

201420017B

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
(新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)

ダニ媒介性細菌感染症の診断・治療体制構築と その基盤となる技術・情報の体系化に関する研究

平成24年度～平成26年度 総合研究報告書

平成27 (2015) 年 3 月

研究代表者 安 藤 秀 二

(国立感染症研究所)

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
(新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)

ダニ媒介性細菌感染症の診断・治療体制構築と その基盤となる技術・情報の体系化に関する研究

平成24年度～平成26年度 総合研究報告書

平成27（2015）年3月

研究代表者 安藤 秀二

(国立感染症研究所)

平成 24 年度～26 年度
 新型インフルエンザ等 新興・再興感染症研究事業
 (新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)

ダニ媒介性細菌感染症の診断・治療体制構築と
 その基盤となる技術・情報の体系化に関する研究
 班員名簿

氏 名	所 属	職 名
安藤 秀二	国立感染症研究所 ウイルス第一部	室長
岩崎 博道	福井大学 医学部 病態制御医学講座 血液感染症内科学	教授
大橋 典男	静岡県立大学 食品栄養科学部・微生物学	教授
川端 寛樹	国立感染症研究所 細菌第一部	室長
岸本 壽男	岡山県環境保健センター	所長
今内 覚	北海道大学大学院獣医学研究科・感染免疫	准教授
高田 伸弘	福井大学医学部病因病態医学講座、医動物学	特別研究員
高野 愛**	山口大学共同獣医学部	准教授
林 哲也	宮崎大学フロンティア科学実験総合センター	センター長 教授
藤田 博己	藤田保健衛生大学 (馬原アカリ医学研究所)	客員教授 (所長)

* 研究分担者 50 音順

**平成 25 年度から参加

目 次

I. 総合研究報告（平成 24 年度～26 年度）

ダニ媒介性細菌感染症の診断・治療体制構築と その基盤となる技術・情報の体系化に関する研究 -----	1
研究代表者：安藤 秀二（国立感染症研究所・ウイルス第一部）	

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	41
--------------------------	----

I. 総合研究報告書

ダニ媒介性細菌感染症の診断・治療体制構築と
その基盤となる技術・情報の体系化に関する研究

研究代表者 安藤秀二 国立感染症研究所ウイルス第一部第五室長

研究要旨：病原体，媒介ダニ，動物による複雑な感染環の疾患群に対応する恒久的体制構築を目指し，リケッチア，ボレリア，アナプラズマ，各疾患共通課題について調査，研究を進めた。

リケッチア症では，複数県参加のネットワーク構築活動を通じ，地域毎に異なる特性・多様性を考慮，適切な診断，リスク評価の基礎資料となる疫学情報収集を実施・支援，ラボと臨床の迅速連携を可能とする試みを行い，啓発の科学的根拠となる新たな知見を全国で蓄積，報告した。また，検査系の改良・開発では，簡易血清診断の現場導入や既法の改良も検討すると同時に，ダニ媒介以外のリケッチア症との鑑別を必要とするデータも得た。さらに，研究基盤のバイオリソース情報となる全ゲノム解析のため，国内の各種病原性リケッチアの臨床分離株の収集，整理，解析を積極的に進め，*Rickettsia japonica* と他の紅斑熱群リケッチアの全ゲノム解析や *Orientia tsutsugamushi* の多様性の MLS 情報を蓄積した。

ボレリア症では，2011 年，ロシアでの新興回帰熱流行を受け，2012 年より新興回帰熱に関する国内の総合的対策研究・調査を開始した。この 3 年間で，1)ハイリスク集団での遡及調査，2)病原体検査法樹立と媒介マダニ調査，3)分離株の抗菌薬感受性，4)啓発活動と前向き調査，5)診断法の地方自治体へ普及，6)類似病原体探索，7)実験動物による病原性解析，8)マダニによる病原体伝播機構解析とマダニ由来因子に着目した新規制御法開発，を進めた。

アナプラズマ症では，後方視的解析から日本国内に存在することを明らかにした。日本紅斑熱(JSF)との混合感染も明らかとなり，JSF 発生地のマダニが *Anaplasma phagocytophilum* も保有する可能性が示唆された。JSF 流行地の西日本地域を調査した結果，約 3.0%のマダニが *A. phagocytophilum* を保有していた。また，HL60 と THP-1 の 2 種の細胞で培養した *A. phagocytophilum* を抗原とした免疫蛍光抗体法(IFA)と 3 種の組換え蛋白質抗原による Western blotting の結果，新たに陽性を示す血清を発見した。IFA と組換え蛋白質抗原 Western blotting の組み合わせは有効だが，より詳細なエピトープ解析が必要である。

本研究班では，ダニ媒介性感染症調査研究のための共通ツールとなる鋳型核酸の抽出法やマダニ類カラー同定アーカイブの作成を行い，臨床データの蓄積，解析のため，臨床とラボの有機的連携で報告された国内の様々なダニ媒介感染症個々の症例の臨床相互評価を行った。一方，疑い症例の実験室診断の対応調査において，およそ 80%が原因不明に終わっていることから，ダニ媒介感染症の総合的対策のより効果的な構築が必要であることがあらためて示された。

研究分担者:

岩崎 博道(福井大学医学部・病態制御医学講座・血液感染症内科学・教授)

大橋 典男(静岡県立大学 食品栄養科学部・微生物学・教授)

川端 寛樹(国立感染症研究所 細菌第一部・室長)

岸本 壽男(岡山県環境保健センター・所長)

今内 寛(北海道大学大学院獣医学研究科・感染免疫・准教授)

高田 伸弘(福井大学医学部・病因病態医学講座・医動物学・特別研究員)

高野 愛(山口大学共同獣医学部・准教授)

林 哲也(宮崎大学フロンティア科学実験総合センター・センター長・教授)

藤田 博己(藤田保健衛生大学・客員教授, 馬原アカリ医学研究所・所長)

A. 研究目的

ダニ媒介性細菌感染症は多様であり, 本研究は, 臨床, 病原体, 媒介ダニからなる複雑な感染症群に総合的に対応する恒久的な対策ネットワーク構築を目指した。

国内の代表的なリケッチア症つつが虫病は多くの症例の見落としが指摘され, また, 日本紅斑熱発見以降, マダニ類の多様なリケッチア保有とリケッチア症も確認されている。しかしながら, いまだ検査体制や情報が十分でなく, 原因不明のダニ関連疾患対策も望まれる。さらに, ヒトのアナプラズマ症も国内で発見され, 診断法も開発しつつあるが, 実態は不明のままである。ボレリア症では, 新興回帰熱 *Borrelia miyamotoi* 感染例が欧米で報告され, 媒介マダニが国内に生息, 北海道で *B. miyamotoi* は確認されており, ライム病に加

え本疾患の潜在性も指摘されていた。このように国内のダニ媒介性細菌感染症はますます多様な病原体に広がっている。しかしながら, リケッチア症の重症化や死亡例が毎年報告されにもかかわらず, 体制の弱体化により, 不幸な転機となる症例の増加が危惧される。

新規のマダニ媒介性感染症の存在も明らかになり, 鑑別とともにマダニ媒介性感染症を俯瞰した診断・治療のネットワークが求められているが, 課題は多い。また, 臨床的意義不明なリケッチアも多く, 原因不明のダニ関連疾患の検討も望まれている。本研究では, ダニ媒介性細菌感染症の診断技術標準化, 地域特性把握, 地域拠点機関の検査体制確立, バイオリソース情報蓄積, 新興ダニ媒介感染症診断ツールとマニュアル作成, 地方衛生研究所・病院等連携での症例情報解析, 地域性に即した臨床と検査の地域内・間ネットワーク構築, 異なる病原体, 各種ダニ媒介疾患にも応用できる予防法, 治療法, 等について総合的かつ共通化できるアプローチ法で, 有機的に共同する体制構築を目的とする。

B. 研究方法

本研究は, 研究代表者, 研究分担者 9 名と多くの研究協力者が有機的に連携・共同して遂行した。

1. ボレリア症に関する研究(川端・今内・高野)

1) 啓発活動と前向き調査: 初年度に回帰熱に関するパンフレットを作成し, 北海道内の医療機関、衛生研究所へ配布, 道内の医療機関と連携し, 新興回帰熱に関する前向き調査を行った。

2) 診断法の地方自治体への普及: 北海道・

東北ブロックへ病原体検査用試薬類を配布し、標準化作業を行った。

3) ハイリスク集団での遡及調査:2年次、ライム病もしくはライム病疑いの患者検体をもとに新興回帰熱症例の検知を行った。

4) 病原体検査法樹立と媒介マダニ調査:国内流行地として想定された北海道全域でマダニからのボレリア病原体調査を行った。全道57箇所計4325個体のマダニを採取し、病原体DNA検出に供した。さらに、2年次より本州、最終年度はモンゴル国北部でマダニの*B. miyamotoi*保有調査を行った。本州11県で計457個体、モンゴルでは2州において計924個体のマダニを採取し、病原体DNA検出及び分離に供し、Multi-Loci Sequence Typing (MLST)による、*B. miyamotoi*の遺伝学的系統解析を行なった。

5) 類似病原体の探索:北海道東部でマダニ、シカサンプルを用い、新興回帰熱病原体に類似の病原体探索を行った(3年次)。

6) 分離株の抗菌薬感受性:CLSIに準拠して抗菌薬感受性を調べた。試験薬剤はライム病治療に用いられるセフェム系、テトラサイクリン系等の薬剤である。

7) 実験動物を用いた*B. miyamotoi*の病態解明:2年次よりマウス感染実験を行い、各臓器から遺伝子検出、血清から抗体検出、病理学的検討を行い、病態解析を行なった。さらに、新規実験モデル開発のために、スnekスへの感染実験を試みた。

8) ダニ媒介性病原体の伝播機序の解明と制御法の開発:初年度、ライム病患者が出た地区でシュルツェマダニ(Ip)を採取、PCR法によるライム病ボレリア(*B. garinii*と*B. afzelii*)等の検出、菌分離を行い、ダニ由来因子との因果関係について実験に供した。続いて、研

究室樹立実験室株の成ダニをハムスターに吸血、中腸と唾液線からRNAを抽出、cDNAを合成した後、PCRを行い、*Salp15*, *Salp16*, *Ip immunosuppressor (IPIS)*, *Tick receptor for OspA (TROSPA)*, *Sialostatin L2(sL2)*, *Cystatin*と*Ferritin2*遺伝子配列を決定、発現解析を行った。また、得られた情報を基にそれぞれの組換えダニ蛋白を作製、機能を解析した。

2. アナプラズマ症に関する研究(大橋)

1) *A. phagocytophilum*を含む関連細菌群の分子疫学的解析:西日本地域を中心にマダニを採集し、1匹ずつ解剖し唾液腺を摘出、DNA抽出を行い、関連細菌群の遺伝子検出を行った。標的遺伝子は、*A. phagocytophilum*は44kDaの外膜蛋白質群をコードする*p44*遺伝子群または16S rDNA、紅斑熱群リケッチアは*gltA*遺伝子、*Ehrlichia*属菌では*p28*遺伝子群である。

2) IFA法による不明発熱性患者からの*A. phagocytophilum*に対する抗体検出:静岡県で、2010~2011年、日本紅斑熱とつつが虫病が否定された患者血清について、THP-1とHL60細胞で培養した*A. phagocytophilum*を抗原としたIFAとWestern blot法による抗*A. phagocytophilum*抗体の検出を行った。

3) *A. phagocytophilum* P44蛋白質種の解析、P44組換え蛋白質の作製と血清診断への応用:THP-1感染*A. phagocytophilum*が発現している可能性の高いP44-47EとP44-60外膜蛋白質、およびHL60感染*A. phagocytophilum*で時折優位に発現することが報告されているP44-18ES蛋白をそれぞれのcell lineの代表とし、これらの組

換え蛋白質を昆虫由来無細胞系のインビトロ発現システムを利用して作製した。

3. ダニ媒介感染症研究の基盤となるバイオリソース情報の収集・ゲノム解析(林)

1) *R. japonica* (YH 株と MZ08014 株)、*R. heilonjiangensis* (Sendai-29 株)、LON-type (LON-90 株)のゲノム解析:初年度より解析をはじめ、順次 Roche 454 によるドラフト配列取得、PCR 産物の sequencing によるフィニッシング、イルミナ MiSeq による高精度化により全長配列を得た。YH 株は 1984 年に徳島で分離された本菌種の代表株、MZ08014 株は 2008 年に宮崎県で分離された死亡患者由来株である。Sendai-29 株と LON-90 株は藤田博己博士に分与を受けた。

2) 日本各地で分離された *R.japonica* 株のゲノム解析: 2 年次以降、国内の協力機関により、多数の *R. japonica* 分離株のゲノム DNA を準備いただき、全ゲノム解析を実施した。

3) オリエンチア分離株の解析:多様な本土分離菌株・台湾株・東南アジア株 (45 株) を比較対象とし、沖縄・池間島のオリエンチア分離株について Multi locus sequencing analysis (MLSA) を実施した。11 種類の house-keeping 遺伝子の Multi locus sequencing analysis (MLSA) を行った。

4. 臨床面からの課題検討

リケッチア症臨床データの蓄積、解析のため、次のアプローチを行った。

1) リケッチア感染症例の解析(岩崎): 学会、研究会等で発表された症例を中心に、ダニ媒介感染症の症例情報を集積、相互検討した。

2) 異なる血清型のつつが虫病例の比較;2 年次、福井県で近年経験された症例を解析

した。

3) リケッチア症における高サイトカイン血症(岩崎): リケッチア症重症化の背景に SIRS を誘導する過剰な高サイトカイン血症が推測される。つつが虫病、日本紅斑熱、SFTS の急性期、回復期を含む経時的な血中サイトカイン・ケモカイン濃度をマルチプレックスサスペンションアレイ、ELISA を用いて測定した。

4) テトラサイクリン系抗菌薬のサイトカイン産生制御とオートファジー制御に与える効果(岩崎):近年、病原体除去に宿主細胞のオートファジー関与の報告もある。Western blot 法で LC3-I と LC3-II をマーカーとし、テトラサイクリン系薬のオートファジー制御を評価、臨床的に有効な抗リケッチア化学療法について検討した。

5) 感染症診療コンサルテーションに占めるリケッチア感染症関連疾患の評価(岩崎):対象期間中に受けたコンサルテーションを解析し、リケッチア症に関連する質問について考察した。

6) マダニ刺し口紅斑の検討(高田): タカサゴキララマダニ (At)、シュルツェマダニ (Ip)、タイワンカクマダニ (Dt) から摘出した唾液腺抽出液を BALB/c マウスに皮下注射して感作誘導し、5 日後に左耳介に各抽出液を皮内注射して反応惹起、耳介の厚さ、注射前後の差(耳介腫脹)を炎症反応の指標とした。さらに、マウス頸部リンパ節を摘出、単細胞浮遊液として抗原刺激液添加で培養、³H-Thymidine により細胞増殖反応を測定した。

5. 地域特性を表わす情報集積のための調査実施・支援(高田・藤田ほか)

全国での調査ならびに支援を行った。また、共同研究者から持ち込まれる各地の同様な

材料についても検討, *O. tsutsugamushi* Shiokoshi 型の広がりを受け, より広い地域の保存サンプルについて再検討した。

6. 実験室診断系の開発, 改良, 評価

1) リケッチア症を主体としたダニ媒介性感染症における病原診断法の改良・開発(藤田ほか): 実験室診断法としての間接免疫ペルオキシダーゼ(IP)反応, 間接赤血球凝集(HA)反応, Weil-Felix(WF)反応について簡素化と迅速化の改良と開発を続け, 診断依頼症例での適用実績から総括的に評価した。

2) Dot-ELISA の検討(高田): 紅斑熱菌体から抽出した常温安定な多糖抗原を用いた Dot-ELISA について, 専門実験室と地域医療機関にも既知検査法との比較を依頼した。

3) コントロールプラスミドの作製(岸本ほか): *R. japonica* 検出 real-timePCR の標的遺伝子 ORF の増幅領域に, 遺伝子マーカー配列 33 塩基を挿入した oligo を合成, プラスミドに挿入, コントロールとしての増幅効率と定量性を検討した。また, コントロールプラスミドに挿入したマーカー配列を利用し, Duplex real-timePCR 法によってコントロールプラスミドと *R. japonica* 培養液から抽出した DNA が判別可能か検証した。

7. ダニ媒介感染症調査研究のための共通ツールの検討(安藤, 川端, 藤田, 高野)

1) RNA 由来 cDNA を鋳型とした病原体遺伝子の増幅検討: 両性系のフタトゲチマダニは, そのほとんどに非病原性と考えられる *R. sp.* LON-type を保有している。成虫をメス刃で 2 分割後, 一般的なキットを用い, DNA と RNA を抽出, RNA はさらに cDNA に逆転写した。マダニの house keeping 遺伝子と病原体特

異的遺伝子検出 PCR に供し, 遺伝子増幅の鋳型として比較した。

2) 日本産マダニ類のカラー同定アーカイブの作成: 未経験者にはハードルが高かった形態同定を目的に, 2 年次より, 可能な限り各種マダニのステージごとに標本となる個体を収集, 画像アーカイブ作成を行った。入手できた各種マダニ類の全体像, 形態同定ポイントとなる部分拡大の写真を記録, 保存した。

8. 診断・調査ネットワークの試行(岸本, 安藤ほか)

1) リケッチア症に対する地域特性を考慮した調査及び検査法の開発: 地方衛生研究所(以下, 衛研)が地域の課題について検討した。初年度は, 東京, 埼玉, 三重, 富山, 和歌山, 兵庫, 岡山, 広島, 沖縄, 2 年次は埼玉, 三重, 富山, 和歌山, 鹿児島, 最終年度は秋田, 埼玉, 三重, 和歌山, 宮崎, 鹿児島の各自治体の他多数の地域で実施された。

2) 地域ラボネットワーク構築に向けた活動: 初年度は, 北海道・東北・新潟, 中国四国, 九州の 3 ブロックで, 2 年次は, 北海道・東北・新潟, 九州の 2 ブロックで, 最終年度は, 北海道・東北・新潟, 近畿の 2 ブロックで, リケッチアとその他のマダニ媒介性感染症の調査, 検査に関する技術研修を行い, 技術継承を試みた。

3) リケッチア症検査体制に関する検査体制の現状の把握: 初年度と最終年度, 全衛研の検査体制情報を調査, 更新, 把握と施設同士の情報共有を図ることで各地域のラボネットワーク構築を進めた。

4) 地域発信情報の整理: 各自治体の相談窓口ならびに独自の広報活動に関して情報を収集した。

5) 全国地方衛生研究所における節足動物媒介感染症の実験室診断状況:近年多様で新規のダニ媒介感染症について注目が集まっていることから、各疾患の受け入れ態勢を調査した。

(倫理面への配慮)

必要に応じ、各研究者の所属する機関毎に適切に対応した。

C. 研究結果

1. ボレリア症の研究(川端・今内・高野)

1) 啓発活動と前向き調査:前向き調査では、道内のマダニ刺咬例の内、75%がライム病や新興回帰熱の病原体を伝播するシュルツェマダニに刺咬を受けていることが明らかとなった。また、病院受診者の一名が *B. miyamotoi* 保菌マダニ刺咬を受けていた。

2) 診断法の地方自治体への普及:リアルタイム PCR 用のプライマー、プローブ、Positive control を北海道・東北ブロックの衛研へ配布するとともに標準化作業を開始した。また流行地域の北海道立衛生研究所へは血清診断用の組換え抗原も供給した。

3) ハイリスク集団での遡及調査:ライム病患者とライム病疑い患者検体からの *B. miyamotoi* DNA 検出を試み、2例の症例を探知した。我が国でも欧米、ロシア同様、*B. miyamotoi* 感染による健康被害が潜在することを初めて示した。

4) 病原体検査法樹立と媒介マダニ調査:北海道内で採取された *Ixodes* 属ダニ3種の *B. miyamotoi* 保菌率は、*Ip*、*I. ovatus*、*I. pavlovskyi* 各々で、2%、0.1%、4.3%であった。また、*A. phagocytophilum* と重複感染が確

認された。さらに、本州で採取された *Ip* における *B. miyamotoi* の陽性率は、1.5%であり、モンゴルでは 4.5%であった。さらに、分離株を用いた遺伝学的系統解析の結果、北海道由来株とモンゴル由来株は全て同じ Sequence type であったにも係わらず、本州で分離された株は僅かに変異が認められた。

5) 類似病原体の探索:北海道内で新興回帰熱群ボレリアである *B. lonstari* 類縁種の存在を初めて明らかにした。道東生息のエゾシカにおける本ボレリアの血液検体陽性率は10.6%におよんだ。媒介節足動物は未確定であるが、チマダニ属により維持伝播されている可能性が考えられた。

6) 分離株の抗菌薬感受性:テトラサイクリン系、セフェム系、マクロライド系薬剤に対し良好な薬剤感受性を示した。他方、アモキシシリンに対する薬剤感受性はライム病ボレリアよりやや感受性が低い傾向が見られた。

7) *B. miyamotoi* の病態解明: *B. miyamotoi* を C57BL6 マウスに腹腔内接種をすることで、5日目~10日目に一過性の菌血症を引き起こし。さらに一過性の脾腫を認め、病理解析により組織中に菌体を確認したが、炎症像などは観察されなかった。また、*B. miyamotoi* 分離株のクロニングにより、C57BL6 マウスに対する病原性が低下する可能性が示唆された。

8) ダニ媒介性病原体の伝播機序の解明と制御法の開発を目指した *Ip* 由来因子の探索と機能試験:各マダニ因子の期の解析の結果は以下の通りである。①Salp15: *B. garinii*、*B. afzelii*、*B. burgdorferi* の OspC と結合した。また、組換え *Ip*-Salp15 は抗ボレリア菌抗血清による溶解作用に抵抗性を付与し、ボレリア

菌の伝播を促進した。②Salp16: 組換え Salp16 はウシ好中球の殺菌活性を有意に抑制した。③IPIS: セルピンに特徴的なドメインである s3a ドメイン、RCL ドメイン, serpin signature を持ちセルピファミリーに属すると考えられた。組換え Ipis はウシリンパ球の増殖を有意に抑制した。④TROSPA: *I.scapularis*-TROSPAとの相同性は 88.2% であった。発現解析の結果, TROSPA は中腸で発現し,吸血によって発現が亢進した。⑤sL2: *I.scapularis*-sL2 と高い相同性を示した。唾液腺で特異的に発現し吸血によって発現が亢進した。⑥Cystatin: 423 塩基で, 155 アミノ酸をコードしており吸血の際に宿主へ打ち込まれる暴露型抗原であった。⑦Ferritin2: IperFER2 の抗ダニワクチンの効果の検討を行った結果, IperFER2 免疫により有意な吸血量の減少と産卵量の減少が認められた。さらに IperFER2 は,異種のダニである *I.ovatus* に対しても抗ダニ効果が認められ,広いスペクトルを示す抗ダニワクチン抗原として期待された。

2. アナプラズマ症に関する研究(大橋)

1) *A. phagocytophilum* を含む関連細菌群の分子疫学的解析: 西日本地域を中心に合計 827 匹のマダニを採集, 25 匹から *A. phagocytophilum* の *p44* 遺伝子群 (3.0%)、2 匹から *Ehrlichia* 属菌の *p28* 遺伝子群 (0.2%)、181 匹から紅斑熱群リケッチアの *gltA* 遺伝子 (21.9%) が検出された。25 匹のマダニから検出された *A. phagocytophilum p44* 遺伝子群の解析の結果, 米国のヒト患者分離株の *p44* 遺伝子群と同一または類似するものであった。そのマダニ種は, タカサゴチマダニ, フタト

ゲチマダニ, オオトゲチマダニ, ヤマトマダニ, タカサゴキラマダニの 5 種である。

2) IFA 法による不明発熱性患者からの *A. phagocytophilum* に対する抗体検出: 静岡県で, 2010~2011 年, 日本紅斑熱, つつが虫病が否定された患者血清について, THP-1 と HL60 細胞で培養した *A. phagocytophilum* を抗原とした IFA を行ったところ, 4 名の血清から *A. phagocytophilum* に対する抗体が検出された。これら 4 例の患者では, THP-1 細胞培養の *A. phagocytophilum* を抗原として用いた方が *A. phagocytophilum* に対する抗体価が高いものが多く, 回復期血清での抗体価上昇も見られた。しかし, HL-60 細胞培養の *A. phagocytophilum* では, 1 名を除き, 良好な反応性を示さなかった。

3) *A. phagocytophilum* P44 蛋白質種の解析と P44 組換え蛋白質の血清診断への応用の検討: RT-PCR 法により, HL-60 細胞と THP-1 細胞に感染した *A. phagocytophilum* の発現している *p44* 遺伝子種を mRNA レベルで解析した。HL-60 細胞では様々な種類の *p44* mRNA を発現しているが, THP-1 細胞では主に 2 種類の *p44* mRNA (P44-47E と P44-60) が発現し, 培養細胞の種類によって, 異なる P44 蛋白質を菌体表面に発現している *A. phagocytophilum* が存在する可能性が高いことを突き止めた。そこで, THP-1 感染 *A. phagocytophilum* で発現している P44-47E と P44-60, および HL60 感染 *A. phagocytophilum* で時折優位に発現する P44-18ES について, 昆虫由来無細胞系インビトロ発現システムにより組換え蛋白質を作製し, 静岡県のアナプラズマ症が疑

われる4名の患者血清との反応性をみた結果、IFAでTHP-1感染*A. phagocytophilum*に反応した血清はP44-47EあるいはP44-60(THP-1で発現)に、IFAでHL60感染*A. phagocytophilum*と反応した血清はP44-18ES(HL60で発現)と結合した。このことから、この4名は明らかにアナプラズマ症であることが判明した。その後、この組換え蛋白質を用いて、不明熱患者血清からの抗体検出を進め、和歌山県(2012年)で1例、岡山県(2013年)で1例、長野県(2001年)で1例、鹿児島県(2014年)で1例の患者から*A. phagocytophilum*に対する抗体を検出することに成功した。組換え蛋白質を用いた抗体検出法は国内のアナプラズマ症の血清診断に極めて有効であった。

3. ダニ媒介感染症研究の基盤となるバイオリソース情報の収集・ゲノム解析(林)

1) *R. japonica* (YH株, MZ08014株), *R. heilongjiangensis* (Sendai-29株), LON株のゲノム解析: *R. japonica* YH株とMZ08014株の環状染色体は、1,284,030 bpと1,284,046 bp、いずれもプラスミドは保有しない。蛋白質コード遺伝子は、それぞれ1285と1284個、tRNA遺伝子はいずれも33個、rRNA遺伝子も両株ともに1セット同定された。詳細なゲノム比較から、2株間の違いは、5 SNPsと3 small InDelのみであった。一方、*R. heilongjiangensis* Sendai-29株の環状染色体は1,279,159 bp、プラスミドは存在しない。中国株(054株)との間には78 SNPsと10 small InDelが検出された。LON-90株についても全ゲノム配列が確定し、その環状染色体1,325,627 bp、やはりプラスミドが存

在しないことが明らかになった(アノテーションは未完了)。これら3菌種と他の既にゲノムが決定されている16種のリケッチア属細菌との比較ゲノム解析から、紅斑熱群リケッチアは1.3 MB前後の極めて類似したゲノムサイズをもつこと、average nucleotide identityは95%以上であり、一般的には同一菌種のレベルであることが判明した。また、数十の*R. japonica*特異的配列を同定した。

2) 日本各地で分離された*R. japonica*株のゲノム解析:12株のゲノム配列を取得、YH株とMZ08014株との比較を行った結果、1株のダニ由来株以外の菌株間では、いずれも数個のSNPとInDelのみの違いしか存在しなかった。現在、24株のゲノム解析を進めている途中である。また、*R. japonica*との比較という観点から、LONに関しても、10株のゲノム解析を進めている。

3) オリエンチア分離株の解析:以前に収集済みの本土株・台湾株を新たに培養し、順次DNAを調整してMLS解析を進めた。一部は現在配列取得中であるが、最終的には、45株のデータが揃う予定である。最終的な解析は、全てのデータが揃った段階で実施することになるが、これまでのデータから、MLS解析から、池間島分離株は3つの亜系統に分類でき、それぞれ異なる56kDa TSA遺伝子タイプを有すること、しかし、いずれも台湾あるいはタイ分離株に近縁で、本土株とは明らかに異なっていた。

4. 臨床面からの課題検討

1) リケッチア感染症例の解析:全国各地よりつつが虫病、日本紅斑熱の症例が報告された。日本紅斑熱では毎年死亡例の報告があり、つつが虫病でも少ないながら死亡例の

報告がなされた。重症化する要因としては、診断までの時間の遅れが重要であった。地域によっては、リケッチア症を疑った医師が行政検査に至るまでに苦勞している現状も報告された。

2) 異なる血清型のつつが虫病症例比較: 福井県ではこの3年間に4種のつつが虫病血清型の感染例が経験された。Shimokoshi型は西日本では初めての症例で、重症化例でもあった。標準3型に加え、Kawasaki, Kuroki, Shimokoshi型を加えた6型をスクリーニングする重要性が認識された。

3) 重症化におけるサイトカイン・ケモカインの検討: つつが虫病(和歌山県32例)、日本紅斑熱(島根県21例)およびSFTS(徳島県6例)について、急性期および回復期のサイトカイン・ケモカインの血中濃度を比較検討した。TNF- α では急性期に、有意に日本紅斑熱がつつが虫病より高値を示し、SFTSでその中間的な値を示した。IFN- γ , MCP-1, IL-8, IP-10, MIP-1 α およびMIP-1 β でも同様の傾向を示した。

4) テトラサイクリン系抗菌薬のサイトカイン産生制御およびオートファジー制御に与える効果: LPS刺激による実験系にてMINOまたはDOXYに比較しtigecycline(TIGE)において1時間後にTNF- α 産生の抑制が認められた。MINO(10~50 μ /ml)添加では6時間後にLC3-IIの顕著な増強を認め、オートファジーが誘導されることが示された。

5) 感染症診療コンサルテーションに占めるリケッチア感染症関連疾患の評価: この3年間でコンサルテーション数は増加した。2014年1年間、1,055件のコンサルテーションを受け、内訳はリケッチアとリケッチ

ア症関連の問い合わせは163件(15.5%)を占めた。

6) マダニ刺し口紅斑の検討(高田): 検討したいずれのマダニ唾液腺物質によってマウスに遅延型アレルギー反応を誘導することができ、唾液腺物質に対する感作が成立したマウスでは、皮膚所属リンパ節細胞が特異抗原刺激によって増殖反応を示した。AtとDtの唾液腺物質には高い免疫学的交差反応性が認められたが、Ipとは交差性が低かった。

5. 地域特性を表わす情報集積のための調査実施・支援(高田, 藤田ほか研究分担・協力者): 地域ごとのベクターや動物との関わりの感染環について調査を実施・支援した。

① Shimokoshi型 *O. tsutsugamushi* 感染は、福井県の多発地の住民と野鼠類の抗体検査から、確認された症例に倍の潜在が示唆された。その分布は少なくとも近畿北半まで広がることを示唆された。② 宮古島の東南アジア系つつが虫病は続発、重症化も目立つことから対策が続けられている。③ 日本紅斑熱関連では、四国地方、兵庫県淡路島、長崎県五島列島および沖縄県沖縄本島の患者発生地を含む一帯でのマダニ調査から、マダニ相の実態は把握できたが、五島列島と沖縄本島では媒介種の特定には至っていない。また、日本紅斑熱の発生は従来の認識以上に日本海側に潜在することを示した。④ 極東紅斑熱媒介種に係るマダニ調査では、北海道東部一帯から青森県、岩手県、宮城県の主に太平洋沿岸地域の市街地内の草むらやそれに隣接する河川敷などの照度の高い環境に生息していた。分布の南限を確認するために福島県以南での調査も続けているが、南部地域ではまだ確認されていない。また、広い分布

域にもかかわらず、病原体保有個体は宮城県仙台市の一定の生息範囲に限定されていた。病原体陽性個体と同時に採集された別種マダニからはいまだ同病原体は検出されていない。⑤かつて夏季四国型つつが虫病の一つ馬宿病の発生記録のあった香川県東かがわ市で媒介種(トサツツガムシ)の生息を再確認した。高知県の吉野川上流域にはタテツツガムシ媒介性恙虫病と当該媒介種が知られていたが、2013年に下流部にあたる徳島県でタテツツガムシを初確認した。⑥鹿児島県トカラ列島の悪石島では、2012年の調査で媒介種タテツツガムシの生息が初確認された。

その他、全国でベクターと動物調査を実施・支援、それぞれ興味深い知見を得た。

6. 実験室診断系の開発, 改良, 評価

1) リケッチア症を主体としたダニ媒介性感染症における病原診断法の改良・開発(藤田): 各リケッチア症の症例について今回の IP, HA, WF の各反応の成績を概観すると、IP においては、抗原スライドは、基本的に恙虫病リケッチア標準 6 血清型、紅斑熱群 1 および発疹熱 1 の計 8 抗原を 1 well にスポットした。鑑別等の必要に応じて 9 つ目の抗原、例えば SFTS ウイルス抗原などを追加した。1 次と 2 次反応は各 30 分、反応後の洗浄時間は各 1~2 分を 2 回反復に短縮、発色反応系は原液の調製が瞬時に可能な 4-chloro-1-naphthol を基質に用い、発色液調製を洗浄と同じ PBS に統一して簡素化した。80%エタノールに溶解(瞬時に溶ける)させた発色原液は 4℃に一時保存し、使用時には原液、PBS、局法オキシドールを規定濃度に順次混和して使用したが、他の基質、例えば DAB のように専用の PBS や使用前のろ

過は不要である。反応の全行程は 1 時間 30 分ほど、光学顕微鏡観察での判定時間を含めても 2 時間以内に終了できた。日本紅斑熱の HA 反応は、IP 反応に比べて抗体の検出感度が高い傾向で、とくに HA 反応高感度法では顕著であった。HA 反応は最初のセット以後は、判定までは静置が基本なため、かなり容易に実施できた。判定時間も 30 分ではほぼ可能であった。紅斑熱と発疹熱の交差反応性の頻度は、IP 反応よりもかなり少なかった。WF 反応の迅速スライド凝集法については、文字どおりに 3 分以内での判定が最大の利点で、十分な日数が確保されたペア血清では抗体の陽転例も一定の頻度で観察された。紅斑熱症例では OX2 か OX19 のいずれかに反応して OX19 陽性症例では発疹熱との鑑別はできないが、発疹熱では OX2 の陽性例は見られなかった。また、恙虫病での陽性頻度は紅斑熱に比べて低いながらも陽性例はすべて OXK にのみ反応した。恙虫病 6 血清型、紅斑熱、発疹熱の同時対応においては、鑑別と同時に迅速な診断が可能ながら、紅斑熱と発疹熱に同時に陽性反応が見られた症例についての鑑別は IP 反応では限界もあることが分かってきた。

2) Dot-ELISA の検討(高田): ペア血清を用いた IgG 測定なら有用と分かった。

3) コントロールプラスミドの作製と検討(岸本ほか): 陽性コントロールプラスミドを用いた Duplex real-timePCR 法は、*R.japonica* 遺伝子の定量が可能となるだけでなく、検体への陽性コントロールの混入を検査と同時に確認できた。現場適用を試行した。

7. ダニ媒介感染症調査研究のための共通ツールの検討(安藤, 川端, 藤田, 高野)

1) 日本産マダニ類のカラー同定アーカイブの作成: およそ 10 種について成虫(雌雄), 若虫, 幼虫の全ての画像を記録できた。他にも一部ステージの個体が得られなかったものの, 相当数の画像アーカイブが作成できた。

2) 直接抽出 DNA と RNA 由来 cDNA を鋳型としたリケッチア遺伝子の増幅比較: 抽出確認のための house keeping 遺伝子は, いずれの抽出鋳型作製においてもほぼ同様の結果を得たが, リケッチア特異的遺伝子 17k Da の増幅は, RNA 由来 cDNA を鋳型とした遺伝子増幅では検出できない検体が複数あった。

8. 診断・調査ネットワークの試行(岸本, 安藤ほか):

1) リケッチア症に対する地域特性を考慮した調査及び検査法の開発: 研究協力者が所属する衛研の各地域で課題とした疫学調査等を行った。このことから新たな知見や患者発生要因を示す地域の予防対策に資することができる貴重なデータが得られた。

2) リケッチア症検査体制に関する検査体制の現状の把握: 平成 24 年度に比較し 26 年度は, つつが虫病において新型を抗原として追加した施設が 2 施設, 標準型追加施設が 1 施設。遺伝子診断は, 40 施設(50.6%)で実施され, 前回調査より 4 施設増えた。日本紅斑熱は遺伝子診断を実施施設が 38 施設から 42 施設になった。

3) 全国地方衛生研究所における節足動物媒介感染症の実験室診断状況(最終年度): SFTS 検査依頼時, 条件なしに常に他のリケッチア等のダニ関連感染症の検査を実施する施設は, 調査した 79 施設中 4 か所(5%)にとどまり, 実施しないとされた施設は 34 施設

(43%)であった。その他の施設は患者情報に基づいて判断, 依頼により他の検査も実施していた。調査対象期間, SFTS 検査(635 症例)と同時にリケッチア他の検査も実施した 41 施設において, 25 例のリケッチア症(日本紅斑熱, つつが虫病等)のほか, ライム病やデング熱の症例も確認されていた。同期間 NESID 登録の SFTS103 例を参考値とすると, ダニ関連で SFTS が疑われた 635 症例のうち, 約 8 割の症例が原因不明となっている。

4) 地域発信情報の収集と整理: 相談窓口は保健所が最も多く(31 自治体), 次に保健所と地方衛生研究所の両方(20 自治体), 地方衛生研究所(14 自治体), ついで本庁担当課などとなった。自治体独自のホームページは 48 自治体にあった。

D. 考察

ダニ媒介性細菌感染症については, いまだ解明に至っていない部分が多い。本研究班を中心とした関連病原体の調査研究から, 新規リケッチア症に加え, 新興回帰熱やアナプラズマ症に関する国内の状況が明らかになってきた。

ボレリア症では, 本研究により, 感染例が潜在すると予想された北海道で, 新興回帰熱の国内感染例が存在し, かつ媒介ベクターによる刺咬例が多いことが明らかになった。我が国における新興回帰熱感染はロシアで報告された, *I. persulcatus* に加え, *I. pavlovskyi* が媒介していると考えられる。北海道でのマダニ保菌率は, 欧米, ロシアでのマダニ保菌率と同程度であることから, その感染リスクは国内外で差異はないと考えられる。また, 最終年度, 新興回帰熱 *B. miyamotoi*

が北海道のみならず、本州やモンゴルでも分布していることがその系統的特徴とともに明らかになったことから、より広範に本ボレリアによる疾患に注意を促すことが必要であろう。分布拡大には渡り鳥などによる大陸間での往来が考えられるため、今後検証を行なう必要がある。さらに、米国の南部ダニ紅斑病 (Southern tick associated rash illness: STARI) の推定病原体とされた *B. lonstari* やアフリカのウシボレリア症起因菌 *B. thaileri* に近縁の未知のボレリアをエゾジカが保有していることが確認された。ヒトの健康被害に結びつくか否か現時点で不明だが、近年のジビエブームもあり、他感染症対策同様、シカ肉加工時の作業者の安全確保など推奨されるべきと思われる。

B. miyamotoi の病態解析では、近交系マウスにおいて一過性の感染にとどまる可能性が示唆された。接種後 5 日目より抗体の産生が確認されたことから、抗体価の上昇に伴って早期に排除されている可能性が示唆された。今後 passive immunization 等によりその現象解明を行うことで予防ワクチン開発や抗体療法などの開発が期待できる。今後は、マウスに対する病原性を規定する責任遺伝子を同定し、その病原メカニズム解明を行う必要がある。さらに、ダニ由来因子がマダニの吸血や病原体伝播に重要な役割を担っていることが確認され、特に免疫抑制因子は宿主免疫で重要なリンパ球や好中球の機能を阻害しダニが固着した部位を中心とした局所免疫応答を抑制することで、ダニの吸血の開始や維持に大きく寄与している可能性が示唆された。近年、北米に分布する *I. scapularis* において、ダニの吸血局所における免疫応答を抑制することで病原

体伝播を助長する因子が同定され、同因子を抑制すると病原体伝播率が抑えられることも報告されている。今回得られたシュルツェマダニ由来の免疫抑制因子の機能をはじめとしたダニの吸血戦略をさらに解明することで、病原体伝播を効率よく阻害できるような抗ダニワクチンの開発を進めたい。

アナプラズマ症では、先行調査を含めた野外調査で、アナプラズマ症を引き起こす可能性のある *A. phagocytophilum* をタカサゴチマダニ、フタトゲチマダニ、オオトゲチマダニ、ヤマトマダニ、タカサゴキラマダニ、シュルツェマダニが保有することが判明した。媒介マダニ種が徐々に判明してきた一方、野生哺乳動物に関しては知見が極めて乏しい。これは、野生哺乳動物内では、ヒトに感染性を示す *A. phagocytophilum* が非常に微量で、検出が極めて困難であることが推察される。今後は、次世代シーケンス解析などを駆使して野生保菌動物の探索に努めたい。

我が国のアナプラズマ症患者の血清診断においては、抗原として利用できる国内の分離株が存在しないため、IFA による血清診断が困難であった。菌体表面に発現している抗原性状の違いが明らかになったことから、さらに新規の患者の確認につながっている。作製した 3 種の組換え P44 蛋白質 (rP44-18ES、rP44-47E、rP44-60) は、特に昆虫系の発現系システムを用いたことにより、免疫反応の非特異反応が非常に抑えられたことが感度・精度ともに良好だったものと考えられる。しかし、課題もある。*in vitro* 大量発現が可能なキットを用いているが、大量発現には高コストである。またこの組換え蛋白質には Strep-tag を組み込んで蛋白質

精製が可能なデザインとしてあるが、これまで幾度となく工夫しても、いまだに組換え蛋白質精製に成功していない。Strep-tagの結合が弱いことやP44蛋白質が疎水性蛋白質であることなどが原因とあげられる。過去の経験から、Ureaで可溶化した組換え蛋白質はHis-tagを用いることができることが判っている。しかし、His-tagはヒトの血清と非特異反応を引き起こす場合があるため、His-tagの使用は避けたい。これらの3種のrP44蛋白質において、国内患者の抗体検出に適切なエピトープをより詳細に決定することができれば、合成ペプチドを抗原としたより効率の良い血清診断法の開発が可能となり、実用化が一段と加速、患者対応に有効な知見が広がることが期待できる。

リケッチア症では、地域毎の特性に関する知見が蓄積する一方、Shimokoshi型つつが虫病のように、限定的と考えられていたものがより広い地域に存在する可能性が示された。極東紅斑熱関連では、主要媒介種のイスカチマダニは北日本の主に太平洋沿岸地域一帯に分布しつつも、病原体保有個体は宮城県仙台市に限定されるという特徴を示していた。同じ生息地の別種のマダニからは同病原体が検出されないことから、イスカチマダニと病原体の間の強い特異関係が示唆された。日本紅斑熱発生地を含む西日本と南西諸島のマダニ調査では、マダニ相の地域差もあって、媒介種の特定が難しい地域も多かったが、日本海側にも広がりを見せつつある。西日本で散発する夏季のつつが虫病との関連で、かつて夏季に発生記録のあった四国型つつが虫病(高知県のホッパン、香川県の馬宿病など)の発生地域の調査によって、媒介種トサツガムシが香川県の馬宿地区に生息が確認

され、感染リスクが今でも存在していることが窺われる。鹿児島県トカラ列島悪石島では患者発生以後では初のタテツツガムシ生息が確認され、ここでも依然、感染リスクが維持されているものと推測された。

さらにリケッチア症では、検査法やツールの改良・開発・導入、その基盤となる病原体の性状解析やゲノム情報解析がさらに進んだ。バイオリソースの基本情報となるゲノム解析から、*R. japonica* 集団の驚くべき遺伝的均一性は、追加解析中の *R. japonica* 株の解析による最終確認が必要であるが、学問的に重要な発見である。そのメカニズムは、世代交代時間の長さ、ダニの休眠期間の存在に加え、現在各地に分布している *R. japonica* がごく最近各地の拡がった可能性も考えられる。この点は、LON に関しても、*R. japonica* との同様なゲノム比較解析とゲノムレベルの高精度系統解析を行い、同じような集団の均一性が存在するのかが否かを確認することが重要である。また、数十の *R. japonica* 特異的配列は同定されているが、*R. japonica* の迅速検出のための遺伝子検査法の開発のためには、*R. heilongjiangensis* と *Rickettsia* sp. LON-type のアノテーションを終了し、より詳細な菌種間比較解析が必要である。オリエンチアに関しては、池間島分離株が、台湾やタイ分離株に近縁であることは、池間島でのベクター種が台湾や東南アジアでのベクター種と同じ *L. deliense* であることに関連する可能性が強く、その侵入には、同島と台湾・東南アジア間での交易の歴史が関係していると推測される。

2014年は臨床現場でリケッチア症を診断する際の背景が大きく変化した。リケッチア症

を疑った場合、SFTS やデング熱の可能性も考慮し、鑑別を行うことが求められる時代となった。広く節足動物媒介性感染症として一連の疾患を考える必要が生じてきたと考えられる。つつが虫病と日本紅斑熱は現在我が国では最も患者数の多いリケッチア症であるが、いずれも確定診断ができない限り報告することができない。しかし、つつが虫病では商業検査機関の検査では標準 3 型しか確認できない。近年は Shimokoshi 型が広く本州に分布することが指摘され、Kawasaki と Kuroki 型を加えた 6 型のスクリーニングが求められる。さらに日本紅斑熱では、商業検査機関での検査体制が現在できていないため、報告例が無いが、少ない都道府県では、適切に診断できず埋没してしまう症例も多い。既存の血清診断法も簡素化等でスクリーニング体制が広がり、研究機関だけではなく多くの医療現場で汎用されることが期待される。この領域の感染症に多くの医師が興味を示し始め、さらには国民も深い関心を寄せている。ダニ媒介感染症のように、商業機関では対応できず、地域によって発生状況が大きく異なる感染症は検査機関に限られるが、自治体を超えての検査依頼、現行法では困難である。今後も発生するであろう新興感染症に迅速・適切に対応するために、自治体を超えた検査相談や依頼が可能となるような抜本的対策が望まれる。自治体に大きな格差があるため、共同できる地域ネットワークの構築が必要と考えられ、各自治体の検査体制、サポート体制を把握し、地域内・間、そして全国レベルでの協力ネットワーク体制構築の在り方を検討している。その地道な継続とレファレンス体制やコンサルテーション体制の充実、将来的な総合対策に繋がると考えられる。

ダニ媒介性感染症について考える際、ダニという感染媒介形態全体を考えての対応が必要であり、病原体のみならず、ベクターとなるマダニの生態、地域性、季節性、ホットスポット等、患者対応と同時に、その防除対策のための科学的対応が求められ、ダニ媒介感染症対策の効果的、総合的なあり方を検討する必要がある。近年の多くの知見が報告され、一見、対策が強化されたかのように見える。しかしながら、リケッチアにおいてさえ、その多様性は増しているが、この分野の国内の診断・調査体制は脆弱である。ダニ関連で SFTS が疑われた症例のうち、約 8 割の症例が原因不明となっており、同時に検討すべき日本紅斑熱なども検討されている症例は限られている。特定の疾患にとらわれすぎず、適切な判断が臨床現場、検査室相互の連携によって実施される必要性が示されたが、その対応が可能な現場の人員が不足している状況は変わらず、今後、重症化や死亡例のような不幸な転機となる症例の増加がやはり危惧される。

感染症の研究基盤となるゲノム情報の蓄積の他、病態動物モデル、マダニ因子による病原体の伝播機序やワクチンによる制御法などの基礎的研究においても本研究班により着実に進みつつある。それらも踏まえながら、国内のリケッチア症をはじめとしたダニ媒介性感染症、新興回帰熱やアナプラズマ症の実態も明らかにされ、本研究班の成果がより広範な疾患群としての対策につながることを期待できる。

E. 結論

本研究班により、新興回帰熱、アナプラズ

マ症の国内発生が明らかにされるとともに、両疾患においても、リケッチア症と同様に多様性が示された。より広く、より多くの患者が潜在していることが危惧される。また、ゲノム情報やマダニの感染制御因子など基礎的な成果、リケッチア症をはじめとする既知の感染症の新たな情報を加え、ダニ媒介感染症の総合的解析につながる多くの知見が蓄積された。

リケッチア症に罹患して死亡する患者がいまだに報告されている。適切な時期に適切な診断がなされ、適切な治療が施行されれば救命可能な感染症であるため、診断のためのアクセスを整え、治療の標準化を行うことが急務である。一部の地域で達成されているレファレンス体制は徐々に全国に拡大されつつあるが、さらなる進展が望まれる。

ボレリア症においては、本研究や海外の調査報告から、これまで不明疾患もしくはライム病と誤診されている新興回帰熱症例が多数潜在している可能性が考えられた。ライム病や新興回帰熱病原体に薬剤耐性の報告は無く、適切な抗菌薬投与で治療可能な疾患であることから、ダニ媒介性感染症に対する検査体制の充実を計ることで、ヒト健康被害を低減できると考えらる。

また、日本国内にもアナプラズマ症が存在することが明らかとなり、媒介マダニ種は少なくとも6種類存在することが明らかとなった。アナプラズマ症のIFA法による血清診断には、THP-1とHL60感染細胞の両方を抗原として用いることが推奨され、さらに3種類の組換え蛋白質を抗原として用いた方法が有効であることが明らかとなった。

ダニ因子の解析から得られた知見は、複

数の病原体伝播を同時に阻害する効率の良い抗ダニワクチンの開発への貢献が期待される。

ダニ媒介性感染症への対応には、病原体、ベクター、患者、自然宿主など多様な視点でのアプローチが必要となる。また、国内でのダニ媒介感染症の多様化により、より総合的な対応が必要である。リケッチア症の診断に至るまでSFTSやデング熱等の鑑別を必要とする現状、SFTS疑いの患者の約80%が原因不明であることも踏まえ、不幸な転帰に陥る患者が増加する可能性がある。特定の病原体に固執せず、国民に対しダニ媒介感染症の存在を周知し、偏りのない正しい情報をもって注意を喚起することが重要である。国民に本班研究の結果を広く広報することは重要と考える。多様な人材の協力によって総合的な対応を進め、基礎的な研究と同時に、感染症の発生形態の多様性を俯瞰して柔軟に対応できる、診断・治療・予防対策を科学的に支える人材の育成のためにも、ダニ媒介性感染症に関する研究活動を活発に継続する必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

平成24(2012)年度

<書籍>

安藤秀二:リケッチア, 平松啓一監修, 中込治, 神谷茂編集, 標準微生物学, 第11版, 医学書院(東京), pp317-325, 2012年4月

岩崎博道, 高田伸弘. リケッチア症を診断する. 臨床感染症ブックレット. 前崎繁文, 大曲貴夫ら編, 文光堂(東京), pp73-76, 2012年3月

岩崎博道, 馬原文彦. リケッチア症を疑った場