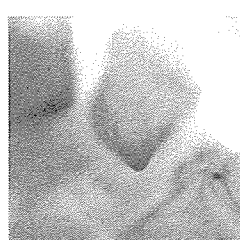
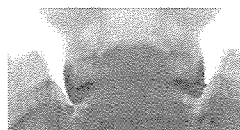
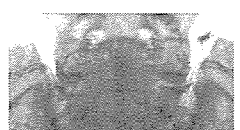
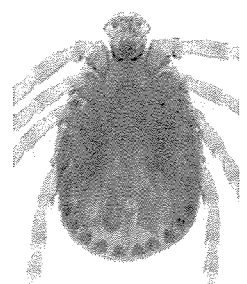
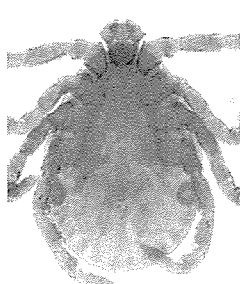
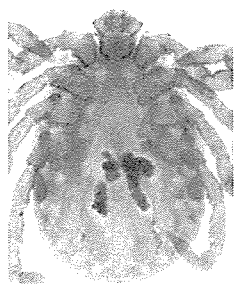


タカサゴチマダニ幼虫

ヤマアラシチマダニ幼虫

ツリガネチマダニ若虫

ダグラスチマダニ若虫

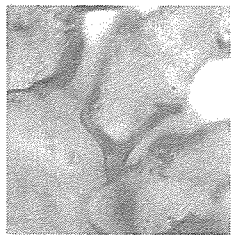
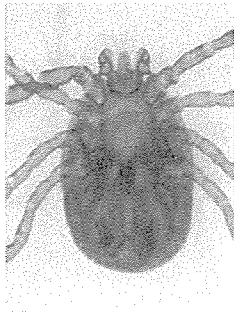


ヤマトチマダニ若虫

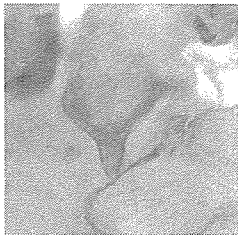
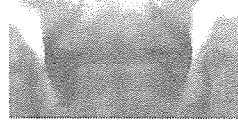
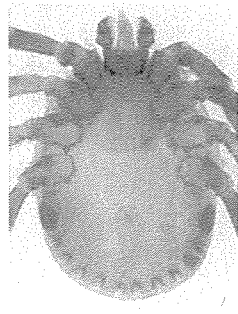
キチマダニ若虫

オオトゲチマダニ若虫

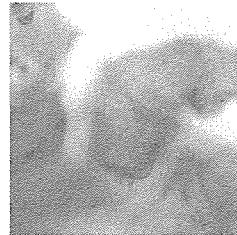
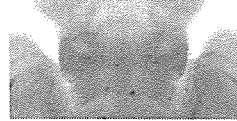
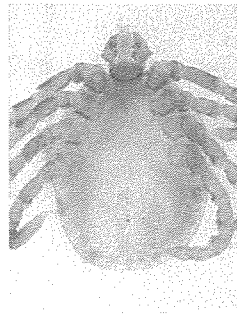
フタトゲチマダニ若虫



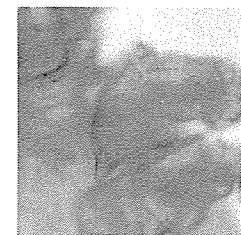
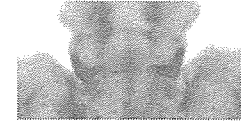
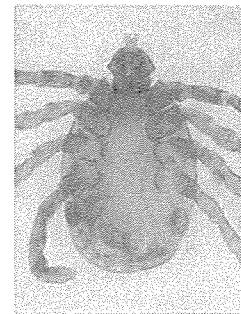
マゲシマチマダニ若虫



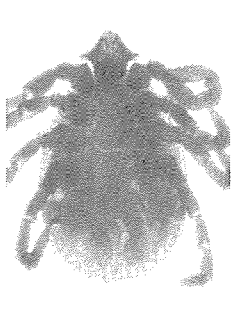
イエンチマダニ若虫



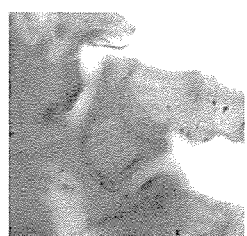
クロウサギチマダニ若虫



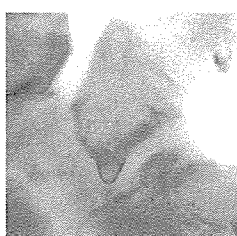
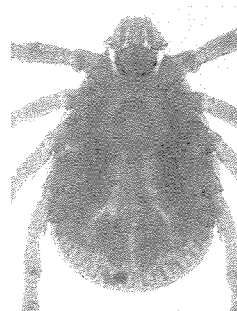
ウエリントンチマダニ若虫



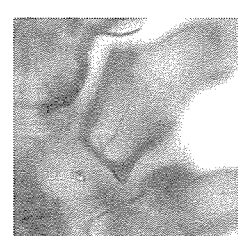
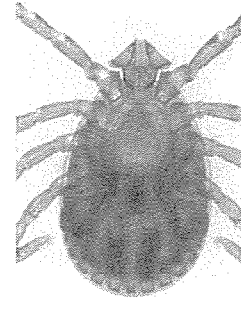
イスカチマダニ若虫



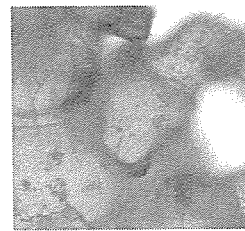
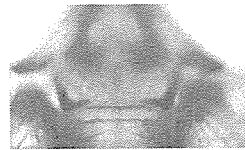
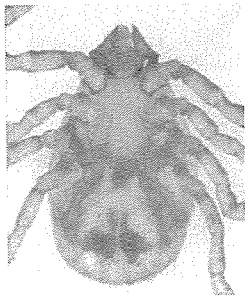
ツノチマダニ若虫



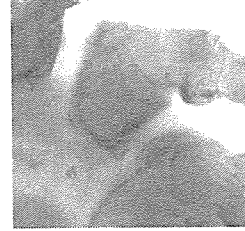
タカサゴチマダニ若虫



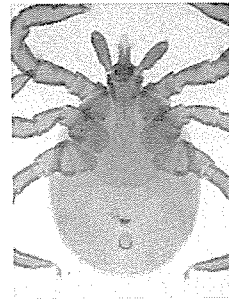
フジチマダニ若虫



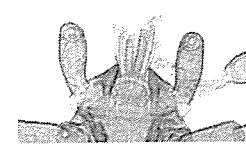
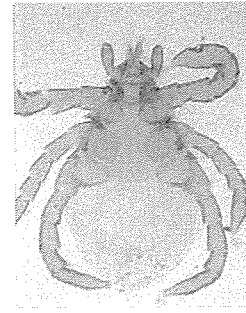
ヤマアラシチマダニ若虫



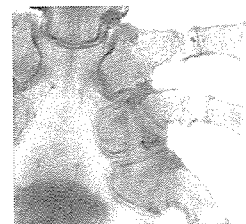
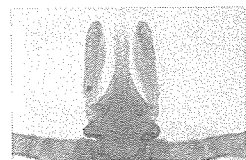
キジチマダニ若虫



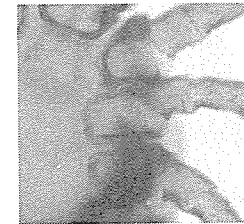
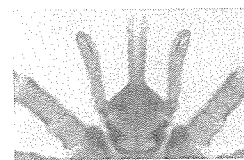
アカッココマダニ幼虫



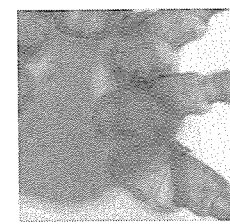
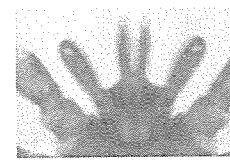
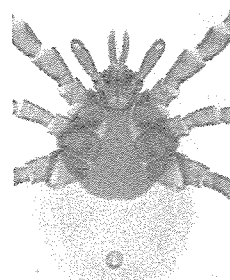
ヤマトマダニ幼虫



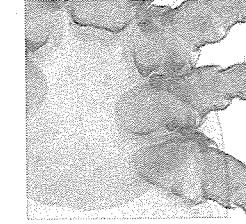
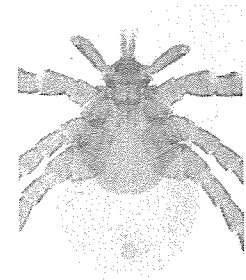
カモシカマダニ幼虫



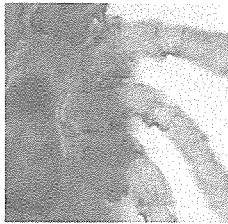
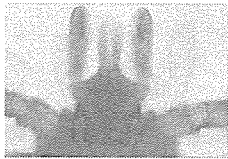
ミナミネズミマダニ幼虫



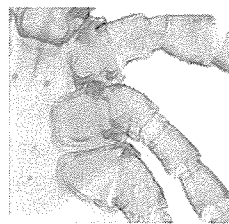
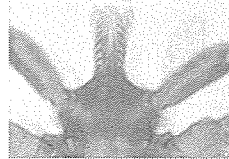
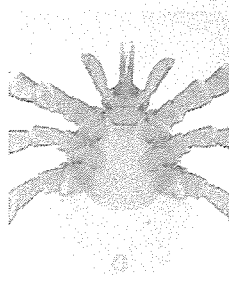
ハシフトマダニ幼虫



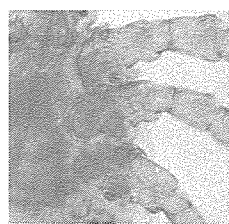
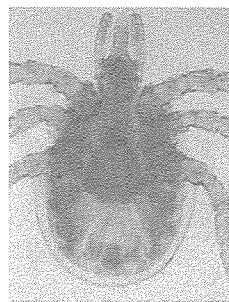
タネガタマダニ幼虫



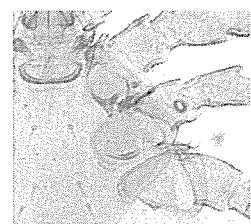
パプロフスキーマダニ幼虫



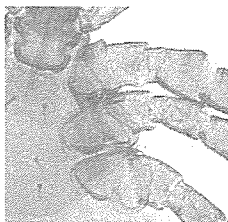
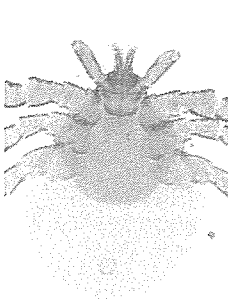
シュルツェマダニ幼虫



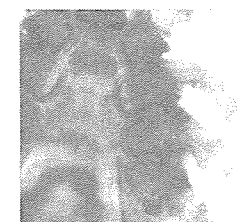
アサヌマダニ幼虫



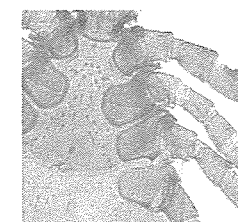
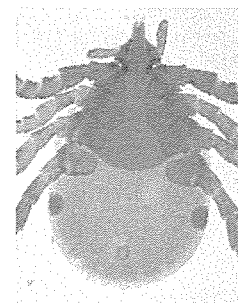
ヒトツトゲマダニ幼虫



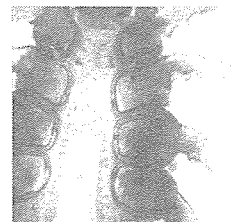
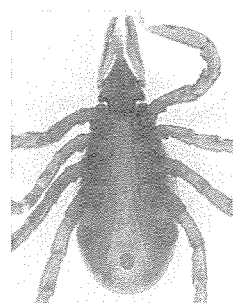
タヌキマダニ幼虫



アカッココマダニ若虫



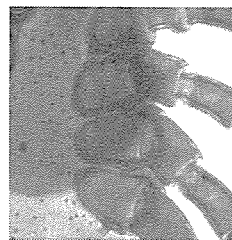
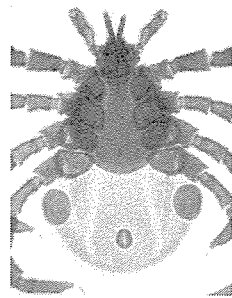
ヤマトマダニ若虫



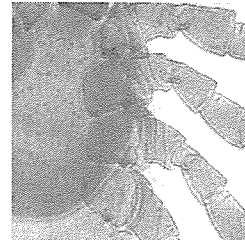
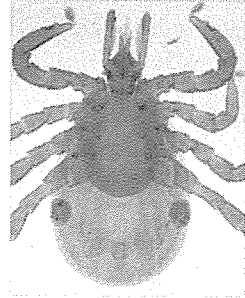
カモシカマダニ若虫



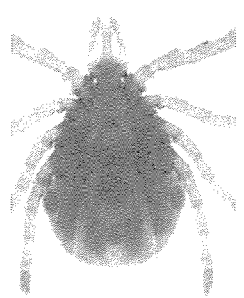
ミナミネズミダニ若虫



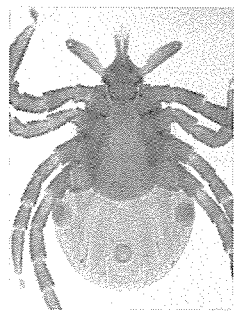
ハシトマダニ若虫



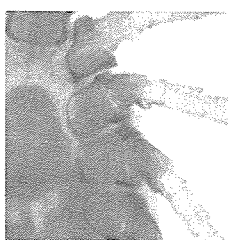
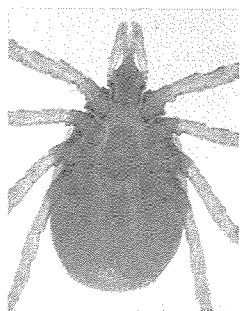
タネガタマダニ若虫



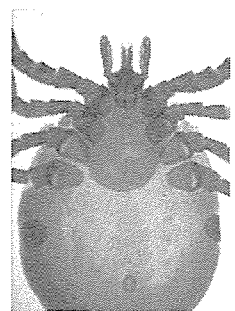
パブロフスキーマダニ若虫



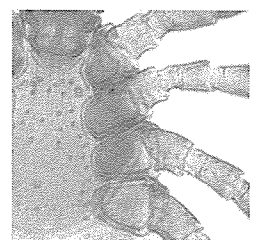
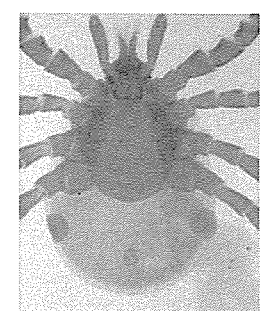
シュルツェマダニ若虫



アサヌマダニ若虫



ヒトツゲマダニ若虫



タヌキマダニ若虫

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

日本紅斑熱の病理

分担研究者 堤 寛（藤田保健衛生大学医学部病理学 教授）
研究協力者 馬原文彦（馬原医院、院長）
宇都宮洋才（和歌山県立医科大学共同研究施設電子顕微鏡室、講師）
稲田健一（藤田保健衛生大学医学部病理学、助教授）
塩竈和也（藤田保健衛生大学医学部病理学、助手）
鈴木舞（藤田保健衛生大学医学部病理学、研究補助員）
藤田博己（大原研究所主任研究員：分担研究者）

研究要旨

本事業の目的である“リケッチア感染症の早期警鐘システムの構築”の中で、病理学的解析を進めるのが我々の分担研究の目的である。本年度は以下の3点を主体に検討をすすめた。①皮膚生検による日本紅斑熱の早期診断、②剖検例の解析による日本紅斑熱の病態解析、③イヌを用いた感染実験による日本紅斑熱の病態解析。

①皮膚生検：皮膚生検を酵素抗体法染色すると、日本紅斑熱を2～3日で確定診断できた。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紅斑熱リケッチア抗原が陽性だった。1症例の皮疹では壊死性血管炎を伴っていた。

②剖検例の解析：日本紅斑熱の全身病変の特徴を剖検例、3事例で解析した。イヌでは日本紅斑熱例の飼い犬（急死）で脾と腎が検索された。イヌでは炎症反応なく、胚中心樹状細胞と尿細管上皮が抗原陽性だった。ヒトでは2例で剖検組織を解析し皮膚と対照的に、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だった。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。

③イヌの感染実験：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、無処置ビーグル犬を対照とした。発熱はみられず、身体所見上、異常を認めなかったが、血清抗体価は4週後に2頭とも640倍陽性となった。しかし腫大した頸部リンパ節の免疫染色では、陽性と思われた染色像が非特異反応によるものと判明したため、今回の抗体を用いた染色実験系では感染の部位特定に至らなかった。抗体の特異性や、感染動物の選択等が今後の課題である。

A. 研究目的

1. 皮膚生検による日本紅斑熱の早期診断

紅斑熱群リケッチア症である日本紅斑熱は、重症化を未然に防ぐため、一日も早い確定診断法の確立が待ち望まれる。迅速DNA診断が確立されていない現在、確定診断前にミノサイクリン治療を開始する治療的診断も利用せざるを得ない。従来、血清抗体価の上昇をもって診断が確定されてきたが、抗体価の上昇までには、通常、早くても発症後5~10日を要する。抗体価が陰性の場合、さらに発症後2週まで検査を行う必要がある。

一方、刺し口あるいは皮疹からの皮膚生検は、観血的ではあるものの、比較的容易に行える日常的診断手段である。生検組織を対象とする酵素免疫抗体法(免疫染色)は、早ければ2~3日で結果がもたらされるため、現在のところ最も短期間に確定診断を得ることが可能な方法である。そこで今回、皮膚組織の免疫染色による日本紅斑熱の早期診断法の検討を行った。

2. 日本紅斑熱の剖検例の解析

日本紅斑熱の病理学的解析では、全身感染症である日本紅斑熱の全身諸臓器病変の特徴について、剖検例の解析が待望されていた。今回、日本紅斑熱が疑われた3例の剖検例について病理学的解析を行った。

3. イヌを用いた日本紅斑熱リケッチアの感染実験

日本紅斑熱が、イヌにも感染する人獣共通感染症であることを証明し、またヒトのリケッチア全身感染の病態を明らかにする目的で、ビーグル犬(生後6ヶ月、オス、2頭)を用いた感染実験を実施し解析した。

B. 研究方法

1. 皮膚生検による日本紅斑熱の早期診断

刺し口ならびに四肢を中心とする皮疹(しばしば出血性)からの生検組織片をホルマリン固定パラフィン切片し、金沢医科大学の及川陽三郎博士が作製した抗*R. japonica*マウスIgM型モノクローナル抗体2種(S3、X1)を利用し免疫染色を行った。2種のモノクローナル抗体は紅斑熱群リケッチアに広く交差反応するが、*Orientia tsutsugamushi*には反応しない。方法は、10mMクエン酸緩衝液(pH 7.0)による加熱前処理を行ったアミノ酸ポリマー法(シンプルステインMAX-PO)とした。

皮膚生検は血清学的に確定診断された計5例を対象として行われた(表1)。四肢の皮疹からの生検は症例3を除く4例で行われた。

2. 日本紅斑熱の剖検例の解析

事例1(イヌ脾、肝、血清):剖検組織の検討は、2004年7月に馬原が経験した徳島県の高齢女性死亡例(皮膚生検で診断された表1の症例1)に関連するイヌについて行った。女性の発症後9日後、放し飼い状態だった飼い犬が突然死亡した。女性自身は山に入ってダニに刺されるチャンスはほとんどなかった状況から、イヌが運んできたダニに吸着された可能性が考えられた。イヌの簡易解剖は馬原が実施し、脾臓と腎臓が採取され、このイヌの組織について検討した。

事例2(73歳、男性):馬原の講演を聞いたある内科医が、1971年(35年前)に全経過68日で死亡した自分の父親(当時73歳)が日本紅斑熱だった可能性を疑った(発症は11月)。徳島大学医学部で病理解剖が実施されていたため、同病理学教室に保存してあった全身諸臓器のパラフィンブロックが今回再検討された。

事例3(77歳男性):2005年9月、兵庫県立淡路病院で日本紅斑熱と確定診断された

患者の病理解剖が行われた。全経過 7 日間で、死因は DIC と全身循環不全だった。全臓器に関して、剖検例の組織学的ならびに免疫組織化学的解析が行われた。

3. イヌを用いた日本紅斑熱リケッチアの感染実験

感染実験を実施した場所は、和歌山医科大学の動物実験室の P3 施設で、大学の許可を得て感染実験が行われた。イヌの頸部皮下に日本紅斑熱リケッチア混濁液 0.5ml (大原研究所、藤田博巳博士供与) を頸部皮下に投与した。無処置ビーグル犬 (生後 6 ヶ月、オス、2 頭) を対照とした。飼育条件は、固形飼料 1 日 2 回、水は自由摂取とした。体温測定 (毎日)、体重測定 (毎週)、および感染前および感染後 1, 2, 4 週に採血した。そして、4 週間後に屠殺した。この間、体重は徐々に増加し、発熱はみられなかった。身体所見上、特に異常を認めなかった。屠殺時、リンパ節・脾臓、腎などの全身諸臓器を採取し、H&E 染色および紅斑熱リケッチア抗原に対する抗体 (S3, X1) を用いた免疫染色を行った。

C. 結果および考察

1. 皮膚生検による日本紅斑熱の早期診断

血清学的に確定診断された計 5 例を対象として行われ、明瞭な特異シグナルが病変部の血管内皮細胞およびマクロファージに観察された。無処理切片では特異シグナルは認められなかった。

5 例全例の刺し口に、血管内皮細胞およびマクロファージの細胞質に一致した顆粒状の陽性所見が得られた。四肢の皮疹からの生検は症例 3 を除く 4 例で行われたが、発症後 4 日を経た 1 例 (症例 4) を除く 3 例に陽性所見を認めた。刺し口の壊死部ではマクロ

ファージの陽性所見がめだつ一方、皮疹部では主として血管内皮細胞が陽性だった。また、出血性皮疹を呈した 1 例 (症例 1) にフィブリノイド壊死を伴う壊死性血管炎の所見を認めた。生検は発症後 3~9 日に行われ、全例でミノサイクリン投与後 (投与当日~7 日後) であった。発症 4 日以後に生検された症例ではすでに解熱後であった。リケッチア抗原はこうした条件の皮膚生検でも 3 例中 2 例に陽性であった点は特筆すべきである (表 1)。

免疫染色の結果は、特異性の異なる 2 種のモノクローナル抗体で完全に同一であった。これら抗体は、ツツガムシ病の皮膚生検では陽性所見をもたらさなかった。

2. 日本紅斑熱の剖検例の解析 (表 2)

事例 1 のイヌの組織の検討では、脾臓と腎臓のみの検索だったが、脾臓の血管内皮細胞および腎臓の尿細管上皮細胞の陽性所見はヒトと共通であった。ユニークだったのは、白脾髄、胚中心の樹状細胞に一致したリケッチア抗原陽性所見で、ヒトには観察されない所見だった。死亡犬にもかかわらず、HE 染色で炎症反応が確認できない点は、ヒトの場合以上に明確な特徴といえた。この例も、状況証拠と免疫組織化学的成績から、日本紅斑熱であった可能性を強く支持したい。血清抗体価が陰性だったのは、時期的な問題と思われた。今後、同様の症例を蓄積・解析してゆく必要性が高い。ただし次項で述べるごとく、免疫染色の特異性に疑問が残る点も、今後解決しなければならない。

事例 2 では全身諸臓器のパラフィンブロックが今回再検討された。その結果、軽度のサイトメガロウイルス感染とともに、紅斑熱群リケッチア抗原の陽性所見を全身諸臓器に得た。当時の病理解剖診断は、伝染

性単核球症様の臨床像を呈した全身性サイトメガロウイルス感染症であった。

事例 3 では、全身の血管内皮細胞に紅斑熱リケッチア抗原の陽性所見を認めたが、血管周囲性にリンパ球・マクロファージの反応を認めたのは、精巣、前立腺、腎といった泌尿器系と唾液腺にすぎなかった。炎症所見が明瞭である皮膚とあわせて、炎症反応がみられやすいのは温度が低い表在性臓器であるとも言えるかも知れない。また、腎尿細管と肝細胞、さらに精細管と精巣間質細胞といった実質細胞にも一部陽性所見を認めた点が注目されるが、HE 染色で確認できるような破壊性変化は観察されなかった。もっとも特徴的だったのは、拡張した毛細血管の内皮下にリケッチア抗原陽性のマクロファージが集簇する所見で、小腸絨毛、腎、肝、副腎、精巣に確認された。この特有の細胞反応の意味は不明だが、きわめてユニークな病変といえよう。

35 年前に剖検された事例 2 の病理所見ならびに免疫組織化学所見は、事例 3 に類似していた。ただし、事例 3 (急性期に死亡) に特徴的だった血管内皮下のマクロファージ集簇巣は観察されなかった。この例は、臨床経過が 2 ヶ月以上と長かったため、サイトメガロウイルスの再活性化を随伴したと推測された。現在のところ、この事例 2 が日本紅斑熱であった可能性はきわめて濃厚であろう。

今回解析した 3 例の剖検例のうち、確定診断がついているのは事例 3 のみである。残りの 2 例は、状況証拠と免疫組織化学的成績から日本紅斑熱が強く疑われる症例である。全体として、全身感染による死亡例であるにもかかわらず、内臓病変の炎症反応が軽度であるのが共通の特徴といえようである。皮膚所見とは対照的であった。

3. イヌを用いた日本紅斑熱リケッチアの感染実験

感染犬の頸部リンパ節は軽度腫大していたが、同程度の腫大は対照犬にも観察された。

間接免疫ペルオキシダーゼ法で測定された血清抗体価は 4 週の時点で 2 頭とも 640 倍陽性となった。

免疫染色では、頸部リンパ節の濾胞周辺領域に分布するマクロファージに陽性所見を認めた。陽性所見はさらに、肝類洞や脾臓リンパ濾胞の胚中心の一部に観察された。そのパターンは 2 種のモノクローナル抗体で同一だった。しかし、全く同様の陽性所見が対照犬にも観察されたため、これらはいずれも非特異反応であると結論された。したがって、今回のイヌの感染実験は不成功に終わった。抗体価の上昇はあるため、免疫学的な反応 (抗体価上昇) は生じているが、リケッチアの持続感染は証明できなかったといえる。免疫染色の特異性を含めて、徹底的な再検討が必要であると判断された。第 2 項で述べた、イヌの剖検例の陽性所見についても慎重に判断する必要がある。特異性の高い新規抗体の作製、PCR 法によるリケッチアゲノムの証明など、今後に残された課題は多い。感染実験は、今後、対照動物をラットに切り替えて継続してゆく予定である。

D. 健康危険情報

健康被害の情報はない。

E. 研究発表

1. 発表論文

- 1) Mahara F. Rickettsiosis in Japan and Far East. Ann New York Acad Sci 2006 (in press) .

- 2) 堤寛、馬原文彦. 日本紅斑熱の早期診断：
皮膚生検を利用した免疫染色の実用性.
病原微生物検出情報 2006; 27(2):
38-40.
- 3) 堤寛、鈴木舞、塩竈和也、堀口英久、佐
野壽昭、馬原文彦. 日本紅斑熱の病理.
「ダニと新興再興感染症」SADI 組織委
員会編「ダニと新興再興感染症」2007
全国農村教育協会

F. 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. 日本紅斑熱の皮膚生検における免疫染色成績

	年齢/性	発症後	ミノサイクリン投与後	刺し口	皮疹
症例 1	76F	3 日	1 日	+	+ (壊死性血管炎)
症例 2	77M	7 日	4 日 (解熱)	+	+
症例 3	51M	3 日	当日	+	生検なし
症例 4	65F	4 日	4 日 (解熱)	+	-
症例 5	52F	9 日	7 日 (解熱)	+	+

+ : 顆粒状陽性、- : 陰性

(いずれも、2 種のモノクローナル抗体 S3、X1 とともに同様の結果だった。)

表 2. 日本紅斑熱剖検例での全身病理所見と免疫染色成績

基本的な陽性細胞 :

血管内皮細胞、マクロファージ

特徴的な陽性所見が認められた部位

- ① イヌの白脾髄胚中心 (樹状細胞) (事例 1)
- ② イヌとヒトの尿細管上皮細胞 (事例 1、2、3)
- ③ ヒト精巣の間質細胞、精細管細胞 (事例 2、3)
- ④ ヒト肝細胞 (事例 2、3)
- ⑤ 小血管周囲性リンパ球浸潤 (軽度)
 - (精巣、腎、前立腺、唾液腺) (事例 3)
 - (精巣、腎、肝、唾液腺、膵臓、甲状腺) (事例 2)
- ⑥ 血管内皮下に集簇するマクロファージ (事例 3)
 - (小腸絨毛、腎、肝、副腎、精巣)

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

ツツガムシ病における重症化とサイトカイン産生制御

分担研究者 岩崎博道（福井大学医学部 助教授）

研究協力者 高田伸弘（福井大学医学部 助教授）

矢野泰弘（福井大学医学部 助手）

研究協力機関 玉置病院

那須医院

三重大学医学部医学研究科

山田日赤病院

津保健福祉事務所

伊勢保健福祉事務所

伊勢神宮支庁

研究要旨

リケッチア感染症は重症化し死亡する症例もあれば、軽症に経過する症例も認められる。この差異が生じる原因は病原体側の毒性の相違によるのか、宿主側の感染防御能の相違によるのか、または単に診断される時期に依存するのか、議論されているが、一定した結論には達していない。重症化の機序を研究するために、私たちは宿主側要因を明らかにすることを目的として、リケッチア感染症例の臨床経過を調査すると同時に、生体防御の指標として急性期と回復期の血清を用いて、血中サイトカイン濃度を測定し、重症度とサイトカイン濃度との関連性を検討した。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。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する前段階に達したと考える。

A. 研究目的

ツツガムシ病では今でも致死的重症例が散見される。重症化した症例には、しばしば高サイトカイン血症を認める。その際の病態として、サイトカインの異常活性化に伴う systemic inflammatory response syndrome (SIRS)を発症していると考えられる。リケッチア感染症の重症化と血中サイトカイン産生との関連性について、臨床経過が明らかとなった症例を中心に、急性期と回復期の血清中のサイトカイン濃度を測定し、重症化と急性期サイトカイン濃度ならびに、重症化からの回避と回復期におけるサイトカイン値の変動との関連性について検討することを目的とした。

B. 研究方法

1. 臨床症例

臨床症例の収集にあたっては、Fig. 1 のような調査票により患者背景、臨床経過、治療内容を調査した。患者調査は以下の3地域において発症した症例を対象とした。

①1998年4月から6月に山形県において発症した、ツツガムシ病9症例。

②2003年から2006年の冬季に和歌山県田辺市において発症したツツガムシ病31

例。

③2006年に、三重県志摩半島に発症したリケッチア症5例。

山形県、和歌山県の症例はいずれも間接免疫ペルオキシダーゼ法により、ペア血清にて、回復期が急性期の4倍以上の抗体価上昇に至った確定診断症例である。全症例、テトラサイクリン系薬剤 (doxycycline または minocycline)の投与により回復した。三重県の症例は、発熱、発疹、リンパ節腫脹などの臨床症状からリケッチア症が疑われた。1例のみ血清診断により日本紅斑熱が確定したが、他の4例は現在診断未確定である。

2. 重症化の臨床評価

重症化の程度を層別化するために、これまでに提案したリケッチア感染症の重症化スコアリングシステム (Table 1) (Iwasaki H et al, J Clin Microbiol, 1997)を用いて、臨床経過を評価している。評価項目には、中枢神経症状、筋肉症状、胸部X線、腎障害、肝障害、肝脾腫および播種性血管内症候群が含まれる。全身の主要臓器の障害を網羅されるよう配慮されている。

3. サイトカイン血中濃度の測定

患者血清は、急性期および回復期に採血後、血清分離し、測定まで -80°C に保存された。対象としたサイトカインは炎症に深く関与している、tumor necrosis factor (TNF)- α 、interleukin (IL)-4, IL-10, IL-12, Interferon (IFN)- γ の血中濃度を測定した。測定はELISA (Cytoscreen, Biosource, USA)を用いた。数値の統計処理はStudent's *t* testを用いて検定し、 $p < 0.05$ を有意な差があると判定した。

(倫理面への配慮)

本研究において倫理に関する条件は、福井大学倫理委員会により承認されている。承認番号：倫審18第24号（平成18年10月18日）

課題名：リケッチア感染症における病態と免疫応答の解析と特異的診断法の開発に関する研究

申請者：岩崎博道

C. 研究結果

1. 山形県のツツガムシ病9例の患者背景(Table 2)および、血清診断・血液データ(Table 3)について調査した。各患者の血中サイトカイン値は、急性期のIL-10, IL-12 および IFN- γ の高値が示された。テトラサイクリン系薬剤を投与された後の

回復期においては、急性期に高値を示したサイトカイン(IL-10, IL-12, IFN- γ)はいずれも有意に低下した。しかし、TNF- α , IL-4 においては有意な変化は確認できなかった(Table 4)。重症度と、サイトカイン値の変動については、この9症例からは明らかな関連性は見出せなかった。この点については、今後和歌山県の症例も加え総合的に評価する予定である。

2. 和歌山県のツツガムシ病31例においてもサイトカイン値の変動を検討した。IL-10, IL-12, TNF- α は急性期に比べ、回復期には有意に血中濃度が低下していた(Table 5)。臨床経過については、現在調査中である。他のサイトカインについても測定する予定である。

3. 三重県の1例において、血中*R. japonica*抗体価がの上昇にて確認された。本症例においてTNF- α 、IL-10の上昇は著明ではなかった(Table 6)。その他の4例の感染症未確定症例については、血中サイトカイン値の変動は一定した傾向を示さなかった(Table 7)。

D. 考察

ツツガムシ病において、テトラサイクリン系薬剤が著効を示すことはよく知られている。種々のサイトカインの血中濃度の変動を検討した結果、急性期に上昇を示したサイトカインは殆ど回復期には低下を示していた。対象とした症例は、入院を要しているため、すべて重症例と考えられる。しかし、実際には入院には至らない軽症の潜在感染症例や、不顕性感染もさらに多く存在すると考えられる。リケッチアが感染したとき、重症化するのは宿主要因が関与することが推測されてきた。重症例では高率に高サイトカイン血症を伴っていたことより、生体におけるサイトカイン産生の正常化が、SIRSからの離脱や、症状の軽減に有効であることが推測される。ツツガムシ病において、テトラサイクリン系薬剤が著効する場合は、時間単位で解熱等の臨床症状の改善が認められる。しかし、血中からのリケッチアの消失には4~8日を要することが報告されている。このことより症状の改善には、テトラサイクリン系薬剤が抗リケッチア作用に加えて、生体の炎症抑制に何らかの影響を与える可能性が考えられてきた。多くの臨床症例よりテトラサイクリンがツツガムシ病における高

サイトカイン血症を抑制する可能性が推測されている。紀伊半島がリケッチア症の多発地であることが推測されるが、これまで十分な調査が行われていない点に鑑みて、今後、和歌山県や三重県(Fig 2, 3)の症例の臨床経過を詳細に分析する予定である。このことにより、次年度からは重症度を層別化した上で、血中サイトカイン濃度との関連性を検討する予定である。

E. 結論

ツツガムシ病の重症化の背景には、高サイトカイン血症が関与する可能性が示唆され、回復期には血中サイトカイン濃度が回復した。重症化からの回避にはサイトカイン産生制御が重要と考えられた。

F. 健康危険情報

近年、紀伊半島において、リケッチア症が多発する傾向にあることが明らかになりつつある。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 岩崎博道. リケッチア感染症(ツツガムシ病、日本紅斑熱) pp143-144、今日

の治療指針(山口 徹編)、医学書院(東京), 2006.

- 2) Kinoshita K, Iwasaki H, Uzui H, Ueda T. Candin family antifungal agents micafungin (FK463) modulates the inflammatory cytokine production stimulated by lipopolysaccharide in THP-1 cells. *Translational Res.* 148: 207-213, 2006.

2. 学会発表

- 1) 根来英樹、岩崎博道、木下圭一、高木和貴、河合泰一、吉田 明、上田孝典、浦崎芳正、山下政宣、島津光伸. 血液疾患の敗血症合併例におけるマイクロアレイを用いた遺伝子診断. 2006, 4, 横浜.
- 2) 根来英樹、岩崎博道、木下圭一、高木和貴、浦崎芳正、吉田 明、河合泰一、山下政宣、島津光伸、上田孝典. 血液疾患における敗血症原因菌の DNA 診断と血液培養の比較. 第7回日本検査血液学会学術集会. 2006, 7, 東京.
- 3) Inai K, Iwasaki H, Noriki S, Ikegaya S, Yamashita M, Takimoto N, Kato H, Ueda T, Naiki N. Prevalence of multi-drug resistant bacteria-induced pneumonia in hematological malignancies at the agonal

phase. 10th Western Pacific Congress on Chemotherapy and Infectious Diseases. 2006, 12, Fukuoka.

H. 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

Fig. 1 患者調査票

施設名 _____	科名 _____	医師名 _____
患者イニシアル _____	性別 男 女	
カルテ番号 _____	生年月日 _____	
診断(□ツツガムシ病、□日本紅斑熱): 診断根拠(抗体価など) _____		
発病日(初めて発熱を認めた日) 平成 年 月 日		
推定感染地 _____		
臨床所見(経過の中で症状を認めたものに○印を、また測定値は実測値を記入ください。)		
1. 刺し口 (あり、なし)		
2. 発疹(あり、なし)		
3. リンパ節腫脹 (あり、なし)		
4. 肝腫大 (あり、なし)		
5. 脾腫大 (あり、なし)		
6. 髄膜刺激症状(あり、なし)		
7. 筋肉痛 (あり、なし)		
8. X線上認める肺病変 (あり、なし)		
9. 免疫不全の有無 (あり、なし) ありの場合具体的に()		
10. 最高体温 _____℃		
11. 血清クレアチニン値(最高値) _____mg/dl		
12. 血清GPT (ALT)値(最高値) _____U/l		
13. 白血球数(最低値) _____/ml		
14. 血小板数(最低値) _____/ml		
15. 血清FDP値(最高値) _____mg/ml		
使用した抗生剤名		
抗生剤名 1日投与量	投与開始日(期間)	投与から解熱までの期間(時間or日) 効果
例)ミノマイシン 200 mg	9/22 (14日)	12時間 著効

Table 1 Clinical severity scoring system

1) central nervous system involvement	1
2) severe myalgia	1
3) radiographically documented pulmonary involvement	1
4) elevated creatinine level: 1.5-3.5 mg/dl	1
: >3.5 mg/dl	2
5) elevated serum transaminase (ALT) level: 41-100 IU/L	1
: > 100 IU/L	2
6) hepatosplenomegaly	1
7) thrombocytopenia with PLT counts: 100-149 x 10 ⁹ /L	1
: < 100 x 10 ⁹ /L	2
8) elevated level of FDP	1

The score was calculated as the sum of different point values assigned to specific criteria. These scores, with possible total points ranging from 0 to 11, were determined on the basis of laboratory data and major symptoms on admission.

Table 2 Profiles and symptoms of patients with tsutsugamushi disease

Pt No.	Age	Sex	Eschar	Lymphadenopathy	Clinical day ^{*1}	Severity score	Severe complication(s)
1	63	M	+	+	9	2	
2	52	M	+	+	1	4	
3	73	M	+	-	10	6	DIC ^{*2} , meningeal symptom
4	64	F	+	+	7	6	DIC
5	68	M	+	+	5	3	
6	74	M	+	+	16	3	meningeal symptom, severe myalgia
7	84	F	+	-	5	3	
8	75	F	+	-	6	4	DIC
9	67	F	+	-	7	2	

^{*1}Clinical day: We assigned the day fever appeared as onset, and clinical days means the days after onset.

^{*2}DIC: disseminated intravascular coagulation

Table 3 Laboratory data on patients with tsutsugamushi disease

Pt No.	WBC ($\times 10^9/L$)	PLT ($\times 10^9/L$)	ALT (IU/L)	antibody titer*	serotype of <i>O. tsutsugamushi</i>
1	6.9	137	51	1:320	Gilliam
2	2.7	97	148	1:1,280	Karp
3	3.9	67	307	1:1,280	Karp
4	5.0	46	118	1:10,240	Karp
5	6.9	137	364	1:20,480	Karp
6	6.3	178	61	1:2,560	Karp
7	5.6	52	45	1:2,560	Karp
8	5.0	10	40	1:5,120	Karp
9	9.8	110	68	1:640	Karp

* A diagnosis of tsutsugamushi disease was made upon determination of a fourfold rise in antibody titer to *O. tsutsugamushi* (Gilliam or Karp type) in serum as detected by an indirect immunoperoxidase assay performed on paired serum samples collected during the acute and convalescent phase. The titers indicated here were maximums during clinical course.

Table 4 Changes in mean concentrations (pg/ml) of five different cytokines in sera during anti-rickettsial treatment of patients with tsutsugamushi disease in Yamagata Prefecture.

Cytokines	acute phase	convalescent phase
IFN- γ *	41.0 \pm 58.6	0.99 \pm 2.40
IL-4	1.87 \pm 3.16	1.11 \pm 1.18
IL-10*	71.7 \pm 51.6	5.01 \pm 5.94
IL-12*	588 \pm 189	186 \pm 38
TNF- α	0.82 \pm 0.53	9.12 \pm 11.0

Cytokine concentrations (mean \pm SD) were measured by ELISA. The limits of assay sensitivity were as follows: 0.12 pg/ml for TNF- α ; 0.78 pg/ml for IL-10; 0.27 pg/ml for IL-4; 0.8 pg/ml for IL-12; 2.0 pg/ml for IFN- γ . *p < 0.01 was used as the criterion of significance.

Table 5 Changes in mean concentrations (pg/ml) of five different cytokines in sera during anti-rickettsial treatment of patients with tsutsugamushi disease in Wakayama Prefecture.

Cytokines	acute phase	convalescent phase
IL-10*	3.12 ± 2.61	0.16 ± 0.31
IL-12*	84.8 ± 18.4	45.9 ± 16.9
TNF-α*	3.51 ± 1.67	1.19 ± 0.76

Cytokine concentrations (mean ± SD) were measured by ELISA. The limits of assay sensitivity were as follows: 0.12 pg/ml for TNF-α; 0.78 pg/ml for IL-10; 0.8 pg/ml for IL-12. *p < 0.01 was used as the criterion of significance.

Table 6 Cytokine concentrations (pg/ml) in serum of a case of Japanese spotted fever in Mie Prefecture.

Cytokines	TNF-α	IL-10	IL-12
acute phase	1.225	0.078	56.93
convalescent phase	0.936	0	35.82

Cytokine concentrations (mean ± SD) were measured by ELISA.