

ノミが本菌を人へ伝播する可能性も考慮する必要がある。猫間ではノミが *B. henselae* のベクターとなる。

日本の飼育猫では、8.8% (128/1,447 頭) が抗体陽性で、若齢猫、ノミが寄生していた猫、室外飼育の猫、さらに南の温暖な地域の猫で高い陽性率が見られている。また、日本の飼育猫の 7.2% (50/690 頭) が *Bartonella* 属菌を保菌しており、新潟県、兵庫県の 2% から沖縄県の 20% まで、地域差が認められている (表 2)。猫の保菌率は、南の温暖な地域や都市部で高い傾向にあり、猫ノミの分布や感染猫の密度に関係しているものと考えられる。

### 3. 人の症状

定型的な CSD では、猫から受傷後 3～10 日目に菌の侵入部位 (通常、手指や前腕) に虫さされに似た病変が形成される (写真 1)。丘疹から水疱に、また、一部では化膿や潰瘍に発展する場合もある。これらの病変の形成から 1、2 週間後に局所のリンパ節 (多くは鼠径部、腋窩あるいは頸部リンパ節) の腫脹が現れる。通常、リンパ節炎は一側性で痛みを伴い、数週から数ヶ月間持続する (写真 2)。多くの症例で、発熱、悪寒、倦怠、食欲不振、頭痛等を示すが、一般に良性で、自然に治癒する。

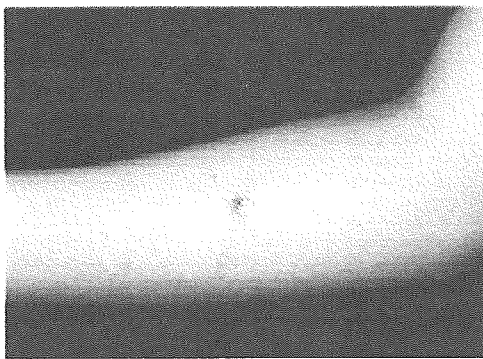


写真 1. 猫によるひっかき傷に出来た丘疹

間後に局所のリンパ節 (多くは鼠径部、腋窩あるいは頸部リンパ節) の腫脹が現れる。通常、リンパ節炎は一側性で痛みを伴い、数週から数ヶ月間持続する (写真 2)。多くの症例で、発熱、悪寒、倦怠、食欲不振、頭痛等を示すが、一般に良性で、自然に治癒する。

CSD の非定型的な症状は 5～10% の割合で発生する。パリノー症候群 (耳周囲のリンパ腺炎、眼瞼性結膜炎等)、脳炎、骨溶解性の病変、心内膜炎、肉芽腫

性肝炎等が報告されている。免疫不全状態の人が *B. henselae* に感染した場合、細菌性血管腫を起こす。臨床的にカポシ肉腫のような紫色や無色の小胞あるいは嚢胞性皮膚病変で、実質臓器に嚢腫が波及する場合もある。

### 4. 猫の症状

*B. henselae* に感染した猫では、ほとんど臨床症状は示さず、長期間 (数ヶ月～数年) の菌血症を起こす。実験的に *B. henselae* を感染させた猫では、発熱、一過性の神経機能障害、傾眠、食欲不振などを示した例が報告されている。



写真 2. 腋下リンパ節の腫脹

## 5, 診断

CSD を診断する際には、猫、特に若齢猫との接触や創傷部の存在の有無、局所リンパ節の腫脹等を確認する必要がある。

血清学的診断法として、*B. henselae* を抗原とした間接蛍光抗体法が用いられる。*B. henselae* の分離には、血液、リンパ節材料が用いられるが、患者から本菌を分離することは極めて難しい。分離には血液寒天培地を用い、35～37℃、5%CO<sub>2</sub> の気相で培養する。初代分離培養の場合、4週間まで観察を続ける必要がある。菌種の同定にはクエン酸合成酵素遺伝子の PCR 増幅産物を制限酵素 TaqI, HhaI で切断し、その切断パターンで同定する方法や種特異的 PCR 法が用いられる。

## 6, 治療

定型的な CSD に対して各種の抗生物質による治療が試みられているが、その効果は高いとはいえない。免疫不全患者に発生した細菌性血管腫には、エリスロマイシン、リファンピシン、ゲンタマイシン、ドキシサイクリン、シプロフロキサシン等の抗生物質が有効である。

猫ではドキシサイクリン、リンコマイシン、アモキシシリン等の抗生物質である程度菌血症を抑制できるが、血液中から完全に菌を排除することはできない。

## 7, 予防

- 1) 猫、特に若齢猫に引っかけられないようにすること、
- 2) 猫による外傷の消毒、
- 3) 猫に接触した後の手指の洗浄、
- 4) 猫ノミの駆除等の一般的な衛生対策で対応する。猫、人に対するワクチンはない。子供のいる家庭内では、ノミ対策を施された猫や *B. henselae* 菌血症が陰性の猫を飼育することも考慮する。免疫不全状態にある人は、猫との接触や飼育は避けるべきである。

## VIII 免疫学的検査 E. 非ウイルス性感染症関連検査(抗原および抗体を含む)

## 猫ひっかき病

Cat-scratch disease

丸山総一

Key words: *Bartonella henselae*, cat-scratch disease, 間接蛍光抗体法, 猫, リンパ節炎

## 1. 概 説

猫ひっかき病(cat-scratch disease: CSD)は、猫から受けた創傷や咬傷が原因で発症する人獣共通感染症で、患者は世界各地でみられ、若齢者、特に男児に多発する。CSDは幼猫や猫ノミが多く寄生した子猫が感染源として重要である<sup>6)</sup>。

CSDの主要な病原体は、猫の赤血球内に寄生しているグラム陰性、多形性単桿菌の*Bartonella henselae*である。

健康者の定型的なCSDでは、猫から受傷後、3-10日目に受傷部に虫さされに似た病変が形成され、丘疹から水疱に、また、一部では化膿や潰瘍に発展する。皮膚病変の形成から1, 2週間後に一側性、有痛性のリンパ節炎が現れる。リンパ節炎は鼠径部、腋窩あるいは頸部リンパ節に多く現れる。リンパ節の腫脹は、数週から数カ月間持続する。多くの症例で、発熱、悪寒、倦怠、食欲不振、頭痛などを示すが、一般に良性で自然に治癒する。

CSDの非定型的な症状は5-10%の割合で発生する。Parinaud症候群、眼瞼性結膜炎、脳炎、骨溶解性の病変、心内膜炎、肉芽腫性肝炎などが報告されている。

免疫不全状態の人が*B. henselae*に感染した場合、細菌性血管腫を起こす。臨床的にKaposi肉腫に類似した紫色や無色の小胞あるいは嚢胞性皮膚病変で、実質臓器に嚢腫が波及する場合もある。

一方、*B. henselae*に感染した猫は、ほとんど臨床症状を示さず、長期間(数カ月~数年)の菌

血症を起こす。

定型的なCSDに対する各種抗生物質の治療効果は高いとはいえない。免疫不全患者に発生した細菌性血管腫には、エリスロマイシン、リファンピシン、ゲンタマイシン、ドキシサイクリン、シプロフロキサシンなどの抗生物質が有効である。

## 2. 検査の目的

現在は、Regneryら<sup>9)</sup>により開発された*B. henselae*を抗原とした間接蛍光抗体法による血清診断が広く用いられている。

患者からの*B. henselae*の分離が最も確実な診断であるが、本菌を検査材料から分離することは非常に難しく、また培養してから同定までに時間がかかるため、一般的ではない。しかしながら、患者が猫を飼育している場合、猫の血液から*B. henselae*を分離することは、その原因を明らかにするうえで有力な手がかりとなる。

患者リンパ節材料あるいは感染初期の血液を用いたPCR法により*B. henselae*の遺伝子を検出することも診断に有用である。著者らは、感染初期の患者の血液やベクターのノミから*B. henselae*のDNAの検出に成功している<sup>17)</sup>。

鼠径リンパ肉芽腫、各種化膿性炎、非定型抗酸菌症、結核、ブルセラ症、野兎病、伝染性単核症、コクシジオマイコーシス、ヒストプラズマ症、Hodgkin病、サルコイドーシス、川崎病などのリンパ節が腫脹する他の疾病との類症鑑別が必要である。

Soichi Maruyama: Laboratory of Veterinary Public Health, Department of Veterinary Medicine, College of Biore-source Sciences, Nihon University 日本大学生物資源科学部 獣医学科 獣医公衆衛生学研究室

### 3. 診断用の試料と保存条件

#### a. 血清診断用の試料

血清は感染初期と後期のペアで採取することが望ましい。単一血清のみで診断する場合は、発病から 10-14 日以上血清を用いる。血清は 4°C で、直ちに検査できない場合は -20°C 以下で保存する。

#### b. 分離培養用の試料

患者を抗生物質で治療する前のリンパ節や血液を用いる。試料を無菌的に採材した後は、できるだけ早急にドライアイス凍結下で検査機関に送付する。血液は、約 2ml を無菌的に抗凝固剤(ヘパリンあるいは EDTA)入り採血管に採取し、短期保存では -20°C 以下、長期保存の場合は -70°C 以下に保持する。血液は溶血しても菌の分離に支障はない。

#### c. 遺伝子診断の試料

感染初期の血液あるいは発病時のリンパ節を用いる。検体の保存条件は、分離培養の試料に準ずる。

### 4. 検査法と診断基準

#### a. 血清診断法

培養した各種株化細胞に *B. henselae* を感染させた抗原を用いる。*B. henselae* 単独の抗原は、細胞と共培養した抗原に比べ感受性、特異性が低い。抗 *B. henselae*、抗 *B. quintana* の IgG 測定用および抗 *Bartonella* の IgM 測定用の抗原スライドがアメリカで市販されている (Focus technologies, Cypress, California, USA)。

##### 1) 抗原スライドの作製法<sup>3)</sup>

抗原用の *B. henselae* (Houston-1 などの基準株) は、5-7% ウサギ血液加ハートインフュージョン寒天培地に塗抹し、35-37°C、5% CO<sub>2</sub> の気相で培養する。培養菌の浮遊液を単層に培養した Vero, Hep2, FCWF などの株化細胞に接種し、24-48 時間感染させる。感染細胞をトリプシンで剥離し、MEM を 8-11ml 加えて浮遊液を作製する。この細胞浮遊液を 12 穴アッセイスライドガラスの各穴に 30 μl ずつスポットし、CO<sub>2</sub> インキュベーター内で 12-16 時間培養

する。アッセイスライドガラス上の MEM をアスピレーターで吸引し、滅菌 PBS で 2 回洗浄した後、純アセトンで 20 分間固定、乾燥させる。作製した抗原スライドは、-70°C で保存する。

##### 2) 間接蛍光抗体法の手技

(1) 作製した抗原プレートを冷 PBS で 5 分間洗浄する。

(2) 被検血清は、10% スキムミルクで希釈し、IgM 抗体では 1:8 と 1:16、IgG 抗体の場合は 1:32 と 1:64 の希釈でスクリーニングする。抗体価を測定する場合は、適宜 2 倍段階希釈する。

(3) 抗原上に希釈した血清をスポットした後、モイスターボックス内で 37°C、40 分間反応させる。

(4) 反応後、血清をアスピレーターで吸引し、PBS で 5 分間洗浄する。

(5) PBS を吸引し、あらかじめ準備しておいた 2 次抗体 (FITC 標識抗ヒト IgG あるいは IgM-ヤギ血清) で、37°C、40 分間反応させる。

(6) 反応後、2 次抗体を吸引し、PBS で 5 分間、更に精製水で軽く洗浄する。

(7) スライド上の抗原をグリセリンで封入し、蛍光顕微鏡で鏡検する。

##### 3) 診断基準

IgM 抗体では 1:16 希釈以上、IgG 抗体では 1:64 希釈以上で細胞の核周囲に特異的な蛍光がみられたものを陽性とする。ペア血清で IgM 抗体が検出されなかった場合、IgG 抗体価に 4 倍以上の差がみられたものを陽性とする。数カ月以内に *B. henselae* の感染があった場合、通常 IgG 抗体価は 1:256 以上を示す。

#### b. 細菌学的検査法

##### 1) *B. henselae* の分離培養法

分離には、患者リンパ節や血液を用いる。摘出したリンパ節は、ハサミで無菌的に細切し、9 倍量の Medium199 を主成分とする分離用液体培地を加え、ガラスホモジェナイザーを用い、氷冷下で十分磨細する。本菌を血液から分離する場合、赤血球を一度溶血させる必要がある。EDTA チューブ等に採取した血液は、一度凍結 (-70~-80°C)・融解により、溶血させ

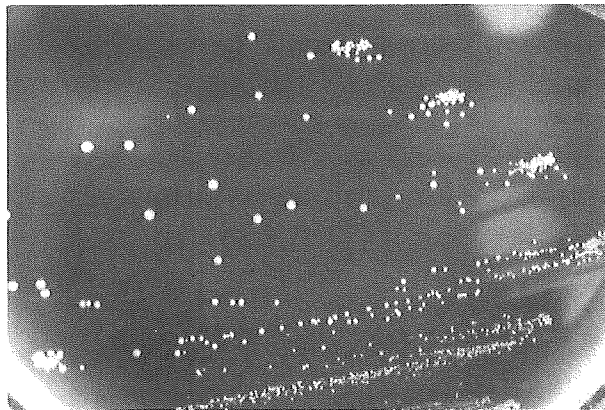


図1 ウサギ血液寒天培地上に発育した *Bartonella henselae* (Houston-1 株)

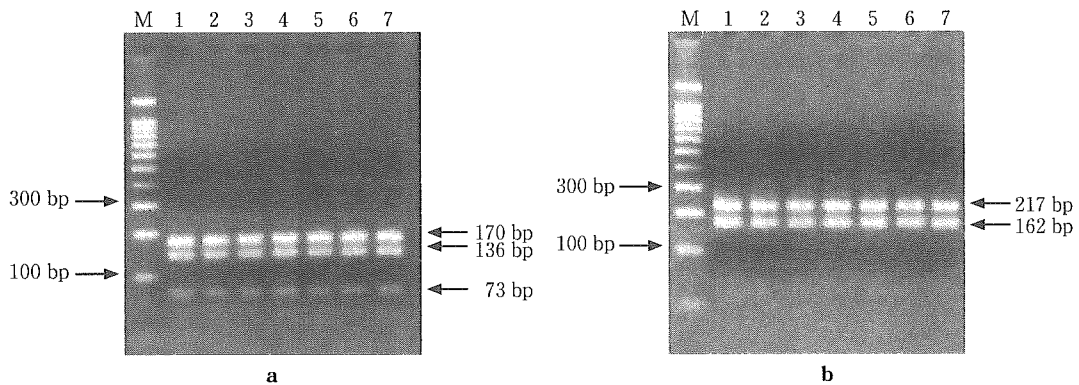


図2 制限酵素 *TaqI* (a) および *HhaI* (b) で切断した *Bartonella henselae* のクエン酸合成酵素遺伝子 DNA

M: サイズマーカー、1: Houston-1 株、2-7: 猫分離株

るか、あるいは、新鮮血を Lysis Isolator tube (Wampole, NJ, USA) に採取して溶血させた後、3,800 回転、70 分間遠心分離する。沈渣に分離用 Medium 199 培地を加え、よく混合したものを 5-7% ウサギ血液加ハートインフュージョン寒天培地に塗抹し、35-37°C、5% CO<sub>2</sub> の気相で 2-4 週間培養する。

## 2) 診断基準

*B. henselae* は灰白色、表面が隆起したカリフラワー状、非溶血性、直径約 0.5-1mm 程度の微小なコロニーを形成する (図 1)。顕微鏡下では、*B. henselae* は小型 (2×0.5-0.6 μm) の微小なグラム陰性、多形性単桿菌の特徴を示す。大きさ、形態は *Campylobacter* 属に類似する。

分離した *B. henselae* の同定は、抽出した菌体 DNA による PCR 法を用いる。クエン酸合成酵素遺伝子 (*gltA*) の PCR 増幅産物 (379 bp) を 2 種の制限酵素 *TaqI*、*HhaI* で切断し、その断片の電気泳動パターンを比較する方法<sup>2)</sup>あるいは 16S-23S rRNA 間領域の遺伝子の種特異的プライマーを用いた PCR 法<sup>2)</sup>で *B. henselae* と他の *Bartonella* 属菌を鑑別することができる。前者では、*B. henselae* は、*TaqI* で 136 bp、170 bp、73 bp に (図 2-a)、*HhaI* では 162 bp、217 bp に切断される (図 2-b)。後者では、*B. henselae* は 172 bp のバンドとして現れる。

## c. 遺伝子診断法

患者リンパ節あるいは感染初期の血液から

DNAを抽出する。市販のDNA抽出キットが便利である。抽出したDNAをテンプレートとして、前述したPCR法で*B. henselae*のDNAを検出する。

臨床症状、実験室診断の成績、ならびに患者の疫学情報(猫を飼育しているか、猫と接触はあったか、猫から受傷したか)などを総合して猫ひっかき病を診断する。

### 5. 測定に影響を及ぼす要因

血清反応では同属の*B. quintana*や*Chlamydia pneumoniae*との間に交差反応がみられる<sup>1,10)</sup>。

また、慢性のQ熱感者の血清が*B. henselae*と交差反応を示すことも報告されている<sup>8)</sup>。

*B. henselae*は16S rRNAの遺伝子型によりtype Iとtype IIに大別される。著者らの研究から、日本の猫や人に分布する*B. henselae*の遺伝

子型はtype Iが主流であることが明らかとなっている<sup>5,7)</sup>。したがって、血清診断に使用する*B. henselae*の16S rRNA遺伝子型は、type Iを使用する必要がある(Houston-1株はtype I)。しかしながら、type I株の中でも、株により抗原としての反応性が異なるものがあることを考慮する必要がある。

また、遺伝子診断では、患者材料から抽出した材料には種々のDNAやPCR阻害物質が含まれている場合があるので、プライマーの設計、PCRの条件などに注意する必要がある。

本菌の分離・同定と抗体測定に関しては日本大学生物資源科学部、獣医公衆衛生学研究室(TEL & FAX: 0466-84-3636)までお問い合わせください。

### ■ 文献

- 1) Dalton MJ, et al: Arch Intern Med 155: 1670-1676, 1995.
- 2) Jensen WA, et al: J Clin Microbiol 38: 1717-1722, 2000.
- 3) Kikuchi E, et al: Microbiol Immunol 46: 313-316, 2002.
- 4) Maruyama S, et al: J Vet Med Sci 62: 1321-1324, 2000.
- 5) Maruyama S, et al: J Vet Med Sci 62: 273-279, 2000.
- 6) Maruyama S, et al: Microbiol Immunol 47: 147-153, 2003.
- 7) Maruyama S, et al: Microbiol Immunol 48: 103-109, 2004.
- 8) La Scola B, Raoult D: J Clin Microbiol 34: 2270-2274, 1996.
- 9) Regnery RL, et al: Lancet 340: 557-558, 1992.
- 10) 常岡英弘ほか: 感染症誌 75: 406-410, 2001.