

日本紅斑熱における重症度と血中サイトカイン値との関連性 (島根県確認症例における検討)

研究分担者	岩崎博道	福井大学医学部	准教授
研究協力者	田原研司	島根県保健環境科学研究所	専門研究員
	高田伸弘	福井大学医学部	准教授
	矢野泰弘	福井大学医学部	助教
	池ヶ谷論史	福井大学医学部	助教
	田居克規	福井大学医学部	大学院生
	上田孝典	福井大学医学部	教授

研究要旨

国内で多発するリケッチア感染症の中で、日本紅斑熱はつつが虫病に比べ、重症化をきたす症例が多いと認識されているが、詳細は明らかではない。日本紅斑熱の重症化機序解明のために、確定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それぞれの血清を用いて、血中サイトカイン値を測定し、重症度との関連性を検討した。近年、島根県の宍道湖周辺にて、日本紅斑熱が多発している。この地域に 2007 年～2008 年に発症した 23 症例の日本紅斑熱患者の臨床経過を検討し、重症度を数値化した結果、平均値スコア 1.78 を示した。前年度検討した和歌山県発症のつつが虫病患者の平均重症度スコア 1.16 (N=31)と比較し、有意に高値を示した($p<0.05$)。症例を重症群と軽症群に分類すると、急性期の tumor necrosis factor (TNF)- α が重症群において有意に高値を示した。さらに、播種性血管内凝固症候群(DIC)を発症した症例が 4 例あるが、その急性期血中 TNF- α 値は平均 9.89 pg/ml を示し、非 DIC 例(平均 2.19 pg/ml)と比較し、極めて高値であった($p<0.001$)。以上より、TNF- α は重症化を予測するために有用な指標となることが推測された。日本紅斑熱において、TNF- α をはじめとする炎症性サイトカインの過剰な産生を抑制することは、救命のための治療戦略となる可能性があると考えられる。現在リケッチア感染症治療にはテトラサイクリン系抗菌剤がしばしば用いられるが、同薬剤には強力な抗リケッチア作用に加え、単球系細胞における TNF- α 産生を抑制する効力を有することも明らかとなりつつある。他方、日本紅斑熱において重症化を回避するために、臨床的にはニューキノロン系薬剤の併用が有効であることも指摘されている。日本紅斑熱の疾患としての全容はまだ不明な点も多く、今後、詳細な情報収集および、適切な治療法の開発を進める必要があると考える。

A. 研究目的

近年、ダニ媒介性リケッチア感染症である日本紅斑熱の重症化例がしばしば確認され、死亡例の報告も増えつつある。リケッチア敗血症にともなう全身性炎症反応症候群(systemic inflammatory response syndrome: SIRS)を合併し、本病態の背景にある高サイトカイン血症から容易に回復しない症例が重症化すると考えられる。しかし、未だ日本紅斑熱の重症化の機序ならびに、不顕性例や軽症例の存在の実態は明らかではない。

島根県では近年、宍道湖周辺に日本紅斑熱が多発することが確認されている。当地域で発症した症例は数施設(出雲市立総合病院、島根県立中央病院、鳥取大学病院、小笹皮膚科)に集積する。本年度はこれらの施設において確定診断された日本紅斑熱症例の臨床所見、治療経過等を完全匿名化された患者調査票をもとに検討した。さらに、重症度を数値化し、急性期ならびに回復期の血中サイトカイン値を定量し、症例の重症化との関連性を解明することを目的として解析を行った。

B. 研究方法

1. 対象患者

患者調査は、2007年から2008年の夏季(5月～10月)を中心に島根県内において発症し、診断が確定した日本紅斑熱23例を対象とした。患者背景(性別、年齢、発症日、推定感染地)、臨床症状、抗リケッチア抗体価、臨床検査値、臨床経過、治療内容等について調査票を用いて集計した。

2. 重症度の臨床評価

重症化の程度は、これまでに提案したリケッチア感染症の重症度スコア表(表1)(Iwasaki H et al, J Clin Microbiol, 1997)を用いて、臨床所見を数値(ポイント)化した。評価項目には、中枢神経症状、筋肉

症状、胸部X線所見、腎障害、肝障害、肝脾腫および播種性血管内凝固症候群(DIC)が含まれる。全身の主要臓器の障害が網羅されるよう配慮されている。

3. 血中サイトカイン値の測定

患者血清は、急性期および回復期に採血後、血清を分離し、測定まで -80°C に保存した。対象としたサイトカインとして、炎症の進展に深く関与しているTNF- α 、interleukin (IL)-10、IL-12p40、interferon (IFN)- γ 、IL-8、IL4を選択し、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を用いて検定した。

4. 倫理面への配慮

本件研究における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および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. 臨床所見

対象患者は男性 12 例、女性 11 例、年齢は 22~83 歳に分布し、中央値は 70 歳(平均 64.2 歳)であった。

症例はいずれも間接免疫ペルオキシダーゼ法により、IgM 抗体価の上昇が確認されたか、ペア血清にて急性期と比較し、回復期に 4 倍以上の IgG 抗体価上昇を呈した確定診断例である。

臨床所見をまとめると、発疹が 23 例(100%)、刺し口が 20 例(87.0%)、肝障害が 22 例(95.7%)と多数に認められた。DIC は 4 例(17.4%)に認められた。リンパ節腫脹は 7 例(30.4%)に、筋肉痛は 6 例(26.1%)に、肝

腫は 2 例(8.7%)に認められた。21 例(91.3%)では 38.0°C以上の発熱を呈していた。

すべての症例においてテトラサイクリン系薬剤である minocycline (MINO)が投与され有効性を示したと考えられるが、一部ではニューキノロン系薬剤が併用された症例も含まれる。対象症例すべてにおいて、適切な抗菌化学療法が施行されたことにより、速やかに SIRS から脱却するか、SIRS に至る前に重症化を免れ、治癒したものと考えられる。

2. 患者重症度

表 1 の重症度スコア表に従い評価した。重症度の分布を図 1 に示すが、13 例(56.5%)が重症度 2 未満、10 例(43.5%)が重症度 2 以上を示した。それぞれを軽症群と重症群とした。重症度は最高 4 ポイントまでに分布し、重症度平均値は 1.78 であった。この値は、2003 年~2006 年に和歌山県で調査したつつが虫病症例(N=31)での 1.16(岩崎ら:2007 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、分担研究報告書、2008)と比較し高値であった($p<0.05$)。日本紅斑熱がつつが虫病より重症化する傾向にあることは、実地臨床家の間でも認識されていたが、今回初めてその事実が客観的に示された。

3. 血中サイトカイン値の変動

炎症性サイトカインの TNF- α は急性期 3.53 pg/ml から、回復期 0.37 pg/ml に低下($p<0.001$)した。また、マクロファージ関連サイトカインである IL-12p40 は急性期には 161.0 pg/ml であったが、回復期には 59.1 pg/ml に有意に低下した($p<0.001$)。抗炎症性サイトカイン IL-10 は急性期 3.87 pg/ml から回復期 0.88 pg/ml に($P<0.001$)、炎症性サイトカイン IFN- γ は急性期 241.6 pg/ml から、回復期 11.1 pg/ml に、いずれも有意に低下した($p<0.001$) (図 2)。

軽症例ではあっても、急性期には多種

の血中サイトカイン値の上昇が示され、回復期には速やかに低下した。SIRS に進展する前に、早期に有効治療が施行され生体内の過剰なサイトカインネットワーク活性化が速やかに沈静化され、重症化には至らなかったと考えられる。

IL-8, IL-4 については治療前後において一定した変化を確認し得なかった(図 3)。

4. 重症度と血中サイトカイン値の関連性

軽症群(13 例)および重症群(10 例)に分類し、それぞれの急性期における TNF- α 値を比較した。その結果、図 4 に示すように、軽症群の TNF- α 平均値 1.60 pg/ml に比べ、重症群の平均値 6.05 pg/ml は有意に高値を示した($p<0.01$)。また、DIC を発症した症例が 4 例あるが、その急性期の血中 TNF- α 値は平均 9.89 pg/ml を示し、非 DIC 例(平均 2.19 pg/ml)と比較し、極めて高値であった($p<0.001$)。以上より日本紅斑熱において、TNF- α が急性期の重症度を予測するために有用な指標となる可能性が示唆された。

D. 考察

国内発症のリケッチア感染症において、テトラサイクリン系薬剤が有効性を示すことはよく知られている。しかし、日本紅斑熱の一部の重症例ではニューキノロン系薬剤の併用が必要な症例も報告されている。本事業の一連の研究において、日本紅斑熱とつつが虫の重症度をスコア値を用いて比較すると、有意に日本紅斑熱の重症度が高かったことにより、日本紅斑熱はつつが虫病に比べ、臨床的に治療困難例が多いことが推測される。

島根県では、従来より進められている、早期診断のための積極的な診断体制作りが機能している。このため、住民ならびに医療従事者のいずれにも日本紅斑熱に対する認識が高く、患者が早期に病院を受診し、医師の早期推定治療が可能とな

っているため、死亡例の報告は未だなされていなく考えられる。今回の検討では、生体防御の一環として、活性化される炎症性サイトカインのうち TNF- α が重症度を予測するのに有用であることが示唆された。今後は、急性期の血中 TNF- α 値を測定することにより、将来の重症度を予測し、TNF- α 高値例には十分な集中治療を導入することも視野に入れ、積極的に重症化を抑制し、患者を救命するための臨床的緊急対策を検討していくことは意義深い。

つつが虫病においては、テトラサイクリン系薬剤が著効する場合に、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。このことに加え、我々の培養細胞を用いた基礎的実験研究の結果から、早期の症状改善には、テトラサイクリン系薬剤の、サイトカイン産生をはじめとする生体の炎症メディエーターを積極的に抑制する作用が深く関与することを推測している。しかし、日本紅斑熱ではテトラサイクリン系薬剤単独では、必ずしも有効性が示されない症例も存在することより、今後その様な症例の背景をさらに明らかにすることにより、重症化の機序の解明が進展すると考える。

E. 結論

リケッチア症の重症化の背景には、高サイトカイン血症に基づく SIRS が関与することが明らかになりつつある。重症化を回避するためには、高サイトカイン血症からの早期離脱が重要であり、テトラサイクリン系薬剤がその機序の一部を担う可能性があると考えられた。

今後の展開

近年、日本紅斑熱患者の発生が全国的に広がりを見せている。今後、統一した観察基準のもとで前方視的に臨床所見を

詳細に検討する必要があると考える。今後、多くの臨床家が本疾患の診断に関与する可能性も高いため、重症度スコアを、一般臨床家においてもさらに応用しやすく、容易に評価できるように改善していくことも必要と考えられる。また、急性期ならびに回復期の感染患者の血清を用いて、種々の未検討の生体内炎症メディエーターを解析し、重症度との関連性を検討することが、さらなる病態解明のためには有用と考える。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 岩崎博道. 感染症における生態防御. 日本検査血液学会誌 9: 44-51, 2008.
- 2) 岩崎博道、高田伸弘、上田孝典. リケッチア肺炎(つつが虫病、日本紅斑熱、Q熱). 新領域別症候群シリーズ No.8 呼吸器症候群(第2版) I-その他の呼吸器疾患を含めて-I 感染症呼吸器疾患 G.その他の病原体による感染症. 別冊 日本臨牀(日本臨牀社) pp253-257, 2008.
- 3) 岩崎博道、池ヶ谷論史、上田孝典. 全身性炎症反応症候群(SIRS)の診断. 最新医学, 新しい診断と治療のABC 5 血液疾患合併感染症(最新医学社). pp 61-71, 2008.
- 4) 高田伸弘、岩崎博道、藤田博己、川端寛樹、田原研司、及川陽三郎. わが国と周辺にみるマダニ寄生例と媒介感染症のポイント. 日本臨床寄生虫学会誌(Clinical Parasitology)18: 11-13, 2008.
- 5) Ishiguro F, Takada N, Fujita H, Noji Y, Yano Y, Iwasaki H. Survey of the vectorial competence of ticks in an endemic areas of spotted fever group rickettsioses in Fukui Prefecture. Microbiol Immunol 52: 305-309, 2008.

2. 学会発表

- 1) 室井洋子、安田善一、北浜紀美子、岩

- 崎博道. 人口呼吸器関連肺炎(VAP)サーベイランスと必要経費による医療材料変更の優位性. 第23回日本環境感染学会総会. 2008, 2 (長崎).
- 2) 田居克規, 岩崎博道, 根来英樹, 高木和貴, 上田孝典. 敗血症早期診断のためのDNAマイクロアレイ法の有用性と*Bacillus cereus*敗血症の検討. 第105回日本内科学会総会. 2008, 4 (東京).
- 3) 岩崎博道, 高田伸弘, 田居克規, 池ヶ谷論史, 稲井邦博, 上田孝典. ツツガムシ病の急性期血中TNF- α 濃度による重症化予測. 第82回日本感染症学会総会. 2008, 4 (島根).
- 4) 池ヶ谷論史, 高木和貴, 岩崎博道, 上田孝典. 生体内のMINOによるサイトカイン修飾作用. 第82回日本感染症学会総会. 2008, 4 (島根).
- 5) 岩崎博道, 田原研司, 上田孝典, 高田伸弘. マダニ媒介性紅斑熱の重症度予測 -島根県の症例について血中サイトカインの解析-. 第60回日本衛生動物学会. 2008, 4 (栃木).
- 6) 岩崎博道. 和歌山県田辺市に確認されたツツガムシ病の臨床的特徴. 第16回ダニと疾患のインターフェイスに関するセミナー. 2008, 5 (和歌山).
- 7) 池ヶ谷論史, 塚本仁, 岩尾岳洋, 岩崎博道, 政田幹夫, 熊切正信, 上田孝典. 当院におけるリネゾリドの使用状況. 第56回日本化学療法学会総会. 2008, 6 (岡山).
- 8) 岩崎博道, 山下政宣, 上田孝典. 血液疾患に合併する敗血症のマイクロアレイ法による迅速診断. 第33回北陸臨床病理集談会, 第16回同セミナー. 2008, 9 (福井).
- 9) Mahara F, Iwasaki H. Tetracyclines: A historical pitfall and additional concept on the treatment of rickettsial diseases. 2nd World Conference on Magic Bullets. 2008.10 (Nurnberg).
- 10) Inai K, Iwasaki H, Yamashita M, Ueda T, Naiki H. Pathophysiological approach against resistant bacteria-causing infectious diseases; -from autopsy findings to clinical applications-. 2nd World Conference on Magic Bullets. 2008.10 (Nurnberg).
- 11) 田居克規, 岩崎博道, 根来英樹, 高木和貴, 池ヶ谷論史, 岸慎治, 山内高弘, 浦崎芳正, 吉田明, 上田孝典. 造血器疾患に合併する*Bacillus*敗血症のDNAマイクロアレイ法による早期診断. 第70回日本血液学会総会. 2008, 10 (京都).
- 12) 池ヶ谷論史, 岩崎博道, 田居克規, 浦崎芳正, 上田孝典. 血液内科病棟における血液培養検出菌の変遷. 第70回日本血液学会総会. 2008, 10 (京都).
- 13) 池ヶ谷論史, 岩崎博道, 上田孝典. ガレノキサシンによるサイトカイン産生修飾作用. 第51回日本感染症学会中日本地方会学術集会. 2008, 10 (大阪).
- 14) 高井美穂子, 田居克規, 高木和貴, 見附保彦, 浦崎芳正, 山内高弘, 岩崎博道, 上田孝典. グラム陽性球菌感染症による敗血症性ショックを契機としたDIC. 第6回北陸血栓研究会. 2008. 10 (金沢).
- 15) 玉川美津恵, 山本恭弘, 斉藤由紀雄, 石本秀守, 上野栄一, 梅澤有美子, 真弓光文, 李鍾大, 伊藤春海, 大林貴代, 山田和弘, 岩井敬治, 日下幸則, 室井洋子, 岩崎博道, 小淵岳恒, 寺澤秀一, 山口明夫. 第46回全国大学保健管理研修会. 2008, 10 (京都).
- 16) 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, 山本正悟. 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. 2008, 11 (岐阜).
- 17) 岩崎博道. 血液疾患に合併する感染症の特徴とその対策. 第30回京阪血液研究会. 2008, 11 (大阪).

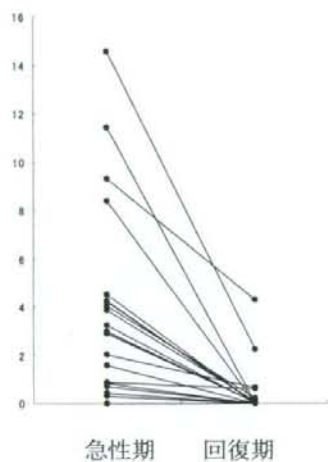
- 18) 岩崎博道、新型インフルエンザの感染爆発は本当に起こるのか?。第8回鯖江市医師会市民公開講座。2008, 11 (福井)。
- 19) 田居克規、高井美穂子、高木和貴、池ヶ谷諭史、見附保彦、浦崎芳正、岩崎博道、上田孝典。グラム陽性球菌による toxic shock syndrome (TSS)を発症し、早期治療により救命し得た 1 例。第 78 回日本感染症学会西日本地方会学術集会。2008, 12 (広島)。

H. 知的財産権の出願・登録状況

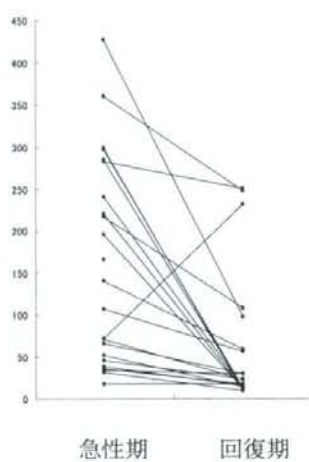
1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

図2 サイトカイン値の変動 (1)

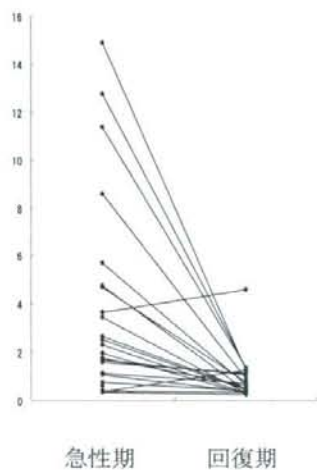
TNF- α (pg/ml)



IL-12p40 (pg/ml)



IL-10 (pg/ml)



IFN- γ (pg/ml)

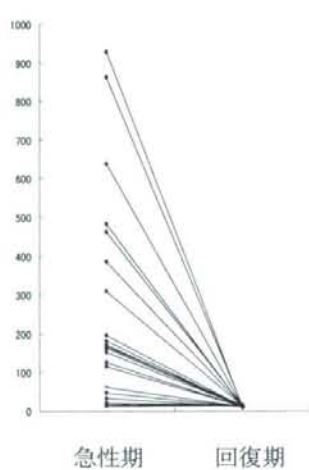


図3 サイトカイン値の変動 (2)

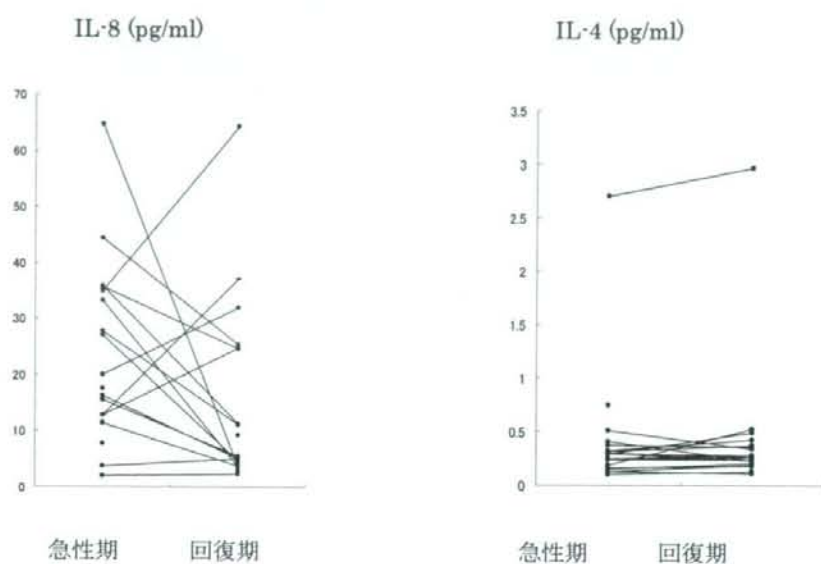
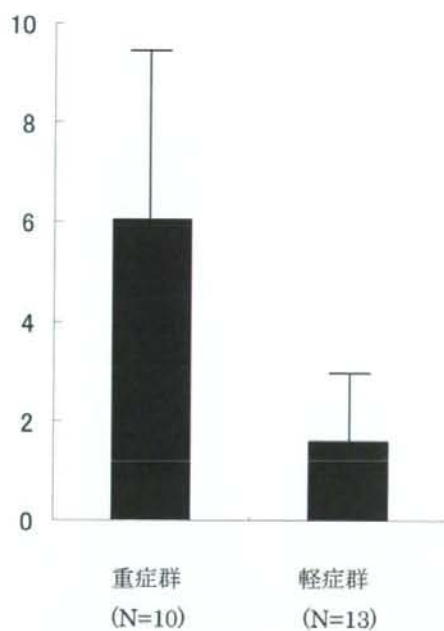


図4 重症度による急性期の血中 TNF- α 濃度(pg/ml)



Ⅲ. 方法論

離島調査の方法論

研究分担者 高田伸弘 (福井大学医学部 准教授)

趣意

調査地で試料(ないし資料)を採るのは「物採り」と言うが、これは採れなければ調査は意味がないわけで、行けば必ず採る、卑近な言い方をすれば「転んでもただでは起きない」までのノウハウが求められる。ところが、報告書といえれば現地調査の成果と考察だけを記載するのが常であって、物取りの行程は書かれない。しかし、最終年度に当たりこの部分を取って記述して置きたい。何故なら、科研では、経費、人員そして時間に必ずしも余裕があるわけではなく、また試料を採るには旬(春先や冬も含む)がありいつでも可能というわけでもなく、更に交通や気象で障害があれば予定通りに進めるのは困難になるわけで、これをクリアして成果に近づくには、試験研究上の方法とはまた別の方法論があることを知っていただきたいのである。我々は国民の保健確保の下支えとして調査を続けているが、成果の裏には寡黙な工夫努力があること、また調査に遅滞が生じた場合も多々理由があることなど、すべてを包括した上で一般の評価をいただきたい。

ただ、余り多岐にわたる記述では要領を得ないと思われるので、ここでは特に離島調査の場合に絞って、現地調査を実施する前後の行動そして問題解決のやり方などを紹介して任を果たしたい。

1. 離島調査の意義

離島、特に東シナ海に面した九州西半部から南西諸島までに点在する島嶼は、近年になってリケッチア症の散発が言われ出しているものの、基礎的なベクター(ダニ類)やその宿主動物、環境要因などといった感染環については知見が極めて不十分である。これら知見が得られたなら、離島での地域医療に貢献できるのは当然として、島道を通じて大陸から列島へ拡散してきた感染症が如何に多様化したかの点までうかがうことができる。そこで我々は、患者発生の情報なども踏まえて、ベクターの出現時期を推測しながら毎年の離島調査を計画することになるが、その場合に必要とされるのは、研究室・病院・市販物品で成り立つ室内研究とは異なったフィールド調査のノウハウである。

2. 準備

1) 疫学情報の収集

離島の疫学情報は元々僅少であるので、文献検索上でも手間(孫引きなど)を要し、ネット検索でも容易でない。

・新しい公表配布物があればよいが、ないと

数10年前の一つとかで探査が容易でないこともある。そういう場合、現地県庁の所轄へ問い合わせてもよいが、衛生研究所や保健所、また現役退職を問わず医学衛生関係者に直接尋ねるのも近道であることが多い。

・突発情報、すなわち現地の医療保健関係者から突発した症例の問い合わせなどが来て調査の契機となる場合であるが、新興感染症なら余り遑って情報を発掘する必要は少ない。しかし、再興感染症であれば相当遑ることで上記同様の苦勞となる。

2) 調査時期の選定

・これも難問で、元来、離島に何があるかよく分からないから調査に行くのであって、試料を得易いと推測した時期に行った場合も、現地で間違いに気づくことも多々ある。一方、科研分担者としては年間のエフォートまで考えて調査計画を立てるのであるが、突発的な公私の事情や健康状態までは予測できず、調査時期を躊躇することは多い。

・加えて、協力者の事情もあり、さらに現地に相手方がいる場合は可能なだけそちら

に合わせる（特に突発的な症例に対応しての出張では、複数関係者の都合を調整して早目の日時を決めねばならないが）。季節によっては、交通機関の事情によっても左右される。

3) 人員招集

- ・離島へ赴く場合、近隣に知己の研究協力者などが在住することは少ないし、誰でもよいというものでもない。分担研究者が発案した場合、同じ班の分担研究者同士あるいは関係者や学生に同行を誘い合うわけであるが、そうそう都合の合うことも少なく、何回も細かな日程調整が必要、それでも不可なら改めてということで、計画自体が中止になることすらある。したがって、当初予定の員数に達しなくても実施に移すことは多い。
- ・運よく人員が確保できたなら、大学等所属の分担者の場合は、所属長から依頼先の所属長へ一定の書式とルートと日数（依頼先によっては独自の規定もあり）で出張依頼をかける。大学研究室に出入りして仕事に精通する学生の場合、院生はよいが学部学生では経費支出にかなり手続きが要る。いずれの場合も、後日の会計監査に堪えるよう、手続き経過が後先しないよう留意せねばならないが、交通チケットやパック券の発注など市場動向をみながら行うため、想定外のタイムラグなど生じて変更または理由書提出にならざるを得ないこともある。

4) 交通確保（付図1参照）

例えば福井県（JR駅や小松空港）や他から離島方面へ出る場合、直行経路があることは少なく、中継地を含め色んな交通手段を講じる必要がある。

- ・離島に至る場合、JRなどで最寄りの空港や海港にアプローチするのはよいが、離島航路は小型飛行機か小型船舶であるから、体力や酔いなど個人的な向き不向きも出る。これは人員招集の時にも躊躇される理由にはなる。
- ・離島航路は飛行機でも船でも、上下便を一機（隻）で使い回しすることが多いので、長い時間ないし中日を置かなければ往復ができず、発着時刻が調査に不便なことも多い。渡航で前泊または後泊せざるを得な

いことは多く、効率的な旅程は存外である。

- ・交通費は立替払いとなるが、出張依頼先の事情また緊急の場合などは、発案した分担研究者が立替の立替をすることもある。
- ・天候は現地でのサンプリングの可否を決める重大な要因なので前もってよく調べるが、調査日程を自然条件に合わせて組むのは容易でなく、当日ずれることの方が多い。
- ・宿泊先は、離島にはビジネスホテルがまずないので、民宿をとらねばならない。その場合、自分で種々確認し要望せねば、調査を支えるべき生活面のトラブルが起り得る。

5) 荷送り

荷物は、チームとしての調査器材（大きな箱詰になる）と個人装備に分けられる。

- ・調査器材は現地受け入れ先や宿へ宅配にて前送り、また送り返すことになる。ただ、行き先や試料保存の都合によっては空港、海港、レンタカー営業所などの乗り場に直送して置き、乗り込む時に積み込むことは多々あるが、発着時刻と人員の動きと荷物ごとの内容を綿密に計算しないと失敗することがある。器材を複数人員で揃え合う場合も、それぞれ送り先や方法の交通整理が必要となる。薬品や壊れ物の包装方法も大事であるが、最も必要なのは器材のコンパクト化であって購入時の数や大きさのまま発送すべきでなく、現地での運搬や使用の都合を見据えて荷造りしたいもので、こんな点にも意外なノウハウがある。
- ・個人装備は、離島での生活に必要なものは後述するとして、例えば道なき道も歩けるような膝まで届くゴム長靴、草藪に手を入れるための丈夫な手袋や頭部を保護する帽子、また強い風雨にも耐える雨具、ポケットの多い衣服など、実際は調査で必須なものが多く、個々の使い勝手に揃えるから個人装備と言うに過ぎない。夏の猛暑や冬の寒さ（南西日本の島でも随分寒い）あるいは生活の困難性に対応するさまざまな個人装備も必要で、これらは調査の成否にも影響するゆえ、過不足ないように考える。

3. 実施

1) 行程の調整

現地に入ってから順調に進むことはむし

る少なく、絶えず調整を要するものである。

- ・まず天候で、非常な荒天の場合は空路、船便とも不可になり、回復を待つか、変更して本土側に新たな調査地を求めるかして、いずれも事務的には後で変更届けになる。問題なのは、雨降り程度で現地に入ることができた場合で、予定を強行すべきか変更すべきかは天と睨み合いになるが、多くの場合は安全さえ確保できるなら強行する。それなりに予測しなかった試料を得るもので、いわゆる「ダメもと」の勝利である。
- ・複数の小島を調査する場合は、2~3名ずつ二手三手に分かれて小島を分担し、同時進行で成果の倍増を図ることもある。サンプリングの器材は分けねばならないが、試料処理の器材は最後に合流して共用することも多い。付図2にも示してあるが、薩南諸島の三島やトカラ列島で分散調査した後、帰路の船は島ごとに時間差で乗って合流し、鹿児島港に到着して直ちに鹿児島県保健環境センターで夜を徹して試料処理をするなどが例である(付図2)。
- ・関係者が寄り合いで行う調査の場合は、概ね目的の試料や担当区域が分かっているので、その最も近い担当者ないし発案者が指揮を執ることになる。指揮というのは、準備、交通、宿の手配、試料の配分、また現地で動き方を決定したり調査記録を作成するなどであるが、その役を認識し合うためその都度「隊長」などと呼ぶことが多い。
- ・島内交通は、大きな島では地元業者のレンタカーないしタクシーを利用するが、小島では民宿の自家用車を借り受けることになる。大半は商用車、しばしば軽トラックなので、安全運転に留意する。離島の燃料代は一般に驚くほど高い。
- ・島内で互いに離れて行動し再合流するには、かつては時間や場所合わせしかなかったが、近年は携帯電話の通じる離島も増えたので、かなり便利にはなった。

2) サンプリング

何はともあれ、離島調査の第一の目的は試料採取であって全ての準備や工夫はそのためにあり、研究班員のほぼ全てと関係者が、毎年協力し合って従事するのである。

- ・サンプリングは一見単純作業で、誰に任せ

てもよいように見えるが、実際は担当研究者が必ず先導して目的にそった日時、場所(環境)、方法(繰り返しの忍耐含む)で実施せねば良い成果はまず得られない。特に、採る対象物が危険生物である上、南西諸島の多くは他の衛生害虫あるいは猛毒蛇が生息するため、数々のコツと専門的準備が必要で、部外者への依頼はできない、と言うよりしてはならず、ここにも人員召集の可否が影響してくる。

- ・ベクターとはリケッチア類の媒介動物(マダニやツツガムシ)を言うが、種数は多く、かつ出現時期や分布、生息密度は実に多様である。したがって、ある離島にある種が生息すると分かっている再度採ろうという場合、ちょっとした条件の違いで採れないことはよくあり、できれば複数回、複数場所で試行できるよう予定を立てておく。
- ・マダニの未寄生期は、植生を白いフランネル布で履いて付着させるが、秋は植物の種が無数にまとわりつき回収が極めて難しい。また雨になれば布が濡れて付かなくなるが、1匹でも懸命に採らねばならない。生息密度が高い地域では、葉の裏を返して付着している個体を探ることもできるが長い忍耐となる。他方、動物の体表を調べて吸血寄生個体を集めることも多い。いずれの場合も、種により、また発育期(幼虫、若虫、成虫)により採れる、採れないがあるので、望む種の全発育期を一度に得ることはまず不可と言ってよい。
- ・ツツガムシは幼虫で分類するが、野鼠に寄生して組織液を吸った幼虫を回収する方法、また黒布を地面や下草にあてがって、そこに待機している未寄生期幼虫を付着させる方法(ほぼタテツツガムシのみに適用)、さらに採取した表土をツルグレン装置にかけて未寄生期幼虫を落下させる方法などあるが、眼の解像度ぎりぎりの大きさのため、扱いには相当慣れが必要である。
- ・いずれのダニ類も、分類、生態調査、病原体検出など試験目的ごとに、生(室温)、冷蔵、冷凍、乳剤化、封入標本などさまざまな保存形態をとらねばならないので、容器や保冷資材(離島ではドライアイスの入手と維持)には気をを使う。
- ・野鼠ほか動物は、ベクターが感染させた病

原体をある期間維持または他のベクターへ戻す役割を果たしリザーブと呼ばれる（その能力がない場合でもベクターへの栄養供給源になる）。リザーブ調査の意義というのは、地域の疫学状況を先見的に調べる場合などに、先に住民から人体試料を採取するのは許されることが少ないので、人間の代わりに、病原体保有の機会が多い野鼠を調べることにある。捕獲の方法としては、多数輸送できるよう折り畳み式にしたアルミ製箱型（シャーマン式）や金網製（角坂式）のトラップを、夕刻に巣穴周辺に仕掛けて早朝に回収するのが一般的である。これも、雨天、酷暑、寒冷条件では作業が重い。事後はトラップの消毒、洗浄、修理なども自前で行う。

- ・ところで数年前から、野鼠の捕獲も鳥獣捕獲許可の適用になり県知事の毎年更新を申請せねばならなくなった。趣旨は理解できるが、県によって異なる手続きはそれなりの事務量と日数を要し、突発的な調査を要する場合は到底間に合うものでない。保護と言っても農林業やブルトナー作業で野鼠類を無意識に多量殺傷する分は規制対象にできない矛盾はあり、例えば韓国では専門研究者なら長期の免許で支援されていることを見れば、我国の研究者も国民のために捕鼠調査を行うものゆえ、何らかの見直しが望まれる。

3) 試料処理

採る（捕る）のが重要なら、使うのも重要で、物も使いようというべきか、さまざまな問題と工夫がある。

- ・ダニ試料のほか、野鼠試料などでは血液や多数の臓器が得られるので、病原微生物の専門別に小分けして、皆でシェアすることが常である。これにより、各地産の各種試料について専門家が各々の研究成果を多数に生み出して来た。
- ・離島では野鼠試料の処理を行う場所が常に問題で、その離島にあるなら保健所（支所や動物施設含む）あるいは診療所（保健師施設含む）の使える室、なければワゴン車の後部荷物室、または生かした状態で本土の最寄りの衛生研究所へ持ち帰り、いずれの場合も衛生、消毒、洗浄に留意して処理する。使用済み注射器、解剖器具などは現

場で火炎滅菌など施すほか、処理済み鼠体も完全梱包して各々の所属機関へ持ち帰って所定の方法で滅菌ないし廃棄する。鼠体を持ち帰れない不測時には、内臓を殺菌した上で、捕った地点の土中に埋め、言わば地産地消とする。

- ・処理は通常、ベクターやリザーブが生きているうちに開始するが、それが午前か夜間か、また所要時間もさまざまなので、昼間しかできない野外採集の時間を確保することも絡んで、調査期間中は24時間態勢で過ごさねばならない。しかし、我々自身で都合つけられない物事や、宿と処理場所とが遠かったり鍵開けの時間帯が決まっていたりなど、いろいろ絡めば、時間配分は簡単でない。かくして処理が終了する頃、レンタカーの返却時刻が必ず迫っており、空路も航路も帰路便の時間が一杯で、文字通り必死の撤退劇になることが少なくない。

4) 離島生活のコツ

我々は常々、「有効な調査は良好な生活から生まれる」ことをモットーにしている。

- ・宿泊や飲食はホテルや民宿の営業規則に従うが、夜の時間を宿で過ごせる日には飲酒も嗜んで打ち合わせや歓談をすることはある。その場合も、所詮、翌朝が早いので早目に切り上げる。ただ、地元の保健衛生関係者ほか民宿従業員や住民客と歓談する時間は意外に有益で、ベクター被害や発病例あるいは動物の移入や増殖など、地元ならではの情報を得ることは少なくない。一方、夜間はパソコンを持参した者が調査記録を作るとか、採集用ネル布を洗って干したり草の種を除く作業など、貴重な時間ともなる。
- ・離島では病気や怪我を予防することは大切であるが、自身らが医学衛生関係なので取り組みは容易なもの、本格的な医療サービスはすぐに受けられないので健康維持、保健には充分留意する。感染症発生地へ入ることも多々あるが、防御、防除、洗浄消毒などは専門なので充分行うためか、調査の間に何かに罹患したような例は我々の間では聞かない。なお、前記した毒蛇被害は絶対に会わないよう留意するが、負った場合の対応を考慮した上で、野外作業は充

分に行う決意をもつ。

- ・離島では都市部のような生活サービスや便利な金銭サービスも受け難いので、渡航する前から備えておく。フィールド作業中の昼食でさえ、小さな離島では得られないので、宿で弁当を作ってもらい手持ちする。生活用品も一軒の万屋で限りある品の中から現金購入するしかない島も多いので、その離島調査が何日間に及ぶのか見据えて前もって準備や宅配しておくのがよい。なお、宅配が届くには、福井市からでも中一日おいて最速でも延べ3日間、天候などによっては更に遅れることはあるので、物の保存状態に注意する。

4. 後処理

調査は、現地の進行状態も重要なが、後処理もうまくいかないと成果を形作り難い。

1) 復命

- ・調査指揮者も出張依頼された者も一定の報告書を提出するが、複雑な行程や変更を強いられる調査行の中で、一般に理解し難いと思われる物事があった場合は、理由書の作成も視野に入れ、調査期間中に説明書類などを心がけて置いた方がよい(会計監査係には知る由ない事柄が多々あるのは仕方ないこと)。
- ・帰ってから搭乗半券や乗船証明、各種料金の立替請求など提出せねばならないが、複数員で複雑経路を動くと山のような書類になるので遺失には気を付ける。その場合、正当であっても調査参加者の間でまちまちな書類になると扱いが面倒になるため、書類の整合性も配慮する。

2) 記録

調査記録は、現地で実施中からまとめて漏れがないようにし、調査の指揮者あるいは発案者が帰ってから直ちにパソコン(エクセルやワード)で仕上げるように努める。データ化したものは調査参加者の全員や関係者へも配信して、共有感と共同責任を認識する。順次試料の解析が進むにしたがい、概要でもいいから皆と共有するようにする。

3) 反省と発表(付図2参照)

これは表裏一体で、発表報告を準備する中で関係者間で擦り合わせや調整を始めると、自ずから反省点(実施方法も、試料解析でも)

が明らかになり、次の調査に活かそうという気運が出てくるものである。そして調査の回を重ねることで、研究者や協力者ごとの得手不得手や行程の難易度などが理解でき、離島ごとに分担者が定まって来たりする。

- ・成果が解析途上であっても、概要だけを公表した方が当該分野への貢献になる、もしくは研究者の研究業績になる場合は、春や秋に専門学会が開催する学術大会で演題発表することが多い。そうすれば、関係研究者の間でとりあえずの成果を把握し易くて有益なものである。発表内容の抄録はもちろんプログラムに載るが、多くの場合は学会誌にも印刷されるので、的確な題目と明確な共同者の氏名を付さねばならない。科研による成果発表では、経費の出所も明記を忘れない。
- ・一方、「科研報告書」なるものは、一義的には資金補助者、ひいては国民一般へ成果を公表して公益の一環とするためのものであるが、関係研究者の相互理解を深める絆となって問題点を洗い出し、次のステップへの礎にできる宝物でもある。ただ、その内容記述は学術様式に100%はのっとりすることが多く、専門レビュワーによる客観的な審査にも付されず、また文献検索のルートに乗ったサーキュレーションも完全でないので、正規の論文とは違った性格である点、理解したい。
- ・正規の論文というものは、成果が完全な形でまとめられた時に初めて、正規の学術資料として永久保存に付すため精査、審査されて完成に至るわけで、研究者にとっては正規の業績に加え得る大切なものである。ただ、だからと言って、上記の報告書が非正規などというものでなく、繰り返すが、互いに違った目的をもつものである。

5. 結語

以上、離島の場合を例に調査の方法論を概観したが、これは学術成果を得るためには先ず生活上の成果を得ることが必要と言えよ。よいだらうか、学術成果を下支えする俗っぽい、しかし多大な努力の面までご理解いただければ幸いである。



付図1 離島などの調査で主に利用する空路航路 空路(実線)、航路(破線)

鹿児島県内の野景とダニ類からの病原体検査
—2007年度調査から—

本 田 俊 郎	新 井 田 新 代	森 田 博 之
角 坂 雅 貴	川 邊 寛 樹	高 野 愛 子
山 本 正 徳	及 川 隆 三 郎	矢 野 幸 弘
高 田 伸 弘		

1 はじめに
鹿児島県では、つつが虫病と日本紅血熱の患者数が増加していることから、自然環境上の野景観や遊歩動物、特にマダニ類からの病原体検査を目的に、サトウキビ分室や牧場跡地を主要な調査・報告してきた。最近では動物地理学的にも重要な地域のトカラ列島を含む南薩諸島でも患者発生が数回認め、また、少なからず発生している不明熱患者の病原体検出に向け各種病原体検査(野景観・レプトスピラ、ボレリア、ハバシラ、トリパノゾーム等)検査を目的に薩南諸島領域での野景観調査を実施しており、2007年度も重点的に当該地域での野景観やダニ類からの病原体検査を実施したので報告する。

2 材料と方法
2.1 調査期間と調査地域
- 2007年7月24日 奄美大島(鹿野町自然観察の森及び奄美市乳産施設併設) (図1-①)
- 2007年7月25日~26日 豊后島 (図1-②)
- 2007年7月26日~27日 中之島 (図1-②) 及び宝島 (図1-④)
- 2007年12月13日~14日 豊后島 (図1-③)
- 2007年12月15日~16日 薩摩之島 (図1-⑤)
- 2008年1月12日~13日 十島村口之島 (図1-①) 及び平島 (図1-③)

2.2 調査方法
2.2.1 野景の観測及び病原体検出
各調査地において2日許可を受けている野景について、生け籠り式トラップを1地点当たり50箇所から100箇所まで設置し、季節別回収後検死させ、種類・性別・生死・卵数等を記録し、各種臓器を抽出し病原体検査に供した。

図1 薩南諸島位置及び調査地

付図2 離島(薩南諸島)での調査成果を概観した資料

資料

(資料)

業務委託

野鳥、巣材等からの感染症媒介節足動物採集調査

財団法人山階鳥類研究所

担当：尾崎清明、鶴見みや古

本業務は、リケッチア感染症に係わる、鳥類寄生性ダニ等、媒介節足動物の国内実態調査と疫学研究のための試料を得る目的で実施した。日本全国を対象として、野生鳥類に寄生する、感染症を媒介する可能性のある節足動物（ダニ類、ノミ、ハエ類、ハジラミ、トコジラミ等；以下外部寄生虫）の収集を、（1）鳥類標識調査、（2）鳥類の巣材等、（3）死亡した野生鳥類（4）動物園等で傷病鳥として保護された野生鳥類から行なった。

試料収集結果（2008年12月31現在¹）

34都道府県88カ所の調査地において13目33科90種の日本産鳥類から外部寄生虫サンプル1,082点を収集することができた。このうち、マダニ類およびツツガムシ等の生体597サンプル、マダニ類等液浸標本81サンプルを病原体分析のため国立感染症研究所に提供した。その他の試料407サンプル（ハエ類、ノミ、ハジラミ、その他分類群不明昆虫等）は液浸標本として山階鳥類研究所において保管している。

収集方法別の収集状況は以下の通りである。

- (1) 標識調査での収集：
1,027サンプル
- (2) 巣材等からの収集：
35サンプル。
- (3) 死亡鳥類からの収集：
18サンプル
- (4) 傷病鳥からの収集：
2サンプル

各都道府県での収集状況および宿主鳥類を次に示す（図1、表1）。

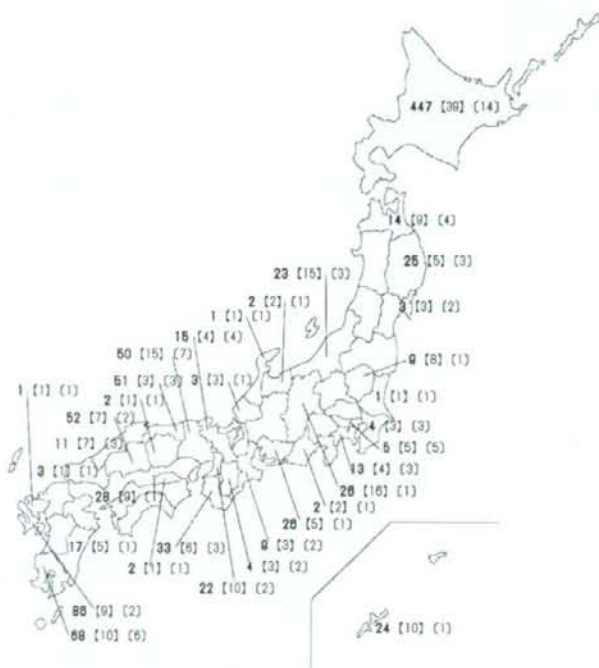


図1. 都道府県別試料採集状況

数字は、サンプル数【鳥種数】【採集地点数】を示す

¹ 北海道からの採集はサンプル数が十分であることから10月末で終了した。

表 1. 2008 年度 外部寄生虫宿主鳥種一覧

目 科 種			
ミズナギドリ目	ハト目	(ヒヨドリ科つづき)	(ウグイス科つづき)
アホウドリ科	ハト科	ヒヨドリ	エゾムシクイ
アホウドリ	キジハト	モズ科	センダイムシクイ
ミズナギドリ科	キンハト	モズ	セッカ
オナガミズナギドリ	カッコウ目	イワヒバリ科	オオジュリン
ウミツバメ科	カッコウ科	ヤマヒバリ	アトリ科
ヒメクロウミツバメ	カッコウ	カヤクグリ	アトリ
コウノトリ目	フクロウ目	ツグミ科	カワラヒワ
サギ科	フクロウ科	コマドリ	マヒワ
アオサギ	コノハズク	ノゴマ	ベニマシコ
カモ目	オオコノハズク	コルリ	ウソ
カモ科	トラフズク	ルリビタキ	イカル
コハクチョウ	アオバズク	ジョウビタキ	シメ
マガモ	ブッポウソウ目	ノビタキ	ハタオリドリ科
キンクロハジロ	カワセミ科	トラツグミ	スズメ
タカ目	アカショウビン	マミジロ	カラス科
タカ科	ブッポウソウ科	クロツグミ	カケス
ハイタカ	ブッポウソウ	アカハラ	13 目 33 科 90 種
ノスリ	キツツキ目	シロハラ	
サシバ	キツツキ科	マミチャジナイ	
ツル目	アリスイ	ツグミ	
ツル科	アカゲラ	チメドリ科	
タンチョウ	コゲラ	カオグロガビチョウ	
チドリ目	スズメ目	ウグイス科	
シギ科	ツバメ科	ヤブサメ	
ヤマシギ	ツバメ	ウグイス	
タシギ	コシアカツバメ(属)	オオセッカ	
キジ目	イワツバメ	シマセンニュウ	
キジ科	セキレイ科	マキノセンニュウ	
キジ	キセキレイ	コヨシキリ	
カモメ科	ピンズイ	オオヨシキリ	
ウミネコ	ヒヨドリ科	メボロムシクイ	

(次ページ以降に、2006~2008 年度に得られた材料を国立感染症研究所で解析した結果を示す。)

Bird-1~2089 トリ捕獲地(ダニ個体数基準)

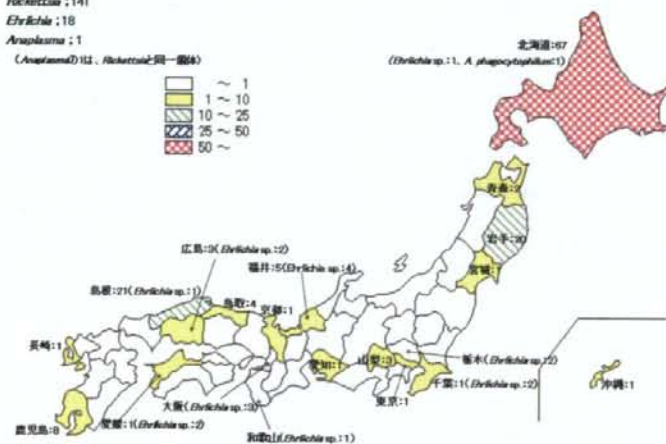
tick mt-rrn(+):1965 + bed bag:10
 素材:コロニーからの採集含む



Bird-1~2089 捕獲地別リケッチアPCR陽性数(ダニ個体数基準)

Rickettsia: 141
Ehrlichia: 18
Anaplasma: 1

(*Anaplasma*)は、*Rickettsia*と同一図表)



Bird-1~2089 捕獲地別リケッチア分離陽性数(ダニ個体数基準)

DNA workを行ったサンプルのみ: 41

