

201225010A

厚生労働科学研究費補助金
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

ワンヘルス理念に基づく動物由来 感染症制御に関する研究

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山 田 章 雄

平成25（2013）年3月

厚生労働科学研究費補助金
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

ワンヘルス理念に基づく動物由来 感染症制御に関する研究

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山 田 章 雄

平成25（2013）年3月

目 次

I. 総括研究報告書	
ワンヘルス理念に基づく動物由来感染症制御に関する研究	
山田章雄	1
II. 分担研究報告書	
1. Q熱コクシエラの生態系における感染リスク評価に関する研究	
岸本壽男	13
2. 国内分離ライム病ボレリアの Multilocus sequence typing による型別データベースの構築と自然界における病原体維持に関する研究	
川端寛樹	22
3. 東北地方の猟犬を歩哨動物としたライム病ボレリアの血清疫学調査	
川端寛樹	26
4. ブルセラ症等に関する研究—国内野生イノシシにおける抗 <i>Brucella</i> 抗体の保有状況に関する研究および <i>Brucella</i> 特異的組換えタンパクの作出	
今岡浩一	34
5. コリネバクテリウムに関する研究	
山本明彦	44
6. 猟犬における感染症抗体保有状況に関する研究：東北地方を中心として	
柳井徳磨	57
7. 競合 ELISA 法による多様な動物種に適用可能な野兎病菌抗体測定法の開発	
棚林 清	68
8. 野兎病菌の病原性に関わる遺伝子の同定	
棚林 清	74
9. エキノコックスに関する研究	
森嶋康之	83
10. 狂犬病ウイルス抗原を簡易に検出する single chain variable fragment (scFv) を利用した Direct, rapid immunohistochemical test (DRIT) 法の確立に関する研究	
井上 智	85
11. 狂犬病曝露後免疫 4 回接種法の検討	
菅沼明彦	92
12. 狂犬病の治療 2012年改訂版	
菅沼明彦	96
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	115
IV. 研究成果の刊行物・別刷	117

I . 総括研究報告書

ワンヘルス理念に基づく動物由来感染症制御に関する研究

研究代表者 山田章雄 東京大学大学院教授

研究要旨 本研究では「One Health」理念を念頭に置きつつ、分野横断的なアプローチにより、動物由来感染症の制御に深く関連する、診断、予防、治療について研究を深めること並びにこれらの病原体の病原性発揮の機構を知ることが目的とし、以下の成績を得た。

- ① 本年度は、昨年に引き続き岡山県 T と畜場へ 2011 年から 2012 年に全国から搬入された食用ウシ 299 頭を対象に、*C. burnetii* に対する抗体を測定したところ、21 頭が陽性を示した。また、遺伝子疫学調査として、T と畜場へ 2012 年に搬入された食用ウシ 150 頭、北海道の牧場ウシ 205 頭、北海道の牧場ウマ 87 頭、岡山県のヌートリア 148 頭、岡山県の野ネズミ 133 頭、岡山県のマダニ 180 匹及び北海道のマダニ 563 匹を対象として *C. burnetii* の遺伝子検索を実施したが、結果は全て陰性であった。
- ② 国内でのライム病ボレリアの高感度 DNA 型別解析法による遺伝子データベース構築作業を継続し、その解析結果から国内患者由来株の大多数を占める *Borrelia garinii* では、ST128, ST131, ST362 の 3 つの ST 型 43% を占有すること、またこれら ST は自然界では *Myodes rufocanus bedfordiae*, *Apodemus speciosus*, *A. argenteus* から見出されることが明らかとなった。また、猟犬を歩哨動物としたライム病ボレリアの血清疫学調査を行い、シュルツェマダニが生息する東北地方ではウエスタンブロット法により 48.8% の猟犬がライム病抗体陽性と判定された。北信越地方以南の抗体陽性率は 23.5% 以下であることから、猟犬を歩哨動物とする血清疫学調査は、病原体浸潤地域を調べる上で有用であると考えられる。
- ③ 昨年度までに野生イノシシにブルセラ菌に対する凝集抗体の存在が認められたが、他の菌との交差反応である可能性も否定できないため、より特異的な抗体検出法の開発を試みた。ブルセラの n-lauroylsarcosine 抽出 (SE) 抗原を用いた WB 法でブルセラ免疫ウサギ血清と特異的に反応する 11kDa 付近に見られるバンドを抽出し、そのアミノ酸ならびに遺伝子配列を決定したところ、hypothetical protein BMEI0805 であることが明らかとなった。pCold TF ベクターを用いて組換えタンパクとして発現させ、その特異性を検討したところ、感染イヌ血清については十分な本能性を示した。しかしブルセラ属菌以外のグラム陰性菌で免疫したウサギ血清と大腸菌由来のタンパクによるものと考えられる非特異的反応も見られた。また、TF (Trigger factor) を除去したベクターも作成し検討を加えたが、免疫ウサギ血清の非特異的反応の除去には至らなかった。そこで、あらためて SE 抗原を二次元電気泳動により展開したところ、サイズが同一で PI 値の異なる (PI 値=8) タンパクの存在が明らかになった。しかし PI 値=6 付近にブルセラ感染イヌ血清と特異的に反応するタンパクが認められたことから、本タンパクに焦点を絞り検討を継続している。
- ④ 新たにジフテリア様症状を呈する 2 名の患者からジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* (*C. ulcerans*^{Tox+}) を分離した。患者の環境調査において飼いネコ及びイヌから *Corynebacterium* 属菌が分離された。また、患者家族のジフテリア抗毒素抗体価が高かった。これらの症例は、今まで報告されたような呼吸器症状ではなくリンパ節膿瘍や皮下膿瘍の症例であった。動物愛護センターや動物病院に搬入されたイヌまたはネコの咽頭スワブ等について菌分離調査及び血清ジフテリア抗毒素抗体価測定を実施した結果、愛護センターのネコとイヌより *C. ulcerans*^{Tox+} 8 株が分離され、28 検体が抗毒素陽性を示した。
- ⑤ 東北地方(福島県、宮城県、岩手県、青森県、秋田県および山形県)の猟犬計 123 頭について、ジフテリア症、破傷風、ブルセラ症、トキソプラズマ症、レプトスピラ症およびボレリア症に関する調査を実施した。ブルセラ症は福島で 1 例、山形県で 3 例の計 4 例の陽性例が認められた。トキソプラ

ズマでは、これまでと同様に各県とも高い陽性率で 18%が陽性を示した。ジフテリア毒素では、青森で 1 例の陽性例が認められた。東北地方で問題となる野兔病は、今回検出されなかった。犬由来の感染で、宮城県で *Babesia (B) gibsoni* が 3 例にのみ検出された。また、ヘパトゾーン (*Hepatozoon canis*)について、全例とも陰性であった。犬フィラリア症では、検索した猟犬全体の約 30%で抗原が検出され、比較的高い陽性率であった。

- ⑥ これまで野兔病菌 LPS および抗 LPS モノクローナル抗体を用いた競合 ELISA (cELISA)の開発を試みてきたが、今年度は、野兔病患者血清について本 cELISA と間接 ELISA (iELISA)との相関性を検証するとともに、国内野生動物の血液 632 検体について cELISA および微量凝集反応 (MA) 法による野兔病菌抗体の検出を試みた。ヒト血清を cELISA と iELISA で調べた結果、両者は高い相関を示し、ヒト血清抗体の測定に応用可能なことが明らかとなった。また、野生動物血液検体を cELISA で調べた結果、ツキノワグマ(23/150)、ホンドタヌキ(3/21)で陽性個体が認められた。MA 法で検出されなかった検体にも cELISA 陽性検体が見いだされることから、cELISA は MA 法より高感度であることが確認された。動物種特異的標識二次抗体等を用いる必要のない本法は、野生動物における野兔病の血清疫学調査のための手法として有用と考えられた。
- ⑦ 野兔病菌の病原性の分子的基盤を解析するために弱毒株および強毒株の全ゲノムを比較した結果、野兔病菌ゲノム 190 万塩基の中で 1 塩基のみが異なることが明らかになった。この 1 塩基の違いにより強毒性株では正常 PdpC タンパク質を発現できるのに対し、弱毒性株では約半分の大きさの異常型 PdpC タンパク質しか発現できない事が明らかとなり、PdpC タンパク質が病原性に関与している可能性が示唆された。そこで、強毒性株の *pdpC* 遺伝子破壊株およびその破壊株にプラスミドで *pdpC* 遺伝子を相補した株 (相補株) を新たに作出し、マウスを用いて病原性を評価した結果、*pdpC* 遺伝子破壊株は病原性を消失したが、その相補株は病原性が復帰していた。以上の結果より、野兔病菌 *pdpC* 遺伝子は極めて重要な病原性を規定する遺伝子であることが明らかとなった。
- ⑧ 昨年度開発したマイクロアレイでの解析に至適化した *in vitro* の人工培養系を用い、エキノкокクス症の感染源となるステージである成虫型へ発育分化を誘導した材料を用意した。これをマイクロアレイによるトランスクリプトーム解析に供することで、処理にともなって特徴的に発現する遺伝子群を同定した。また、遺伝子発現量の変化を測定することで、分化の決定がなされる時期を明らかにした。
- ⑨ 狂犬病ウイルス (RABV) 抗原を特異的に認識する single chain variable fragment (scFv) を使用した Direct Rapid Immunohistochemical Test (DRIT) 法の確立を目的とし、RABV 蛋白質を特異的に認識するビオチン融合タンパク化した single chain variable fragment (scFv) によるより簡易な DRIT の開発を検討した。これまでに、ビオチンを融合した抗 RABV-P タンパク scFv を発現できるクローン (scFv-P19-biotin) の作出に成功した。現在、大腸菌で発現させた scFv-P19-biotin タンパクを利用した DRIT 法の確立を進めている。
- ⑩ 海外の狂犬病常在地にて動物咬傷を受傷し、狂犬病ワクチン接種歴がない 18 例を対象とし、外国産 (9 例) 及び国内産 (9 例) ワクチンを用いた 4 回接種による暴露後免疫の効果を検討した。狂犬病抗体幾何平均は 1.36EU/mL、抗体陽転率 (有意抗体価 0.5EU/mL 以上) は 89%であった。狂犬病は発症すると致死的であり、暴露後免疫により 100%に限りなく近い抗体陽転率が求められることから、現時点において 4 回接種法は容認しがたいと思われた。
- ⑪ 日本国内には、狂犬病の治療、院内感染対策に関する資料が非常に乏しいことが明らかとなったため、今年度は狂犬病治療を考える基礎資料として海外から報告された文献に基づき、狂犬病救命例、治療法、院内感染対策についてまとめた。

研究分担者

岸本壽男 国立感染症研究所ウイルス 1 部室長
 川端寛樹 国立感染症研究所細菌第 1 部室長
 山本明彦 国立感染症研究所細菌第 2 部主任研究官
 柳井徳磨 岐阜大学農学部教授

井上 智 国立感染症研究所獣医科学部室長
 今岡浩一 国立感染症研究所獣医科学部室長
 棚林 清 国立感染症研究所獣医科学部室長
 森嶋康之 国立感染症研究所寄生動物部主任研究官

A. 研究目的

動物由来感染症は世界に 200 以上存在し、その病原体は 850 種を超える。新興感染症の殆どは動物由来感染症であるのみならず、現時点でヒトに特化した感染症もすべてが動物に由来すると言っても過言ではない。動物由来感染症は自然生態系との関与が大きく、その制御にはヒトへの視点からのみでなく、家畜、野生動物さらにはそれらを取り巻く環境への視点が必要でない。近年提唱されている「One Health」の基本的考え方である。本研究では「One Health」理念を念頭に置きつつ、分野横断的なアプローチにより、動物由来感染症の制御に深く関連する、診断、予防、治療について、これまで対象としてきた感染症を中心に研究を深める。一方で国内では稀となったり、その存在がはっきりと確認されてなかったような動物由来感染症について、その実態を明らかにすべく、モニタリングあるいはサーベイランスを実施する。具体的にはライム病、ブルセラ症、野兔病、Q 熱、コリネバクテリウムウルセランス感染症、エキノコックス症、狂犬病について、これらの研究を実施する。また、野生動物に接触する機会の多い職業に従事する者の血清疫学調査を行い、リスクを評価する。これらの研究によって国内に存在する動物由来感染症に関する情報の整備が可能となり、これにより新興感染症の発生があった場合にいち早く検出することが可能になると考えられる。

B. 研究方法

病原体あるいは抗体の検出は個々の報告書に記載した方法による。

C. 研究結果

(1) Q 熱に関する研究

Q 熱は、感染症法では 4 類感染症に分類される人獣共通感染症であるが、ヒトでは特異的な症状が認められず、インフルエンザ様疾患、肺炎、肝炎等、多彩な病状を示す一方、動物では一般に無症状とされる。感染症発生動向調査事業における患者数は 2002 年から 2003 年がピークで、それぞれ 40 人を超えていた。しかし、近年は発生が極めて稀で、起因菌である *Coxiella burnetii* の国内における実態は未だ不明な点が多い。そこで、本病原体の侵淫状況を明らかにし、ヒトへの感染リスクを評価するため、これまでにヒト、伴侶動物であるイヌ、ネコ、家畜であるウシ、さらに宿主と目されるマダニを対象に疫学調査を実施してきた。その結果、これらの抗体保有率及び *C. burnetii* 遺伝子の検出率は、1990 年代の報告と比較して全て低値を示した。今回、血清疫学調査として、昨年に引き続き岡山県 T と畜場へ 2011 年から 2012 年に全国から搬入された食用ウシ 299 頭を対象に、*C. burnetii* に対する抗体を測定したところ、21 頭が陽性を示した。また、遺伝子疫学調査として、T と畜場へ 2012 年に搬入された食用ウシ 150 頭、北海道の牧場ウシ 205 頭、北海道の牧場ウマ 87 頭、岡山県のヌートリア 148 頭、岡山県の野ネズミ 133 頭、岡山県のマダニ 180 匹及び北海道のマダニ 563 匹を対象として *C. burnetii* の遺伝子検索を実施したが、結果は全て陰性であった。

2009 年から 2012 年まで、全国の食用ウシ 565 頭を対象として血清疫学調査及び遺伝子疫学調査を実施してきたが、*C. burnetii* に対する抗体保有率は 3.7% であり、遺伝子は検出されなかった。これらの結果から、食用ウシにおいては、過去の感染が疑われる個体が存在するものの、調査時点では感

染個体はいなかったと考えられた。これまでに、遺伝子疫学調査として家畜 1313 頭、ペット 2748 頭、野生動物 281 頭及びマダニ 1365 匹の合計 5,707 検体について *C. burnetii* の遺伝子検索を実施してきたが、感染個体は確認できなかった。これらのことを勘案すると、現時点において、国内の *C. burnetii* の侵淫度は低く、ヒトへの感染リスクは非常に低いものと考えられた。しかしながら、現在も毎年数名の患者が報告されており、海外の流行地域からの輸入感染も懸念されることから、今後も検査体制やサーベイランス体制を維持していくことが必要であると考えられる。

(2) ボレリアに関する研究

1) 患者由来株(33 株)で優先する ST は ST131(22%)、ST128 (12%)、ST362(9%) であり、これら主要 3ST で患者分離株全体の 43%を占有することが明らかとなった。

2) マダニ由来株(30 株)では、患者由来株と同一の ST(ST127、 ST371、 ST375、 ST385)をしめす 6 株が *I. persulcatus* より分離された一方で、残り 24 株は患者由来株とは一致しない ST であった。特に *I. pavlovski* より分離された 10 株はすべて患者由来株とは異なる ST であった。

3) 野鼠由来株(25 株)の内、18 株(72%)は患者由来株と同一 ST であった。特に患者由来株の主要 3 ST である ST131、ST128、ST362 の野鼠分離株での占有率は、*Myodes rufocanus bedfordiae* で 56%、*Apodemus speciosus* で 33%、*A. argenteus* で 25% であった。

4) 猟犬血清 121 検体のうち、ELISA 法にて 106 検体(87.6%)が抗ボレリア IgG 抗体陽性もしくはボーダーラインと判定され、

うち 59 検体(48.8%)が WB 法により陽性であることが確認された。昨年度までに抗ボレリア抗体陽性と判定された検体は東北以外の地域では 16.4%であり (H23 年度分担報告書参照) 東北地方では猟犬の抗ボレリア IgG 抗体陽性率は有意に高いことが示された。培養によるイヌ全血からのボレリア検出は陰性だった。

(3) コリネバクテリウムに関する研究
新たにジフテリア様症状を呈する 2 名の患者からジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* (*C. ulcerans* Tox+) が分離された。患者の環境調査において飼いネコ及びイヌから *Corynebacterium* 属菌が分離された。また、患者家族のジフテリア抗毒素抗体価が高かった。これらの症例は、今まで報告されたような呼吸器症状ではなくリンパ節膿瘍や皮下膿瘍の症例であった。

12 カ所の地方自治体の動物愛護センターや動物病院に搬入されたイヌまたはネコの咽頭スワブ等について菌分離調査及び血清ジフテリア抗毒素抗体価測定を実施した結果、4 カ所の愛護センターのネコとイヌより *C. ulcerans* Tox+ 8 株が分離され、また抗毒素は 5 箇所 28 検体が陽性を示した。

今年度までの調査結果では、野外活動時間の多いイヌやネコは本菌を保菌または本菌に感染している可能性が懸念される。しかも外見上健康な動物が保有していた。感染した動物からは動物への菌の伝播がおこり感染が成立する。感染動物では排菌量が多いために、人はイヌ、ネコからの感染リスクが高いことが考えられる。

(4) ヒトの動物由来感染症への曝露の指標としての猟犬の応用に関する研究

猟犬は、野外でダニ媒介感染症を始め種々の病原体に暴露される機会が多い。そのため、各地の猟犬の病原体を調べることで、地域ごとの野外感染症、特に人獣共通感染症の種類と分布についてモニタリングが可能と考える。各地に存在する野外人獣共通感染症の存在を把握することで、人が野外活動する際の感染症リスク評価とその予防が可能になる。今回、東北地方（福島県、宮城県、岩手県、青森県、秋田県および山形県）の猟犬計 123 頭について、各種の感染症の血清抗体調査を行った。過年度の西日本、中部地方および島嶼部の調査に引き続き、ジフテリア症、破傷風、ブルセラ症、トキソプラズマ症、レプトスピラ症およびボレリア症に関する調査を実施した。

人獣共通感染症に関しては、ブルセラ症は福島で 1 例、山形県で 3 例の計 4 例の陽性例が認められた。トキソプラズマでは、先の報告と同様に各県とも高い陽性率で、検索例の 18% が陽性を示した。ジフテリア毒素では、青森で 1 例の陽性例が認められた。東北地方で問題となる野兎病は、今回検出されなかった。犬由来の感染で、宮城県で *Babesia (B) gibsoni* が 3 例にのみ検出された。また、ヘパトゾーン (*Hepatozoon canis*) について、全例とも陰性であった。犬フィラリア症では、検索した猟犬全体の約 30% で抗原が検出され、比較的高い陽性率であった。

(5) ブルセラ症に関する研究

これまでに国内の野生イノシシ血液、合計 543 サンプルを収集し、マイクロプレート凝集反応 (MAT) 法によりブルセラ属菌に対する抗体保有を検討したところ、イヌブルセラ菌 (*B. canis*) に対しては、11.0%

(60/543)、家畜ブルセラ菌 (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*) に対しては、全国 0.6% で (3/543) が陽性であった。陽性血清について PCR 法により 5 サンプルがイヌブルセラ菌 (*B. canis*) 型の陽性パターンを示した。それらイヌブルセラ菌型陽性の増幅産物の遺伝子配列は、3 つの異なる遺伝子座においてブルセラ属菌遺伝子と配列が一致した。これらの結果から血清陽性イノシシの一部はイヌブルセラ菌に対する感染歴を有していたと考えられる。一方、ブルセラ属菌に対し陽性の凝集反応を示した血清が他の菌との交差反応であることは否定できない。そこでより特異的で新たな抗体検出法を開発するために、ブルセラ SE 抗原を用いた WB 法を実施し、ブルセラ免疫ウサギ血清に特異性を示す 11kDa 付近に見られるバンドに注目した。ついで、このタンパクを抽出し、そのアミノ酸ならびに遺伝子配列を決定し、hypothetical protein BMEI0805 であることが明らかとなった。このタンパクについて、pCold TF ベクターを用いて組換えタンパクの作成を行い、その特異性を検討したところ、感染イヌ血清については十分であったが、ブルセラ属菌以外のグラム陰性菌で免疫したウサギ血清と非特異的の反応も見られた。本反応は、大腸菌由来のタンパクによるものと考えられた。また、TF (Trigger factor) を除去したベクターも作成し検討を加えたが、免疫ウサギ血清の非特異的の反応の除去には至らなかった。そこで、あらためて SE 抗原を二次元電気泳動により展開し、確認したところ、サイズが同一で PI 値の異なるところ (PI 値=8) に交差反応を示すタンパクが見つかった。ただ、PI 値=6 付近にブルセラ感染イヌ血

清特異的なものが認められたことから、本タンパクに焦点を絞り検討を継続している。

(6) 野兎病に関する研究

日本での野兎病患者の発生は近年まれであるが、これまで報告されているヒトの感染は、ほとんどがノウサギとの接触が原因とされている。しかしながら、本菌は非常に多数の動物種に感染しうることが知られており、本菌の生態系での維持様式を知りヒトへの感染リスクを評価することは重要である。野生動物における感染状況の把握には血清疫学調査が有効な手法と考えられるが、野生動物から採取される検体は、溶血や、少量しか採取できないなどの問題がある。また、二次抗体を要する検査法では野生動物特異的なものの入手は限られている。本研究では、多様な種の動物における野兎病菌抗体を測定するために、二次抗体を要しない競合 ELISA (Ft-cELISA) 法の開発を行い、国内各種動物からの野兎病菌抗体検出を試みた。その結果実験用ウサギやマウス免疫または感染血清、および野兎病患者血清で明らかな抗野兎病菌 LPS モノクローナル抗体の反応阻害がみられ、野兎病菌以外の抗体は反応を阻害せず、本法の有用性が確認できた。次に Ft-cELISA で 510 検体の各種野生動物の血液検体を測定したところ 10 検体が陽性と判定され、微量凝集反応法での陽性検体は全て陽性だった。

(7) エキノコックスに関する研究

クラスター解析の結果、各種の処理によって変動した遺伝子群は、NT から T4 までのクラスターと T5 から T6 までのクラスターとに大別された。さらに前者はペプシン処理の違いとパンクレアチン・胆汁処理の違いによって分けられた。

次いで隣接する処理間において見られる遺伝子群の変動に注目して統計学的検討をおこなったところ、発現量 2 倍以上で、かつ統計学的有意差が認められた遺伝子数 (と、そのうち qRT-PCR によって発現確認がなされた遺伝子数) は、S1 : 上昇 34 (21) ・ 下降 18 (12)、S2 : 上昇 46 (32) ・ 下降 2 (1)、S3 : 上昇 98 (71) ・ 下降 23 (9)、S4 : 上昇 87 (66) ・ 下降 21 (12)、S5 : 上昇 101 (90) ・ 下降 75 (39)、S6 : 上昇 66 (49) ・ 下降 58 (37) であった。

これらすべてにアノテーションがなされていないが、発現量が上昇した遺伝子群の上位についてみると、S1 から S2 では切断ポリアデニル化特異因子やヘリカーゼ、テトラスパニン、上皮成長因子、膜貫通受容体、トランスコロン、S3 から S4 では脂質ラフト関連たんぱくやジンクフィンガー、カドヘリン、細胞接着分子、S5 ではグルコースやアミノ酸の輸送に関連する遺伝子群の発現上昇がそれぞれ認められた。

(8) 炭疽菌に関する研究

国内では以前炭疽が発生した地域あるいは炭疽の患畜を埋却した箇所には炭疽菌の芽胞が存在している可能性はあるものの、今回解析した土壌検体を鋳型とした PCR からは炭疽菌特異的遺伝子は検出されなかった。

選択圧の高い MYP 培地で一次培養を行い、純培養に羊血液寒天培地を用いたところ、MYP および羊血液寒天培地から純培養したコロニーの 60% 以上が *B. cereus* group 菌種群特異的遺伝子を保有していたことから、効率よく *B. cereus* group 菌種群のコロニーを分離培養することが出来た。

炭疽菌に近縁な *B. cereus* を各地点から 6

株ずつをグリセロールストックで-80°Cで保存し、今後の遺伝子解析用のライブラリーを作成した。

(9) 狂犬病に関する研究

1) ビオチン融合 scFv を大腸菌内に発現させるため、4 クローンの抗 RABV-P scFv (P19、P38、P80、P115)、1 クローンの抗 RABV-N scFv (N1) を PinPoint Xa-3 ベクターにクローニングを行った。現在、scFv-ビオチン融合蛋白質の発現確認を行っている。

2) 現時点において、WHO は 4 回接種法を追認していないが、世界的に狂犬病曝露後免疫を再検討する契機になりうると考えられる。今回、国内における狂犬病曝露後免疫希望者での 4 回接種法の効果を検討した。対象は 18 例 (男性 13 例、女性 5 例)、平均年齢 38.1 歳 (20-68) であり、渡航地は全例アジア地域であった。国産ワクチンのみ実施されたものが 9 例、海外産ワクチン接種後に国産ワクチンが接種されたものが 9 例であった。現地にてヒト狂犬病免疫グロブリンが投与された例を 1 例認めた。全 18 例の狂犬病抗体幾何平均 1.36 (EU/mL)、抗体陽転例 (0.5EU/mL 以上) 16 例 (89%) であった。

3) 日本国内には、狂犬病の治療、院内感染対策に関する資料が非常に乏しいことが明らかとなったため、今年度は狂犬病治療を考える基礎資料として海外から報告された文献に基づき、狂犬病救命例、治療法、院内感染対策についてまとめた。詳細は分担報告書を参照されたい。

D. 考察

Q 熱に関しては食用ウシ 565 頭の *C.*

burnetii に対する抗体保有率は 3.7% であり、過去の感染が疑われる個体が存在するものの、調査時点では感染個体はいなかったと考えられた。これまで、遺伝子疫学調査として家畜 1313 頭、ペット 2748 頭、野生動物 281 頭及びマダニ 1365 匹の合計 5,707 検体について *C. burnetii* の遺伝子検索を実施したが、感染個体は確認できなかった。これらのことから、現時点において、国内の *C. burnetii* の侵淫度は低く、ヒトへの感染リスクは非常に低いものと考えられた。しかしながら、現在も毎年数名の患者が報告されており、海外の流行地域からの輸入も懸念されることから、今後も検査体制とサーベイランス体制を維持していくことが必要である。

国内ライム病患者は野鼠が保菌し、*I. persulcatus* により伝播される *B. garinii* に感染していることが明らかとなった。特に国内で発生する患者の約 40% が、野鼠によって保菌される *B. garinii* のなかの 3 つの ST に感染、発症していることから、これらを保菌する野鼠の増減はライム病発生頻度に大きな影響を与える可能性があるかと推定された。一方、イヌなどのライム病ボレリアの感受性が高い動物種で、かつマダニの曝露頻度が高い動物を歩哨動物として、ヒト病原体の浸潤実態を把握する手法は有効であり、ヒトの公衆衛生対策を立案する上で重要な知見であると考えられる。

国内 10、11 症例目のヒトでの *C. ulcerans* Tox+ 感染症が香川県および山形県で発見された。患者は 30 代で基礎疾患を持たない健康人あり、その環境としてイヌやネコなどの動物をペットとして飼育していた。これらの症例では、呼吸器ではなくリンパ節や

皮下膿瘍から菌が分離されており、これまでの症例とは異なっていた。今後、分離された *C.ulcerans*^{Tox+} の詳細な解析が必要である。今回の 2 症例でも飼育動物からの感染の可能性が推察されたが、少数で室内飼育されている動物からはほとんど病原体が検出されないことから、野外の生物との接触が可能な飼育形態がリスクとなると考えられる。今回のヒト症例が発生した地域の愛護センターや動物病院の患畜にジフテリア毒素抗体価を有するイヌやネコを確認した。*C.ulcerans*^{Tox+} は環境を介して動物を汚染している可能性が考えられるが、どの動物が汚染源であるかは不明である。

東北地方（福島県、宮城県、岩手県、青森県、秋田県、山形県）の猟犬につき、ジフテリア症、レプトスピラ症、ライム病、トキソプラズマ症など重要人獣共通感染症についての抗体調査を実施したところ、ライム病、トキソプラズマで高い抗体陽性例が検出された。実際の患者の発生を含め、その原因とヒトに対する影響について再調査する必要がある。ヒトの感染リスクを予想するうえで、猟犬がこれらの感染症の疫学情報の収集に有用と思われる。

野兎病菌抗体測定法として競合 ELISA を開発し、本方法がヒト血清抗体測定において iELISA 法と高い相関性を有して測定可能であることを検証することができた。また本方法で国内野生動物由来血液検体を測定した結果、ツキノワグマおよびタヌキに抗体陽性例が認められ自然界における野兎病菌の浸潤状況を調査するための歩哨動物となる可能性があることを明らかにできた。今後も本研究で開発された cELISA 法等の的確な抗体測定法を用いた野生動物に

おける野兎病菌抗体保有状況の継続的な調査は野兎病のヒトへの感染リスク評価や野兎病菌の生態を明らかにするために重要と考えられる。

野兎病菌は非常に高い病原性と致死性を持つ細菌である。本研究では野兎病菌の病原因子を同定することを目的とし、ゲノム上でたった 1 塩基（挿入・欠損）しか違いを持たない弱毒性 SCHU P5 株と強毒性 SCHU P9 株を作出した。この 1 塩基は野兎病菌の *pdpC* 遺伝子の中央部に位置し、弱毒性株では 1 塩基欠損によってフレームシフトが発生し、正常な大きさの PdpC タンパク質が生合成できないことが明らかとなった。そこで、強毒性株の *pdpC* 遺伝子破壊株と相補株を作出し、*pdpC* が病原性を規定する遺伝子であるか検証を試みた。この結果、強毒性株の *pdpC* 遺伝子を破壊した株は大きく病原性が低下した。更に、弱毒性株または *pdpC* 遺伝子破壊株を PdpC タンパク質発現プラスミドで相補すると病原性の復帰が見られた。これらの結果は、野兎病菌の *pdpC* 遺伝子が本菌の病原性発現機構に強く関与していることを強く示唆している。

エキノコックスの原頭節がもつ二方向性分化は、病原性の発揮を含め、この寄生虫の生物学的特徴となっている。それにもかかわらず、いずれの方向へ分化したのかは、これまで形態学的な変化の観察にもとづいてのみ判断されるものであり、いつ分化が決定しているのか明らかでなかった。今回、終宿主体内での発育を模した各種処理によって引き起こされる遺伝子発現の変化を観察した結果、S4（処理 II）までは形態形成にかかわる遺伝子群に発現上昇が認められ

ること、さらにそれ以降の S5 (処理 III) では、形態形成関連遺伝子に代わり、糖などの膜輸送関連の遺伝子に顕著な発現亢進が認められることから、S4 までに成虫型への分化方向が決定しているものと考えられた。残念ながらエキノコックスのゲノムプロジェクトがいまだ進行中であるが、今後ゲノムアノテーションが早期に整備され、本研究で観察された個々の変動遺伝子間の関係が解明されることが望まれる。

本研究では、DRIT 法をより安価かつ簡易な検出系とするために、PinPoint Xa-3 ベクター (Promega) を利用してウイルス抗原の検出に使用する single chain variable fragment (scFv) のビオチン標識を大腸菌内で行う系の確立を試みた。今回、ビオチン標識された NB-scFv を発現するクローン (scFv-P19-biotin) の作出に成功したが、DRIT に利用した際に RABV 抗原を検出することができなかった。現在、DRIT で RABV 抗原を検出できなかった理由を明らかにするために、scFv-P19-biotin の発現量の改良とビオチン化タグによる scFv の affinity への影響を検証している。PinPoint Xa-3 ベクター (Promega) を使用して大腸菌内で scFv をビオチン化する系は、ビオチン標識の簡易化とともに、大腸菌を利用することによってビオチン化 scFv を大量に発現・精製できる利点がある。したがって、本研究によって、安価・大量にビオチン化 scFv を生産することが可能になれば、発展途上国の検査機関で DRIT の普及が容易となり、近隣アジア諸国における狂犬病対策が促進され、わが国への狂犬病の脅威が低減するといった波及効果をもたらし、わが国の公衆衛生行政に多大な貢献

をするものと考えられた。

国内における狂犬病暴露後免疫は、基本的に海外での動物咬傷を理由として行われることから、海外産ワクチンに引き続いて、国産ワクチンの接種が行われるケースが少なくない。このため、国産ワクチンのみでの暴露後免疫の効果を見ることだけでは現実に即しておらず、海外産ワクチンを接種した後に国産ワクチンを接種したのもも検討する必要がある。これまで、暴露後免疫 5 回接種法の評価を、国産ワクチンのみの群と海外産ベロ細胞由来ワクチンまたはトリ胚細胞由来ワクチンを接種後に国産ワクチンにて継続接種した群において検討した高山らの報告では、両群とも 5 回接種後 2 週間での抗体陽転率は 100%を示しており、従来法の高い有効性が証明されている。今回の結果から、4 回接種後 2 週間での狂犬病抗体価が狂犬病抗体幾何平均 1.36EU/mL、抗体陽転率 (有意抗体 0.5EU/mL 以上) 16 例 (89%) との結果が得られた。狂犬病は発症すると救命が困難であるため、狂犬病ワクチンによる暴露後免疫の実施が、狂犬病発症予防に極めて重要である。このため、暴露後免疫により限りなく 100%に近い抗体陽転率が求められることから、上記の結果は容認しがたい。

E. 結論

国内での存在は明らかにされているがその存在様式が不明な動物由来感染症について検査法を確立し、我が国の自然界におけるこれら病原体の存在様式に関する実態調査を継続した。その結果様々な動物が動物由来感染症の伝播に関与していることが確認されたが、どの動物が真のリザーバーである

か未だに不明なものもあり、今後の調査研究の継続がわが国における動物由来感染症のリスクを評価するためには不可欠である。そのためにはワンヘルスの理念を実践に移して行くことが重要である。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 紙上発表

- (1) 岸本寿男、木田浩司:Q熱 特集ペットからの感染症 小児科.54;73-80:2013.
- (2) 麻生さくら, 渡部信栄, 中村望, 細貝みゆき, 今岡浩一, 野本優二, 手塚貴文, 塚田弘樹. 血液培養から分離された *Brucella melitensis* の一症例. 医学検査, 61(5): 902 -907, 2012
- (3) Nakato,G., Hase,K., Suzuki,M., Kimura,M., Ato,M., Hanazato,M., Tobiume,M., Horiuchi,M., Atarashi,R., Nishida,N., Watarai,M., Imaoka,K. and Ohno,H. Cutting Edge: *Brucella abortus* exploits a cellular prion protein on intestinal M cells as an invasive receptor. J. Immunol., 189:1540-1544, 2012
- (4) 今岡浩一, 木村昌伸. 日本におけるブルセラ症－感染症法施行前(1999年3月31日)まで－. in: 病原微生物検出情報, 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局, 33(7): 186-187, 2012
- (5) 今岡浩一, 鈴木道雄, 慕蓉蓉. 台湾におけるブルセラ症－33年ぶりの患者報告と届出疾患へ－. in: 病原微生物検出情報, 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局, 33(7): 193-194, 2012
- (6) 今岡浩一, 木村昌伸, 勝川千尋. ブルセラ症－ブルセラ症検査マニュアル－2012. in: 病原体検査マニュアル(国立感染症研究所, 地方衛生研究所全国協議会 編), [http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/brucellosis_2012.pdf], 2012
- (7) 今岡浩一. ブルセラ症の現状. in: 化学療法の領域, 医薬ジャーナル社, 28(12): 138-148, 2012
- (8) Sekizuka T, Yamamoto A, Komiya T, Kenri T, Takeuchi F, Shibayama K, Takahashi M, Kuroda M and Iwaki M: *Corynebacterium ulcerans* 0102 carries the gene encoding diphtheria toxin on a prophage different from the *C. diphtheriae* NCTC 13129 prophage, BMC Microbiol. 2012 May 14; 12: 72.
- (9) Urakawa T, Seto J, Yamamoto A, Nakajima T, and Goto S, Subcutaneous abscess formation in the upper extremity caused by toxigenic *Corynebacterium ulcerans* J Med Microbiol [Epub ahead of print]
- (10) 鎌田知子, 畑中章生, 田崎彰久, 本多圭司, 角田篤信, 喜多村健; 茨城県で発見されたコリネバクテリウム・ウルセランスの1症例, 日本耳鼻咽喉科学会会報 115 巻7号 682-686・2012年
- (11) 木全恵子, 嶋 智子, 金谷潤一, 磯部順子, 嶋 一世, 廣田昌幸, 保田信一, 綿引正則, 佐多徹太郎. ネコにおけるジフテリア毒素産生型

- Corynebacterium ulcerans* および *Corynebacterium* 属菌保有状況調査 (2010-2011) 第 2 報、富山県衛生研究所年報 第 35 号 139-142・2012 年
- (12) Hotta, A. Tanabayashi, K. Yamamoto, Y. Fujita, O. Uda, A. Mizoguchi T. and Yamada A. Seroprevalence of tularemia in wild bears and hares in Japan. *Zoonoses and Public Health* 59: 89-95. (2012)
- (13) Sharma, N. Hotta, A. Yamamoto, Y. Fujita, O. Uda, A. Morikawa, S. Yamada A. and Tanabayashi K. Detection of *Francisella tularensis*-specific antibodies in patients with tularemia by a novel competitive enzyme-linked immunosorbent assay. *Clinical and Vaccine Immunology* 20:9-16. (2013)
2. 学会発表
- (1) 木田浩司、中本敦、城ヶ原貴通、溝口嘉範、葛谷光隆、濱野雅子、中嶋 洋、藤井理津志、福士秀人、大屋賢司、猪熊壽、岸本壽男。本邦における Q 熱コクシエラの感染実態と宿主の調査。第 20 回ダニと疾患のインターフェイスに関するセミナー。阿南市
- (2) カイル テイラー、川端寛樹、今内 覚、下鶴倫人、高野 愛、坪田敏男。北海道の野生下におけるボレリア種の維持、小型哺乳類とダニの関係について。第 58 回日本衛生動物学会北日本支部大会。2012 年 10 月。旭川
- (3) 後藤みなみ、濱野剛久、水主川剛賢、酒井洋樹、高島康弘、柳井徳磨、今岡浩一、川端寛樹、山本明彦、小泉信夫、野上貞雄。猟犬を指標とした野外感染症調査：島嶼部、半島部における調査。第 18 回野生動物医学会大会。2012 年 8 月。十和田
- (4) Gaku Nakato, Koji Hase, Michio Suzuki, Masanobu Kimura, Manabu Ato, Misaho Hanazato, Minoru Tobiume, Motohiro Horiuchi, Ryuichiro Atarashi, Noriyuki Nishida, Masahisa Watarai, Koichi Imaoka, Hiroshi Ohno. Cellular prion protein on Peyer's patch M cells could serves as an invasive receptor for *Brucella abortus*. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity (第 11 回あわじしま感染症・免疫フォーラム), Awaji, Sep. 11-14, 2012
- (5) 鈴木道雄、中藤学、度会雅久、木村昌伸、堀内基広、長谷耕二、飛梅実、阿戸学、森川茂、山田章雄、大野博司、今岡浩一。ブルセラアボルタスは腸管パイエル板からの侵入に M 細胞上のプリオン蛋白質 (PrPC) を利用する。第 155 回日本獣医学会学術集会、東京、3 月 28-30 日、2013
- (6) 畠山理沙、梅田薫、阿部拓人、松村国彦、小笠原準、小宮貴子、岩城正昭、山本明彦、長谷篤、真田秀一。大阪市のイヌ・ネコにおけるジフテリア毒素産生性コリネバクテリウム・ウルセランス保菌状況調査。平成 24 年度獣医近畿地区学会、2012 年 10 月
- (7) 河野智美、須藤正之、佐野哲也、山本明彦、梅原成子、青木佳代、石川和彦滋

- 賀県内のイヌ・ネコにおけるジフテリア毒素産生性コリネバクテリウム・ウルセランスの分布調査結果 第 43 回 滋賀県公衆衛生学会, 2013 年 2 月
- (8) Sharma, N. Hotta, A. Tanabayashi, K. Yamamoto, Y. Fujita, O. Uda, A. Mizoguchi T. Shindo, J. Park, C.-H. Kudo, N. Hatai, H. Oyamada, T. Morikawa S. and Yamada A. Seroprevalence of tularemia among various wild animals in Japan. 7th International Conference on Tularemia, (2012 年 9 月 コロラド)
- (9) 後藤みなみ, 濱野剛久, 水主川剛賢, 酒井洋樹, 高島康弘, 柳井徳磨, 今岡浩一, 川端寛樹, 山本明彦, 小泉信夫, 野上貞雄. 猟犬を指標とした野外感染症調査: 島嶼部, 半島部における調査. 第 18 回野生動物医学会大会. 2012 年 8 月. 十和田

Ⅱ. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

Q 熱コクシエラの生態系における感染リスク評価に関する研究

	研究分担者	岸本壽男	岡山県環境保健センター	
			所長	
研究協力者	木田浩司	岡山県環境保健センター	保健科学部	研究員
	葛谷光隆	同		専門研究員
	濱野雅子	同		専門研究員
	溝口嘉範	同		研究員
	藤井理津志	同		部長
	猪熊 壽	帯広畜産大学獣医内科学・感染症学		教授
	福士秀人	岐阜大学農学部獣医学科獣医微生物学講座		教授
	大屋賢司	同		准教授

研究要旨 Q熱は、感染症法では4類感染症に分類される人獣共通感染症であるが、ヒトでは特異的な症状が認められず、インフルエンザ様疾患、肺炎、肝炎等、多彩な病状を示す一方、動物では一般に無症状とされる。感染症発生動向調査事業における患者数は2002年から2003年がピークで、それぞれ40人を超えていた。しかし、近年は発生が極めて稀で、起因菌である *Coxiella burnetii* の国内における実態は未だ不明な点が多い。そこで、本病原体の侵淫状況を明らかにし、ヒトへの感染リスクを評価するため、これまでにヒト、伴侶動物であるイヌ、ネコ、家畜であるウシ、さらに宿主と目されるマダニを対象に疫学調査を実施してきた。その結果、これらの抗体保有率及び *C. burnetii* 遺伝子の検出率は、1990年代の報告と比較して全て低値を示した。

今回、血清疫学調査として、昨年に引き続き岡山県 T と畜場へ2011年から2012年に全国から搬入された食用ウシ299頭を対象に、*C. burnetii* に対する抗体を測定したところ、21頭が陽性を示した。また、遺伝子疫学調査として、T と畜場へ2012年に搬入された食用ウシ150頭、北海道の牧場ウシ205頭、北海道の牧場ウマ87頭、岡山県のヌートリア148頭、岡山県の野ネズミ133頭、岡山県のマダニ180匹及び北海道のマダニ563匹を対象として *C. burnetii* の遺伝子検索を実施したが、結果は全て陰性であった。

2009年から2012年まで、全国の食用ウシ565頭を対象として血清疫学調査及び遺伝子疫学調査を実施してきたが、*C. burnetii* に対する抗体保有率は3.7%であり、遺伝子は検出されなかった。これらの結果から、食用ウシにおいては、過去の感染が疑われ

る個体が存在するものの、調査時点では感染個体はいなかったと考えられた。これまでに、遺伝子疫学調査として家畜 1313 頭、ペット 2748 頭、野生動物 281 頭及びマダニ 1365 匹の合計 5,707 検体について *C. burnetii* の遺伝子検索を実施してきたが、感染個体は確認できなかった。これらのことを勘案すると、現時点において、国内の *C. burnetii* の侵淫度は低く、ヒトへの感染リスクは非常に低いものと考えられた。しかしながら、現在も毎年数名の患者が報告されており、海外の流行地域からの輸入感染も懸念されることから、今後も検査体制やサーベイランス体制を維持していくことが必要であると考えられる。

A. 研究目的

Q 熱はヒトでは特異的な症状が認められず、インフルエンザ様疾患、肺炎、肝炎等、多彩な病状を示すが、動物では一般に無症状とされる人獣共通感染症である。起 因 菌 は *Coxiella burnetii*(以下 *C. burnetii*)であり、感染症法では 4 類感染症に分類されるが、国内での実態は未だ不明な点が多い。そこで、本調査は、ヒト、家畜を含む動物並びに宿主の感染実態を把握し、さらに過去の疫学データと比較検証することで現在のヒトへの感染リスクを評価することを目的とした。

これまでにヒト、ペットとしてのイヌ、ネコ、家畜としてのウシ、宿主と目されるマダニを対象に疫学調査を実施してきたが、本年度はウシ及びマダニについて、さらに調査を進めるとともに、新たに家畜のウマ、野生動物のヌートリア及び野ネズミについて遺伝子疫学調査を実施した。

B. 研究方法

1) Q 熱に関する血清疫学調査

岡山県食肉衛生検査所の協力により、2011 年から 2012 年に T と畜場に全国

から搬入された食用ウシのうち、健康牛 150 頭及び病畜 149 頭 (計 299 頭) について、血清を採取した。血清中の抗 *C. burnetii* 抗体は、*C. burnetii* 感染細胞をスライドグラスに固定したもの (オリエンタル酵母 (株) 作製 *C. burnetii* 感染 BGM 細胞) を抗原とした間接蛍光抗体法により検出した。一次抗体として、リン酸緩衝液 (PBS) で 128 倍希釈したウシ血清を 37°C で 30 分間反応させた。PBS で 5 分間 2 回洗浄後、PBS で 200 倍希釈した FITC 標識抗ウシ IgG(cappel)を 37°C で 30 分間反応させた。PBS で 5 分間 2 回洗浄後、蛍光顕微鏡で観察した。判定は、蛍光顕微鏡で封入体と細胞質内粒子の染色像を確認したものを陽性(128 倍以上)とし、封入体のみが染色されたものは偽陽性、いずれも染色されないものを陰性とした。

2) Q 熱に関する遺伝子疫学調査

ウシについては、岡山県食肉衛生検査所の協力により、2012 年に T と畜場に搬入された食用ウシのうち、健康牛 75 頭及び病畜 75 頭 (計 150 頭) から全血を採取した。また、北海道の K 牧

場 56 頭及び Y 牧場 149 頭から全血を採取した。

ヌートリアについては、2010 年に岡山県内の 17 市町村でオリ式罾を用いて 148 頭を捕獲し、脾臓を採取した。

野ネズミについては、2010～2011 年に岡山県内全域でオリ式罾を用いて 133 頭を捕獲し、脾臓を採取した。

マダニについては、2012 年に岡山県で 165 匹、2011 年に北海道で 563 匹のマダニを採集し、圧潰して内臓浮遊液とした。

ウシ血液、ネコ血液及びマダニ内臓浮遊液から、それぞれ Qiagen DNA mini kit を使用して DNA を抽出し、Real-time PCR 法による遺伝子疫学調査を実施した。

C. burnetii の Real-time PCR 法は、Klee(2006)らの報告をもとに、既存分離株において保存性の高い領域である Isocitrate dehydrogenase (icd) gene をターゲットに、Primer 及び Taqman probe は、それぞれ icd-439F = CGTTATTTTACGGGTGTGCCA (439-459), icd-514R = CAGAATTTTTCGCGGAAAATCA (494-514), icd-464TM = FAM-CATATTCACCTTTTCAGGCG TTTTGACCG-TAMRA(464-492)を使用した (Genbank accession no. AF146284)

また、合成 Oligo = CGTTATTTTACGGGTGTGCCAAGC CCGGTCAAACGCCTGAAAAGGT GAATATGGTGATTTTCCGCGAAAA TTCTG (439-514)を Internal control

として、定性分析を行った。

C.研究結果

1) Q 熱に関する血清疫学調査

2009 年～2012 年までに調査対象とした食用ウシ 565 頭 (今年度調査分 299 頭) の生産地を表 1 に示した。間接蛍光抗体法による *C. burnetii* に対する血清抗体測定の結果を表 2 に示した。陽性(128 倍以上)個体は健康牛 7 頭、病畜 14 頭の計 21 頭、擬陽性個体は健康牛 10 頭、病畜 17 頭の計 27 頭認められた。

2) Q 熱に関する遺伝子疫学調査

食用ウシ 150 頭、北海道の牧場ウシ 205 頭、北海道牧場ウマ 87 頭、岡山県のヌートリア 148 頭、岡山県の野ネズミ 133 頭、岡山県のマダニ 180 匹及び北海道の 563 匹を対象として *C. burnetii* の遺伝子検索を実施したが、結果は全て陰性であった。岡山県で捕集したマダニ種と遺伝子検出率を表 3 に、北海道で捕集したマダニ種と遺伝子検出率を表 4 にそれぞれ示した。

D.考察

これまで、6 年間にわたって Q 熱に関する血清疫学調査及び遺伝子疫学調査を実施してきたが、本研究における成果と既報との比較を表 5 にまとめた。ヒトについては、動物病院従事者 304 名を対象としたが、抗体陽性率は 0.6% (2/304) であり、これは 1998 年に石原らによって報告された 37%よりも低かった。