

令和元年6月18日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05833

研究課題名(和文) 東南アジアのイヌ肉食習慣における狂犬病感染のリスク調査と対策

研究課題名(英文) Investigation of rabies infection risk for the population having habitat of dog-meat eating in southeast Asian countries

研究代表者

西園 晃 (Nishizono, Akira)

大分大学・医学部・教授

研究者番号：70218155

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,300,000円

研究成果の概要(和文)：東南アジアにはイヌ肉を食べる文化があり、感染犬とその食肉の取り扱いに伴う狂犬病感染リスクが想定されるが、実態は全く知られていない。3年間の計画で、ベトナム、フィリピンでのイヌ肉取り扱いによる非定型狂犬病曝露の可能性、リスク因子の解析を行った。その結果、これらの国では動物咬傷に依らずイヌ肉を食べるまたはその肉を扱うことで、狂犬病ウイルスに感染する非定型的な感染様式が存在することが明らかになった。特にベトナムのイヌ食肉市場従事者の中には、イヌからの咬傷曝露歴や狂犬病ワクチン接種歴がないにもかかわらず狂犬病ウイルスに対する抗体を有し、微量のウイルスの曝露による不顕性感染が成立したと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

東南アジアの国には動物咬傷に依らずイヌ肉を取り扱うことで、狂犬病ウイルスが感染するような非定型的感染ルートの存在が明らかになったことで、イヌ肉摂取の危険性について住民に周知させる必要があると考えられた。今回の国際共同研究が基盤となり、フィリピン熱帯医学研究所との間で平成30年度SATREPS事業が採択された。ここでは現行の狂犬病発生動向調査に、途上国で適応可能な迅速・簡便診断法を加えた動物の狂犬病確定検査法の有用性を検証し、医・獣連携ワンヘルスによる国内全土にわたる狂犬病コントロールシステムの基盤強化と情報共有基盤を構築するという、社会実装を目指した取り組みにつなげることができた。

研究成果の概要(英文)：Culture of dog meat eating is special habitat existing in southeastern Asian countries but the risk of rabies infection associated with the handling of infected dogs and their meat is assumed, but the actual situation is not known at all. In a three-year plan, we analyzed risk factors for possible atypical rabies exposure from dog meat handling in Vietnam and the Philippines. As a result, it became clear that an atypical infection mode to infect a rabies virus by eating or treating the infected-dog meat without depending on an animal bite in these countries. Especially in the dog meat market workers in Vietnam, despite having no history of bite exposure from dogs and no history of rabies vaccination, they have antibodies against rabies virus and a latent or subclinical infection was considered to be established by the exposure to a small amount of virus.

研究分野：ウイルス学

キーワード：狂犬病 アジア 中和抗体 ワクチン 食習慣

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

狂犬病は狂犬病ウイルスにより引き起こされ、イヌなどの感染哺乳動物からの咬傷曝露により感染する。発症すると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。そのため、曝露後にワクチン投与などの適切な発症予防を行うことが救命のために必須である。世界では年間約50,000人以上が死亡し、約2,000万人が曝露後予防処置を受けており、WHOには「顧みられない熱帯病 Neglected Tropical Diseases (NTD)」の一つに挙げられている。世界全体で狂犬病対策にかかるコストは毎年1,240億ドルと見積もられ公衆衛生上重大な問題であるが、国内外とも研究者人口は少ない。

一方、イヌは人間の良き伴侶として、また一部の国々では宗教上の理由から食肉として供されることはないが、農耕文化が主体のアジア、アフリカの一部ではイヌ肉の食文化が存在する。特に中国南部や東南アジア地域では広くイヌ肉を食する習慣が存在しており、中国南部、ベトナム、ラオスなど北部インドシナ地域では需要が高い。イヌ肉を食する文化があれば、当然これらの供給を生業とする者もいて、実際インドシナ圏内ではイヌ肉の正規、非正規のイヌ（肉）流通ルートが存在し（右：写真と図）、食肉処理場ではこれを屠殺し食肉として供給するシステムが存在し、ベトナム国内では年間500万頭ものイヌが食肉に供されている¹⁾。フィリピンではイヌ肉食は法律で禁止されているが、非正規に存続しており、2015年3月には狂犬病に罹患したイヌ肉の喫食により13人が曝露後治療を受けたニュースがあった²⁾。また近年、タイではイヌ肉の取引は法律で禁止されるようになったが、イヌを捕獲して脱法的に生きたまま輸出する業者が後を絶たず、大きな問題になっている。しかも、こうしたイヌの流通において、狂犬病を含めた動物の安全性と市場関係者の健康チェックは行われておらず同じく問題となっている。



トラックに満載され市場に送られるイヌ



狂犬病の感染は良く知られる動物咬傷以外の非定型的経路でも伝搬する可能性がある。2009年に研究代表者のベトナムでの研究カウンターパートであるNguyen博士らは、動物からの咬傷曝露歴が無いにもかかわらず、狂犬病と確定診断された患者が、獣肉の屠殺に関わっていたことを初めて報告した³⁾。彼らはベトナムで市場に供給されるイヌの約2%が狂犬病ウイルスに感染していることを掴んでいる（私信）。食肉解体にあたる際に狂犬病犬が混在していることが予想されるにもかかわらず、手袋などの防御も無く感染動物の肉や脳、内臓を扱い、気付かずに狂犬病ウイルスに曝露され、発症する場合もあると考えられる。実際、ナイジェリアにおいて、食用に供されるイヌの5%に狂犬病の感染が認められ、イヌ肉の取扱者の多くがその作業中に咬傷を受けていることも報告されている⁴⁾。

狂犬病は体内への侵入ウイルス量が多ければ、顕性感染から発症に至るが、微量または弱毒化ウイルスに繰り返し曝露されることで、発症に至らず免疫を獲得することもあり得ると考えられる。このような非定型的な感染経路について、我々はマウスの実験感染でその可能性を示唆した⁵⁾。

Nguyen博士らによる獣肉解体業者を対象にした予備的な調査によると、イヌ肉を扱うことが狂犬病感染のリスクとなり得ることへの意識の低さ（ほとんどの住民は動物に咬まれる以外狂犬病感染の機会は無いと考えている）が浮き彫りとなったばかりでなく、何らの個人的防御策を講じていないことも明らかになった。

一方で、我々は予備的に北部ベトナム地域およびラオスの住民を対象に血清調査を行ったところ、動物からの咬傷も無く、狂犬病ワクチンを接種した履歴がないにもかかわらず抗体陽性者が20数%に見出された⁶⁾。このことから、咬傷には依らない、イヌ肉の加工処理による狂犬病曝露リスクが一定レベルで存在し、不顕性感染もしくは非定型狂犬病例で狂犬病と診断されなかった可能性の存在も示唆されるが、より詳細な実態調査及び調査結果に基づいた対策が必要であると考えに至ったのが本研究の背景である。

参考文献

1) Vietnamnet, 2014. <<http://vietnamnet.vn/vn/kinh-te/162057/an-nhau-viet-nam--5-trieu-con-cho-va-3->

ty-lit-bia.html

- 2) ProMED-mail no. 20150316.3234703.<<http://www.promedmail.org/direct.php?id=3234703>>
- 3) Wertheim HF, Nguyen TQ, Nguyen KA, et al. PLoS Med. 6(3): e44, 2009.
- 4) Mshelbwala PP, Ogunkoya AB, Maikai BV. ISRN Vet Sci. 2013:468043, 2013.
- 5) Yamada K, Ahmed K, Nishizono A, et al. Virus Res. 165(1): 34-45, 2012.
- 6) Nguyen KA, Nguyen TT, Nishizono A, et al. Trop Med Health, 43(2): 111-116, 2015.

2. 研究の目的

東アジア・東南アジアではイヌ肉を食する文化があり、近年では経済発展や道路等の交通ルートの整備等により、イヌ肉市場が大規模化しているが、狂犬病等の検疫は行われておらず、イヌ肉業者における感染リスクが想定されるものの、実態調査も対策も行われていない。そこで、東南アジア諸国において、通常の咬傷曝露によらない狂犬病の新たな伝搬様式について、イヌ肉食との関わりから、社会学的、疫学的、ウイルス学的側面より明らかにし、適切な予防対策を構築することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) ベトナムにおけるイヌ肉解体処理作業者の調査: 狂犬病への意識調査と感染予防策について質問紙を用いたKAP調査

現地カウンターパートである Nguyen KA 博士、および NIHE 狂犬病ラボとハノイ市予防医療センター（ハノイ市 PMC）のメンバーの協力を得て、ハノイ市の Hoai Duc 地区、Van Noi 地区にあるイヌ食肉処理場を定点とし、管轄するハノイ市予防医療センターの協力の元に、質問票と聞き取り調査、さらに採血を行うチームを編成し調査に入る。質問票の内容は年齢性別等の基本的情報に加え、イヌ肉の取り扱い歴や頻度、食肉処理時の感染防御策の有無とその内容、処理中に傷を負ったか否か、これまで動物咬傷歴があるか、ワクチン接種歴の有無など、さらに verbal autopsy の手法によりその特徴的の症状や疑診症例を拾い出すために、身近に狂犬病を疑わせる症状や疑似症例、非典型的な症状（脳炎など）で亡くなった人など、詳細な聞き取りによる KAP（知識 Knowledge, 態度 Attitudes, 行動 Practices）調査を実行する。

(2) ベトナムにおけるイヌ肉解体処理作業者の血清中の狂犬病ウイルスに対する抗体価の測定

文書または口頭で同意を得て採血された血清を RAPINA 試験に供する。RAPINA 試験は我々の研究室で開発され、通常約 2 日間を要するウイルス中和試験を、2 時間以内に簡便に判定することができるもので、既に国内で動物用診断薬としての認可を取得している。本法は世界の複数の機関での評価が進んでおり、バイオハザード施設を使用せず安全に実施でき、国際標準試験法との一致率もほぼ 97% 以上のため、血清中和抗体測定を迅速かつ大量に進めることができる。

(3) フィリピン、タイでのイヌ(肉)の流通と喫食についての実態調査

フィリピンではイヌ肉食が法律で禁止されているが、現在でも違法にイヌ肉食が行われている。その実態を、現地研究分担者である長崎大学齊藤（2018年から大分大学助教）の指示のもと、サンラザロ病院を拠点にフィリピン熱帯医学研究所などの協力を得てマニラ周辺のルソン島を中心に行う。具体的にはイヌ肉摂取の実態把握と狂犬病発生の関連についての調査を行い、イヌ肉取扱者の血清抗体調査を行うためのセットアップも行う。

タイではイヌ肉食はそれほどメジャーではないが、ベトナムへの最大のイヌ輸出国の一つであり、ほとんどが密輸である。現地カウンターパートであるタイ赤十字病院の Khawplod 博士の協力を得て、タイにおけるイヌの輸出について実態および資料の調査を行う。

4. 研究成果

3年間の研究期間で、主にベトナム、フィリピンでのイヌ肉取り扱いに代表される非定型狂犬病曝露の可能性についての調査を行うことができた。タイではカウンターパートの Khawplod 博士の退職と後継者の不在により調査の継続が叶わなかった。

(1) ベトナムでの調査

ベトナムでは現地共同研究者であるハノイ市予防医療センターの Nguyen KA 博士の指示の下、ハノイ市 Hoai Duc 地区、Van Noi 地区において、現地共同研究者であるハノイ市予防医療センターの Nguyen KA 博士の指示のもと、狂犬病に対する意識調査と感染予防策について質問紙表を用いた KAP（知識、態度、実践）調査を約 300 例に対して行うとともに、血清を採取し狂犬病に対するウイルス中和抗体価を測定した。さらにベトナムの一般住民とイヌ食肉市場で働く者のウイルスに対する血清抗体保有の有無を、我々の開発したイムノクロマト法に基づく簡便な抗体検査法（RAPINA 法）を用い調査したところ、イヌ肉の処理歴を有する者の中に、これまでのイヌか

らの咬傷曝露歴や狂犬病ワクチン接種歴がないにもかかわらず、狂犬病ウイルスに対する中和抗体価を有する例が少数ながら確認された。このことからイヌ肉の処理に伴う微量の狂犬病ウイルスの曝露による不顕性感染が成立したと考えられ、このような狂犬病の非定型的感染ルートが存在することが疑われ、国民向けにイヌ肉摂取の危険性について周知させる必要がある。現在、これらの結果を英文論文として投稿中である。

(2) フィリピンでの調査

一方、フィリピンでは、研究分担者である齊藤の指示の下、フィリピン国立サンラザロ病院に搬送・入院し、567例の狂犬病患者の入院があり、そのうち医療診療録が入手できた467名を解析の対象にした。

2005年以降、年間25例～65例の入院症例が毎年みられているが、減少傾向は認められなかった。

年齢グループ別にみると、5歳未満が18例 (3.9%)、5歳以上19歳未満が95例 (20.3%)、19歳以上が354例 (75.8%)であった (右表)。

467名の狂犬病患者の臨床的背景について、過去10年にわたりレトロスペクティブな調査を行った。その結果、調査した患者の98%まではイヌまたはネコからの咬傷曝露歴があり、非咬傷曝露の履歴があるものは2%以下であった。この中でイヌ肉の取り扱いがあったかものが9例 (2%) に確認でき、フィリピン国内でもイヌ肉食による感染の例があることが明らかとなった。この結果は第58回日本熱帯医学会総会 (2017年11月 東京) にて「フィリピン国立感染症病院に入院した狂犬病患者の臨床的特徴の検討」として口頭発表された。

	N (%)
Duration between exposure and admission	
0 - 1 month	107 (25)
1- 3 months	192 (45)
3 - 12 months	82 (19)
more than 12 months	44 (10)
Type of animal exposure	
Dog	437 (94)
Cat	20 (4)
Pet (n=197)	80 (41)
Animal Condition	
Alive	16 (3)
Died	89 (19)
Killed	100 (21)
Unknown or NR	261 (56)
Body part of Exposure	
Multi bite	80 (17)
Head/Face/Neck	22 (5)
Upper extremity	119 (25)
Lower extremity	156 (33)
Type of Exposure	
Bite	434 (93)
Scratch	12 (3)
Licked	3 (1)
Eating dog meat	9 (2)

5. 主な発表論文等 [雑誌論文] (計 12 件)

- (1) Nguyen ANK. Rabies Vaccine Hesitancy and Deaths Among Pregnant and Breastfeeding Women - Vietnam, 2015-2016. *MMWR Morbidity Mortal Weekly Report*. 2018; 67: 250-252. doi: 10.15585/mmwr.mm6708a4. [査読あり]
- (2) Nishizono A., A novel approach to quickly, easily and efficiently determine viral neutralizing antibody (VNA) levels - for the elimination of rabies from South Eastern endemic countries. *Impact* 2018(7), 2018:39-41. <http://doi.org/10.21820/23987073.2018.7.39>. [査読あり]
- (3) Kimitsuki K., K. Yamada, N. Shiwa, S. Inoue, A. Nishizono, Park CH. Pathological lesions in the central nervous system and peripheral tissues of ddY mice with street rabies virus (1088 strain). *J Vet Med Sci*. 2017 Jun 10;79(6):970-978. doi: 10.1292/jvms.17-0028. Epub 2017 Apr 20. [査読あり]
- (4) Isomura M., K. Yamada, K. Noguchi, A. Nishizono. Near-infrared fluorescent protein iRFP720 is optimal for in vivo fluorescence imaging of rabies virus infection. *Journal of General Virology*. 2017 Nov;98(11):2689-2698. doi: 10.1099/jgv.0.000950. Epub 2017 Oct 17. [査読あり]
- (5) Virojanapirom P., K. Yamada, P. Khawplod, A. Nishizono, T. Hemachudha. Increased pathogenicity of rabies virus due to modification of a non-coding region. *Arch Virol*. 2016 Nov;161(11):3255-61. doi: 10.1007/s00705-016-2990-9. Epub 2016 Aug 24. [査読あり]
- (6) Manalo D. L., K. Yamada, I. Watanabe, M. e. G. Miranda, S. M. D. Lapid, E. Tapdasan, W. Petspohonsakul, S. Inoue, P. Khawplod and A. Nishizono. A Comparative Study of the RAPINA and the Virus-Neutralizing Test (RFFIT) for the Estimation of Antirabies-Neutralizing Antibody Levels in Dog Samples. *Zoonoses and Public Health*. 2017 Aug; 64(5): 355-362, doi: 10.1111/zph.12313. Epub 2016 Nov 12. [査読あり]
- (7) Yamada K., K. Noguchi, T. Komeno, Y. Furuta, and A. Nishizono. Efficacy of Favipiravir (T-705) in Rabies Postexposure Prophylaxis. *The Journal of Infectious Diseases*. 2016 Apr 15;213(8):1253-61. doi:

10.1093/infdis/jiv586. Epub 2015 Dec 9. [査読あり]

[主な学会発表] (計 34 件)

(1) Yamada Kentaro et al.

Establishment and application of in vivo bioluminescence imaging of rabies virus infection

Oct 2018 Kyoto

66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology

(2) Nishizono Akira

Favipiravir effect against rabies infection

July 2018 Kyoto

18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (招待講演) (国際学会)

(3) Kentaro Yamada, Minori Isomura, Kazuko Noguchi, Akira Nishizono

iREP720 is optimal for in vivo fluorescent imaging of rabies virus infection 50th Joint Working Conference on Viral Diseases, US-Japan Cooperative Medical Science Program

Jan 2018

The Coli Hotel Shenzhen China,

(4) 齊藤 信夫

フィリピン国立感染症病院に入院した狂犬病患者の臨床的特徴の検討

2017年11月 東京

第58回日本熱帯医学会大会

(5) Kentaro Yamada et al.

Near-infrared fluorescent protein IRFP720 is optimal for in vivo fluorescence imaging of rabies virus infection

2017年10月 大阪

第65回日本ウイルス学会学術集会

(6) 西園 晃

渡航医学の視点からみた「不治の感染症 狂犬病」

第20回日本渡航医学会学術集会

2016.7.23-7.24

日本、倉敷市、倉敷市芸文館

(7) 西園 晃

狂犬病～この古くて忘れ去られた死の感染症～これまでとこれから

第90回日本感染症学会総会・学術講演会

2016.4.15-4.16

日本、仙台市、仙台国際センター

[図書] (計 1 件)

西條 政幸 編著, 西園 晃, 狂犬病, 159-164, グローバル時代のウイルス感染症, 日本医事新報社, 東京 2019.1

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.oita-u.ac.jp/biseibut/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 山田 健太郎

ローマ字氏名: Yamada, Kentaro

所属研究機関名: 大分大学

部局名: 医学部

職名：准教授

研究者番号（8桁）：70458280

研究分担者氏名：アハメド・カムルディン

ローマ字氏名：Kamruddin, Ahmed

所属研究機関名：大分大学

部局名：医学部

職名：客員研究員

研究者番号（8桁）：00398140

研究分担者氏名：齊藤 信夫

ローマ字氏名：Saito, Nobuo

所属研究機関名：大分大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号（8桁）：60626018

研究分担者氏名：鈴木 基（2018年度）

ローマ字氏名：Suzuki, Motoi

所属研究機関名：長崎大学

部局名：熱帯医学研究所

職名：准教授

研究者番号（8桁）：60444874

(2)研究協力者

研究協力者氏名：グエン，キューアン博士（NIHE、ハノイ市PMC）

ローマ字氏名：Nguyen Kieu Anh

研究協力者氏名：カウプロッド，パカマツ博士（タイ国赤十字病院）

ローマ字氏名：Khawplod Pakamatz

研究協力者氏名：ミランダ，エリザベス博士（フィリピン熱帯医学研究所）

ローマ字氏名：Miranda M. Elizabeth

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。