

厚生労働科学研究費補助金
新興・再興感染症研究事業

リケッチア感染症の国内実態調査及び
早期診断体制の確立による
早期警鐘システムの構築

平成18年度 総括・分担研究報告書

平成19（2007）年3月

主任研究者 岸 本 壽 男
（国立感染症研究所）

平成 18 年度 新興・再興感染症研究事業
 リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による
 早期警鐘システムの構築 研究班 名簿

氏名	所属	職名
岸本 壽男	国立感染症研究所 ウイルス第一部	室長
安藤 秀二	国立感染症研究所 ウイルス第一部	主任研究官
猪熊 壽	帯広畜産大学畜産学部獣医学科臨床獣医学講座	教授
岩崎 博道	福井大学 医学部 病態制御医学講座内科学(1)領域	助教授
大橋 典男	静岡県立大学 環境科学研究所	教授
岡部 信彦	国立感染症研究所 感染症情報センター	センター長
川端 寛樹	国立感染症研究所 細菌第一部	室長
倉田 毅	富山県衛生研究所	所長
高田 伸弘	福井大学 医学部病因生態医学講座	助教授
田原 研司	島根県保健環境科学研究所 保健科学部ウイルスグループ	専門研究員
堤 寛	藤田保健衛生大学 医学部第一病理学	教授
藤田 博己	大原総合病院附属大原研究所	主任研究員
古屋 由美子	神奈川県衛生研究所 微生物部	専門研究員
山本 正悟	宮崎県衛生環境研究所 ウイルス科	ウイルス科長

* 分担研究者 50 音順

業務委託

財団法人 山階鳥類研究所

目 次

I. リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築

総括研究報告書(平成 18 年度) 1

主任研究者 岸本 壽男(国立感染症研究所 ウイルス第一部)

II. 分担研究報告書

疫学的研究

1. リケッチアのベクターとその保有病原菌型の多様性に関する実態調査 5
高田 伸弘(福井大学 医学部病因生態医学講座)
2. 獣医学領域からのリケッチア感染サーベイランス 17
猪熊 壽(帯広畜産大学畜産学部獣医学科臨床獣医学講座)
3. 鳥類に由来するマダニ材料からのリケッチアの検出 23
安藤 秀二(国立感染症研究所 ウイルス第一部)
4. リケッチア感染症の国内サーベイランスのまとめおよびサーベイランス改善に関する研究 31
岡部 信彦(国立感染症研究所 感染症情報センター)
5. 九州地域におけるリケッチア感染症の実態調査
ー宮崎県における日本紅斑熱の発生状況および媒介マダニに関してー 37
山本 正悟(宮崎県衛生環境研究所 ウイルス科)
6. 九州地域におけるリケッチア感染症の実態調査
ー福岡県の日本紅斑熱発生地における媒介マダニに関してー 43
山本 正悟(宮崎県衛生環境研究所 ウイルス科)
7. 中国・四国地域におけるリケッチア症(つつが虫病・日本紅斑熱)の発生状況と疫学
(2006 年)ー特に、島根県・広島県・愛媛県におけるリケッチア症発生と
広島県から愛媛県(瀬戸内海島嶼含む)の棲息マダニ相ー 49
田原 研司(島根県保健環境科学研究所 保健科学部ウイルスグループ)
8. 富山県におけるつつが虫病に関する調査とマダニ類分布調査 63
倉田 毅(富山県衛生研究所)
9. 神奈川県におけるリケッチア症患者の発生状況の把握及び *Orientia tsutsugamsuhi*
型別 PCR の検討 71
古屋 由美子(神奈川県衛生研究所 微生物部)

検査・診断的研究

10. アナプラズマ、エーリキア、リケッチアの国内実態調査と早期遺伝子診断法の開発 …… 79
大橋 典男(静岡県立大学 環境科学研究所)
11. 日本国内におけるリケッチア感染症検査法の検証 …… 87
安藤 秀二(国立感染症研究所 ウイルス第一部)
12. 新規 *Rickettsia* 感染症診断ツールの開発 …… 95
川端 寛樹(国立感染症研究所 細菌第一部)
13. 国内に分布するマダニ類とマダニ媒介性リケッチア属の 2006 年現在における概要調査
およびマダニ幼若期の迅速同定法の検討 …… 101
藤田 博己(大原総合病院附属大原研究所)

予防・治療研究

14. 日本紅斑熱の病理 …… 127
堤 寛(藤田保健衛生大学 医学部第一病理学)
15. ツツガムシ病における重症化とサイトカイン産生制御 …… 133
岩崎 博道(福井大学 医学部 病態制御医学講座内科学(1)領域)

(資料)

- 財団法人 山階鳥類研究所による鳥類関連材料の収集に関する報告 …… 145

I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)
総括研究報告書

リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築

主任研究者 岸本壽男 国立感染症研究所 ウイルス第一部第五室 室長

研究要旨 本研究は、つつが虫病をはじめ、近年の日本紅斑熱の増加や死亡例の発生、また新たな紅斑熱群リケッチアやエーリキア症、アナプラズマ症等の発生に対応するため、それらリケッチア感染症の実態解明と早期診断体制の確立、早期警鐘システム構築を目指している。リケッチア感染症の①疫学的研究、②検査・診断研究、③予防・治療研究を総合的に進め、本年度は①疫学的研究として、リケッチア感染症、特につつが虫病、日本紅斑熱について疫学情報の解析と疫学データの集約方法の検討を行った。また、医師の感染症サーベイランスに対する認知度と診断の現状について熊本県、宮崎県の医師を対象に調査し、熊本県では2回目で認知度の向上がみられた。リケッチア感染症の国内実態調査に関しては、つつが虫病と日本紅斑熱の患者発生状況調査と、推定感染地におけるリケッチアの浸淫状況調査を行い、ベクターについては全国の媒介性マダニとツツガムシの分布についてハザードマップ作成のための成績を集積した。さらに近隣国でもアジア大陸に共通な紅斑熱群リケッチアの現地調査を行い情報を得た。ほかに鳥類に関連するダニ材料からのリケッチアの検出で、渡り鳥の関与を検討する必要性が示された。動物ではイヌとネコを歩哨動物とした全国的な血清疫学調査を開始し、一部野生動物のリケッチア感染状況を調査し明らかにした。アナプラズマ、エーリキアについては、国内におけるマダニの調査でアナプラズマ由来の特異的遺伝子が確認され、患者発生を含めた検討の重要性が示された。②検査・診断研究では、リケッチア感染症の診断ツールとしての新たなタンパク質抗原について解析を進め、リケッチア因子 RickA に着目し診断ツールとしての材料作成を行い臨床応用の準備をした。日本紅斑熱の病原体迅速診断法としては、患者や死亡症例で、刺し口や、皮疹の生検組織等からの酵素免疫染色法の確立を目指し、患者検体やイヌの感染実験で得られた組織からの検出の検討を行った。また、つつが虫病遺伝子検出系ならびに血清診断系については施設間でのばらつきが指摘されており、日本紅斑熱の診断系とともに改善のための検証を行った。さらにアナプラズマ、エーリキアの新たな早期診断法として、TaqMan 法ならびにLAMP 法の確立を目指して検討をすすめ基礎的な成績を得た。③予防・治療研究としては、リケッチア感染症の重症例や死亡例の病態や機序の検討を行い、今後重症度を層別化し、特定のサイトカイン変動との関連性について検討可能となる前段階に達した。また日本紅斑熱の剖検2例について、病理学的に検討し、ヒトでの酵素免疫抗体法による組織染色での診断の有用性が示唆されたが、感染実験イヌの組織染色では非特異反応の問題点を含め、今後の検討課題が示された。

分担研究者
安藤秀二
(国立感染症研究所ウイルス第一部主任研究官)
猪熊 壽
(帯広畜産大学獣医学部教授)
岩崎博道
(福井大学医学部助教授)
大橋典男
(静岡県立大学環境科学研究所教授)
岡部信彦
(国立感染症研究所感染症情報センター長)
川端寛樹
(国立感染症研究所細菌第一部室長)

倉田 毅
(富山県衛生研究所所長)
高田伸弘
(福井大学医学部助教授)
田原研司
(島根県保健環境科学研究所主任研究員)
堤 寛
(藤田保健衛生大学医学部教授)
藤田博己
(財)大原総合病院附属大原研究所主任研究員)
古屋由美子
(神奈川県衛生研究所微生物部専門研究員)
山本正悟
(宮崎県衛生環境研究所ウイルス科長)

A. 研究目的

近年の日本紅斑熱患者の増加と、重症例や死亡例の増加の問題、また新たな紅斑熱群リケッチアやエーリキア、アナプラズマ等による感染症発生に対応する必要性が指摘されている。そこで、本研究ではリケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立に基づく早期警鐘システムの構築を目指した。本研究ではリケッチア感染症の①疫学的研究、②検査・診断研究、③予防・治療研究を3本柱として、まず疫学的研究として、リケッチア感染症患者の国内実態調査、リケッチア、ダニ、媒介動物の国内実態調査と生物学的、血清学的、分子疫学的研究を行うこととした。これらの結果は患者発生、リケッチア、ダニ、媒介動物のデータマップ作成に利用でき、さらにサーベイランスシステム構築にも有用である。次に検査・診断についての研究としては、とくに日本紅斑熱で急激に進行し短期間で死亡する重症例の報告もあることから、抗体上昇前の迅速診断として刺し口あるいは皮疹の生検等からの検出法の確立が求められている。また形態学的、血清学的、分子生物学的手法によるダニや媒介動物の検査法の確立と、これらの研究の中で得られるリケッチア株や患者陽性血清は、全国関連機関への技術移転や地域別のレファレンス体制構築には不可欠でありそれらの確保収集も急務である。最後に予防・治療についての研究としては、リケッチア感染症でときに播種性血管内凝固症候群(DIC)などの合併で重症化し死亡例も知られるが、その機序は不明な点が多く、その解明のため、患者の病態解析とともに感染動物実験を行うこととした。以上の研究成果を踏まえ、最終的に患者発生時の迅速な検査、早期診断・治療体制の整備によるリケッチア感染症の早期警鐘システム構築につなげることを目的とした。

B. 研究方法

疫学的研究としては、リケッチア感染症、特につつが虫病、日本紅斑熱について疫学情報の解析と疫学データの集約方法の検討を行った。また、医師の感染症サーベイランスに対する認知度と診断の現状について熊本県、宮崎県の医師を対象に調査を行った。患者発生状況実態調査と推定感染地におけるリケッチアの浸淫状況について、媒介ダニ相と媒介動物の実態調査を青森県、山形県、秋田県、富山県、三重県、島

根県、愛媛県、広島県、福岡県、宮崎県、長崎県、熊本県、鹿児島県で実施した。また新たな日本紅斑熱浸淫地域での調査を行った。ベクターについては全国の媒介マダニとツツガムシの分布についてハザードマップ作成のための成績を集積した。さらに近隣国でもアジア大陸共通のリケッチア性紅斑熱の現地調査を行った。ほかに今回、山階鳥類研究所に協力する全国の関係者から集められた、野生鳥類に関連するマダニからリケッチアの検出、解析を試みた。動物ではイヌとネコを歩哨動物とした全国的な血清疫学調査を開始し、一部野生動物のリケッチア感染状況を調査した。アナプラズマ、エーリキアについては、国内におけるマダニの実態調査を行った。またベクターの形態学的な同定について情報の収集と集約、また野外調査によるデータの追加によって実態の把握と、マダニの種への同定のポイントの整理を試みた。

検査・診断研究については、リケッチア感染症の診断ツールとして、新たなタンパク質抗原について解析した。抗原情報の検索成績をもとに、国内株、特に *R. japonica* 株からの特異的遺伝子の単離・同定、組換え抗原調製、抗血清作成などを行った。日本紅斑熱の病原体迅速診断法としては、患者検体やイヌの感染実験で得られた組織からの検出を行った。つつが虫病については、遺伝子検出系ならびに血清診断系の検証を行った。またアナプラズマ、エーリキアの新たな早期診断法として、TaqMan 法ならびに LAMP 法の確立を目指して検討した。

予防・治療研究としては、リケッチア感染症の重症例・死亡例の病態や機序の検討を急性期と回復期の血清中サイトカイン濃度を測定し検討した。日本紅斑熱の剖検例については、全身病変を詳細に病理学的に検討するとともに、ビーグル犬2頭に日本紅斑熱リケッチアを頸部皮下に投与して、感染実験を行い病態を解析した。

C. 研究結果

疫学的研究としては、リケッチア感染症発生状況の変化があり、さらに詳細に地理的区分をもとに検討する必要性が示された。医療機関のサーベイランスに対する認知度と診断の現状について、熊本県の皮膚科医を対象に調査し、調査の反復により認知度の向上がみられた。神奈

川県では血清抗体測定と遺伝子検出により、つつが虫病患者が15名確定診断された。日本紅斑熱患者の発生は確認されなかった。つつが虫病患者の感染株は Kawasaki 株12名(80%)、Kuroki 株3名(20%)であり、県内の主な感染株は Kawasaki 株であった。富山県ではつつが虫病流行地の野生げっ歯類からは、つつが虫病原リケッチア Kato 型と Karp 型に対する抗体が検出され、つつが虫病原体の媒介者であるフトゲツツガムシ・タテツツガムシが流行地より採集された。マダニ類の調査では、ヤマトマダニ、キチマダニ、シュルツェマダニ等が分布していた。島根県では東部から中部地域、広島県では西部地域、愛媛県では中部地域に患者発生が集中していることが明らかとなった。確認された *O. tsutsugamushi* の血清型は、島根県では Karp 型および Gilliam 型、広島県では西部地域で Kawasaki 型、東部地域で Karp 型、愛媛県では Karp 型であった。一方、日本紅斑熱については、島根県では島根半島、広島県では東部地域、愛媛県では中部および南部地域に、患者発生が集中して認められた。*R. japonica* は、島根県では患者、野ネズミおよびマダニ類、広島県ではマダニ類、愛媛県では野ネズミおよびマダニ類からそれぞれ分離または特異遺伝子が検出された。特に、広島県東部地域と愛媛県中部および南部地域では、マダニ類の高率な *R. japonica* の保有が確認され、今後も患者発生の危険性が高いことが示唆された。福岡県における2005年の日本紅斑熱の初発例の報告を受け、感染推定地点周辺で調査を実施した。その結果、3属8種のマダニの分布が確認された。また、ヤマアラシチマダニの幼虫から PCR 法によって *R. japonica* の遺伝子断片が検出されたことから、ヤマアラシチマダニが媒介種と推定された。宮崎県では、1984年以降に49例の患者が確認され、このうち3例の患者が DIC を呈していた。また、マダニの調査により、少なくとも4属12種のマダニが分布し、キチマダニとフトゲツツガムシがそれぞれの地域においても優勢で、県央部で採取されたヤマアラシチマダニとフトゲツツガムシから *R. japonica* の遺伝子断片が検出され、これらが媒介種と推定された。次に全国の媒介マダニとツツガムシの分布について、ハザードマップ作成のための成績を集積した。その中で特定地

域でのリケッチア症ベクターの調査の一環として福井県奥越地方で発生した欧州共通 *R. helvetica* 症例に関連した調査では、その発症の裏づけとしてヒトツツゲマダニを主とした感染環が証明された。また、*R. japonica* のベクターの北限推定の調査は甲信越から東北南部で継続中である。他方、新たな紅斑熱多発地と目される紀伊半島東部の志摩半島におけるベクター調査でも示唆的な結果を得つつある。次に不特定地域からのベクターや、病原菌型のデータとして検討したマダニ刺咬症例の中に我国で新規の紅斑熱群菌種を検出した。また GIS によるベクターリスクマップ作成として、特徴的な分布相を示すタテツツガムシなどをモデルとし試作の準備に入った。そして東アジアと我国の共通リケッチア症については、タイ北部で稀有な薬剤耐性例を含む患者の多発を確認し有熱患者の血清も入手、またネパールでは中国から日本まで共通する新規紅斑熱群菌種を検出した。別に鳥類に関連するダニ材料からのリケッチアの検出で、*Carios* 属のダニからリケッチア遺伝子が検出されたことから、渡り鳥の関与についても検討する必要性が示された。さらに、獣医学領域からは、動物のリケッチア感染症のサーベイランスとして、まず全国30都道府県の動物病院の協力を得て35都道府県のイヌ1207頭およびネコ584頭を歩哨動物としたリケッチアの全国的血清疫学調査を行った。*R. japonica* に対する抗体陽性を示したのは、イヌ20頭(1.7%)とネコ4頭(0.7%)であった。これまで日本紅斑熱患者発生のない地域(新潟、香川)においても、*R. japonica* 特異的抗体を保有する動物が確認された。北海道ではエゾシカ末梢血から *R. helvetica*、*E. muris* および *A. bovis* にそれぞれ近縁な遺伝子断片が検出された。また十勝管内のマダニからリケッチア、エーリキア近縁種が検出された。アナプラズマ、エーリキアについては、国内におけるマダニの実態調査として、青森県、岩手県、北海道、鹿児島県で調査し、青森県と岩手県で採取した計155匹のマダニから *A. phagocytophilum* の DNA 検出を試みたところ、5匹のシュルツェマダニとヤマトマダニが PCR 陽性を示し、アナプラズマの存在を確認した。またベクターの同定については、必ずしも容易ではないマダニの種の同定、とくに難

度が高いとされる幼若虫期の同定作業のために、同定のポイントを整理した一覧表と写真画像による迅速同定法を検討し示した。

検査・診断についての研究としては、これまで基礎研究ベースで見出されてきたタンパク質抗原として 2004 年に報告された宿主細胞のアクチン繊維と結合、伸張反応を誘導するリケッチア因子 RickA に着目し、診断ツールとしての材料作製を行った。つつが虫病の遺伝子検出では、従来の *O. tsutsugamushi* の PCR では Gilliam 型の検出感度が低かったため、プライマーを改良し、作製したプライマーにより Gilliam 株および Japanese Gilliam (JG) 株が型別可能であることが示された。また、つつが虫患者の血清診断系において、検査会社と研究施設における血清型の反応性の相違 (Kato 型と Karp 型において結果が異なる) が複数の機関で経験されたため、原因の検討を行っている。ほかにもマダニ刺症や患者と分離株との血清免疫学的検討を行った。日本紅斑熱の病原体迅速診断法として、患者や死亡症例で、刺し口あるいは皮疹の生検等からの酵素免疫染色法の有用性を検討し、2～3 日で陽性所見が認められた。またパラフィン切片の抗原性賦活化処理後に、血管内皮細胞とマクロファージにて紅斑熱リケッチア抗原が陽性であった。1 症例の皮疹では壊死性血管炎を伴っていた。イヌの感染実験では、今回使用した抗体では組織の酵素免疫染色の特異性はなく、遺伝子検出系での確認を行っている。アナプラズマ、エーリキアについては、TaqMan 法および LAMP 法を用いた早期診断法開発の検討を行った。

予防・治療研究としては、リケッチア感染症の重症例や死亡例の病態や機序の検討の結果、殆どの症例では急性期にサイトカイン濃度は高値を示し、適切な治療が施行されると速やかに正常値に回復することが示された。また日本紅斑熱の剖検 3 事例で病理学的解析を行い、2 例では皮膚と対照的に、内臓病変は炎症反応が軽く、血管内皮にリケッチア抗原が証明された。また精巣、前立腺、腎、唾液腺に血管周囲性炎症を認め、腎尿細管、肝細胞、精細管、精巣間質細胞も抗原陽性であった。1 症例の小腸絨毛、腎、肝、副腎、精巣では、拡張血管内皮下に抗原陽性マクロファージが集簇していた。一方、感染イヌでは、身体所見上、異常を認めなかつ

たが、血清抗体価は 4 週後に 2 頭とも 640 倍と上昇していた。しかし腫大した頸部リンパ節の免疫染色では、陽性様に見えた染色像が非特異反応によるものと判明したため、今回の免疫染色系では感染部位の特定に至らなかった。

D. 考察

疫学的研究としては、患者と、ダニやツツガムシのベクター、動物、病原体の調査研究を総合的に進める重要性が再確認された。

検査・診断の研究としては、リケッチア症実験室診断の国内施設での実施状況について今後も調査、検証を行いつつ、新たな診断系の確立のための検討を進める必要がある。エーリキア症、アナプラズマ症の診断については、エーリキアの TaqMan 法と、LAMP 法を用いたエーリキア・アナプラズマ・つつが虫病・紅斑熱群リケッチアの簡易診断法の確立が望まれる。また日本紅斑熱の重症例の迅速診断法の確立のため、患者組織の免疫染色法の特異性の向上が不可欠である。それにはモノクローナル抗体の追加検討ならびに遺伝子検出法や、免疫電顕法を用いた感染細胞の観察での実証が必要と考えられる。

予防・治療法の研究としては、今後、重症度を層別化し、特定のサイトカイン変動との関連性について検討可能な前段階に達したと考えられる。患者の臨床病態の検討を臨床例の収集とともにさらに詳細に解析をすすめる必要がある。日本紅斑熱の感染実験は、抗体の特異性向上や、感染実験動物の選択等が今後の課題である。

E. 結論

リケッチア感染症の実態解明と早期診断体制の確立、早期警鐘システム構築のための検討を行った。本年度着手したリケッチア感染症の疫学的研究、検査・診断研究、予防・治療研究をさらに進める必要がある。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

各分担研究者の発表を参照されたい。

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

Ⅱ. 分担研究報告書

平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)
リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築
分担研究報告書

リケッチアのベクターとその保有病原菌型の多様性に関する実態調査

分担研究者	高田伸弘	(福井大学医学部 助教授)
研究協力者	藤田博己	(大原研究所 主任研究員; 分担研究者)
	田原研司	(島根県保健環境科学研究所 専門研究員; 分担研究者)
	川端寛樹	(国立感染症研究所 室長; 分担研究者)
	山本正吾	(宮崎県衛生環境研究所 科長; 分担研究者)
	安藤秀二	(国立感染症研究所 主任研究官; 分担研究者)
	矢野泰弘	(福井大学医学部 助手)
	石畝 史	(福井県衛生環境研究センター 主任研究員)
	御供田睦代	(鹿児島県環境保健センター 主任研究員)
	及川陽三郎	(金沢医科大学医学部 助手)
	高野 愛	(岐阜大学連合大学院 院生)

研究要旨

本事業の目的は“リケッチア感染症の早期警鐘システムの構築”であり、その基盤の一つとして、我国における病原リケッチアのベクター(マダニおよびツツガムシとその宿主動物)の分布範囲と頻度、またそれが保有するリケッチア菌型の多様性について実態を調べることが我々の分担研究の目的である。そこで次の4項目を設定して調査を開始したので、各々の結果を順に要約する。

①特定地域でのリケッチア症ベクターの調査：福井県奥越地方での欧州共通 *R. helvetica* 症例の発生要因の裏づけとしてヒトツツゲマダニを主とした感染環が証明された。また、日本紅斑熱 *R. japonica* のベクターの北限推定は甲信越から東北南部で継続中、他方、新たな紅斑熱多発地と目される紀伊半島東部の志摩半島におけるベクター調査でも示唆的な結果を得つつある。②不特定地域からのベクターや病原菌型のデータ：今年度中に分担者へ相談あったマダニ刺症例は様々であるが、中には我国で新規の紅斑熱群菌種を検出した例もあった。③GISによるベクターリスクマップ作成：特徴的な分布相を示すタテツツガムシなどをモデルとして試作の準備に入った。④東アジアと我国の共通リケッチア症：今年度は、タイ北部で稀有な薬剤耐性例を含む患者の多発を確認し有熱患者の血清も入手、またネパールでは中国から日本まで共通する新規紅斑熱群菌種を検出した。

以上、今後もこれら項目に成果を集積することで、ベクターサイドからリケッチア症への警鐘に資する情報発信を行う目処がついた。

A. 研究目的

本事業全体の目的は“リケッチア感染症の早期警鐘システムの構築”であり、その基盤の一つとして“ベクターの実態調査”が行われるが、その意味するところは以下の通りであろう。

- 我国における病原リケッチアのベクター（マダニおよびツツガムシとその宿主動物）の分布範囲と頻度、またそれが保有するリケッチア菌型の多様性について実態を調べる。
- 実態調査ということの意味は、例えば、ダニ類やリケッチアが分布すると言われる地域でも真の病原種の詳細は不明であったり、まして潜在するものは発掘しない限り自ら顕在化することは少ない、そういった面を現地踏査により明らかにすることである。
- これら知見を地域ごとの発症頻度と併せ地理情報システム（以下 GIS）によるリスクマップ作成にこぎつけるならば、早期警鐘のツールとしても有用と信じられる。
- 逆に、こういった調査を進めることが種々の方法論の改善につながり、結果的に実態把握を容易にさせることもあるだろう。
- なお、国内でみるベクターや菌型はユーラシア全体でも共通性が多いため、アジアのキーエリアで調査を行うことは我国の実態を顧みるに良いことで、また多彩な感染症に忙殺される各国の代役を果たすことになる。

B. 研究の方向と方法

上記の目的ないし願望に関わらず、ベクターのデータ取りが広過ぎても実態把握に遠いだろうし、かと言って既存資料の大雑把な解析だけでは実態不明に終わると思われる。そこで的を絞ったデータ取りに疫学情報の解析も織り交ぜた次の4つの項目に集約し、年度ごとに成果を単純集積してゆくことで、ベクターサイドからの情報発信を行うこととしたい。

1. 特定地域でリケッチア症ベクターの調査
 - 1) 欧州共通 *R. helvetica* 感染環の実態

- 2) 日本紅斑熱 *R. japonica* ベクターの北限推定

- 3) 紀伊半島におけるリケッチア症ベクターの実態

2. 不特定地域からのベクターや病原菌型のデータ集積

3. GIS によるリケッチアのベクターリスクマップの試作

4. 東アジアにおける我国共通リケッチア症の疫学（海外調査）

上記を具体化するため、分担者の地元や得意フィールドを中心に問題点を調査、また不特定の地域から集まるマダニ刺症を解析、さらに一定のモデル設定でGISによるベクターリスクマップを試作する準備、加えて、東アジア諸国での現地調査を行う。

これら調査における方法は分担者らの従来のものに準じるため細かな記載は割愛するが、多用する手技だけ確認するならば、ダニ類や野鼠からのリケッチア DNA の検出は自動核酸抽出装置ないし市販キットにより、PCR は *gltA* ないし 17Kda の検索にて産物の塩基配列をシーケンスすることによった。可能な場合は、継代細胞への接種による生菌分離も試行した。

C. 研究結果と考察

実際に行われた調査項目は複数かつ互いに異質な面もあるほか、今年度中の進捗度が完了から継続中や着手どまりまで様々であるため、読者の分かり易さを考え、項目ごとに結果と考察を併せて記述することにした。なお、図表中で種々に略記してあるマダニや野鼠の学名および和名は次の通りである。

Im: *Ixodes monospinosus* ヒトツツゲマダニ In:

I. nipponensis タネガタマダニ

Io: *I. ovatus* ヤマトマダニ

Ip: *I. persulcatus* シュルツェマダニ

Hf: *Haemaphysalis flava* キチマダニ

Hj: *H. japonica* ヤマトチマダニ

Hh: *H. hystrix* ヤマアラシチマダニ

Hl: *H. longicornis* フタトゲチマダニ

Dt: *Dermacentor taiwanensis* タイワンカクマダニ

As: *Apodemus speciosus* アカネズミ

Aa: *A. argenteus* ヒメネズミ

1. 欧州共通 *R. helvetica* 感染環の実態調査のため福井県モデルの解析 (表1, 2)

2004年に我国初の *R. helvetica* 症例感染地とされた荒島岳 (標高1,573m) は福井県奥越地方 (大野市) の豪雪地帯で、標高1,000m内外までは Im が、それ以上では Ip が優占し、チマダニ属は数100mほどの高度帯が主である。そして Im からは PCR にて *R. helvetica* と遺伝的同一性100%の紅斑熱群リケッチア種 (以下、SFGR) が高率に検出され、生菌分離も頻度高いものがあった。同様 *R. helvetica* あるいは *R. japonica* と近縁なものは Io、Ip ほかチマダニ属からも少数は検出されているが、生菌分離されたものは全くない。したがって、2004年に報告された *R. helvetica* 感染症例はこの地区で Im により媒介されたことが最もあり得るかと思われた。ただ、ヒト嗜好性がより強い Ip による可能性もなしとしない。いずれにしろ、これら事実から推して、福井県以外の各地 (北~中日本ないし西日本の山地など *Ixodes* 属生息地) でも類似の感染環が存在して *R. helvetica* の症例が潜在する可能性には留意したい。

2. 日本紅斑熱 *R. japonica* ベクターの北限につき甲信越から東北南部の調査 (図1、表3)

R. japonica を保有するベクターマダニが中日本から北日本にかけてどういった範囲にどれだけの頻度で生息するか否か推定するため、今年度は甲信越から東北南部の9地区でマダニを採集して検査に供した。甲信越は平地でも平均標高が500mあり、また東北も北国環境であるため、チマダニ属の採集を期して夏季としたが、大部分がマダニ属に終わった。もっとも、チマダニ属が少な目であるという事実自体が *R. japonica* の頻度が高くない傾向を暗示するかも知れない。いずれにしろ遺伝学的検索は継続中で、ある率では PCR

陽性であったのでシーケンスまで進めて判断したい。この調査は、上記の *R. helvetica* の浸淫度などとも無関係でなく、要は様々なマダニ種による媒介の可能性を検索することで、我国の SFGR の地理的分布や密度の勾配を推定し、もって患者発生リスク頻度の予察に寄与したい。

3. 紀伊半島の紅斑熱ベクターの実態調査に関連し新たに志摩半島での検索 (図2、表4)

紀伊半島西側の和歌山県紀南地方 (田辺市以南) ではツツガムシ病の多発と日本紅斑熱の散発が知られていたが、東側の志摩半島でも昨夏から紅斑熱が初確認され、未確認ないし潜在する症例は相当数にのぼることが言われるに至った。分担者らは、現地関係者から調査の依頼もあり秋季2回現地踏査を行ったが、現地は四国南岸の紅斑熱浸淫地域と同様の照葉樹林が多い植生であること、また伊勢神宮林という永く保存された森林など環境条件は十分に紅斑熱タイプ (?) とみなされた。得られたマダニ相も四国南岸と同様で暖帯性のものであった。現在継続中の PCR 検査でも SFGR 陽性個体を含むことが分かったので、野鼠も併せて多くの個体についてシーケンスまで進む予定で、これによりベクターサイドから本地域の SFGR 浸淫度を裏付け得ると思われる。

4. 不特定地域におけるマダニ刺症例 (病原菌型含む) の集積 (表5)

今年度、臨床畑から随時コンサルテーション (分担者が積極的に収集したのでなく) のあったマダニ刺症例をまとめた。全体に関東から中国四国での発生分で占められてフタトゲチマダニやタネガタマダニが多かったが、受診地と異なる旅行先で寄生を受けた例や豪州で寄生を受けた輸入例もあった点は近年の広域化の傾向を示している。特筆すべきは埼玉県 (実際の寄生は高知県らしい) の有熱患者に寄生していたタネガタマダニで、回収できた飽血生虫体から PCR にて紅斑熱群リケッチア (In56; 欧州のものと同じ) が検出されたことは、病原性の有無など含めて更に検討を要すると思われる。

5. GIS によるベクターリスクマップ試作のた

めタテツツガムシをモデルに準備 (図3)

一口に、膨大かつ多様なベクター情報を一気にGISに乗せて症例発生状況とさえリンクさせた形でリスクマップを作ることは相当に煩雑な作業で、実際的な有用性の保障もあるわけでない。そこで、分布が東北中部から九州まで散在性ながら局所ごとには生息密度が濃い特性を示すタテツツガムシをモデルとしてマップ試作を目指すことにした。これなら、全国に遍く濃く分布し過ぎる有力ベクターのフトゲツツガムシを対象とするよりもマップ作成が容易で、試作には向くと思われる。並行して、マダニについてもモデルの設定を考えるが、これらマップ作成に当たっては地理水平分布のみならず垂直分布の両も考慮すべきであろう。作成に必須のGIS対応ソフトについては、最終班会議の場で説明のあった市販品も含め、種々導入を検討中である。なお準備途上で分かったこととして、タテツツガムシは従来知られた以上に各地に広く分布して患者発生に関与し得るらしいことを指摘しておきたい。

6. 東アジアにみる我国共通リケッチア症に関しタイとネパールの調査 (図4、表6、表7)

2006年12月前半に、分担者の高田と藤田がタイおよびネパールへ渡航して、各々の地域で疫学調査 (症例検討と血清収集) および採集調査 (ベクター採集と病原体検査) を行った。

<タイ北部 (12月7~9日)>

- ・最北部チェンライ市の Chiangrai Prachanuchroa Hospital ではスタッフの大半がツツガムシ病を経験、雨季を中心に年間100例超が来院するという。チェンマイで1990年代に発生報告のある紅斑熱への認識は低かった。現在、同地域でのリケッチア症発生統計の作成を依頼している。
- ・同市では世界唯一の抗生剤耐性ツツガムシ症例の報告があり、それに関わった Dr. Kantipon (現在は、Chiangrai Regional Hospital) に接触して研究の経緯を確認した。
- ・チェンマイ大学病院および周辺地域の外来有熱患者の血清 (チューブ保存250名およびろ紙吸

着1,352名) を収集できた。このうちマダニ刺症経験を言う47名につきリケッチア抗体検査 (日本産抗原で交差性) を行ったが、*R. japonica* に全く反応ないものの、0tは様々な反応し広い感染の存在が示唆された。

- ・チェンライ市周辺2ヶ所およびチェンマイ市周辺3ヶ所の自然環境でマダニや野鼠の採集を試みたが、乾季とは言え異常高温と乾燥、さらに調査地区で大きな催事が重なり目的のフィールドへ進入が規制されるなど、種々の障害で採集は不本意な結果に終わった。

<ネパール中部 (12月10~13日)>

- ・ネパール医大微生物学研究室および国立熱帯病研究所における聞き取りで、同国にもリケッチア症が潜在することが強く示唆された。しかし、関係の調査は皆無に近いことも分かったので、今後の医療機関での検索体勢の整備および疫学調査の共同につき協議した。
- ・カトマンズ市周辺の山野2ヶ所と市内1ヶ所でマダニや野鼠の採集を試み、雨天ながらも目当てとしたヤマトマダニなどほどほどに採集できた。リケッチア検索として、生菌分離はすべて陰性であったがDNA検索は継続中であり、今のところ観光地ナガルコットのチマダニ属から1例検出できた。これはシーケンスによれば、フランスのラオ研究室から報告されたヤマトチマダニ由来 *Candidatus Rickettsia principis* あるいは中国産の *R. heilongjiangensis* とごく近縁であることが分かった。このことはリケッチア属の系統がネパール~中国~日本と繋がることを示すデータの一つとなろう。

<両国の総括>

- ・公衆衛生ないし疫学上からは、タイではエイズ、マラリア、デング熱など、ネパールでは結核、栄養失調などが大きな問題であるため、リケッチア感染症には必ずしも注意が向かないのが実情らしい。しかし、広義のリケッチア症発生を合算すればけっして希少感染症と言えない状況は確かで、その辺の疫学と臨床のバランス

の取り方が問題であろう。

- ・タイ北部に限っても想定以上のツツガムシ病発生があること、また想定外の抗生剤耐性例などを考えると、我国で今後ますます増える海外旅行や労働者流入の現状において、輸入症例の増加は改めて認識すべきと思われた。

D. 結論

以上のように間口広く開始された調査であるため、予想されたことながら、検査や資料整理が間に合わなかった部分は少なくない。しかし、反面で問題認識のアンテナは広く張ることができたと考えられ、実際、分担者や関係者も予想できなかった質や量で問題が存在することを知った。これらの点、後追いになったとしても知見の集積に努めるならば、それなりの成果を得られよう。なお、今年度の試行から導かれる次年度の課題はおよそ次の通りと考える。

- ・荒島岳周辺の SFGR は更に詳細に調べ、垂直分布相や保菌動物も解明する。
- ・*R. japonica* の分布北限の調査は、東北南部の分布を整理した上で中部～北部へ向う。
- ・三重県の紅斑熱ベクター調査を重ね、もって紀伊半島全体の実態解明に資する。
- ・タテツツガムシおよび一定のマダニ種をモデルとして GIS によるマップ試作を開始する。
- ・タイ、ネパールの資料整理や試料解析により我国のリケッチア症調査に対する示唆を得る一方、日本列島に至近の韓国（済州島が中心）での調査に移る。

E. 健康危険情報

- ・我国では日本紅斑熱に加え、*R. helvetica* 等の感染が各地に潜在し得ること。
- ・三重県志摩半島は紅斑熱群の新たな多発地であるらしいこと。
- ・タテツツガムシは従来知られた以上に各地に広く分布し患者発生に関与するらしいこと。
- ・東アジアと日本には共通リケッチアが多々あり、輸入症例にも留意すべきこと。

F. 研究発表（リケッチア関連分）

論文発表

1. Fournier P-E, Takada N, Fujita H, Raoult D. *Rickettsia tamurae* sp. nov. isolated from *Amblyomma testudinarium* ticks. Int J Syst Evol Microbiol., 56: 1673-1675, 2006.
2. Fujita H, Fournier P-E, Takada N, Saito T, Raoult D. *Rickettsia asiatica* sp. nov., isolated in Japan. Int J Syst Evol Microbiol., 56: 2365-2368, 2006.
3. 渡邊晴二, 長谷井麻希, 藤田 純, 足立浩樹, 石崎 宏, 及川陽三郎, 高田伸弘. 生息実態調査を施行した恙虫病の1例. 皮膚科の臨床 (0018-1404). 48: 8, 1075-1079, 2006.
4. 御供田睦代, 石谷完二, 吉國謙一郎, 上野伸広, 新川奈緒美, 藏元 強, 本田俊郎, 川端寛樹, 藤田博己, 角坂照貴, 田原研司, 丸山総一, 矢野泰弘, 高田伸弘, 宮田義彦. 鹿児島県内の野鼠及びダニ類からの病原体検索-2005年度調査から-. 鹿児島県環境保健センター所報, 7: 68-71, 2006.
5. 田原研司, 保科 健, 板垣朝夫, 藤田博己, 角坂照貴, 矢野泰弘, 高田伸弘. 島根県における日本紅斑熱とつつが虫の発生状況および疫学的特徴. 病原微生物検出情報, 27: 2, 7-8, 2006.
6. 高田伸弘, 石畝 史, 藤田博己. 福井県で初めて確認され血清学的に *R. helvetica* 感染が示唆された症例. 病原微生物検出情報, 27: 40-41, 2006.
7. 高田伸弘. ツツガムシ病. 化学療法の領域, 22: 57-64, 2006.
8. 藤田博己, 高田伸弘. マダニ類から検出されたリケッチアにみる媒介種と病原体の多様性. ダニと新興再興感染症. 全農協 SADI 組織委員会編. p.129-139, 2007.
9. 高田伸弘, 矢野泰弘, 伊藤拓也, 石畝 史, 藤田博己, 宇津木敏宏. 群馬県におけるツ

- ツガムシの分布調査—ツツガムシ病発生相と関連して—。大原年報, 2006. (印刷中)
10. 矢野泰弘, 田原研司, 保科 健, 板垣朝夫, 藤田博己, 角坂照貴, 川端寛樹, 高田伸弘. 島根県におけるツツガムシの分布調査—ツツガムシ病発生相と関連して—。大原年報, 47: 2007. (印刷中)
 11. Fujita H, Takada N, Kawabata H, Yamamoto S, Oikawa Y, Yano Y, Oh H-S, Ma X-H. Some suggestive records of rickettiae isolated from ticks in Korea and central China. Ann. Rep. Ohara Hosp., 47: 2007. (印刷中)
 12. Takada, N., Fujita, H., Ishiguro, F., Yano, Y., Ma, X-H. and Oh, H-S. Records of ticks collected in Asian continent and some islands of Japan around East China Sea. Ann. Rep. Ohara Hosp., 47, 2007. (印刷中)

学会発表

1. 高田伸弘. 特別講演: ユーラシアにおけるマダニ媒介感染症のフィールドから. 第 43 回レプトスピラシンポジウム, 2006, 3, 石川.
2. 及川陽三郎, 池田照明, 矢野泰弘, 高田伸弘. 2005 年における石川県能登半島を中心としたツツガムシ病およびマダニ媒介性疾患の基礎調査. 第 58 回日本衛生動物学会大会, 2006, 4, 長崎.
3. 石畝 史, 高田伸弘, 矢野泰弘, 藤田博己. 福井県の紅斑熱群リケッチア症、特に患者発生地でのベクター調査について. 第 58 回日本衛生動物学会大会, 2006, 4, 長崎.
4. 田原研司, 板垣朝夫, 藤田博己, 角坂照貴, 矢野泰弘, 高田伸弘, 川端寛樹. 島根県産アカネズミ寄生個体に基づくタヌキマダニ幼虫期確定. 第 58 回日本衛生動物学会大会, 2006, 4, 長崎.
5. 高田伸弘. 特別講演: 新興再興感染症のリケッチア症とライム病—大陸から列島への道—. 第 13 回びわ湖国際医療フォーラム, 2006, 7, 大津.
6. 石畝 史, 東方美保, 藤田博己, 高田伸弘, 矢野泰弘. 福井県の紅斑熱群リケッチア症発生地におけるベクターの探索. 日本獣医公衆衛生学会 (中部), 2006, 8, 越後湯沢町.
7. 及川陽三郎, 高田伸弘, 矢野泰弘, 村主節雄, 松岡裕之. 最近経験したマダニ刺症例の検討. 第 61 回日本衛生動物学会西日本支部大会, 2006, 11, 長久手町.
8. 石畝 史, 高田伸弘, 矢野泰弘, 藤田博己. 福井県荒島岳のマダニにおける紅斑熱群リケッチアの探索. 地方衛生研究所東海・北陸ブロック微生物部会, 2007, 2, 富山県射水市.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし。
2. 実用新案登録
該当なし。
3. その他
該当なし。

表1 福井県の*R. helvetica* 症例確認地周辺におけるマダニ保有SFGRの検索

調査地区 採集標高(m)	未寄生マダニ					
	Im	Io	Ip	Hf	Hj	Dt
1. 荒島岳 400-1200	11♂20♀	17♂21♀	15♂37♀3N	6♂10♀5N	1♂4♀4N	1♂1♀
分離	8	-	-	-	-	-
PCR	14	3	11	5	2	-
2. 赤兎山1000	なし	2♂1♀	なし	なし	なし	なし
分離		-				
PCR		1				
3. 白山(白峰) 800	なし	1♂3♀	1♀	なし	1♂	なし
分離		-	-		-	
PCR		3			1	
4. 国見岳500	なし	5♂11♀	なし	2♂4♀	なし	なし
分離		-		-	-	-
PCR		1		1		

なし：試料ないもの一切 -：陰性

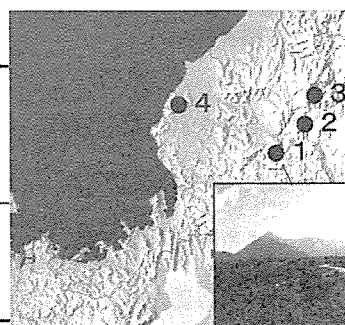
表2 福井県の*R. helvetica* 症例確認地周辺で検出されたSFGRのシケンス

荒島岳(同症例の確認地区)

	標準株			分離株 株数	PCR検出株										
	Rh	Rj	Ra		Im	Io	Ip			Hf			Hj		
				3	13	4	8	1	1	2	1	2	1	2	1
Rh	-	95.3	99.4	100	100	100	100	99.7	99.1	100	95.9	94.7	97.1	100	94.7
Rj	95.3	-	95.9	95.3	95.3	95.3	95.3	95.0	96.2	95.3	98.5	99.1	97.4	95.3	99.1
Ra	99.4	95.9	-	99.4	99.4	99.4	99.4	99.1	98.5	99.4	96.5	95.3	97.1	99.4	95.3

赤兎山、白山、国見岳

	標準株			PCR検出株				
	Rh	Rj	Ra	地区 株数	Io			Hf 国見岳
					赤兎山	白山	国見岳	
				1	1	1	1	1
Rh	-	95.3	99.4	100	100	99.7	100	94.7
Rj	95.3	-	95.9	95.3	95.3	95.0	95.3	99.1
Ra	99.4	95.9	-	99.4	99.4	99.1	99.4	95.3



塩基配列の相同性は%で示す

荒島岳

図1 甲信越～東北南部におけるSFGR、特に*R. japonica* 分布の検索地域 (2006年度分)

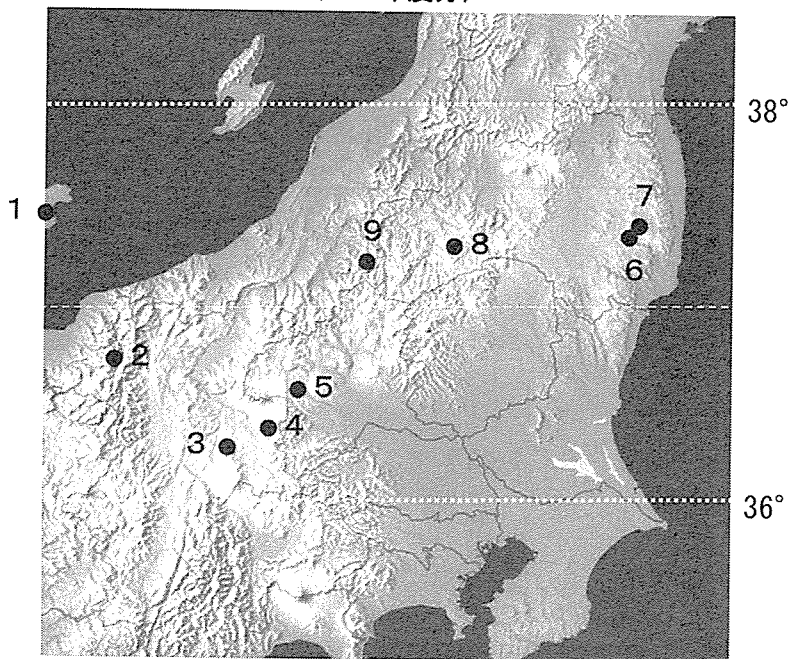


表3 甲信越～東北南部におけるSFGR、特に*R. japonica* の検索(2006年度分)

調査地 年月	未寄生マダニ			野鼠類	
	<i>I. ovatus</i>	<i>I. persulcatus</i>	<i>H. flava</i>	<i>A. speciosus</i>	<i>A. argentus</i>
石川県					
1. 中能登06?	なし	なし	2N	なし	なし
分離			-		
PCR			2		
長野県					
2. 小谷村榎池060718	2♂3♀	なし	なし	なし	なし
分離	-				
PCR	?			?	?
3. 佐久市美笹060603	なし	なし	なし	?	?
4. 軽井沢町八風060604	なし	なし	なし	?	?
群馬県					
5. 霧積060814	6♂1♀	1♀	なし	なし	なし
PCR	?	?			
福島県					
6. あぶくま洞上部060811	4♀	なし	1♂1♀2N	なし	なし
PCR	?		?		
7. 大滝根山中腹060812	5♂4♀	なし	1♂	なし	なし
PCR	?		?		
8. 田島町駒止峠060812	2♂2♀	なし	なし	なし	なし
PCR	?				
9. 南魚沼市湯之谷060813	3♂1♀	1♂3♀	なし	なし	なし
PCR	?	?			

? : PCR継続中 なし : 試料ないもの一切 - : 陰性

図2 紀伊半島および近隣地域でのリケッチア症発生概況

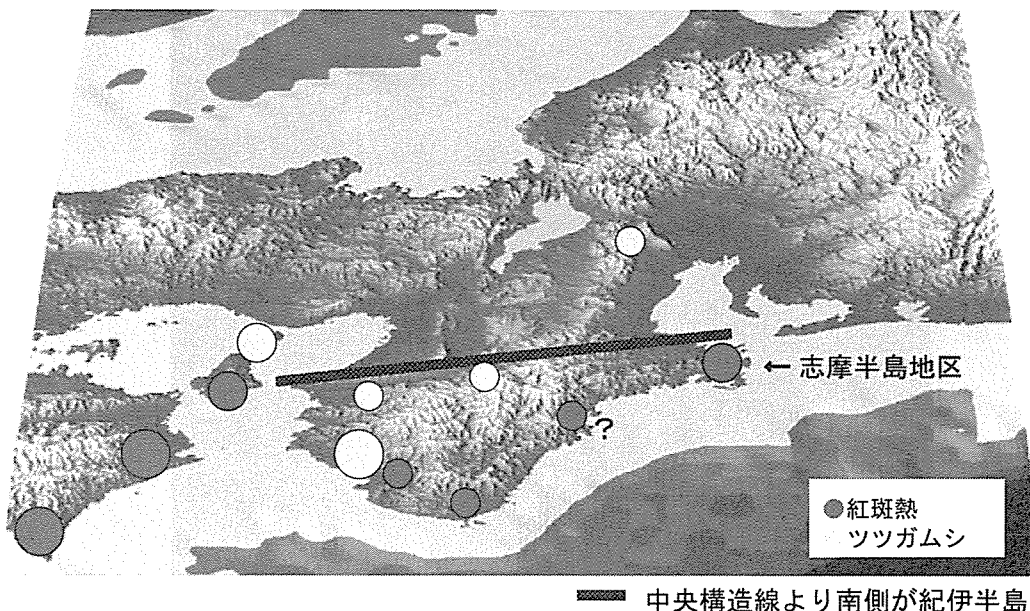


表4 三重県志摩半島(主に伊勢市)におけるSFGR検出の試み(2006年度分)

協力: 三重大学医学系研究科、山田日赤病院、津保健福祉事務所、伊勢保健福祉事務所、神宮支庁

調査地 年月	未寄生マダニ				野鼠と寄生マダニ	
	<i>A. testudinarium</i>	<i>H. flava</i>	<i>H. hystricis</i>	<i>H. longicornis</i>	<i>A. speciosus</i> & <i>D. taiwanensis</i>	
神宮林060928	1N	1N	6L	なし	2♂1♀	38L
分離	—	—	—		ND	ND
PCR	?	?	?		?	ND
朝熊岳北麓060928	なし	8L	なし	1N8L	6♂2♀	2L
分離		—		—	ND	ND
PCR		?		?	?	ND
磯部町061110	なし	5♂3♀9N	なし	なし	なし	なし
分離		ND				
PCR		?				

?:PCR継続中 なし:試料ないもの一切 —:陰性 ND:実施せず

図3 タテツツガムシの地理的分布



表5 高田研究室へコンサルテーションあったマダニ刺症例 (2006年度分)

年月	依頼者	発生地や環境	年齢・性	認識	同定
1. 0604	福山市小児科	福山市	1歳男	虫の吸着	<i>H. longicornis</i> ♀未飽血
2. 0605	自治医大皮膚科	さいたま市 (実際は高知県)	76歳男	マダニ刺症	<i>I. nipponensis</i> ♀飽血 *有熱患者からの回収生虫体よりPCRにてIn56 (= <i>Rickettsia</i> sp. IrITA2) 一致のDNAを検出
3. 0606	防衛医大衛生学	埼玉県上尾市	94歳男	マダニ刺症	<i>H. longicornis</i> ♀飽血
4. 0606	田辺市私立病院	和歌山県日置川町	39歳女	ダニ刺症	?
5. 0607	香川大学皮膚科	高松市	? 男	虫の吸着	<i>H. longicornis</i> ♀未飽血
6. 0607	"	高松市 (同一人に2個体)	81歳男	背の紅斑	<i>I. nipponensis</i> 2♀未飽血
7. 0607	高松市皮膚科	高松市 (実際は北海道)	42歳男	マダニ刺症	<i>I. persulcatus</i> ♀飽血
8. 0607	"	"	76歳男	ダニ刺症	<i>H. longicornis</i> ♀飽血
9. 0608	富山市駆除業者	富山市	? 男	ダニ刺症	<i>H. longicornis</i> ♀
10. 0609	高松市整形外科	高松市	? 女	ダニ刺症	<i>A. testudinarium</i> ♀飽血
11. 0609	宇都宮市クリニック	栃木県栃木市	39歳男	虫刺され	<i>I. ovatus</i> ♀飽血
12. 0701	神戸日赤外科	オーストラリア帰り	36歳男	黒子	<i>I. holocyclus</i> ♀飽血