

Table 1) PCR 用プライマーセット

A) Multiplex PCR 用セット

inv (295 bp)	forword	TAA ggg TAC TAT CgC ggC ggA
	reverse	CgT gAA ATT AAC CgT CAC ACT
caf1 (171 bp)	forword	CAg gAA CCA CTA gCA CAT C
	reverse	CCC CCA CAA ggT TCT CAC
pla (480 bp)	forword	ATC TTA CTT TCC gTg AgA Ag
	reverse	CTT ggA TgT TgA gCT TCC TA
yopM (565 bp)	forword	ATA ACT CAT Cgg ggg CAA AAT
	reverse	gCg TTA TTT ATC CgA ATT TAg C

B) 41.7 kb 領域用セット

3a (41.7 kb) (276 bp)	forword	ggC AAC AgC TCA ACA CCT TTg g
	reverse	TgT AgC CgC TAA gCA CTA CCA TCC

Table 2) ライトサイクラー用プライマー、ハイブリプローブシーケンス

A) inv 用セット

プライマー	Forward	5´-taagggtactatcgcgcgga-3´	
シーケンス	Reverse	5´-cgtgaaattaaccgtcacact-3´	
サイズ	295 bp	Genebank Access Number	M17448
ハイブリダイ	5´-gcgaatgtggcttttgacacaacct-3´-Fluorescein		
ゼーション	3´ Label: Fluorescein		
プローブ	5´-LCRed640-aggcaatatggcggttatcacggat-3´-phosphorylation		
シーケンス	5´ Label: LCRed640 3´ Label: Phosphorylated		
全体配列	2221 aggggcaacg gcaaagtgtt gataccact ttgtaaggg tactatcgcg gcgataaat		
	2281 ccaactctggc tgcggtaccg acatctatca tcgctgatgg tctaattggt tcaaccatca		
_____ :	2341 cgttgaggt gaaggatacc tatggggacc cgcaggctgg <u>cgcaatgtg gcttttgaca</u>		
プライマー	2401 <u>caacctt</u> agg caatatgggc gttatcacgg atcacaatga cggcaattat aggcaccat		
<input type="checkbox"/> : ハイ	2461 tgaccagtac cacgttgggg gtagcaacag taacggtgaa agtgatggg gctgcgttca		
ブリプローブ	2521 gtgtgccgag tgtgacggtt aatttcacgg cagatcctat tccagatgct ggccgctcca		

B) 41.7 kb 領域用セット

プライマー	Forward	5´-ggcaacagctcaacacctttgg-3´	
シーケンス	Reverse	5´-tgtagccgctaagcactaccatcc -3´	
サイズ	275 bp	Genebank Access Number	AE013825
ハイブリダイ	5´-tgttgaccgcatatcctcatg-3´-Fluorescein		
ゼーション	3´ Label: Fluorescein		
プローブ	5´-LCRed640-caccgcttatctcatccgata-3´-phosphorylation		
シーケンス	5´ Label: LCRed640 3´ Label: Phosphorylated		
全体配列	6481 gttttcggct ggatacaaaa cgcggttogg caacagctca acacctttgg gcaaggatgc		
	6541 ctgaaaactt ggcagcagtt ggccagcagat tcgagggcgt tttgtagag aatcgtgatg		
_____ :	6601 ccgtccaatg catgtagac catgacacag tttcaacgct tcattttggtt gaccgcat		
プライマー	6661 <u>acgtccatga</u> <u>caccgctt</u> atctcatccc gatattaccg ccatgaaatg gacaatgatg		
<input type="checkbox"/> : ハイ	6721 cccacctaac cctactcgtat accgtcaata accttgaggg gatgtagtg cttagcggct		
ブリプローブ	6781 <u>acaacacgga</u> tatgtacaac gacattotta caggctggca aaagcaggaa aaacagtcat		

Fig. 1) *Y. pestis* 関連遺伝子の PCR

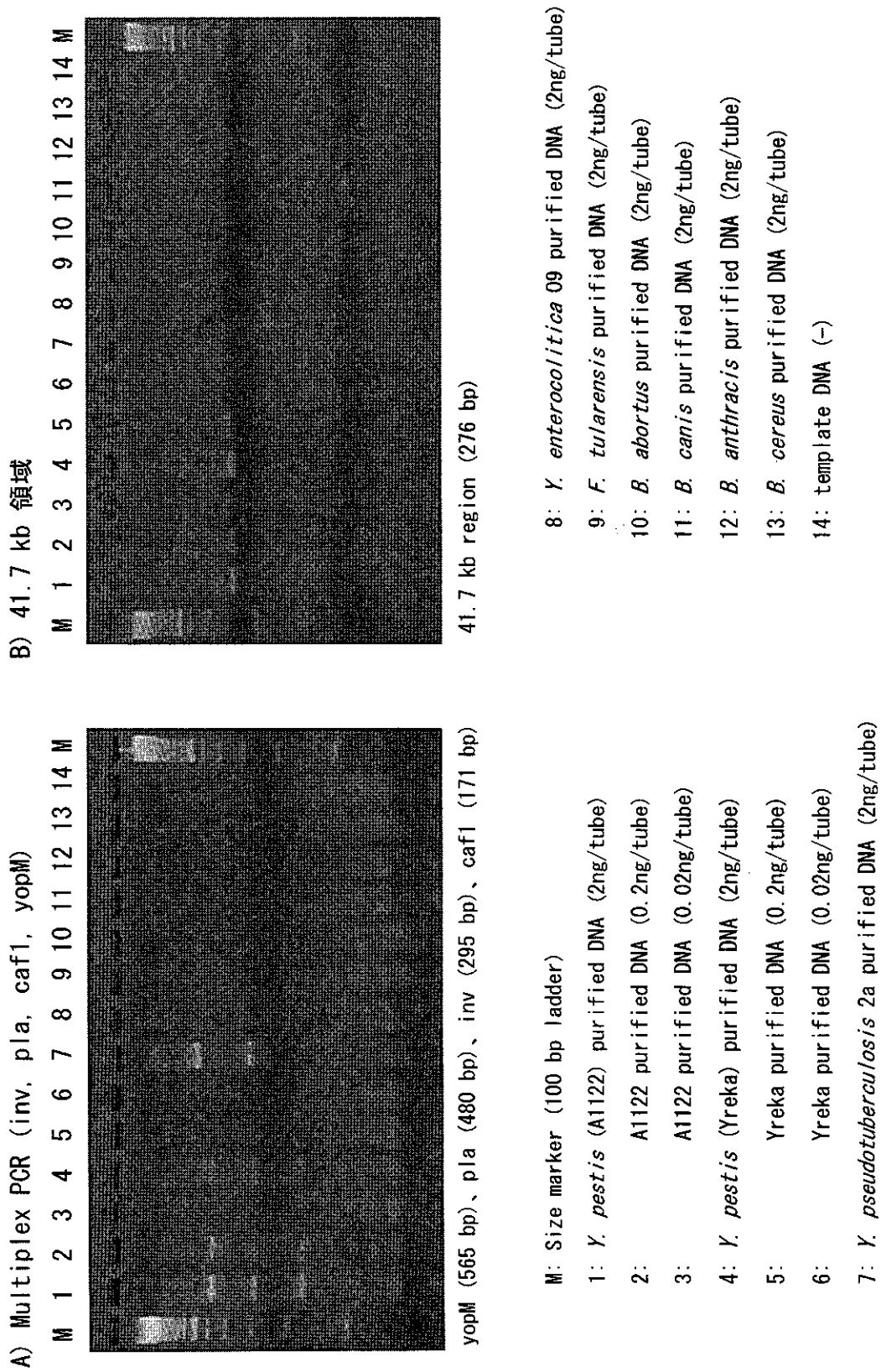
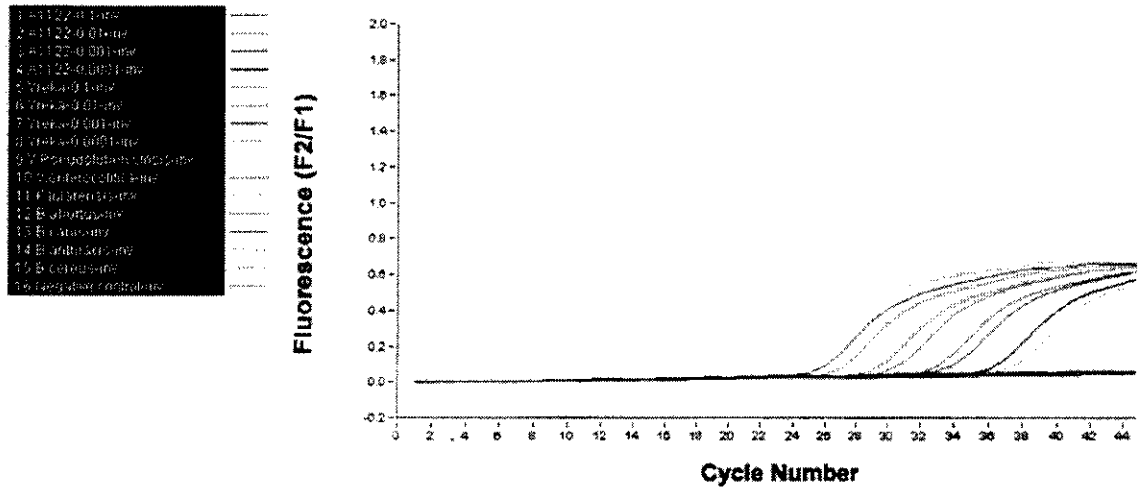
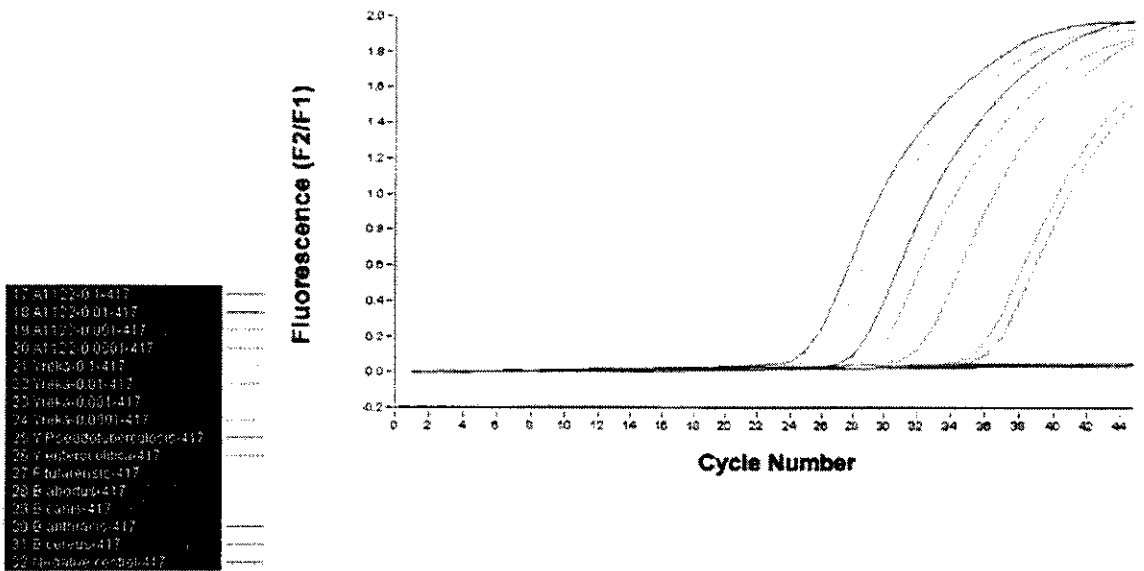


Fig. 2) ライトサイクラーを用いた *Y. pestis* 関連遺伝子の検出

A) *inv* 遺伝子の検出



B) 41.7 kb 領域遺伝子の検出



レプトスピラ感染症診断キットの評価，野鼠を保有体とする人畜共通感染症に関するフィールド調査，輸入スピロヘータ感染症の監視，レプトスピラ・ボレリア感染症における新規の診断抗原・ワクチン抗原開発および遺伝学的ツールの開発研究

分担研究者	川端寛樹	（国立感染症研究所・細菌第一部）
協力研究者	小泉信夫	（国立感染症研究所・細菌第一部）
研究協力者	角坂照貴	（分担研究者，愛知医科大学寄生虫学）
	後藤郁夫	（分担研究者，名古屋検疫所）
	阿部賢治	（国立感染症研究所・感染病理部）
	黒木俊郎	（神奈川県衛生研究所・細菌病理部）
	渡邊治雄	（国立感染症研究所・細菌第一部）
	増澤俊幸	（主任研究者，静岡県立大学薬学部）

研究要旨

- 1) 国内で入手可能な，レプトスピラ検査キットの評価を行った。これら 4 種類の市販検査キットでは，以下の傾向が見られた。(1)属特異的抗原による検査キット(Dipstick, ELISA)は，国内流行血清型を用いた検査キット(RPLA, MCAT)と比較して感度が低い。(2)ラテックス凝集試験法による抗体検出は他の 3 種類のキットと比較して特異性が低く，特に偽陽性を生じやすい。(3)いずれのキットでも偽陰性の頻度は低い。今後は各キットの特徴を臨床検査の場に周知する必要がある。（本件は健康危機管理に関する情報であったことから，感染症研究所ホームページを通じて関係者に注意を促した。）
- 2) 犬レプトスピラ病が流行している宮崎県で野鼠捕獲および病原体保有調査を行った。55 個体を捕獲し，レプトスピラ保有個体は見い出されなかったが，HEV 抗体陽性 1 個体を見いだした。同時にボレリア，ハンタウイルス（腎症候性出血熱）などの病原体分離，抗体検索も行っている（検査継続中）。
- 3) 交通要所である横浜駅ビル内の鼠捕獲調査をおこなった。現在までに捕獲されたクマネズミ由来 82 検体からはレプトスピラは分離されていない。
- 4) ボレリア感染症の一種ライム病の輸入症例 2 例を見い出した。これら患者は，流行地での野外活動中に感染したものと考えられる。
- 5) レプトスピラ感染症例において，PCR 法による早期診断に成功した。本法が感染早期診断として有用であることが示された。
- 6) ボレリアの感染機構解明および新規ワクチン開発のための遺伝学的ツール開発が可能であることを示した。今後梅毒などでも見られる長期の慢性感染機構，特定の病態解明が期待できる。
- 7) 病原性レプトスピラの新規診断抗原，ワクチン抗原の探索を 2 通りの方法で行い，3 種類の候補を見出した。これら抗原は病原レプトスピラに対して感染防御活性を示していることから，今後新規の組換え体ワクチンとしての可能性が強く期待される。
- 8) わが国でも，野生ゲッ歯類が E 型肝炎ウイルスを保有している可能性が血清学的調査により明らかになった。これらウイルスがヒトと同じものか否かを検討中である。

●レプトスピラ抗体価測定キットの評価

<目的>

民間検査所においてレプトスピラに対する抗体価が陽性と判定された検体について、国立感染症研究所細菌部で医療機関からの要請で再試験を行った結果、陰性（偽陽性）となった事例がこの2年間で6件起こっている。これら6件のうち5件はデンカ生研が製造するレプトスピラ抗原を用いたラテックス凝集試験（RPLA）による（1件は検査会社不明）。またこの他、偽陰性1例も見出されているが、これもRPLA法によるものであった。そこで本研究では、現在本邦で入手可能なレプトスピラ抗体測定キット4種類の評価を行った。

<材料と方法>

1. 患者血清およびコントロール血清：患者血清は国立感染症研究所、細菌第一部で保管しているペア血清 22 検体、単一血清 14 検体を用いた。ペア血清は、顕微鏡下凝集試験(MAT)で4倍以上の抗体価の上昇がみられたものを、単一血清は、40倍以上の抗体価を示したものを陽性血清として使用した。コントロール血清としては、沖縄県大宜味村の健常者血清を使用した。コントロール血清は、これまで本邦で確認されたレプトスピラ 14 血清型に対する抗体価を保持していないことを MAT で確認した。本研究は、国立感染症研究所倫理審

査委員会で承認されている。

2. ラテックス凝集試験(LATEX)：レプトスピラ抗原「生研」（デンカ生研）を使用。5種類の抗原のいずれかが40倍以上の凝集がみられた場合を陽性とした（付属の判定基準）。

3. マイクロカプセル凝集反応(MCAT)：レプトスピラ-MC(kw)（日本凍結乾燥研究所）を使用。付属の判定基準に従って判定。

4. DIPSTICK：Dip-S-Ticks (PANBIO INDX)を使用。付属の判定基準に従って判定。

5. ELISA：LEPTOSPIRA ELISA IgM (PANBIO)を使用。付属の判定基準に従って判定。

6. データ解析：各パラメーターは次のように定義する。

$$\text{Sensitivity} = \frac{\text{各キット陽性かつ MAT 陽性}}{\text{MAT 陽性}}$$

$$\text{Specificity} = \frac{\text{各キット陰性かつ MAT 陰性}}{\text{MAT 陰性}}$$

$$\text{Positive predictive value} = \frac{\text{各キット陽性かつ MAT 陽性}}{\text{各キット陽性}} \quad (\text{PPV})$$

$$\text{Negative predictive value} = \frac{\text{各キット陰性かつ MAT 陰性}}{\text{各キット陰性}} \quad (\text{NPV})$$

表1. 各キットの感度、特異性、PPV 及び NPV

Screening test	% Sensitivity	% Specificity	% PPV	% NPV
LATEX	Paired 59.1	82.0	64.9	98.3
	Single 92.9			
MCAT	Paired 59.1	100	88.5	98.6
	Single 92.9			
DIPSTICK	Paired 22.7	98.4	93.3	93.2
	Single 64.3			
ELISA	Paired 40.9	95.1	87.5	97.1
	Single 85.7			

表 2. ペア血清を用いた場合の各キットの検出感度

Screening test	判定	感染早期 (MAT 陰性, n=11)	抗体陽転後 (MAT 陽性, n=11)	感染早期での %Sensitivity	抗体陽転後の %Sensitivity
LATEX	+(n=13)	2	11	18.2	100
	-(n=9)	9	0		
MCAT	+(n=13)	3	10	27.3	90.9
	-(n=9)	8	1		
DIPSTICK	+(n=5)	0	5	0	45.5
	-(n=17)	11	6		
ELISA	+(n=9)	0	9	0	81.8
	-(n=13)	11	2		

＜結果と考察＞

各キットの Sensitivity, Specificity, PPV, NPV を表 1 に示す。Sensitivity については、DIPSTICK, ELISA の Sensitivity が、LATEX, MCAT にくらべて低かった。前者 2 キットは、レプトスピラ属の共通抗原を持つといわれている非病原性株 *L. biflexa* を抗原としているのに対し、後者は本邦でこれまでに見い出されている 5 血清型あるいは 6 血清型をそれぞれ抗原として使用している。また前者 2 キットは、検出できる抗体は IgM のみである。これら違いが Sensitivity に影響している可能性がある。また、すべてのキットでペア血清の Sensitivity が低い値が示されている。これは抗体陽転前血清も MAT 陽性と仮定して計算を行ったためである。そこで MAT による判定を基準に、ペア血清に限って MAT 陰性を感染急性期、MAT 陽性を抗体陽転後と仮定し、各々のキットの Sensitivity を算出した（表 2）。この結果、感染早期での Sensitivity は MCAT が最も高かった(27.3%)。一方抗体陽転後の検出感度は DIPSTICK で 45.5%と低値であった。これは単一血清を用いた場合でも同様の傾向が見られた(Sensitivity=64.3%)。以上結果から、1)感染早期での血清診断では、LATEX, MCAT が MAT に比べ Sensitivity が高い、2)単一血清では LATEX, MCAT が DIPSTICK, ELISA より Sensitivity が高い、3)LATEX では PPV% が低値であることから、偽陽性の頻度が高い、ことが推定された。このことは臨床検査会社での偽

陽性の報告と一致する。また他の研究者が行った他社のラテックス凝集試験をベースにしたキットについても、Specificity, PPV が他のキットにくらべて著しく低いこととも一致する (JCM 40, 1464-1469, 2002)。今後、臨床検査会社に対し、キットの使用法の指導などを充実させることの重要性が示唆された。また、これらキットの短所を補うべく、今後レプトスピラ病の早期診断のための新たな診断法の開発も必要と考える。

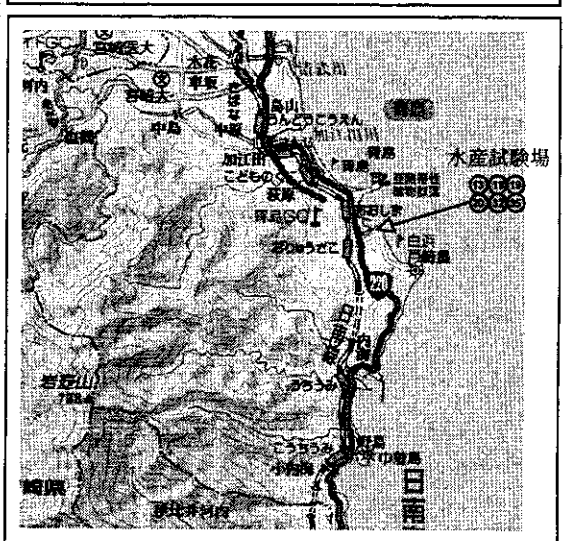
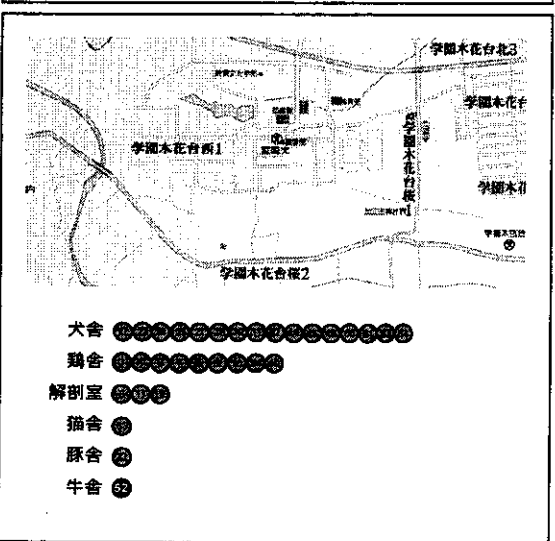
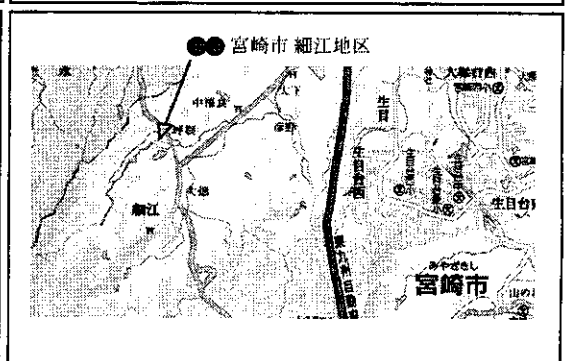
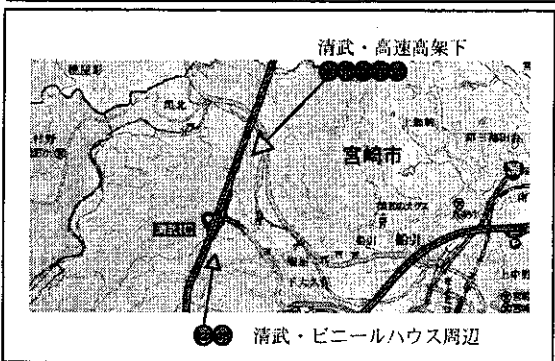
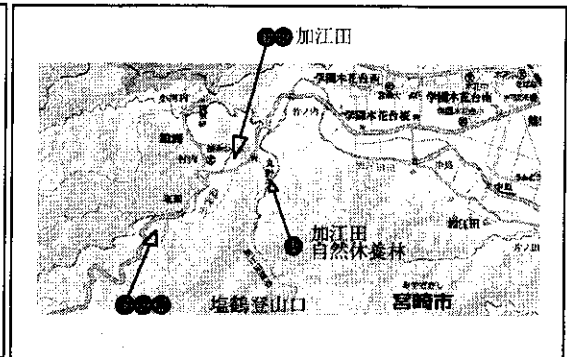
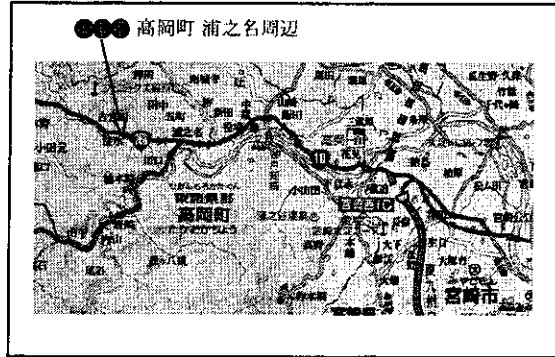
＜共同協力者＞星野真酉（国立感染症研究所）

●犬レプトスピラ病が流行している宮崎県における野鼠のレプトスピラ保有調査

＜目的＞

人畜共通感染症であるレプトスピラ病は 1980 年代を境に、衛生環境の向上により患者発生が稀になった疾患の一つである。しかしながら、現在でも散発事例は発生しており、調査地の宮崎県でも 1999 年、水田での感染が疑われる症例が 2 例報告されている。また、宮崎大学・川本らの報告に寄れば、PCR 法による、野犬の病原体保菌状況が約 40%と極めて高値であること、またこれら病原体はヒトにも感染する種、*Leptospira interrogans* であったことから、潜在的にヒト感染のリスクは無視できない状況にあると考えられた。

そこで本調査では、環境中の病原体汚染の主な原因である野鼠類の捕獲調査を行い、病原体保有率を調べ、これまでの他県のデータと比較するこ



野鼠の捕獲場所および捕獲野鼠の種類 (2002年宮崎県野鼠捕獲調査より)

●アカネズミ ●クマネズミ ●ドブネズミ ●ハツカネズミ
 番号は捕獲個体の識別番号

とで、ヒトの感染リスクを評価することを目的とした。また、野犬係留施設内でも野鼠捕獲調査を行い、病原体汚染を調べるモデルケースとした。

<方法>

他県でも行った方法に準じ、生け捕り用の捕獲罠3種類を用いた。これら罠仕掛け回数は調査期間中のべ数で、かご型トラップ277回、シャーマン型トラップ455回、粘着シート約200枚に及び、*Apodemus*属16頭、*Rattus*属38頭、*Mus*属1頭が捕獲された(捕獲率5.9%)。これら捕獲野鼠類からは、腎臓、脾臓、肺、膀胱、肝臓、腸管、耳介、および心血をエーテル麻酔後、外科的に採取、病原体検出材料として供した。捕獲場所は、宮崎県宮崎市内10カ所、宮崎県高鍋市1カ所、宮崎県高岡町1カ所、宮崎県清武市2カ所であった。宮崎市内の1箇所は宮崎大学構内で、野犬が係留されている施設である。病原体の検出は、感染症研究所および共同研究者間で分担し行った。

<結果・考察>

野鼠捕獲場所、捕獲野鼠種類、および捕獲頭数の一覧を図1に示した。野犬収容センターは全国に存在するが、これら施設では野犬捕獲後、一定期間係留した後安楽死処置が行われている。宮崎大学の川本らは、これら施設で安楽死処分された犬の尿を検体に病原体核酸の検出を行い、高頻度(約40%)でレプトスピラ陽性個体を見出している。宮崎大学などでは、捕獲された野犬の譲渡を受け、学生教材として使用しているが、これら野犬は検疫を受けておらず、したがって、犬舎内にレプトスピラ保菌犬が係留されることで野犬収容施設内に棲息するネズミが、野犬尿中に排出されるレプトスピラに高度に汚染されている可能性が考えられた。しかしながら、これら犬舎、および犬舎近辺に棲息する鼠からはレプトスピラは分離されなかった。野鼠の保菌率は加齢と比例して上昇することが知られているが、今回捕獲された鼠(クマネズミ30個体、ハツカネズミ1個体)のほとんどは若齢個体であったため感染個体が見出されなかった可能性がある。

野外で捕獲された野鼠は24個体すべてでレプトスピラ培養陰性であった。しかしながら、患者発生が散発していること、野犬の陽性率が高いことから、今後さらなる検討が必要と考えられる。またE型肝炎ウイルス抗体がドブネズミ1個体から検出された。その他、回帰熱またはライム病ボレリア、腎症候性出血熱ウイルス、エーリキアについては検査継続中である。

<結論>

今回の調査で、野生動物からのレプトスピラ分離は出来なかったが、野犬の保有率、患者発生の有無から、レプトスピラが潜在的に侵淫していることは、明白である。従い、その実態を解明のために、今後も調査を継続するべきものとする。

<共同協力者>

近藤房夫、川本久之(宮崎大学)、山本正悟、鈴木泉(宮崎衛生環境研究所)、星野真西(国立感染症研究所)

●横浜駅ビル内のクマネズミのレプトスピラ保有状況調査

野鼠のレプトスピラ保有状況調査の一環として、横浜駅ビル内で捕獲されたクマネズミのレプトスピラ保有状況を調査した。2001年10月から2002年10月までに捕獲され、2003年2月末時点で観察が終了した検体は82検体あったが、レプトスピラはいずれからも分離されなかった。

<共同協力者>星野真西(国立感染症研究所)

●ライム病の輸入症例

本年(2002年)6月～8月末にかけて米国・ニューヨーク州山中で開催された国際キャンプに参加した日本人高校生2名がライム病と診断され、現地で治療を受けた。1名は自覚症状はないが虫刺症をきっかけに現地病院を受診、ライム病抗体陽性であったため、7月26日よりドキシサイクリンによる治療を受けた。他の1名は8月10日から発熱感、倦怠感、筋肉痛を訴え、現地医療機関を受診、臨床診断によりライム病とされ、8月12

日よりドキシサイクリンによる治療を開始している。これら参加者2名は帰国後、横浜市立市民病院を受診、国立感染症研究所にてライム病抗体陽性であることが確認された。いずれの症例も、現在症状は軽快している。

同国際キャンプには欧州、アフリカ、南米各国、日本等から参加者があり、キャンプ地では屋外でのログキャビン作り等で国際交流を行っている。各国からの参加者数は約60名程度で、うち20名ほどに同様の症状があり、現地病院にて治療を受けていることから、ライム病の集団事例であったと考えられる。同州は、1999年には人口10万人当たりの罹患率は24.2であり、コネチカット州(98.0)ロードアイランド州(55.1)に次ぐ流行地域であった。

感染症研究所では、上記キャンプに参加し、キャンプ中何らかの症状があったが、現地の病院を受診していない場合、もしくは帰国後何らかの症状があった、もしくは症状が持続している参加者は、近医でライム病の検査を受けることを感染症研究所ホームページ、および病原微生物検出情報誌(IASR)を通じて危機管理情報を提供した。

今後、ライム病の流行地域で同様の野外活動へ参加する場合には、参加者はライム病媒介マダニの刺咬を受けないよう十分注意すべきであろう。

<共同研究者>武藤哲典, 山田三紀子(横浜市衛生研究所) 相楽裕子, 足立拓也(横浜市立市民病院・感染症部)

●*flaB*-PCRの早期診断への応用

キットの評価のところでも述べたが、血清診断による急性期の早期診断は困難である。そのため我々は、レプトスピラ病の早期診断を目的に、*flaB*-PCRによるレプトスピラ遺伝子の検出系を確立してきた。今回レプトスピラ病の一症例で*flaB*-PCRによる早期診断を行うことができた。*flaB*-PCRにより、抗生剤投与前の入院当日(第1病日)の血液から、0.8 kbpの増幅産物が得られ、このPCR産物のDNAシーケンシングにより、増幅産

物は *Leptospira interrogans* の *flaB* 遺伝子の一部であることが確認された。一方、第1病日の血清を用いた抗体価検査、顕微鏡下凝集試験およびマイクロカプセル凝集試験の結果は陰性であり、抗体陽転は第6病日に *L. interrogans* serovar canicola, copenhageni, icterohaemorrhagiae に対して認められた。また今回は、抗生剤投与前の血液からのレプトスピラの分離にも成功したが、顕微鏡下で菌体が確認されたのは第16病日であった。分離されたレプトスピラの血清型は icterohaemorrhagiae であった。Weil 病など重症型のレプトスピラ病は、治療の遅れにより重篤になりやすく、フィリピンでは死亡率は10%を超えている。本邦では稀な疾患となつてはいるもののレプトスピラによる死亡例は現在でも報告されている。このためレプトスピラ病の早期診断は重要であり、*flaB* 遺伝子を標的としたPCRは早期診断の重要な診断ツールとなり得ると考えられる。

<共同協力者>星野真酉(国立感染症研究所)

●ボレリア感染症のワクチン開発、病原性解明を目的とした遺伝学的ツールの開発

ライム病ボレリアは人畜共通の細菌感染症で、全世界で年間数万人が感染しているとされる。その重篤かつ多彩な病態から予防・治療といった臨床面での研究が先行した一方で、ボレリア自身の病原性は遺伝学的ツールが確立されていなかったために未だに不明な部分が多い。我々も現在まで、ボレリアの病原性遺伝子の転写制御・機能解析を *E.coli*-backgroundで行ってきたが、いずれも *Borrelia*-backgroundでの実験系が確立されていなかったため、十分な解析が行えたとは言い難い状況であった。

近年、ようやく2種類の *E.coli*-*Borrelia* シャトルベクターが開発されたが、一方でその形質転換頻度・効率 High-passage 株で 1.8×10^{-6} cfu, 30 transformants/ μ gDNA, Low-passage 株に至っては 1×10^{-8} cfu 以下, <1 transformant/ μ gDNA であり、病原性解析などを行うための遺伝

学的ツールとしての機能が十分であるとは言えない。また病原性株では未だに形質転換の成功例が報告されていなかったことから、これらシャトルベクターを用いた *Borrelia* 形質転換効率の改善が課題であった。

そこで我々は病原性株では transformation が成功しないことから、病原性に関与する plasmid 上に何らかの transformation を制限する遺伝子が存在すると考え、これら plasmid 欠落株での形質転換効率を調べ、 1×10^{-3} transformants/ μ gDNA を得る株の確立に成功した。現在 DNA 修飾遺伝子と考えられる *orf* の単離・破壊を Texas 大学と共同で行っている。

<共同研究者> Norris SJ(テキサス大学・医学部)

●病原性レプトスピラの新規抗原タンパク質の探索

これまでの血清型に依存した方法に替わる、レプトスピラ病の新たな診断法およびワクチンの開発のために、病原性レプトスピラの新規タンパク質抗原の探索を行った。レプトスピラ染色体 DNA とシグナルシーケンスを欠損した *PhoA* との融合タンパク質ライブラリーを作製し、カラーセレクションと共に、レプトスピラ感染マウス回復期血清でスクリーニングを行った結果、新規の抗原タンパク質 *Loa22* を同定することができた。*Loa22* は C 末端に *OmpA* ドメインを持つ新規のリポタンパク質であり、外膜に存在することが明らかになった。また *Loa22* は、病原性レプトスピラのみで発現しており、その抗原性は、多くの病原性レプトスピラで保存されていることも明らかになった。以上のことから、*Loa22* は、血清型を超えた新たな診断、ワクチン抗原として機能しうる可能性が示唆された。

一方、新規抗原タンパク質の探索を、レプトスピラ染色体 DNA 発現ライブラリーを感染マウス血清でスクリーニングを行い、*LigA-m*、*LigB-m* 2 種類の抗原タンパク質を同定した。*LigA-m*、*LigB-m* はそれぞれ 12、11 個のイムノグロブリン

様(Ig)ドメインからなり、N 末端の相同性は非常に高い一方で、C 末端側の相同性は低くなっている。両者で共通している N 末端側の DNA 配列部分をプローブとしたサザンブロット解析の結果、この遺伝子は広く病原性レプトスピラで保存されていることが明らかになった。また、レプトスピラ病患者血清の中には、*LigA-m*、*LigB-m* それぞれに対する抗体が誘導されており、その誘導は感染血清型に係わらず起こっていた。さらに、*LigA-m*、*LigB-m* を免疫原として、感染防御試験をマウスを使って行ったところ、これらタンパク質に感染防御効果があることも明らかになった。以上の結果から、*LigA-m*、*LigB-m* は、血清型を超えた新たな診断、ワクチン抗原として機能しうる可能性が示唆された。

<共同協力者>星野真西(国立感染症研究所)

●野鼠由来人獣共通感染症としての E 型肝炎ウイルス(HEV)疫学調査と流行の証拠

<目的>

近年、海外渡航歴のない E 型肝炎患者の国内発生がクローズアップされているが、感染経路は不明のままである。そこで人獣共通感染症として E 型肝炎をとらえるために、国内に生息する野鼠における HEV 感染の有無を血清疫学的に調査した。

<動物及び方法>

日本国内の 5 地域(沖縄、宮崎、愛知、神奈川、東京)で 2000 年~2002 年にかけて捕獲された野ネズミ由来計 507 血清サンプルを調査対象とした。野ネズミ種は、以下の 5 種よりなる。

ラット種として①ドブネズミ(ノルウェーラット:*Rattus norvegicus*) 362 匹、②クマネズミ(ブラックラット:*Rattus rattus*) 90 匹、マウス種として③オキナワハツカネズミ(*Mus caroli*) 41 匹、④アカネズミ(*Apodemus speciosus*) 12 匹、⑤ハツカネズミ(マウス種:*Mus musculus*) 2 匹からなる。HEV 抗体測定は、李らにより開発されたウイルス様中空粒子(VLP)を用いた ELISA 法で行った。つまり、HEV カプシド領域(ORF2)

をコードした組換えバキュロウイルスで産生された VLP をマイクロプレートにコーティングした後、200 倍希釈した被検血清を加えて反応し、さらに horseradish peroxidase 標識抗ラット IgG 或いは抗マウス IgG 血清を二次抗体として HEV IgG 抗体を検出した。陰性コントロールとして SPF ラット血清、また陽性コントロールとしてウイルス様中空粒子で免疫したマウス血清を用いた。以上抗体検査は、感染症研究所・感染病理部阿部博士に依頼した。

<成績>

まずラットとマウスにおける HEV IgG 抗体の標準値を求めるための予備実験成績から、ELISA のカットオフ値を 0.3 OD₄₉₂ (平均値+3.8 SD) とした。HEV IgG 抗体がドブネズミ 114/362 (31.5%) 及びクマネズミ 12/90 (13.3%) で陽性を示した。ドブネズミにおける陽性率は、クマネズミと比べ有意に高率であった (P<0.001)。これに対し、マウス種では全例陰性であった。ドブネズミにおける感染率は、体重と共に増加した。つまり、体重 100g 以下では 16%であったが、101-200g で 34.2%，201g 以上では 44.9%と急激に上昇した。これは、加齢と共に感染率も上昇することを示唆する所見である。さらに、日本各地で捕獲された場所別における感染率をみると、最も高いのは沖縄 (19/44; 43%) で、次いで愛知 (97/313; 31%)、東京 (4/24; 17%)、神奈川 (4/36; 11%)、宮崎 (1/35; 3%) と続き、西高東低の傾向を示した。宮崎における低陽性率は、幼獣の割合 (91.4%) が高かったせいと思われた。また、愛知県名古屋市における調査で、港近辺で捕獲されたラットでの感染率 (42/94; 44.7%) が市街地中心部 (56/219; 25.6%) のそれよりも有意 (P<0.005) に高かった。

<結論>

国内各地に生息する野生ラット種間において、HEV 感染が蔓延している所見が得られた。野鼠を保菌動物とする人獣共通感染症としての対策が必要と考えられる。

<共同研究者>平野真, 丁欣, Tran TT Huy, 佐多徹太郎(国立感染症研究所感染病理部), 李天成, 武田直和(同ウイルス第2部), 中村正治, 平良勝也(沖縄県衛生環境研究所微生物), 谷川力(イカリ消毒株式会社技術研究所)

健康危機管理情報

1. 武藤哲典, 山田三紀子, 相楽裕子, 足立拓也, 川端寛樹, 渡辺治雄: ライム病の輸入感染例. 病原微生物検出情報 23(10): 251-252, 2002.
2. 小泉信夫, 渡辺治雄: ラテックス凝集試験によるレプトスピラ抗体検査に関する注意の呼びかけ. 病原微生物検出情報 22(1): 13 2002.

論文発表・著書

1. 川端寛樹, 小泉信夫, 渡辺治雄: レプトスピラ症. 動物由来感染症—その診断と対策 (印刷中)
2. 川端寛樹: 回帰熱. 感染症の辞典 (印刷中)
3. 川端寛樹: ライム病. 感染症の辞典 (印刷中)
4. 川端寛樹: ライム病. 総合臨床 (印刷中)
5. 小泉信夫, 渡辺治雄: レプトスピラ病. 小児科診療 65 (12): 2145-2148 2002.
6. 小泉信夫, 渡辺治雄: レプトスピラ抗体. 検査値異常から読む病態と診断計画. 28 (増刊号) 1252-1253 2002.
7. 小泉信夫, 渡辺治雄: レプトスピラ感染症. 治療 84 (6): 1831-1833 2002.
8. 鶴見みや古, 川端寛樹, 佐藤文男: 伊豆諸島島のクロアシアホウドリのコロニーにみる *Carios (Ornithodoros) capensis* の生息状況およびその疫学調査. 山階鳥研報. 34: 250-256, 2002.
9. Lawrenz MB*, Kawabata H*, Purser JE, Norris SJ: Decreased electroporation efficiency containing linear plasmids lp25 and lp56: Impact on transformation of infectious *B.burgdorferi*. Infect Immun, 70, 4798-4804, 2002. *These authors contributed equally to this study.

10. Ushijima Y, Keirans JE, Oliver Jr JH, Tsurumi M, Kawabata H, Watanabe H, Fukunaga M : Mitochondrial sequence variation in *Carios capensis* (NEUMANN), a parasite of seabirds, collected on Torishima island in Japan. Journal of Parasitology. (印刷中)
11. Koizumi N, Kawabata H, Watanabe H: Probable laboratory contamination of clinical specimens with *Leptospira meyeri*. Microbiology and Immunology (印刷中)

学会発表・講演

1. Yanagihara Y, Villanueva SAVM, Dancel LA, Barzaga NG, Masuzawa T, Imai Y, Kawabata H, Koizumi N, and Watanabe H: Leptospirosis investigation in the Philippines. International Leptospirosis Society 3rd Scientific Meeting. Barbados, Oct. 2002.
2. Lawrenz MB, Kawabata H, Norris SJ: Plasmid content determines the ability to transform *Borrelia burgdorferi*. American Society of Microbiology. 102th General meeting. Salt Lake, Utah, USA. May. 2002.
3. 川端寛樹, 渡辺治雄 : ライム病ボレリアの形質転換効率とプラスミドプロファイルの相関. 第75回日本細菌学会総会. 2002年
4. 増澤俊幸, 余勤, 角坂照貴, 小泉信夫, 川端寛樹, 後藤郁夫, 中村正治, 秋山和夫 : レプトスピラ保有野鼠の疫学的全国調査 中間報告. 第39回レプトスピラシンポジウム. 2002年
5. 増澤俊幸, 橋本直弥, 今井康之, 角坂照貴, 小泉信夫, 川端寛樹, 中村正治, 平良勝也 : 沖縄由来野鼠より見出されたライム病関連ボレリアの性状と分類. 第39回レプトスピラシンポジウム. 2002年
6. 川端寛樹, Lawrenz MB, Norris SJ. : ライム病ボレリア形質転換効率はプラスミド・プロファイルに依存する. 第39回レプトスピラシンポジウム. 2002年
7. 川端寛樹, 古田康, 渡辺治雄 : 北海道におけるベル様麻痺を指標としたライム病の血清疫学調査. 第39回レプトスピラシンポジウム. 2002年
8. 小泉信夫, 川端寛樹, 渡辺治雄 : 2001-2002年感染研レプトスピラ抗体検査結果. 第39回レプトスピラシンポジウム. 2002年
9. 小泉信夫, 川端寛樹, 渡辺治雄 : 病原性レプトスピラの新規タンパク質抗原の探索. 第39回レプトスピラシンポジウム. 2002年
10. 小泉信夫, 渡辺治雄 : 2001年度感染研レプトスピラ抗体検査結果報告. 第51回日本感染症学会東日本地方会総会. 2002年.

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症）
分担研究報告書

名古屋市内のネズミ類由来レプトスピラ調査（2002年度）

研究分担者 角坂照貴 愛知医科大学・医学部・講師
主任研究者 増澤俊幸 静岡県立大学・薬学部・助教授
研究協力者 名古屋市生活衛生センター・感染症調査係

研究要旨

国内のレプトスピラ症は徐々に減少しているが、今日でも全国で散発的な発生をみている。我が国のレプトスピラ症は、農業地域で患者が多発する傾向があったが、農作業の機械化などで患者数は減少してきた。しかし、感染源となるのは哺乳動物であり、特にネズミ類が病原体の保有動物として重要である。ヒトへの感染はそれらから排泄される尿に起因している場合が多いと考えられている。人口密度が高い都市部には、保有動物となる多数のイエネズミが生息していることが知られているが、都市部に生息するネズミ類のレプトスピラ保有状況は全く調査されていない。また、海外との交流が盛んになった現在では、海外からの未知血清型の国内への侵入も危惧されている。これらのことから、名古屋市内の野鼠のレプトスピラ保有状況を2000年、2001年に調査してきたが、ここでは、その後実施した2002年のネズミ類のレプトスピラ保有状況と、分離されたレプトスピラ株の遺伝子種解析結果について報告する。

野鼠75匹から分離された6株のレプトスピラは、FlaB遺伝子解析により、1株は *Leptospira interrogans (autumnalis)*、4株は *Leptospira interrogans*（血清型未同定）、と同定された。1株は培養に失敗して解析できなかった。

研究目的

レプトスピラ症の多くは、ネズミ類を感染源に発生していると考えられ、近年では生活様式の変化等により患者数、死亡例数は減少しているが、今なお全国で毎年のように患者が発生している。

レプトスピラ症は黄疸、出血、蛋白尿の他に多様な症状を呈するため診断が困難な場合もみられる。診断には、型特異的抗原を用いた顕微鏡凝集試験（MAT）が一般的であるが、全世界で250以上の血清型が知られるため、使用する型特異的抗原を誤れば正確な診断ができない。そのため、患者発生地域内に存在する正確な血清型の情報が不可欠となり、国内においても現在までに知られている血清型に加えて、新たな種、

血清型の侵入を常に監視する必要がある。

レプトスピラは、多くの動物に感染し多様な症状を呈するが、ヒトへの感染源として重要なネズミ類においては、無症状であることが多く、これらが保菌動物として重要な役割をはたしている。これらのネズミ類は、山間地に生息するのみならず、人口の密集する都心においても生息密度が高く問題となっているが、都心におけるレプトスピラの分布調査はなされていない。このため、名古屋市内で捕獲されたネズミ類からレプトスピラの分離を実施した。

2002年5月から11月まで75匹のドブネズミ、クマネズミを捕獲し6株のレプトスピラを分離し、これらについてFlaB遺伝子解析を行った。

材料・方法

1. レプトスピラの分離・培養法

2002年の調査では野鼠の腎臓からKorthof培地で分離・培養した。

2. 使用菌株

名古屋市内の高速道路高架下、マンホール、住宅敷地内で捕獲されたドブネズミ、クマネズミから分離され、培養に成功した5株の分離株を使用した。

3. FlaB 遺伝子配列解析

レプトスピラ抽出 DNA を鋳型として、特異的プライマーを用い、それぞれの遺伝子の PCR 反応を行った。PCR で増幅した増幅産物を鋳型として、直接サイクルシーケンス反応を行い、塩基配列を決定した。

結果

1. ネズミ類からのレプトスピラ分離状況

2002年5月から2002年11月までの間に

名古屋市内（中村区、昭和区、北区、名東区、港区）のマンホール、高速道路高架下、住宅敷地内で生け捕り用金網カゴで捕獲された、ドブネズミ *Rattus norvegicus* 60匹、クマネズミ *Rattus rattus* 15匹から分離を試みた。75匹中6匹のドブネズミの腎臓より6株のレプトスピラが分離された (Table 1)。

2. FlaB 遺伝子配列に基づく種の同定

FlaB-PCR により分離株から約 790bp の増幅産物が確認された。増幅産物の塩基配列に基づく系統樹から、名古屋市内のネズミより分離された AC13-02、AC15-02、AC16-02、AC28-02 は *L. interrogans* に属する RGA 株、AkiyamiA 株と同一のクラスターを形成し、*L. interrogans* と同定された。これらの4株は、以前から名古屋市内で分離されている血清型未同定種と同種である可能性が高い。AC02-2 は、autumnalis と同じクラスターに属し血清型 autumnalis と予測された。

Table 1 名古屋市内のネズミ類から分離されたレプトスピラの遺伝子種および予測血清型

分離株	捕獲地	種類	分離臓器・培地	種	予測血清型
AC13-02	北区・マンホール	<i>Rattus norvegicus</i>	腎臓・Korthof	<i>L. interrogans</i>	未同定
AC15-02	北区・マンホール	<i>Rattus norvegicus</i>	腎臓・Korthof	<i>L. interrogans</i>	未同定
AC16-02	北区・マンホール	<i>Rattus norvegicus</i>	腎臓・Korthof	<i>L. interrogans</i>	未同定
AC28-02	昭和区・マンホール	<i>Rattus norvegicus</i>	腎臓・Korthof	<i>L. interrogans</i>	未同定
AC37-02	名東区・マンホール	<i>Rattus norvegicus</i>	腎臓・Korthof	<i>L. interrogans</i>	未同定
AC02-2	北区・宅地	<i>Rattus norvegicus</i>	腎臓・Korthof	<i>L. interrogans</i>	autumnalis

考察

2002年に名古屋市のネズミから分離された株は、FlaB 遺伝子解析により全て *L. interrogans* と同定された。4株の血清型は、遺伝子解析から血清型未同定種と予測された。1株は、遺伝子解析から血清型 autumnalis と予測された。3年間で名古屋市内から21株が分離されたが血清型 autumnalis と考えられる株が分離されたのは初めてである。この株は、山間地で分離される傾向にあるが、分離された地点が緑地帯のある庄内川河川敷に近い住宅地内

であったことと関係しているのかもしれない。他の4株は、過去2年の間にも分離された未同定血清型であると予測された。この株は、国内でレプトスピラの診断のために使用されている6血清型と反応しなかったために血清型の同定ができていない。

名古屋市内では、重症型レプトスピラ症 (Weil 病) の起因菌の1つで、致命率が高く、他の血清型に比べ都会での発生率が高い、血清型 icterohaemorrhagiae が分離されている。これに加えて今年度の調査では血清型 autumnalis の存在も明らかにし

た。また、未同定種が今年度も分離されたことは、この株が広く名古屋市内に浸透していると考えられた。従来の診断用レプトスピラ株と反応しないため、国内の検査機関ではこの株を検出できない可能性が高く、未同定株の病原性の確認と検出法の迅速な対応が急務である。

ネズミを捕獲した環境は、住宅地のマンホールと住宅敷地内で、ヒトとの接触が非常に高いと考えられる場所である。ネズミ間の感染も常に起きていると考えられ、分離された箇所では接近して複数の株が分離されている。これらは、都心においてもレプトスピラ汚染地点が点在し存在することを示している。これらから、都心で生息密度が高いイエネズミ、特にドブネズミが、保菌動物として重要な役割をはたしていると考えられ、これら保菌動物の駆除もレプトスピラ症の予防策の1つとして考える必要がある。

近年、国内のレプトスピラ症は、生活様式の変化により減少しているが、発症すれば重症化する症例が多く早期診断、早期治療が重要である。現在、日本で使用されている顕微鏡凝集試験（MCAT）用血清診断試薬は *hebdomadis*、*icterohaemorrhagiae*、*autumalis*、*australis*、*canicola*、*pyrogenes* の6血清型が抗原として使用されている。しかし、多くの未同定株が分離されたこと、また近隣諸国でレプトスピラ症患者数が増大していることから考えると、これらの流行株が国内に侵入することも十分に考えられ、診断抗原の充実と早期診断法の開発が不可欠である。

学会発表

1. 増澤俊幸、余勤、角坂照貴、小泉信夫、川端寛樹、後藤郁夫、中村正治、秋山和夫 レプトスピラ保有野鼠の疫学的全国調査（中間報告）、第39回レプトスピラシン

ポジウム(東京)2002年4月7日

2. 増澤俊幸、橋本直弥、今井康之、角坂照貴、小泉信夫、川端寛樹、中村正治、平良勝也 沖縄由来野鼠より見出されたライム病関連ボレリアの性状と分類、第39回レプトスピラシンポジウム(東京)2002年4月7日
3. 増澤俊幸、角坂照貴、川端寛樹、小泉信夫、後藤郁夫、中村正治: レプトスピラ病疫学調査結果 最終報告、第40回レプトスピラシンポジウム(福岡)2003年3月31日
4. 角坂照貴、増澤俊幸、名古屋市生活衛生センター 名古屋市内のネズミより分離されたレプトスピラ、第55回日本生動物学会大会 2003年4月1日、大分(予定)

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

静岡県天竜川流域および名古屋港で捕獲した野鼠におけるレプトスピラ保有状況

分担研究者	後藤郁夫	名古屋検疫所・検疫専門官
主任研究者	増澤俊幸	静岡県立大学・薬学部・助教授
分担研究者	角坂照貴	愛知医科大学・医学部・講師
研究協力者	川森文彦	静岡県環境衛生科学研究所・微生物部・主査
研究協力者	加邊純雄	名古屋検疫所・所長
研究協力者	品川道夫	名古屋検疫所・衛生・食品監視課長
研究協力者	中野義則	名古屋検疫所・衛生調査係長
研究協力者	柳井慶明	名古屋検疫所・試験検査室長
研究協力者	小澤毅彦	名古屋検疫所・検疫衛生専門職

研究要旨

静岡県、特に天竜川流域は、かつて秋季レプトスピラ病が好発していた地域であり、現在の野鼠におけるレプトスピラの保有状況を調査する目的で、天竜川流域で野鼠を捕獲してレプトスピラの分離を行った。

名古屋港では、昨年に引き続き、野鼠からレプトスピラの分離を行い、あわせて回帰熱およびペストの媒介ベクターの保有状況を調査した。

天竜川流域で捕獲した野鼠 56 頭中 1 頭から 1 株のレプトスピラを分離した（分離率 1.8%）。分離したレプトスピラは、*Leptospira interrogans* と同定された。血清型は、現在解析中であるが、鞭毛遺伝子 *flaB* 解析により血清型 *australis*、または *hebdomadis* であることが予想できた。

名古屋港においては、捕獲した野鼠 77 頭からレプトスピラの分離を試みたが、平成 14 年は分離されなかった。また、回帰熱、ペストを媒介するベクターは見出されなかったが、ヨーロッパネズミノミ *Nosopsyllus fasciatus*、ネズミトゲダニ *Laelaps echidninus*、ヒメトゲダニ *Laelaps nuttalli*、イエダニ *Ornithonyssus bacoti*、及びハツカネズミトゲダニ *Laelaps algericus* の外部寄生虫が認められた。

全国的にレプトスピラを保有する野鼠の生息が確認され、また昨年は名古屋港でレプトスピラが分離されていることから、海外との接点である港湾地域では、定期的な野鼠の生息実態調査及び病原体保有調査による海外からのレプトスピラの侵入に備えた監視体制の強化が必要である。

A. 研究目的

ウイルス病に代表されるレプトスピラ病は、げっ歯類などの保菌動物の排尿等で汚染された水から経皮的に感染する人獣共通細菌感染症である。我が国においては、1970 年代までは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や衛生環境の向上に伴い急激に減少してきた。しかし、海外では全世界的に流行が繰り返されており、我が国へ船

舶等を介して、レプトスピラの病原体を保有するげっ歯類が海外からもたらされる可能性がある。

レプトスピラ病は、感染症法における届出義務のある疾患ではないことから、近年の発生状況を把握することは困難であるが、1999 年には沖縄県八重山諸島での集団発生例や 2000 年の鳥取西部地震による井戸水汚染が原因と考えられるレプトスピラ病の発生事例がある。

一方、海外では、1998年にアメリカ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やマレーシア・ボルネオ島で開催されたエコチャレンジサバ 2000 の参加者に多数の患者が発生した事例などがある。

静岡県は、秋疫、用水病の名前で呼ばれる秋季レプトスピラ病がおもに収穫期の秋に好発していた地域である。しかし、今日では農作業の機械化などにより患者数は激減し、その実態の追求がなされていないため、現在の野鼠のレプトスピラ保有状況は明確でない。このため、今回、我々は静岡県の天竜川流域で野鼠の捕獲を実施し、野鼠におけるレプトスピラ保有状況を明らかにする。

名古屋港では、昨年に引き続き港湾地域で野鼠を捕獲し、レプトスピラの分離を行う。現代の世界規模での交通網の拡大等により、船舶等を介して海外からレプトスピラを保有する野鼠が侵入する可能性がある。また、港湾地域から全国へ拡大する可能性も危惧されている。そこで、野鼠の海外からの侵入監視と港湾地域に生息する野鼠におけるレプトスピラの保有状況を明らかにする。さらに、回帰熱およびペストを媒介するベクターの検索も行う。

昨年までに我々の行った調査では、名古屋、沖縄、宮城で未同定血清型の株が見出され、これまでに日本にはその存在が予想されていない血清型が存在する可能性も示唆されている。そこで日本に分布するレプトスピラ血清型を明らかにするために、天竜川周辺と名古屋港の港湾地域で野鼠を捕獲し、当該地域でのレプトスピラ血清型の分布状況を明らかにする。

B. 研究方法

1. 調査地

静岡県では、かつてのレプトスピラ病発生地である天竜川流域の掛川市、浜北市及び周智郡春野町の山林、雑木林、豚舎、民家などに捕鼠器を設置して、野鼠を捕獲した。

名古屋港では、港湾地域を 5 地区に分

け、各地区の埠頭および倉庫周辺に捕鼠器を設置して、野鼠の捕獲を行った。

2. レプトスピラの分離および培養法

レプトスピラの分離には、野鼠の腎臓乳剤を Korthof 培地に接種し、30℃にて 3 ヶ月間培養した。この間 1 ヶ月ごとに暗視野顕微鏡でレプトスピラ増殖の有無を調べた。

3. レプトスピラ鞭毛遺伝子 *flaB* 配列解析に基づくレプトスピラ遺伝子種の同定

レプトスピラ抽出 DNA を鋳型に特異的プライマーを用いて、遺伝子の PCR 反応を行った。PCR で増幅した遺伝子産物を鋳型として、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。

4. 顕微鏡凝集試験 (MAT)

96 穴丸底プレートに PBS で倍々希釈したウサギ抗血清と被検レプトスピラ培養液を加え 37℃、2 時間インキュベートした後、暗視野顕微鏡にて観察し、菌体の 50% 以上の凝集を示す最大希釈倍率を力価とした。

5. パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) による制限酵素長鎖断片のパターン解析 (large restriction fragment pattern, LRFP)

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、ゲルブロックとした。ゲルブロックをリゾチーム、Proteinase K 処理後、制限酵素 Not I で 37℃、1 晩消化した。このゲルを 200V、パルスタイム 10 秒 5 時間、30 秒 12 時間、60 秒 7 時間の計 24 時間、または 200V、パルスタイム 5~100 秒へのランプで 30 時間パルスフィールドゲル電気泳動した。

倫理面への配慮

捕獲した野鼠については、「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。

C. 研究結果

1. 野鼠の捕獲状況

天竜川流域. 2002年11月上旬に静岡県掛川市、浜北市及び周智郡春野町の山林、雑木林、豚舎、民家等で野鼠の捕獲を行い、野鼠56頭を捕獲した(表1)。

名古屋港. 2002年1月から12月までに、ドブネズミ *Rattus norvegicus* 71頭、クマネズミ *Rattus rattus* 1頭、およびハツカネズミ *Mus musculus* 5頭の合計77頭を捕獲した。

2. レプトスピラの分離状況

天竜川流域. 捕獲野鼠56頭のうち、アカネズミ *Apodemus speciosus* 1頭から1株のレプトスピラが分離された。分離率は1.8%であった。

名古屋港. 名古屋港では、今回捕獲した野鼠77頭からは、レプトスピラは分離されなかった。

3. 分離レプトスピラの性状

天竜川流域で捕獲された野鼠の分離株(SA51/02)は、*flaB* 遺伝子解析から、血清型 *australis* の AkiyamiC 株、並びに血清型 *hebdomadis* の AkiyamiB 株と OM108 株と同じクラスターに属し、*L.interrogans* 血清型 *australis*、または *hebdomadis* であることが予測できた。

4. 名古屋港で捕獲された野鼠の回帰熱およびペストの媒介ベクター検索

捕獲野鼠77頭について、回帰熱およ

びペストを媒介するベクターは見出されなかったが、ヨーロッパネズミノミ、ネズミトゲダニ、ヒメトゲダニ及びイエダニがドブネズミに、ハツカネズミトゲダニがハツカネズミに認められ、広東住血線虫 *Angiostrongylus cantonensis* および肥頸条虫の带状囊虫 *Strobilocercus fasciolaris* の内部寄生虫がドブネズミに認められた。

D. 考察

今回、新たに静岡県天竜川流域で野鼠からレプトスピラの分離を行い、静岡県浜北市で捕獲した野鼠から1株のレプトスピラを分離した。

分離株は、血清型 *australis* または *hebdomadis* であることが予測できた。この地域では、患者数は減少しているが、生息する野鼠においてはレプトスピラを保有することを確認した。これまでの我々の調査からもレプトスピラを保有する野鼠が全国的に生息している可能性を示すものと考えられる。

しかし、1994年の予防接種改正後、レプトスピラ予防接種は実施されていないため、過去に患者が多発した地域ではレプトスピラ病に対する感受性者が増大していると推察され、いつ患者が発生してもおかしくない状況にある。今後も、広域的な調査を実施して、全国的な野鼠におけるレプトスピラ汚染状況を明らかにする必要がある。

一方、名古屋港では昨年に1株のレ

表1 天竜川流域における捕獲野鼠とレプトスピラ分離状況

野鼠の種類	捕獲数 (頭)	レプトスピラ 分離数	分離株名	分離率 (%)
<i>Apodemus argenteus</i>	8	0		0.0
<i>Apodemus speciosus</i>	34	1	SA51/02	2.9
<i>Rattus rattus</i>	11	0		0.0
<i>Urotrichus talpoides</i>	3	0		0.0
合計	56	1		1.8

プトスピラを分離しているが、今年には分離されなかった。これにより、名古屋港においては、レプトスピラの汚染が広がっているとは考えられない。しかし、日本では患者数は減少しているものの、海外でのレプトスピラ病の流行は、全世界的に起こりつつあり、特に近隣の東南アジアや中南米を中心に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。外航船舶が来航する名古屋港にあっては、未知の血清型のレプトスピラを保有する野鼠が、船舶を介して海外から侵入する可能性が危惧されている。このような状況では、今後も定期的な野鼠の生息調査を実施してレプトスピラの分布状況を明らかにする必要がある。

また、外航船舶が来航する港湾地域のレプトスピラの実態解明にあたっては、海外からの輸入血清型の存在の可能性を考慮しながら、詳細な血清学的、分子生物学的解析を行い、病原体の侵入経路を特定し、海外からの侵入監視に備えた防疫対策の確立が必要である。

さらに、レプトスピラ病の全国的な疫学調査及び監視体制の確立を行う上で、感染症法における4類感染症へのレプトスピラ病の早急な追加、さらには検疫法第27条に基づく、検疫感染症に準ずる感染症として追加されることによる恒常的な監視体制の確立が望まれる。

今日でもなお、レプトスピラの病原体は身近に存在し、今後も各地でレプトスピラ病は発生する可能性がある。さらに、近年の活発なアウトドア活動に関連して患者が発生することを認識するとともに、レプトスピラの実態解明と監視体制の確立、さらに、医療現場等への情報提供、衛生思想の普及など効果的な予防対策の確立が必要である。

F. 研究発表

1. 増澤俊幸、余勤、角坂照貴、小泉信夫、川端寛樹、後藤郁夫、中村正治、秋山和夫：レプトスピラ保有野鼠の疫学的全国調査中間報告、第39回レプトスピラシンポジウム

(東京)2002年4月7日(抄録 p.5)

2. 太田周司、田中義枝、長谷山路夫、森雅美、松本泰治、青木英雄、飯塚信二、一戸邦彦、後藤郁夫、増澤俊幸：輸入ハムスターの人獣共通感染症病原体の保有状況調査について、第5回日本検疫医学会学術大会(大阪)2002年12月7日(抄録 p.31)
3. 後藤郁夫、中野義則、小澤毅彦、柳井慶明、品川道夫、加邊純雄、増澤俊幸、中溝芳行、稲垣俊一、長谷山路夫、大神田実、木田中、小林順一、大友雅人、黒飛敏、林昭宏、出水美成、高橋直樹：日本の港湾区域等で捕獲された野鼠におけるレプトスピラ保有状況、第5回検疫医学会学術大会(大阪)2002年12月7日(抄録 p.28)
4. 増澤俊幸、角坂照貴、川端寛樹、小泉信夫、後藤郁夫、中村正治：レプトスピラ病疫学調査結果、第40回レプトスピラシンポジウム(福岡)2003年3月31日