

図 1 日本紅斑熱とつづが虫病の発生地分布

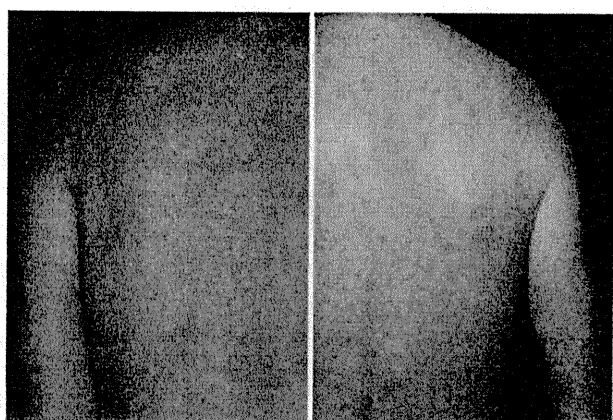


図 2 日本紅斑熱(左)とつづが虫病(右)の発疹

必要がある。つづが虫病の刺し口は日本紅斑熱のそれに比して大きい傾向にあるが、刺し口の形状や大きさのみで鑑別するのは困難である(図3)。3 徴候の他には、意識障害、不整脈、脳内出血、腎不全、下痢、筋炎、心筋炎、血球貪食症候群、播種性血管内凝固症候群(DIC)、多臓器不全(MOF)などが報告されている<sup>3)</sup>。

■ 診 断

日本紅斑熱はマダニ類、つづが虫病はツツガムシ類に刺咬されることにより感染する。したがって、野山や田畑への立ち入りの既往を注意深く聞

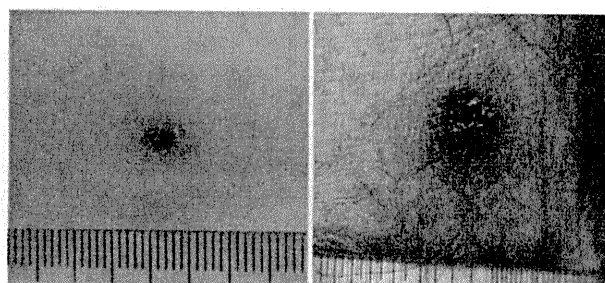


図 3 日本紅斑熱(左)とつづが虫病(右)の刺し口

くことが診断の第一歩である。特異的血清診断は間接免疫ペルオキシダーゼ法(IP)、または間接免疫蛍光抗体法(IFA)を行い、ペア血清で抗体価の4倍以上の上昇または、IgM 抗体の上昇を証明する。近年、患者の急性期血液を検査材料としたDNA 診断(PCR 法)も可能となってきている。また、皮膚生検による酵素抗体法や PCR 法も今後迅速診断として期待される<sup>4)</sup>。

Weil-Felix 反応は非特異的検査法であり、迅速診断としてはあまり利用されていない。

日本紅斑熱とつづが虫病の鑑別診断は重要であるが、臨床的にはリケッチア症として治療を優先する。発生地域や時期、皮疹や刺し口の性状、分布などを詳細に観察し、特異的血清診断で確定診断する。麻疹や風疹などのウイルス性熱性疾患や

表 1 日本紅斑熱の診断

検査方法	検査材料
分離・同定による病原体の検出	血液 病理組織
PCR 法による病原体の遺伝子の検出	
間接蛍光抗体法又は間接免疫ペルオキシダーゼ法による抗体の検出(IgM 抗体の検出またはペア血清による抗体陽転もしくは抗体価の有意の上昇)	血清

薬疹などの発疹性疾患などとの鑑別が必要である。

## ■治療

つつが虫病および日本紅斑熱などのリケッチア感染症は、熱性疾患に汎用されている抗菌薬であるペニシリン系、セフェム系、アミノグリコシド系薬などはまったく無効である。一方、ドキシサイクリンやミノサイクリンなどのテトラサイクリン系抗菌薬が著効を示し第1選択薬となる。またニューキノロン薬に対して、つつが虫病リケッチアは感受性はないが、日本紅斑熱リケッチアは感受性を有しており、臨床的にも有用であることが示され、日本紅斑熱の重症例ではミノマイシンに加えてニューキノロンを併用することの有用性が示唆されていた。しかし、2004年以降、日本紅斑熱による重症例や死亡例が相次いだため、早期の適切な治療について検証の結果、「本症と臨床的に診断した場合、テトラサイクリンを第1選択薬とするが、一日の最高体温39°C以上の症例では、直ちにテトラサイクリン薬とニューキノロン薬による併用療法を行う」ことが推奨されている<sup>5)</sup>。

## ■保険診療上の問題点

### 1. 検査、診断について

日本紅斑熱は感染症法による届出基準では、医師は、臨床的特徴を有する者を診察した結果、症状や所見から日本紅斑熱が疑われ、かつ、表1の左欄に掲げる検査方法により、日本紅斑熱患者と診断した場合には、法第12条第1項の規定による届出を直ちに行わなければならない。

この場合において、検査材料は、同欄に掲げる検査方法の区分ごとに、それぞれ表1の右欄に定めるもののいずれかを用いることとされている。

しかしながら臨床診断上、届出に必要な PCR

法、間接蛍光抗体法、間接免疫ペルオキシダーゼ法などの検査方法については、全く保険適応がない。したがって、届出に必要な検査は、疑った医師が個人的に、あるいは保健所を通じて保険センターや研究機関に依頼して行っているのが現状である。

つつが虫病に関しては保険診療上の検査方法として、Weil-Felix 反応が保険適応として認められているが、非特異的検査法であり上記届出基準の検査方法の中には記載がない。ようやく、平成20年度の改正によりツツガムシ抗体価測定が認められたが、商業ベースで検査を引きうけてくれるところはないので、やはり日本紅斑熱同様に検査に苦慮するところとなる。

### 2. 治療薬について

日本感染症学会の抗菌薬使用のガイドラインでは、つつが虫病の治療に関してミノサイクリンが第1選択薬とされている<sup>6)</sup>。薬剤の適応症を確認すると、テトラサイクリン系抗菌薬の中の、ミノマイシン錠(ミノサイクリン)のみが、つつが虫病と記載している。

その他、リケッチア属と記載があるものには、クロロマイセチン錠(クロラムフェニコール)、アクロマイシンカプセル(テトラサイクリン)がある。

電子レセプトマイティチェッカーで保険適応を確認したところ、上記3剤のみが該当し、その他のテトラサイクリン系抗菌薬であるビブラマイシン(ドキシサイクリン)や有効とされているマクロライド系抗菌薬(エリスロシン、ジョサマイシン)は保険適応に該当しなかった。

近年死亡例の報告もあり、早期治療が必要な日本紅斑熱に関して、第1選択薬とされているテトラサイクリン系抗菌薬をはじめ、有効とされているニューキノロン系抗菌薬(シプロキサシン)、マクロライド系抗菌薬は、何れも適応症欄に日本紅斑熱の記載はない。重症例での治療について、日本感染症学会の抗菌薬使用のガイドラインでも併用療法(ミノサイクリンとニューキノロン系抗菌薬)が記載されているが<sup>6)</sup>、両剤とも保険適応となっていない。電子レセプトではエラーとして出力される。

臨床の現場では、保険適応かどうかよりも、有

効治療を優先し、重症例や死亡例を出さないことの方が重要である。しかしながら、保険適応のない抗菌薬を使用したことによるトラブルや訴訟などの問題も今後出てくる可能性を否定できない。

治療薬の保険適応に関してメーカーの対応は、薬価の「安いクスリに費用をかけて適応を取るだけのメリットがない」に尽きる(ミノサイクリン 100 薬価 62.3 円, シプロキサシン 200 薬価 121.6 円)。したがって、薬事法に基づき治験を行い適応薬として認められるには、きわめて困難な状況にあるのが現実である。日本医師会の医師主導型治験についても同様である。

### ■まとめ

以上述べたように、第 4 類感染症に指定されている多くの疾患は、必要な検査法や治療薬が健康保険で認められていない。感染症法を所轄する厚生労働省は、感染症法で届出を義務づける疾患にあっては、検査法と治療薬について包括的に保険

適応を認めるよう要望したい。また、グローバルに人や動物が移動する時代にあっては、SARS や新型インフルエンザの事例にみられるように、今後予期せぬ感染症の蔓延が危惧されるところである。新しい診断法や外国でエビデンスのある治療法は感染症法で指定する場合、包括的適応に含めてもらう必要があると考えられる。

### 文献

- 1) 馬原文彦・他：わが国初の紅斑熱リケッチア感染症。感染症学雑誌, **59** : 1165-1172, 1985.
- 2) 馬原文彦：リケッチア感染症。最新医学, **63** : 192-214, 2008
- 3) Mahara, F : Synopses, Japanese spotted fever : Report of 31 cases and review of the literature. *Emerg. Infect. Dis.*, **3** : 105-111, 1997.
- 4) Mahara, F : Rickettsioses in Japan and the far east : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1078** : 60-73, 2006.
- 5) 馬原文彦：リケッチア感染症(ツツガムシ病, 日本紅斑熱)。今日の治療指針 2008 年版(山口徹・他編)。医学書院, 2008, pp.146-147.
- 6) 日本感染症学会・日本化学療法学会(編)：抗菌薬使用のガイドライン。協和企画, 2005, p.223.

\* \* \*

## 感染症法第四類感染症の検査，治療薬の保険適用について

馬原文彦 Fumihiko MAHARA

藤田保健衛生大学医学部客員教授，日本感染症学会西日本地方会理事

「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律(感染症法)」で，日本紅斑熱やつつが虫病などのリケッチア症やQ熱，ライム病，レジオネラ，野兔病などは，第四類感染症に指定され，診断した医師は届出義務が課せられている。しかしながら，感染症法の発生届け出に必要なとされる確定診断のための検査は保険適応外となっているものが多い。治療に関しても有効治療とされガイドラインに記載されている治療薬が，健康保険の適応となっていない。

今後電子カルテへの移行に伴い，診療報酬の請求の際や感染症法上の取り決めの狭間で臨床家は頭を悩ませている。

感染症法を所轄する厚生労働省は，感染症法で届出義務が課せられている感染症について，届け出に必要な検査法および他疾患で安全性が担保されている有効治療薬については“包括的保険適応”を認めるよう提言したい。

### ■検査，診断について

感染症法で届出が義務付けられている疾患の中で，発生届に記載されている“診断方法”の保険適応がない，あるいは保険適応があっても現在あまり行われていない検査法しか認められていないことが多い。

#### 【例】

- ・ライム病，日本紅斑熱はどの検査法も保険適応がない。

(届出に必須とされている，PCR法，間接蛍光抗体法，間接免疫ペルオキシダーゼ法，Western Blot法など)

- ・つつが虫病はWeil-Felix反応のみが認められている。

### ■治療薬について

現時点では，動物由来感染症や特殊感染症の治療抗菌薬の多くは健康保険で適応症として認められていない。あるいは認められている薬剤はあるが，標準的な第一選択薬が適応となっていない。

#### 【例】

- ・日本紅斑熱は第四類感染症のうち，発生数は3～4番目に多い感染症である。
- ・近年死亡例の報告もあり，早期診断，適切な早期治療が求められている。
- ・治療法として早期よりの，テトラサイクリン薬とキノロン薬の併用療法が推奨されているが，何れも適応になっていない。

臨床の現場では、保険適応かどうかよりも、有効治療を優先し、重症例や死亡例を出さないことの方が重要である。しかしながら、保険適応のない薬剤を使用したことによるトラブルや訴訟などの問題も今後出てくる可能性を否定できない。

治療薬の保険適応に関してメーカーの対応は、「薬価の安いクスリに費用をかけて適応を取るだけのメリットがない」に尽きる。したがって薬事法に基づき治験を行い適応薬として認められるには、極めて困難な状況にあるのが現実である。日本医師会の医師主導型治験についても同様である。

今後の、新感染症や輸入感染症などの事も考えると、外国でエビデンスのある診断法や治療法も感染症法で指定する場合、包括的適応に含めてもらう必要もあると考えている。

2009年6月13日、第17回ダニと疾患のインターフェイスに関するセミナー SADI 越の国大会(福井市)において、「感染症法と保険診療」のワークショップがもたれた。このワークショップでは厚生労働省からのオブザーバ出席を得て、第四類感染症の、つつが虫病、日本紅斑熱、ライム病、野兎病、Q熱などについて、臨床の現場から、大学病院、検査機関から、そして特異的検査を担当する地方衛生研究所などの立場から、診療や検査機関などの現場で困っていることについて意見交換が行われ、保険診療について議論が沸騰した。

この議論は、国民の健康を感染症から守る立場から極めて重要かつ喫緊の課題と考えられる。

本連載では、各疾患のエキスパートに、臨床と疫学、診断、治療について概説して戴くと共に、保険診療上の問題点について、言及して戴く予定である。

(なお、日本感染症学会西日本地方会では上記提言を日本感染症学会へ既に提出していることを付記します)

\* \* \*

衛生昆虫の解説—3

医ダニ類の形態と病害

ダニ

たか だ のぶ ひろ  
高田 伸 弘  
Nobuhiro TAKADA

要 旨

医ダニ類は各々の種の生態に基づいて人類に病害を与える。寄生性ないし一過性にさまざまな皮膚障害をもたらす一方、病原体の絡みでは新興再興感染症のベクター（媒介動物）の役割を果たして近年の焦眉の的となっている。予防や治療が後手に回る理由は、それらの多くが微小ないし小型であって日常生活の中では視認し難いことで、ここではそれら形態の特徴そして最近の疫学動向を紹介する。

I. はじめに

衛生昆虫類などは社会一般でもカとかハチとかに分けて呼ばれるのに対し、ダニ類は保健医学関係者であっても分類にて呼称することが少ない。しかし、総称で「ダニ」と言うのでは、農業ダニ類など広い

分野もあるので具合が悪い。ここではわれわれが常に用いる医ダニ類という表記で話を進めたい。

II. 医ダニ類の形態<sup>1,2)</sup>

細密に分類すれば医ダニ類もずいぶん煩雑でここではすべてを扱えないため、重要な病害を起因する種類に絞って形態を一覧する（図1）。まず小さい類はコダニ、大きい目の類はマダニと呼んだ上で、それぞれの類を単純に日常物を眺める時の視力や注意力で視認できるか否かというレベルで大まかに分けた。この大きさというのが重要であって、例えば小さな種類が皮膚に接近して吸着しようとした場合、すぐに察知できないゆえ障害を受けてしまうのだし、その予防や防除も難しいということになる。だから、医療側も患者側も、大きさ（＝存在感）の認識を共有しつつ対応できれば最もよい。

類 別	コダニ				5. マダニ		
	1. ヒョウヒダニ	2. ヒゼンダニ	3. ツツガムシ	4. サシダニ	幼虫	若虫	成虫
大きさ	微小	微小	微小	小型	小型	中型	大型
寄生性	自活性	真正寄生	幼虫期のみ	主に成虫期	真正寄生	真正寄生	真正寄生
吸血性	なし	組織液摂取	組織液摂取	吸血/刺激	吸血	吸血	多量吸血
起因病	アレルギー 喘息や結膜炎	疥癬	ツツガムシ病 刺症	虫刺症	リケッチア症など	リケッチア症、 ライム病ほか	リケッチア症、 ライム病ほか
視認度	不可	不可	不可	難	難	可	容易
色合い	肌色	肌色	肌色	肌色～茶色	茶色	茶色～濃茶色	濃茶色

図1 大まかな形態の差で分けた医ダニ類

福井大学シニアフェロー  
福井大学医学部  
☎910-1193 福井県吉田郡永平寺町松岡

Senior Fellow of University of Fukui  
Faculty of Medical Sciences, University of Fukui  
(Matsuoka, Eiheiji, Fukui)

### Ⅲ. 医ダニ類の起因疾患と疫学のポイント

現今は各類のダニが起因する一般的な臨床所見など情報は得易くなっているので簡単に済ませ、むしろ最近分かってきた疫学の最新情報や特徴的な病巣像、あるいは今後への指針などを以下にあげたい。記述は、図1で付した番号順とする。

#### 1. ヒョウヒダニ類

本類では *Dermatophagoides pteronyssinus* ヤケヒョウヒダニと *D. farinae* コナヒョウヒダニが重要で、世界中の屋内塵中の重要な生物成分であって、高温多湿で増殖する（近年は冬季でも高気密住宅では問題になり易い）。ダニも好気性であるから、寝具、絨毯、ソファー、ぬいぐるみなど空気を含む素材に繁殖するが、その虫体内とくに排泄系に DerP1 や DerP2 と呼ばれる抗原蛋白を含むため、虫体が死骸となった場合に室内に飛散して吸入性アレルギーを惹起する。そこで頻回に丁寧に電気掃除機をかけることは有効で、かつ昨今の空気清浄器も利用できる。なお、これら抗原は水溶性なので寝具などを丸洗いのもよい。

#### 2. ヒゼンダニ

本種 *Sarcoptes scabiei* による疥癬（ヒゼンダニ症）は、かつては各国ないし地域住民の免疫力低下の周期性に伴って流行が繰り返されたと言われるが、近年は国内外にまたがる人々が多様な交通交流あるいは高齢化や老健施設の増加などに伴って拡散するため、周期性は薄れて散在性に各地で常に見出される傾向が定着した。治療薬として、近年はイベルメクチン製剤が威力を発揮しているが、耐性の問題など出始めたようで、継続的に簡単に発生を抑制できるとは思わない方がよい。なお、重症例は過去にノルウエー疥癬と称したが、近年は角化型疥癬といい、偏見を除外しつつ病巣の病理像を示す名称となっている（図2-1）。なお、皮内（毛嚢など）に潜在する *Demodex folliculorum* ニキビダニ（俗に顔ダニ）などは成人の大半に見られ、ひどいニキビ症状と関連を擬される場合以外は、病原性が判然としない。

#### 3. ツツガムシ類<sup>3,4)</sup>

一般には、これがダニ類とは思われてないことも多い。高熱性発疹性で、多彩な部位に刺し口を見るところのツツガムシ病を媒介する（図2-2）。本病は古来からわが国では最も発生が多いリケツチア症であるが、その発生数と言われるものは旧伝染病予防法の時代からあくまで届出数に基づくものであり、確定診断を得なかつたり認識されなかつたりした例数も多く、真の発生数は数倍に上るとしばしば言われてきた。1960年代の前後10年間ほど届け出数の激減を経たため近年は再興感染症と称されるが、実際には年次消長を示しながら毎年あるレベルで発生（潜在）していたと考えるのが自然である。北日本の多雪地帯や中～西日本の類似環境に絨毯的に分布する *Leptotrombidium pallidum* フトゲツツガムシ、および東北中部から南の地域で濃密な分布スポットがモザイク状にみられる *L. scutellare* タテツツガムシが主たる媒介種と考えられ、それぞれ異なった型の病原体 *Orientia tsutsugamushi* (Otと略) を虫体内に共生させ、経卵巣感染で有毒家系を維持している。別な数種ツツガムシも各々異なった型の Ot を保有する。したがって、わが国固有のこれら菌型を抗原として血清抗体の検査をしなければならない。一方、古く知られたアカツツガムシによる媒介は主な生息環境である河川敷の改修などで激減したが、必ずしも完全消滅はせず、実際、秋田県雄物川中流域では最近に至るまで感染例が散発している。他方、ごく最近には南西諸島宮古島で *L. deliense* デリーツツガムシによる東南アジア共通の Ot 型の感染が続発するなど、予想以上の多様性が確認されつつある。通常、病院検査室では本病はルーチン検査に組み込まれておらず、商業的検査機関においても必ずしも抗体検査の信頼性が一定しないのが現状である。したがって、後述の紅斑熱群と同様、厚労科研費による研究班の手で実践的な検査手技やレファレンス体制の普及が急がれているが、特に最近には刺し口の潰瘍を塞いで作られる瘡蓋 (Ot の増殖部) から PCR で Ot 遺伝子を検出するといった安直とさえ言える方法に100%近い有効性が確認され、確定診断が大いに向上しつつある。

#### 4. サンダニ類

通常は小型で肌～茶色であるが、吸血した後では黒っぽくなり視認し易い。文字通り刺して吸血または単純刺激により痒みを与える。例えば、家ネズミの巣（イエダニ *Ornithonyssus bacoti*）や鳥の巣（スズメサシダニ *Dermanyssus hirundinis*）あるいは穀物袋（シラミダニ *Pyemotes tritici*）から溢れた個体が人体に接触して刺症が起き、時に激しい発疹（特にアレルギー性の患者）を生じさせるので（図 2-3）、対症療法を繰り返すのみでなく、それら原因を積極的に除くか避けるよう導きたい。

#### 5. マダニ類<sup>3,4)</sup>

幼虫期は視認し難いほど小型であるが、若虫さらに成虫になれば大きく、一般にもよく知られる皮膚寄生の吸血性ダニ類である（図 2-4）。わが国には 60 数種を見てさまざまな感染症を媒介、まれに麻痺やショック症状を惹起する。

まず、紅斑熱群リケッチア症としては、日本紅斑熱が 1984 年の徳島県における初確認以来、感染症法に絡む新興感染症としてわが国の主に暖帯域で急速に確認が続いている（図 2-5）。ツツガムシ病と同様、発生の多寡は届出数で言われるが、やはり確定診断や認識を得ない潜在例も多いと思われる。本群のうち、関東から東海、そして南西日本（南西諸島含む）の黒潮ないし対馬海流に面する地域に多発するのが、主に *Haemaphysalis* チマダニ属に媒介される *Rickettsia japonica* 感染の日本紅熱斑熱であるが（それら地域の中で中国地方には *R. tamurae* 感染例もある）、近年は北陸から東北地方で北アジアと共通性の *R. helvetica* や *R. heilongjiangensis* の感染例も発掘され、さらにいくつかの同群リケッチア種も各地で証明されるので、想定以上に多彩な潜在感染が危惧される。疫学的には、ある地域で果樹園など開放的な環境（野生獣とマダニが少ない）に前述のツツガムシ病が多発、一方で隣接する森林地域（野生獣寄生のマダニが濃厚）には日本紅斑熱の多発をみるなど住み分けもしばしば観察される。ツツガムシ病と同様、本病は通常の病院検査室ではルーチン検査されず、商業的検査機関でも検査項目に入ってい

ない。いくつかの県では衛生研究所等で行われるが不十分なため、厚労科研費で検査手技やレファレンス体制の普及が急がれている。本病でも刺し口の瘡蓋から PCR 検出が極めて有効であるし、ツツガムシ病の場合と同様、全身のどこかに刺し口が必ずあるとして検索したい（図 2-2）。

次に、マダニ類はやはり新興感染症としてライム病を媒介する。北方系の *Ixodes* マダニ属（大半がシュルツェマダニ）が媒介する *Borrelia garinii* や *B. afzelii* が主な病原スピロヘータゆえ、中部地方の山間から北海道に症例の大半をみる（ただし、東北地方では、中部地方と比べて上記媒介種の個体数や保菌率が低く、人口も海岸線平野に偏るため発生は意外に少ない）。一方、極東から東南アジアまで分布する南方系の *B. takadae*（仮称；新種記載中）による症例も確認されつつある。検査診断では、遊走性紅斑が見つかれば本病を強く示唆されるが（図 2-6）、認め難いことも多々あるので、疑い患者の血清抗体をスクリーニングした上で、確認検査へ進む熱意が必要となる。現在、国立感染症研究所に相談するのが最良である。ついでながら、回帰熱系の *Borrelia* 種が海鳥寄生の軟マダニ（外皮が柔らかい類）から見出されるなど、新たな問題も提起されている。

その他のマダニ起因疾患として、①アナプラズマ症は、わが国では主にタカサゴキララマダニが媒介するらしくヒト顆粒球に封入体を作る桿菌であるが、培養が難しいため感染例は容易に見つけられず、最近徐々に確定診断例が出つつある。②ネズミバベシア症は、マダニ属の媒介で赤血球にマラリアに似て寄生する原虫によるが、数型あるうち神戸型が有力感染型と思われるものの顕性感染例は未だ少ない。③野兎病は、感染性の強いパスツレラ属細菌により、野兎が保有体動物として重要である。東北地方でも発生は激減しているが、昨今は、バイオテロに係る病原体として扱われる。④ダニ脳炎は、今のところ北海道で 2、3 例が知られ、ロシア方面と共通のウイルス感染によるらしいが媒介マダニ種が異なる。⑤ダニ麻痺は、欧米やオーストラリアの大型種などでよく惹起されるが、国内種の寄生でもショックや麻痺を原因したらしい例が報告され始めた。

以上に共通して特記したいのは、医ダニ類が病害





図2 医ダニ類が起因する病巣や病理像

をもたらす環境の認識を改めたいことである。例えば、ツツガムシやマダニ類は山野において吸着されるという先入観が一般に大きいようであり、もちろん山野に生息はするが、山沿いの住家裏庭や家庭菜園、家屋周辺、散歩道、河川敷や土手(大都市を含む)また新興住宅地まで住民の身近によく生息して、そこから感染の起こる例が続々証明されている。時には、屋外から持ち込んだ花木や土壌から室内でも感染し得る。主治医が患者に山野での活動歴を尋ねた場合、患者は特別の山岳や草原に思いを馳せがちなので、まずは住家周辺の環境から問うのが誤解を避けるコツのようである。すなわち、医ダニ媒介性の感染症は、わが国の「常在感染症」という認識で臨まねば、不幸な転機の報道が絶えないだろう。ほ

かのダニ起因性病害でも、原因環境は身近な所から検索した方が対策の早道であることが多い。

## 文 献

- 1) 高田伸弘, 病原ダニ類図譜, 216pp, 金芳堂, 1990.
- 2) SADI組織委員会編, ダニと新興再興感染症, 296pp, 全国農村教育協会, 東京, 2007.
- 3) 厚労科研報告, 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」, 2007, 2008, 2009.
- 4) 厚労科研報告, 新興・再興感染症研究事業「リケッチアを中心としたダニ媒介性細菌感染症の総合的対策に関する研究」, 2010.

## 最近のリケッチア症

たかだのぶひろ  
高田伸弘\*

### サマリー

わが国にみるリケッチア症は寄生性ダニ類が媒介する病種が重要で、微小なツツガムシによるツツガムシ病、また吸血性のマダニによる紅斑熱群が挙げられる。前者は多様な媒介種が多様な菌型の共生微生物(*Orientia tsutsugamushi*)を保有し、古く知られながら、今なお新しい知見は引きも切らない。後者はわが国では1980年代後半からようやく実態が知られ、南西日本中心にみられる日本紅斑熱(*Rickettsia japonica*)が重要ながら、北日本ではユーラシア大陸共通性病種の確認も続き、今後とも遺伝解析に伴う多様な知見が得られよう。したがって、検査診断法をさらに改善し、疫学的認識を改めて臨床対応せねばならない。

### 用語解説

- 共生微生物**…共生(symbiosis)とは、複数種の生物体が相互関係をもちながら同所的に生活する現象をいう。リケッチアを含む細菌類は、例えばダニ類の細胞内に生息しており、そういった共生形態は“細胞内共生”と呼ばれる。宿主と共生微生物とが出会って共生関係になる過程を“伝播”と呼び、卵巣経由で親から子へ共生関係が受け継がれる場合は“垂直伝播”，また環境を介して受け継ぐ場合は“水平伝播”といわれる。一見共生という形態であっても、宿主の性を操作することで自らの伝播をコントロールすることなども知られ、互いに独立した関係でもないことが多いらしく、共生という種間関係は相利共生または寄生(一方の利)といった関係などすべてを含む意味として捉えねばならない。
- 偏性細胞内寄生性**…別の生物の細胞内でのみ増殖可能で、それ自身が単独では増殖できない微生物などの性質をいう。つまり、それは人工培地で生き得ないことを意味する。ただ、リケッチア類は増殖に必要なエネルギー産生系などを備えているのになぜ単独で増殖できないかという理由は、リケッチア類の細胞膜は物質の透過性が高く細胞外では物質の漏出などで生存できないためと考えられている。
- Orientia tsutsugamushi***…ツツガムシ病原体は、わが国の研究者の長い労苦により1930年初頭に見いだされ、学名の変遷などを経て菌種名は“*Rickettsia tsutsugamushi*”に落ち着いていた。しかし、その性状分析や遺伝子解析の結果から1995年に新属として“*Orientia*”が提唱され、種名も“*O. tsutsugamushi*”と変わって今では広く用いられている。今のところ1属1種である。
- 寄生性ダニ類**…節足動物のうちクモの仲間は、クモ類とサソリ類、そしてダニ類に分かれる。さらにダニ類は、肉眼的にも大きなマダニ類と日常生活のなかではほぼ見えない微小なコダニ類に分けられる。寄生性とは、皮膚ないし鼻腔粘膜などに口器を刺して一定期間は吸着することを意味するが、ダニ類のうちで寄生できるのはマダニ類(全発育期が吸血性)とツツガムシ類(幼虫期のみ組織液を吸飲)、およびヒゼンダニや肺ダニである。このうち、自己の共生微生物(宿主にとっては病原体)の伝播を行うのはマダニ類とツツガムシ類に絞られる。

\* 福井大学・シニアフェロー ☎910-1193 福井県永平寺町松岡下合月23

## 多様化する病種

従来のリケッチア症(rickettsiosis)の定義では、紅斑熱群、発疹チフス、ツツガムシ病など真正種のほかQ熱や壘壕熱まで加わり、所属不確定の細菌感染症の集積場と化していた。救いは、その大半の病原種が節足動物媒介性かつ偏性細胞内寄生性という点で共通したことであった。しかし、1980年代後半から新興再興リケッチア症が注目され、遺伝子解析法の急速な進歩に基づく系統樹上ようやく絞り込まれてきた。ただ一方で、遺伝種レベルの細分化に伴い紅斑熱群リケッチアなどは多様化(新種記載の増加)も進むことになった。そういう意味で全体像はなお把握が難しいが、本稿では現時点で国内で焦点的になっている病種に絞って概説し、教科書にはない実践的な事柄まで言及したい(表1)。

## 主な病種の疫学と臨床

### 1. ツツガムシ病(図1, 表1,2)

ツツガムシ病はわが国で“tsutsugamushi disease”, 東南アジアでは多く“scrub typhus”と表記されるが、その病原体は微小なダニのツツガムシの共生微生物であって、親から子へ経卵巣感染で維持される。ムシの種ごとに異なる菌型(血清型)を保有し、国内では古く東北地方日本海側の大河流域でみられたKato型、そして戦後は本州から九州まで分布するKawasaki型など種々の病型が確認され、経緯は複雑である。従来、検査抗原に使われているKarpやGilliamの純粋型は東南アジア由来で国内ではみられない。最近、ほぼ消滅したかと思われていた上記Kato型による感染例が古巣ともいえる秋田県雄物川中流域で散見されるようになったほか、南西諸島西端の宮古島では東南アジア共通の型の続発も確認されるなど、今なお本病は列島を通じて多様性をみせて尽きるところを知らない。

ところで、古来から続いていた本症の発生は1960年代に消滅かといわれていたが、1980年頃より再び発生数が増加(年間数百から千例)したということで再興感染症の範疇とされた。しかし、発生数というのは公式届出数に基づくが、その届け出は面倒ということで実際は相当数が不明熱と

して処理されるようで、おそらく真の発生数は数倍といわれる。統計上でも、古いKato型と新たに知られるようになった多くの型の記録が区分されておらず、厳密な発生消長は知りようがない。ゆえに筆者の本音としては、本病が再興感染症といえるか否か疑問である。しかし統計の価値とは別に、本病は昔から各地に多数実在してきた重要な感染症の一つであるといえる。

本病を媒介するツツガムシは幼虫期においてのみ脊椎動物に寄生する。その微小さゆえに皮膚上層にしか吸着できないため、吸血ではなく組織液を摂取する。その際にムシの唾液から出た病原体が局所皮膚に潰瘍を形成して増殖し特徴的な“刺し口”が生じる。この病原体が増殖して血流で全身に散布されて発症するまでの日数が潜伏期であり、同病における潜伏期間は7~10日間ほどである。治療においては、βラクタム系薬剤は全く無効であるため、テトラサイクリン系薬剤が第一選択となる。なお、1週間以上も有効な治療がないと重症化の可能性が高まる点は注意を要する。また、次項の紅斑熱群との鑑別も重要である。

### 2. 新興感染症としての紅斑熱群(図2,3, 表1,2)

マダニ媒介性である紅斑熱群リケッチア(spotting fever group rickettsiae, SFGR)は世界に広く分布し、地域ごとの病原種と病名は多彩である。わが国では、過去の調査不足か、1980年代になって思わぬ新興感染症として日本紅斑熱(Japanese spotted fever)が発掘された。臨床像はツツガムシ病に類似する。認識と検査法普及に伴い、南西諸島も含めて新たな発生地域が見いだされ、年間届出数は南西日本を中心に100例を超えるようになった。最近では紀伊半島の太平洋側森林帯や西九州各地での多発が顕著である。加えてここ数年、欧州や北アジアあるいは東南アジアと共通性のあるマダニ種とその保有SFGRによる症例が知られるようになり、国内の状況も多様なことがわかってきた。

マダニ類は口器がツツガムシより格段に大きいため、刺し口は皮下毛細血管叢まで届き、刺し口(病原体増殖の場)が小さくとも病原体が血流に乗って全身に散布されるため発症が早い。病初にみられる手掌や足底の紅斑は特徴的ながら速やかに消退するので注意したい。治療はツツガムシ病

表1 わが国を中心としたリケッチア症の現況

疾患群/疾患名	病原体/主な媒介種	主な発地域
<b>紅斑熱群(国内で症例確認分)</b> 日本紅斑熱 極東紅斑熱(仮称) ヘルベチカ感染症(仮称) タムラエ感染症(仮称) アジアチカ感染症(仮称)	<i>R. japonica</i> /チマダニ属 <i>R. heilongjiangensis</i> /チマダニ属 <i>R. helvetica</i> /マダニ属 <i>R. tamurae</i> /キララマダニ属 <i>R. asiatica</i> /マダニ属	南西日本～極東, 東アジア? (関東や南西諸島でも確認例) 北アジア～北日本 (最近, 東北地方で確認例) ヨーロッパ, タイ北部, 北日本 (近年, 北陸地方で確認例) 東南アジア～南西日本 (最近, 中国地方で確認例) 東アジア～日本 (近年, 中部地方で疑似例)
<b>紅斑熱群(国外の主要種)</b> ロッキー山紅斑熱 シベリアマダニチフス ボタン熱 リケッチア痘	<i>Rickettsia rickettsii</i> /カクマダニ属 <i>R. sibirica</i> /各種マダニ <i>R. conorii</i> /コイタマダニ属 <i>R. akari</i> /トゲダニ類	北アメリカ大陸 シベリア, 中央アジア, 中欧 地中海沿岸～インド～アフリカ 北米, ロシア, 南アフリカなど
<b>発疹チフス群(世界に散発)</b> 発疹チフス 発疹熱	<i>R. prowazekii</i> /コロモシラミ <i>R. typhi</i> /ネズミノミ	世界に散発 世界に散発
<b>ツツガムシ病群(アジア限定)</b> ツツガムシ病	<i>Orientia tsutsugamushi</i> JG ないし JP-2 型/フトゲツツガムシ Kawasaki ないし Kuroki 型/タテツツガムシ Kato 型/アカツツガムシ 台湾系の型/デリーツツガムシ	日本, 極東～東南アジア, 豪州 (北海道～九州) (東北中部～南西諸島) (東北中部の西半部) (最近, 宮古島で確認例)

従来リケッチア類に含まれていても系統樹上で遠い病原体や限局的分布の菌種は除く。

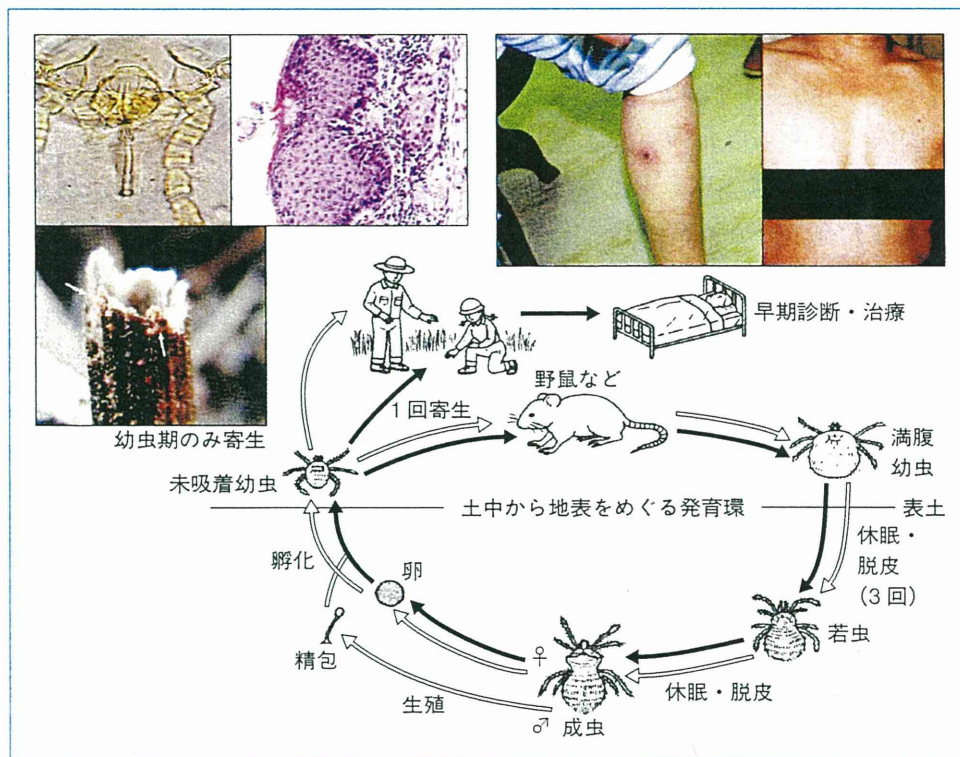


図1 ツツガムシ病の感染環

左上写真は草の先端に集まった幼虫が宿主皮膚に吸着して組織液を摂取する過程。右上写真は刺し口や発疹の状態。

表2 ツツガムシ病と日本紅斑熱の鑑別および対応の比較

事項	ツツガムシ病	日本紅斑熱(紅斑熱群でおおむね共通)
媒介種	フトゲツツガムシ(春と秋) タテツツガムシ(秋～初冬) アカツツガムシ(夏)	春夏秋(幼若マダニ発生の夏～秋に多い)
特異症状	吸着後 7～10 日で発症	吸着後 2～8 日(平均数日)と速い発症
熱型	38～39°C の弛張熱	39～40°C の弛張熱
発疹	主に軀幹(手掌や足底に見ない)	全身(手掌や足底含む)しばしば出血性
刺し口	径 1 cm 内外の黒い瘡蓋 (頭髪の中や下着で覆われた部位を含め全身を調べるのが最良)	ツツガムシ病より小さめの瘡蓋
リンパ節腫脹	所属～全身で++	見られないことが多い
その他	比較的徐脈, 肝脾腫大 ・高サイトカイン血症に伴う全身性炎症反応症候群また播種性血管内凝固症候群(DIC)による重症化や臓器障害の可能性	比較的徐脈
血液検査	病初(急性期)と 1～2 週後(慢性期)のペア試料が望ましい	
好中球	++	++
異型リンパ球	++	±～+
血小板	↓	↓
CRP	↑	↑
LDH	↑	↑
IgM/IgG 抗体	・ペア血清につき間接免疫ペルオキシダーゼ染色法または間接蛍光抗体法にて上昇をみる(所管の衛生研究所, 国立感染症研究所, ほか民間機関へ依頼)* ・上記同様血清につき凝集反応や ELISA(試用研究者へ依頼)	
Weil-Felix 反応	・ツツガムシ病で OXK, 紅斑熱で OX 2 か OX 19 が陽性ながら, 低感度で不安定	
DNA 診断	今では医療機関の検査室でも可能で診断的価値も高い(試料のコンタミに留意) ・生体試料(瘡蓋>>血液)につき定番プライマーにて PCR(可能ならシーケンス)	
菌分離	急性期の治療前血液につき L 929 細胞などで継代(検査法としてはやや煩雑)	
治療	テトラサイクリン系の投与	左の効果低い場合にニューキノロン併用(海外では主にドキシサイクリン)

\*: 実施可能な都道府県立の研究機関は全国の 1/5 程度に過ぎず, 商業ベースでの確な検査が可能な機関も僅少である。国立感染症研究所による行政検査は手続きがやや煩雑ながら可能である。現在進行中の厚労省研究班では, 実践的な検査手技やレファレンス体制を都道府県に普及させる試みを急いでいる。

と似るが, 重症例ではニューキノロン系薬剤が併用される。

### 3. その他のリケッチア症

紅斑熱群は本稿で挙げた以外にも多くの菌種が世界各地にみられるので, 輸入例に遭遇した場合は文献検索ないし専門家への問い合わせで対応したい。一方, 古くから知られている発疹チフス群(コロモシラミ媒介の発疹チフスやネズミノミ媒介の発疹熱)は世界の衛生状態の悪い地域で散発するが, わが国では発疹熱を稀にみるだけである。ただ, 路上生活者が増加する昨今, 発疹チフスの発生などを完全に否定すべきではない。

### 4. 検査診断にみる留意点

抗体検査の場合, ツツガムシ病は多くの血清型の間で, また紅斑熱群は菌種間で各々交差性のみ

るが, 症例ごとに型や菌種を確定するには, 国内産の型や菌種の抗原を並べて比較すべきである。ただ, 菌体自体を用いた検査法は管理や習熟を要する面もあり, 今後は菌体抽出のアルカリ-ポリサッカライド抗原などを用いた凝集反応, または ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)法が簡便な方法として普及が望まれる。PCR(polymerase chain reaction)による DNA 診断法は近年著しく普及し, リケッチア症では特に刺し口の瘡蓋(菌の増殖部)から当該遺伝子を検出するという安直とさえみえる方法で 100%近い有効性が確認され, 診断率が著しく向上した。一方, 生きたリケッチアの分離は困難ではあるが, 成功した場合には株の樹立により, 生菌でしか行うことができない解析が可能となる。なお病理学的検

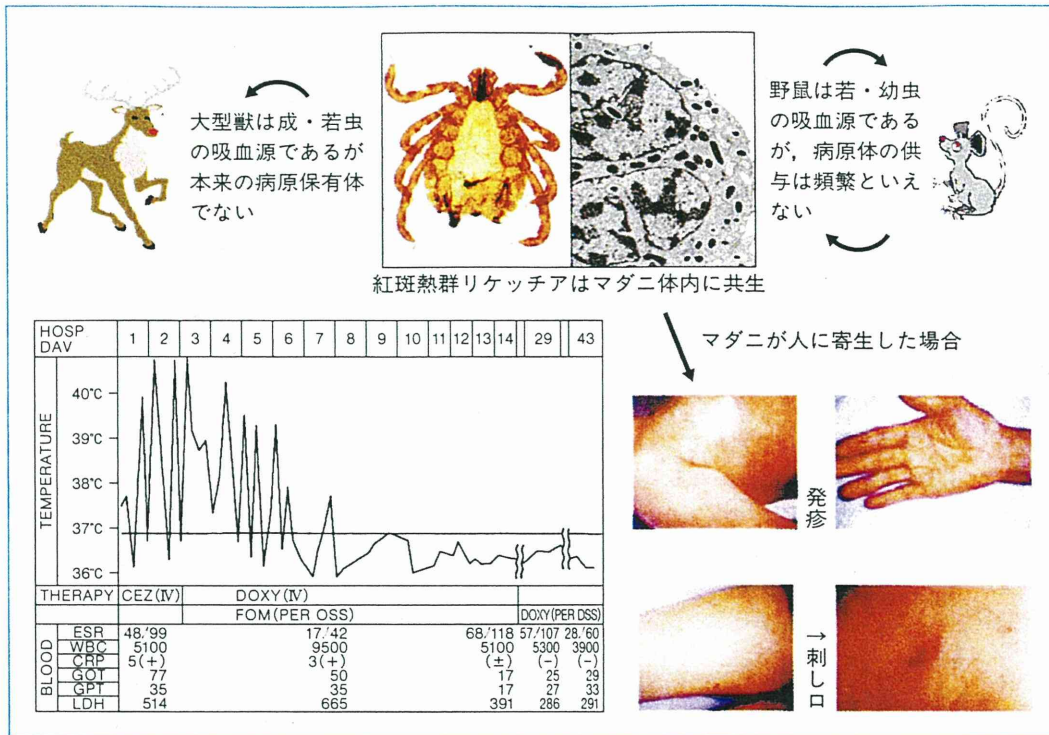


図2 紅斑熱群の感染環

上半の図・写真はマダニと宿主動物での病原体のやりとり。下半は感染後の治癒経過や皮膚所見(発疹, 刺し口)。

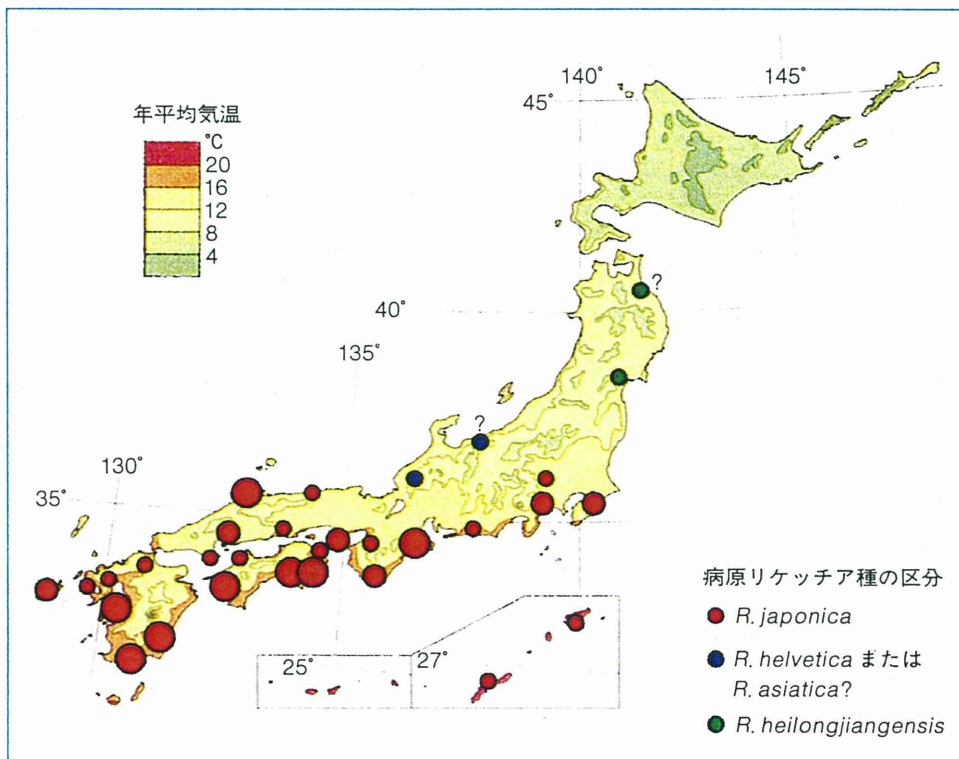


図3 わが国で確認された紅斑熱群の分布  
丸印の大きさは概略の発生頻度を示す。

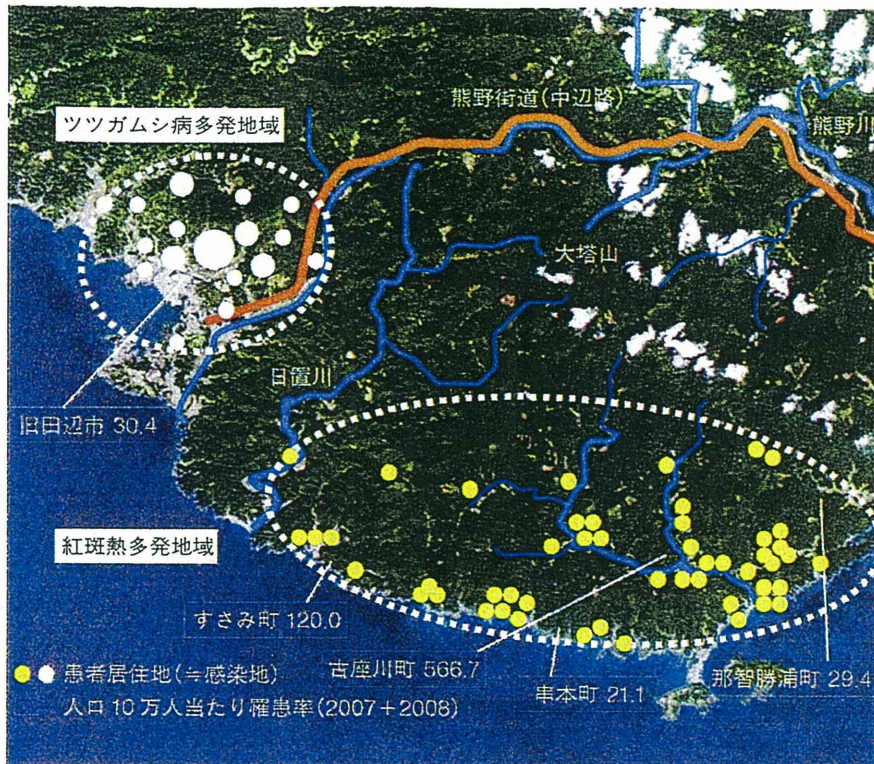


図4 リケッチア症発生地に住み分け  
紀伊半島南部の例で、果樹園地帯のツツガムシ病と森林地帯の日本紅斑熱の発生が河川や山系など環境要因で隔離されている。

索は、診断のためよりむしろ重症例の後追い検査で行われ、単クローン抗体による免疫染色で刺し口や臓器から菌体検出も試みられる。

ところで、リケッチア症は、現行感染症法で4類感染症に分類されるため、それが疑診され、かつ抗体や遺伝子検出ができた場合、最寄りの保健所に届け出る義務がある。ただ、リケッチア症を含むダニ媒介性感染症は届け出指定ながら、特効性のある抗菌薬が正式に保険適用されていないため費用の負担区分が不明確な点は議論がある。

### 疫学的認識の転換(図4)

ダニが介在するリケッチア症は、媒介ダニ種と宿主動物の分布という環境要因に大きく影響される。環境変化と感染拡大の関係を考察すれば以下のとおりである。

①温暖化がいわれるようになってから南方系マダニ種が北上して感染域が拡大したかといえばそうではなく、大半は認識不足で残されていた地域の状況が後追い調査でわかったものと考えべきで、温暖化の影響はもっと遅れて現れるであろう。

②ただ、シカなどマダニ増殖の背景となる野生動物が近年急増しているのは事実で、それによる感染域の拡大も証明されている。

③ツツガムシ病は果樹園や河岸段丘など開放的な環境(宿主である野鼠が多い)、また紅斑熱は森林環境(宿主となる野獣が多い)に多発傾向があり、しばしばこれらが隣接して住み分ける例すらある。地域医療で留意したい。

では、こういった背景で実際の感染はどう起こるのかを問う場合、まずリケッチア症の感染はすべて「ダニ類の生息する山や野原」で起こるといふ漠然とした考え方から改めるべきである。リケッチア症を媒介するダニ類はもちろん山野に生息はするが、山沿いの住家裏庭や家庭菜園、散歩道、また大都市内でも公園や河川敷、植生の残る新興住宅地など、住民の身近な草藪にも存在している。また、媒介役となるツツガムシの幼虫、マダニの幼若虫などは肉眼で見えないほど微小であるため、それらが生息する草藪を見分けることは不可能に近い。そういった草藪から屋内に持ち込まれた植物や土壌に混入する可能性もある。

そのような経路で感染・発症した患者が診察の

際に山野での活動歴を問われたとき，“山野”という言葉の印象から，遠く離れた山岳や草原を思い出そうとするので，どうにも的を射ない。ゆえに，まず住家周辺の環境から問うのが誤解を避けるコツと思われる。このように，ダニ媒介感染症はわが国の“常在感染症”であるという認識で臨み，感染源は身近から検索するのが臨床診断上また疫学対応上でも早道となると思われる。

#### 文 献

- 1) SADI 組織委員会(編)：ダニと新興再興感染症。全国農村教育協会，p 296, 2007
- 2) 多村憲：恙虫病病原体の微生物学。日本細菌誌 54：815-832, 1995
- 3) 厚労省科学研究班(編)：新興・再興感染症研究事業「リケッチアを中心としたダニ媒介性細菌感染症の総合的対策に関する研究」。厚生労働省，p 191, 2010
- 4) 高田伸弘：病原ダニ類図譜。金芳堂，p 216, 1990



## Multilocus Sequence Typing Implicates Rodents as the Main Reservoir Host of Human-Pathogenic *Borrelia garinii* in Japan<sup>∇†</sup>

Ai Takano,<sup>1</sup> Minoru Nakao,<sup>2</sup> Toshiyuki Masuzawa,<sup>3</sup> Nobuhiro Takada,<sup>4</sup> Yasuhiro Yano,<sup>4</sup> Fubito Ishiguro,<sup>5</sup> Hiromi Fujita,<sup>6</sup> Takuya Ito,<sup>7</sup> Xiaohang Ma,<sup>8</sup> Yozaburo Oikawa,<sup>9</sup> Fumihiko Kawamori,<sup>10</sup> Kunihiko Kumagai,<sup>11</sup> Toshiyuki Mikami,<sup>11</sup> Nozomu Hanaoka,<sup>12,13</sup> Shuji Ando,<sup>13</sup> Naoko Honda,<sup>1,14</sup> Kyle Taylor,<sup>15</sup> Toshio Tsubota,<sup>15</sup> Satoru Konnai,<sup>15</sup> Haruo Watanabe,<sup>1</sup> Makoto Ohnishi,<sup>1</sup> and Hiroki Kawabata<sup>1\*</sup>

Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo 162-8640, Japan<sup>1</sup>; Department of Parasitology, Asahikawa Medical College, Asahikawa 078-8510, Hokkaido, Japan<sup>2</sup>; Faculty of Pharmacy, Chiba Institute of Science, Chiba 288-0025, Japan<sup>3</sup>; Faculty of Medical Sciences, University of Fukui, Fukui 910-1193, Japan<sup>4</sup>; Fukui Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science, Fukui 910-8551, Japan<sup>5</sup>; Ohara Research Laboratory, Ohara General Hospital, Fukushima 960-0195, Japan<sup>6</sup>; Department of Biological Science, Hokkaido Institute of Public Health, Hokkaido 060-0819, Japan<sup>7</sup>; Department of Microbiology, College of Life Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, People's Republic of China<sup>8</sup>; Department of Medical Zoology, Kanazawa Medical University, Ishikawa 920-0293, Japan<sup>9</sup>; Department of Microbiology, Shizuoka Institute of Environment and Hygiene, Shizuoka 420-8637, Japan<sup>10</sup>; Department of Microbiology, Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment, Aomori 030-8566, Japan<sup>11</sup>; Infectious Disease Surveillance Center, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo 162-8640, Japan<sup>12</sup>; Department of Virology I, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo 162-8640, Japan<sup>13</sup>; Division of Radiological Protection and Biology, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo 162-8640, Japan<sup>14</sup>; and Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Hokkaido 060-0818, Japan<sup>15</sup>

Received 15 December 2010/Returned for modification 16 January 2011/Accepted 3 March 2011

**Multilocus sequence typing of *Borrelia garinii* isolates from humans and comparison with rodent and tick isolates were performed. Fifty-nine isolates were divided into two phylogenetic groups, and an association was detected between clinical and rodent isolates, suggesting that, in Japan, human-pathogenic *B. garinii* comes from rodents via ticks.**

Lyme disease is a multisystemic disorder caused by infection with the tick-borne spirochetes *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.). *B. burgdorferi* sensu stricto (s.s.), *Borrelia garinii*, and *Borrelia afzelii*, which are the known pathogenic borreliae of humans. *B. burgdorferi* s.s. is geographically distributed throughout North America and Europe, whereas *B. garinii* and *B. afzelii* are distributed throughout Europe and Asia. These *Borrelia* species are transmitted by *Ixodes ricinus* in Europe and *Ixodes persulcatus* in Asia and Russia. (2, 16, 24). In Europe, serological characterization has revealed that *B. garinii* is composed of several OspA serotypes (27). At present, it is understood that one *B. garinii* serotype (*B. garinii* OspA serotype 4) is maintained by rodents (7), although other serotypes of *B. garinii* are maintained by birds (4, 5, 26). Strains classified into *B. garinii* OspA serotype 4 were found to be distinguishable from other *B. garinii* strains by multilocus sequence typing (MLST), which was recently established for Lyme disease borreliae (14, 15). In Japan, *B. garinii* is known to be the main pathogenic borrelia, and it is transmitted by *I. persulcatus* (29). However, the natural reservoir host of human pathogenic *B. garinii* remains unclear since *I. persulcatus* infests both rodents and birds in Japan (28). To resolve this question, MLST anal-

ysis was performed on clinical, tick, and rodent isolates, and phylogenetic relationships among these strains were investigated.

Nineteen *B. garinii* strains were obtained for MLST analysis from Lyme disease patients with erythema migrans in Japan. Human isolates were cultured from erythema migrans lesions as previously described (22). As for tick and rodent isolates, 40 strains were examined. The sources of these strains are listed in Table 1. Eighteen strains were isolated from *I. persulcatus* ticks, which were collected from Japan (15 strains) and Russia (3 strains). Twenty-two strains were isolated from rodents. Of these, 10 were from *Myodes rufocanus* subsp. *bedfordiae* and 8 from *Apodemus speciosus* (both sets collected in Japan), and 4 were from *A. uralensis* (collected in China) (Table 1). The cultivation of borreliae was carried out at 34°C in modified Barbour-Stoenner-Kelly (BSK) medium (using minimal essential medium alpha [BioWest, Germany] as a substitute for CMRL-1066) (1). These strains were stored at -80°C until use. Cultivated bacterial cells (late-log phase) were used in DNA preparation. The genomic DNA of isolated strains was prepared by using a DNA extraction kit (DNeasy blood and tissue kit; Qiagen, Germany) according to the manufacturer's instructions. The PCR assay was performed according to Margos et al. (14, 15). After DNA amplification of eight loci (*clpA*, ATP-dependent Clp protease subunit A gene; *clpX*, ATP-dependent Clp protease subunit X gene; *nifS*, aminotransferase gene; *pepX*, dipeptidyl aminopeptidase gene; *pyrG*, CTP synthase; *recG*, DNA recombinase gene; *rplB*, 50S ribosomal protein L2 gene; and *uvrA*, excinuclease ABC subunit A gene),

\* Corresponding author. Mailing address: Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases, Toyama 1-23-1, Shinjuku, Tokyo 162-8640, Japan. Phone: 81-3-5285-1111. Fax: 81-3-5285-1163. E-mail: address: kbata@nih.go.jp.

† Supplemental material for this article may be found at <http://jcm.asm.org/>.

∇ Published ahead of print on 16 March 2011.

TABLE 1. *Borrelia garinii* strains used in this study

<i>B. garinii</i> strain (no. of isolates)	Isolation source	Location	Reference
Tick isolates (18)			
HP1, HP3, HT18, HT59, N346, HkIP1, HkIP2	<i>Ixodes persulcatus</i>	Hokkaido, Japan	3, 10, this study
NP4, NP8, NP76, NP81, NT24, NT25, NT31	<i>I. persulcatus</i>	Nagano, Japan	10, 17
FujiP2	<i>I. persulcatus</i>	Shizuoka, Japan	11
Ip90	<i>I. persulcatus</i>	Khabarovsk, Russia	23
Mp7, Np189	<i>I. persulcatus</i>	Moscow, Russia	18
Rodent isolates (22)			
Ear isolates (17)			
HkCR1, HkCR3, HkCR4, HkCR5, HkCR6, HkCR7, HkCR9, HkCR11, HkCR12,	<i>Myodes rufocanus</i> subsp. <i>bedfordiae</i>	Hokkaido, Japan	9
FsAE1, FsAE2	<i>Apodemus speciosus</i>	Fukushima, Japan	8
FiEE11	<i>A. speciosus</i>	Fukui, Japan	8
sai8E	<i>A. speciosus</i>	Aomori, Japan	This study
ChYAE2	<i>A. uralensis</i>	Yakeshi, China	13
CTA1b, CTA4a, CTA5b	<i>A. uralensis</i>	Urumqi, China	25
Spleen isolate (1)			
ASF	<i>A. speciosus</i>	Hokkaido, Japan	19
Bladder isolates (4)			
HokkaidoCRB35B	<i>M. rufocanus</i> subsp. <i>bedfordiae</i>	Hokkaido, Japan	This study
HokkaidoAS7B	<i>A. speciosus</i>	Hokkaido, Japan	This study
sai6B, sai7B	<i>A. speciosus</i>	Aomori, Japan	This study
Human skin isolates (19)			
Hiratsuka	<i>Erythema migrans</i>	Niigata, Japan	This study
J-14, J-15, J-16, J-17, J-18, J-20T, J-21, J-32, J-33, J-34, J-35, J-37, J-38, J-39, J-40, J-41, J-42	<i>Erythema migrans</i>	Hokkaido, Japan	Miyamoto et al., unpublished data
HH1	<i>Erythema migrans</i>	Hokkaido, Japan	Sato et al., unpublished data

PCR products were purified by using ExoSAP-IT (GE Healthcare UK, Ltd., United Kingdom) and were directly sequenced (ABI Prism 3130xl Genetic Analyzer; Life Technologies Corporation). All sequences were deposited in GenBank (see the table in the supplemental material). In addition, reference sequences of each sequence type (ST) were downloaded from the MLST website ([www.mlst.net](http://www.mlst.net)). After concatenation of the sequences, Bayesian phylogenetic inference was performed (15). The phylogenetic tree was created according to Margos et al. (15), using TreeView software (ver. 1.6.6).

Isolated *B. garinii* strains were classified into two phylogenetic groups (preliminarily designated *B. garinii* ST group A and ST group B) by analysis of the concatenated DNA sequences of 8 loci (Fig. 1 and Table 2). The results indicated that *B. garinii* ST group B contained most of the Japanese clinical isolates (16/19 [84.2%]), all of the rodent isolates from Japan (18/18 [100%]) and China (4/4 [100%]), and 5 isolates from *I. persulcatus* collected in Japan (4/15 [26.7%]) and Rus-

sia (1/3 [33.3%]). Chi-square analysis indicated a confidence level of over 99% that *B. garinii* ST group B is predominant among Japanese clinical isolates and rodent isolates.

In this study, all *B. garinii* isolates from rodents were included in ST group B. In Europe, a recent report designated STs 84 and 85 as "*Candidatus* *Borrelia bavariensis*," and the reservoir host was thought to be rodents (14). Since *B. garinii* STs 84 and 85 clustered with *B. garinii* ST group B, we hypothesized that rodents are the main reservoir host of this phylogenetic group. In this study, the STs of 9 clinical isolates (2 of ST128, 4 of ST131, and strains J-14, J-18, and J-41) were found among rodent isolates. Thus, it can be inferred that human-pathogenic *B. garinii* is maintained by rodents in Japan. *B. garinii* ST group B was also found among rodent isolates from China. In addition, STs 128 and 131 of *B. garinii*, which were originally recorded in the MLST database as Chinese isolates, are pathogenic to humans in Japan. These suggest that *B. garinii* ST group B may also represent a health threat of Lyme

FIG. 1. Bayesian phylogenetic inference of concatenated housekeeping gene sequences of *B. garinii*. The phylogenetic tree was constructed based on Bayesian phylogenetic inference. The posterior probability values of the clades are provided. Bars labeled 0.05 depict 5% divergence. *B. garinii* human isolates are indicated in red, rodent isolates in green, and isolates from *I. persulcatus* in blue. The relapsing fever *Borrelia* spp. (*B. duttonii* Ly [NC\_011229], *B. hermsii* DAH [NC\_010673], *B. recurrentis* A1 [NC\_011244], and *B. turicatae* 91E135 [NC\_008710]) were used as outgroups (data not indicated). The accession numbers of alleles from *Borrelia bissettii* DN127, *Borrelia andersonii* 21123, *Borrelia sinica* CMN3, and *Borrelia spielmanii* PsigII 27/6 are listed in the table in the supplemental material.

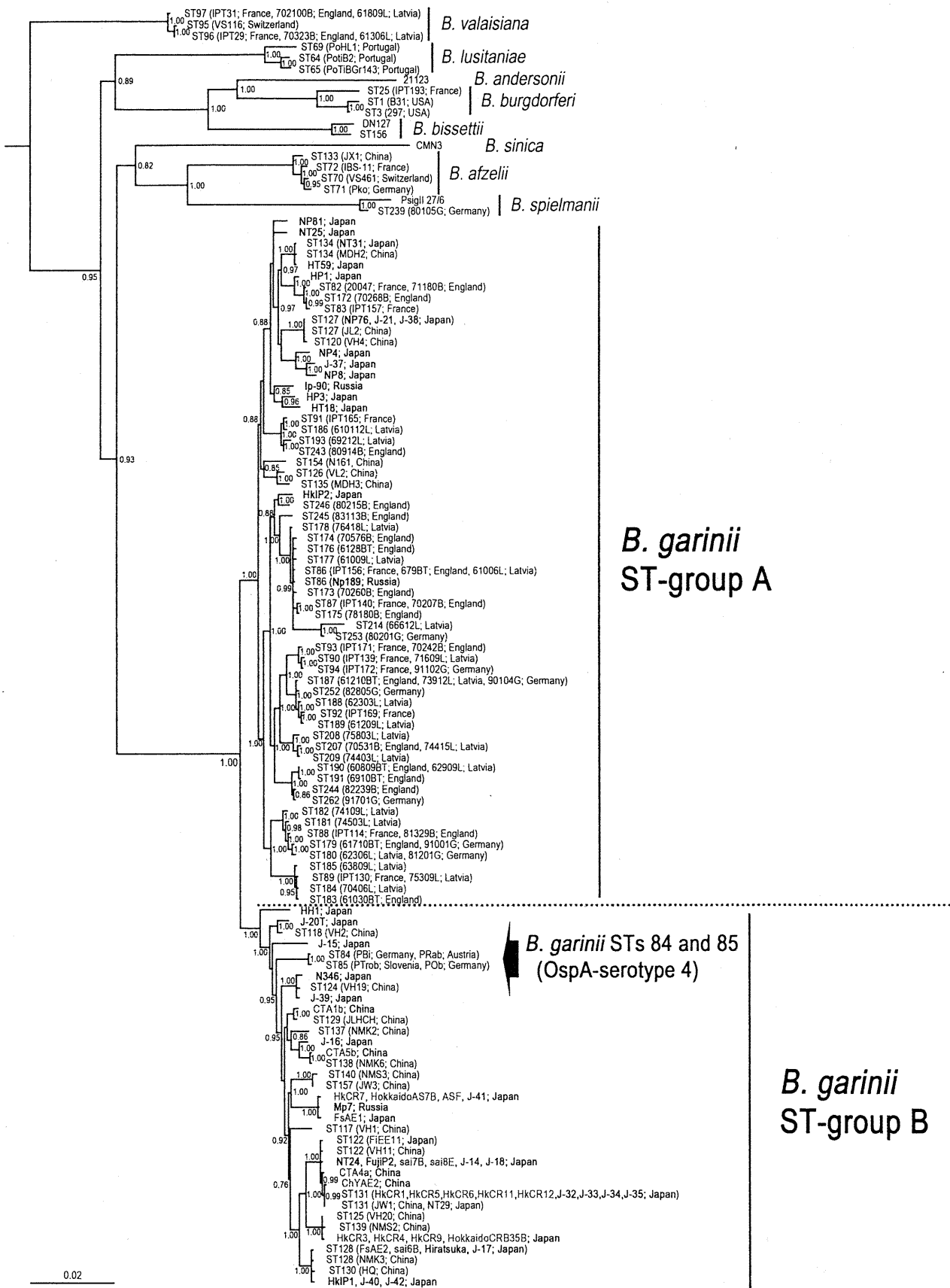


TABLE 2. ST groups of *Borrelia garinii* isolates from *Ixodes persulcatus* ticks, rodents, and humans

Isolation source	Country	<i>B. garinii</i> ST	
		Group A	Group B
<i>I. persulcatus</i>	Japan	HkIP2, HP1, HP3, HT18, HT59, NP4, NP8, NP76, NP81, NT25, NT31	HkIP1, N346, NT24, Fujip2
	Russia	Ip90, Np189	Mp7
Rodents	Japan	None	HkCR1, HkCR3, HkCR4, HkCR5, HkCR6, HkCR7, HkCR9, HkCR11, HkCR12, HokkaidoCRB35B, HokkaidoAS7B, ASF, FsAE1, FsAE2, FiEE11, sai6B, sai7B, sai8E
	China	None	ChYAE2, CTA1b, CTA4a, CTA5b
Humans	Japan	J-21, J-37, J-38	Hiratsuka, J-14, J-15, J-16, J-17, J-18, J-20T, J-32, J-33, J-34, J-35, J-39, J-40, J-41, J-42, HH1

disease in China. In contrast, *B. garinii* ST group A was not isolated from rodents in this study, yet was found to include almost all of the *B. garinii* isolates in Europe. Given that several reports claim *B. garinii* is detectable from birds in Asia (10, 20, 21), we suspect that *B. garinii* ST group A is maintained by birds, as are most of the *B. garinii* isolates in Europe.

*I. persulcatus* and *I. ricinus* ticks are known vectors of pathogenic *B. garinii* in Asia and Russia and Europe, respectively. In this study, *B. garinii* ST group A, which is most often isolated in Europe, was infrequent in Japan (Fig. 1). The reason remains unclear, but the inhabitant species of ticks may be associated with this geographical difference. Furthermore, Korenberg et al. recently found that *I. pavlovskyi* and *I. persulcatus* ticks differ in their abilities to transmit borrelia (12). This finding may support the notion that the resident tick species contributes to the determination of the endemic species *B. garinii*.

In this study, it was observed that the *B. garinii* strains which infect humans in Japan, are often found in rodents, but not nearly as often in ticks. In Europe, it was reported that *B. garinii* STs 84 and 85 are pathogenic to humans, although they were infrequent among tick isolations (6). These STs are not found in Japan, but they are clustered with most of the Japanese clinical isolates. Therefore, we hypothesized from our data that *B. garinii* ST group B isolates may be more pathogenic to humans than isolates of *B. garinii* ST group A.

In conclusion, *B. garinii* could be divided into two phylogenetic groups by MLST analysis, and one group (*B. garinii* ST group B) was predominant among clinical and rodent isolates in Japan. These results suggest that rodents are the reservoir host for most human-pathogenic *B. garinii* isolates in Japan. We also revealed that Japanese clinical isolates may be distinct from most European isolates. This may be due to the different vectors of *B. garinii* in Asia and Russia versus Europe. Our findings may contribute to the elucidation of *B. garinii*-caused Lyme disease epidemiology.

We thank Gabriele Margos (Department of Biology and Biochemistry, University of Bath) for providing information on MLST; Maki Muto and Yumiko Ogasawara (National Institute of Infectious Disease) for technical assistance; and Bettina Wilske, Kenji Miyamoto,

Nanao Sato, Haipeng Wang (China Medical University), and Jichun Wang (China Medical University) for providing *Borrelia* strains.

This study was supported in part by a grant for research on emerging and reemerging infectious diseases from the Japanese Ministry of Health, Labor, and Welfare.

## REFERENCES

- Barbour, A. G. 1984. Isolation and cultivation of Lyme disease spirochetes. *Yale J. Biol. Med.* 57:521-525.
- Eisen, L., and R. S. Lane. 2002. Vectors of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, p. 91-115. In J. S. Gray, O. Kahl, R. S. Lane, and G. Stanek (ed.), *Lyme borreliosis biology, epidemiology and control*. CABI Publishing, Oxon, United Kingdom.
- Fukunaga, M., M. Sohnaka, Y. Takahashi, M. Nakao, and K. Miyamoto. 1993. Antigenic and genetic characterization of *Borrelia* species isolated from *Ixodes persulcatus* in Hokkaido, Japan. *J. Clin. Microbiol.* 31:1388-1391.
- Gern, L. 2008. *Borrelia burgdorferi* sensu lato, the agent of Lyme borreliosis: life in the wilds. *Parasite* 15:244-247.
- Hanincová, K., et al. 2003. Association of *Borrelia garinii* and *B. valaisiana* with songbirds in Slovakia. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:2825-2830.
- Hu, C. M., B. Wilske, V. Fingerle, Y. Lobet, and L. Gern. 2001. Transmission of *Borrelia garinii* OspA serotype 4 to BALB/c mice by *Ixodes ricinus* ticks collected in the field. *J. Clin. Microbiol.* 39:1169-1171.
- Huegli, D., C. M. Hu, P. F. Humair, B. Wilske, and L. Gern. 2002. *Apodemus* species mice are reservoir hosts of *Borrelia garinii* OspA serotype 4 in Switzerland. *J. Clin. Microbiol.* 40:4735-4737.
- Ishiguro, F., and N. Takada. 1996. Lyme *Borrelia* from *Ixodes persulcatus* and small rodents from northern to central parts of mainland Japan. *Med. Entomol. Zool.* 47:183-185.
- Ishiguro, F., et al. 1996. Reservoir competence of the vole, *Clethrionomys rufocanus bedfordiae*, for *Borrelia garinii* or *Borrelia afzelii*. *Microbiol. Immunol.* 40:67-69.
- Ishiguro, F., N. T. Takada, Masuzawa, and T. Fukui. 2000. Prevalence of Lyme disease *Borrelia* spp. in ticks from migratory birds on the Japanese mainland. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:982-986.
- Kawabata, H., H. Tashibu, K. Yamada, T. Masuzawa, and Y. Yanagihara. 1994. Polymerase chain reaction analysis of *Borrelia* species isolated in Japan. *Microbiol. Immunol.* 38:591-598.
- Korenberg, E. I., V. V. Nefedova, V. N. Romanenko, and N. B. Gorelova. 2010. The tick *Ixodes pavlovskyi* as a host of spirochetes pathogenic for humans and its possible role in the epizootiology and epidemiology of borrelioses. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 10:453-458.
- Li, M., et al. 1998. Lyme disease *Borrelia* species in northeastern China resemble those isolated from far eastern Russia and Japan. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:2705-2709.
- Margos, G., et al. 2009. A new *Borrelia* species defined by multilocus sequence analysis of housekeeping genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 75:5410-5416.
- Margos, G., et al. 2008. MLST of housekeeping genes captures geographic population structure and suggests a European origin of *Borrelia burgdorferi*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105:8730-8735.
- Masuzawa, T. 2004. Terrestrial distribution of the Lyme borreliosis agent *Borrelia burgdorferi* sensu lato in East Asia. *Jpn. J. Infect. Dis.* 57:229-235.
- Masuzawa, T., et al. 1996. Comparison of OspA serotypes for *Borrelia burg-*