

トピックス

1. 原因不明の慢性腎臓病とハンタウイルス感染症

吉松 組子

北海道大学 遺伝子病制御研究所

スリランカでは1990年代から特定の地域に原因不明の慢性腎臓病が急増している。この病気は慢性疾患ではあるが死に至る病である。これまで重金属や農薬などが原因として疑われてきたが、長く原因は不明であった。近年、私たちは慢性腎臓病患者における高い抗ハンタウイルス抗体陽性率を見だし、ハンタウイルス感染がこの病気の発症リスクであることを報告した。ハンタウイルスはげっ歯類を宿主とするウイルスである。ここでは、血清疫学から宿主動物の探索まで、いまだ研究途上ではあるが研究の経緯を紹介したい。

原因不明の慢性腎臓病 CKDu

慢性腎臓病 (Chronic kidney disease; CKD) は2002年に米国腎臓財団によって提唱された概念である¹⁾。タンパク尿と糸球体濾過量の低下で定義され、世界でも増加の一途をたどっている重要な疾患である²⁾。先進国では成人人口の13%を占めるとされ、そのほとんどが糖尿病や高血圧等の生活習慣病を原疾患とする。進行すると定期的な血液透析および腎臓移植が必要となる。

一方で、このような原疾患を持たない原因不明の重症型CKDがスリランカ、インド南部、エジプト、中南米から報告されており、CKD by unknown etiology (CKDu) と呼ばれている³⁾。また、発生地域からTropical nephropathy, Mesoamerican nephropathy 熱帯腎症とも呼ばれる。メキシコ南西部からコスタリカにかけての流行地ではサトウキビ畑の労働者を中心に2万人以上が死亡したとされ、多くの研究者が注目している世界的な問題である⁴⁾。英国の研

究者らが運営するLa Isla Networkでは多くのビデオや資料を見ることができる⁵⁾。各地域のCKDuが本質的に同一の疾患であるかどうかは明らかではないが、熱帯地域で労働年齢の男性に頻発する等の共通点がある。

スリランカのCKDuは1990年代後半から注目されるようになった疾患である⁶⁾。この疾患は健康な米作農家の労働年齢の男性に頻発し、明確な「流行地」を持ち、先進国のCKDとは明らかに異なる(表1, 図1)。患者数はおよそ245万人といわれているが正確には不明である。その理由として、国家的な情報収集システムの欠如がある。さらにスリランカのCKDuは発見が遅れる傾向があり、かつ進行が早く死亡までの期間が短いため患者数をとらえにくいという現状もある。一説にはすでに2万人以上が死亡していると言われ、CKDuのために働き手が失われ存続が困難となっている集落もある。スリランカでは増加する血液透析による医療費の増大・移植腎臓の不足などが問題となっている(図2)。腎臓を求める新聞広告もめずらしいものではない。

ハンタウイルス感染症とインド洋周辺領域の状況

ハンタウイルスはブニヤウイルス目ハンタウイルス科に属するウイルスの総称である。齧歯類媒介性の人獣共通感染症である、腎症候性出血熱(HFRS)の原因ウイルスとして発見された⁷⁾。その後、南北アメリカ大陸でハンタウイルス肺症候群の原因となるハンタウイルスも発見された⁸⁾。それぞれのハンタウイルスは特定の齧歯類が媒介するため、これらの感染症の発生地域は宿主動物の分布に一致す

連絡先

〒060-0815

北海道札幌市北区北15条西7丁目

北海道大学遺伝子病制御研究所

附属動物実験施設

TEL: +81-11-706-5539

FAX: +81-11-706-7547

E-mail: yosimatu@igm.hokudai.ac.jp

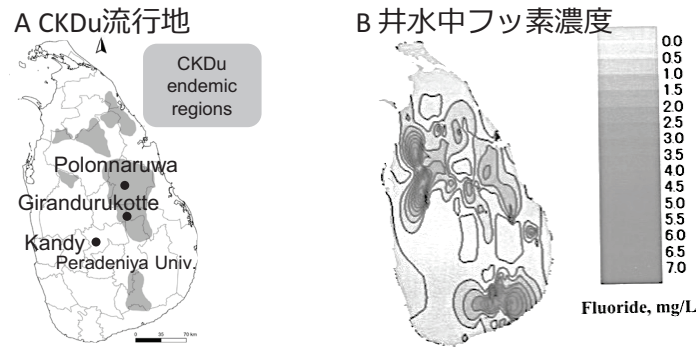


図1 スリランカにおけるCKDu流行地と井水中のフッ素濃度の比較
 A. Chandrajithet al 改変；B. Groundwater Quality Atlas of Sri Lanka より

表1 CKDとCKDuの違い

	CKDu	先進国CKD
原疾患	なし	糖尿病・高血圧
好発年齢	30-50才	高齢者に多い
性差	男性>女性	多様
病態	進行性重症型	維持可能
発生	流行地あり	関連無し
職業	農業	関連無し

る⁹⁾。また、齧歯類以外の食虫類および翼手目に属する動物に由来するウイルス、さらには爬虫類や魚類からも独自のハンタウイルスが報告されているが、多くのウイルスは病原性が不明であるかあるいは非病原性であると考えられている¹⁰⁾。非常に多くの種類のハンタウイルスが「自然宿主には病原性を示さず肺に持続して感染する」という特別な関係をそれぞれの宿主との間で成立させている¹¹⁾。長い進化の過程を通じて獲得した関係であると考えられるがそのメカニズムは明らかではない。インド洋周辺領域はHFRSおよびHPSの発生地域ではない。マダガスカル¹²⁾、マヨット諸島¹³⁾、インドネシア¹⁴⁾、シンガポール¹⁵⁾、カンボジア¹⁶⁾、タイ¹⁷⁾、インド¹⁸⁾、スリランカ¹⁹⁾からの血清学およびウイルス学的報告から、クマネズミおよびオニネズミ等のラット類が非病原性のタイランドウイルスを持つ地域であると考えられる。

スリランカとハンタウイルス

本研究のパートナーである Chandika Gamage 博士はスリランカからの留学生で、2009年当時北海道大学大学院医学研究科・国際保健分野の博士過程に所属していた。スリランカは世界で最もレプトスピラ症が流行している国の一つであり、彼はレプトスピラ症とハンタウイルス感染症の鑑別を希望して有川二郎先生が主催する私たちの研究室

を訪れた。両疾患はしばしば臨床症状からの鑑別が困難であるためである。その結果、スリランカでレプトスピラ症を疑われた患者のおよそ7%がハンタウイルスに対するIgM抗体を持つことが明らかとなり、さらに罹患ウイルスは血清学的にタイランド型に関連するハンタウイルスであることが分かってきた。この時点でハンタウイルス感染がある程度の頻度でスリランカにあることがわかった。さらに非病原性と考えられているタイランド型ウイルスが熱性疾患に関与している可能性も示された。この成果を論文発表し、Chandikaは学位を取得した。論文の査読者からは血清学のみでウイルス遺伝子の結果無しでは不十分とのコメントもあったが、何とか受理されることができた¹⁹⁾。ハンタウイルス遺伝子を捕まえる方法としては、患者周辺の齧歯類の捕獲・調査が王道である。宿主とウイルスを特定しプライマーを設計し、最終的にヒト検体からのウイルス遺伝子の検出を実施するためである。しかしながらこの時点では、齧歯類の調査を実施することはできなかった。

研究のはじまり

その後、Chandikaはペラデニア大学医学部微生物学教室で職を得て、私たちは共同研究を開始した。私は血清診断の材料を携えてスリランカに行くようになった。齧歯類捕獲のための倫理申請では、なぜ100頭もの捕獲が必要な



図2 建設中の透析施設

患者は公立病院での治療や透析は無償で受けられる。その分、政府の負担は大きい。この施設は2年後訪れた時にも建設中であつた。

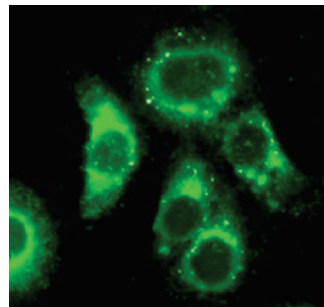


図3 初めて確認されたCKDu患者のハンタウイルス抗原に対する蛍光抗体像

のか？50頭ではダメなのか？解剖すると死んでしまう、少し血液を採るだけの殺さない採材で逃がしてどう？といったコメントもつく。捕獲されるのはクマネズミとオネズミであり、保護が必要な種という理由ではない。殺生を好まない宗教的な背景と、豊かな動物相を誇りにし大事にする国民性のためと考えられる。それでもなんとかパラデニア大学構内、Kandyのマーケット等でネズミ取りができるようになった。田畑での捕獲は保護種混獲のおそれがあるので許可せずとのことであつた。一方でChandikaはパラデニア大学医学部附属病院の不明熱患者血清の抗レプトスピラ抗体、抗ハンタウイルス抗体の検査を開始しており、私はヒトの診断にも協力することになった。

2015年11月、パラデニア大学の微生物学教室のラボで発熱患者の血清の再検査をしていると、ChandikaがCKDとCKDuの患者血清を持ってきた。コントロール群とし

と一緒に調べてほしいという。そこで私は思いもかけず多くの蛍光抗体陽性例を見いだした。当時のパラデニア大学の医学部にはランプの切れかけた暗い蛍光顕微鏡しかなかったにもかかわらず明瞭な陽性だった(図3)。すぐに、無理を言って獣医学部の最新の顕微鏡と撮影装置を借りることができ、そこでおよそ50%の陽性率を確認することができた。ラットの半分近くがソウル型ハンタウイルスを持つベトナムの港の港湾労働者であっても2.5%の抗体陽性率だった²⁰⁾。日本の東京湾はかつてソウル型ハンタウイルスを持つドブネズミのコロニーがあつたが²¹⁾、そこでの作業員の抗体陽性率は4.51%と報告されている²²⁾。このかつて経験したことのない驚異的な陽性率を前にパラデニア大学医学微生物学教室は騒然となつた。これまでCKDuとハンタウイルス感染症に関連があるなどということとは誰も考えもしなかつたことだったのである。



図4 屋外での採材セッティング

獣医事務所の狂犬病対策用のスペースを借り設営した。正面はトイレ。酷暑の中で予防衣を着て作業する。

Go for rats!

ハンタウイルスは基本的にヒトからヒトへ感染しないので抗体陽性者はすべてネズミから感染したはずだ。Girandrukotteの健常者血清はすでに収集されており抗体陽性率は15%程であった。これも十分高い陽性率である。どれほどのネズミがハンタウイルスを持っているのであろうか、すぐにその土地、Girandrukotteのネズミを調べなくてはならない。しかしながらネズミ捕りの許可を得るためには、国際学術誌に成果を発表して問題の重要性を訴えなければならない。ネズミが捕れないのでウイルスの遺伝子に関する情報はなく、再び血清学のみで論文の査読者たちを説得しなければならない。頭の痛い問題である。私たちは大急ぎでサンプル移送の許可を整えて、北海道大学で詳細な抗体価の測定や血清型の特定制を実施した。これらの陽性血清がIgMを欠き急性期ではないこと、血清型がタイランド型であることも特定し²³⁾、その結果を学術雑誌に投稿した。しかしながらほとんどの雑誌から信じてもらうことができず、多くのリジェクトの知らせを受け取った。遺伝子解析なく「抗体陽性率50%」と聞けば誰でも疑う。なんとか最終的に短いレターに編集して2016年にInternational Journal of Infectious Diseasesに受理され、発表は2017年となった²⁴⁾。これでようやく「CKDuとハンタウイルス感染症の関連」の研究がスタートラインに立った。ペラデニア大学では訪れるたびにChandikaがセミナーを設定してくれ、そのためであろうか、医学部の中で支持してくれる教授たちが徐々に増えていった。

日本国内でのネットワーク

スリランカのCKDuの原因として、当初はヒ素やカド

ミウムなどの環境要因が疑われていた。が、おそらくこの初期の報告は測定上の誤りであったと思われる。京都大学医学部の小泉昭夫教授らの研究グループが詳細な調査を行ったところ、これらの原因候補となった有害物質の濃度は日本の土壌のレベルよりもむしろ低いことが明らかとなり、唯一、飲料水中のフッ素イオンの高さのみが確認された²⁵⁾。同じ研究グループは高血圧に関連する遺伝子がリスクとなる可能性について報告している²⁶⁾。また、病理学的解析から、尿細管上皮のダメージからCKDuが始まること、細胞浸潤もみられることを報告している^{27,28)}。しかしながら、2014年までの研究では原因は明らかにならなかった。

CKDuの原因として、フッ素の影響については長らく議論されている。スリランカ北部および東部のCKDu流行地ではスリランカの飲料水中のフッ素の基準である0.6 mgF-/Lを大幅に超える井水が認められる。これらの地域では斑状歯が多いところで9割の中学生に認められ、飲料水中フッ素の影響の大きさを示している。井水中のフッ素濃度の高い地域はCKDuの流行地とオーバーラップするため(図1)、従来からCKDuとの関連が疑われている²⁹⁾。最近の報告ではCKDu患者の骨組織にフッ素の蓄積が認められ、おそらくフッ素は発症に大きな役割を果たしていると考えられる³⁰⁾。一方で飲料水中のフッ素濃が高くてCKDuの流行が認められない地域も確認されていることから、その因果関係は結論づけられてはいない。これらの文献を調べるうちにこのスリランカの井戸水を1万件以上検査測定し、水質のマップを作成し、フッ素の除去法の考案等、この問題に大きく貢献したのが日本人研究者であることが分かった³¹⁾。福島県立大学工学部の川上智規教授である。私は京都大学の小泉先生、福島県立大学の川上

表2 スリランカにおける抗ハンタウイルス抗体陽性率 (Sarathukumara et al 2019, Wei et al 2020 改変)

Thailand virus (THAIV), および4種類のトガリネズミ由来ハンタウイルス抗原 Thottapalayam virus (TPMV), Altai virus (ALTV), Seewis virus (SWSV), Asama virus (ASAV) を用いた。

地域	状態	性別	検体数	抗体陽性数 (率%)				
				THAIV	TPMV	ALTV	SWSV	ASAV
CKDu 流行地 Girandurukotte	腎臓疾患 (主に CKDu)	男性	70	42 (60.0%)	0 (0.0%)	0(0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
		女性	34	10 (29.4%)	0 (0.0%)	1 (2.9%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
		計	104	52 (50.0%)	0 (0.0%)	1 (1.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
	健康	男性	98	25 (25.5%)	1 (1.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
		女性	144	17 (11.8%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
		計	242	42 (17.4%)	1 (0.4%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
CKDu 非流行地 Kandy	腎臓疾患 (CKD, ESRD, AKI)	男性	28	7 (25.0%)	-	-	-	-
		女性	22	2 (9.1%)	-	-	-	-
		計	50	9 (18.0%)	-	-	-	-
	健康	男性	126	10 (7.9%)	-	-	-	-
		女性	144	9 (6.3%)	-	-	-	-
		計	270	19 (7.0%)	-	-	-	-

先生に受理されたばかりの論文を見ていただき協力を仰いだ。小泉先生には2014年までに収集し、京都大学で保管されている血清サンプルの抗ハンタウイルス抗体を測定したいという申し出を快諾していただいた。川上先生も札幌に用事があるからとすぐに私のラボを訪問してくれ、直接お話しをすることができた。お二人ともCKDuの惨状を良くご存知であり、見ず知らずの私からの話に耳を傾けて下さった。論文で多くのリジェクトを経験した後だったので、思いがけず日本国内に理解者を得ることができ、励まされた。

仮説

調べるうちにフッ素の人体への作用点は骨だけでなく腎臓の尿細管であることが分かってきた。また、京都大学の研究グループの報告からも、スリランカのCKDuが尿細管変性から始まることが分かっていた^{27,28)}。さらに一般的なハンタウイルス感染症でも尿細管はターゲットとなる。また、ヨーロッパで流行が見られるプーマラ型ハンタウイルス感染症では、感染後5年間にわたりタンパク尿と高血圧が続くことが報告されており、これはCKDと呼ぶこともできる^{32,33,34,35)}。北欧の症例から報告されるこの後遺症は、原疾患の重症度には関連せず10年後には回復する。これらの知見を総合して「尿細管を中心としたハンタウイルス感染とフッ素の複合的ダメージによる腎臓の繊維化がスリランカのCKDuの原因」という仮説を立て、これに向かつて具体的な研究方法を考え始めた。

人の血清疫学

始めに統計的に有意なヒトの血清疫学により「ハンタウイルス感染症とCKDuの関連」を示すことを目標とした。Chandikaが中心となって倫理申請を進め、質問票を設定しCKDu流行地、非流行地、腎臓疾患の患者、健常者より検体と情報を収集した。また、ペラデニア大学の公衆衛生学修士の学生Yomaniをさくらサイエンスプランで日本に招聘し、検査を進める体制を整えた。その結果、ハンタウイルス感染はCKDuのみでなく腎臓疾患のリスクであることが明らかとなった(表2)。驚くべきことに、CKDu非流行地である大都市Kandyにおいて腎臓疾患患者、CKDおよびエンドステージの腎臓病ESRD、にも抗体陽性者が有意に多く、関連が認められた³⁶⁾。この結果からKandyの一部には流行地が存在する可能性があることが分かった。同じくCKDu非流行地とされるMatale地区では抗体陽性率は3%程度であった(投稿中)。今後全島的な抗体陽性率の調査が必要である。

スウェーデンのグループは2018年にポロンナルワのCKDu患者について詳細な病理学的な結果を報告した。時系列で見ると投稿直前に私たちの結果を知り、自らのサンプルについて抗ハンタウイルス抗体を直ちに調べたようである。結果として彼らの検体11例のうち8例が抗ハンタウイルス抗体陽性であった³⁷⁾。彼らは病理学的に厳密にCKDu患者を選別していることから、私たちの報告よりも陽性率が高いのかもしれない。2020年にはSunil-Chandraらの報告もあり、私たち以外の研究グループからも同様の結果が積み重ねられてきている³⁸⁾。さらに京都大学で保

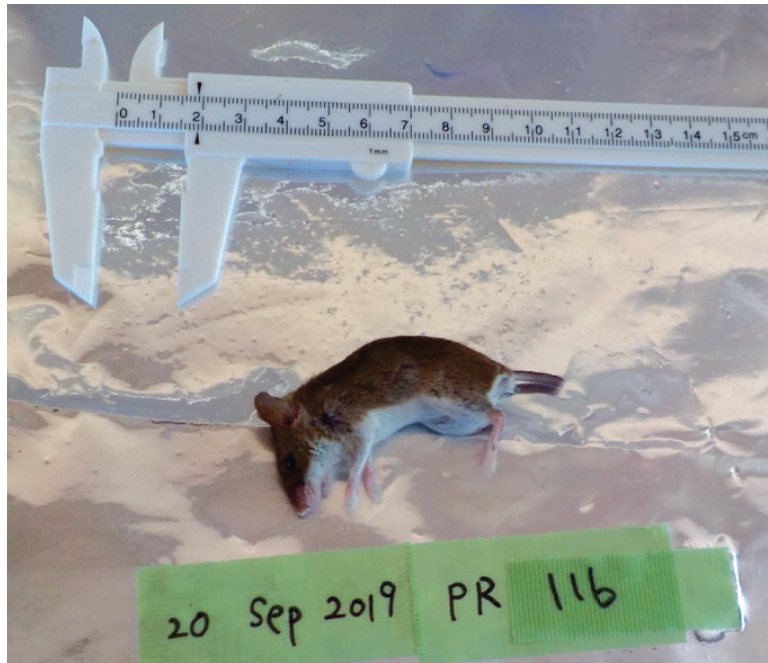


図5 捕獲されたマウス

尾を半分失っている歴戦のオス。ハンタウイルス陽性である。

管されていた過去に集められた血清と調査情報の解析からもハンタウイルス感染は少なくとも10年前から複数のCKDu流行地においてCKDu発症の単独リスクであるとの結果を得ている（投稿中）。この研究を通じて、そもそも非流行地とされる地域ではCKDuの診断は下されないことが分かってきた。2009年に打ち出された診断基準は³⁹⁾、2018年に腎生検が必須となるよう改変された⁴⁰⁾。腎生検は簡単に実施できる状況にないため、今後患者数としての報告は減少する可能性がある。ヒトの疫学の前向き研究を計画している段階であるが、この計画にとってCKDuの診断基準は大きな問題である。

ウイルスを探しに

最初の論文の受理が滞っている間に、Chandikaの努力によりCKDu流行地Girandrukotteでの齧歯類の調査が許可された。ただし、屋外は貴重な動物を混獲するおそれありとのことで家屋でのみ捕獲が許可された。2016年12月に私は始めて流行地を訪れた。赤い岩盤の上をリスが走り、田畑をクジャクが親子連れで闊歩し、あふれ出すような緑に覆われた美しい土地である。学生Yomaniが丹念に準備したリストにしたがって、抗体陽性患者の自宅を訪問した。ひとりずつインタビューし、自宅にラット用のトラップを仕掛けるためである。驚くべきことに、たった1年のうちに抗体陽性CKDu患者の約半数が亡くなっていた。CKDu患者のお葬式にも出くわした。ESRDで死期の近い患者にも会った。夫と隣り合う3軒の働き手であるご主人が

CKDuで亡くなったというご夫人の訴えも聞いた。また、新規の患者にも出会った。30代後半の男性は疲れやすく感じて受診するとすでにCKD phase 5で直ちに透析開始となった。CKDuの惨状は現場での強烈な体験として刻まれた。

ウイルスが見つからない！

2016年12月は訪問に時間を費やし、あまりラットは捕れなかったが、2017年夏の訪問ではラットは次々と集まった。Girandrukotteの獣医事務所の協力により、狂犬病対策用のスペースをお借りして屋外に採材場所を設営しラットから採材した（図4）。そしてこれらのラット、クマネズミの30%ほどがハンタウイルス抗体陽性であった。ドブネズミからソウル型ハンタウイルスを検出した経験では、これほどの陽性率であれば、抗体陽性の持続感染個体からたやすくウイルスは捕まえられるはずだった。しかしながらウイルス遺伝子がみつからない。これほどの労力と時間をかけたのになぜだろう、ペラデニア大学への輸送に時間がかかりサンプルが劣化したからだろうか、プライマーが良くないのではないかと、等々の議論が交わされたが、その理由は分からなかった。

思い掛けない宿主

地道な広報活動や研究発表のためであろうか、屋外での齧歯類の捕獲をしても良い、という状況になった。倫理委員会でも100匹捕獲する計画はそのまま受け入れてもらえ

た。3シーズン目2018年は、日米医学財団からの研究資金を得ることができ、ポロナルワ周辺でネズミ取りを実施した。ポロナルワは距離的には拠点となるペラデニア大学から遠いのだが、道路状況が良いためサンプルの劣化を防げるとの判断からの変更であった。捕獲された98匹のうち、94頭がクマネズミであった。そしてクマネズミの4割近くが抗体陽性であったが、その中からはウイルス遺伝子は検出されなかった。一方で抗体陰性のクマネズミ1頭から部分的なウイルス配列が得られた。コピー数が非常に低く、おそらく感染初期であろうと考えられた。ということは、これほど多く捕獲された抗体陽性ラット達は治ってしまったということにならないか？慢性感染してウイルスの供給源となるウイルスの宿主ではないのではないか？そして調査の最終日、昼過ぎにはペラデニア大学に戻らなくてはならない、という朝にある集落からオニネズミとマウスが捕獲されたトラップが届いた。オニネズミはタイランド型ウイルスの宿主として知られ⁴¹⁾、今回捕獲数がとても少なかったのでありがたかった。後回しにされた最後の検体 #98 はマウスで体重が9gしかなかった。同行していた清水健太先生は「マウスだし時間もなし採材しなくてもいいのでは？」と私の疲労を気遣って進言してくれたが、せっかくだからと採材した。そしてペラデニア大学に検体を持ち帰り調べたところ、なんとこのマウスの抗体は強い陽性（抗体価6400倍以上）であった。そしてスクリーニングPCRもNestedは必要なく1stPCRで明瞭なバンドが得られた。結局このマウス #98 は典型的なハンタウイルスの宿主の特徴 - 抗体強陽性、ウイルスゲノムが肺で強陽性、ケンカをしたような傷が耳と尾にある成熟したオス - という特徴をすべて備えていた⁴²⁾。これをきっかけに2019年はシャーメントラップを使用し、マウスをターゲットとした採材をこの村で行った。その結果およそ40%のマウスが抗体およびウイルス陽性であった（図5）。このウイルスは既報のタイランド関連ウイルスが分岐する以前に分岐したとみられる新規のウイルスで私達はランカウイルスと名付けた（投稿中）。マウスは世界各地で40種前後が知られているが、これまでにハンタウイルスの自然宿主である例はなかった。タイランド型ウイルスだからきつとラット類が持っているに違いない、という思い込みで私たちは回り道をしてしまった。水田のラットはヒトと同様、環境の中で感染してしまった被害者だった。

しかし物語は美しくは終わらない。CKDu流行地の農村ではなく、ポロナルワ東北部の小さな町の市街地で捕獲された4頭のラットのうちの1頭からランカウイルスとは全く異なるマダガスカル由来ウイルスに近縁なタイランド関連ハンタウイルスの全配列を得た（投稿中）。マウスのみが宿主にちがいないという思い込みはまたすぐに覆された。これらの2種類のウイルスの分布は今のところ不明である。さらに、一番大切な問題、どちらのウイルスが

CKDuに関連しているのかという新たな課題が生まれた。

小さな村から始めよう、水とネズミとウイルスと

ポロナルワの獣医事務所に、奥様のお父様がCKDu患者である獣医師がいた。居住地は獣医事務所からは20Km離れた北部の村落でCKDu患者が一軒に1~2名出る濃厚な流行地である。離れているがぜひ調べてほしいという要望に応じてトラップを預けたのだった。こうして私たちは3シーズン目の調査最終日にしてようやく、偶然の積み重ねで、あるいは積み重ねてきた人々の輪の中の必然で、ウイルスを捕まえることができたのだった。そして4シーズン目の2019年、お義父様にお会いできること楽しみにこの村を訪れたが、残念なことに五ヶ月前にすでに他界されていた。この4シーズン目は水質調査のために川上先生、レプトスピラ症との関連を明らかにするために国立感染症研究所の小泉信夫先生にも同行していただいた。GPSでチェックしながら村中の井戸の水質を川上先生が調査し、私たちは住人の自宅および田や稲干し場等で齧歯類の捕獲を行った。Chandikaは患者についての情報を集める準備を進めた。この村をモデルに「飲料水中のフッ素とハンタウイルス感染症とCKDuの関連」を検証することが目的である。この計画はJSPSの科学研究費の申請では不採用であったが、「平和中島財団アジア地区重点共同研究」に採用していただき実施することができ成果が蓄積されてきている。ただ残念なことに、ヒトに関連する調査については現在コロナ禍のため中断を余儀なくされている。

なぜスリランカのCKDuはEmerging Diseaseなのか？

川上先生の紹介でスリランカの水道局の研究者・職員とお話しする機会を得た。彼らは、「CKDuの原因は水である」と言われることに心を痛めており、「Kandyの水道水はそのまま飲めるほどに浄化している」と水質には胸を張っていた。そして、CKDuの発症にハンタウイルス感染も関与している可能性があることについて強い興味を示した。齧歯類が重要であることを説明し、その時点では田畑でのねずみ取りが許可されないこと、毒蛇がいて危険であると言われている事を説明した。そこでとても印象深い話を聞いた。「今は田んぼに毒蛇はいない、とても少なくなった。そのかわりネズミがとても増えた。30年前、毒蛇はいたがCKDuもレプトスピラ症（rat feverと現地では言われている）もなかった」。スリランカは長い歴史を持つ国である。田んぼもそこでの働き手が主に男性であることも水も千年以上変わっていない。なぜ今CKDuが問題となっているのか、レプトスピラ症の増加時期はCKDuの増加に一致している。レプトスピラの抗体陽性率はCKDuの患者と健常者で差が見られないことからCKDu直接の原因とは考え難いが、ネズミとヒトとの接触の機会の増加を示して

いるのかもしれない。

発症機序・治療法・予防法、そして今後

スリランカにかぎらず CKDu の本質的な問題は腎臓の不可逆的な繊維化である⁴³⁾。一般的な急性腎障害 (AKI) から CKD へ移行のメカニズムについては徐々にあきらかになってきている⁴⁴⁾。繊維化に繋がる直接的な原因は障害を受けた尿細管上皮細胞の修復過程における細胞周期の停止である。また、尿細管上皮細胞および間質細胞のさまざまなシグナルが間質の繊維化に関与していることが報告されている。Wnt シグナルの活性化は直接的な腎繊維化を引き起こす⁴⁵⁾。しかしながら、ハンタウイルス感染がスリランカにおいて AKI を起こしているという証拠はない。今後はハンタウイルス感染がこの繊維化進行のメカニズムのどこに関与するのかを明らかにする必要がある。

重度の腎繊維化は不可逆的であるため、治療の最終選択肢は腎臓移植となる。しかしながらスリランカにおいて移植するための腎臓は不足している。これに対応するには幹細胞移植による腎臓の修復などという方法も有効ではないだろうか？たとえば MUSE 細胞などが活用できるのではないか⁴⁶⁾？また、予防について考えた時、ワクチンも選択肢かもしれない。流行地では健常者の血清陽性率は 17.4% と非常に高く、これにはワクチンが有効なのではないか？水田作業時の水しぶきによるエアロゾル感染が感染経路であると予想されるが、これを遮断する方法はあるのか？スリランカの人々はネズミを駆除することに抵抗感が強い。駆除せずネズミの数を減らす方法はあるのか？また、CKDu 患者のうち、タイランド型ハンタウイルス罹患歴があるのは半数のみである。まだ未知のリスクがあるにちがいない。残りの半数と食虫類由来ハンタウイルス感染について探索したものの関連はなく、この点についても課題として残っている⁴⁷⁾。スリランカ政府は流行地での井戸水の使用をやめるよう、RO 水の配布を始めている。この効果がどのように現れてくるのかも見守る必要がある。また CKDu はスリランカだけでの問題ではない。最近、スーダンの ESRD 患者で高いハンタウイルス抗体陽性率が報告された⁴⁸⁾。他の地域についても調べる必要があると考えられる。

終わりに

この熱帯地域における原因不明の慢性腎臓病の問題について日本で知る人は少ない。一人でも多くの人に問題を知っていただくことで、問題が解決に向かってゆくことを願っている。

本研究は JSPS 基盤研究 C (19K10595)、JSTA さくらサイエンスプラン (S2017F0228119)、日米医学協力計画若手・女性育成のための公募 2018 年度 (18950142)、平和中島財団アジア地区重点共同研究、地球規模科研 SATREPS

(19jm0110019h0002) による援助により実施しました。

本稿に関連し、開示すべき利益相反状態にある企業等はありません。

参考文献

- 1) National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis.* 39: S1-266, 2002.
- 2) Wang, H, Naghave, M, and C, A. GBD 2015, Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet.* 388: 1459-544, 2016.
- 3) Weaver, VM, Fadrowski, JJ, and Jaar, BG. Global dimensions of chronic kidney disease of unknown etiology (CKDu): a modern era environmental and/or occupational nephropathy? *BMC Nephrol.* 16: 145, 2015.
- 4) Roncal-Jimenez, CA, Garcia-Trabanino, R, Wesseling, C, and Johnson, RJ. Mesoamerican Nephropathy or Global Warming Nephropathy? *Blood Purif.* 41: 135-8, 2016.
- 5) La Isla Network. <https://laislanetwork.org>
- 6) Athuraliya, NT, Abeysekera, TD, Amerasinghe, PH, Kumarasiri, R, Bandara, P, Karunaratne, U, Milton, AH, and Jones, AL. Uncertain etiologies of proteinuric-chronic kidney disease in rural Sri Lanka. *Kidney Int.* 80: 1212-21, 2011.
- 7) Lee, HW, Lee, PW, and Johnson, KM. Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. *J. Infect. Dis.* 137: 298-308, 1978.
- 8) Nichol, ST, Spiropoulou, CF, Morzunov, S, Rollin, PE, Ksiazek, TG, Feldmann, H, Sanchez, A, Childs, J, Zaki, S, and Peters, CJ. Genetic identification of a hantavirus associated with an outbreak of acute respiratory illness. *Science.* 262: 914-7, 1993.
- 9) Plyusnin, A, Vapalahti, O, and Lundkvist, A. Hantaviruses: genome structure, expression and evolution. *J Gen Virol.* 77: 2677-87, 1996.
- 10) Shi, M, Lin, XD, Chen, X, Tian, JH, Chen, LJ, Li, K, Wang, W, Eden, JS, Shen, JJ, Liu, L, Holmes, EC, and Zhang, YZ. The evolutionary history of vertebrate RNA viruses. *Nature.* 556: 197-202, 2018.
- 11) Ermonval, M, Baychelier, F, and Tordo, N. What Do We Know about How Hantaviruses Interact with Their Different Hosts? *Viruses.* 8 2016.
- 12) Reynes, JM, Razafindralambo, NK, Lacoste, V, Olive, MM, Barivelo, TA, Soarimalala, V, Heraud, JM, and Lavergne, A. Anjozorobe hantavirus, a new genetic variant of Thailand virus detected in rodents from Madagascar. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 14: 212-9, 2014.
- 13) Filippone, C, Castel, G, Murri, S, Beaulieux, F, Ermonval, M, Jallet, C, Wise, EL, Ellis, RJ, Marston, DA, McElhinney, LM, Fooks, AR, Desvars, A, Halos, LG,

- Vourc'h, G, Marianneau, P, and Tordo, N. Discovery of hantavirus circulating among *Rattus rattus* in French Mayotte island, Indian Ocean. *J Gen Virol.* 97: 1060-5, 2016.
- 14) Plyusnina, A, Ibrahim, IN, and Plyusnin, A. A newly recognized hantavirus in the Asian house rat (*Rattus tanezumi*) in Indonesia. *J Gen Virol.* 90: 205-9, 2009.
 - 15) Johansson, P, Yap, G, Low, HT, Siew, CC, Kek, R, Ng, LC, and Bucht, G. Molecular characterization of two hantavirus strains from different *rattus* species in Singapore. *Virology* 7: 15, 2010.
 - 16) Reynes, JM, Soares, JL, Hue, T, Bouloy, M, Sun, S, Kruy, SL, Flye Sainte Marie, F, and Zeller, H. Evidence of the presence of Seoul virus in Cambodia. *Microbes Infect.* 5: 769-73, 2003.
 - 17) Pattamadilok, S, Lee, BH, Kumperasart, S, Yoshimatsu, K, Okumura, M, Nakamura, I, Araki, K, Khoprasert, Y, Dangsupa, P, Panlar, P, Jandrig, B, Kruger, DH, Klempa, B, Jakel, T, Schmidt, J, Ulrich, R, Kariwa, H, and Arikawa, J. Geographical distribution of hantaviruses in Thailand and potential human health significance of Thailand virus. *Am J Trop Med Hyg.* 75: 994-1002, 2006.
 - 18) Chandu, S, Okumura, M, Yoshimatsu, K, Ulrich, RG, John, GT, Abraham, P, Arikawa, J, and Sridharan, G. Hantavirus species in India: a retrospective study. *Indian J Med Microbiol.* 27: 348-50, 2009.
 - 19) Gamage, CD, Yasuda, SP, Nishio, S, Kularatne, SA, Weerakoon, K, Rajapakse, J, Nwafor-Okoli, C, Lee, RB, Obayashi, Y, Yoshimatsu, K, Arikawa, J, and Tamashiro, H. Serological evidence of Thailand virus-related hantavirus infection among suspected leptospirosis patients in Kandy, Sri Lanka. *Jpn J Infect Dis.* 64: 72-5, 2011.
 - 20) Truong, T-T, Yoshimatsu, K, Araki, K, Lee, B-H, Nakamura, I, Endo, R, Shimizu, K, Yasuda, PS, Koma, T, Taruishi, M, Okumura, M, Truong, U-N, and Arikawa, J. Molecular epidemiological and serological studies of hantavirus infection in Northern Vietnam. *J Vet Med Sci.* 71: 1357-63, 2009.
 - 21) Arikawa, J, Takashima, I, Hashimoto, N, Morita, C, Sugiyama, K, Matsuura, Y, Shiga, S, and Kitamura, T. Epidemiological study of hemorrhagic fever with renal syndrome related virus infection among urban rats in two islands in Tokyo Bay, Japan. *Acta Virologica.* 29: 66-72, 1985.
 - 22) 小松俊彦 . 厚生省特別研究, 腎症候性出血熱 (HFRS) 研究班報告書 . 4-5, 1985.
 - 23) Yoshimatsu, K, Gamage, CD, Sarathkumara, YD, Kulendiran, T, Muthusinghe, DS, Nanayakkara, N, Gunarathne, L, Shimizu, K, Tsuda, Y, and Arikawa, J. Thailand orthohantavirus infection in patients with chronic kidney disease of unknown aetiology in Sri Lanka. *Arch Virol.* 164: 267-71, 2019.
 - 24) Gamage, CD, Yoshimatsu, K, Sarathkumara, YD, Thiviyaaluxmi, K, Nanayakkara, N, and Arikawa, J. Serological evidence of hantavirus infection in Girandurukotte, an area endemic for chronic kidney disease of unknown aetiology (CKDu) in Sri Lanka. *Int J Infect Dis.* 57: 77-8, 2017.
 - 25) Chandrajith, R, Nanayakkara, S, Itai, K, Aturaliya, TN, Dissanayake, CB, Abeysekera, T, Harada, K, Watanabe, T, and Koizumi, A. Chronic kidney diseases of uncertain etiology (CKDu) in Sri Lanka: geographic distribution and environmental implications. *Environ Geochem Health.* 33: 267-78, 2011.
 - 26) Koizumi, A, Kobayashi, H, Liu, W, Fujii, Y, Senevirathna, ST, Nanayakkara, S, Okuda, H, Hitomi, T, Harada, KH, Takenaka, K, Watanabe, T, and Shimbo, S. P. R4810K, a polymorphism of RNF213, the susceptibility gene for moyamoya disease, is associated with blood pressure. *Environ Health Prev Med.* 18: 121-9, 2013.
 - 27) Nanayakkara, S, Komiya, T, Ratnatunga, N, Senevirathna, ST, Harada, KH, Hitomi, T, Gobe, G, Muso, E, Abeysekera, T, and Koizumi, A. Tubulointerstitial damage as the major pathological lesion in endemic chronic kidney disease among farmers in North Central Province of Sri Lanka. *Environ Health Prev Med.* 17: 213-21, 2012.
 - 28) Nanayakkara, S, Senevirathna, ST, Karunaratne, U, Chandrajith, R, Harada, KH, Hitomi, T, Watanabe, T, Abeysekera, T, Aturaliya, TN, and Koizumi, A. Evidence of tubular damage in the very early stage of chronic kidney disease of uncertain etiology in the North Central Province of Sri Lanka: a cross-sectional study. *Environ Health Prev Med.* 17: 109-17, 2012.
 - 29) Ayala, HM, Herath, S, Kubota, K, Kawakami, T, Nagasawa, S, Motoyama, A, Weragoda, SK, Tushara Chaminda, GG, and Yati-gamma, SK. Potential risk of drinking water to human health in Sri Lanka. *Environmental Forensics.* 18: 241-50, 2017.
 - 30) Ananda Jayalal, TB, Mahawithanage, STC, Senanayaka, S, and Dassanayaka, PB. Evidence of selected nephrotoxic elements in Sri Lankan human autopsy bone samples of patients with CKDu and controls. *BMC Nephrol.* 21: 384, 2020.
 - 31) HMA, SH, Kawakami, T, Nagasawa, S, Serikawa, Y, Motoyama, A, Chaminda, GGT, Weragoda, SK, Yati-gamma, SK, and Amarasooriya, A. Arsenic, cadmium, lead, and chromium in well water, rice, and human urine in Sri Lanka in relation to chronic kidney disease of unknown etiology. *J Water Health.* 16: 212-22, 2018.
 - 32) Rippe, B. Is there an increased long-term risk of hypertension and renal impairment after Puumala virus-induced nephropathy? *Kidney Int.* 69: 1930-1, 2006.
 - 33) Miettinen, MH, Makela, SM, Ala-Houhala, IO, Huhtala, HS, Koobi, T, Vaheri, AI, Pasternack, AI, Porsti, IH, and Mustonen, JT. Tubular proteinuria and glomerular filtration 6 years after puumala hantavirus-induced acute interstitial nephritis. *Nephron Clin Pract.* 112: c115-20, 2009.
 - 34) Miettinen, MH, Makela, SM, Ala-Houhala, IO, Huhtala, HS, Hurme, MA, Koobi, T, Partanen, JA, Pasternack, AI, Vaheri, A, Porsti, IH, and Mustonen, JT. The severity of acute Puumala hantavirus infection does not predict the long-term outcome of patients. *Neph-*

- ron Clin Pract. 116: c89-94, 2010.
- 35) Makela, S, Ala-Houhala, I, Mustonen, J, Koivisto, AM, Kouri, T, Turjanmaa, V, Vapalahti, O, Vaheri, A, and Pasternack, A. Renal function and blood pressure five years after puumala virus-induced nephropathy. *Kidney Int.* 58: 1711-8, 2000.
 - 36) Sarathkumara, YD, Gamage, CD, Lokupathirage, S, Muthusinghe, DS, Nanayakkara, N, Gunarathne, L, Shimizu, K, Tsuda, Y, Arikawa, J, and Yoshimatsu, K. Exposure to Hantavirus is a Risk Factor Associated with Kidney Diseases in Sri Lanka: A Cross Sectional Study. *Viruses-Basel.* 11 2019.
 - 37) Wijkstrom, J, Jayasumana, C, Dassanayake, R, Priyawardane, N, Godakanda, N, Siribaddana, S, Ring, A, Hultenby, K, Soderberg, M, Elinder, CG, and Wernerson, A. Morphological and clinical findings in Sri Lankan patients with chronic kidney disease of unknown cause (CKDu): Similarities and differences with Mesoamerican Nephropathy. *PLoS One.* 13: e0193056, 2018.
 - 38) Sunil-Chandra, NP, Jayaweera, J, Kumbukgolla, W, and Jayasundara, M. Association of Hantavirus Infections and Leptospirosis With the Occurrence of Chronic Kidney Disease of Uncertain Etiology in the North Central Province of Sri Lanka: A Prospective Study With Patients and Healthy Persons. *Front Cell Infect Microbiol.* 10: 556737, 2020.
 - 39) Palihawadana, P. (2009) Research Programme for Chronic Kidney Disease of Unknown Aetiology in Sri Lanka. (Lanka, W. E. R. S. ed., 4 Ed.
 - 40) World Health Organization, SL. (2016) Case definition of Chronic Kidney Disease of unknown etiology (CKDu). in *Workshop report 'Designing a step-wise approach to estimate the burden and to understand the etiology of CKDu in Sri Lanka'*
 - 41) Elwell, MR, Ward, GS, Tingpalapong, M, and LeDuc, JW. Serologic evidence of Hantaan-like virus in rodents and man in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 16: 349-54, 1985.
 - 42) Calisher, CH, Wagoner, KD, Amman, BR, Root, JJ, Douglass, RJ, Kuenzi, AJ, Abbott, KD, Parmenter, C, Yates, TL, Ksiazek, TG, Beaty, BJ, and Mills, JN. Demographic factors associated with prevalence of antibody to Sin Nombre virus in deer mice in the western United States. *J Wildl Dis.* 43: 1-11, 2007.
 - 43) 佐藤有紀, and 柳田素子. 腎線維化の原因細胞と成因. *日本腎臓学会誌.* 57: 1187-92, 2015.
 - 44) 高折光司, and 柳田素子. AKIとCKDのクロストーク. *日本透析医学会雑誌.* 51: 159-65, 2018.
 - 45) Maarouf, OH, Aravamudhan, A, Rangarajan, D, Kusaba, T, Zhang, V, Welborn, J, Gauvin, D, Hou, X, Kraumann, R, and Humphreys, BD. Paracrine Wnt1 Drives Interstitial Fibrosis without Inflammation by Tubulointerstitial Cross-Talk. *J Am Soc Nephrol.* 27: 781-90, 2016.
 - 46) Uchida, N, Kushida, Y, Kitada, M, Wakao, S, Kumagai, N, Kuroda, Y, Kondo, Y, Hirohara, Y, Kure, S, Chazembalk, G, and Dezawa, M. Beneficial Effects of Systemically Administered Human Muse Cells in Adriamycin Nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 28: 2946-60, 2017.
 - 47) Wei, Z, Shimizu, K, Nishigami, K, Tsuda, Y, Sarathkumara, YD, Muthusinghe, BDS, Gamage, CD, Granathne, L, Lokupathirage, S, Nanayakkara, N, Arikawa, J, Kikuchi, F, Tanaka-Taya, K, Suzuki, M, Morikawa, S, Arai, S, and Yoshimatsu, K. Serological methods for detection of infection with shrew-borne hantaviruses: Thottapalayam, Seewis, Altai, and Asama viruses. *Arch Virol.* in press 2020.
 - 48) Abbas, AA, Ali, HAA, Alagib, MA, Salih, HFS, Elkhidir, IM, El Hussein, ARM, and Enan, KA. Prevalence and risk factors of Hantavirus infection in patients undergoing hemodialysis in Khartoum, Sudan, in 2019: a cross-sectional study. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2020.

Hantavirus infection as a risk for chronic kidney disease of unknown etiology (CKDu) in Sri Lanka

Kumiko YOSHIMATSU

Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University

Chronic kidney disease of unknown etiology (CKDu) has emerged in endemic areas of Sri Lanka since the 1990s. The disease is a chronic but fatal disease. Until now, heavy metals and agrochemicals have been suspected as the cause of CKDu, but it has been still unknown. Recently, we have found a high seroprevalence to hantavirus in CKDu patients and reported that hantavirus infection is a risk of CKDu. Hantaviruses are rodent-borne zoonotic viruses. Here, I would like to introduce a story of the research from sero-epidemiology to the search for host animals.