

Q熱による呼吸器感染症の国内での
発症状況および病像に関する研究
(課題番号H10-新興-8)

平成10年度厚生科学研究補助金
新興・再興感染症研究事業
総括および分担研究報告書

Q熱による呼吸器感染症の国内での
発症状況および病像に関する研究

(課題番号H10-新興-8)

平成10年度厚生科学研究補助金
新興・再興感染症研究事業

総括研究報告書および分担研究報告書
(平成10年度分)

主任研究者 渡辺 彰
東北大学加齢医学研究所
呼吸器腫瘍研究分野 助教授

目次

総括研究報告書	主任研究者 渡辺 彰 P 1 ~ 2 東北大学加齢医学研究所 呼吸器腫瘍研究分野 助教授
分担研究報告書	分担研究者 高橋 洋 P 3 ~ 4 東北大学加齢医学研究所 呼吸器腫瘍研究分野 医員
分担研究報告書	分担研究者 徳江 豊 P 5 東北大学加齢医学研究所 呼吸器腫瘍研究分野 助手
分担研究報告書	分担研究者 白石 廣行 P 6 ~ 7 宮城県保健環境センター 微生物部 部長
分担研究報告書	分担研究者 平井克哉 P 8 岐阜大学農学部 家畜微生物学講座 教授
関連論文・発表・著書	P 9 ~

総括研究報告書

Q熱による呼吸器感染症の国内での発症状況および病像に関する研究

主任研究者 渡辺 彰
東北大学加齢医学研究所
呼吸器腫瘍研究分野 助教授

要旨：宮城県内の臨床施設を組織して市中発症型Q熱のサーベイランスを
施行した。登録された237症例に関して抗体価、PCR法を中心とした検索
を施行したところ、このうち8例(3.4%)がQ熱に起因する呼吸器感染症で
ある可能性が高いものと判定された。

分担研究者

徳江 豊 東北大学加齢医学研究所
呼吸器腫瘍研究分野 助手
高橋 洋 東北大学加齢医学研究所
呼吸器腫瘍研究分野 医員
白石 廣行 宮城県保健環境センター
微生物部 部長
平井克哉 岐阜大学農学部
家畜微生物学講座 教授

A) 研究目的

本研究の目的は市中発症型の日常的な呼吸器感染症としてのQ熱の頻度および病像を解析することにある。そのために宮城県内の臨床施設と連携して市中発症型Q熱呼吸器感染症のサーベイランスを施行し、収集検体に関して血清抗体価およびPCR法を用いてQ熱症例の検索を試みた。

B) 研究方法

①検体の収集

宮城県内各地域の18臨床施設を組織してサーベイランスを施行、市中発症型呼吸器感染症患者237症例を登録して各種患者検体を収集した。

②患者情報の解析

登録された237症例における病型、基礎疾患、動物との接触状況など背景因子を解析した。

③血清抗体価の測定

急性期血清およびペア血清に関して、間接蛍光抗体法を用いてIgMおよびIgG抗体価を測定した。

④PCR法

各症例の咽頭拭い液、喀痰および血清(よりDNAを抽出し、Nested PCR法を用いてコクシエラ遺伝子の検索を施行した。

⑤病原体分離

一部の症例に関しては、凍結保存血清からのコクシエラの分離培養を試みた。

C) 研究結果

①検体の収集

登録症例数237
初回血清数237、ペア血清数88
咽頭拭い液234、喀痰81

②患者情報の解析

237症例の内訳は肺炎が51例、上気道炎が97例、気管支炎が85例であった。動物との接触歴がある患者は全体の3分の1、家庭内での同時発症例も全体の約3分の1を占めていた。

③血清抗体価の測定

IgG抗体価は、40倍以上を陽性と評価すれば28例(全体の11.8%)検出され、分献的な国内の健常人の抗体保有率よりも高値を示した。またペア血清での有意の抗体価上昇例はみられなかったが、急性期あるいはペアも含めて抗体価が高値を示した症例が認められ、320倍以上を示した下記4例はQ熱による急性呼吸器感染症である可能性が高いものと判断した。

IgG抗体価陽性例

2560倍以上	1例
640倍	2例
320倍	1例
160倍	9例
80倍	9例
40倍	6例

計28例(11.8%)

④PCR法

咽頭拭い液のうち3件、血清のうち1件がNested PCRの段階で陽性となった。

⑤病原体分離

今回の検討で陽性症例は得られなかった。

D) 考察

①結果の解釈

今回登録された237症例のうちで抗体価高値の4例およびPCR陽性の4例、合計8例(全体の3.4%)はQ熱である可能性が高いものと判断した。欧米の報告ではQ熱は市中肺炎の数%程度を占めるとするものが多いが、今回の結果は本邦でも実は欧米とさほど変わらない頻度でQ熱症例が存在している可能性を示唆するものと言えよう。

今回の検討では複数検査のうち一方のみが陽性を示し確診例とは断定できないケースが多数を占めたが、これは外来レベルの一般臨床検体においてはペア検体のそろわない症例、前投与抗菌薬のある症例、急性

期以降に受診する症例などが少なからず含まれることに起因するものと考えられる。またPCRに関してはいずれもNestedの段階での検出例であり、DNA抽出法を選択等によっては陽性率が変化する可能性も考えられる。

②Q熱疑診例の臨床像

Q熱疑いの8症例の病像を見ると、上気道炎が5例、気管支炎が2例、肺炎が1例となっていた。発熱はほとんどの症例が39℃以上であり、また急性期の肝機能障害は検査が施行されていた3例中の2例に認められた。動物との接触歴は濃厚ではなく、接触機会なしと答えた症例が過半数を占めていた。

③今後の展望

本邦におけるQ熱の病像解明、あるいはPCR法等も交えた実戦的な診断基準を作成していくためにはさらに症例を追加集積していく必要がある。Q熱は局地的な流行を来しやすいためか発症状況に変動があり、また時期的には夏期の発症が比較的多いといわれている。したがって次回は夏期にサーベイランスを施行してその発症状況を比較し、同時に症例の蓄積も計ることが必要と考えられる。

また気道検体の処理法などにも検討の余地は残されており、今回のサンプル等を活用してより精度が高く安定した手順や条件を検討、追求していく必要がある。

E) 結論

今回のサーベイランスにより登録された市中発症型呼吸器感染症237例のうち8症例、3.4%がQ熱に起因するものと考えられた。

F) 研究発表

1998年度の著書、論文を参考として巻末に提示する。

分担研究報告書

Q熱による呼吸器感染症の国内での発症状況および病像に関する研究

分担研究者 高橋 洋
東北大学加齢医学研究所
呼吸器腫瘍研究分野 医員

要旨：宮城県内の18臨床施設を組織して市中発症型Q熱のサーベイランスを施行し、急性呼吸器感染症237例を症例として登録、検体を採取した。また各症例の病型、基礎疾患、年齢性別、動物との接触歴など患者背景を整理分析した。

<p>A) 研究目的 Q熱による市中発症型呼吸器感染症の頻度および病像を把握することを目的として、宮城県内の臨床施設と連携して市中発症型Q熱呼吸器感染症のサーベイランスを施行した。</p> <p>B) 研究方法</p> <p>①対象施設 宮城県内各地域の17施設および加齢医学研究所附属病院を対象施設とした。</p> <p>②対象患者 上記施設を市中発症型の急性呼吸器感染症のために受診症例全般を本サーベイランスの対象とした。</p> <p>③同意の取得 急性呼吸器感染症患者の来院時に各施設の担当医が本人に本検討の趣旨を説明し、検討への参加同意が得られた症例のみを登録した。</p> <p>④登録票、経過表の記載 各患者の背景を把握するため、患者登録票(初診時)および経過記録表(再診時)を各施設の担当医が記載のうえ保管した。</p>	<p>⑤採取検体 初診時には血清、全血、咽頭拭い液(原則として必須)および喀痰(採取可能例のみ)を採取した。また再診可能症例では再診時にペアの血清を採取した。これら検体は採取後すみやかに各施設において凍結保存とした。</p> <p>⑥必要資材、書類はあらかじめ各施設へ搬送した。また検討終了後は検体および用紙を各施設より加齢研へと回収し、各々の検体を各検査施設へ分配した。</p> <p>⑦患者情報を集積し、患者の背景因子の分析を行った。</p> <p>C) 研究結果</p> <p>①登録症例、採取検体 有効登録症例数237 初回血清237件 ペア血清88件 咽頭拭い液234件 喀痰81件 全血233件 その他(BALF)1件</p> <p>②患者情報 年齢、性別など 年齢3-90歳まで 中心は20-70歳代 男性127名 女性110名</p>
--	--

医療機関：一次医療機関由来64名
二次～三次医療機関由来180名
仙台市街地域由来145名
郊外区域由来89名

感染症：肺炎 51名
急性気管支炎 85名
急性上気道炎 97名
その他 04名

基礎疾患：なし 161名
あり(単一) 63名
あり(複数) 13名
喘息、高血圧等が上位

動物との接触機会
：なし 157名
：あり 080名
(複数種の動物と接触 24名)

家族内での発症
：なし 167名
：あり 070名

初診前の投与抗菌薬
：なし 178名
：あり 052名
：不明 007名

治療抗菌薬(再診例のみ)
：単剤投与 48名
：複数投与 30名

初診時検査成績(施行例のみ)
WBC増多あり：37.0%
CRP上昇あり：79.6%
肝機能障害合併：27.5%

D) 考察

ごく日常的な市中感染症としてのQ熱の病像を把握することが本サーベイランスの主目的である。したがって今回のデザインは必須項目や登録規定を極力簡略化して、第一線の市中病院から多くの症例を登録できることを目標として設定した。結果としては比較的バランスのよい検体収集が施行できたものと考えられる。全体としてみると前投薬のある症例、ペア検体のない症例、急性期以後の受診症例等も多数含まれているが、これは外来型の軽度～中等度感染症患者を対象とした検討においてはやむを得ないことである。またこれら症例を除外するよりはむしろ含めて包括的に解析することが逆に一般の日常臨床をより反映した成績につながるものとも予測される。

E) 結論

今回のサーベイランスにおいて市中発症型の急性呼吸器感染症237症例が登録された。

F) 研究発表

1998年度の著書、論文を参考として巻末に提示する。

分担研究報告書

Q熱による呼吸器感染症の国内での発症状況および病像に関する研究

分担研究者 徳江 豊
東北大学加齢医学研究所
呼吸器腫瘍研究分野 助手

要旨：市中発症型Q熱呼吸器感染症のサーベイランスにおいて収集した患者血清および喀出痰を検体としてDNAを抽出し、PCR法を用いてコクシエラ遺伝子の検索をおこない陽性例を検出した。

<p>A) 研究目的</p> <p>Q熱による市中発症型呼吸器感染症の頻度および病像を把握するために、血清および喀出痰のPCR法を用いて今回のサーベイランスで収集された検体の解析を施行した。</p> <p>B) 研究方法</p> <p>①血清のPCR</p> <p>各症例の急性期血清237件を対象とした。各検体のDNAは平井らの報告に基づいて調製した。すなわち各血清10μlをsample buffer 40μlと混合したうえで15分間煮沸、遠心のうえ上清をサンプルとして使用した。続いて同様に平井らの報告に基づいたNested PCRを施行し、コクシエラ遺伝子の検索を行った。</p> <p>②喀出痰のPCR</p> <p>急性期に採取した喀出痰81件を対象とした。各検体のDNAは、まずスプタザイムにて喀痰を可溶化、均質化した後に市販のDNA抽出キット(DNA EXTRACTOR WB KIT：和光純薬)を用いて抽出した。続いて同様にNested PCR法を施行し、コクシエラ遺伝子の検索を行った。</p>	<p>C) 研究結果</p> <p>①血清のPCR</p> <p>血清のPCRにおいては、237件中1件が陽性となった。</p> <p>②喀出痰のPCR</p> <p>喀出痰のPCRにおいては、81件中で明らかな陽性例は得られなかった。</p> <p>D) 考察</p> <p>今回の検討ではPCR陽性例は血清からの1例のみであった。PCRは高感度の検査法であるが、臨床検体、とくに喀痰のような粘度が高く不均一な検体を用いる場合の成績は患者検体の処理法等の影響を強く受けるものと考えられる。したがって今後はDNA抽出法を他法に変更した場合の成績の変動等についても比較検討を加える予定である。</p> <p>E) 結論</p> <p>今回の検討では血清からのコクシエラPCR陽性症例が1例検出され、本症例は市中発症型のQ熱呼吸器感染症である可能性が高いものと考えられた。</p>
---	--

分担研究報告書

Q熱による呼吸器感染症の国内での発症状況および病像に関する研究

分担研究者 白石 廣行

宮城県保健環境センター 微生物部 部長

要旨：市中発症型Q熱呼吸器感染症のサーベイランスにおいて収集した急性期およびペアの患者血清をサンプルとしてQ熱抗体価を測定し、抗体価高値の症例を確認した。また同じく患者の咽頭拭い液よりDNAを抽出し、PCR法を用いてQ熱病原体*C. burnetii*遺伝子の検索をおこない陽性例を検出した。

A) 研究目的

Q熱による市中発症型呼吸器感染症の頻度および病像を把握するために、今回のサーベイランスで収集された検体の血清抗体価およびPCR法を用いて咽頭拭い液中の遺伝子の解析を施行した。

B) 研究方法

①抗体価の測定

急性期血清237件およびその1～5週間後に採取したペア血清88件を対象とした。Q熱の抗体価は、間接蛍光抗体法を用いて各々IgGおよびIgM抗体価を測定した。*C. burnetii* Nine Mile株(II相菌)感染GM細胞を用いて抗原プレートを作成、まず患者血清の希釈系列で一次反応を行い、洗浄のちFITC標識抗ヒトIgGおよびIgM抗体を反応させて蛍光顕微鏡で観察して判定を行った。

②咽頭拭い液のPCR

急性期に採取した咽頭拭い液234件を対象とした。各検体のDNAはフェノール・クロロホルム法で抽出した。平井らの報告に基づいてNested PCR法を施行し、コクシエラ遺伝子の検索を行った。

C) 研究結果

①抗体価の測定

IgG抗体価は、40倍未満をカットオフ値とし、陽性例が28例(11.8%)検出された。ペア血清採取例において有意の抗体価上昇例はみられなかったが、急性期あるいはペアも含めて高力価を示した症例が検出された。一方IgM抗体価に関しては今回の検索では明瞭な陽性検体は検出されなかった。

Q熱IgG抗体価(237検体)

2560倍以上	1例
640倍	2例
320倍	1例
160倍	9例
80倍	9例
40倍	6例

計28例(11.8%)

40倍未満 209例

②咽頭拭い液のPCR

咽頭拭い液のPCRにおいては、234検体のうちの3件がNested PCRで陽性であることが確認された。

D) 考察

Q熱の抗体価に関しては、今回の解析ではIgG抗体価が40倍以上の症例が全体の11.8%を占めており、本邦の健常人における陽性率(報告にもよるが数%)よりは明らかに高値を示した。ただしこれらの数値は測定方法や陽性基準値の設定によって変化するため単純な比較は困難である。IgM抗体価については明白な陽性例は今回は見いだせなかったが、IgG抗体価に関しては高力価陽性症例が数例検出されており、これらの症例はおそらく急性Q熱による気道感染の可能性が高いものと考えられる。また咽頭拭い液のPCR陽性症例3例に関してもおそらくは急性Q熱による気道感染の可能性が高いものと判断している。

E) 結論

今回の検討ではQ熱による呼吸器感染症の可能性が高い症例が数例検出され、本邦にも市中発症型のQ熱呼吸器感染症症例が少なからず存在している可能性が確認された。

なおこれら症例に関しては、必要に応じて今後検体処理や検査方法を検討し、さらに高精度で安定した解析を心がけていきたい。

分担研究報告書

Q熱による呼吸器感染症の国内での発症状況および病像に関する研究

分担研究者 平井克哉

岐阜大学農学部 家畜微生物学講座 教授

要旨：市中発症型Q熱呼吸器感染症のサーベイランスにおいて抗体価、PCRからQ熱が疑われた症例に関して血清からの病原菌の分離を試みた。

A) 研究目的

本邦における市中発症型Q熱呼吸器感染症の病像を把握することが今回のサーベイランスの主目的である。今回の検討では、抗体価、PCRおよび臨床像からQ熱が疑われた症例に関する確認、追加検査として凍結保存血清からの病原菌の分離を試みた。

B) 研究方法

血清からの菌の分離手順

患者血清0.5～1mlをAJマウス(6W令)に腹腔内投与し2-3週後に殺処分。脾臓の塗抹標本よりヒメネス染色および蛍光抗体法で菌体を証明。さらに脾臓乳剤から本菌の遺伝子を検出、マウス血清から抗体を検出する。上記陰性の場合にはマウスを3代まで育継代する。

C) 研究結果

今回の検討では、現時点まで血清からの菌の分離症例は見い出せていない。

D) 考察

Q熱の診断に関しては、血清抗体価の高値あるいは有意の上昇がひとつの基準となるが、その他にも各種検体からのPCR法による遺伝子の増幅、あるいは菌の分離培養などいくつかの方法をあげることができる。これら諸検査の感度や特異性は各々異なっており、また臨床検体では基礎疾患や受診時期や前治療など患者背景によるばらつきの影響が大きいため、各種診断結果に解離が生じることは決して希ではない。また、分離培養の場合には、他の検査法と比較して、検体の保管や輸送などの因子による影響を受けやすいものと考えられる。

E) 結論

検体採取や保管条件の再検討、現在の症例の見直しも必要であるが、基本的にはより多くの症例を蓄積し、各種検査の意義付けをより明確化するとともに、PCRなどを含めた実際的な診断基準を作成していく方向を目指す必要がある。

F) 研究発表

1998年度の著書、論文を参考として巻末に提示する。

1998年度 関連論文、著書、発表

19980460

報告書 続き[1]は下記に掲載

Retrospective survey of Q fever in Japan using PCR to detect *Coxiella Burnetii* DNA in bronchoalveolar lavage fluids.

H. Takahashi, Y. Tokue, T. Kikuchi, T. Nukiwa and A. Watanabe.

Abstract of International Conference of American Thoracic Society, April 24-29 Chicago, Illinois., 1999

19980460

報告書 続き[2]は下記に掲載

テトラサイクリン系抗生剤. 薬の顔: 構造活性関連の話. 43

渡辺彰

日本薬剤師会雑誌. 51 巻 1 号, pp.79-87, 1999

19980460

報告書 続き[3]は下記に掲載

肺炎:東北大学加齢医学研究所附属病院胸部腫瘍内科. 病院最前線ガイド'99. こんな病気こんな治療.

渡辺彰

週刊文春. 平成 11 年 2 月 25 日号, pp.137, 1999

19980460

報告書 続き[4]は下記に掲載

Q 熱(コクシエラ感染症)－最近の動向と治療－. (特集)治療トピックス
100

高橋洋, 渡辺彰

治療. 81 巻増刊号, pp.592-597, 1999

19980460

報告書 続き[5]は下記に掲載

Q 熱に関する最近の知見.

平井克也

[掲載誌不明], pp.?-?, 1999?

19980460

報告書 続き[6]は下記に掲載

**Advances in the understanding of *Coxiella burnetii* Infection in Japan.
(Review)**

Katsuya Hirai and Ho To.

Journal of Veterinary Medical Science. Volume 60 Number 7, pp.781-790,
1998

19980460

報告書 続き[7]は下記に掲載

Antigenic Characteristics of Polypeptides of *Coxiella burnetii* Isolates

Ho To, Akitoyo Hotta, Guo Quan Zhang, Sa Van Nguyen, Motohiko Ogawa,
Tsuyoshi Yamaguchi, Hideto Fukushi, Ken-ichi Amano, and Katsuya Hirai
Microbiology and Immunology. Volume 42 Number 2, pp.81-85, 1998

19980460

報告書 続き[8]は下記に掲載

**Clinical Evaluation of a New PCR Assay for Detection of *Coxiella burnetii*
in Human Serum Samples**

G. Q. Zhang, Sa V. Nguyen, H. To, M. Ogawa, A. Hotta, T. Yamaguchi, H. J.
Kim, H. Fukushi, and K. Hirai

Journal of Clinical Microbiology. Volume 36 Number 1, pp.77-80, 1998