

「人獣共通感染症研究 —ワンヘルスの取り組みと 動物実験の役割—」(Ⅱ)

フィリピンでの狂犬病撲滅への取り組み

大分大学 医学部微生物学 西園 晃

はじめに

狂犬病は狂犬病ウイルスにより引き起こされ、イヌなど感染哺乳動物からの咬傷曝露により感染し、重篤な神経症状を伴いほぼ100%死亡する人獣共通感染症で、発症後の治療法は未だ確立されていない。狂犬病撲滅のためには「ワンヘルスOne Health」の視点から、感染動物のコントロール（犬の頭数管理とワクチン接種）と咬傷曝露を受けた人への発症予防策を徹底する必要がある。しかし世界ではいまだに年間約50,000人以上が狂犬病で死亡し、約2,000万人近くが曝露後予防処置を受けている。流行国の大部分はアジア、アフリカの途上国が占め^{文献1)}、WHOには「顧みられない熱帯病Neglected Tropical Diseases (NTD)」(外務省ODA白書2008)の一つに挙げられている。狂犬病対策にかかるコストは世界全体で毎年1,240億ドルと見積もられ公衆衛生上重大な問題で、地球規模課題として解決しなければならない。一方、我が国においては、

既に60年近く国内発症を見ない狂犬病であるが、2006年フィリピンからの帰国後輸入発症例の報告から、再興感染症として重要な疾患である^{文献2)}。

アジアを含む多くの途上国では、加害動物が狂犬病ウイルスに感染しているかを正確に診断・同定、報告するような中央管理によるサーベイシステムが十分に機能していない。特に感染診断に必須の加害動物（主にイヌ）

の脳材料を用いた抗原診断には、バイオハザードの整った施設・設備と人手が揃った病理検査室が必要で、多くの途上国にとっては多大な負荷である。

一方、動物からの咬傷曝露者は、傷口の消毒、ワクチンの接種、重症例ではグロブリンの投与による適切な曝露後発症予防策が必須である。患者教育の徹底とワクチンとグロブリンの十分な供給がそのために必要だが、



図1 フィリピンの狂犬病撲滅に資する医・獣医学からの新たな人と動物の狂犬病診断システム構築に向けた取り組み

特集「人獣共通感染症研究—ワンヘルスの取り組みと動物実験の役割—」は、日本実験動物学会 第7回実験動物科学シンポジウム「人獣共通感染症研究—ワンヘルスの取り組みと動物実験の役割—」(企画：山田靖子先生(東京大学)、有川二郎先生(北海道大学))で取り上げられた講演内容を、企画された先生方の了解を得て各演者の先生方にご執筆いただき4回に分けて掲載します。

接種未完遂例や重度の曝露で行われるべきグロブリン製剤の投与が供給不足により行われていない場合も多い。このように国際的に定められた狂犬病対策が十分に機能しているとはいえ、これが依然として多くの途上国から狂犬病が撲滅できない要因でもある。これらの諸問題を解決するために、侵淫国で負担なく行える新しい科学的根拠に基づいた、狂犬病コントロールのための方策を実装することが期待される。

我々は、これまで蓄積してきた新しい狂犬病に関する診断法、治療・予防に関する数多くの知見を基に、旧来からある国際標準の狂犬病診断、予防・治療法の弱点を改良するために、アジアの重要な狂犬病流行国であるフィリピンにおいて、その有用性を現場に即して実装することを目的とした国際共同研究プロジェクト（「地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム」SATREPS）を行う。これにより同国からの狂犬病根絶に向けた活動を強化し、研究期間終了後には国内での狂犬病死亡者数を

激減させることを目標に掲げている。

取り組みの内容

- 1) 新たに開発した狂犬病動物の洞毛診断法の有用性検証と、開発済みの検査法を組み合わせる感度と迅速性、簡便性をさらに向上させた簡易迅速高感度診断系を構築する。
- 2) 現行のフィリピン全土の獣医系診断ラボを連携させた狂犬病動物診断システムを利用して、上記の簡易迅速高感度洞毛診断法を組み合わせ、現場での感染動物診断への有用性を既存診断法と比較・検討し、狂犬病動物診断系をラボとともに充実させる。
- 3) 狂犬病発症予防のための臨床的背景調査、およびハイリスク者への感染予防対策の追跡調査を行い、保健政策に資するようによりアクセスしやすい効果的曝露後発症予防法を提案する。また真正狂犬病患者と原因不明脳炎と診断された麻痺型狂犬病患者の調査を基に、新たなバイオマーカーの探索による生前診断法を確立する。

フィリピンにおける狂犬病の現状

フィリピンでは、2007年に制定された法律（共和国令第9482号狂犬病対策法）に基づく国家狂犬病予防・制御プログラムが全国で既に展開されているものの、いまだに年間40万人以上の動物咬傷患者と200～300名の狂犬病死亡者が報告されており、その達成はフィリピンにとっての悲願である（図2）。狂犬病撲滅のためには、感染動物への対策と咬傷曝露を受けた人への発症予防策を徹底する必要がある（文献³⁾）。しかし、農村部や島嶼部などが多く、飼育犬の管理が徹底されていないため、狂犬病の流行原因となっている狂犬病犬の感染・侵淫の実態を実験室内病理診断によって正確に把握できていない。つまり戦後わが国が成し得たような犬の登録とワクチン接種の徹底がなされておらず、加害動物の捕獲による臨床観察もほぼなされていない。医療機関で行う咬傷被害者へのワクチン接種可否を正しく判断するために、現在フィリピン熱帯医学研究所（RITM）では、国内の地域獣医診断ラボを相互に連携させ、狂犬病の実験室診断ネットワークの構築を検討課題として挙げている。国際標準法とされている開頭した動物の脳組織を用いた実験室内診断法は、バイオハザードの整った施設・設備と専門の獣医師、病理医が必要で限られた施設で、一部の検体しか行われていない。さらに高温多湿の熱帯地域では、死後時間の経過により脳の融解が進行し、診断的価値が速やかに

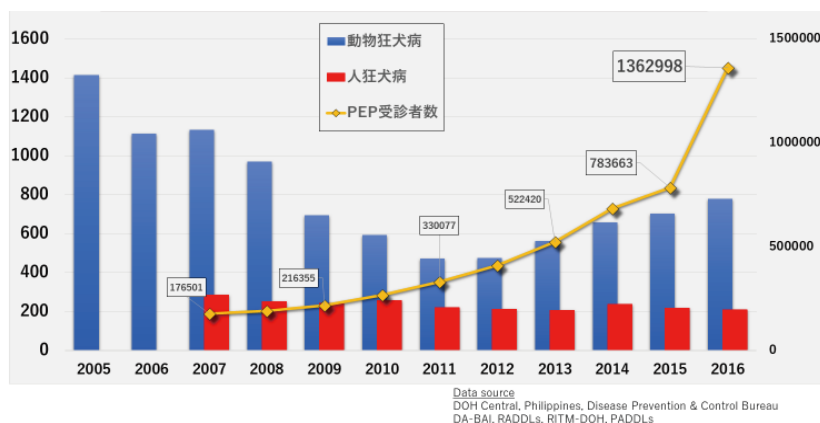


図2 フィリピンにおける人と動物の狂犬病発生数とPEP受診者数

失われることも多く確定診断に至らないことが多い。そのため感染の危険を伴う開頭作業や死後時間の経過に左右されることのない、より簡便で信頼性の高い感染診断法を確立することが求められる。

狂犬病動物から曝露を受けた患者に対する医療面での問題点としては、曝露後発症予防（PEP）の妥当性や効果判定の評価が不十分である。また咬傷原因動物に関する情報はほとんどが口頭で得られ、正確な実験室内診断によるものではない。さらに重症曝露の際に局所投与されるグロブリンは、その絶対的な供給量不足から必要とされる患者の約1/3程度にしか行き渡っておらず、その接種法も守られていないことが多い。2016年フィリピン保健省では、ワクチン、グロブリン製剤を無料化し、多くの医療施設で接種できるように推進している。しかし、これらの施設でワクチン効果の判定体制や教育支援体制は未だ不十分である。現行のWHO推奨のPEPレジメには複数のレジメが存在し、サロゲートマーカーとしてのウイルス中和抗体価の評価と発症予防効果のデータをはまだなく、PEPの医療経済的効果についての評価は全く行われていない。

一方、ヒトの真性狂犬病を臨床病歴や臨床症状のみから確実に診断することは多くの場合困難が伴う。狂犬病の約2割は恐水発作など顕性症状が見られない麻痺型狂犬病にもかかわらず見逃されることも多く、実際の疾

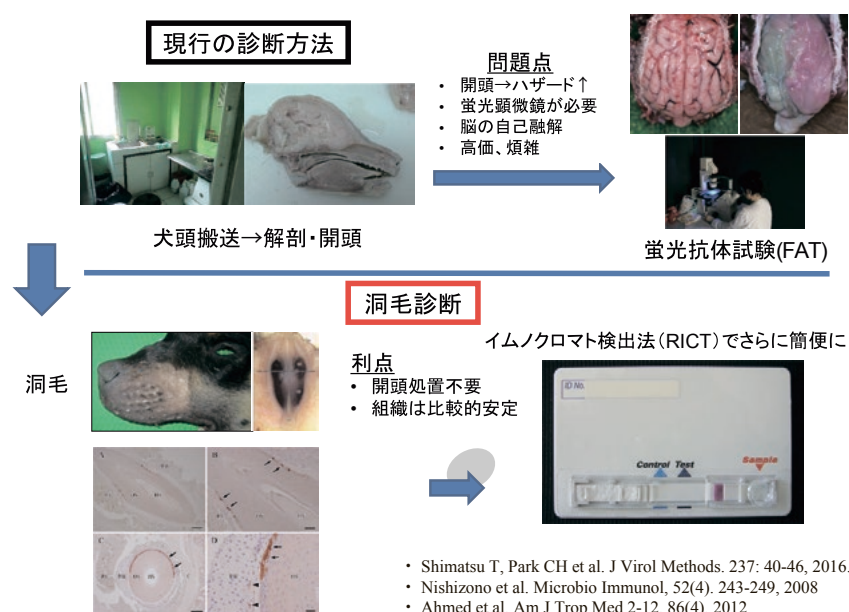


図3 (イヌ)洞毛診断法と旧来法の比較

病負荷が正確に見積もられていない。疾病負荷を正しく把握するには、狂犬病の発症前の生前診断を確実に行うことが必要であるが、現時点で有用な方法はない。加害動物からの曝露情報収集とともに発症前診断をできる限り早期に行うことで、狂犬病発症後でも救命することのできる治療法開発を進めることが将来的には期待される。

本国際共同研究におけるワンヘルスに基づく狂犬病対策の内容

本国際共同研究は、獣医学と医学の連携により進められるアプローチで、獣医学サイド（1、2）と医療サイド（3、4）の内容に大別される。

(1) 犬の洞毛を用いた簡易迅速狂犬病確定診断法の確立と実証

犬の口ひげ（触覚毛）にあたる鼻口部洞毛組織の毛根部は神経分布が豊富で、かつメルケル細胞が感覚受容体として存在す

る。この部位は脳に比べ腐敗しにくいため狂犬病犬ではウイルス抗原が失活しにくく安定的に検出できること（図3）を我々は報告している文献⁴⁾。本法をフィリピン国内の獣医系診断施設で定着させることを最終目的とし、その有用性に関する検証を進め、WHOの認める脳を用いた直接蛍光抗体法（dFTA）との一致率の比較を行う。さらに組織観察によらずに洞毛部位を用いた、より簡便、迅速で検出感度をさらに高めた迅速診断系（簡易PCR法、抗原診断用イムノクロマトキット）の構築を目指す。なかでもイムノクロマト法による狂犬病抗原検出法（図3）は既に我々が報告済みで、直ぐにでも現場への応用が可能である文献⁵⁾。

(2) 新規感染診断法の現行動物感染診断システムへの適用と実装

RITMを中核とした全国の獣医系診断ラボを連携させた狂犬

病動物診断システムを利用して、項目1で開発された迅速簡易洞毛診断法を組み合わせる。現場での感染動物診断への有用性の検討を開頭後脳摘出によるWHO、OIE既存標準法と比較・検討し、適用と実装における課題等を検証しながら診断系の改良を行う。既に構築されている全国獣医診断ラボとRITM獣医診断部の間での狂犬病被疑動物（イヌ）の輸送システムの適用における課題等の検証と改善を行う。また、改良・開発した簡易PCR法、抗原診断用イムノクロマトキットについての診断システム構築と導入に向けた検討を行う。このなかで検体の保存状態、検出感度、簡便性などの観点から地方の動物検査室でも負担なく検査が行える方法を実装する。次に狂犬病患者の高発地域を選別し、選ばれた検査法を現行の狂犬病感染動物の国内サーベイランスに乗せ、イヌを中心とした狂犬病浸淫状況の全国的把握を行うと同時に、これら迅速診

断検査が全国に実装されることで、より正確かつ迅速に現状を反映した感染犬と患者発生状況マップをクラウド上で構築し、SNSなどで地域住民に発信し狂犬病犠牲者の減少につなげる（図4）。

(3) 効果的発症予防のための臨床的背景調査および医療従事者への感染予防対策

効率的な狂犬病制御のために、狂犬病感染リスク、曝露後の受療行動とそれを規定する因子を解明することは、保健政策上重要な課題である。国立サンラザロ病院（SLH）の過去10年間の間に入院した真正狂犬病患者（典型的狂躁病症状から臨床的に診断された例）の後ろ向き調査を基に、患者背景（動物の状況、曝露の重症度、PEP、居住地域などの生活歴）からリスク地域をいくつか設定し、前方視的に狂犬病ハイリスク地域で家屋横断調査を実施し、曝露率と曝露後治療外来の受療率を明らかにし、関連する社会経済的因子を

解明する。特にWHOが定義するカテゴリー IIIの重度の咬傷曝露患者に絞り、RITMとSLHの倫理委員会の承認を受け、PEPの状況の背景を調査するとともに、経時的採血により血中ウイルス中和抗体価の推移と臨床経過をフォローする。また、ワクチンによる狂犬病発症の防止効果を正確に判定するため、ワクチン接種後の患者の追跡調査を行い、狂犬病の発症を正確に把握し、上記（2）と連結させ狂犬病発生実態情報を地域一般住民へ周知する。

またフィリピン国内で狂犬病制御に当たる医療・獣医関係者など、狂犬病の感染曝露が予想されるハイリスク者の曝露前ワクチン接種の効果について、我々が開発したウイルス中和抗体価をイムノクロマト法による迅速ウイルス中和抗体価測定法（RAPINA法）を利用して評価し^{文献6、7）}、効率的なワクチン接種レジメの検討と各医療機関でのワクチン効果判定システムの構築を行う。

(4) 人の狂犬病発症前診断法の確立

SLHに入院した真正狂犬病患者と狂犬病疑いで入院となった患者を登録し、リスク因子の解析と生前診断のための臨床検体採取（血清、毛根、唾液）と前方視的調査を開始し、ウイルス・宿主側の因子を解明する。このため、狂犬病ウイルス実験感染マウスモデル^{文献8）}を用いた発症前診断用バイオマーカーのスクリーニングと候補分子の選定、およびそのヒト用検出系構築は

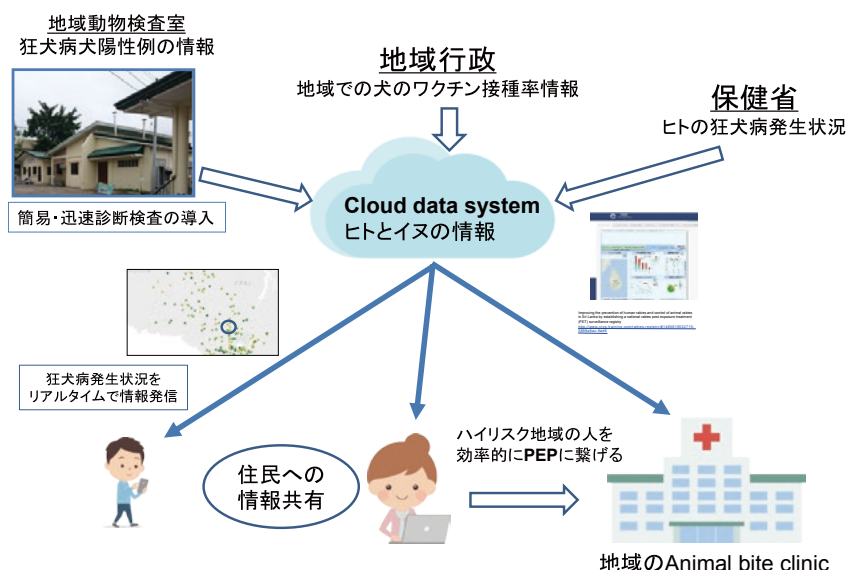


図4 フィリピンSATREPSにおけるイヌとヒトの狂犬病関連情報を集約したデータマネジメントシステムの構築

まず実験室内で行う。その後、選別したバイオマーカー候補については、その評価のためのサンドイッチELISAによる検出系を構築し、前述の真正狂犬病患者の前向き研究と原因不明脳炎の前向き研究で集められた検体を用いて、これらの選別したバイオマーカーの有用性について検討する。

本稿は、平成30年6月30日（札幌）第7回実験動物科学シンポジウム 人獣共通感染症研究-ワンヘルスの取り組みと動物実験の役割にて口頭発表した内容を中心にまとめたものである。

参考文献

1. Fooks AR, Cliquet F, Finke S, et al. Rabies. *Nature Reviews* 2017; 3, Article number: 17091.
2. 西園晃. 狂犬病 最新の知見も含めて モダンメディア64巻6号 2018: pp213-218
3. World Health Organization (WHO). WHO Expert Consultation on Rabies, Third report. *WHO technical report series* 1012. 2018.
4. Shimatsu T, Shinozaki H, Kimitsuki K, Shiwa N, Manalo DL, Perez RC, Dilig JE, Yamada K, Boonsriroj H, Inoue S, Park CH. Localization of the rabies virus antigen in Merkel cells in the follicle-sinus complexes of muzzle skins of rabid dogs. *J Virol Methods*. 237: 40-46, 2016.
5. Ahmed K, Wimalaratne O, Dahal N, Khawplod P, Nanayakkara S, Rinzin K, Perera D, Karunanayake D, Matsumoto T, Nishizono A. Evaluation of a monoclonal antibody-based rapid immunochromatographic test for direct detection of rabies virus in the brain of humans and animals. *Am J Trop Med Hyg*. 2012 Apr;86(4):736-40.
6. Nishizono A, Yamada K, Khawplod P, Shiota S, Perera D, Matsumoto T, Wimalaratne O, Mitui MT, Ahmed K: Evaluation of an improved rapid neutralizing antibody detection test (RAPINA) for qualitative and semiquantitative detection of rabies neutralizing antibody in humans and dogs. *Vaccine*. 2012 Jun 6;30(26):3891-6.
7. Manalo DL, Yamada K, Watanabe I, Miranda MEG, Lapid SMD, Tapdasan E, Petsophsakul W, Inoue S, Khawplod P, Nishizono A. A comparative study of the RAPINA and the viral-neutralizing test (RFFIT) for the estimation of antirabies-neutralizing antibody levels in dog samples. *Zoonoses Public Health*. 2017 64(5): 355-362.
8. Isomura, M, Yamada, K, Nishizono, A, et al. (2017): Near-infrared fluorescent protein iRFP720 is optimal for *in vivo* fluorescence imaging of rabies virus infection. *J Gen Virol*. 98:2689-98.

（日動協ホームページ、LABIO21カラーの資料の欄を参照）

バイオサイエンス
トータルサポート企業として
生命科学の発展に
大きく貢献する
株式会社ケー・エー・シー

実験動物飼育管理事業・
受託試験事業・研究用
試薬提供事業の
3つの柱で製薬会社や
大学等研究機関の
ニーズにお応えしています。

株式会社 ケー・エー・シー 京都市中京区西ノ京西月光町40番地

URL : <http://www.kacnet.co.jp/>