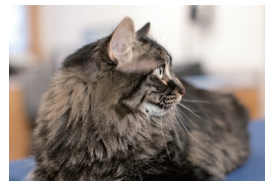




世界初* 猫伝染性腹膜炎(FIP)検査 RealPCR™ FIPウイルス

日本でも提供開始



アイデックス ラボラトリーズ 検査事業部では、猫伝染性腹膜炎(FIP)のより確実な診断をサポートする世界初*の「RealPCR™ FIPウイルス検査」のご依頼を受付開始いたします。

*FIPに特異的なスパイク遺伝子配列を検出する、商業的に提供される世界初の検査(2015年2月現在)



猫伝染性腹膜炎(FIP)の新しい診断法 RealPCR™ FIPウイルス検査

石田 卓夫 先生 (日本獣医病理学専門家協会会員)

FIPの病理発生

FIPとは、ウイルスに対する免疫反応が強くなり起こる結果、III型アレルギーの血管炎が様々な部位で起こり、あるいはIV型アレルギーの肉芽腫反応がリンパ節、腎臓、肝臓などで起こり、液体の滲出、多臓器病変、サイトカインの嵐で急速に状態が悪化する猫の致死性の疾患である。原因となるFIPウイルス(FIPV)は、猫の集団中に広く存在する非病原性の猫コロナウイルス(FCoV)、別名猫腸コロナウイルス(FECV)が遺伝子の複数部位で突然変異を起こした結果生まれるもので、通常は水平感染せず、猫の体内でウイルス突然変異が起こると、その個体が発病するものである。ウイルスの突然変異はコロナウイルスでは日常的に起こっていると考えられるが、このような強毒ウイルスの誕生に結びつく突然変異は、ストレスを受けた猫、FeLVやFIV感染で免疫に障害を持つ猫で比較的多くみられるようである。それでも、FECVに感染した猫のうち、最悪の状況でも10%程度しかFIPを発症しないことは、ウイルスが容易に水平感染しないこと、発病には様々な条件が必要になることを物語っている。

これまでのFIPの診断

FIPであることをそれだけで証明できる検査は、病理組織学的検査と免疫染色による病変内でのFIPV抗原の証明しかなく、臨床例において生検によって診断を行うことは現実には難しかった。そのため、さまざまな検査結果をあわせて診断することが多く、発熱、非再生性貧血、高グロブリン血症、ポリクローナルガンモパチー、特徴的な腹水・胸水の所見、肉芽腫病変、前ブドウ膜炎、蛋白尿、神経徴候などの中から複数の所見がみられ、血清学的にコロナウイルス抗体価が高値で、あるいは血液中・貯留液中FCoV PCR陽性所見がみられることなどをあわせて、FIPの可能性がきわめて強いという形で生前診断を行ってきた。抗体検査はFECVの腸内感染でも上昇がみられるため特異性に乏しく、またFIP発症例であっても低値がでることもあり、確実な検査ではなかった。また、RT-PCR法で実施する血液中・貯留液中のFCoVの検出も、FECVとFIPVの区別を行うものではなく、単に非病原性ウイルスがいるはずのない貯留液や血液中にウイルスが検出されたならばFIPVと考える、といったものであり、これだけで確定診断となるものでもなかった。貯留液セルパック標本の病理検査とFIPウイルス免疫染色は、組織の病理検査に似た感度および特異性ではあるが、結果がでるまでかなりの日数が必要という難点があった。

検査項目	内容	本体価格 (税抜き)※1	検体※2 (複数の検体提出を推奨)	保存 方法	所要日数
RealPCR™ FIPウイルス	FIPV FECV(猫腸コロナウイルス)	5,800円	*【推奨】吸引組織または生検検体 *【推奨】胸水、腹水または脳脊髄液0.5ml * EDTA 全血 1ml ※3	冷蔵	5-8日

※1 検査サービス会員様向け価格となっております。

※2 検体作成方法については本記事裏面をご参照ください。ご質問がある場合は、0120-71-4921(検査サービス事業部)までお問い合わせください。

※3 全血検体のみご提出の場合、ウイルス量が少なく検出できない可能性があります。

※ Real PCR 新項目検査ご依頼の際は、総合検査依頼書の空欄部分に新検査の項目名の記載をお願いいたします。

FIPVに特異的な遺伝子変異の発見

1998年に、猫の体内で低病原性FCoVからORF 3c部分の欠失でFIPVが生じることが報告されたが、後に3c部分は病原性には関係がなく、腸での増殖に必要な遺伝子であるということがわかって、おそらくFIPVを特徴付ける変異は別にもあるのだろうと思われるようになってきたが最近まで謎のままであった。2012年にオランダ・ユトレヒト大学のグループが、FIPV分離株の95%以上でスパイク(S)蛋白のアミノ酸2個の変異を持つという報告を行い、これがFIPVがマクロファージに感染して血中に入るその病原性に重要な変異ではないかと考えられた。スパイク蛋白における類似の変異は2013年にもコーネル大学のグループからも発表されたが、アイデックス ラボラトリーズ(株)ではユトレヒト大学グループの協力を得て、このアミノ酸2個の変異を検出するPCRを開発し、RealPCR™ FIPウイルス検査として受託検査をアメリカから開始した。わが国でも、2015年2月以降に同社にて検査が開始される。

FIP診断の流れ

FIPの診断は複数の検査結果と臨床症状を考慮して行う必要があります。RealPCR™ FIPウイルス検査は確定診断の補助となります。

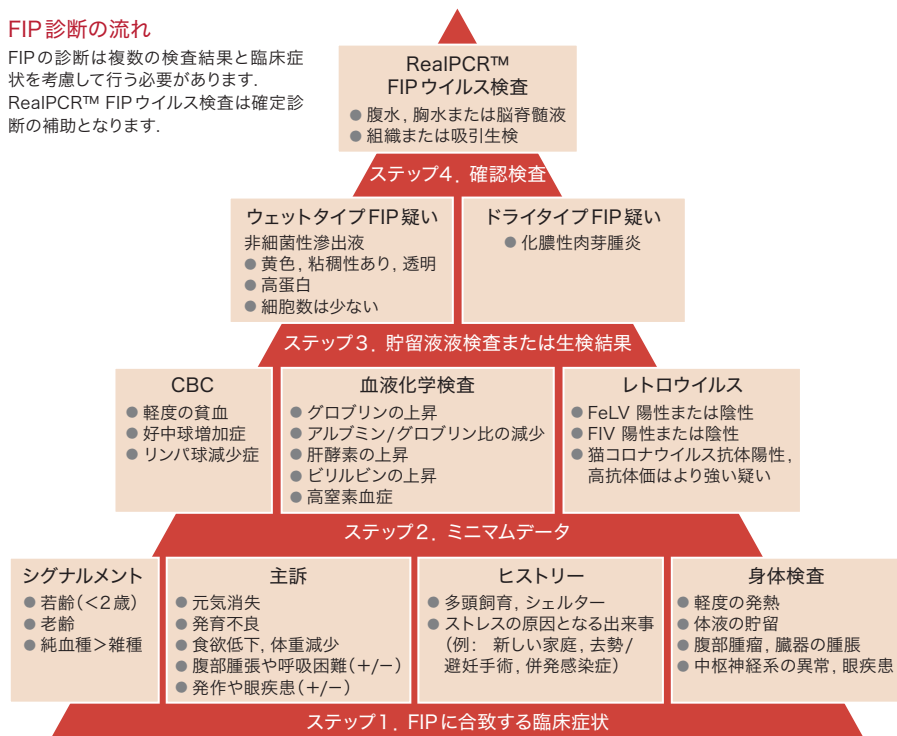


図1: FIP診断ピラミッド

FECVがみられるため、RealPCR FCoVは陽性を示してしまい結果の解釈に混乱が生じるので、この特異的FIPV検査の材料としては受け付けていない。オランダで得られた検体164例を利用した評価では、FIP診断感度98.7%、特異性100%という数字が報告されている。日本からの検体、アメリカの検体でも、同じ突然変異を持つFIPVが検出されることはすでにわかっている。

結果の解釈

結果は、検体中にFIPVが存在する、変異のないFCoVすなわちFECVが存在する、FCoVは存在するが未知の変異がみられる(FIPVは除外できず)、ウイルスが検出できない、のいずれかで報告される(表1)。この検査はスクリーニングで一般集団に対して行うのではなく、臨床的にFIPが十分疑われている症例に対して行うため、ウイルスが検出できないという場合は、検体が不適切でウイルス量が少なすぎる、などの場合も考えておいてよい。また、FCoVの中には犬のコロナウイルスと組換えを起こしたFCoV II型がまれに存在するので、その場合スパイク蛋白遺伝子は犬のウイルス由来であり、この検査系では検出できない。したがって、臨床的に十分FIPが疑われて陰性結果が出た場合には、病理組織学的検査とFIPV抗原免疫染色といった、従来からの診断法に頼るべきである。

RealPCR™ FIPウイルス検査

この検査では、送付検体に対してこれまでのRealPCR FCoV検査をまず行い、コロナウイルスの有無を調べ、陽性であったならFIPVに特異的なPCRを行って、遺伝子変異したFIPVがいるのかいないのかを確認するという2段階の作業を行っている。このように特異性を非常に高めた検査は、あくまでもこれまでの診断アプローチにより疑いを強めた集団に対し(図1)、適切な材料で行う必要がある。すなわち、すべての猫に対して血液を用いて行うようなスクリーニング検査ではないので注意が必要である。血液では十分なウイルス量が得られないことが多いため、検体としてはFIPに特徴的な貯留液が得られた場合、あるいはドライタイプ疑いの症例でリンパ節腫大や脾腫がみられた場合のFNA材料などが適切である。糞便中には高率に

FIPV バイオタイプ結果	解釈
FIPV	FCoVがFIPVのバイオタイプに変異しています。臨床症状が認められる猫においては、FIPの診断を支持します。臨床症状がない場合、FIPを発症する可能性が高いことが示唆されるため、慎重なモニターを実施してください。
FECV	FCoVは変異していないため、FIPである可能性が低いと考えられます。
分類不能	未知の株変異がおきているため、FCoVのバイオタイプが確認できません。FIPを除外することはできません。
検出限界以下	必要なウイルス粒子量に満たないため、バイオタイプが確認できません。FIPは除外できません。この結果は全血検体でよくみられますが、その他の種類の検体でも起こることがあります。異なる種類の検体の提出を検討してください。

表1: RealPCR™ FIPウイルス検査 結果解釈