

資料

重症熱性血小板減少症候群（SFTS）患者のウイルス抗体追跡調査

Viral Antibody Follow-up of Patients with Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome

山本真実 岩元由佳¹ 浦元千織²
穂積和佳³ 中山浩一郎 御供田睦代

1 はじめに

重症熱性血小板減少症候群（以下「SFTS」という。）は、2011年に中国で初めて確認されたマダニ媒介性の新興感染症で、2013年1月に国内で国外渡航歴のない患者が初めて確認された¹⁾。

本県では、2013年4月に初めて患者が報告され、2018年6月30日までに35名の患者が報告されている。

現時点では本疾患の治療は対症療法が中心であり、有効な治療薬がない。

現在までに県内でも10名が死亡していることから公衆衛生上大きな課題となっている。

これまで、当センターでは県内におけるヒトのSFTSウイルス抗体検査を実施したが、抗体保有者は極めて少ないことがわかった^{2),3)}。

このようなことから、SFTSウイルスの抗体の推移及び持続期間についての知見を得るため、2017年4月から2020年3月まで、SFTS患者のウイルス抗体追跡調査を行っている。今回は3症例について報告する。

2 調査方法

2.1 対象

現在までにSFTSと診断された患者のうち、本研究のための検体採取及び検体提供に同意した患者を対象とした。

2.2 検体の採集方法

本研究に賛同し協力が得られた医療機関において、

SFTS患者の急性期及び発症から約1ヶ月後、3ヶ月後、6ヶ月後、1年後、可能な限り経年ごとに採血した血清を用いた。

2.3 SFTSウイルス抗体検査

国立感染症研究所（以下「感染研」という。）ウイルス第一部が作成したマニュアル（図1）に基づき、ELISA法（酵素免疫測定法）によるIgG抗体の測定をした。測定後、同検体を感染研へ送付し、ELISA法でのIgM抗体、IF法（間接蛍光抗体法）でのIgG抗体、中和抗体及びPCR法によるウイルス量の測定を依頼した。

固相化(抗原は国立感染症研究所から分与)
Ag#1:SFTSV HB29 infected Huh7 cell lysate
Ag#2:Mock Huh7 cell lysate
抗原(800倍希釈)100μL/well
↓ 4°C 一晚静置
洗浄
↓
Blocking試薬
↓ 2時間静置
洗浄
↓
検体100μL(100倍希釈)
↓ 2時間静置
洗浄
↓
抗ヒトIgG抗体100μL(500倍希釈)
↓ 1時間静置
洗浄
↓ 1時間静置
ABTS(発色試薬)100μL
↓ 30分静置
405nm(reference490nm)吸光度測定

判定:測定値がCutoff値以上の検体を陽性
(100倍希釈, IgM Cutoff=0.211 IgG Cutoff=0.562)

図1 ELISA法

2.4 倫理面への配慮

本調査研究は鹿児島県環境保健センター疫学研究倫理規定に基づき、同委員会の承認のもと実施した。

1 熊毛支庁屋久島事務所
2 退職
3 県立大島病院

〒891-4311 熊毛郡屋久島町安房650
〒894-0015 奄美市名瀬真名津町18-1

3 患者概要

3.1 症例1

70歳女性。発症約9日前にたけのこ取りのため山に入った。

発熱、頭痛、吐き気により近医を受診し、その後、状態悪化のため2日後に転院し、入院となった。入院3日後に意識障害が出現し、発症後11日の検体で当センターのPCR検査によりSFTS陽性となった。

入院当初は血小板の軽度減少と肝機能、CRPの軽度上昇があり、発症後11日では、血小板が更に減少し、肝機能の上昇が見られた。その後、発症後14日には、回復傾向となった(表1)。

表1 検査データ(症例1)

項目	発症後 2日	11日	14日
血小板数(μL)	11.7×10^4	4.20×10^4	17.2×10^4
白血球数(μL)	4.01×10^3	5.48×10^3	4.85×10^3
AST (IU/L)	45	197	48
ALT (IU/L)	23	108	60
LDH (IU/L)	271	1175	565
CRP	0.41	0.09	0.30

3.2 症例2

77歳男性。発症前に屋外で作業を行った。

発熱、関節痛、食欲不振、全身倦怠感により近医を受診し、2日後に意識障害が出現し転院し、入院となった。発症後4日の検体で当センターのPCR検査によりSFTS陽性となった。

初診時(発症後1日)には、血小板と白血球の軽度減少及び肝機能の低下が見られ、発症後4日には、血小板と白血球が更に減少していた(表2)。

表2 検査データ(症例2)

項目	発症後 1日	4日
血小板数(μL)	11.2×10^4	5.30×10^4
白血球数(μL)	3.11×10^3	1.76×10^3
AST (IU/L)	298	275
ALT (IU/L)	275	211
LDH (IU/L)	—	537
CRP	—	0.01

3.3 症例3

78歳女性。発症の数日前に草刈りを行った。

微熱、下痢、食欲不振によりかかりつけ医を受診し、発症後2日の検体で当センターのPCR検査によりSFTS陽性となった。

症状は比較的軽症で通院治療となった。

初診時に血小板と白血球の減少が見られた(表3)。

表3 検査データ(症例3)

項目	発症後 1日	4日
血小板数(μL)	8.80×10^4	10.8×10^4
白血球数(μL)	1.50×10^3	2.80×10^3
AST (IU/L)	72	66
ALT (IU/L)	34	39
LDH (IU/L)	401	391

4 結果

4.1 症例1

発症後11日、14日、17日、21日、約3ヶ月、約6ヶ月の検体を採取した(表4)。

ELISA法においては、発症後21日の検体からIgM抗体とIgG抗体が検出され、IgG抗体は約6ヶ月まで検出された。

IF法及び中和抗体においては、発症後11日の検体から約6ヶ月後の検体まで検出された。

PCR法によるウイルス量の測定では、発症後11日の検体のみウイルスが検出された。

4.2 症例2

発症後4日、19日、約1ヶ月、約3ヶ月、約6ヶ月の検体を採取した(表5)。

ELISA法においては、発症後19日の検体からIgM抗体とIgG抗体が検出され、IgM抗体は約3ヶ月後、IgG抗体は約6ヶ月後まで検出された。

IF法においては発症後19日の検体から、中和抗体においては発症後4日の検体から検出され、ともに約6ヶ月後の検体まで検出された。

PCR法によるウイルス量の測定では、発症後4日の検体のみウイルスが検出された。

4.3 症例3

発症後2日の検体及び発症後約3年が経過した検体を採取した(表6)。

表4 検査結果 (症例1)

発症後	11日	14日	17日	21日	約3ヶ月	約6ヶ月
項目						
IgG ELISA法 (×100)	0.239	0.291	0.359	0.562	2.804	2.667
IgM ELISA法 (×100)	0.109	0.105	0.137	0.217	0.113	0.076
IF法 (IgG)	>640	>640	>640	>640	>640	>640
PCR法 (copies/mL)	2.22×10^4	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	実施せず
中和抗体	5	20	80	>320	>320	>320

表5 検査結果 (症例2)

発症後	4日	19日	40日 (約1ヶ月)	47日 (約1ヶ月)	約3ヶ月	約6ヶ月
項目						
IgG ELISA法 (×100)	0.003	1.215	2.323	2.102	2.509	2.440
IgM ELISA法 (×100)	-0.059	0.823	0.547	0.525	0.230	0.093
IF法 (IgG)	<10	>640	>640	>640	>640	>640
PCR法 (copies/mL)	2.19×10^4	Neg.	Neg.	Neg.	実施せず	実施せず
中和抗体	5	80	>320	>320	>320	80

表6 検査結果 (症例3)

発症後	2日	約3年
項目		
IgG ELISA法 (×100)	0.276	2.779
IgM ELISA法 (×100)	0.403	0.014
IF法 (IgG)	160	>640
PCR法 (copies/mL)	6.26×10^3	Neg.
中和抗体	<5	>320

ELISA法においては、発症後2日の検体からIgM抗体が検出され、約3年後の検体からIgG抗体が検出された。

IF法においては発症後2日及び約3年後の検体から検出され、中和抗体は約3年後の検体から検出された。

PCR法によるウイルス量の測定では、発症後2日の検体のみウイルスが検出された。

5 考察

ELISA法では、症例1、症例2ともにIgM抗体及びIgG抗体が発症後20日頃から検出され、約3ヶ月後頃からIgG抗体がピークとなった。

同じくIgG抗体を測定しているIF法ではELISA法に比べ、症例1、症例3は早い時期から検出され、検査法で感度の違いが見られた。

また、ウイルス量については、死亡患者の急性期のウイルス量の平均値は回復した患者のそれに比べ優位に高く、多量のウイルス (10^6 copies/mL以上) が存在すると考えられており¹⁾、今回の3症例は生存例であったためウ

イルス量が比較的少なく、発症から10日程度で抗体の上昇とともに検出されなくなった。

症例3は、症例1、2と比べ軽症でウイルス量も少なかった。そして、IgM抗体の上昇は早く、約3年後のIgG抗体が他の2症例の約6ヶ月後よりも高値であった。その背景としては、高齢であること、発症時のウイルス量が多いこと、重症であることといった因子をもつ患者はこれらがない患者に比べて急性期のIgM抗体及びIgG抗体が低くなる²⁾からではないかと考えられる。

6 まとめ

今回の症例の現在までの結果では、一般的なウイルス感染症と同様の抗体の上昇が見られ、中和抗体もIgG抗体と同様の推移であると考えられる。

今回の調査において、SFTSウイルス抗体は比較的長く持続すると推測されるが、本県のこれまでの調査によると、本県のマダニのウイルス保有率は7%⁶⁾で、毎年10名程度の患者が届出されている中、調査地区における住民調査ではダニの刺咬歴が57.7%に対して、抗体保有率は0.3% (646名のうち抗体陽性者2名) と予想よりも低かった²⁾。

この結果については、IgM抗体、IgG抗体の長期追跡調査等、更なる免疫作用等の精査が必要であるが、死亡例が多いこと、刺咬歴に高齢者が多いことも一因と考えられる。

今回は3症例の現時点での報告であるため、今後も可能な限り検体の収集に努め、SFTS患者の抗体の推移及

び持続期間について調査を継続していく。

謝辞

今回の調査において、抗体検査及びウイルス量検査への御協力をいただきました国立感染症研究所ウイルス第一部福士秀悦先生、西條政幸先生に深謝いたします。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所；重症熱性血小板減少症候群 (SFTS), <http://www.niid.go.jp/niid/ja/sfts/3143-sfts.html>
- 2) 御供田睦代, 中堂園文子, 他；鹿児島県におけるヒトの重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルス抗体保有状況調査, 本誌, 17, 51～53 (2016)
- 3) 岩元由佳, 浦元千織, 他；献血血液における重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルス抗体の保有状況調査, 本誌, 18, 39～40 (2017)
- 4) Yoshikawa T, Fukushi S, et al ; Sensitive and specific PCR systems for detection of both Chinese and Japanese severe fever with thrombocytopenia syndrome virus strains and prediction of patient survival based on viral load. *J Clin Microbiol* 52, 3325～33 (2014)
- 5) Lu QB, Cui N, et al ; Characterization of immunological responses in patients with severe fever with thrombocytopenia syndrome: A cohort study in China. *Vaccine* 33, 1250～5 (2015)
- 6) 岩元由佳, 浦元千織, 他；マダニの SFTS ウイルス保有状況等に関する調査, 本誌, 18, 33～38 (2017)
※上記アドレスについては、原稿作成時のものであり、変更される場合があります。