

にも殺ダニ効果が確認されたが、これには薬剤によりダニ全体が被われることが殺ダニ効果として必須であるために野外での効果が薄れる。テルスタースプレー（ピフェントリン）は、ピレスロイド系薬剤で十分に効果が期待されるが適応植物に制限があるため適応範囲が狭く雑草地には散布できない。イベルメクチン（アイボメクトピカル）は、散布が動物体表に限定される製品であるため雑草地での使用適応許認可には時間を要す。以上のことから、スミチオン（フェニトロチオン）は、樹木類から草本植物まで広域にわたって使用可能であることから、河川、養殖池等に飛散、流入しないよう注意して使用すれば生息数低減に効果的と考えられた。

・各種野生動物を対象とするリケッチアに関する血清疫学調査—島根半島におけるニホンジカおよびニホンイノシシのリケッチア抗体・DNA 検査、北海道静内におけるエゾシカの紅斑熱群リケッチア感染状況調査—（研究分担者 鈴木正嗣）

日本紅斑熱発生と野生動物との関連性について明らかにすることを目的として、以下の調査を行った。①島根半島で捕獲されたニホンジカ（以下シカ）およびニホンイノシシ（以下イノシシ）における紅斑熱群リケッチア感染状況調査を実施したところ、シカ血液1検体および咬着していたオオトゲチマダニから *Rickettsia sp.* Hf332 の DNA 断片が検出された。イノシシから採取されたタカサゴキラマダニから *R. tamurae* の DNA 断片が検出され、島根半島における *R. tamurae* の浸潤が初めて確認された。タカサゴキラマダニは、イノシシに対して宿主特異性を持つことが強く示唆された。*R. japonica* に対する抗体に関して、シカでは0歳が1歳以上と比較して抗体陽性率が有意に低かった。イノシシでは、日

本紅斑熱非発生地域のイノシシと比較して差は確認されなかった。②北海道静内のシカ血液から DNA を抽出し、紅斑熱群リケッチアの感染状況を調査したが、陽性検体は認められなかった。

・四国地域におけるリケッチア症を中心としたダニ媒介性感染症のレファレンスネットワークの構築と疫学的解析（研究分担者 松本道明）

疫学としては、四国における日本紅斑熱の患者は、年間30例程度報告され2009年から3年間で88例の報告があった。この88例について解析を行ったところ、4県すべてで初めての感染推定地域からの報告があった。特に、香川県では県内初であった。患者の年齢は60歳以上が84%であった。88名の患者の症状は、日本紅斑熱の三主徴である発熱・発疹・刺し口は、それぞれ87名、87名、66名でみられた。また、肝機能異常は71名、DICは24名でみられた。つつが虫病の患者は、2007年以降香川県以外の3県では毎年報告され5年間で27例の報告があった。

ダニの調査としては、2011年9月から10月にダニ相調査を実施し、高知県ではフタトゲチマダニ、キチマダニ、タカサゴチマダニ、ヤマアラシチマダニの1属4種類であった。徳島県ではキチマダニ、フタトゲチマダニの1属2種類であった。香川県ではキチマダニ、タカサゴチマダニの1属2種類であった。高知県及び香川県で採集したすべてのマダニから *R. japonica* の遺伝子検索を実施したが、検出限界以下であった。徳島県で採集したキチマダニ1匹から非特異の反応があった。

リケッチア症のネットワーク構築に向けての活動としては、四国内の地方衛生研究所間の連携や患者報告の無かった香川県及び高知県のハイリスク地域やその近隣の医療機関と

連携を図り患者の把握に努めた。

リケッチア症の予防・啓発のため、高知県内の日本紅斑熱ハイリスク地域の市民祭の機会を利用して予防啓発活動を行った。また、県民へ広く情報提供するためマスコミを活用し、新しく患者が報告された地域住民には市町村広報誌を活用した。

・赤磐市及び総社市で発生した日本紅斑熱の感染源調査(研究協力者 木田浩司 岡山県環境保健センター)

岡山県における日本紅斑熱は、2009年10月に倉敷市で初めての患者が報告されたが、2010年は患者の報告が無かったものの、2011年5月に赤磐市で、また9月に総社市で相次いで患者が報告された。そこで本年度は、赤磐市及び倉敷市の患者発生地域における *R. japonica* の感染源を特定することを目的として調査を行った。赤磐市周辺調査は2011年6月及び7月、総社市周辺調査は10月に実施した。患者居住地を中心として、赤磐市周辺調査では半径10キロメートルに5地点を、総社市周辺調査では半径2キロメートルに4地点を設定してマダニを捕獲した。形態観察によってマダニの種を同定し、生存個体の一部についてはL929細胞を用いて微生物分離を試みた。また、DNAを抽出し、リケッチアの種特異抗原である17kDa領域についてnested PCRによる遺伝子検索を行った。陽性検体については遺伝子配列を決定し、系統解析を実施した。その結果、赤磐市周辺調査で捕獲したマダニ397匹のうち、検査に供した240匹における微生物分離は全て陰性であったが、PCRについては23匹が陽性であった。系統解析の結果、すべてSFGRに属していた。既知種の塩基配列と100%一致した2株について、クエン酸合成酵素(gltA)領域についても検討したところ、ヤマトマダニからの検出

株は *R. asiatica*、タカサゴキララマダニからの検出株は *R. tamurae* であると考えられた。また、総社市周辺調査で捕獲したマダニ320匹のうち、検査に供した108匹における微生物分離は全て陰性であったが、PCRについては3匹が陽性であった。系統解析の結果、全てSFGRに属するものの既知種ではなかった。本調査では、いずれの調査地域でも *R. japonica* が検出されなかったが、2010年に島根県で初めて病原性が示唆された *R. tamurae* が本県で初めて検出された。今後も調査を継続することで患者発生地域のリケッチア侵淫実体を明らかにし、適切な治療・啓発へ繋げたいと考えている。

・岡山県内の野ネズミにおけるリケッチア侵淫調査(研究協力者 中本 敦 岡山県環境保健センター)

岡山県における現在のリケッチアの侵淫状況を把握するとともに、日本紅斑熱の発生メカニズム及び伝播様式を明らかにするために、2010年10月～2011年12月に岡山県全域を対象とした小型哺乳類とマダニ類の生息状況調査、採集されたネズミ類の脾臓及びマダニ類からのPCRによるリケッチアの検出、ネズミ類の全血からのリケッチアの分離及びネズミ類の血清抗体価の測定を行った。遺伝子陽性検体については遺伝子配列の決定後、系統解析を実施した。食虫目2種、齧歯目6種、計135個体を捕獲した。優占種はアカネズミで(61.5%)、その生息密度は年2回の繁殖によって大きく変動していた。マダニ属3種、チマダニ属6種の計1783個体が採集された。マダニ類の生息密度には種ごとに異なった季節的な消長が見られた。マダニ類は山地で多く採集された。小型哺乳類とマダニ類から病原性リケッチアは検出されなかった。5種の紅斑熱群リケッチアに対する抗体陽性率にはネ

ズミ種による違いが見られた。抗体価の中央値はアカネズミで全ての株に対して 1280～2560 倍、ヒメネズミで *Rickettsia. asiatica* に対して 320 倍と高い値を示した。アカネズミの成獣は亜成獣よりも高い抗体価を示した。アカネズミ個体群の抗体価は繁殖による新規個体の加入により減少した。今回の調査では病原性リケッチアは検出できなかったが、いくつかのネズミ種は紅斑熱群リケッチアに対する高い抗体価を示した。このことから、岡山県内では広範囲に紅斑熱群リケッチアが侵淫しているが、病原性リケッチアは低い密度で潜在していると思われる。また、アカネズミの生息密度は季節や年によって大きく変動しており、紅斑熱群リケッチアの動態に係わっていると考えられた。

・山口県における日本紅斑熱初発事例の感染源調査(研究協力者 木田浩司 岡山県環境保健センター)

2010 年 4 月、山口県東部で、県内初めての日本紅斑熱患者が報告された。そこで、患者発症地域における *R. japonica* の感染源を特定することを目的として調査を行った。昨年度、我々は患者の臨床経過と疫学調査の実施について報告したが、今回はその調査に加え、2011 年 5 月に追加調査を行った。本調査では、患者居住地含む半径 7 キロメートルの範囲で 4 地点を設定し、野ネズミ及びマダニを捕獲した。L929 細胞を用い、野ネズミの全血から SFGR の分離を試みた。血清抗体価は、*R. japonica* を含む紅斑熱群リケッチア 6 種を抗原とした間接蛍光抗体法で測定した。マダニについては、種の同定と同時に、生存個体の一部について同様に微生物分離を試みた。また、DNA を抽出し、リケッチアの種特異抗原である 17kDa 領域について nested PCR による遺伝子検索を実施した。陽性検体について

は遺伝子配列を決定し、系統解析を実施した。その結果、患者宅周辺で捕獲したアカネズミ 2 頭の微生物分離は全て陰性であった。*R. japonica* に対する血清抗体価は、それぞれ 320 倍及び 1280 倍と高かった。しかし、6 種のリケッチアに対する抗体価の違いは無かった。捕獲したマダニ 492 匹のうち、検査に供した 215 匹における微生物分離は全て陰性であったが、PCR については 2 地点で捕獲されたキチマダニ 4 匹が陽性であった。4 匹から検出されたリケッチア遺伝子 17kDa 領域 394 塩基の相同性は 100%であった。系統解析の結果、SFGR であると考えられたが、既知種ではなかった。

2. 臨床的研究

【1 年目】

・リケッチア症重症化に関する臨床および基礎的検討 (研究分担者 岩崎博道)

我が国では近年、新興リケッチア感染症・日本紅斑熱の報告数が急増し、発症地域の広がりも認められる。日本紅斑熱の治療としては、テトラサイクリン系薬剤に加えニューキノロン系薬剤併用が有用である例が報告され、つつが虫病との最大の相違点として認識される。リケッチア症全般にわたる、重症化の客観的な評価、ならびに有効な治療法の確立が急務であり、本研究ではこの目的を達するための検討を行っている。

これまでに臨床所見を確認し得たつつが虫病(31 例)と日本紅斑熱(23 例)において、重症度を従来より用いている重症度スコア(Iwasaki et al, J Clin Microbiol, 1997)をもとに比較した。つつが虫病では 8 例(25.8%)が、日本紅斑熱では 10 例(43.5%)が、それぞれ重症度 2 以上に相当し、日本紅斑熱がつつが虫病より

重症度が高いことが示された。また重症度を2以上（重症群）と2未満（軽症群）に分け比較すると、急性期の血中 TNF- α 濃度はいずれの疾患においても有意に重症群が高く、TNF- α が重症度を示す指標となりうるということが示唆された。

in vitro 実験系において、minocycline (MINO) が単球系細胞 (THP-1) において、TNF- α 産生を濃度依存性に抑制することが示された。つつが虫病における普遍的な MINO の有効性が、本薬剤の有する本来の抗菌活性の他に宿主側のサイトカイン産生を制御し、過剰な生体防御反応を抑止することに起因することが推測された。日本紅斑熱では MINO のみでは十分な有効性が得られない症例があり、テトラサイクリン系薬剤に加えニューキノロン系薬剤の併用が有効性を高めることが報告されてきた。この点について、実験系で MINO + ofloxacin (OFLX) による TNF- α に与える影響を検討したが、OFLX による相乗的な抑制効果は確認できなかったことより、併用効果は抗リケッチア活性の直接的な増強によることが推測された。しかし、MINO による IP-10, MCP-1, MIP-1a および MIP-1b の産生制御が実験的に明らかとなったことより今後は TNF- α のみならず他のケモカインを含むサイトカイン産生修飾についても検討する必要がある、生体防御に及ぼす、単球・マクロファージ系細胞の影響について、今後明らかにしていきたい。

・岡山県で初めて確認された日本紅斑熱症例ならびに急性感染性電撃性紫斑病 (AIPF) を合併した日本紅斑熱 1 例の臨床的検討 (研究協力者 川上万里 真備中央病院内科)

これまで岡山県では日本紅斑熱の報告例はなかったが、2009 年 10 月に岡山県で初めて日本紅斑熱の発症例を確認するとともに、ほぼ同時に同じ地域で発症し急性感染性電撃性

紫斑病 (AIPF) を合併した日本紅斑熱症例を経験した。リケッチア症に AIPF を合併した事例は紅斑熱群リケッチア症での報告が外国で数例見られるのみで、日本紅斑熱症例での報告はこれまでない。重篤な病態を呈することから、今後注意すべきである。

・上天草総合病院における日本紅斑熱 39 症例の検討 (研究協力者 和田 正文 上天草市立上天草総合病院内科)

2006 年より天草上島の南東部を中心に日本紅斑熱が多発した。発熱を主訴に受診した患者でレントゲン・採血等で感染源不明であった場合、多発地域での農作業の有無・紅斑・刺し口・肝酵素の上昇・Na 低下・血小板数低下・CRP 上昇のうち複数認めるとき日本紅斑熱を強く疑った。CPK 値が高い数値を示すほど重症度を反映すると考えられた。治療開始時期は、年々短縮してきている。治療開始時期の遅れが重症となると考えられるので、今後は市民・医療機関などへ日本紅斑熱の知識を高める活動を行っていく予定である。

【2年目】

・リケッチア症重症化に関する臨床および基礎的検討 (研究分担者 岩崎博道)

現在わが国では、リケッチア症としてつつが虫病と日本紅斑熱が多発している。近年は日本紅斑熱の重症例や死亡例が報告され、その臨床的背景が明らかになりつつある。本研究ではリケッチア感染症例の重症度を共通した評価のもと解析することを目的とした。また日本紅斑熱の適切な治療法が未だ確立されていないため、患者救命のための有効治療法の解明を臨床的、基礎的に検討することも重要課題とした。2009 年 10 月から 2010 年 1 月の和歌山県田辺市にて確認された Kawasaki 型つつが虫病において、重症度ならびに、急性期と回復期の血中サイトカイン濃度を測定

した。IL-4を除いて急性期にすべてのサイトカイン値は上昇していた。回復期には、TNF- α 、IFN- γ 、IL12p40、IL-8、IP-10、MIP-1 α において、急性期に比し有意($P < 0.05$)に血中濃度が低下した。とくに急性期の血中 TNF- α は重症群の 13.4 ± 7.81 pg/ml に対し、軽症群では 2.39 ± 0.81 pg/ml と低値 ($p < 0.01$)を示し、TNF- α が重症度を示す指標となりうることを示唆された。単球系培養細胞(THP-1)を用いた基礎的実験研究の結果から、TNF- α 産生がテトラサイクリン系薬剤(MINO, DOXY)により抑制されることが示され、他のサイトカイン/ケモカイン(IL-6, IFN- γ , IL-8, IP-10, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , eotaxin)にも、その抑制が及んでいることが明らかとなった。細胞内シグナル伝達経路においては、MINO に関しては I κ B α のリン酸化の抑制が、サイトカイン産生制御に係っていることが推測された。さらに CPFX 単剤での TNF- α 産生抑制が確認され、MINO と CPFX の同時添加においては、さらなる産生抑制効果を認めた。このことは日本紅斑熱におけるニューキノロン系薬剤(CPFX)併用の有効性を、サイトカイン制御の立場から実験的に裏付けるものと考えられた。

b. 山口県における日本紅斑熱初発症例の臨床ならびに疫学調査(研究協力者 矢端順子 山口県環境保健センター)

日本紅斑熱は、西日本での患者発生が多く、中四国及び九州地方のほとんどの県で発生が報告されている。山口県ではこれまで報告がなかったが、2010年4月、初めての日本紅斑熱患者が確認され、現地疫学調査を実施した。患者は27歳の男性で、山口県東部の瀬戸内海沿岸地域在住で、職業は農業。4月24日に自宅裏の畑で作業を行った後、26日に発熱があり、近医を受診し、セフェム系抗菌剤を処方

されたが改善せず、4月29日に別の医療機関を受診。発疹もありリケッチア症を疑い、ミノサイクリンを投与、翌日からはシプロフロキサシンを併用し、通院にて軽快した。刺し口の痂皮から *R. japonica* の遺伝子が検出され、*R. japonica* に対する抗体の有意な上昇にて日本紅斑熱と診断された。なお、山口県では本症例発生に伴い、記者配布と県医師会への情報提供を行った。また管轄保健所は、管内市町と連携して、啓発用のチラシを周辺地域に戸別配布するなどの広報を行った。7月に、患者とその家族からの聞き取り調査と、感染源調査を実施した。患者自宅周辺地域と対照地域のダニの捕集とネズミの捕獲を行い、*R. japonica* の保有状況を調べたが、今回の調査では *R. japonica* は検出されなかった。今後も調査を予定している。

c. 急劇な経過で死亡した日本紅斑熱による急性感染性電撃性紫斑病の一例(研究協力者 開原正展 尾道市立市民病院内科)

急性感染性電撃性紫斑病 (Acute infectious purpura fulminans ; AIPF) は、感染症が原因で全身に多発する紫斑と急性進行性に四肢末端壊死を呈し、死亡率も高い比較的まれな症候群である。昨年本研究班報告書で、我が国で初めての日本紅斑熱による AIPF として岡山県での症例が報告されたが、今回は、広島県で急激な経過で死亡に至った事例を経験したので報告する。62歳男性、6日前から39°Cの発熱、5日前から下痢と胸部の皮疹が出現し、近医の治療受けるも改善せず、入院となる。入院時、全身の紅斑とチアノーゼを認め、血小板は3万と減少、肝機能障害、急性腎不全を伴っていた。meropenemを開始し、持続透析を始めたが、意識障害に痙攣を繰り返し、多臓器不全が進行した。2病日目にリケッチ

ア症も疑い minocycline を加え、人口呼吸管理や血漿交換療法も開始したが、四肢末端の虚血と黒色壊死が急激に出現し、3 病日に死亡した。死亡後、保存されていた血液より、*Rickettsia japonica* 遺伝子が検出され、日本紅斑熱による AIPF と診断した。リケッチアに対する抗体価上昇は見られず、TNF- α ほか各種のサイトカイン上昇が認められた。今後、皮疹、高熱、多臓器障害、DIC、病歴などで、日本紅斑熱が疑われる重症例では、AIPF 合併を疑い、できる限り早期に適切な治療をする必要がある。

【3年目】

・リケッチア症重症化に関する臨床および基礎的検討(研究分担者 岩崎博道)

新興感染症・日本紅斑熱の重症例が多発しているが、その重症化機序は明らかではない。再興感染症・つつが虫病でも、まれではあるがテトラサイクリン単剤治療が無効である重症例も経験される。我が国においてリケッチア症患者救命のための有効治療法の確立は重要な課題である。2011年9月、福井県においてDICを合併し、テトラサイクリンに加えニューキノロンの併用により救命し得たつつが虫病の1重症例を経験した。本症例では当初日本紅斑熱の可能性も考慮され、これら2剤が併用され救命できた例であった。

リケッチア感染症の急性期には、患者背景として高サイトカイン血症が存在することより、この制御が重症化からの回避に係る可能性がある。この課題について、ヒト単球系培養細胞(THP-1)を用いた基礎的実験系を用いて検討した。その結果、テトラサイクリンおよび一部のニューキノロンにより、サイトカイン/ケモカイン(TNF- α , IL-6, IFN- γ , IL-8, IP-10, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , eotaxin)が抑制されることが示された。さらに両薬剤の

併用により、その抑制効果は単剤に比較し有意に増強した。細胞内シグナル伝達経路において、MINOによるI κ B α のリン酸化の抑制が、TNF- α 産生制御に係っていることが明らかとなった。さらに重症リケッチア感染症においては、ニューキノロンのうちCPFXを併用することが重症化からの回避に有効である可能性が示唆されたが、臨床的には今後更なる症例の集積を続け、検討を加える必要がある。

3. 検査・診断的研究

【1年目】

・日本国内のリケッチア症実験室診断に関する状況調査(研究分担者 安藤秀二)

日本国内におけるリケッチア感染症の診断並びにレファレンス体制構築における課題と改善方法を明確にし、実験室診断体制をより安定したものにするを目的に、本年度は、つつが虫病と日本紅斑熱の実験室診断の主体となっている地方衛生研究所における検査の実施状況について調査をおこなった。全国衛生微生物技術協議会に参加している地方衛生研究所77箇所を対象に、リケッチア症(つつが虫病および日本紅斑熱)の実験室診断の実施状況についてアンケート調査を実施したところ、地方衛生研究所における検査体制は、血清診断、遺伝子診断、分離までの充実した施設がある一方、つつが虫病については商業検査機関において血清診断が実施可能なことから、検査を日常業務から除外している施設もあり、全国的には実施施設が減少している。今回の調査した各項目をより多角的に解析すると共に、商業検査機関の情報収集とあわせ、より効率的な検査体制の構築と安定強化のための施策を検討、実施、継続することが必要である。

・日本紅斑熱の病理診断とその有用性(研究分担者 堤 寛)

今年度は以下3点を重点的に検討した。1) われわれは従来、日本紅斑熱の皮膚生検ホルマリン固定パラフィン切片を用いた免疫染色と Real-time PCR 法による早期診断の有用性を検討してきた。2004年から2009年の間に日本紅斑熱が臨床的に疑われた症例は56例で、このうち51例が日本紅斑熱として治療された(日本紅斑熱以外の5例には溶連菌感染症や肺炎が含まれ、皮膚生検の免疫染色は陰性だった)。日本紅斑熱症例のうち、皮膚生検(主として刺し口、一部皮疹)が実施されたのは48例で、免疫染色の病理診断に適した(真皮成分の含まれる)皮膚生検サンプルは43例だった。免疫染色が陽性だったのは、48例中34例(71%)だった。評価可能な皮膚生検の陽性率は79%(34/43)だった。パラフィン切片から抽出したDNAを用いて real-time PCR が陽性となったのは48例中24例(50%)だった。免疫染色陰性、real-time PCR 陽性となったのは3例だった(いずれもカサブタ)。以上より、ホルマリン固定皮膚生検に対する免疫染色および real-time PCR 法の応用は、日本紅斑熱の早期診断に有用な方法であることが証明された。免疫染色および/または real-time PCR 法で陽性を呈した中で、回復期血清(発症後2~4週)で特異抗体価の上昇がみられなかった7症例が経験された。5例は発症4週間後でも血清抗体陰性であり、早期治療によって免疫反応が誘導されない場合があり得ることが示された。

2) 日本紅斑熱リケッチアに対するモノクローナル抗体を新たに作製し、免疫染色への応用を試みた。検討した7種のうち、感染細胞株に顆粒状陽性所見を示したのは3種あったが、残念ながら臨床検体に応用できなかった。

3) 感染日本紅斑熱リケッチアの定量性について、real-time PCR で検討した。gltA 遺伝子と R17k 遺伝子の2種のプライマーを用いて株間の違いを検討したが、違いは見いだされなかった。したがって、患者サンプル内のリケッチア定量が可能であることが示唆された。今後、リケッチア感染症の病態や重症度との関連を検討する上で有用な情報を得られる可能性がある。

【2年目】

・紅斑熱群リケッチア多糖体抗原を用いた間接赤血球凝集反応による日本紅斑熱の簡易・迅速診断法の検討(予報)(研究分担者 藤田博己)

日本紅斑熱の簡易・迅速診断法としての間接赤血球凝集反応を検討した。培養細胞で増殖させた各種紅斑熱群リケッチアからアルカリ抽出した多糖体抗原を結合させたホルマリン固定ニワトリ赤血球は、日本紅斑熱患者の回復期血清と反応して凝集することを確認した。マイクロプレートを用いた凝集反応系によれば、患者血清中の抗体を30分ほどで検出可能であった。反応性を従来の間接免疫ペルオキシダーゼ反応と比較したところでは、感度・特異性ともに相関性が高く、日本紅斑熱の血清診断に有用であることがわかった。この感作血球は保存性に優れ、冷蔵保存すると6~10ヶ月間は安定的に使用できた。

・臨床像や病態の解析、重症化予防、治療法等へつなげるための病理学的な検討(研究分担者 堤 寛)

①症例検討のまとめ:これまでわれわれが検討してきた、皮膚生検ホルマリン固定パラフィン切片による日本紅斑熱(JSF)の早期診断の成績をまとめた。方法論は、モノクローナル抗体2種(S3, X1)による免疫染色(加熱処理を加えたアミノ酸ポリマー法)と17k

genus common antigen gene を標的とする real-time PCR 法である。2004 年から 2010 年前半の間に日本紅斑熱を疑われた症例は計 52 例、皮膚生検（刺し口、皮疹、痂皮）が実施されたのは 49 例（60 検体）であり、さらに剖検 1 例、尿 23 検体、血液 7 検体を検討した。血清学的に陽性だった 34 例＋剖検例 1 例を A 群、血清学的に陰性だったが免疫染色ないし real-time PCR で陽性だった 9 例を B 群、非 JSF 例 8 例を C 群とした。A+B 群において、免疫染色陽性は、刺し口 32/35（91%）、皮疹 8/10（80%）、痂皮 2/6（33%）、real-time PCR 陽性では、刺し口 21/35（60%）、皮疹 3/10（30%）、痂皮 3/6（50%）だった。痂皮では、免疫染色陰性、real-time PCR 陽性の症例 2 例がみられた。18 件の皮膚生検は 100%ホルマリン液に固定されたため、とくに real-time PCR の陽性率に悪影響がみられた。血清反応陽性だった 34 例のうち 28 例（82%）では、血清診断より病理診断が先行した。さらに、尿 3 検体で real-time PCR 陽性となった（血液は全例陰性）。免疫染色と real-time PCR 法の併用は、日本紅斑熱の早期診断に確実なサンプルであることが証明された。血清抗体価の上昇がみられなかった B 群では、早期治療の導入による病原体の早期消失が成因と推測された。②免疫電顕観察：免疫染色の特異性を検定する目的で、*R. japonica* 感染培養 L929 細胞に対して、post-embedding colloidal gold 法による免疫電顕検索を行った。細胞質内に感染する桿菌の細胞壁に一致した陽性所見が得られた。共感染するマイコプラズマには陰性であった。

【3年目】

・汎用されているリケッチア用 PCR 法に関する確認（研究分担者 安藤秀二）

国内の公的研究機関で用いられている紅斑

熱群リケッチア用 PCR 法に関し、その使用にあたっての留意点について再確認した。マニュアルに掲載されている R1 と R2、Rj5 と Rj10 のプラマーセットでの PCR を行う場合、その使い方によっては、複数のバンドが検出されるなど、判定にできない場合がある。これは、プライマーの位置関係が、nested PCR にも供することができるような位置関係にみえるため、実際に R1 と R2 の内側のプラマーとして Rj5 と Rj10 による nested PCR を行った場合、R1/R2/Rj5/Rj10 のそれぞれのプラマーの Forward と Reverse が外側と内側で組み合わせられた遺伝子も増幅されるためである。このことに留意してこれらの PCR プラマーを使用する必要がある。また、国内外において、リケッチア属の多様性が広がっており、日本紅斑熱リケッチア *R. japonica* 特異的とされていた Rj5/Rj10 のプラマーでも増幅されるリケッチアが確認されている。さらに、リケッチアの多様性のために、種特異的な PCR プラマーの設計が難しくなっており、感染したリケッチアを PCR によって同定する際には、シーケンス解析が必須のものとなるであろう。

・オオトゲチマダニから分離されたリケッチアの遺伝子解析（研究分担者 安藤秀二）

オオトゲチマダニ *Haemaphysalis megaspinoza* は国内に広く分布するマダニである。近年、日本国内に生息するマダニが多様なリケッチアを保有することが明らかになってきたが、北海道で採取された *H. megaspinoza* から分離されたリケッチアについてその遺伝子について解析したところ、これまで国内にない紅斑熱群リケッチアの一つであり、ヨーロッパのハンガリーで報告されているものと、遺伝子配列が一致した。マダニは、その種によって、気候的条件、地理的条件などから分布域が決まっているものが多いが、今回確認され

たりケッチアは、地理的にきわめて離れた異なる地域のマダニにおいて保有されていたことから、リケッチアの分布と進化には気象的条件が影響している可能性がある。本リケッチアのヒトへの病原性は確認されていないものの、マダニ類の分布とともに、リケッチアの分布は、さまざまな環境因子の影響を受けているといえる。

・日本紅斑熱患者発生地域における調査支援(2011年福岡市)から得られたリケッチア生息情報(研究分担者 安藤秀二)

平成23(2011)年6月に福岡市において日本紅斑熱患者が確認されたことにもない、感染推定地域の調査を同年7月に実施した。この調査により、各研究機関ならびに地域の公衆衛生機関の施設間の技術共有、連携を試み、患者発生に即応できる情報の集積と、リケッチア症の地域における情報発信のあり方について検討した。感染推定地域で採取されたマダニ類は、日本紅斑熱群リケッチア *R. japonica* を含む紅斑熱群リケッチアを高率に保有しており、今後も同地域を感染推定地域とする日本紅斑熱の患者発生が再び起こる可能性がある。地域におけるリケッチアに関する情報を、地域の医師会、公衆衛生機関等の関係者と共有し、生息情報、リケッチア保有情報の蓄積を行いつつ、検査診断体を構築することが、患者発生時の迅速な対応の流れを可能とする と考える。

・臨床像や病態の解析、重症化予防、治療法等へつなげるための病理学的な検討(研究分担者 堤 寛)

日本紅斑熱が疑われる症例の皮膚(主として刺し口、一部紅斑)生検ホルマリン固定パラフィン切片を用いた免疫染色と切片から抽出したDNAを対象としたreal-time PCR法(Taq-Man法)による早期診断法を確立し、

60症例以上に臨床応用した。多くの症例で、血清診断より早い段階で確定診断が可能だった。なお、我々の条件下では、免疫染色の感度がreal-time PCR(プロダクトサイズを100bp前後に構築)のそれを上回っていた。血清抗体価の上昇を欠く9症例が見いだされ、うち7例においてreal-time PCR(SYBR-Green法)で、17 k genus common antigen gene(114 bp)が陽性となった。シーケンス解析で5例は *R. japonica*、1例は *R. tamurae* に一致した。早期治療によって、血清抗体価上昇が抑制された結果と考えられた。

1例の剖検解析で、リケッチアは血管内皮、マクロファージに加えて、尿細管上皮にも感染していた。この結果をもとに感染急性期の尿を解析すると、一部の症例でreal-time PCR陽性となった。ただし、*R. felis* に一致するシーケンスが得られた症例もあった。

紅斑を欠くマダニ咬症の皮膚生検から、*R. sp. LON*(ないし *R. honei*) に一致するシーケンスが得られた。以上より、わが国における紅斑熱リケッチア感染症の多様性が示唆された。

4. 基礎的研究

【1年目】

・我が国で発生するリケッチア感染における宿主免疫応答の解析(研究分担者 阿戸 学)

我が国におけるリケッチア感染症において、その免疫応答に関しては未だ不明な点が多い。その理由の一つとして、ヒトの病態を反映する動物感染モデルが確立しておらず、免疫学的な解析がなされていないことが挙げられる。本研究では、種々の遺伝子改変マウスを用いて、これらの病原体に関する動物モデルを検討し、診断、治療、予防に貢献しうる免疫研

究を目的とする。本年度は、我が国のリケッチアストックのほほすべてがマイコプラズマのコンタミネーションによって汚染していることが判明したため、免疫学的研究に使用できないことが明らかとなった。そこで、マイコプラズマの感染が認められない培養細胞と、遺伝子改変マウスにリケッチアを継代させることによって、マイコプラズマを除去すると同時に、動物モデルを確立し、免疫応答を解析することを今後の研究で目指す。

・ダニ媒介性感染症起因菌の重複感染における重症化に関する研究(研究分担者 川端寛樹)

海外ではマダニ媒介性感染症の重複感染時の患者病態の重篤化が報告されている。これら重複感染は *Borrelia* 細菌と *Anaplasma* 細菌、また *Borrelia* 細菌とバベシア原虫において見出されている。一方、国内において、これら病原体の重複感染における重症化についてはその有無とメカニズムについては全く知られていない。そこで本研究ではこれら病原体の重複感染時の重症化の有無を実験室レベルで解明することを目的として研究を開始した。

・リケッチアの病原性に関する基礎的研究(研究分担者 内山恒夫)

リケッチア症の発症や重症化機構の解明、病原体の感染・細胞内増殖・病原性発現の分子機構の解明を目的とし、i) リケッチア Sca 外膜蛋白質群の機能解析、ii) 宿主ベクターの長期に渡る飢餓状態に対する寄生リケッチアの生残り戦略の解明、iii) 複数種のリケッチア重複感染の機序の解明、iv) 病原性の異なるオリエンチア株間の発現蛋白質の比較などの解析を行った。その結果、i) Sca0 と Sca5 がほ乳動物細胞へのリケッチアの付着を担う因子であることが示されたが、ダニ細胞、昆虫細胞へのリケッチアの付着を担う因

子は不明であった。ii) DALBE3 マダニ由来細胞の飢餓状態をモニターするための抗体産生に必要な *Dermacentor albipictus* の Atg12 抗原が GST 融合蛋白質の形で得られた。iii) 病原性のリケッチアを種々の細胞に重感染した場合、単独感染と同様の増殖動態をとることが明らかとなった。iv) オリエンチアの強毒、弱毒株間で共通に発現が見られる蛋白質のうち、主要なものを質量分析した結果、菌体表面の主要抗原である 56 kDa 型特異的抗原、正常な蛋白質産生に必須の熱ショック蛋白質 HSP60 と DnaK、ペプチド伸張因子 Tuf、およびセリンプロテアーゼ HtrA が同定された。

・ゲノム情報に基づいたつつが虫病発症・重症化機序の解明とその応用(研究分担者 林哲也)

本研究の目的は、ゲノム情報に基づいた解析により、つつが虫の発症・重症化機構の解明や新規疫学・診断ツールの開発を行うことである。本年度は、本菌におけるペプチドグリカン産生の有無の解明と、新規の進化系統解析法の開発を中心に研究を行った。その結果、ペプチドグリカン合成阻害剤であるホスホマイシンによりオリエンチアの増殖が抑制されることが明らかとなり、本菌がペプチドグリカン、もしくはペプチドグリカン関連分子を産生し、これが本菌の宿主細胞内増殖に必須であることが示唆された。また、11 種の遺伝子を用いた MLS 解析法により主要オリエンチア菌株の進化系統を明らかにするとともに、本菌には潜在的に病原性の高い遺伝系統群と低い遺伝系統群が存在することを示唆する結果を得た。さらに、国内に存在するオリエンチア株の維持管理体制の構築や新型リケッチア株のゲノム解析に向けての取り組みも開始した。

【2年目】

・我が国で発生するリケッチア感染における宿主免疫応答の解析(研究分担者 阿戸 学)

我が国におけるリケッチア感染症において、その免疫応答に関しては未だ不明な点が多い。その理由の一つとして、ヒトの病態を反映する動物感染モデルが確立しておらず、免疫学的な解析がなされていないことが挙げられる。本研究では、種々の遺伝子改変マウスを用いて、これらの病原体に関する動物モデルを検討し、診断、治療、予防に貢献しうる免疫研究を目的とする。しかし、我が国のリケッチアストックのほぼすべてがマイコプラズマのコンタミネーションによって汚染していることが判明したため、本年度は、マウスにリケッチアストックを腹腔内投与して、脾臓を摘出して乳剤とすることにより、マイコプラズマの除去と動物感染モデルを確立することを試みた。*Orientia tsutsugamushi* の Kuroki 株と Kawasaki 株のマウス感染脾臓組織から抽出した DNA を用いた PCR において、マイコプラズマは検出されず、*O. tsutsugamushi* が認められ、当方法がマイコプラズマ除去に有効であることが示唆された。また、野生マウスより一酸化窒素合成酵素(nitric oxide synthetase: NOS)欠損マウスで陽性率が高かったことから、NO が *Orientia* 感染防御因子であることが示唆された。今後、他の遺伝子改変マウスを含めてリケッチア科ストックよりマイコプラズマを除去すると同時に、動物モデルを確立し、免疫応答を解析することを今後の研究で目指す。

・ダニ媒介性感染症起因菌の重複感染における重症化に関する基礎的研究(研究分担者 川端寛樹)

海外ではこれまでに、マダニ媒介性病原体が重複感染した場合、患者病態が重症化しや

すいことが報告されている。これら重症化には *Borrelia* と *Anaplasma*、または *Borrelia* とバベシア原虫において見出されている。一方、国内において、これら病原体の重複感染における重症化について、その有無とメカニズムに関しては全く明らかにされていない。そこで本研究では、これら病原体の重複感染における重症化について実験室レベルで解明することを目的とする。本年度は、今内ライム病患者から分離された株を中心に、ヒト血清感受性を指標とした全身感染の有無、およびヒト脳血管内皮細胞の応答について、欧米株との比較解析を行った。

・リケッチアの病原性に関する基礎的研究(研究分担者 内山恒夫)

リケッチア症の発症や重症化機構の解明、病原体の感染・細胞内増殖・病原性発現の分子機構の解明を目的とし、1. オリエンチア Kuroki 株の病原性関連遺伝子の同定および解析、2. 従来のオリエンチア菌株ストックに広く汚染しているマイコプラズマの除去、3. オリエンチア感染細胞における脂肪滴形成の解析、4. リケッチア感染細胞実験系の確立とその感染系を用いた宿主特異性および増殖制御機序の解明、5. 複数種のリケッチア共感染の機序やその病原性に及ぼす影響などの解析を行った。その結果、1. Kuroki 株ゲノムの塩基配列を決定し、病原性との関連が示唆される遺伝子を同定し、その特徴を示した。2. オリエンチア菌株ストックに汚染しているマイコプラズマ除去にリンコマイシンが有効であった。3. オリエンチア感染細胞で脂肪滴が形成され、triglyceride が主成分であった。4. 哺乳動物細胞、節足動物細胞に対するリケッチア感染細胞実験系を作製した 5. 非病原性リケッチア感染細胞ではオートファジー等の関与によりリケッチアは持続感染したが、

病原性株の共感染により、病原性株が増殖すると共に、非病原性株の増殖の増強が認められた。

・ゲノム情報に基づいたツツガムシ病発症・重症化機序の解明とその応用(研究分担者 林 哲也)

本研究の目的は、ゲノム情報解析に基づいたツツガムシ病およびリケッチア症の発症・重症化機構の解明と新規疫学・診断ツールの開発である。昨年度までに解析が終了したオリエンチア・ツツガムシ(以下、オリエンチア) Ikeda 株と Boryong 株の全ゲノム配列比較解析と、その結果に基づいて実施した Multi Locus Sequence (MLS) 解析による主要オリエンチア株の進化系統解析の結果については、論文として発表した(Nakayama et al., DNA Res, 17(5):281-91, 2010)。本年度は①「オリエンチアのペプチドグリカン産生性の解明と新規治療法の開発への応用」②「オリエンチア新規分離株の MLS 解析」③「新興リケッチア症起因株等のゲノム解析」を中心に研究を進め、ホスホマイシンがツツガムシ病の治療薬となりうることを示唆する結果などを得た。

【3年目】

・我が国で発生するリケッチア感染における宿主免疫応答(研究分担者 阿戸 学)

つつが虫病は *Orientia tsutsugamushi* の感染によって起こる。これまで各株間の宿主、分布域、遺伝学的解析は行われているが、病態及び免疫応答の解析はなされていない。そこで、*O. tsutsugamushi* 感染マウスモデルを作製し、臨床経過、サイトカイン産生応答、肝臓の病理組織学的検索を行った。その結果、従来の *Orientia* の遺伝学的分類とは異なり、1) サイトカインストームを伴う Gilliam 株および Karp 株感染、2) 炎症性サイトカインの産

生を伴わず、腹水の貯留と *Orientia* の増殖のみを認める Kaisei (Japanese-Giliam) 株および Kato 株感染、3) マウスに病原性を示さない Kawasaki 株および Kuroki 株の3群に分類されることが明らかとなった。今後、ヒトつつが虫病における応答と照合し、つつが虫の病態解明及び病型分類と適切な治療法への応用が期待される。

・ダニ媒介性感染症起因菌の重複感染における重症化に関する基礎的研究(研究分担者 川端寛樹)

海外ではこれまでにマダニ媒介性病原体が重複感染した場合、患者病態が重症化しやすいことが報告されている。これら重症化は *Borrelia* と *Anaplasma*、または *Borrelia* とバベシア原虫において見出されている。一方、国内において、これら病原体の重複感染における重症化について、その有無とメカニズムについては全く明らかにされていない。そこで本研究では、これら病原体の重複感染時の重症化について実験室レベルで解明することを目的とした。本年度は、我が国のライム病患者から分離された株について、*Anaplasma phagocytophilum* による宿主細胞からのマトリックスメタロプロテアーゼ産生能の増強作用について調べた。その結果、我が国に存在する *B. garinii* は海外で分離されたライム病ボレリア同様に、*A. phagocytophilum* と共役的に宿主細胞からのマトリックスメタロプロテアーゼ産生を誘導することが *in vitro* 実験で示されるとともに、これが病態悪化と関係する可能性が考えられた。

・リケッチアの病原性に関する基礎的研究(研究分担者 内山恒夫)

リケッチア症の発症や重症化機構の解明、病原体の感染・細胞内増殖・病原性発現の分子機構の解明を目的とし、オリエンチア感染

細胞における脂肪滴形成機構の解析、リケッチア感染細胞実験系の確立とその感染系を用いた宿主特異性および増殖制御機序の解析を行った。その結果、オリエンチア感染細胞では脂肪滴が形成されるが、その主成分のトリグリセリドの合成が盛んになり、細胞膜の主成分であるリン脂質の合成には変化がみられないことを明らかにした。また、哺乳動物細胞、節足動物細胞について作製したリケッチア感染細胞実験系を用い、非病原性紅斑熱群リケッチア *Rickettsia montanensis* の感染細胞における増殖抑制の少なくとも一部がオートファジーによることを電子顕微鏡でも確認した。さらに、同様に非病原性の LON-13 株の増殖性についても解析したところ、哺乳動物細胞ではいずれも増殖抑制がみられたが、マダニ細胞では抑制を受けていないことが明らかになり、新たな機序の可能性が示唆された。

・ゲノム情報に基づいたツツガムシ病発症・重症化機序の解明とその応用(研究分担者 林 哲也)

本研究の目的は、ゲノム情報解析に基づいたツツガムシ病およびリケッチア症の発症・重症化機構の解明と新規疫学・診断ツールの開発である。本年度は、①オリエンチア Ikeda 株と Boryong 株の全ゲノム配列比較解析の結果に基づいて昨年度までに確立した Multi Locus Sequence (MLS) 解析法を用いたオリエンチア新規分離株(池間島でのフィールド調査で分離された菌株)の系統解析、②日本紅斑熱リケッチアおよび新興リケッチアのゲノム配列決定と近縁菌種・菌株とのゲノム比較解析を中心に研究を進めた。その結果、池間島に棲息するオリエンチア菌株は本州で分離される主要系統とは異なる進化系統に属すること、さらに異なった 56KDa Type specific antigen (TSA) を有する 3 種の近縁クロ

ーンが混在していることを明らかにした。また、日本紅斑熱リケッチア *R. japonica* YH 株および新興リケッチアである *R. heilongjiangensis* Sendai-29 株の全ゲノム配列を決定し、さらに日本紅斑熱リケッチア MZ08014 株の概要配列を得た。*Rickettsia* sp. LON type 90 株については、現在配列解析中であり、本年度内には概要配列が得られる見通しである。

5. 予防・啓発的研究

【1年目】

・市民におけるリケッチア症の認知度調査ならびに都道府県衛生研究所等における啓発活動調査(研究分担者 岡部信彦)

熊本県上天草市の住民健診および兵庫県の淡路島・神戸市の学校において日本紅斑熱・つつが虫病の一般市民における疾患知識の認知度と受診行動について調査を行った。日本紅斑熱の患者が報告されている地域においては、同疾患の疾患知識があるほうが受診行動を起こしにくい可能性が示唆された。また全国の地方衛生研究所を対象とした調査により、両疾患の発生状況により各自治体の啓発活動の実施が異なっている状況が明らかとなったが、日本紅斑熱のほうが、患者の報告があった地域において熱心に啓発活動が行われている傾向が示唆された。

【2年目】

・リケッチア症ハイリスク地域における住民等への啓発のモデル化(研究分担者 岡部信彦)

これまでの内科医・皮膚科医および一般市民に対する、リケッチアサーベイランス認知度やリケッチア感染症についての認識調査の結果、啓発活動等により、認知度が上昇し、

積極的な周知啓発活動は確実に浸透していくことが明らかになった。しかし、限られた地域のみでの啓発では全国的に認知度を高めることは困難である。そこで全国地方衛生研究所(地研)等に対して、近年のリケッチア感染症に関する啓発活動実施の有無について調査を行ったところ、患者発生地域の方がより周知活動を行っていたが、一部の地域ではリケッチア感染症が多発しているにもかかわらず、周知活動を行っていないことがわかった。詳細に関して地研等に直接問い合わせた結果、侵淫地域であればあるほど、県や市区町村が自発的に啓発活動を行うことは風評被害(観光、畜産、農作物)への恐れの影響から困難であるとの回答が複数得られた。そこで、地方自治体等での啓発活動に利用されやすいツールとして、本リケッチア研究班を中心とした啓発用ホームページ(HP)を作製することとした。問題点を全国的に取り組んでいるとしてとらえた啓発用のHPを作製することで、風評被害を恐れる自治体も利用しやすくなるものと考えられる。現在、一般市民および医療関係者のいずれにも対応できるHPの作製に取り組んでいる。

・高知県の日本紅斑熱ハイリスク地域における住民の意識調査と予防対策及び啓発(研究分担者 松本道明)

日本紅斑熱患者の発生状況は、2009年までに全国で約950人の患者発生報告があり、高知県内では170人で、特に室戸地域では155人(91%)と、この地域に集中している。そこで、このハイリスク地域における日本紅斑熱の意識調査を実施し、2002年に同地域で実施した意識調査と比較検討し、今後の予防対策及び啓発を図ることとした。室戸市の協力を得て、平成23年10月の住民基本台帳から無作為抽出した20歳以上の1,000人を対象と

し郵送によるアンケート調査を行った。病名を「知っている」割合について地区別、年齢別、性別とも有意な差は認められなかった。しかし、2002年との比較では「知っている」住民は、2010年42%、2002年30%と約10%上昇していた。「知っている」症状について、「刺し口」を知っている住民は2010年14%、2002年9%でありマダニに刺されることで感染する病気である認識は若干上昇したものの、まだ低いと考えられる。病名、症状ともに「知っている」と答えた中で、治療についても知っている(問:治療としてよく効く薬がある)住民は、2010年35%、2002年約10%と約3倍上昇していたことは、病名を知っていることの上昇と併せ住民の知識の向上が伺われる。予防対策について2002年と比較すると、長靴などの服装が2010年91%、2002年90%、防虫スプレー2010年44%、2002年10%、帰宅後ダニ除去2010年53%、2002年8%と野外活動時の服装対策は変化がないが、他の2つの対策に大きな向上が見られたことから、この疾患の予防対策に日頃から注意していることが伺える。今回の調査では、日本紅斑熱の情報源としては、広報、新聞、パンフレット・家族の順に多かったが、2002年との比較で広報からが2010年は約10%低下していた。しかし、2010年の広報をいつも見ている住民の割合は、2002年の割合とは約10%高いことから「広報」は重要な情報源のひとつと考えられる。また、病名を知った情報源には「人から聞いた」「病院で見た、聞いた」「自分や知人が罹患」「講習等」など今後の啓発に活かせる情報を得ることができた。以上、当疾病の認知度は若干の上昇が見られたが、まだ低い。今後は、発生状況の詳細と合わせて解析を行う予定である。

・九州沖縄地域におけるリケッチア症(つつ

が虫病と日本紅斑熱)の疫学調査及び宮崎県版啓発用リーフレット作成の試み(研究分担者 山本正悟)

本研究班の課題である「啓発法のモデル化」に関連する試みの一環として、研究班の調査で得られた成果をもとに、日本紅斑熱とつつが虫病に関する宮崎県版のリーフレットを作成した。

【3年目】

・リケッチア症ハイリスク地域における住民等への啓発のモデル化(研究分担者 岡部信彦)

これまでに実施した医療関係者や一般市民に対するリケッチアサーベイランスやリケッチア感染症についての認知・認識調査の結果から、積極的な啓発活動により感染症に対する認知度は確実に浸透していくことが明らかになった。しかしながら、一部のリケッチア症多発地域では、風評被害等を考慮し、周知活動をほとんど行っていないことがわかった。そこで、本年度は、リケッチア感染症を一部地域に限った風土病ではなく、全国的に患者発生のある疾患であることをアピールし、各地方自治体等での啓発活動に利用しやすいツールとして、本リケッチア研究班を中心とした啓発用ホームページ(HP)を作製することとした。一般市民に親しみ易くわかりやすいように、動的コンテンツを多用し、Flash ベースの HP を作製した。また、アンケートを組み込み、理解度等を調査した。また、Google analytics™を用いてアクセス解析を行い、実際の広報活動が適切に行えているかを解析した。

その結果、アンケート内容や、HP アクセス解析によって、全国各地の幅広い年齢層にリケッチア感染症を啓発できたことが推測された。平成 24 年 1 月 20 日現在約 7705 のアクセ

スがあり、9 割が新規であった)。今後も HP による啓発の継続と、さらに専門家に対する啓発 HP の追加も検討すべきと考える。

E. まとめ

本研究では、リケッチアを中心としたダニ媒介性細菌感染症に対して総合的対策を実施することを目指し、疫学的研究、臨床的研究、検査・診断的研究、基礎的研究、予防・啓発的研究の 5 本柱で、3 年間にわたり統合的に有機的に進めてきた結果、多くの成果を残すことができた。しかしながら、それぞれの領域で残された課題も多く存在する。たとえば疫学的研究については、古典型つつが虫の再出現や、新たに明らかとなった南方型つつが虫病に対する実態把握とリスク対応、また各地で急増している日本紅斑熱と、新たな紅斑熱リケッチア症、輸入リケッチア症への具体的な対策の検討。臨床的検討では、日本紅斑熱による電撃性紫斑病はじめ重症例への対応を多施設検討によりさらに重点的に検討し、治療薬の保険適応化に向けた情報の蓄積を必要がある。検査・診断的研究では、恒久的リケッチア実験室診断体制の構築のため、必要な要件を洗い出し、優先度の高い項目についての強化の方法を検討し、実施する。レファレンス体制の維持に必要な情報を整理し、バイオリソースとしてのリケッチアのバンク構築をすすめる。基礎的研究としては、動物実験系、細胞実験系の確立をさらに進め、病原性の解析の基盤の充実を図る。予防・啓発的研究として、作成した HP の活用に加えて、より専門的なリケッチア関連情報を医療関係者向けに作成する。等、以上のように、今後に残された課題も多い。今後は、本研究班の

成果を、国立感染症研究所、地方衛生研究所、関連研究機関とのネットワークにおいて生かしつつ、さらなる研究の継続、進展を目指すことで、国民の保健・医療・福祉の向上、健康維持に貢献できると考えている。

F. :健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

平成 21 (2009) 年度

1) Takada, N., Fujita, H., Kawabata, H., Ando, S., Sakata, A., Takano, A. & Udom, C.: Spotted fever group *Rickettsia* sp. closely related to *Rickettsia japonica*, Thailand. *Emerg. Infect. Dis.*, 46: 610-611, 2009.

2) Hanaoka, N., Matsutani, M., Kawabata, H., Yamamoto, S., Fujita, H., Sakata, A., Azuma, Y., Ogawa, M., Takano, A., Watanabe, H., Kishimoto, T., Shirai, M., Kurane, I. and Ando, S.: Diagnostic assay for *Rickettsia japonica*. *Emerging Infectious Diseases*, 15: 1994-1997, 2009. *Japan. Med. Entomol. Zool.*, 60: 297-304, 2009.

3) Yamauchi, T., Tabara, K., Kanamori, H., Kawabata, H., Arai, S., Katayama, T., Fujita, H., Yano, Y. & Takada, N.: Tick fauna associated with sika deer density

in the Shimane Peninsula, Honshu, Jpn. *Med. Entomol. & Zool.*, 60: 297-304, 2009.

4) Tamano Matsui, John Kobayashi, Hiroshi Satoh, Tsuguto Fujimoto, Nobuhiko Okabe, Shuji Ando, Toshio Kishimoto and Seigo Yamamoto: Surveillance Recognition, and Reporting of Tsutsugamushi Disease (Scrub typhus) and Japanese Spotted Fever by General Practice Clinics in Miyazaki Prefecture, 2007 *Journal of Infection and Chemotherapy*, 15: 269-272, 2009.

5) Takada, N., Fujita, H., Kawabata, H., Ando, S., Sakata, A., Takano, A., Chaithong U: Spotted fever group *Rickettsia* sp. closely related to *Rickettsia japonica*, Thailand. *Emerging Infectious Diseases*. 15: 610-611, 2009.

6) Hanaoka N, Sakata A, Takano A, Kawabata, H., Watanabe H, Kurane I, Kishimoto, T., Ando, S.: Development of a pUC19-based recombinant plasmid to serve as a positive control in PCR for *Orientia tsutsugamushi*. *Microbiology and Immunology*. 53: 305-308, 2009.

7) Yamauchi T, Tabara, K., Kanamori H, Kawabata, H., Arai S, Katayama T, Fujita, H., Yano Y, Takada, N., Itagaki A: Tick fauna associated with sika deer density in the Shimane Peninsula, Honshu, Japan. *Medical Entomology and Zoology*. 60: 297-304, 2009.

8) Takano A, Muto M, Sakata A, Ogawara Y, Ando S, Hanaoka N, Tsurumi M, Sato F, Nakamura N, Fujita H, Watanabe H, Kawabata H. Relapsing fever spirochete in seabird tick, Japan. *Emerg Infect Dis.* 15: 1528-1530, 2009 .

9) Hanaoka N, Matsutani M, Kawabata H, Yamamoto S, Fujita H, Sakata A, Azuma Y, Ogawa M, Takano A, Watanabe H, Kishimoto T, Shirai M, Kurane I, and Ando S. : Diagnostic assay for *Rickettsia japonica*: *Emerg Infect Dis*, 15: 1994-1997, 2009.

10) Matsui T, Kobayashi J, Satoh H, Fujimoto T, Okabe N, Ando S, Kishimoto T, Yamamoto S. : Surveillance, recognition, and reporting of Tsutsugamushi disease (scrub typhus) and Japanese spotted fever by general practice clinics in Miyazaki Prefecture, determined by questionnaire survey in 2007. *J Infect Chemother.* 15(4), 269-272, 2009.

11) Wuritu, Ozawa, Y., Gaowa, Kawamori, F., Masuda, T., Masuzawa, T., Fujita, H., and Ohashi, N. Structural analysis of a *p44/msp2* expression site of *Anaplasma phagocytophilum* in naturally infected ticks inhabiting Japan. *J. Med. Microbiol.* 58, 1638-1644 ,2009.

12) Chan, Y.G.Y., Cardwell, M.M., Hermanas, T.M., Uchiyama, T., and Martinez, J.J. Rickettsial outer-membrane protein B (rOmpB) mediates bacterial

invasion through Ku70 in an actin, c-Cbl, clathrin and caveolin 2-dependent manner. *Cellular Microbiology* 11:629-644, 2009.

13) Ai Takano, Shuji Ando, Toshio Kishimoto, Hiromi Fujita, Teruki Kadosaka, Yoshiki Nitta, Hiroki Kawabata, Haruo Watanabe. Presence of novel *Ehrlichia* sp. in *Ixodes granulatus* found in Okinawa, Japan. *Microbiology and Immunology*, 53: 101-106, 2009.

14) Ogawa, M., Shinkai-Ouchi, F., Uchiyama, T., Hagiwara, K., Hanada, K., Kurane, I, and Kishimoto, T. Shotgun proteomics of *Orientia tsutsugamushi*. *Clinical Microbiology and Infection* 15 (Suppl.2), 239-240, 2009.

15) Takeo Yamauchi, Mayumi Obara, Mamoru Watanabe, Shuji Ando, Mitsuhiro Ishikura, Yasuhiro Shinagawa, Sumiyo Hasegawa, Kazuya Nakamura, Masae Iwai, Takeshi Kurata & Takenori Takizawa. Survey of tick fauna possessing the ability to act as vectors of rickettsiosis in Toyama Prefecture, Japan. *Med. Entomol. Zool.*, 60: 23-31, 2009.

16) Uchiyama, T., Ogawa, M., Kishi, M., Yamashita, T., Kishimoto, T., and Kurane, I. Restriction of the growth of typhus group rickettsiae in tick cells. *Clinical Microbiology and Infection* 15 (Suppl.2) 332-333, 2009.

- 17) Nobuhiro Takada, Hiromi Fujita, Hiroki Kawabata, Shuji Ando, Akiko Sakata, Ai Takano, and Udom Chai-thong. Spotted Fever Group Rickettsia sp. Closely Related to *R. japonica*, Thailand. *Emerging Infectious Diseases*, 15: 610-611, 2009.
- 18) Wuritu, Gaowa, Kawamori, F., Aochi, M., Masuda, T., and Ohashi, N. Characterization of *p44/msp2* multigene family of *Anaplasma phagocytophilum* from two different tick species, *Ixodes persulcatus* and *Ixodes ovatus*, in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 62, 142-145, 2009.
- 19) Tamano Matsui, John Kobayashi, Hiroshi Satoh, Tsuguto Fujimoto, Nobuhiko Okabe, Shuji Ando, Toshio Kishimoto and Seigo Yamamoto Surveillance Recognition, and Reporting of Tsutsugamushi Disease (Scrub typhus) and Japanese Spotted Fever by General Practice Clinics in Miyazaki Prefecture, 2007 *Journal of Infection and Chemotherapy*, 15: 269-272, 2009.
- 20) Ai Takano, Shuji Ando, Toshio Kishimoto, Hiromi Fujita, Teruki Kadosaka, Yoshiki Nitta, Hiroki Kawabata, Haruo Watanabe. Presence of novel *Ehrlichia* sp. in *Ixodes granulatus* found in Okinawa, Japan. *Microbiology and Immunology*, 53: 101-106, 2009.
- 21) Nozomu Hanaoka, Akiko Sakata, Ai Takano, Hiroki Kawabata, Haruo Watanabe, Ichiro Kurane, Toshio Kishimoto, and Shuji Ando. Development of a pUC19-based recombinant plasmid to serve as a positive control in PCR for *Orientia tsutsugamushi*. *Microbiology and Immunology*, 53: 305-308, 2009.
- 22) 岸本寿男, 木田浩司, 葛谷光隆, 濱野雅子, 藤井理津志: 薬剤感受性測定法と耐性菌 2 特殊微生物の抗微生物薬感受性測定法 クラミジア, リケッチア. *臨床と微生物*. 36, 581-587, 2009.
- 23) 及川陽三郎, 田原研司, 荒井朋子, 所正治, 高田伸弘: わが国の野鼠血液からの病原体検出状況—特にネズミバベシアについて分布と感染性の考察. *大原年報*, 49: 9-14, 2009.
- 24) 高田伸弘: 島嶼調査の方法論. *大原年報*, 49: 15-22, 2009.
- 25) 玉置幸子, 那須征太郎, 玉置信彦, 辻薫, 山西康仁, 水本博章, 西本英一郎, 東冬彦, 玉置英人, 永井 勲, 森田祐二, 高田伸弘: 郷土病 (ダニ媒介) への取り組み. *感染と消毒*, 12: 38-42, 2009.
- 26) 島津幸枝, 谷澤由枝, 高尾信一, 田原研司, 藤田博己, 矢野泰弘, 高田伸弘: 広島県内の野鼠におけるつつが虫病リケッチア侵淫状況. 広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告, 17: 15-20, 2009.
- 27) 藤田博己: 田辺市におけるアライグマのダニとダニ媒介性感染症検査. 田辺鳥獣

害調査研究報告 II (田辺鳥獣害対策協議会編), p. 12-17, 2009.

28) 及川陽三郎, 田原研司, 荒井朋子, 所正治, 高田伸弘: わが国の野鼠血液からの病原体検出状況—特にネズミバベシアについて分布と感染性の考察. 大原年報, 49: 9-14, 2009.

29) 中橋伸江, 山本貴子, 馬場俊一, 川端寛樹, 安藤秀二, 照井正. *Ixodes holocyclus* によるマダニ刺咬症の 1 例. 臨床皮膚科, 63: 159-161, 2009.

30) 平良勝也, 岡野祥, 仁平稔, 中村正治, 稲福恭雄, 伊禮史朗, 畑芳夫, 藤田博己, 下地崇, 砂川洋子, 宮城鈴代, 下地久代, 平良セツ子, 上原真理子, 上原健司, 宮川桂子, 糸数公, 矢野泰弘, 高田伸弘, 角坂照貴, 本田俊郎, 安藤秀二 縄県宮古島で初めて確認されたつつが虫病. 病原微生物検出情報, 30: 17-18, 2009.

31) 安藤秀二 ロッキー山紅斑熱. ブーノーシスハンドブック(岸本寿男, 山田章雄編), メディカルサイエンス社, p201-203, 2009.

32) 安藤秀二, 高橋聡 Q 熱. ブーノーシスハンドブック(岸本寿男, 山田章雄編), メディカルサイエンス社, p193-194, 2009.

33) 馬原文彦, 安藤秀二 日本紅斑熱. ブーノーシスハンドブック(岸本寿男, 山田章雄編), メディカルサイエンス社, p198-200, 2009.

平成 22 (2010) 年度

1) Iwasaki, H., Mizoguchi, J., Takada, N., Tai, K., Ikegaya, S. & Ueda, T.: Correlation between the concentrations of tumor necrosis factor α and the severity of disease in patients infected with *Orientia tsutsugamushi*. Int. J. Inf. Dis., 14: 328-333, 2010.

2) Ando S., Kurosawa M, Sakata A, Fujita H., Sakai K, Sekine M, Katsumi M, Saitou W, Yano Y, Takada N., Takano A, Kawabata H., Hanaoka N, Watanabe H, Kurane I, Kishimoto T.: Human *R. heilongjiangensis* Infection, Japan. Emerg Infect Dis. 16: 1306-1308, 2010.

3) Nakayama K, Kurokawa K, Fukuhara M, Urakami H, Yamamoto S., Yamazaki K, Ogura Y, Ooka T, Hayashi T. Genome comparison and phylogenetic analysis of *Orientia tsutsugamushi* strains. DNA Res.;17(5):281-291, 2010.

4) Sashika, M., Abe, G., Matsumoto, K., Inokuma, H. Molecular survey of spotted fever group *Rickettsia* in feral raccoons (*Procyon lotor*) in Hokkaido, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 63(5): 353-354, 2010.

5) Sakamoto, L., Ichikawa, Y., Sakata, Y. Matsumoto, K., Inokuma, H. Detection of *Anaplasma bovis* DNA from peripheral blood of domestic dogs in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 63(5): 349-352, 2010.

6) Takeshita N, Imoto K, Ando S. Yanagi-

- sawa K, Ohji G, Kato Y, Sakata A, Hosokawa N, Kishimoto T. Murine typhus in two travelers returning from Bali, Indonesia: an underdiagnosed disease. *Journal of Travelers Medicine*, 17:356-358, 2010.
- 7) Tabara, K., Kawabata, H., Arai, S., Itagaki, A., Yamauchi, T., Katayama, T., Fujita, H & Takada, N.: High incidence of rickettsiosis correlated to prevalence of *Rickettsia japonica* among *Haemaphysalis longicornis* tick. *J.Vet. Med. Sci.*, 72. 2010.
- 8) 山下眞史,木田浩司,岸本寿男,田原研司:急性感染性電撃性紫斑病を合併した日本紅斑熱の1例.病原微生物検出情報 IASR,Vol. 31, 135-136, 2010.
- 9) 岸本寿男:つつが虫病,エーリキア症,Q熱,オウム病,日本紅斑熱,肺炎クラミジア感染症 日本紅斑熱.家庭医学大全科 6訂版 法研(東京):2495-2498,2010.
- 10) 藤田博己:国内において *Rickettsia japonica* 以外の紅斑熱群リケッチアを媒介するマダニ種の寄生生態. *Clinical Parasitology*, 21: 120-122, 2010.
- 11) 猪熊 壽. エーリキア症. *Small Animal Medicine*. Vol.12 (1). 29-30,2010.
- 12) 川上万里,梅川康弘,田原研司,木田浩司,藤井理津志,岸本寿男:日本紅斑熱の一例:岡山県初発例.肝臓.51;714-721,2010.
- 13) 堤寛. 劇症型感染症の病理. 法医病理 16:69-82, 2010.
- 14) 猪熊 壽,清野信隆,吉林台,早川大輔,鈴木正嗣,秦 寛,近藤誠司,松本高太郎,横山直明. 北海道の放牧牛からの *Anaplasma phagocytophilum* および *Anaplasma bovis* DNA の検出. 日仏獣医学雑誌. 19 (1-2): 4-6,2010.
- 15) 堤寛. 感染症における病理診断の役割. 病理と臨床 28(4): 360-366、2010.
- 16) 森下綾子,谷口裕子,大滝倫子,川端寛樹. ワシントンDCで刺傷し,帰国後発症したライム病の1例. 臨床皮膚科. 64(4), 343-346, 2010.
- 17) 岩崎博道, 安藤秀二, 高田伸弘:肝リケッチア症. 日本臨床, 68, 2010 (印刷中)
- 18) 佐藤寛子,佐藤了悦,柴田ちひろ,斎藤博之,安部真理子,齊藤志保子,高橋 守,藤田博己,角坂照貴,高田伸弘,川端寛樹,高野 愛,國生泰範,須藤恒久:雄物川流域におけるツツガムシの生息状況とツツガムシ病病原体 *Orientia tsutsugamushi* の検索(平成21年度の調査成績). 秋田県健康環境センター年報, 5: 63-67, 2010.
- 19) 安藤秀二 リケッチア性紅斑熱,化学療法の領域,医薬ジャーナル社, 26: 240-248, 2010.
- 20) 山内健生,高野愛,坂田明子,馬場俊一,奥島雄一,川端寛樹,安藤秀二. タカサゴキラマダニによる人体刺症の5例. 日本ダニ学会誌, 19: 15-21, 2010.
- 21) 岸本寿男:リケッチア感染症(つつが虫