

サルレトロウイルス, その後

岡本宗裕

京都大学霊長類研究所人類進化モデル研究センター

要約

京都大学霊長類研究所で発生したニホンザル血小板減少症は、サルレトロウイルス4型 (SRV-4) と深い関連があると考えられたため、発症ニホンザルより分離した SRV-4 を4頭のニホンザルに投与した。その結果、感染後1月ほどで全ての個体において血小板の急激な減少が認められ、歯茎からの出血等が確認された。これらの症状は、血小板減少症を発症したニホンザルと同様であり、さらに4頭全てのPBMC、リンパ節等からSRV-4が分離できた。このことから、ニホンザル血小板減少症の病原体はSRV-4であることが確認された。このSRV-4は、1990年代の始めに導入されたカニクイザルと共に霊長類研究所に持ち込まれたと推定された。カニクイザル、ニホンザルともに、ウイルス血症となっても発症しない個体がいることが明らかとなり、ウイルスの伝播にはこれらの無症候性キャリアが深く関与したと考えられた。霊長類研究所におけるニホンザル血小板減少症は、SRV-4感染をコントロールすることにより撲滅できたと考えられるが、発症機序、持続感染機序、自然宿主等不明な点が多く、引き続き研究が必要である。

1. これまでの経緯

本疾病が初めて観察されたのは、2001年のことで、その年に2頭、翌2002年に5頭が発症し、うち6頭が死亡した。その後6年間発生は見られなかったが、2008年3月に再び発症個体が発見され、2011年2月までの間に44頭が発症し、43頭が死亡した(予後不良と判断して安楽殺した個体を含む)。発症した個体は、顔面蒼白、鼻粘膜・歯茎・皮下の出血、褐色の粘血便等を呈し、一旦発症すると致死率は極めて高い。血小板数の激減、それに続く赤血球並びに白血球数の低下が発症個体共通にみられ、死亡時にはほとんどの場合血小板数はゼロになる。

国内の複数の研究機関の協力のもと、さまざまな方法で原因の究明にあたった結果、霊長類研究所で発生したニホンザルの病気は、SRV-4(サルレトロウイルス4型)と深い関連があるという証拠が得られた。徹底したSRV-4の検査と罹患個体の隔離、ウイルス血症個体の淘汰を行った結果、2011年2月の隔離個体の発症以降、発症した個体はいない。

SRV-4をコントロールすることで疾病の発症を抑えられたことから、SRV-4が本症の原因病原体と考えられたが、SRV-4がコッホの原則を全て満たす病

原体かどうかを確かめるためには感染実験が不可欠であった。

2. 感染実験

京都大学ウイルス研究所の協力のもと、同研究所のP3施設において、SRV-4のニホンザルへの感染実験を行った。発症個体から分離したSRV-4を*in vitro*培養し、4頭のニホンザルの静脈および腹腔内に投与した。投与後、血中の血小板数、ウイルス量を経時的に調べると共に一般性状、出血の有無等を確認した。その結果、SRV-4ウイルスRNAは投与後4日目から血漿中に確認され、11日目以降は全ての個体で高いレベルのまま維持された。血小板数は、25日目まではほぼ正常値を維持していたが、それ以降急激に減少し、いずれの個体でも1万以下となった。1個体は死亡、その他の個体は予後不良と判断し、投与後37日目までに安楽殺した。剖検時の肉眼所見では、歯茎からの出血、腸管からの出血が見られたが、その他には特別な病変は認められなかった。また、病理学的検査においても骨髄以外、特に異常は認められなかった。これらの所見は、霊長類研究所で発生した血小板減少症の典型的な病態と同様であり、

これら4頭のニホンザルはSRV-4の投与により血小板減少症を発症したと考えられた。また、これら4頭のPBMC、脾臓、リンパ節等からSRV-4を分離することができた。以上の結果は、コッホの原則を全て満たすものであり、我々は霊長類研究所で発生したニホンザル血小板減少症の原因病原体はSRV-4であると結論づけた。

3. 霊長類研究所への侵入経路

前回のニュースで書いたとおり、SRV-4についての論文報告は今回の例を含めても過去に4度しかなく、霊長類研究所のものを除き、いずれもカニクイザルから発見されている。また、野生ニホンザルからは、これまでいずれのセロタイプの外来性SRVも検出されたことはない。このことから、霊長研で血小板減少症を引き起こしたSRV-4は過去に霊長類研究所に導入されたいずれかのマカク類が持ち込んだものと考えられた。霊長類研究所では、入荷時に全ての個体に対して入荷検疫を実施しており、そのときの血漿は超低温フリーザーに保存してある。そこで、過去にさかのぼって保存血漿中のSRV-4を検査した。その結果、1991年にある企業から導入したカニクイザル1頭の血漿中にSRV-4のウイルスRNAを確認した。つまり、導入したこの1頭はSRV-4のウイルス血症であったことになる。現在このウイルスRNAの遺伝子型を血小板減少症の原因となったウイルスと比較しているが、もしこれらが一致した場合（もちろん、時間を経ているため多少の変異は予想される）、罹患ザルを導入後、約10年の歳月を経て最初の発症が起こったことになる。

4. 無症候性キャリアと伝播経路

発症した個体の多くは、発症するまで一般性状にはほとんど変化が見られないため、血液データを含め発症直前のデータはほとんどない。しかし、発症個体と同室で飼育していた数個体についてはモニタリングのため定期的に採血しており、発症数週間前からの血漿が保存されていた。そこで、それらの血漿中のウイルス量を調べたところ、発症1ヶ月前ではいずれの個体においてもウイルスRNAは確認できなかった。また、上述のように感染実験でも血漿中にウイルスを確認した後、1ヶ月以内に発症している。このことから、発症した個体はウイルス血症になってからきわめて短時間の間に発症していることがわかる。この事実から考えると、発症個体が他の個体にウイルスを伝搬する可能性がある期間は1ヶ月足

らずということになる。SRV-4の伝搬にはもっと別の個体が関与している可能性が高いと思われた。

我々は、抗SRV抗体、プロウイルスDNA、ウイルスRNAを調べることによりSRV-4の検査を実施している。発症個体では、プロウイルスDNA、ウイルスRNAはともに陽性となるが、抗SRV抗体が検出されないのが本症の大きな特徴である。ところが、プロウイルスDNA、ウイルスRNAが陽性で抗SRV抗体の産生が見られない個体でも、血小板の減少が起こらない個体が多数いることがわかってきた。我々は、当初、このような個体は発症前の予備軍と考え、発見次第隔離室での飼育に切り替えてきたが、そのほとんど全てが発症することなくその後も生存し続けた。保存血漿を調べた結果、このような例では数年にわたってウイルス血症のまま生存していることも希ではなく、1期と2期で発症後に生き残った2頭も同様の状況であった。SRV-4の伝搬にはこのような無症候性キャリアの存在が深く関与していたと考えられ、実際保存血漿を使って感染経路をたどってみると、そのほとんど全てがカニクイザルかニホンザルの無症候性キャリアにたどりつく。1991年に霊長類研究所に導入されたカニクイザルも検疫を問題なく通過しその後実験に使用されていたことから、無症候性キャリアであったと考えられる。ただし、無症候性とはいってもそれは「血小板減少」についてのことであり、カニクイザルのSRV感染で報告されている下痢や消瘦等の症状を頻発していた個体は何頭か確認されている。その様な個体は入院等で移動を繰り返しており、さらに病気を広げる一因となったようである。

5. 今後の課題

上述のように、霊長類研究所では徹底したSRV-4の検査と陽性個体の隔離、淘汰を実施した結果、新たな発生は見られておらず、ここ1年ほどは各検査で陽性となる個体も全くない。おそらく、SRV-4撲滅に成功したものと考えている。一方で、どのような機序で発症に至るのか、同じウイルス血症になっても発症する個体と発症しない個体がいるのはなぜなのか等、SRV-4に由来する血小板減少症の本質については未だ不明な点が多い。調べた限りでは、発症したサルから分離されたウイルスと発症していないウイルス血症のサルから分離されたウイルスのRNA塩基配列の間に差は見られなかった。また、TRIM等のウイルス感染抵抗性因子やMHCと発症との関連も検討しているが、今のところ発症を制御するサル側の因子は見つかっていない。

感染源についても大きな問題である。これまでカニクイザルからしか SRV-4 が見つかっていないこと、実際霊長類研究所に導入されたカニクイザルがウイルス血症であったことから、我々はカニクイザルが SRV-4 を持ち込んだと考えている。我が国には年間数千頭のカニクイザルが輸入されているが、輸入検疫の項目に SRV は含まれていない。野生ニホンザルにこの病気が持ち込まれたときの重大性を鑑みれば、今後何らかの対策が必要と考えられる。

霊長類研究所の例を含め SRV-4 についての過去の報告はいずれも実験動物として飼育されていたサルからのものであり、自然界での SRV-4 の宿主についての情報は全くない。確かにカニクイザルは重要なレゼルボアである可能性が高いが、霊長類研究所では、アカゲザル等の他のマカク類においてもウイルス血症の個体が発見されている。SRV-4 の自然宿主がカニクイザルと断定することはできない。また、国内の他の施設からは、SRV-5 によって同様のニホンザル血小板減少症が起こることが報告されている。野生ニホンザルには外来性 SRV の感染が全く見られないことから、ニホンザルは SRV 全般に対して感受性が高い可能性があり、今後他のセロタイプによる血小板減少症の発生も否定できない。我が国固有の霊長類であるニホンザルを守るためにも、野生を含めたマカク類全般の SRV 調査が必要である。

参考文献

1. Montiel, N.A. 2010. An updated review of simian betaretrovirus (SRV) in macaque hosts. *J. Med. Primatol.* 39: 303–314.
2. Zao, C.L., Armstrong, K., Tomanek, L., Cooke, A., Berger, R., Estep, J.S., Marx, P.A., Trask, J.S., Smith, D.G., Yee, J.L., and Lerche, N.W. 2010. The complete genome and genetic characteristics of SRV-4 isolated from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Virology* 405: 390–396.
3. Fujimoto, K., Takano, J., Narita, T., Hanari, K., Shimozawa, N., Sankai, T., Yosida, T., Terao, K., Kurata, T., and Yasutomi, Y. 2010. Simian betaretrovirus infection in a colony of cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Comp. Med.* 60: 51–53.
4. Lerche, N.W., Switzer, W.M., Yee, J.L., Shanmugam, V., Rosenthal, A.N., Chapman, L.E., Folks, T.M., and Heneine, W. 2001. Evidence of infection with simian type D retrovirus in persons occupationally exposed to nonhuman primates. *J. Virol.* 75: 1783–1789.
5. 吉川泰弘. 2010. ニホンザル血小板減少症の原因究明についての報告 (2010-11-11 公表文).
6. 岡本宗裕. 2010. 京都大学霊長類研究所で発生したニホンザル血小板減少症とその病因. 第 108 回関西実験動物研究会.
7. 吉川泰弘. 2011. ニホンザルの流行性血小板減少症について. *LABIO* 21 44: 11–15.
8. 喜多正和, 岡本宗裕. 2011. サルレトロウイルス 4 型 (SRV4) 実験動物ニュース 60: 32–34.
9. 岡本宗裕. 2011. 忘れ去られた病気「ニホンザル血小板減少症」. *生き物たちのつづれ織り*. 第 4 巻: 96–102.
10. 稲垣晴久, 山根 到, 浜井美弥, 伊佐 正, 岡本宗裕. 2012. SRV-5 の関与が疑われる血小板減少症. 一生理学研究所ニホンザルにおける事例一, *オベリスク* 17: 11–13.