

表1 患者および野ネズミから検出した *Orientia tsutsugamushi* 56kDa 蛋白遺伝子解析による血清型別

検体コード	検体種類	採取地域 (患者にあっては推定感染地域)	血清型*
SR-62-00	血餅	島根県島根半島	Gilliam型 (JG)
SR-1-00	血餅	島根県東部	Karp型 (JP-2)
SR-61-01	血餅	島根県東部	Karp型 (JP-2)
SR-64-01	血餅	島根県東部	Karp型 (JP-2)
SR-47-02**	血餅	島根県東部	Karp型 (JP-2)
SR-7-06	血餅	島根県東部	Karp型 (JP-2)
42-04 rodent Shimane	脾臓	島根県東部	Karp型 (JP-2)
55-04 rodent Shimane	脾臓	島根県東部	Karp型 (JP-2)
5-05 rodent Shimane**	脾臓	島根県東部	Karp型 (JP-2)
3-06 rodent Shimane	脾臓	島根県島根半島	Gilliam型 (JG)
4-06 rodent Shimane	脾臓	島根県島根半島	Gilliam型 (JG)
7-06 rodent Hiroshima	脾臓	広島県東部	Karp型 (JP-2)
4-06 rodent Ehime	脾臓	愛媛県中部	Karp型 (Saitama)

\*血清型: Nest Primer (10/11領域)のシーケンス解析による  
 Primer10: 5'-gATCAAgCTTCCTCgCCTATAATgCC-3'  
 Primer11: 5'-CTAgggATCCCGACAgATgCACTATTAggC-3'

\*\* : 分離済み

表2 患者および野ネズミからの *Rickettsia japonica* の分離例

検体コード	患者	検体種類	採取地域 (患者にあっては推定感染地域)
SR-148-97	患者	血餅	島根県島根半島
SR-82-00	患者	血餅	島根県島根半島
SR-83-00	患者	血餅	島根県島根半島
2019 rodent Shimane	アカネズミ	脾臓	島根県島根半島
2013 rodent Shimane	アカネズミ	脾臓	島根県島根半島
2024 rodent Shimane	アカネズミ	脾臓	島根県島根半島
2037 rodent Shimane	アカネズミ	脾臓	島根県島根半島
5-06 rodent Shimane	アカネズミ	脾臓	愛媛県中部

分離確認: 17kDa蛋白遺伝子 (Primer R1/R2領域) の塩基配列を確認 (*R. japonica* YH株と一致)

Primer R1: 5'-TCAATTTCACAACTTgCCATT-3'

Primer R2: 5'-TTTACAAAATTCATAAAACC-3'

表3 2006年に広島県東部地域で捕獲した野ネズミの*Orientia tsutsugamushi*および  
*Rickettsia japonica*に対する抗体保有状況

検査法：IP法(IgG)

種類	検査検体数	使用抗原	IP抗体価 ( IgG )											陽性率(%)		
			陰性(<10)	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560				
アトネズミ		<i>O.tsutsugamushi</i> Karp株	27		1					1						6.9
		<i>O.tsutsugamushi</i> Gilliam株	29													0
		<i>O.tsutsugamushi</i> Kato株	29													0
		<i>O.tsutsugamushi</i> Kawasaki株	29													0
		<i>O.tsutsugamushi</i> Kuroki株	28							1						3.4
		<i>R.japonica</i> YH株	9		3	5	7	3	1	1	1	1	1	1	68.9	

表4 広島県・瀬戸内海島嶼・愛媛県におけるマダニ相

種 類	広 島 県	瀬戸内海島嶼*	愛 媛 県	愛媛県宇和島市**
ツバヒメダニ	○			
タカサゴキアラマダニ	○	○	○	○
タイワンカクマダニ			○	○
オウシマダニ	○			
ツチマダニ			○	
ツリガネチマダニ	○			
キチマダニ	○	○		○
タカサゴチマダニ	○	○	○	○
ヤマアラシチマダニ	○	○	○	○
ヒゲナガチマダニ	○	○	○	○
フタゲチマダニ	○	○	○	○
オトゲチマダニ	○	○	○	○
ヒトツゲチマダニ	○		○	○
タネガチマダニ	○		○	○
ヤマトマダニ	○		○	○
シュルツェマダニ			○	○
ゴウモリマダニ	○		○	○
タヌキマダニ	○		○	○
アカロココマダニ	○	○	○	○
ゴウモリアシナガマダニ			○	
クロイロコイタマダニ	○		○	

採取方法：旗ざり法および宿主(ほ乳類、鳥類、ほ忠類)から捕集

○：棲息を確認

\*瀬戸内海島嶼：向島、因島、生口島、高根島、大三島、伯方島、大島  
 \*\*愛媛県宇和島市：宇和島市内、宇和海島嶼(日振島、嘉島、戸島、九島)

表5 マダニ類からの *Rickettsia japonica* の検出

採集地域	採集年	種 類	分離株数	PCR検査*		
				検査数	陽性数	陽性率(%)
島根県島根半島	1999~2005年	フタトゲチマダニ	NT	498	16	3.2
島根県島根半島	1999~2005年	ヤマトマダニ	NT	117	2	1.7
広島県東部(尾三)地域	2006年	ヤマアラシチマダニ	2	32	2	6.2
愛媛県中部地域	2006年	ヤマアラシチマダニ	1	18	1	5.6
愛媛県南部(宇和島)地域	2006年	ヤマアラシチマダニ	6	65	16	24.6

\* *Rickettsia japonica* 特異遺伝子 (17kDa蛋白遺伝子Primer Rj5/Rj10 領域) の検出  
 Primer Rj5:5'-CgCCATTCTACgTTACTACC-3'  
 Primer Rj10:5'-ATTCTAAAAAACCATATACTg-3'

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

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

分担研究者 倉田毅 (富山県衛生研究所 所長)

研究協力者 小原真弓 渡辺護 堀元栄詞 岩井雅恵 長谷川澄代 滝澤剛則  
(富山県衛生研究所)

### 研究要旨

富山県内で流行しているつつが虫病の状況について把握することを目的に、野生げっ歯類とツツガムシの調査を行った。つつが虫病流行地の野生げっ歯類からは、つつが虫病リケッチア Kato 型と Karp 型に対する抗体が検出され、これら病原体の存在が示唆された。つつが虫病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ており、患者発生の要因となっていると考えられた。さらに、近年全国的に患者が増加している日本紅斑熱の媒介者であるマダニ類の調査を行ったところ、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。

### 研究目的

富山県においては、1978 年の患者確認以来、毎年つつが虫病の発生がみられている。流行は黒部川扇状地に集中しているが、その他の地域でも散発することがある。日本紅斑熱については、県内の患者の発生はないものの、近年、国内の患者は増加傾向にあり、発生が危惧される。

そこで、これらリケッチア感染症の県内の浸淫状況を調査するため、県内各地の野生げっ歯類を捕獲し、外部寄生虫と抗体保有状況について調査した。また、日本紅斑熱を媒介するマダニ類の分布調査を行った。

### 研究方法

野生げっ歯類：港湾地区と丘陵部、山岳地域の野生げっ歯類を捕獲対象とし、2006 年 6 月から 12 月の間、生け捕り法（網籠トラップ、シャーメントラップ）で捕獲した。分類計測後採血、剖検を行い臓器試料を保存した。さらに、水盤の上でネズミを 1 週間吊るし、ネズミから離脱する外部寄生虫の分類計数を行った。また、野生げっ歯類の血清について、間接蛍光抗体法にてつつが虫病リケッチアの Kato 型、Karp 型、

Gilliam 型に対する抗体の保有調査を行った。

マダニ類：山岳部調査地点において野生げっ歯類の捕獲と同時に、マダニの生息状況を旗ずり法により調査した。さらに、低山部と丘陵部においても旗ずり法でマダニ類の捕獲を行い、分類計数後、病原微生物の検索のため保存した。

### 研究結果

野生げっ歯類：図 1 に調査地点を示す。春季の調査は昭和 50～60 年代のつつが虫病流行地の入善町墓の木と黒部川河口において 5 月に行った。他地域では庄川下流域において 5 月に、射水丘陵の牛舎において 6 月にネズミ捕獲を行った。7 月には、6 月につつが虫病と診断された小矢部市の患者の感染場所と考えられる畑地でネズミ捕獲を行った。秋季には山岳地における調査を行い、10 月に立山美女平・大観台と有峰折立・猪根平で行った。また、11 月に入善町でつつが虫病患者が発生したため、11 月と 12 月に患者宅でネズミの捕獲を行った。11 月には同時に、春に調査を行った入善町墓の木においても調査を行った。ま

た、港湾地区では11月と12月の連続1週間捕獲を行った。合計で80頭が捕獲され、そのうち2頭(2.5%)でつつが虫病リケッチアに対する抗体を保有していた(表1)。また、その血清型別はいずれもKato型とKarp型であった。県内で流行しているKawasaki型と交差反応するGilliam型に対する抗体は、全て陰性であった。

野生げっ歯類の外部寄生虫：結果を表2に示す。昆虫類はササアカネズミノミ1個体とヨーロッパネズミノミ16個体が採集された。シラミはハツカネズミジラミとアカネズミジラミが採集された。

マダニ類はカモシカマダニの若虫が入善町墓の木で、ヤマトマダニ若虫が立山美女平で採集された。種不明の幼虫は立山地域と有峰地域のみで採集された。トゲダニ類はアカトゲダニ、ネズミトゲダニ、ヒメトゲダニとイエダニが得られた。

ツツガムシ類は入善町墓の木で多数採集され、春には春型つつが虫病(Karp型)を媒介するフトゲツツガムシが最も多く採集された(513個体、54.5%)。秋には秋冬型つつが虫病(Kawasaki型)を媒介するタテツツガムシが少数採集された(13個体、3.4%)。患者が発生した小矢部市のハツカネズミからはツツガムシは全く採集されず、入善町のドブネズミからは3個体のヒゲツツガムシが採集されたのみであり、タテツツガムシは採集されなかった。山岳地の立山地域ではフジツツガムシが、有峰地域ではヤマトツツガムシが最も多数採集された。

マダニ類：3箇所の山岳地点と3箇所の丘陵・低山部で合計257個体のマダニ類を採集した(表3)。調査地点を図1に示す。ヤマトマダニが広い範囲で採集され、県内に広く分布していることが示唆された。地点別の種類構成をみると、シュルツェマダニは有峰折立の山岳地域で採集され、キチマダニは丘陵部で多数採集された(図2)。

#### 考察

つつが虫病流行地で捕獲した野生げっ歯類のうち、2個体のアカネズミが、つつが虫病リケッチアKato型とKarp型に対する

抗体を保有していた。これまでの調査により、病原性の弱いKarp型が富山県内に広く分布していることが示唆されており、今回のネズミもこのKarp型に感染していた可能性が高い。なお、6月に発生した患者からは病原体の検出はできなかったため、型別は不明であるが、Karp型抗原に対して高い抗体価を示していた。県内に広く分布している弱毒型Karp型と、患者発生の原因となるKarp型との比較を今後行っていきたい。

2006年に発生したつつが虫病患者の推定感染地域から得られた野生げっ歯類については、病原体を媒介する種類のツツガムシは付着しておらず、抗体も保有していなかった。患者推定感染地域におけるリケッチア濃度がそれほど高くないことが予想されるが、捕獲数が少なかつたせいもあると考えられ、今後も調査を継続していく必要がある。

野生げっ歯類に咬着していた外部寄生虫については、つつが虫病流行地域である入善町墓の木で多数ツツガムシが採集され、秋にはタテツツガムシが少数採集された。タテツツガムシは、当該地域における流行の主体である秋冬型つつが虫病(Kawasaki型)を媒介することで知られており、秋のタテツツガムシの発生が県内の患者発生に密接に関わっていると思われる。フトゲツツガムシは春に多く捕集され、秋にも少数捕集された。春のフトゲツツガムシの大量発生は、県内の春型つつが虫病(Karp型)感染例に関わっていると考えられる。

マダニ類は、これまでに日本紅斑熱リケッチアが検出された例のあるヤマトマダニ、キチマダニ、フタトゲチマダニが分布しており、特にヤマトマダニが県内に広く分布していることが示唆された。また、ヤマトマダニ、ヤマトチマダニ、シュルツェマダニは、紅斑熱群の一つであり福井県内で患者が発生した*Rickettsia helvetica*が検出されている種類である。捕集したマダニ類の病原体の検索については、今後行う予定である。

## 結論

富山県内各地について野生げっ歯類と外部寄生虫の調査を行い、さらにマダニ類の調査を行った。つつが虫病流行地の野生げっ歯類からは、つつが虫病リケッチア Kato 型と Karp 型に対する抗体が検出され、これら病原体の存在が示唆された。つつが虫病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ており、特にタテツツガムシは県内の患者発生の主な要因となっていると考えられた。マダニ類は、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。

## 研究危険情報

なし

## 研究発表

なし

## 知的財産権の出願・登録状況

なし



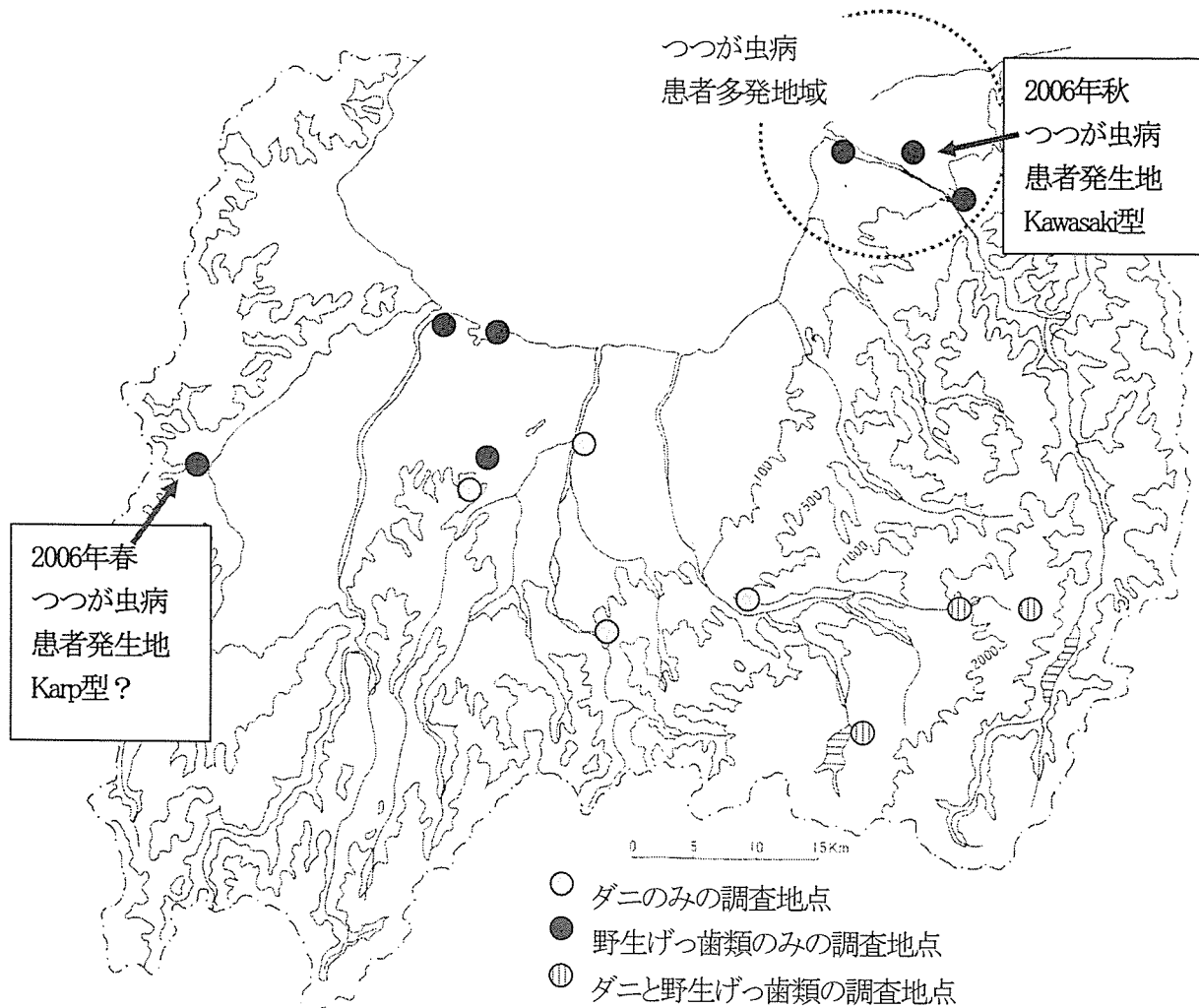


図1. 野生げっ歯類・マダニ類調査地点

表1. 捕獲した野生げっ歯類と抗体保有状況(平成18年、2006年)

調査日	地点	捕獲数	種類	つつが虫病抗体陽性頭数(%)		
				Kato	Karp	Gilliam
5月8～9日	入善町墓の木*	10	アカ10	0	0	0
5月15～16日	庄川河川敷	3	アカ3	0	0	0
5月29～30日	黒部川河口*	4	アカ4	0	0	0
6月5～7日	射水市牛舎	0	0	NT	NT	NT
6月12～14日	射水市牛舎	6	ドブ6	0	0	0
7月10～11日	小矢部市(患者発生)	2	ハツカ2	0	0	0
10月2～3日	立山	17	アカ10、ヒメ7	0	0	0
10月19～20日	有峰	24	アカ20、スミス3、ヒメ1	0	0	0
11月13～14日	小矢部市(患者発生)	0	0	NT	NT	NT
11月16～17日	入善町(患者発生)*	1	ドブ1	0	0	0
11月16～17日	入善町墓の木*	8	アカ8	2(25%)	2(25%)	0
11月27～12月8日	富山新港	3	ドブ3	0	0	0
12月12～14日	入善町(患者発生)*	2	ドブ2	0	0	0
計		80	アカ55、ドブ12、ヒメ8、スミス3、ハツカ2	2(2.5%)	2(2.5%)	0

\*はつつが虫病流行地

NT: 検査できず

表 2. 野生げっ歯類捕獲調査により得られた寄生昆虫・ダニ類(調査地点別・ネズミ種別;平成 18 年、2006 年)

採	調 査 地 点														計								
	入善町		庄川		黒部川		立山美女平		大観台		有峰		射水山本			新港		小矢部市		入善町			
	調査日	種 類	頭 数	5/8	11/16	5/15	5/29	10/2	10/2	10/2	10/19	6/13	11/27,12/7	7/10		11/16,12/12	トブ	トブ	トブ	トブ	トブ	トブ	
			6M4F	0	0	2M1F	1M3F	5M3F	4M2F	3M	9M10F1?	3M3F	1M2F	1M1F	0	7M9F	0	0	0	0	0	0	80
ミ			IM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	
シ			0	0	0	3F	1F1L	1F2L	1F2L	0	1M1F1L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	45	
			4F	1M2F	0	1F	0	0	0	0	6F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	
ダニ			0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
			0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
			0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
			0	0	0	0	0	20	2	3	2	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	30	
			13	2	1	2	7	0	0	5	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	22	0	0	0	0	1	1	25	
			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	
			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	
			0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	
			513	58	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	572	
			27	5	0	0	0	0	0	0	1	0	0	30	0	0	0	0	0	0	0	63	
			21	4	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26	
			25	49	0	0	0	33	1	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	113	
			57	6	0	0	0	6	3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	73	
			53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	53	
			135	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	138	
			3	58	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	61	
			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
			0	65	0	0	0	0	0	0	142	0	110	0	0	0	0	0	0	0	0	317	
			0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
			108	125	43	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	285	
			0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
			0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
			942	384	43	1	51	4	4	4	146	0	142	0	0	0	0	0	0	3	3	1,721	
			小計																			1,904	

ネズミ、ミ、シダミの性別別は雄を M で、雌を F で表し、I は幼虫を表す。? は不明を示す。  
 捕獲ネズミの合計 80 頭の内訳はアカネズミ 23M2F1?, ヒメネズミ 5M2F, スミスネズミ 1M1F1?, ドブネズミ 4M8F, ハツカネズミ 1M1F である。  
 ヨーロッパネズミの合計の内訳は 7M9F, ハツカネズミシダミは 2M3F10L, アカネズミシダミは 1M13F である。  
 調査地点の小矢部市、入善町はつつがむし病患者が感染したと考えられる地点でネズミの捕獲を行った。

表3. 旗ざり法によるマダニ類の捕獲成績(平成18年、2006年)

マダニの種類	調査地	富山市	立山町	富山市	富山市	富山市	立山町	富山市	立山町	富山市	立山町	計
		古洞の森 4月12日	とんがの山 4月18日	猿倉山 4月18日	鹿島町 6月1日	有峰折立 6月2日	美女平 6月12日	有峰折立 6月20日	大観台 10月3日			
ヤマトマダニ	調査日	30	1	0	0	7	5	16	1	60		
	♀											
	♂	29	3	0	0	5	3	9	0	49		
	若虫	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
シヨルツエマダニ	計	59	4	0	0	12	8	25	1	109		
	♀	0	0	0	0	2	0	2	0	4		
	♂	0	0	0	0	5	0	3	0	8		
	若虫	0	0	0	0	1	0	0	0	1		
タネガタマダニ	計	0	0	0	0	8	0	5	0	13		
	♀	1	0	0	0	0	0	0	0	1		
	♂	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	若虫	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
キチマダニ	計	1	0	0	0	0	0	0	0	1		
	♀	61	0	1	0	0	0	0	0	62		
	♂	58	0	0	0	0	0	0	0	58		
	若虫	8	0	0	0	0	0	0	0	8		
ヤマトチマダニ	計	127	0	1	0	0	0	0	0	128		
	♀	0	1	0	0	0	0	1	0	2		
	♂	0	0	0	0	0	0	1	0	1		
	若虫	0	0	0	0	0	1	2	0	3		
フタゲチマダニ	計	0	1	0	0	0	1	4	0	6		
	♀	0	0	0	1	0	0	0	0	1		
	♂	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	若虫	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
計	計	92	2	1	1	9	5	19	1	130		
	♀	87	3	0	0	10	3	13	0	116		
	♂	8	0	0	0	1	1	2	0	12		
	若虫	187	5	1	1	20	9	34	1	258		

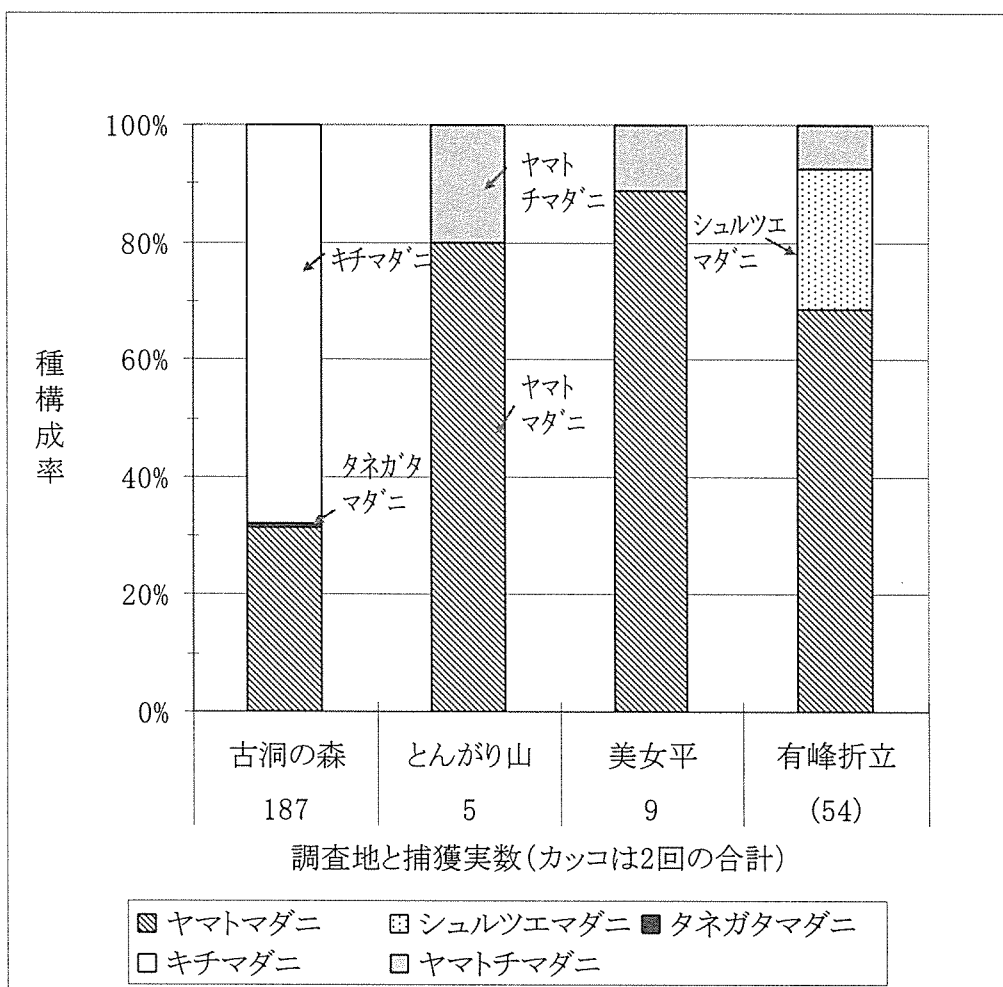


図 2. 捕獲マダニの種構成(平成 18 年、2006 年)

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

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

分担研究者 古屋由美子 神奈川県衛生研究所 専門研究員  
協力研究者 片山 丘 神奈川県衛生研究所 主任研究員

### 研究要旨

神奈川県におけるリケッチア症患者の発生状況の把握を行った。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。Gilliam 株型別 PCR に用いるプライマーの検討を行い、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。

#### A 研究目的

神奈川県では 1992 年に日本紅斑熱患者が 2 名確認されてから、日本紅斑熱患者の発生は確認されていない。一方つつが虫病は毎年数名から数十名の患者発生がみられている。神奈川県でのリケッチア症患者の発生状況を把握するとともに、つつが虫の感染株を迅速に型別するための方法を検討した。

#### B 研究方法

1) 県内のリケッチア症患者の確定診断検査材料として、神奈川県内でリケッチア症を疑う患者血液 23 検体を用いた。

つつが虫病を確定診断するための抗体の測定には、Gilliam、Karp、Kato、Kawasaki、

Kuroki 株を抗原とし、日本紅斑熱には *Rickettsia japonica* YH 株を抗原として IF を行った。また PCR により *Orientia tsutsugamsuhi* DNA および *R. japonica* DNA の検出を行った。*O. tsutsugamushi* DNA が検出された検体については型別 PCR を行った。

#### 2) 型別プライマーの検討

*O. tsutsugamushi* Gilliam 株、日本国内の野鼠から分離された JG 株 5 株を用いた。

*O. tsutsugamushi* Gilliam、Karp、Kato、Kawasaki、Kuroki 株の 5 株すべてが増幅できるプライマー 34(p34) とプライマー 55(p55) を 1stPCR 用プライマーとし、この PCR 産物を鋳型として、Gilliam 株型別プライマー

による2ndPCRを行った。プライマーは *O. tsutsugamsuhi* 型別に従来用いていた Gilliam 型別プライマーを改良した。

## C 研究結果

### 1) リケッチア症患者の発生状況

神奈川県つつが虫病患者は 15 名発生が確認されたが、日本紅斑熱患者の発生はなかった (図 1)。

IF により急性期と回復期の血清抗体価の上昇 (4 倍以上の差) および急性期の抗体検出 (IgM 抗体価が 80 倍以上) により 15 名がつつが虫病と診断された。IF で陽性であった 15 名のうち PCR で *O. tsutsugamsuhi* が検出されたものが 4 名であった (表 1)。PCR により *O. tsutsugamushi* DNA が検出された検体は型別 PCR により感染株を決定し、*O. tsutsugamushi* DNA が検出されなかった検体は IF により感染株を推定し県内のつつが虫の感染株の検討を行った。その結果 2006 年は Kawasaki 株 12 名 (80%)、Kuroki 株 3 名 (20%)、その大部分が Kawasaki 株であった (表 2)。

これら 2006 年のつつが虫病患者は 2005 年までに患者発生があった地域 (図 2) に加えて厚木市で発生した (図 3)。

また発生時期は 10 月 3 名、11 月 10 名、12 月 2 名で 11 月が 66.7% を占めていた。

### 2) 型別 PCR の検討

Gilliam 株と JG 株の 56kDa タンパク質をコードしている DNA の塩基配列を比較し、プライマー JG1 (5'-TATTCTTGCTCAAGCTGCTGC-3') と JG4 (5'-CTGACCATGGTCAAGTATG-3') を作製した。これらのプライマー

により従来の Gilliam 株は 231bp、JG 株は 223bp の DNA が増幅される。しかし増幅 DNA の大きさに差がないことから Gilliam 株と JG 株の区別はできなかった。従来のプライマーでは JG 株は検出されにくかったが、このプライマーにより JG 株の型別が可能であることが示された。

## D 考察

つつが虫病患者発生状況を全国と神奈川県とで比べてみるとほぼ同じ傾向で患者数が推移していると思われた (図 1)。病原体検出情報によると関東地方の他県のつつが虫病患者の届出は、千葉県が 39 名、長野県 10 名、静岡県 9 名、群馬県 6 名、茨城県 3 名、栃木県、埼玉県、東京都、山梨県が各 1 名あったが、日本紅斑熱患者の届出はなかった。神奈川県での状況も同様であり、関東地方に日本紅斑熱患者の発生がないのか今後さらに調査する必要があると思われた。

PCR による *O. tsutsugamushi* DNA の検出で DNA が検出される検体数が少なかったことから、検体採取時期や採取方法など遺伝子検出法について検討する必要があると思われた。

## E 結論と課題

### 1) 結論

神奈川県におけるリケッチア症の発生状況把握を行った。その結果つつが虫病患者の発生が確認されたが、日本紅斑熱患者の発生はなかった。つつが虫病患者は 10 月から 12 月に発生し、11 月が 66.7% を占めていた。患者の感染株は Kawasaki 株が 80%、

Kuroki 株が 20%であった。

Gilliam 株型別 PCR に用いるプライマーの検討を行い、作製したプライマーにより Gilliam 株および JG 株が型別可能であることが示された。

## 2. 課題

*O. tsutsugamushi* DNA の検出率が低かったことから遺伝子検出法の検討が必要である。

また神奈川県では現在使用しているプライマーでつつが虫病患者の確定診断は可能であるが、全国での調査には Shimokoshi 株が検出できる遺伝子検出法が必要であると考えられ、今後 Shimokoshi 株を検出するプライマーの検討も必要である。

## F 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 片山丘、原みゆき、古屋由美子、新川隆康、小笠原弘和 神奈川県におけるつつが虫病患者発生状況、2001～2005 年 病原微生物検出情報 2006 ; 27 : 29-30
- 2) Katayama T. Hara M. Furuya Y. Nikkawa T. Ogasawara H. Scrub typhus(Tsutsugamushi disease) in Kanagawa prefecture in2001-2005, Jpn J Infect Dis. 2006;59:207-208
- 3) 古屋由美子、片山丘 神奈川県におけるつつが虫病の発生状況 (平成 17 年度) 神奈川衛研報告 2006 ; 36 : 45-47
- 4) 古屋由美子、片山丘 つつが虫病原体の知見 -より良い検査へ向けて- SADI 組織委員会「ダニと新興再興感染症」全国農村教育協会 2007 ; 141-145

## G 知的財産権の出願・登録状況

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

表 1 IF および PCR によるつつが虫病患者数

年	検体数	陽性数			確定患者数
		IF のみ	IF および PCR	PCR のみ	
2001	13	0	7	0	7
2002	7	1	3	0	4
2003	17	2	7	1	10
2004	23	4	13	1	18
2005	27	6*	13	0	19
2006	23	11	4	0	15
合計	110	24	47	2	73

\*:血清検査のみの 1 検体を含む

表 2 神奈川県内で感染したと思われる患者の感染株

年	検体数	型別			
		Karp	Kawasaki	Kuroki	
2001	7	2	4	1	
2002	4	0	3	1	
2003	8	1	6	1	
2004	17	1	11	5	
2005	18	0	13	5	
2006	15	0	12	3	
合計	69	4	49	16	
		5.8	71.0	23.2	(%)



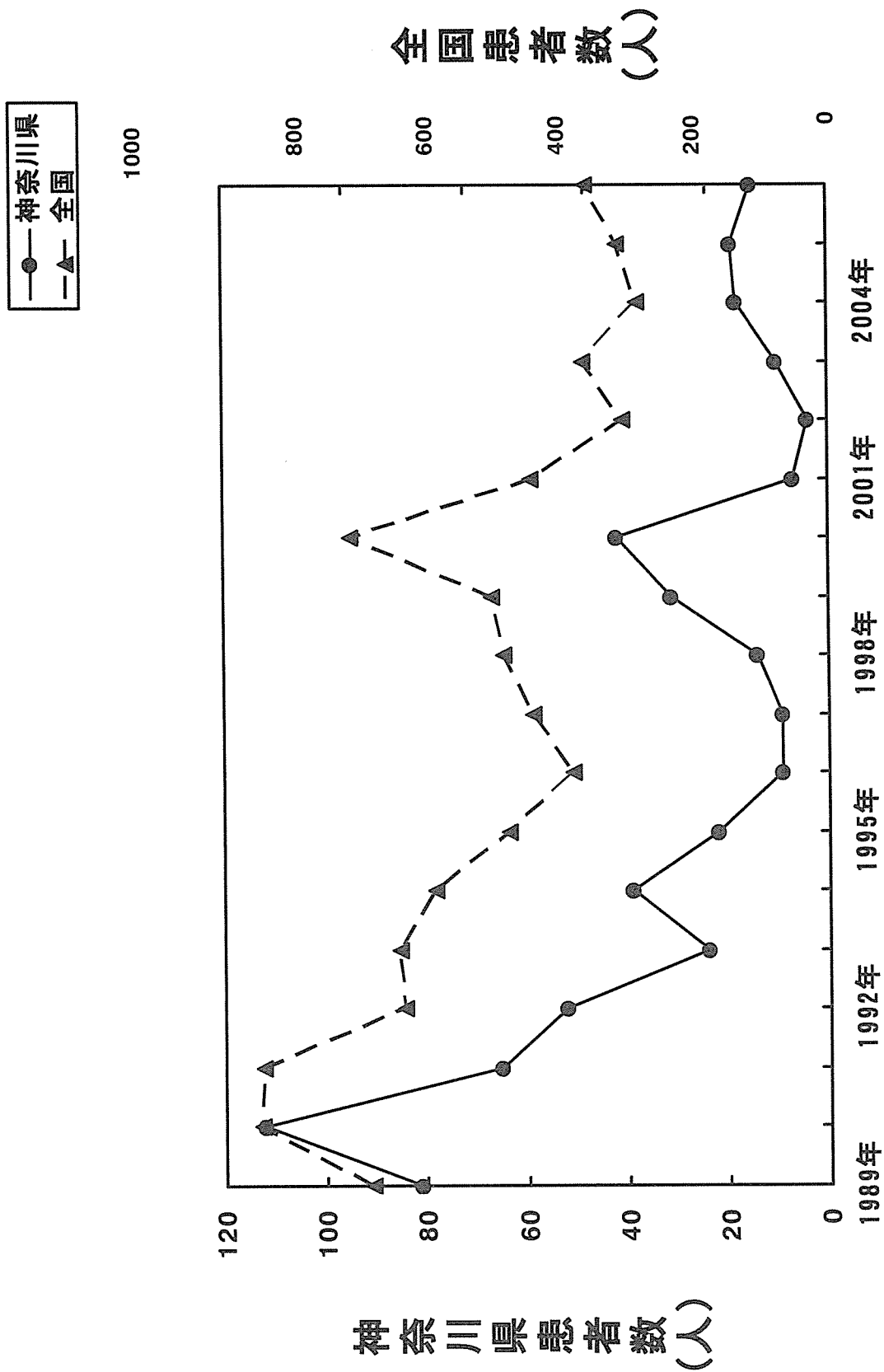
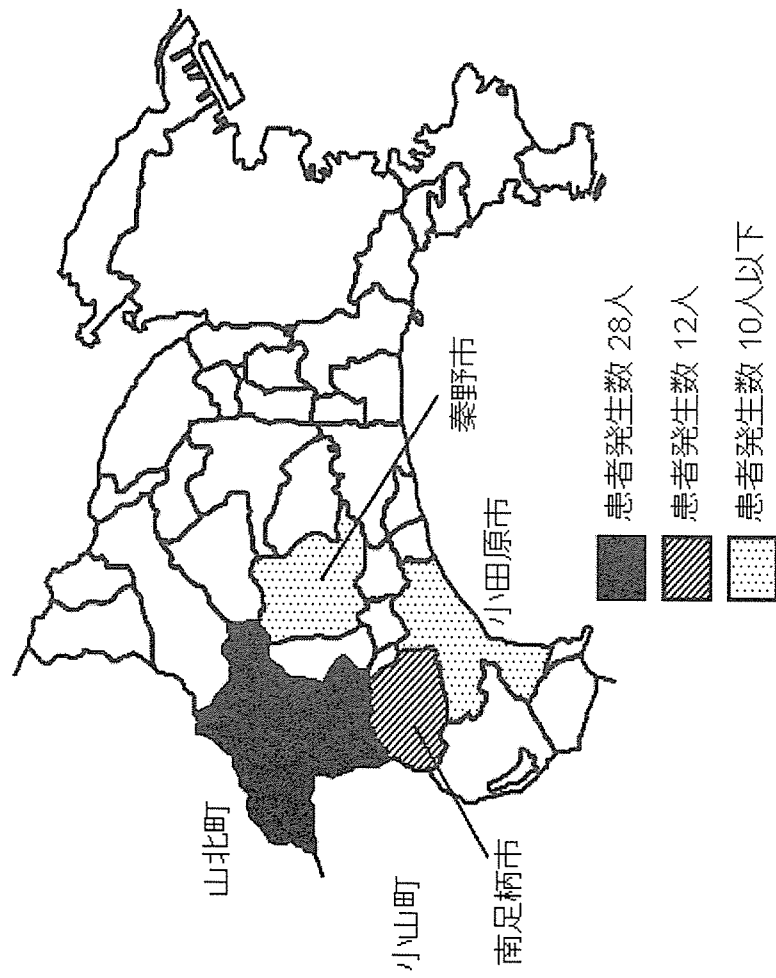


図1 つつが虫病患者発生状況

(A)



(B)

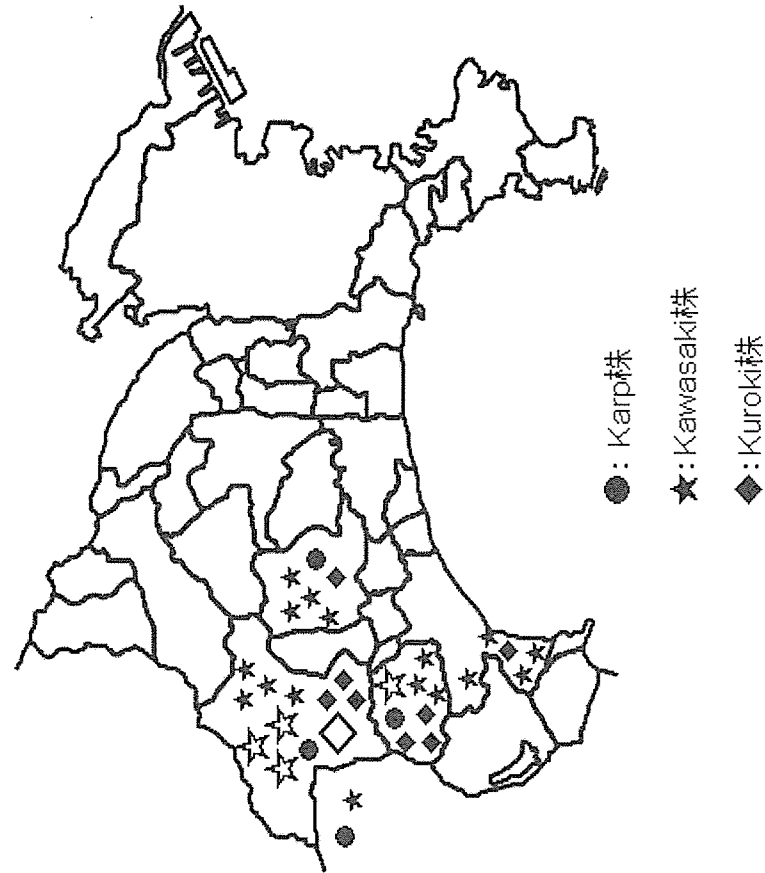
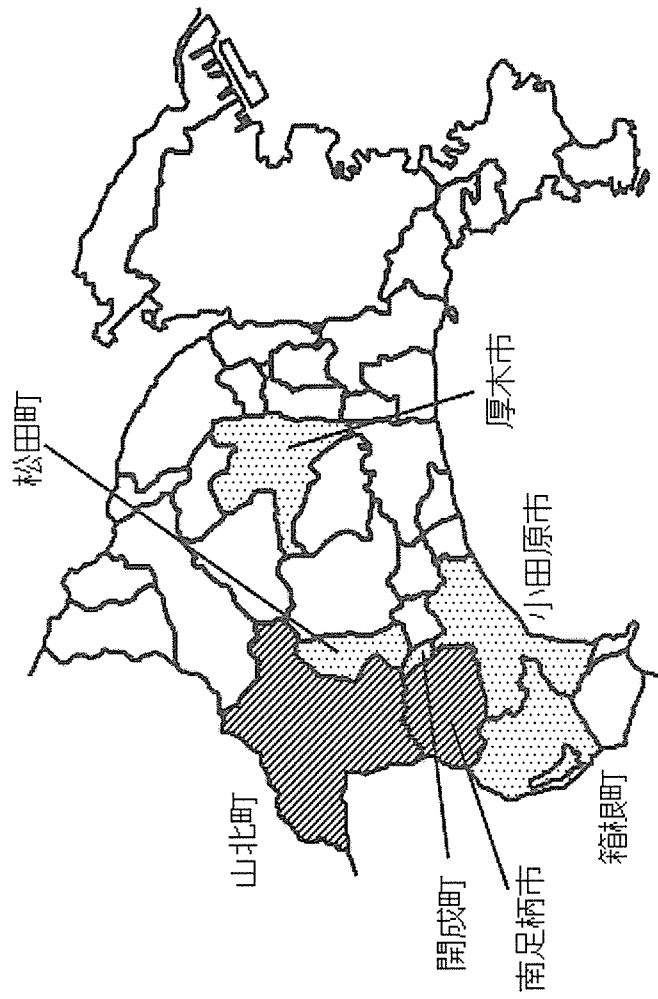


図2 つつが虫病発生地域 (2001~2005年)

(A)



(B)

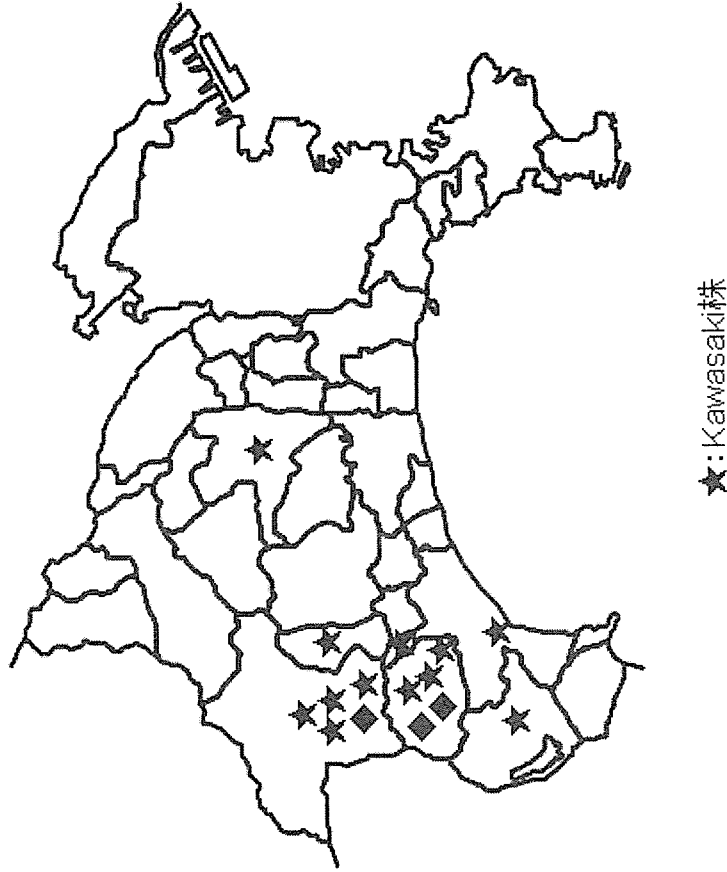


図3 つつがが虫病発生地域(2006年)

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」  
分担研究報告書(平成 18 年度)

「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」

分担研究者 大橋典男 静岡県立大学・環境科学研究所・教授

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・主幹  
稲吉 恵 静岡県環境衛生科学研究所・微生物部・副主任  
廣井みどり 静岡県環境衛生科学研究所・微生物部・技師  
鳥日図(ウリト) 静岡県立大学大学院博士課程 1 学年  
小澤 豊 静岡県立大学大学院修士課程 2 学年  
高娃(コウワ) 静岡県立大学大学院研究生

## 研究要旨

我々は、これまでに静岡県と山梨県に生息するシュルツェマダニ (*Ixodes persulcatus*) とヤマトマダニ (*I. ovatus*) からヒトアナプラズマ症病原体である *Anaplasma phagocytophilum* の DNA 検出に成功し、国内にも *A. phagocytophilum* が存在することを初めて明らかにした。本年度は、東北地方における *A. phagocytophilum* の分布状況を明らかにすることを目的に、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 陽性を示した。そして、その遺伝子の系統樹解析から、ヤマトマダニからの遺伝子クローン群よりもシュルツェマダニからのものが多様性を示すことが判った。この結果は、ヤマトマダニの中で宿主に順応しやすい *A. phagocytophilum* の種類選択が起こっている可能性を示唆するものと考えられる。一方で、奄美大島で採集したタカサゴキララマダニとタイワンカクマダニからエーリキア DNA の検出を試みたが、これらはすべて陰性であった。しかし、タカサゴキララマダニからはリケッチア DNA (おそらく *R. tamurae*) が検出された。さらに、我々は TaqMan 法や LAMP 法を用いたリケッチア関連細菌群の早期遺伝子診断法の開発にも着手し、これらの方法を基にした検出法が極めて有効であることが判ったが、さらなる改善が望まれる。

### A. 研究目的

#### 1. 国内におけるアナプラズマの実態調査

我々はこれまでに、静岡県と山梨県に生息するシュルツェマダニ (*Ixodes persulcatus*) とヤマトマダニ (*I. ovatus*) からヒトアナプラズマ症病原体である *Anaplasma phagocytophilum* の DNA 検出に

成功し、国内にも *A. phagocytophilum* が存在することを初めて明らかにした。本年度は、東北地方における *A. phagocytophilum* の分布状況を明らかにすることを目的に、主に青森県と岩手県でマダニを採取し、これらマダニから *A. phagocytophilum* の DNA 検出を行った。