

C. 研究結果

2008年3月、インドネシアのバリ島から帰国した2名の青年が、発疹をともなう熱性疾患を発症し、当初デング熱等の蚊媒介の感染症が疑われた。その後、検査でそれらの感染症が否定されるとともに、一例は経過観察、無治療で軽快し、もう一例は発疹の出現とミノサイクリンが著効を示したため、リケッチア症を疑うことになった。

症例1：23歳日本人男性、主訴は発熱・血尿・頭痛。平成20年1月～3月バリ島にサーフィン等のため滞在し、ゲストハウスやホテルに宿泊、一箇所では鼠を数匹目撃している。3月、帰国9日目に悪寒、戦慄と共に血尿を認め、近医を受診し、抗菌薬を処方され、帰宅。その後も発熱持続し、頭痛出現したため救急車にて近医搬送、マラリア疑いで国際医療センターに転院となった。翌日に発疹が全身に出現したため、リケッチア感染を考え、感染研に血液検体および皮膚検体を提出。PCRにて*R. typhi*遺伝子検出、発疹熱群リケッチアに対する抗体価の有意上昇にて発疹熱と診断された。ミノサイクリンの点滴投与で速やかに解熱し経過は良好であった。

症例2：23歳日本人男性、主訴は発熱・頭痛。同年3月、バリ島にサーフィンのため滞在。ホテルや、一般住宅に宿泊。帰国後3月末発熱(38℃以上)と頭痛を発症し受診時、発熱38.8℃、関節痛、食欲不振、頭痛、前胸部と右前腕に発疹あり。患者は外来経過観察のみで自然軽快。国立感染症研究所にて血清から*R. typhi*遺伝子を検出。その後抗体価の有意な上昇を確認した。

以上のように1例目は比較的症状が強く入院でミノサイクリンの治療で軽快しているが、2例目は軽症で、無治療で自然軽快している。

D. 考察

発疹熱は古くから世界中で散発的な流行があり、血清疫学、症例報告、旅行者の輸入例等の報告から、発疹熱の発生の危険のある浸淫地帯は熱帯、亜熱帯、温帯と広域で、その沿岸、港湾地帯で発生が見られる。

継続的な報告データが得やすい米国本土では、テキサス州、カリフォルニア州、ハワイ州に患者が多く見られ、テキサス州で毎年9～72例、カリフォルニア州では毎年3～21の発疹熱患者が報告されている。ハワイ州では毎年5、6例の報告があるが、2002年には、1947年以降では最多の47例が報告されている。アジアにおいては、1950年代のフランス植民地時代に、ベトナムにおける発疹熱について多くの報告があり、ベトナム戦争中の1960年代には駐留する米国軍人の間に発生がみられている。また、東南アジアを中心としたアジア地域における熱性疾患の患者の多くが発疹熱であったことが、近年の血清疫学的調査によって報告されている。

わが国では1950年代以降、4例の報告があり、対馬(1977)、福井県(2001)、島根県(1998)、徳島県(2004)での各1例が、国内で感染し発症している。

発疹熱は今回の2症例のように、1例目は比較的症状が強く入院でミノサイクリンの治療で軽快しているが、2例目は軽症で、無治療で自然軽快している。いずれの症状も特異的なものではなく、他の熱性疾患やリケッチア症との鑑別診断が困難であり、実際には相当数が見落とされている可能性もあると考えられる。

実験室診断において、血清学的には間接蛍光抗体法がもっとも用いられているが、発疹熱群、紅斑熱群それぞれ、共通抗原に対する抗体が強く、群内の各種において交差反応するため、抗体価に差がみられない場合は吸収試験をする必要があるが、国内では一般的ではない。しかしながら、今回、遺伝子検出により感染していたリケッチアの遺伝子配列まで決定できたことが確定につながった。同時に血清診断で発疹熱群に対する抗体上昇が確認されたことか

ら、合わせて発疹熱と確定された点では初事例となる。紅斑熱群を含む他のリケッチア症においても、適切な検体を血清診断と同時に、遺伝子検出に供することにより、より正確に鑑別診断が実施可能である。このことから、遺伝子診断に適する検体の検討と臨床医にその適切な検体採取のための情報発信を行うことが重要である。

今回の2事例においては、近い時期に同国を旅行し、ほぼ同時期に連続して明らかになったことから、海外危険情報として厚生労働省からも注意喚起がなされた。同年の秋に中国海南島より帰国した旅行者が発疹熱と確認されたことは情報発信が行われていたことが一因と考えている。

E. 結論

今後の課題として、輸入例に関しては、特にリケッチア症の流行地への訪問や野外活動の予定のある旅行者や、それに関わる旅行会社等に対する本疾患への啓発が求められる。また検疫所での発熱チェック疾患として本症を周知させることも重要であろう。医療関係者に対して、本症への認知を高め、旅行歴の聴取等の励行を望み、適切な鑑別診断の選択を実施可能とする必要がある。国内の実態は不明な点が多いが、将来の感染症法指定疾患への追加も視野にいたれた実態調査と、より簡便な診断法の開発と普及が課題である。

G. 研究発表

1. 論文発表

Takada N, Fujita H, Kawabata H, Ando S, Sakata A, Takano A, Chaithong U. *Rickettsia japonica* in Thailand. *Emerging Infectious Diseases*. (In press)

Takano A, Ando S, Kishimoto T, Fujita H, Kadosaka T, Nitta Y, Kawabata H, Watanabe

H. Novel Ehrlichia sp. found in *Ixodes granulatus* infested to rodents in Okinawa, Japan. *Microbiology and Immunology*. (In press)

岸本寿男, 安藤秀二. クラミジア感染症. 新臨床内科学 (第9版) 1337-1339, 2008年12月

安藤秀二, 坂田明子, 岸本寿男. 発疹熱, 化学療法の領域, 24: 1636-1640, 2008

岸本寿男. 発疹熱. ワールドフォーカス, 111: 1-1, 2008

2. 学会発表

安藤秀二, リケッチア症の国内の現状と課題, 平成20年度希少感染症診断技術研修会, 2009年2月, 東京

安藤秀二, 坂田明子, 宇根有美, 五箇公一, 藤田博己, 花岡 希, 高野 愛, 川端寛樹, 岸本寿男. 輸入爬虫類が病原体を持ち込むリスクに関する考察. 第26回日本クラミジア研究会・第15回リケッチア研究会合同学術集会. 2008年11月. 岐阜.

岸本寿男, 安藤秀二, 猪熊壽, 岩崎博道, 大橋典男, 岡部信彦, 川端寛樹, 倉田毅, 高田伸弘, 堤寛, 田原研司, 藤田博己, 古屋由美子, 山本正吾. リケッチア感染症の早期警鐘システム構築-国内実態調査及び早期診断体制の確立に向けた現状と課題. 第26回日本クラミジア研究会・第15回リケッチア研究会合同学術集会. 2008年11月. 岐阜.

鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己, 坂田明子, 武藤麻紀, 高野愛, 山内健生, 川端寛樹, 安藤秀二, 岸本寿男. 鳥類外部寄生虫からの病原体の検出-鳥類標識調査を主とした外部寄生虫採集-. 日本鳥学会2008年度大会. 2008年9月. 東京.

安藤秀二，発疹熱について，第4回国際感染症
セミナー，2008年6月，東京

安藤秀二，小原真弓，古屋由美子，田原研司，
山本正悟，本田俊郎，坂田明子，花岡希，岸本
寿男，日本におけるリケッチア感染症の現行検
査法に関する検討，第82回日本感染症学会総会，
2008年4月，島根

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

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 tsutsugamushi* Shimokoshi 株検出 PCR の検討

研究分担者	古屋由美子	神奈川県衛生研究所
研究協力者	片山 丘	神奈川県衛生研究所
	宮原香代子	神奈川県衛生研究所
	原田 美樹	神奈川県衛生研究所

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、つづが虫病患者が 12 名確定診断された。つづが虫病患者の感染株は Kawasaki 株 8 名 (66.7%)、Kuroki 株 1 名 (8.3%)、Karp 株 2 名 (16.7%)、不明 1 名 (8.3%) であり、県内の主な感染株は Kawasaki 株であった。また日本紅斑熱患者 1 名の発生が確認された。*Orientia tsutsugamushi* Shimokoshi 株検出 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 Shimokoshi 株が検出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。一方つづ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、*O. tsutsugamushi* Shimokoshi 株を検出するため、PCR 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。

つづが虫病を確定診断するための抗体の測定には、*O. tsutsugamushi* 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。また紅斑熱群リケッチア症を疑う患者については、*R. japonica* に加えて *R. conorii* を抗原として IF を行った。また PCR により *O. tsutsugamushi* DNA 及び *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. Shimokoshi 株検出用プライマーの検討

O. tsutsugamushi Gilliam、Karp、Kato、Kawasaki、Kuroki、Shimokoshi 株を用いた。

Gilliam、Karp、Kato、Kawasaki、Kuroki 株の 5 株すべてが増幅できる 1stPCR 用プライマー 34(p34)とプライマー55(p55)、2ndPCR 用プライマー 10(p10)とプライマー 11(p11)および Shimokoshi 株のみ増幅するプライマーを用いて、Shimokoshi 株を検出する PCR の検討を行った。

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 12 名発生が確認され (図 1)、日本紅斑熱患者も 1 名の発生が確認された。

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) 及び急性期の抗体検出 (IgM 抗体価が 80 倍以上) により 10 名がつつが虫病と診断された。IF で陽性であった 10 名のうち PCR で *O. tsutsugamushi* が検出されたものが 9 名であった。また PCR で *O. tsutsugamushi* が検出され、確定したものが 2 名あった。(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、県内のつつが虫病の感染株の検討を行った。その結果 2008 年は Kawasaki 株 8 名 (66.7%)、Kuroki 株 1 名 (8.3%)、Karp 株 2 名 (16.7%)、不明 1 名 (8.3%)、その大部分が Kawasaki 株であった (表 2)。

また発生時期は 10 月 4 名、11 月 7 名、12 月 1 名で 11 月が 58.3% を占めていた。

9 月に発生したリケッチア症患者について *R. japonica* を抗原として IF を行うとともに、

PCR により *R. japonica* の検出を行った。急性期 IgM 抗体価が 10 倍検出され、その後 40 倍、80 倍と上昇したが、IgG 抗体は検出されなかった。また急性期の血液の PCR により *R. japonica* DNA が検出され、日本紅斑熱と確認された (表 3)。

また 11 月にアフリカのボツアナから帰国後、リケッチア症様の症状を呈した患者の血清について *R. japonica* と *R. conorii* を抗原として IF により抗体価を調べた。急性期の IgM 抗体と IgG 抗体は *R. japonica* と *R. conorii* ともに検出されなかった。その後も IgM 抗体は検出されなかったが、IgG 抗体価は *R. japonica* と *R. conorii* ともに 320 倍以上と上昇し、紅斑熱群リケッチア症と確認された。しかし、刺し口周辺の皮膚切片から遺伝子検出を試みたが、リケッチア遺伝子は検出されず、病原リケッチアは特定されなかった (表 4)。

2. Shimokoshi 株検出用プライマーの検討

O. tsutsugamushi 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 Shi1 (5'-CTGCCCTTGCCCCCTGA ACTA-3') と Shi4 (5'-CTCAGAAATTTGAAC GGA -3') を作製した。Shimokoshi 株は p34 と Shi1 による 1stPCR で約 1,000bp、p10 と Shi4 による 2ndPCR で 436bp の DNA が増幅された。しかし Gilliam、Karp、Kato、Kawasaki、Kuroki 株の DNA は増幅されなかった。これらのプライマーにより Shimokoshi 株が検出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、全国の発生数はわずかに増加していたが、神奈川県では2008年の患者数12名と2007年の25名の半数と減少した(図1)。この減少理由については不明である。

神奈川県では1992年以降はじめて日本紅斑熱患者が1名確認され、これは県内3例目であった。今後も県内の日本紅斑熱患者の発生動向の把握と、媒介マダニについても調査が必要であると思われる。

海外から帰国したリケツチア症患者についても検査する必要がある、*R. japonica*以外の紅斑熱群リケツチアを検査する体制を整える必要があると思われる。

感染症発生動向調査感染症週報によると、東海関東以北地域でのつつが虫病患者の届出の多い県は、福島県67名、千葉県32名であったが、日本紅斑熱患者は千葉県7名、宮城県1名、神奈川県1名の届出であった。宮城県で日本紅斑熱患者の発生があったことから、東海関東以北地域での日本紅斑熱患者発生に注意をする必要があると思われる。

O. tsutsugamushi Shimokoshi株検出PCRが可能になったことから、今後患者血液を用いてデータの集積が必要であると考えられた。

E. 結論

1. 結論

神奈川県におけるリケツ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12名の発生および日本紅斑熱患者1名の発生が確

認された。つつが虫病患者は10月から12月に発生し、11月が58.3%を占めていた。患者の主な感染株はKawasaki株であった。

O. tsutsugamushi Shimokoshi株検出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Shimokoshi株の検出が可能であることが示された。

2. 課題

東海関東以北地域でのリケツチア症の検査では、つつが虫病については検査体制の整っている地方衛生研究所等が多いが、発生数が少ない日本紅斑熱については検査を行っている地方衛生研究所等は少数である。宮城県で患者発生が確認されたことから、今後、東海関東以北地域でも日本紅斑熱についても検査体制を整えていく必要があると思われる。また、*R. japonica*以外の紅斑熱群リケツチアについても検査する体制を整える必要がある。そのための、コントロールの提供などを含め国立感染症研究所と地方衛生研究所等の連携がさらに重要であると考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 原田美樹、片山丘、宮原香代子、古屋由美子 神奈川県におけるつつが虫の発生状況(平成19年度)

神奈川衛研報告 2008; 38: 75-77

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

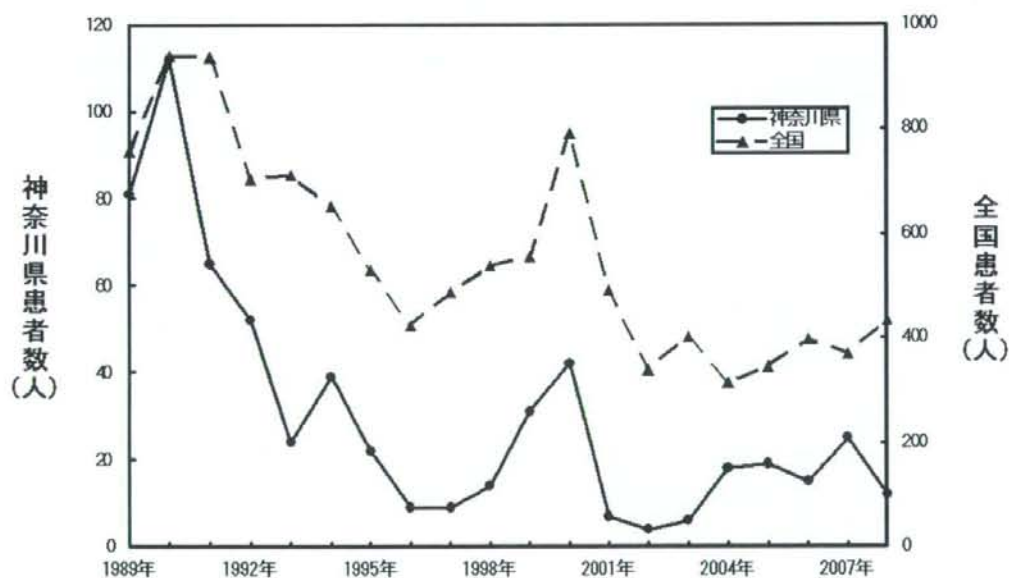


図1 つつが虫病患者発生状況

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
2007	34	3	18	4	25
2008	23	1	9	2	12
合計	167	22	74	8	110

*: 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	不明
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	
2007	25	1	19	5	
2008	12	2	8	1	1
合計	106	7	76	22	1
		43.6	71.7	20.8	0.9 (%)

表3 神奈川県内の日本紅斑熱患者のIFおよびPCR結果

採血月日	<i>R.japonica</i>		PCR
	IgM	IgG	
10月5日	10	<10	陽性
10月22日	40	<10	
11月7日	80	<10	

表4 海外で感染した患者のIFおよびPCR結果

採血月日	<i>R.japonica</i>		<i>R.conorii</i>		PCR*
	IgM	IgG	IgM	IgG	
11月22日	<10	<10	<10	<10	陰性
11月29日	<10	≥320	<10	≥320	
12月13日	<10	≥320	<10	≥320	

*刺し口の周辺の皮膚切片を使用

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（2008年）
 - 2008年島根県で発生した日本紅斑熱患者のダニ刺し口の痂皮の検査試料としての評価 -

研究分担者	田原研司	島根県保健環境科学研究所	
研究協力者	保科 健	島根県保健環境科学研究所	
	板垣朝夫	前島根県保健環境科学研究所	
	高尾信一	広島県立総合技術研究所	
	島津幸枝	広島県立総合技術研究所	
	葛谷光隆	岡山県環境保健センター	
	藤井理津志	岡山県環境保健センター	
	松本尚美	鳥取県衛生環境研究所	
	山本保男	徳島県保健環境センター	
	西條和芳	徳島県保健福祉部	
	松本道明	高知県衛生研究所	
	池野宏彦	高知県衛生研究所	
	山下育孝	愛媛県立衛生環境研究所	
	山内健生	富山県衛生研究所	
	古屋由美子	神奈川県衛生研究所	(研究分担者)
	片山 丘	神奈川県衛生研究所	
	山本正悟	宮崎県衛生環境研究所	(研究分担者)
	新井 智	国立感染症研究所感染症情報センター	
	川端寛樹	国立感染症研究所細菌第一部	(研究分担者)
	安藤秀二	国立感染症研究所ウイルス第一部	(研究分担者)
	角坂照貴	愛知医科大学	
	藤田博己	大原総合病院附属大原研究所	(研究分担者)
	矢野泰弘	福井大学医学部	
	高田伸弘	福井大学医学部	(研究分担者)
	馬原文彦	徳島県阿南市馬原医院	
	岸本寿男	国立感染症研究所ウイルス第一部	(研究代表者)

研究要旨：2008年の中国・四国地域におけるリケッチア症（つつが虫病・日本紅斑熱）の患者発生はつつが虫病28例、日本紅斑熱33例であった。2007年、はじめて日本紅斑熱患者報告のあった鳥取県東部地域で2008年には2例報告された。つつが虫病は広島県（15例）、日本紅斑熱は島根県（14例）からの報告が最も多かった。一方、つつが虫病・日本紅斑熱ともに、岡山県・香川県からの患者報告はなかった。

2008年の島根県における日本紅斑熱患者14例の内、ダニ刺し口の痂皮（7検体）と全血（6検体）、血餅（5検体）について、*Rickettsia*属17 kDa領域のPCR検査試料としての比較評価をおこなった。結果、痂皮については7検体（第3～11病日）すべてPCR陽性となり、全血に

については6検体中3検体がPCR陽性、血餅は5検体全て陰性となった。すなわち、日本紅斑熱の実験室診断における最適な試料は痂皮が最適と判断された。

2006～2008年における本研究により、中国・四国地域におけるリケッチア症の発生実態の全容が概ね把握できたと考える。よって、今後は住民・医療機関・行政機関等へのリスクコミュニケーションを実施し、積極的に発生予防の啓発・警鐘に務めたい。

A. 研究目的

中国・四国地域のリケッチア症の発生状況および、日本紅斑熱患者のダニ刺し口の痂皮のPCR検査試料としての評価を行った。

さらに、リケッチア症予防啓発のための取り組みの実施状況(2008年)を紹介する。

B. 研究方法

1. 患者の発生状況(2008年)および推定感染地域

国立感染症研究所感染症情報センターおよび中国・四国各県における感染症情報センターが発信する情報資料(参考文献:1～11)からデータを抽出した。

2. 島根県における日本紅斑熱患者のダニ刺し口の痂皮、全血および血餅からの *Rickettsia* 属 17kDa 蛋白遺伝子の検出およびつつが虫病患者の血餅からの *Orientia tsutsugamushi* 56kDa 蛋白遺伝子を試みた。

①検査試料

2008年、島根県における日本紅斑熱患者14例中、医療機関より提供のあったダニ刺し口の痂皮7検体、全血6検体および血餅5検体を用いた。また、同様に同年の島根県におけるつつが虫病患者2例の血餅を用いた。

②試料の前処理

痂皮

1.5ml マイクロチューブに10%プロテネースK(D2W)200μlと痂皮を入れ、50℃、2hrヒ

ートブロックにて加温処理、30分に一度ボルテックスにて攪拌し、痂皮を完全に溶解した。

全血(EDTA含)

3,000rpm, 10min, 4℃にて遠心した後、パフイーコート部分を200μlマイクロピペットで採取した。

血餅

約2倍量のPBS(-)を加え、ガラスホモゲナイザーで乳剤を作成し、1,000rpm, 5min, 4℃で遠心後、その上清200μlを使用した。

③DNA抽出

Generation Capture Column Kit (Qiagen社製)を用いてDNAを抽出した。

④ *Rickettsia* 属遺伝子の検出(PCR)

リケッチア感染症診断マニュアルに従い、*Rickettsia* 属 17kDa 蛋白遺伝子を増幅するプライマーR1/R2(約530bp)を用いて行った。なお、PCR増幅は40cycle行った。1stPCR反応後、増幅DNAバンドが検出できない場合には、反応液1μlをTemplate DNAとして1stPCRと同一の条件下で2ndPCRを実施した。

⑤ *Orientia tsutsugamushi* 遺伝子の検出(PCR)

リケッチア感染症診断マニュアルに従い、*Orientia tsutsugamushi* 56kDa 蛋白遺伝子を増幅するプライマー(1st:34/35, 2nd:10/11)(約500bp)を用いて行った。

⑥増幅産物の確認

反応液の一部(4μl)を1.5%アガロース電気泳動し、エチジウムブロマイド染色によりDNA増幅バンドを認めた場合、ゲルから切り出し、QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen社製)を用いてDNAを精製した。精製DNAは、サイクルシーケンシングした後、エタノール

/EDTA/Sodium Acetate 沈殿法で再度精製し、ABI3130 シークエンスアナライザーを用いたダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。

3. 2008 年におけるリケッチア症予防啓発の取り組みを紹介する。

参考文献他

- 1) 国立感染症研究所 感染症情報センターホームページ
- 2) 島根県感染症情報センターホームページ
- 3) 鳥取県感染症情報センターホームページ
- 4) 広島県感染症情報センターホームページ
- 5) 岡山県感染症情報センターホームページ
- 6) 愛媛県感染症情報センターホームページ
- 7) 高知県感染症情報センターホームページ
- 8) 徳島県感染症情報センターホームページ
- 9) 山口県感染症情報センターホームページ
- 10) 香川県感染症情報センターホームページ
- 11) 高知県衛生研究所ホームページ; 高知県における日本紅斑熱の疫学, 2005
- 12) リケッチア感染症診断マニュアル, 国立感染症研究所 (レファレンス委員会)・地方衛生研究所全国協議会, 2000.

C. 研究結果

1. 患者の発生状況 (2008 年)

つつが虫病は、広島県で 15 例、高知県で 5 例、島根県で 3 例、鳥取県・徳島県で各 2 例および山口県で 1 例の報告があった (図 1)。2007 年の報告数より 18 例増加し、患者は平成 18、19 年度報告書と同様な地域で認められた。

日本紅斑熱は、島根県で 14 例と最も多く、

次いで高知県で 6 例、愛媛県で 5 例、広島県 4 例、鳥取県で 2 例の報告があった (図 2)。2007 年の報告数より 9 例増加し、患者は平成 18、19 年度報告書とほぼ同様な地域で認められた。特に、2008 年も鳥取県東部で同一地域における患者 2 例の発生を認めた。また、患者報告の最も多い島根県においては、従来の患者発生が多発している島根半島西部に位置する弥山山地以外に、その東側 (弥山山地東端～約 10km 程度) や南側の平野部でも発生がみられた。一方、高知県においても多発地域以外での患者報告がみられた。

なお、2006～2008 年の 3 ケ年で、つつが虫病・日本紅斑熱ともに患者報告が無かったのは、香川県のみであった。(図 1, 2)

2. 島根県における日本紅斑熱患者のダニ刺し口の痂皮、全血および血餅における *Rickettsia* 属 17kDa 蛋白遺伝子の検出の試み 日本紅斑熱症例 (11 症例)

痂皮 7 検体 (第 3 病日 2 例、第 4 病日 2 例、第 5 病日 1 例、第 7 病日 1 例、第 11 病日 1 例) すべて *Rickettsia* 属 17kDa 領域 (プライマー R1/R2) を検出する PCR 陽性となった。全血 6 検体 (第 3 病日 1 検体、第 4 病日 1 検体、第 5 病日 2 検体、第 10 病日 1 検体、第 11 病日 1 検体) のうち、3 検体 (第 4 病日 1 検体、第 5 病日 2 検体) が PCR 陽性となった。血餅 5 検体 (第 2 病日 1 検体、第 3 病日 1 検体、第 4 病日 1 検体、第 5 病日 1 検体、第 7 病日 1 例) はすべて PCR 陰性となった。PCR 陽性 DNA (約 500bp) はダイレクトシーケンスにて塩基配列を決定したところ、*R. japonica* と 100% 一致した。(表 1)

つつが虫病症例 (2 例)

血餅 2 検体 (第 11 病日) とも *O. tsutsugamushi* 56kDa 領域を検出する PCR 陽性となった。PCR 陽性 DNA (約 500bp) はダイレクトシーケンスで塩基配列を決定したところ、Karp 型 (JP-2) であった。(表 2)

3. 2008 年におけるリケッチア症予防啓発の取り組み状況

高知県や徳島県においては、従前よりリケッチア症予防啓発のためのリスクコミュニケーションや調査等を積極的に実施している。2008 年は四国 4 県の衛生研究所を中心とした連携事業において、日本紅斑熱啓発パンフレットを作成中である。また、広島県でも地元医師会と共同してリケッチア症予防啓発リーフレットを作成し、日本紅斑熱の発生地域での啓発を行っている。(別添啓発リーフレット参照) 近年、高知県および徳島県における日本紅斑熱の患者報告が減少していることを附記する。

D. 考察および E. 結論

1. 日本紅斑熱患者のダニ刺し口の痂皮の検査試料としての評価

今回、2008 年に島根県で発生した日本紅斑熱患者の痂皮、全血および血餅について PCR 検査を実施したところ、痂皮は 7 検体(第 3 ～ 11 病日)すべてから *Rickettsia* 属 17 k Da 領域(プライマー R1/R2)が検出され、全血ならび血餅の成績と比較して極めて有用であると判断された。迅速性に欠けるペア血清での抗体検査法に替わる方法として、今後の活用が望まれる。しかし、臨床検体からの PCR 検査のみでは、検出された遺伝子のハイブリを担保できていない。そこで、Taq-man(probe) Real-time PCR 法(他の研究分担者が開発)を用いることで、迅速且つ確実な検査診断が可能になると考える。また、急性期に検体を採取できなかった場合でも、痂皮からの遺伝子検出によって、明確な検査診断を得ることが出来る。

今後は、これらの新たな検査手法を普及さ

せるために、国立感染症研究所および全国地方衛生研究所におけるリケッチア検査リファレンス体制の構築が求められる。

2. 地方衛生研究所の役割

3 年間の本研究班活動により、リケッチア症(つづが虫病・日本紅斑熱)は従来の発生地域以外に、新たな発生地域(ホットスポット)を多数発見・確認できた。そのため、全国におけるリケッチア症の発生実態(全容)を把握できつつあると判断されるが、同時に症例報告が毎年増加してきており、感染予防啓発のための早急な種々対策が必要とされる。さらに、早期診断・早期治療により症例の重症化を防ぐためにも、迅速な検査体制の構築と、全国の医療機関におけるリケッチア症認知度の向上と併せ、早期治療の必要性を医療者に対しても啓発する必要があると考える。

全国の地方衛生研究所は、リケッチア症の検査診断のみならず、それぞれの地域に沿った疫学情報(感染リスク)を住民へ提供するとともに、感染予防の啓発を積極的に実施する必要がある、それには感染症法上における住民への具体的な施策等の実施主体者である全国各地の保健所ならび市町村担当部局とも協同(地域に根ざした)した啓発・警鐘活動が望まれる。

つづが虫病および日本紅斑熱はダニ類媒介性感染症である。ダニ類の生息相はそのライフサイクルから野生動物の生息・生態に大きく影響を受けていることを昨年、島根県(島根半島)の状況を例に報告した。今後も、ヒトに対するリケッチア症の感染リスクを的確に把握するための疫学調査が、全国それぞれの地域的特色に沿って、実施されることが望まれる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 山内健生・宮本大右・古川真理 (2008) 宇和海島嶼 (九島, 嘉島, 戸島, 日振島) における哺乳類の分布. 日本生物地理学会会報, 63: 13-20.

- 2) Yamauchi, T. & Kuroki, T. (2009) Occurrence of epidermoptid mites (Acari: Astigmata: Epidermoptidae) in Japan, with its hyperparasitic record on the louse fly *Ornithomya avicularia aobatonis* (Diptera: Hippoboscidae). *Comparative Parasitology*, 76(1): 93-99.

2. 学会発表

- 1) 田原研司、藤田博己、新井智、矢野泰弘、高田伸弘、片山丘、川端寛樹. 島根県におけるダニ媒介性感染症の実態と病原体の浸淫状況; 第82回日本感染症学会総会. 島根県松江市, 平成20年4月17, 18日.

- 2) 田原研司; 中国・四国地域における日本紅斑熱-発生地域と媒介マダニの多様化-; 第60回日本衛生動物学会. 栃木県下野市, 平成20年4月17~19日

- 3) Kenji Tabara, Hiromi Fujita, Yasuhiro Yano, Satoru Arai, Hiroki Kawabata and Nobuhiro Takada. Survey of acari-born emerging/reemerging rickettsiae in Shimane Prefecture facing the Asian continent, with reference to the geopathological significance in countries around East China Sea; 5th International Meeting on Rickettsiae and Rickettsial Disease. May 18-20, 2008, Marseille France

- 4) 田原研司、花岡希. 島根半島のリケッチア症疫学; 第16回ダニと疾患のインターフェース. 和歌山県田辺市, 平成20年5月31日~6月2日

- 5) 田原研司、高塚純子、藤田博己. 日本紅斑熱

患者およびその刺咬マダニからの *Rickettsia japonica* 検出; 第63回日本衛生動物学会西日本支部大会. 神戸市, 平成20年11月2, 3日.

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 |

図1 中国・四国(各県毎)につつが虫病報告状況(2006～2008)

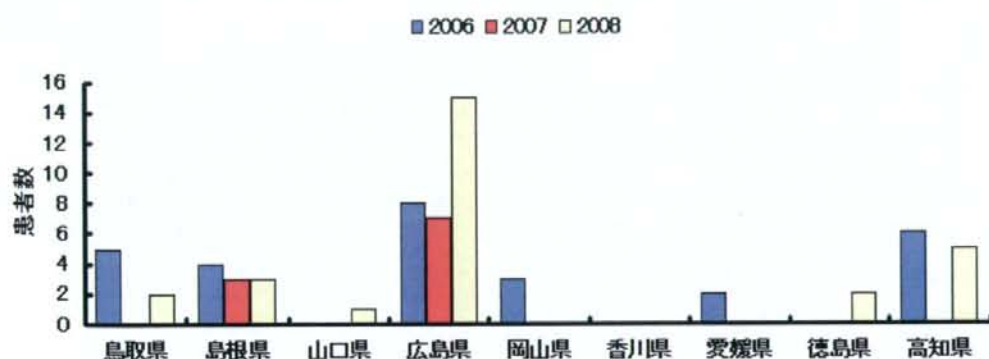
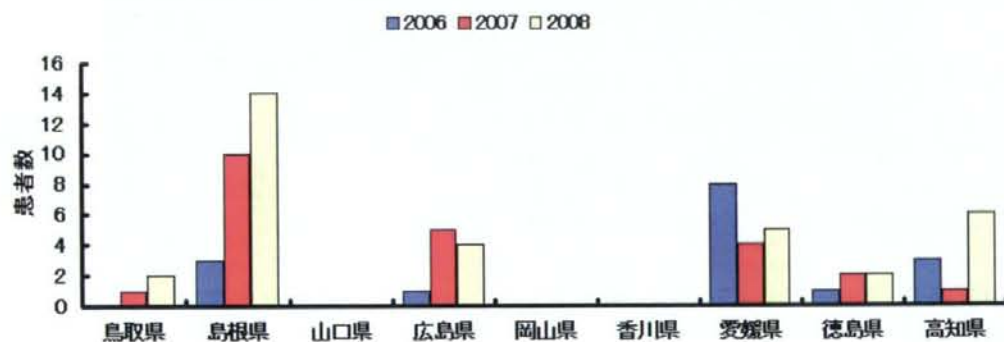


図2 中国・四国(各県毎)に日本紅斑熱の報告状況(2006～2008)



病日	痲皮(7症例)	全血(6症例)	血餅(5症例)
2	NT	NT	-
3	+	-	NT
3	+	NT	-
4	+	+	NT
4	+	NT	-
5	+	+	NT
5	NT	+	NT
5	NT	NT	-
7	+	NT	-
10	NT	-	NT
11	+	-	NT

表1 2008年島根県の日本紅斑熱患者からの *Rickettsia* 属
17KDa 遺伝子(PrimerR1/R2領域)検出

+:ダイレクトシーケンスで *R.japonica* と100%一致を確認

NT;Non Test

病日	血餅(2症例)
11	+
11	+

表2 *Orientia tsutsugamushi* 56KDa 遺伝子(Primer10/11領域)検出

+:ダイレクトシーケンスにて2例ともKarp型(JP-2)と確認

広島県の つつが虫病と日本紅斑熱

Q1 つつが虫病や日本紅斑熱ってどんな病気ですか？

A1 つつが虫病は、ツブサガ属に属する *Cimex indigaster* というツブサガが、また日本紅斑熱はツブサガの一種である *Chlamydochaeta japonica* というツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。

Q2 どのようにして感染するのですか？

A2 つつが虫病の媒介はツブサガ属に属する *Cimex indigaster* というツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。一方、日本紅斑熱の媒介は、主に *Chlamydochaeta japonica* というツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。このツブサガは、刺山、刺、汗臭い臭い、冬に冬も生息しています。そのほか、ツブサガが媒介する日本紅斑熱の媒介は、主に *Chlamydochaeta japonica* というツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。このツブサガは、刺山、刺、汗臭い臭い、冬に冬も生息しています。そのほか、ツブサガが媒介する日本紅斑熱の媒介は、主に *Chlamydochaeta japonica* というツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。

Q3 つつが虫病や日本紅斑熱の症状はどのようなものですか？

A3 つつが虫病の症状は、主にツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。一方、日本紅斑熱の症状は、主に *Chlamydochaeta japonica* というツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。このツブサガは、刺山、刺、汗臭い臭い、冬に冬も生息しています。そのほか、ツブサガが媒介する日本紅斑熱の媒介は、主に *Chlamydochaeta japonica* というツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。このツブサガは、刺山、刺、汗臭い臭い、冬に冬も生息しています。そのほか、ツブサガが媒介する日本紅斑熱の媒介は、主に *Chlamydochaeta japonica* というツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。

Q4 確定診断はどこで出来るのですか？

A4 確定診断は、広島県立総合医療センターで出来ます。つつが虫病の確定診断は、一部の民間検査センターでも出来ます。一方、日本紅斑熱については、広島県内でいくつかの民間検査センターでも出来ます。

Q5 治療はどのように行いますか？

A5 つつが虫病、日本紅斑熱ともに、冬に媒介のバネダマダマダが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。また、日本紅斑熱の媒介は、主に *Chlamydochaeta japonica* というツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。

Q6 広島県内での患者の発生状況は、どうですか？

A6 つつが虫病については、広島県内では、主にツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。一方、日本紅斑熱については、広島県内では、主に *Chlamydochaeta japonica* というツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。このツブサガは、刺山、刺、汗臭い臭い、冬に冬も生息しています。そのほか、ツブサガが媒介する日本紅斑熱の媒介は、主に *Chlamydochaeta japonica* というツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。



Q7 予防はどうすれば良いですか？

A7 つつが虫病や日本紅斑熱は、冬に媒介のバネダマダマダが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。また、日本紅斑熱の媒介は、主に *Chlamydochaeta japonica* というツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。このツブサガは、刺山、刺、汗臭い臭い、冬に冬も生息しています。そのほか、ツブサガが媒介する日本紅斑熱の媒介は、主に *Chlamydochaeta japonica* というツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。

Q8 これらの病気を診断した医師はどうしなければいけないのでしょうか？

A8 つつが虫病や日本紅斑熱は、冬に媒介のバネダマダマダが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。また、日本紅斑熱の媒介は、主に *Chlamydochaeta japonica* というツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。このツブサガは、刺山、刺、汗臭い臭い、冬に冬も生息しています。そのほか、ツブサガが媒介する日本紅斑熱の媒介は、主に *Chlamydochaeta japonica* というツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。

血精診断のための検体採取方法と注意

血精診断は、広島県立総合医療センターで出来ます。つつが虫病の血精診断は、一部の民間検査センターでも出来ます。一方、日本紅斑熱の血精診断は、主に *Chlamydochaeta japonica* というツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。このツブサガは、刺山、刺、汗臭い臭い、冬に冬も生息しています。そのほか、ツブサガが媒介する日本紅斑熱の媒介は、主に *Chlamydochaeta japonica* というツブサガが媒介する、冬に媒介のバネダマダマダです。

●お問い合わせ先 ● 広島県立総合医療センター 検査センター 検査科
〒734-8507 広島県広島市東区1-1-1 TEL: 082-255-7131 FAX: 082-255-8042

広島県立総合医療センター 検査センター 検査科

九州地域におけるつつが虫病と日本紅斑熱の発生状況および
つつが虫病と日本紅斑熱の早期診断における刺口（痂皮）の有用性

研究分担者	山本正悟	宮崎県衛生環境研究所
研究協力者	松尾 繁	熊本県保健環境科学研究所
	八尋俊輔	熊本県保健環境科学研究所
	平野 学	長崎県環境保健研究センター
	山口顕徳	長崎県環境保健研究センター
	田原研司	島根県保健環境科学研究所：研究分担者
	片山 丘	神奈川県衛生研究所
	古屋由美子	神奈川県衛生研究所：研究分担者
	本田俊郎	鹿児島県環境保健センター
	御供田睦代	前鹿児島県環境保健センター
	岩切 章	宮崎県衛生環境研究所
	三浦美穂	宮崎県衛生環境研究所
	藤田博己	大原総合病院附属大原研究所：研究分担者
	高田伸弘	福井大学医学部：研究分担者
	矢野泰弘	福井大学医学部
	川端寛樹	国立感染症研究所細菌第一部：研究分担者
	安藤秀二	国立感染症研究所ウイルス第一部：研究分担者
	岸本壽男	国立感染症研究所ウイルス第一部：研究代表者

研究要旨：九州地域はつつが虫病および日本紅斑熱の多発地域として知られており、2008年には宮崎県で初めての日本紅斑熱による死亡例も発生した。この様な状況から、両疾患について、病原体、ベクター、保有動物、患者発生状況等の実態を明らかにし、これらの情報を患者発生の予防に役立てることが重要な課題となっている。また、つつが虫病と日本紅斑熱はいずれも抗菌剤による治療が可能で、早期治療により重症化や死亡例の発生を防止することが可能なため、早期診断法の検討も重要な課題である。

以上の様な観点から、九州地域におけるつつが虫病と日本紅斑熱の患者発生状況を調べるとともに、刺口の痂皮を用いた PCR 法が両疾患の早期診断法として有用か否かを検討し、以下の結果が得られた。

1. 2008 年の九州地域におけるつつが虫病患者の報告数は、鹿児島県 72 例、宮崎県 36 例、大分県 11 例、長崎県 10 例、熊本県 6 例、福岡県 2 例、佐賀県と沖縄県で各 1 例の計 139 例で、全国の患者数（434 例）の 32%を占めた。九州沖縄地域の全ての県で発生が確認されたが、沖縄県からの報告は県内感染の初発例で、宮古島での感染であった。
2. 2008 年の九州地域における日本紅斑熱患者の報告数は、熊本県 18 例、鹿児島県 11 例、宮崎県 7 例、長崎県 2 例の計 38 例で、全国の患者数（132 例）の 29%であった。従来から鹿児島県と宮崎県が多発地として知られていたが、熊本県天草の上島で多発している

ことが確認された。九州地域内地研の連携により、検査依頼の受付け、診断用抗原スライドの提供、技術研修等を実施したことも患者の確認に寄与したと思われる。

3. 2008年4月以降に宮崎県内で感染した日本紅斑熱の患者4例、つつが虫病の患者13例および両疾患を否定された患者3例の計20例の患者から採取された刺口の痂皮を対象に、PCR法によって *Rickettsia japonica* あるいは *Orientia tsutsugamushi* の検出を試みた。その結果を血清診断法による結果と比較したところ、刺口の痂皮を用いたPCR法が両疾患の早期診断法として有用なことが確認された。

A. 研究目的

つつが虫病と日本紅斑熱は、それぞれ *O. tsutsugamushi* と *R. japonica* を病原体とするダニ媒介性の急性熱性発疹性疾患で、感染症法では4類感染症の全数報告疾患に分類されている。

九州地域は、つつが虫病および日本紅斑熱の多発地域として知られており、病原体、ベクター、保有動物、患者発生状況等について調査し、その情報を患者発生の予防に役立てることが重要な課題となっている。また、両疾患ともに抗菌剤による治療が可能であるが、2008年7月に宮崎県初の日本紅斑熱による死亡例が発生しており、このような死亡例や重症例の発生防止に向け、早期診断法の検討も重要な課題となっている。

以上のことから、九州地域におけるつつが虫病と日本紅斑熱の患者発生状況を調べるとともに、刺口の痂皮を用いたPCR法が両疾患の早期診断法として有用か否かの検討を行った。

B. 研究方法

1. 患者発生状況

感染症発生動向調査による報告数を患者数とした。日本紅斑熱の発生地については各地研に問い合わせた。また、実態把握に寄与することを目的に、要望のあった地研に対して、診断用抗原の供給や血清診断法等の研修を実施した。

2. 血清診断

O. tsutsugamushi の5株(Gilliam, Karp, Kato, Kawasaki, Kuroki 株) および *R. japonica* (YH 株) を抗原とした間接蛍光抗体法により血清抗体価を測定した。原則として、ペア血清で抗体価の4倍以上の上昇が確認された場合、血清学的に陽性とした。

また、急性期の血清しか入手できない例では、IgM抗体が検出され、しかもIgM抗体価がIgG抗体価より4倍以上高い場合、血清学的に陽性とした。IgM抗体を検出できない場合には判定不能とした。

3. PCR法による *O. tsutsugamushi* およびリケッチア属リケッチアと *R. japonica* の検出

1) PCR法用検査材料

2008年4月以降に、宮崎県内でつつが虫病あるいは日本紅斑熱の疑いで検査依頼のあった患者のうち、20例から採取された刺口の痂皮および血液(血清分離後の血餅あるいは血漿分離後の白血球層)を検査材料とした。なお、血餅は、バイオマッシャー(ニッピ バイオマトリックス研究所)で処理後、DNAの抽出に供した。

2) PCR法

PCR法は古屋らの方法(J. Clin. Microbiol. 31, 637-1640, 1993)(J. Clin. Microbiol. 33, 487-489, 1995)に準じて実施した。DNAの抽出は、約2mmx2mmの痂皮あるいは100μlの血液材料から、市販のキッ

ト (DNeasy® Blood & Tissue Kits, QIAGEN) を用いて行った。*O. tsutsugamushi* の検出に際しては、56kDa 蛋白質遺伝子を標的とし、2セットのプライマーペア (primer34' / 55' および 10' / 11') を用いた nested PCR を実施した。リケッチア属と *R. japonica* の検出に際しては、それぞれ 17kDa タンパク質遺伝子を標的としたプライマーペア (primerR1/R2 および Rj5/Rj10) を用い、いずれも PCR による増幅を2度繰り返した。

C. 研究結果

1. 患者発生状況

1) つつが虫病

感染症発生動向調査によると、全数把握疾患に指定された 1999 年以降の九州地域における報告数の推移は、図 1 と表 1 に示すとおりであった。2000 年の 329 例を最高に、以後は減少傾向を示し、特に 2005 年と 2006 年には 70 例台にまで減少し、全国の患者数に占める割合も 30~40% から 20% 程度にまで低下した。しかし、2007 年には 113 例 (全国の 30%)、2008 年には 139 例 (同 32%) が報告され、この 2 年間は増加傾向にある。

県別では、鹿児島県と宮崎県の患者数が、依然として九州地域の患者数の 60~80% を占めており、両県の患者数の変動が九州地域の患者数の変動に連動している。また、2008 年には、宮古島で感染した沖縄県における初発例が報告された。

2) 日本紅斑熱

1999 年以降の九州地域における報告数の推移は図 2 と表 2 に示すとおりで、2001 年から連続して患者数が増加している。特に 2007 年からの増加は著しく、年間の報告数が 30 例を越え、2008 年には 38 例となり、全国の患者数の 30% を占めた。また、鹿児島県の大隅半島から宮崎県の南部に至る地域が従来から多発地域として知られているが、2005 年には福岡県で初発例が確認され、2006 年には長

崎県で 7 年ぶりに、熊本県で 4 年ぶりに、それぞれ 2 例目の患者が確認された。両県では、2007 年と 2008 年にも患者の発生が確認されているが、特に熊本県における患者数の増加が著しく、2007 年には宮崎県を上回る 11 例、2008 年には鹿児島県を上回る 18 例が報告されている。

長崎県では、本土域の 2 地域および五島列島での感染が確認されている。また、熊本県では、天草地域と八代地域での感染が確認されているが、天草 (上島) での増加が著しい。

2. 刺口の痂皮を用いた PCR 法の検討

1) つつが虫病での検討

つつが虫病を疑われた 16 例についての痂皮の検査結果等を表 3 に示した。

16 例の痂皮から PCR 法により

O. tsutsugamushi の検出を試みた結果、13 例で目的の増幅産物が得られた。これら 13 例中 8 例はベア血清での抗体価の上昇により、5 例は IgM 抗体により、それぞれつつが虫病と診断された。また、残る 3 例は、ベア血清を用いた血清診断によりつつが虫病と日本紅斑熱を否定された。

痂皮の PCR が陽性であった 13 例中 12 例について、血液 (白血球層あるいは血餅) の PCR を行った結果、8 例のみが陽性であった。

PCR 陽性例の痂皮の採取された病日は、3 病日から 17 病日であった。また、テトラサイクリン系抗菌剤の投与後に採取された痂皮 3 例も PCR は陽性であった。さらに、血清抗体価から、痂皮の PCR の陽性であった 13 例中 11 例が Kawasaki 型の、2 例が Kuroki 型の *O. tsutsugamushi* に感染したと推定された。

2) 日本紅斑熱での検討

日本紅斑熱を疑われた 4 例についての痂皮の検査結果等を表 4 に示した。

4 例すべての痂皮から PCR 法により *R. japonica* の遺伝子が検出された。また、4 例ともにリケッチア属検出用の PCR も陽性であった。また、各増幅産物の塩基配列は *R.*