

厚生科学研究費補助金
新興・再興感染症研究事業

回帰熱、レプトスピラ等の希少輸入細菌感染症の
実態調査及び迅速診断法の確立に関する研究

平成 12 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 増 澤 俊 幸

平成 13 (2001) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書

回帰熱、レプトスピラ等の希少輸入細菌感染症の実態調査及び迅速診断法の確立に関する研究	1
増澤俊幸	
(資料)レプトスピラ感染症パンフレット	9

II. 分担研究報告書

1. ペストの分子・血清疫学と監視体制の確立	21
神山恒夫	
2. 病原体レプトスピラ感染種の簡易同定法の確立と輸入レプトスピラ感染例の検出、及び回帰熱属ボレリア媒介ダニ刺咬症例に関する疫学的調査研究	25
川端寛樹	
3. 沖縄の患者、野鼠由来レプトスピラの血清学的、遺伝学的研究	29
角坂照貴	
4. 名古屋市周辺で捕獲した野鼠のレプトスピラ保有状況と分離株の性状解析	35
後藤郁夫	

回帰熱、レプトスピラ等の希少輸入細菌感染症の実態調査
及び迅速診断法の確立に関する研究

主任研究者 増澤俊幸 静岡県立大学・薬学部・助教授

研究要旨

沖縄、名古屋、神戸、仙台、および静岡で野鼠の保有レプトスピラ調査を行った。現在までに名古屋市内で 6 株、沖縄で 3 株、仙台で 1 株が分離された(培養継続中)。沖縄野鼠分離株は 2 株が血清型 javanica と同定され、1 株は血清型の同定に至らなかった(未同定血清型)。一方、名古屋分離株は 6 株のうち 5 株が血清型 icterohaemorrhagiae と同定され、1 株は沖縄の未同定血清型と近縁、もしくは同一血清型と考えられた。この未同定血清型はこれまで本土、もしくは沖縄で確認されてきた血清型とは異なっており、この 2 株については海外からの輸入血清型である可能性も考慮しながら、今後詳細な性状の解析を行う必要がある。レプトスピラ培養には新鮮ウサギ血清をベースとする Korthof 培地が適すること、また野鼠の捕獲法、臓器の摘出法を含む一連の調査システムの確立に成功したことから、今後は調査地を拡大して行く予定である。一方、沖縄本島野鼠から未知のボレリアの培養に成功した。回帰熱ボレリアとは性状が異なり、ライム病ボレリアに近縁である可能性を示唆した。

レプトスピラの鞭毛遺伝子(*flaB*)を標的とするポリメラーゼ連鎖反応(PCR)は、その感度・特異性からレプトスピラ症の迅速診断法として有用であることを明らかにした。またレプトスピラ感染の起因種の同定法として、*flaB*-PCR-制限酵素断片長多型性(RFLP)法が有用であることも明らかにした。

マレーシアで行われたトライアスロン競技中にレプトスピラに感染、帰国後に発症した患者一例を感染症発生動向調査週報および病原微生物検出情報を通じて報告し、医療関係者に注意を促した。回帰熱型ボレリア感染が疑われた患者一例を見出し、その血清反応性から鳥型回帰熱群ボレリア、若しくは牛型回帰熱ボレリアに近縁のボレリア感染が起った可能性を明らかにした。

ペスト発生国から輸入されるプレーリードッグなどの野生げっ歯類の感染実態把握のため輸入実態調査を実施した。アメリカ合衆国におけるペストの疫学報を CDC 媒介動物疾病部およびカリフォルニア州衛生部から入手して分析した。また、感染源動物に寄生するノミからのペスト菌 DNA 検出法の確立のための準備を行うとともに、血清学的に感染動物を摘発するために用いる参考血清を作製した。

研究分担者	神山恒夫 国立感染症研究所・獣医科学部・室長	生研究所
研究分担者	川端寛樹 国立感染症研究所・細菌部・研究員	研究協力者 葛宗俊明 名古屋検疫所
研究分担者	角坂照貴 愛知医科大学・助手	研究協力者 岩崎恵美子、野田孝政 仙台検疫所
研究分担者	後藤郁夫 名古屋検疫所・検疫専門官	研究協力者 鎌倉和政 神戸検疫所
研究協力者	小泉信夫 国立感染症研究所・細菌部・研究員	研究協力者 藤原伸司 静岡市保健所
研究協力者	中村正治、平良勝也 沖縄衛	

A. 研究目的

レプトスピラ症、回帰熱、ペストはいずれもげっ歯類を保有体とする細菌感染症である。これらは近年日本では患者が激減し

た、あるいは全く報告されない感染症である。しかし、これらの感染症は世界的にはきわめて重要であり、未だ多くの患者が報告され、重大な被害をもたらしている。レプトスピラ(*Leptospira*)は九州大学の稲田、井戸により 1915 年に世界に先駆けて日本で初めて患者より発見され、純培養された。古くから日本ではレプトスピラ症は秋疫、用水病などの名で呼ばれる風土病として恐れられていた。1970 年代まで年間数十人の死亡例が報告されていたが、近年では農業の機械化等の農業様式や生活様式の変化に伴い、急激に減少した。しかし、その一方で 1999 年に沖縄県八重山諸島で十数名が川などで感染した事例や、1998 年にアメリカで大雨後の増水した湖で行われたトライアスロン大会に参加した多くの選手が感染した事例もあり、水辺でのレジャーやスポーツ時の感染が懸念されている。

ペストはグラム陰性小桿菌であるペスト菌 (*Yersinia pestis*) の感染による急性熱性感染症で、1 類感染症に指定される危険度の高い病原体である。本来、ペストは野生げっ歯類を保菌・増幅動物とする人獣共通感染症で、保有体動物を吸血したノミによってヒトへ伝播する。ヒトへの伝播の多くはノミを介して行われるが、最近では感染源としてのネコの役割も注目されている。ペスト菌に感染したネコは口腔内に膿瘍を形成して、咬傷、唾液、および咳等によってヒトへの感染源となり得る。世界的にはペストの患者数は徐々に増加しつつあり、流行地域も南アフリカ・マダガスカル、インド、東南アジア、中国、北米、南米と広範囲にわたっている。わが国におけるもっとも新しい患者発生は 1926 年に横浜で発生した 8 名である。また、動物におけるペストの発生も報告されていない。しかしその反面、一般の国民はもとより、医師、獣医師、および公衆衛生従事者の間においてもペストに関する注意や知識はきわめて乏しくなった。また、わが国にはペスト常在地で捕獲された野生げっ歯類がペットとして多数輸入されているが検疫や輸入規制は行われていない。

現代の世界規模の交通網の拡大により、保有体げっ歯類を介して海外からこれら病原体の侵入が危惧されている。そこで本研

究では港湾、並びに都市部で野鼠の捕獲を実施し、これら野鼠の当該病原体の保有状況を明らかにする。また、米国よりペットとして輸入されるプレーリードッグ等のペスト菌保有状況を調べ、侵入のリスクを疫学的に分析するとともに、リスクに応じた侵入防止対策を検討する。さらに、疫学調査と並行して分離された病原体について、血清学的、分子生物学的性状解析を行い、その由来を追跡し進入経路を解明し、防疫対策の確立に資する。分離された病原体株をもとに、迅速な血清診断法、遺伝子診断法、予防ワクチンの開発研究、さらには病原性発現の分子機構の解析を行う。

B. 研究方法

1. レプトスピラ、回帰熱ボレリアの分離培養。沖縄県本島、石垣島、西表島、名古屋市内、名古屋港、神戸港、仙台港、石巻港、静岡市内の学校等で野鼠の捕獲を行った。レプトスピラの分離には、野鼠の腎臓乳剤、または血液をそれぞれ EMJH 培地もしくは Korthof 培地に接種し、30℃にて 1~3 カ月間培養した。回帰熱ボレリアの分離には野鼠血液、耳介、膀胱を BSKII 培地に接種し、1~3 カ月間培養した。この間 1 カ月ごとに暗視野顕微鏡でレプトスピラの増殖の有無を調べた。

2. *flaB* および 16S rRNA 遺伝子配列解析に基づくレプトスピラ遺伝種の同定。レプトスピラ、並びにボレリア抽出 DNA を鋳型として、特異的プライマーを用いて、PCR 反応を行った。増幅産物を鋳型として、直接サイクルシークエンス反応を行い、塩基配列を決定した。また *flaB* を PCR 法にて増幅後、制限酵素 *Hae* III または *Hind* III で消化し、その制限酵素断片長多形性 (RFLP) にもとづく、レプトスピラ遺伝種の同定法の開発を行った。

3. レプトスピラ血清型の同定と確認。血清型特異的ウサギ抗血清と被検レプトスピラ培養液を反応させ、菌体の凝集により判定した (MAT)。対数増殖期のレプトスピラ菌体を低融点アガロースに封入し、制限酵素 *Not* I により生じた長鎖制限酵素断片をパルスフィールドゲル電気泳動で分析し、

株の同異を調べた(LRFP 解析)。

4. レプトスピラ、回帰熱ボレリア症が疑われる患者の血清診断と病原体の分離培養を実施した。

5. 米国疾病管理センター (CDC) および関連の米国連邦政府および州政府機関等からペストに関する情報入手と解析をおこなった。

6. ノミから Yp1 および Yp2 プライマーを用いた PCR 法によってペスト菌遺伝子の検出法の確立を行った。

7. 感染動物の血清学的摘発に用いる標準抗血清を作成する目的で、ペスト死菌ワクチンをニュージーランドホワイトウサギに免疫した。

倫理面への配慮

調査結果は直ちに防疫対策の確立にフィードバックした。動物に対しては「動物の保護と管理に関する法律」に基づき取り扱いを行った。動物からの材料の採取等を行う場合は国立感染症研究所実験動物取扱規程に準じて行った。

C. 研究結果

1. 野鼠由来レプトスピラの性状. 沖縄で捕獲された野鼠 67 匹から 3 株、名古屋市内で捕獲された野鼠 116 匹から 6 株のレプトスピラを分離した。また、仙台港で捕獲した野鼠 3 匹中 1 匹からレプトスピラを分離した。その他の地域の野鼠からは今のところレプトスピラは分離していない。これらの株はすべて新鮮ウサギ血清をベースとする Korthof 培地により分離された。*flaB* 解析、MAT、LRFP 解析により、沖縄の野鼠分離 2 株は *L.borgpetersenii* 血清型 *javanica* と同定された。残りの一株は *L.interrogans* と同定されたが、これまで発生が予想されたいずれの血清型に対する抗血清とも反応せず、いまだ未同定である。現在、抗血清を新たに作製し解析を予定している。名古屋市内で分離された 6 株は *flaB* 解析から *L.interrogans* に属すると同定され、このうち 5 株は最も重症型レプトスピラである血清型 *ictero-*

haemorrhagiae と同定された。また、残り一株は沖縄の未同定株と同じ血清型反応性を示したが、既存の予想される血清型との反応が見られず、現在解析を継続中である。

2. レプトスピラ症の感染種同定法の開発を目的として、*flaB* 遺伝子の一部を標的とした PCR-RFLP 法を確立した。この結果はレプトスピラ症病原体 *Leptospira interrogans*, *L.borgpetersenii*, *L.kirschneri*, など計 36 株の *flaB* 遺伝子の塩基配列を決定することで裏付けされた。また増幅産物が確認できた 36 株はいずれも病原性株として分離された株であることから、*flaB*-PCR は病原性株特異的である可能性も示唆された。

3. 野鼠由来ボレリアの性状. 沖縄の野鼠 67 匹からボレリア 10 株の分離に成功した。純粋な培養が得られた 8 株について、*flaB*、16SrRNA 遺伝子の配列解析を行い、このボレリアが回帰熱型ではなく、全く予想しなかったライム病関連ボレリア (*Borrelia burgdorferi*) であることを示唆した。しかしながら、本ボレリアの BSKII 培地での増殖は遅く、その病原性を実験動物で確認するに十分な量の安定した培養を現時点では得ていない。

4. 2000 年 8 月 16 日より 9 月 4 日までマレーシア・ボルネオ島サバ州にて仲間 3 人とともに耐久レースに参加した 25 歳、男性が、7 日より悪寒とともに 38~39°C 台の発熱を呈した。感染症研究所細菌部にて検査を行い、初回検査は陰性であったが、9 月 28 日に再検し、*L. interrogans* serover *hebdomadis* に対する抗体が 160 倍と陽性となり、レプトスピラ症と確定した。患者は MINO 200mg/日の点滴静注により治療した。

5. 患者 25 歳、男性は 1999 年 5 月 15 日より 5 月 29 日まで鳥島でアホウドリの観測・調査に参加し、ダニ刺咬を受けた。24 日より発熱、その後 2 ないし 3 日間熱感が

続いた。国立感染症研究所・細菌部にて検査を行い、有意な回帰熱ボレリアに対する抗体上昇をみとめた。患者血清は主に鳥や牛に病気を引き起こすとされている *B.anserina* および *B.coriaceae* に反応したことから、鳥島のダニ *O.capensis* 刺咬を介してこれら鳥型、または牛型の回帰熱群ボレリア感染があったものと推測した。

6. 米国疾病管理センター (CDC) および関連の米国連邦政府および州政府機関等から入手したペスト情報の解析と調査を行った。わが国ではペットとして多数輸入しているプレーリードッグのペスト罹患状況は警戒を要し、また米国からわが国へ輸出される野生げっ歯類等に関しては法令等による規制は行われていないことから、ヒトへの感染源として重要な動物であることが明らかになった。

感染源となる動物からヒトへのペスト菌の伝播は一部の例外を除いてノミが媒介動物となる。ノミ体内のペスト菌 DNA を迅速に高い感度で検出することができることが報告される Yp1 および Yp2 プライマーペアを用いて PCR 法によって検出する準備を進めている。

動物種によってはペスト菌の感染に対して比較抵抗性を示すものがある。この場合には血清学的な診断が有効である。WHO/CDC の標準法である標準参考血清とペスト菌 F-1 抗原感作血球を用いた間接血球凝集阻止試験を実施するための標準血清の作製を行った。

D. 考察

今回、全国で野鼠からのレプトスピラの分離を行い、沖縄で分離された 3 株の他に、名古屋市内で 6 株、仙台港で 1 株の分離に成功した。仙台港の分離株は現在性状を解析中である。名古屋市内で分離された 5 株はすべて *L.interrogans* 血清型 *icterohaemorrhagiae* と同定された。

残り 1 株は沖縄の野鼠由来株と近縁の血清型であることが示唆された。日本にこれまで存在が予想された血清型と異なることから、現在新たに抗血清を作製しその性状を解析予定である。レプトスピラ症の中でも最も重篤な症状を引き起こすとされている

血清型 *icterohaemorrhagiae* と同定されたレプトスピラは 8 月に名古屋市中区久屋大通り公園内の植込みで捕獲された野鼠より分離された。この公園には噴水があり、子供たちの水遊びが日常的に見られる環境にあり、レプトスピラとヒトの接触機会は十分にある場所であった。2000 年 9 月に名古屋周辺では大雨による洪水があったが、幸い、この洪水の後にレプトスピラ患者発生の報告は無いが、水害後のレプトスピラ症のアウトブレイクは世界各地で報告されており、十分な監視が必要であることを示唆した。この調査結果から、日本では今日もなおレプトスピラ症は我々の身近に存在し、いつ患者が発生してもおかしくない状況にあることを再確認するとともに、実態解明と監視体制の必要性を示唆した。培養にはウシ血清アルブミンをベースとする EMJH 培地より新鮮ウサギ血清をベースとする Korthof 培地が適すること、また野鼠の捕獲法、臓器の摘出法を含む一連の調査システムの確立に成功したことから、今後は調査地を拡大して行く予定である。

レプトスピラ感染症においては、疫学解析・ワクチン開発の情報源となる感染血清型の同定、及び感染種の同定が極めて重要である。感染種の同定には、16S rDNA 塩基配列、若くは DNA similarity に基づく同定が行われるが、迅速性に欠ける。*flaB* 遺伝子の PCR-RFLP 法は、迅速な種同定法で、さらには *flaB* 遺伝子の塩基配列をカタログとして参照することで分離株の血清型推定がある程度可能であり、極めて有益であることを明らかにした。

沖縄本島野鼠から未知のボレリアの培養に成功した。これらの血清学的、遺伝学的性状解析を現在進めているが、回帰熱ボレリアとは異なり、ライム病ボレリアに近縁である可能性を示唆した。日本ではライム病ボレリアは比較的寒冷地に棲息するシュルツェマダニにより媒介される、新興の人畜共通感染症病原体である。このマダニの生息域は北海道をはじめとして、長野以北であることから、沖縄はライム病とは無縁と考えられていたが、意外なことにライム病関連ボレリアが見出された。現在、その詳細な性状を解析中であるが、培養が難しく性状解析に十分な菌量を得ることができ

ていない。今後培養法も検討しながら、再調査を行い媒介マダニ種、保有体動物種の確定と実験的感染動物を用いて、その病原性を明かにしたい。

マレーシア・ボルネオ島で感染したと考えられるレプトスピラ症の 1 例を報告した。感染症が国際化している現在、海外の発生状況などに関する迅速な情報収集が重要である。旅行者数が大幅に増加している東南アジアでは、近年レプトスピラ症の流行が続いていることから、これら地域からの輸入症例を特に警戒すべきである。また、輸入症例に対する血清診断の精度向上のために、これら地域での流行血清型に関する情報収集を行うことは極めて重要である。

本邦には、回帰熱群ボレリア媒介ダニとして、*O. capensis* および *O. sawaii* が限られた地域でのみ生息するとされている。今回鳥島で感染した患者を見出したが、この島への調査には特別な許可を必要とすることから、回帰熱群ボレリアの本邦への spreading が即座に起こる可能性は極めて低い推察する。一方これまで本邦には存在しないと思われた回帰熱ボレリアの存在を示し、今後詳細な調査が必要であることを示唆した。

現在のところ世界のペスト発生地域の重要な地域として重要なマダガスカルおよびインドからの小動物輸入の統計はなく、また、日本へペット用として多数のげっ歯類を輸出している中国におけるペスト流行状況はまったく不明であり、次年度以降さらなる調査が必要である。

ペスト発生国から輸入されるプレーリードッグなどの野生げっ歯類の抗体価調査、並びにノミ等の外部寄生虫のペスト菌の保有状況を調査するための準備として、ペスト菌の PCR による迅速検出法ならびに、保有体げっ歯類の血清学的摘発法の整備を行った。

F. 健康危険情報

1. 病原微生物検出情報. 22(1), p5, 2001
2. 感染症発生動向調査週報. 2000 年第 47 週. p7.
3. 感染症発生動向調査週報. 2000 年第 47 週. p10-12.
4. 感染症発生動向調査週報. 2000 年第 36 週. p14.

G. 研究発表

1. 発表論文

1. Masuzawa, T., Pan, M., Kadosaka, T., Kudeken, M., Takada, N., Yano, Y., Imai, Y., Yanagihara, Y.: Characterization and identification of *Borrelia* isolates as *Borrelia valaisiana* in Taiwan and Kinmen islands. *Microbiol. Immunol.*, 44, 1003-1009 (2000)
2. 増澤俊幸: 特集 感染症とその対策 「ライム病」 *Johns*, 16, 1151-1153 (2000)
3. 増澤俊幸: 日本でのライム病 感染症と化学療法, 5, 47-49 (2000)
4. Masuzawa, T., Dancel, L. A., Miyake, M., Yanagihara, Y.: Serological analysis of human Leptospirosis in the Philippines. *Microbiol. Immunol.*, 45, 93-95, (2001)
5. Takada, N., Fujita, H., Yano, Y., Ishiguro, F., Iwasaki, H., Masuzawa, T.: First record of tick-borne pathogens, *Borrelia*, and spotted fever group rickettsiae in Okinawajima island, Japan. *Microbiol. Immunol.*, 45, 163-165, (2001)
6. Yamamoto, K., Ito, R., Koura, M., Kamiyama, T.: UV-B irradiation increases susceptibility in mice to malarial infection. *Infect. Immunol.*, 68, 2353-2355 (2000)
7. Saito-Ito, Tsuji, M., Wei, Q., He, S., Matsui, T., Kohsaki, M., Arai, S., Kamiyama, T.: Transfusion-acquired, antochthonous human babesiosis in Japan: Isolation of *Babesia microti*-like parasites with hu-RBC-SCID mice. *J. Clin.*

- Microbiol.*, 38, 4511-4516 (2000)
8. 神山恒夫. エルシニア感染症：プレーリードッグとペスト. 日本小動物獣医師会会誌, 40, 31-33 (2000)
 9. 神山恒夫. プレーリードッグとペスト. JOMF News Letter, 74, 6-9 (2000)
 10. 神山恒夫. ベクターが運ぶ人獣共通感染症, JOMF News Letter, 79, 7-10 (2000)
 11. 神山恒夫. ネコからうつる病気. JOMF News Letter, 86, 10-13 (2001)
 12. Kawabata, H., Dancel, L. A., Villanueva, S.Y.A.M., Yanagihara, Y., Koizumi, N., Watanabe, H.: *flaB*-polymerase chain reaction (*flaB*-PCR) and its restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis are efficient tool for detection and identification of *Leptospira* spp. *Microbiol. Immunol.*, 45, 2001. (in press)
 13. Furuta, Y., Kawabata, H., Ohtani, F., Watanabe, H.: Western blot analysis of anti-*Borrelia* antibodies in patients with acute peripheral facial palsy in Hokkaido Island, Japan. *Laryngoscope*. 111, 2001. (in press)
2. 学会発表
1. 久手堅みどり、越智あやの、江崎孝行、今井康之、増澤俊幸：東アジア地域におけるライム病関連ボレリア種の分布と維持伝播. 第 64 回日本生化学会中部支部例会 (2000 年 5 月)
 2. 内海宏之、兼城亜由子、今井康之、増澤俊幸：四種遺伝子組換え抗原を用いた日本型ライム病血清診断法の開発. 第 64 回日本生化学会中部支部例会 (2000 年 5 月)
 3. 内海宏之、兼城亜由子、今井康之、増澤俊幸：遺伝子組換えライム病ボレリアスフィンゴ糖脂質結合蛋白質 (Gbp37) の作製と結合活性の検討. 第 37 回レプトスピラシンポジウム (2000 年 5 月)
 4. 高田伸弘、石畝史、藤田博己、Udom Chaithong、Shiba Kumar Rar、増澤俊幸：タイ及びネパールのマダニと野鼠から得られたライム病ボレリアについて. 第 37 回レプトスピラシンポジウム (2000 年 5 月)
 5. 久手堅みどり、越智あやの、高田伸弘、矢野泰弘、石畝史、角坂照貴、河村好章、江崎孝行、今井康之、増澤俊幸：中国、台湾におけるライム病関連ボレリアの系統解析. 第 37 回レプトスピラシンポジウム (2000 年 5 月)
 6. 石畝史、高田伸弘、増澤俊幸：シロハラに多数寄生していたマダニから分離されたボレリアについて. 第 37 回レプトスピラシンポジウム (2000 年 5 月)
 7. 藤田博己、渡辺百合子、阿蘇君江、増澤俊幸、高田伸弘：八丈島産マダニからのボレリアの分離. 第 37 回レプトスピラシンポジウム (2000 年 5 月)
 8. 宮本健司、増澤俊幸、久手堅みどり：ライム病病原体保有動物としての野鳥の役割. 第 37 回レプトスピラシンポジウム (2000 年 5 月)
 9. 増澤俊幸、川端寛樹、柳原保武、Louella A. Dancel、渡辺治雄：フィリピン患者由来レプトスピラの血清学的、遺伝学的同定. 第 37 回レプトスピラシンポジウム (2000 年 5 月)
 10. 柳原保武、Louella A. Dancel, Sharon

- Y.A.M. Villanueva, 増澤俊幸、川端寛樹、渡邊治雄. マニラ首都圏のレプトスピラ症の血清疫学. 第 37 回レプトスピラシンポジウム. (2000 年 5 月)
11. 川端寛樹、渡邊治雄. レプトスピラ症の現状. 第 37 回レプトスピラシンポジウム. (2000 年 5 月)
12. 増澤俊幸: ワークショップ 感染症(分子疫学) ライム病関連ボレリア種の地理的多様性、系統分類とその意義. 第 73 回日本細菌学会総会 (2000 年 5 月)
13. 川端寛樹、渡邊治雄: ライム病ボレリア Vls 抗原は宿主免疫からの逃避機構に参与するか? 第 73 回日本細菌学会総会. (2000 年 5 月)
14. 稲垣善茂、川端寛樹、山井志郎、渡邊治雄: 劇症型 A 群レンサ球菌感染症の M3 型臨床分離株と標準株の間で見出された DNA 断片長多型の解析. 第 73 回日本細菌学会総会. (2000 年 5 月)
15. 増澤俊幸、久手堅みどり、高田伸弘、矢野泰弘、角坂照貴、石畝史、藤田博己、今井康之: 東アジア地域におけるライム病関連ボレリア種の地理的多様性と系統分類. 第 8 回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー (SADI) (2000 年 7 月)
16. 鶴見みや古、佐藤文男、川端寛樹. 伊豆諸島鳥島におけるクチビルカズキダニ (*Ornithodoros capensis*) の生息状況について: 第 9 回日本ダニ学会. (2000 年 10 月)
17. 鈴木克枝、増澤俊幸、川端寛樹、柳原保武、今井康之、渡邊治雄: フィリピン患者由来レプトスピラの血清学的、遺伝学的同定. 第 83 回日本細菌学会関東支部総会 (2000 年 11 月)
18. 増澤俊幸、鈴木克枝、川端寛樹、渡邊治雄、今井康之、柳原保武: フィリピン患者、並びに野鼠由来レプトスピラの分子生物学的性状. 日本薬学会第 121 年会 (2001 年 3 月 発表予定)
19. 坂本光男、相楽裕子、小泉信夫、渡邊治雄. マレーシア・ボルネオ島で感染したレプトスピラ症の 1 例: 日本感染症学会総会. (2001 年 3 月 発表予定)
20. 増澤俊幸、鈴木克枝、今井康之、川端寛樹、小泉信夫、角坂照貴、後藤郁夫、中村正治、平良勝也、Sharon Y. A. M. Villanueva、渡邊治雄、柳原保武: 日本を含む東アジアにおけるワイル病病原体レプトスピラの血清学的、遺伝学的同定. 第 38 回レプトスピラシンポジウム (2001 年 4 月 発表予定)
21. 余勤、潘銘正、角坂照貴、川端寛樹、小泉信夫、中村正治、平良勝也、今井康之、増澤俊幸: 台湾、並びに沖縄由来野鼠血清のライム病ボレリアの抗体価の検討. 第 38 回レプトスピラシンポジウム (2001 年 4 月 発表予定)
22. 増澤俊幸、川端寛樹、小泉信夫、今井康之: 沖縄におけるライム病ボレリア種の発見. 第 74 回日本細菌学会総会 (2001 年 4 月 発表予定)

レプトスピラ感染症パンフレット

国立感染症研究所 細菌部

(厚生労働省 新興・再興感染症研究事業)

レプトスピラ感染症（レプトスピラ病）

ワイル病、秋疫などに代表されるレプトスピラ病（レプトスピラ感染症）は、病原性レプトスピラ感染に起因する人畜共通の細菌（スピロヘータ、写真1）感染症で、その病原体であるレプトスピラは1915年に我が国で稲田龍吉博士らによって発見されたことでも有名です。レプトスピラ感染症は全世界的に流行しており、保菌動物（ドブネズミ等）の排尿等で汚染された水から経皮的（稀に経口的）に感染します。

我が国では1970年代までは年間数十名から数百名の死亡例が報告されていましたが、現在では衛生環境の向上等に伴って患者数（死亡例数）は減少傾向にあります。届け出義務のある疾患ではないことから、最近の罹患状況を把握することは困難ではありますが、1999年には少なくとも二名の死亡例があったことが報告されています。また同年夏季には沖縄県八重山諸島においてレプトスピラ病の集団発生が起こったことから明らかなように、レプトスピラは我々の身近に潜んでいて、何らかの感染を促進する要因が整ったときに、再び流行を引き起こす（再興感染症）と考えられています。

他方、国外でのレプトスピラ感染症の流行は全世界的に恒常的に起こっています。近年のレプトスピラ感染症の流行事例だけでも、ブラジル、コスタリカなどの中南米、フィリピン、タイ、インド、中国等のアジアの国々での大流行が報告されています（図1）。これらの国々でのレプトスピラ病の流行は雨期から米などの収穫期に集中することが疫学的に確認されており、これらの地域を旅行する場合は、洪水が起こっている地域にはなるべく立ち入らないこと、また素足で田圃や下水、溜り水等に入らないことが極めて重要です。また、トリアスロン等への競技参加も感染の要因として近年注目されています。

厚生労働省新興・再興感染症研究事業において取り上げられたことを機会に、私どもは我が国における本感染症の実態把握を目的として、全国的なレプトスピラ感染症調査を行いたいと考えております。皆さまに本疾患にさらなる関心を持っていただきレプトスピラ感染症に関する情報収集に御協力頂けますようお願い致します。

病原性レプトスピラ

病原性レプトスピラにはこれまでに 250 以上もの血清型の存在が報告されています。我が国ではこれまでに表 1 に示した血清型が確認されています。レプトスピラは一般に用いられる細菌用の培地ではほとんど増殖せず、培養にはコルトフ培地あるいは EMJH 培地等を用いることが必要です。また光学顕微鏡での菌体の観察は困難であり、暗視野顕微鏡を用いることで、ひも状螺旋型の回転運動をする菌体が観察されます。レプトスピラは保菌動物体内で維持されており、尿中に生菌が排出されることで環境が病原体に汚染されます。レプトスピラには病原性レプトスピラと非病原性レプトスピラが見い出されていますが、ヒトへの感染は病原性レプトスピラに限られます。感染経路は、これら保菌動物の尿などに汚染された水との直接接触による経皮感染がほとんどであると考えられています。保菌動物としては、野ネズミなどの小型ほ乳類がほとんどですが、ハムスター、犬などの愛玩動物、ウシ、ウマ、ブタなどの家畜も保菌動物となる場合があります (図 2)。

臨床症状

レプトスピラ病は様々な症状を伴うこともある急性の熱性疾患です。臨床症状は軽症のものから、黄疸、出血、腎障害等を主徴とする重症型の黄疸出血性レプトスピラ病 (ワイル病) まで極めて多様です (表 2)。感染後 3-14 日間の潜伏期間をへて悪寒、発熱、頭痛、腰痛、筋肉痛、眼球結膜の充血などが生じ、その後第 4~5 病日に黄疸が出現したり出血傾向が増強する場合があります。

病原体診断

黄疸、出血、眼球結膜の充血、腎障害などの症状を呈した場合には、他の細菌感染による菌血症性多臓器不全、発熱性の急性ウイルス肝炎などとともにレプトスピラ感染症が鑑別診断の対象となりえます。特異的症状が見られない軽症例や非典型的症例では、あらゆる熱性疾患が鑑別対象となりますが、保菌動物や病原体に汚染された水との接触の機会の有無、流行地域への旅行歴等、疫学的背景からレプトスピラ感染が疑われる場合は本感染症が優先的検査対象となるでしょう。

1. 病原体の検出

分離培養には抗生剤投与以前の全血（発熱期のものが望ましい）を用いる。髄膜炎を呈した場合には、髄液からも分離されうる。採血後、少量の血液（若くは髄液等の体液）を無菌的かつ速やかにレプトスピラ培養培地（コルトフ培地、EMJH 培地など）に加え（一般的には数滴の体液を 3-5ml の培地に接種する）、30℃で数日～2週間静置培養する。培養開始翌日もしくは数日内に新鮮培地に移すことで検出率が高まる場合もある。病原体は暗視野顕微鏡で観察出来る（キャンピロバクター属細菌、ボレリア属細菌との顕微鏡観察による鑑別には経験を要する）。組織学的に塗銀法、蛍光抗体法などでも検出が可能である。また血液・髄液よりレプトスピラの16S rRNA 遺伝子(*rrs*)、鞭毛遺伝子(*flaB*)のPCRによる検出も可能である。

2. 血清診断法

顕微鏡凝集試験(MAT)、マイクロカプセル凝集試験(MCAT)、Dipstick 法などが血清診断法として用いられている。特異性に優れた顕微鏡凝集試験法が一般的に用いられることが多い。顕微鏡凝集試験は、使用する抗原レプトスピラの発育状況、抗原量、反応条件により検査値に若干のばらつきがみられるため、鏡検には習熟を要する。鏡検には暗視野顕微鏡を用いる。抗レプトスピラ抗体は感染後長期にわたって存在するので、単一血清による凝集反応では急性期と感染の既往を判別することは難しいことがある。感染の早期では抗体が証明されず、偽陰性となる場合があるので、ペア血清を用いた検査が重要である。判定は、単一血清であれば抗体価 40 倍以上、ペア血清の場合 4 倍以上の上昇がみられた場合を陽性とする。

顕微鏡凝集試験による血清診断は病原体の血清型に特異的であることから、推定感染地で流行している血清型に対応した診断抗原を用いる必要があるため、血清型に関する正確な情報が極めて重要である。

巻末に示しました機関では皆さまからの問合せ、御質問を受け付けております。お問い合わせの際には、添付の調査票に御記入いただき、送付頂けますようお願いいたします。

キーワード

病原性レプトスピラ (Pathogenic *Leptospira*)

病原体であるレプトスピラはスピロヘータの一種で、1915 年、九州大学の稲田、井戸両博士によって世界に先駆けて発見・分離されたことで有名です。レプトスピラの中にはヒトに病気を起す病原性レプトスピラと、ヒトには感染しない非病原性レプトスピラがありますが、顕微鏡観察などにより形態学的に見分けることは出来ません。

ワイル病 (Weil's disease)

ワイル病とは、レプトスピラ感染に起因する黄疸、出血傾向、腎障害など重篤な症状を示す病名で、病原体発見後、黄疸出血性レプトスピラ病と名付けられました。レプトスピラ感染症（レプトスピラ病）は、重症型である黄疸出血性レプトスピラ病（ワイル病）、軽症型であることの多い秋季レプトスピラ病、犬型レプトスピラ病等を含みます。

新感染症法におけるレプトスピラ感染症の位置づけ

1999 年 4 月施行の新感染症法の中では、レプトスピラ感染症（レプトスピラ病）はサーベイランスの対象として含まれておりません。そのため当研究班で情報収集を行っています。

関連リンク・ホームページ集

国立感染症研究所 感染症情報センター

<http://idsc.nih.go.jp/>

WHO レプトスピラリファレンス(ブリスベーン)

<http://www.health.qld.gov.au/qpsb/sciencsrv/who/home.htm>

パスツール研究所

<http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira/Leptospira.html>

CDC (Center for Disease Control and Prevention)

<http://www.cdc.gov/>

国際レプトスピラ学会 (ILS)

<http://www.med.monash.edu.au/microbiology/staff/adler/ilspage.htm>

日本レプトスピラ研究会

<http://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/~bisei/LRC/index.html>

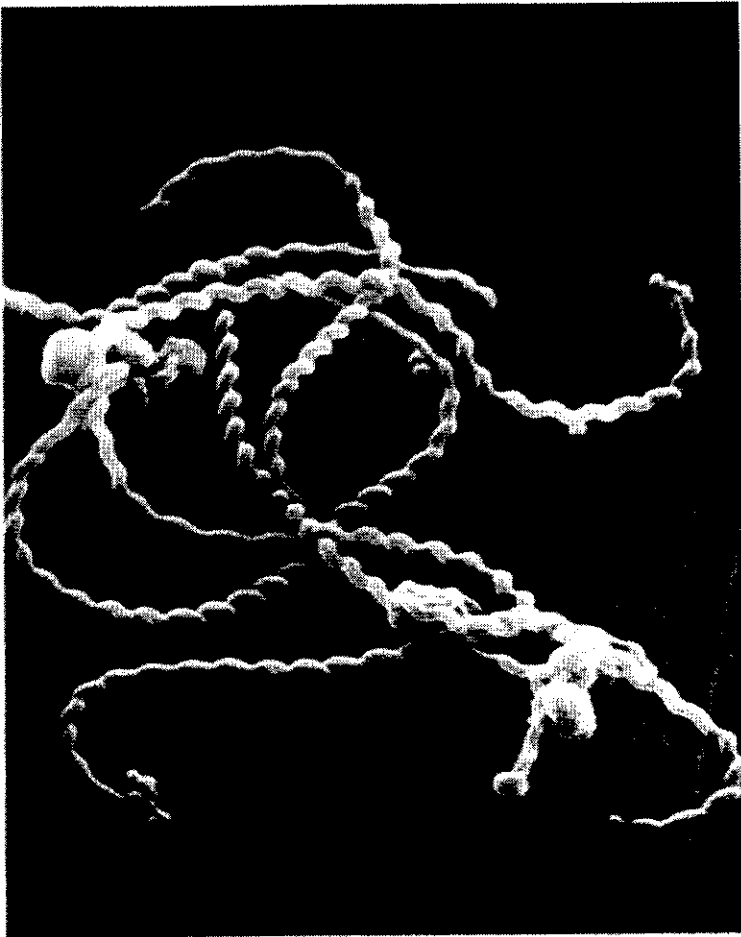


写真1. 病原性レプトスピラ(Leptospira interrogans)の電子顕微鏡写真

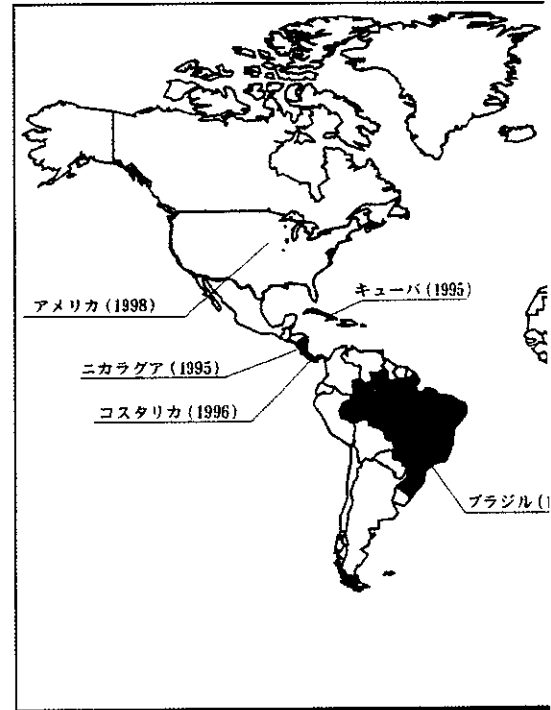


図1. 最近5年間に世界で

表1.我が国における主なレプト

疾病名	分布
黄疸出血性レプトスピラ病 (ワイル病)	全国
イヌ型レプトスピラ病	全国
秋季レプトスピラ病 ・七日熱 ・秋疫	福岡県 静岡県
・用水病	静岡県
・作州熱	岡山県
波佐見熱	長崎県
アツケ熱	大分県
レプトスピラ病	沖縄県

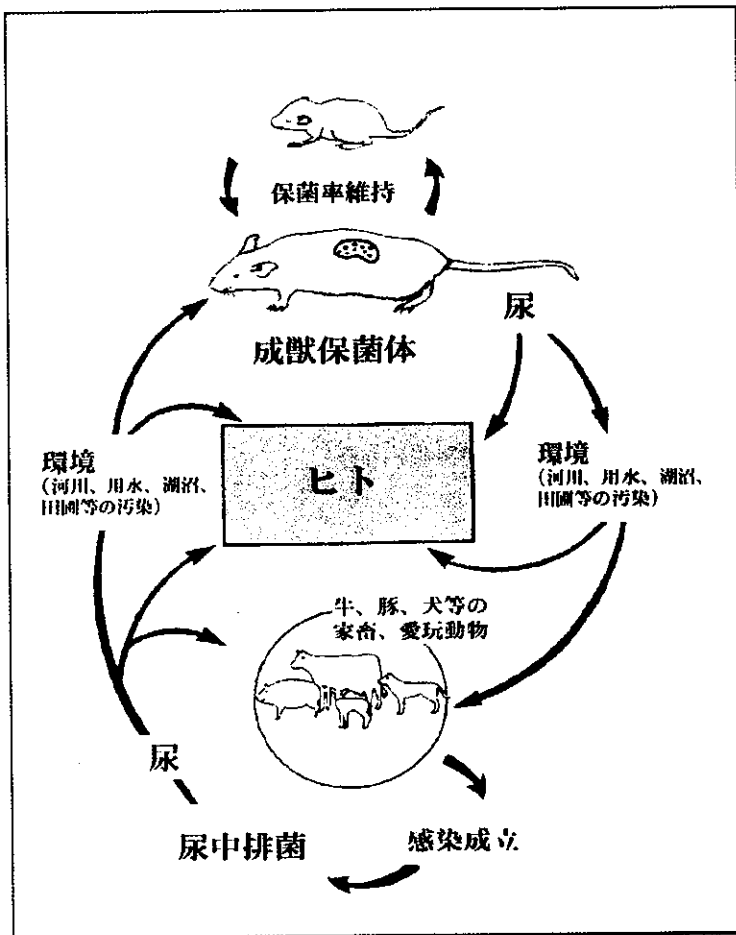
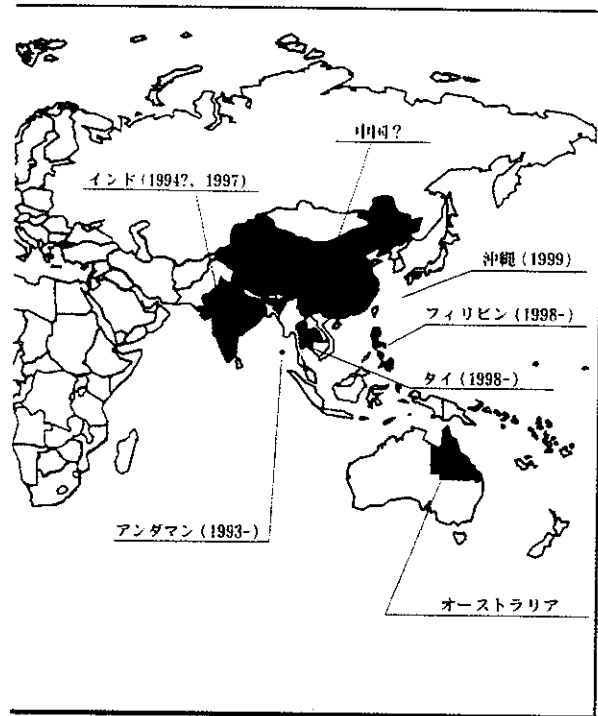


図2. レプトスピラの維持・伝播サイクル



レプトスピラ病患者でみられた結膜充血

れたレプトスピラ病の流行事例

レプトスピラ病起因血清型

表 2. レプトスピラ病患者にみられる臨床所見

血清型	症状・徴候	陽性所見 (%)	
		黄疸 (+) N=106	黄疸 (-) N=102
icterohaemorrhagiae copenhageni			
	<u>症 状</u>		
canicola	発熱	99	100
	筋痛	97	97
	頭痛	91	82
hebdomadis	悪寒	85	84
autumnalis	咽頭痛	79	72
hebdomadis	悪心	75	71
autumnalis	嘔吐	69	65
hebdomadis	眼痛	46	54
australis	下痢	27	23
hebdomadis	尿量減少	25	20
autumnalis	咳嗽	24	15
hebdomadis	喀血	9	5
autumnalis	<u>徴 候</u>		
hebdomadis	眼球結膜充血	99	100
pyrogenes	筋圧痛	75	70
hebdomadis	肝腫大	80	60
javanica	肺病変	24	11
grippotyphosa	リンパ節腫脹	24	35
rachamati	出血傾向	16	4
kremastos			

レプトスピラ感染症に関する調査票

巻末に示しました機関では皆さまからの問合せ、御質問を受け付けております。お問い合わせの際には、この調査票に御記入いただき、送付頂けますようお願いいたします。

調査票記入上の注意点

- 1.臨床所見などはできる限り記載してください。
 - 2.患者名はイニシャル等でも結構です。
 - 3.不明な点は国立感染症研究所(03-5285-1111 内線 2224)までお問い合わせください。
- ★当調査票における個人情報に関する事の情報管理には最善の注意を払います。

担当者（医）	
医療機関・科	
住所	
電話	
ファックス	
E-mail	
記入年月日	平成 年 月 日

患者氏名及び性別 (イニシャルでも結構です)	(男・女)
職業	
住所	
生年月日	M・T・S・H 年 月 日 (歳)

現症歴	
初診年月日	平成 年 月 日
基礎疾患	
国内旅行歴 (近1ヶ月)	無・有 (沖縄県在住の方以外で、沖縄・八重山・南西諸島等へ行かれた場合は必ず御記入下さい)
海外渡航歴 (近1ヶ月)	無・有 渡航国名： 期間： 渡航目的： (具体的にお願いします。例：溪流釣り、トライアスロン参加、海外国際協力隊による派遣等)
ペット飼育	無・有 (有の場合、種類、飼育期間、健康状態等がわかりましたらご記入下さい)

