-tactin* により捕捉して、被検血清を反応させ、抗 TBEV IgG 抗体を酵素標識 Protein A/G により検出する。TBE 流行地域の疑い患者や捕獲野鼠中の抗体を ELISA 及び中和試験により検出し比較した。

い。したがって中和試験が標準的な診断法として用いられることが多く、高い信頼性とウイルス特異性を持っている。しかし中和試験では生ウイルスを使わなければならない、TBEV は三種病原体に当たり取り扱いは厳しい基準があり、使用には BSL-3 の実験施設が必要となる。このような制約から、日本国内で TBE の診断が可能な施設は国立感染症研究所や北海道大学を含む数カ所に限られている。

そこでわれわれは、通常の実験室でも実施可能な中和試験の代替となる診断法の開発に関する研究を進めてきた。フラビウイルス属のウイルスの粒子は、エンベロープ膜を持つ小型球状であり、prM 及び E 蛋白がエンベロープ膜を構成している。この prM 及び E 蛋白を哺乳動物細胞で発現させると、エンベロープ膜のみで構成される、中空のウイルス様粒子 (Subviral particles: SPs) が分泌される [29]。われわれはこの SPs を用いて、幅広い哺乳動物種に適用可能な ELISA による TBEV 特異抗体検出系を構築してきた [12]。構築した ELISA は中和試験の成績と比較して高い感度及び特異度を示し、中和試験の代替法として有効であることが明らかになっている (図 3)。

## 7 終わりに

上述のように、日本において TBE は北海道を中心に常在している感染症であり、道外にも TBEV もしくは

近縁のウイルスの流行巣が存在している可能性が示唆されており、人がTBEVに感染する可能性は依然としてあると考えられる。これまでに報告のある重症患者以外にTBEV感染者がいなかったとは考えにくく、無症状感染者や軽症感染者、及び、脳炎などの重症患者であったが診断がつかなかった感染者は少なからずいるものと考えられる。この原因として医療関係者も含めてTBEに対する認知度が低く、そのため感染者が見過ごされているためだと考えられる。TBEの国内における流行を制御するためにも、TBEに関する十分な周知・啓発活動を行うとともに、診断体制を確立し、人における感染状況の詳細を明らかにするとともに、ワクチン等による適切な予防対策を図っていくことが重要である。

### 参 考 文 献

- [1] Ando K, Kuratsuka K, Arima S, Hironaka N, Honda Y, Ishii K : Studies on the viruses isolated during epidemic of Japanese B encephalitis in 1948 in Tokyo area, *The Kitasato Archives of Experimental Medicine*, 24, 557-562; English transl, 429-541 (1952)
- [2] Bogovic P, Strle F : Tick-borne encephalitis: A review of epidemiology, clinical characteristics, and management, *World Journal of Clinical Cases*, 3, 430-441 (2015)
- [3] Bröker M, Kollaritsch H : After a tick bite in a tick-borne encephalitis virus endemic area: current positions about post-exposure treatment, *Vaccine*, 26, 863-868 (2008)
- [4] Chiba N, Osada M, Komoro K, Mizutani T, Kariwa H, Takashima I : Protection against tick-borne encephalitis virus isolated in Japan by active and passive immunization, *Vaccine*, 17, 1532-1539 (1999)
- [5] Danielová V, Daniel M, Schwarzová L, Materna J, Rudenko N, Golovchenko M, Holubová J, Grubhoffer L, Kilián P : Integration of a tick-borne encephalitis virus and *Borrelia burgdorferi sensu lato* into mountain ecosystems, following a shift in the altitudinal limit of distribution of their vector, *Ixodes ricinus* (Krkonoše mountains, Czech Republic), *Vector-Borne Zoonot*, 10, 223-230 (2010)
- [6] Demina TV, Dzhioev YP, Verkhovina MM, Kozlova IV, Tkachev SE, Plyusnin A, Doroshchenko EK, Lisak OV, Zlobin VI : Genotyping and characterization of the geographical distribution of tick-borne encephalitis virus variants with a set of molecular probes, *J Med Virol*, 82, 965-976 (2010)
- [7] Dörrbecker B, Dobler G, Spiegel M, Hufert FT : Tick-borne encephalitis virus and the immune response of the mammalian host, *Travel Med Infect Di*, 8, 213-222 (2010)
- [8] Gould EA, Solomon T : Pathogenic flaviviruses, *Lancet*, 371, 500-509 (2008)
- [9] Heinz FX, Holzmann H, Essl A, Kundi M : Field effectiveness of vaccination against tick-borne encephalitis, *Vaccine*, 25, 7559-7567 (2007)
- [10] Heinz FX, Mandl CW : The molecular biology of tick-borne encephalitis virus. Review article, *Apmis*, 101, 735-745 (1993)
- [11] Holzmann H, Kundi M, Stiasny K, Clement J, McKenna P, Kunz C, Heinz FX : Correlation between ELISA, hemagglutination inhibition, and neutralization tests after vaccination against tick-borne encephalitis, *J Med Virol*, 48, 102-107 (1996)
- [12] Inagaki E, Sakai M, Hirano M, Muto M, Kobayashi S, Kariwa H, Yoshii K : Development of a serodiagnostic multi-species ELISA against tick-borne encephalitis virus using subviral particles, *Ticks Tick-borne Dis*, 7, 723-729 (2016)
- [13] Kaiser R : Tick-borne encephalitis, *Infect Dis Clin N Am*, 22, 561-575 (2008)
- [14] Kentaro Y, Yamazaki S, Mottate K, Nagata N, Seto T, Sanada T, Sakai M, Kariwa H, Takashima I : Genetic and biological characterization of tick-borne encephalitis virus isolated from wild rodents in southern Hokkaido, Japan in 2008, *Vector-Borne Zoonot*, 13, 406-414 (2013)
- [15] Kim SY, Jeong YE, Yun SM, Lee IY, Han MG, Ju YR : Molecular evidence for tick-borne encephalitis virus in ticks in South Korea, *Med Vet Entomol*, 23, 15-20 (2009)
- [16] Logar M, Bogovic P, Cerar D, Avsic-Zupanc T, Strle F : Tick-borne encephalitis in Slovenia from 2000 to 2004: comparison of the course in adult and elderly patients, *Wien Klin Wochenschr*, 118, 702-707 (2006)
- [17] Morita K, Igarashi A, Sato T, Takezawa T : A suspected case of tick-borne encephalitis in Hokkaido, *Infectious Agents Surveillance Report*, 15 (1994)
- [18] Radda A, Hofmann H, Pretzmann G : Threshold of viraemia in *Apodemus flavicollis* for infection of *Ixodes ricinus* with tick-borne encephalitis virus, *Acta Virol*, 13, 74-77 (1969)
- [19] Rosà R, Pugliese A, Norman R, Hudson PJ : Thresholds for disease persistence in models for tick-borne infections including non-viraemic transmission, extended feeding and tick aggregation, *J Theor Biol*, 224, 359-376 (2003)
- [20] Saksida A, Duh D, Lotric-Furlan S, Strle F, Petrovec M, Avsic-Zupanc T : The importance of tick-borne encephalitis virus RNA detection for early differential diagnosis of tick-borne encephalitis, *J Clin Virol*, 33, 331-335 (2005)
- [21] Slavik I, Mrena E, Mayer V : Studies on Tick-borne encephalitis virus. II. Virus morphology and some data on virus structure, *Acta Virol*, 14, 8-16 (1970)
- [22] Suss J : Tick-borne encephalitis in Europe and beyond--the epidemiological situation as of 2007, *Euro Surveill*, 13, pii:18916 (2008)
- [23] Takashima I, Morita K, Chiba M, Hayasaka D, Sato T, Takezawa C, Igarashi A, Kariwa H, Yoshimatsu K, Arikawa J, Hashimoto N : A case of tick-borne encephalitis in Japan and isolation of the the virus, *J Clin Microbiol*, 35, 1943-1947 (1997)
- [24] Takeda T, Ito T, Chiba M, Takahashi K, Niioka T,

- Takashima I : Isolation of tick-borne encephalitis virus from *Ixodes ovatus* (Acari: Ixodidae) in Japan, *J Med Entomol*, 35, 227-231 (1998)
- [25] Takeda T, Ito T, Osada M, Takahashi K, Takashima I : Isolation of tick-borne encephalitis virus from wild rodents and a seroepizootiologic survey in Hokkaido, Japan, *Am J Trop Med Hyg*, 60, 287-291 (1999)
- [26] Venugopal K, Buckley A, Reid HW, Gould EA : Nucleotide sequence of the envelope glycoprotein of Negishi virus shows very close homology to louping ill virus, *Virology*, 190, 515-521 (1992)
- [27] Wilson MR : Emerging viral infections, *Curr Opin Neurol*, 26, 301-306 (2013)
- [28] Yamaguchi H, Komagome R, Miyoshi M, Ishida S, Nagano H, Okano M, Shimada K, Fukami M, Tanaka K, Takeuchi N, Yoshii K, Kobayashi S, Kariwa H : tick-borne encephalitis in Hokkaido in 2017, *Infectious Agents Surveillance Report*, 39, 46-47 (2018)
- [29] Yoshii K, Hayasaka D, Goto A, Obara M, Araki K, Yoshimatsu K, Arikawa J, Ivanov L, Mizutani T, Kariwa H, Takashima I : Enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant antigens expressed in mammalian cells for serodiagnosis of tick-borne encephalitis, *J Virol Methods*, 108, 171-179 (2003)
- [30] Yoshii K, Mottate K, Omori-Urabe Y, Chiba Y, Seto T, Sanada T, Maeda J, Obara M, Ando S, Ito N, Sugiyama M, Sato H, Fukushima H, Kariwa H, Takashima I : Epizootiological study of tick-borne encephalitis virus infection in Japan, *J Vet Med Sci*, 73, 409-412 (2011)
- [31] Yoshii K, Tajima Y, Bando K, Moriuchi R : A confirmed case of tick-borne encephalitis in Hokkaido in 2016, *Infectious Agents Surveillance Report*, 38, 126 (2016)
- [32] Yun SM, Lee YJ, Choi W, Kim HC, Chong ST, Chang KS, Coburn JM, Klein TA, Lee WJ : Molecular detection of severe fever with thrombocytopenia syndrome and tick-borne encephalitis viruses in ixodid ticks collected from vegetation, Republic of Korea, 2014, *Ticks Tick-Borne Dis*, 7, 970-978 (2016)