

つつが虫病起因リケッチアの分子疫学的解析について（第2報）

門馬直太 塚田敬子 北川和寛 五十嵐郁美 柳沼幸¹⁾
結城智子¹⁾ 二本松久子 風間秀元¹⁾ 金成篤子 平澤恭子²⁾ 佐藤弘子
微生物課¹⁾ 総務企画課²⁾ 福島県立総合衛生学院

要 旨

福島県は毎年多くのつつが虫病患者が報告される全国有数の発生県である。2010年度から本県におけるつつが虫病の実態把握を目的として、つつが虫病起因リケッチア *Orientia tsutsugamushi* の分子疫学的解析に関する調査研究事業を実施している。2011年度は県内における本病ベクターの探索を行い、県南地方の広い地域でタテツツガムシの生息を確認するとともに、昨年度構築した痂皮検体からの遺伝子検査を実施し、18検体から *Orientia tsutsugamushi* 遺伝子の増幅産物を確認した。

キーワード：つつが虫病, *Orientia tsutsugamushi*, 遺伝子検査

はじめに

つつが虫病は *Orientia tsutsugamushi* (以下“Ot”とする) を起因菌とするリケッチア症であり、ダニの一種ツツガムシによって媒介される。感染後5～14日の潜伏期間の後、頭痛、発熱、全身倦怠等を伴って急激に発症し、皮膚には発疹及び特徴的な刺し口が認められる。当所では2010年度より3年間の調査研究事業「つつが虫病的分子疫学的調査」を行っている。本報では2011年度に行った遺伝子検査の結果に加え、主に県南地方を中心に行ったタテツツガムシの生息調査結果について報告する。

材料及び方法

1 患者発生状況

2006年から2011年に県内定点医療機関から届出のあったつつが虫病患者数を集計した。

2 タテツツガムシ生息調査

黒布見取り法¹⁾によりタテツツガムシ(幼虫)を捕獲し、実体顕微鏡で確認した。

3 つつが虫病患者皮膚病変組織(痂皮)

県内協力医療機関(6施設)で、つつが虫病と診断された患者のうち、本調査研究に協力の意志を示し、同意書に署名いただいた18名から採取した痂皮を用いた。

4 痂皮からの核酸抽出

1mm×1mmの患者痂皮断片に200μLのPBSを加え、ビーズ式細胞破碎装置MS-100R(トミー精工製)で5,000rpm,3分処理し,QIAamp Viral RNA Mini Kitにより核酸を抽出した。

5 遺伝子検査

Nested PCRによりOtの56-kDa外膜タンパク質の遺伝子を検出し²⁾、塩基配列を解析した。

6 倫理面への配慮

本調査研究は福島県衛生研究所倫理規定(人を対象とする研究)に基づき、福島県衛生研究所倫理委員会の承認のもと実施した。

結 果

1 つつが虫病患者発生状況

本県は日本有数のつつが虫病発生地域であり、毎年50人前後の患者が報告されるが、2011年は37名と過去6年間で最も少ない報告数であった(図1)。本県のつつが虫病発生状況は春と秋の二峰性を示し、春は県内各地域で患者が報告されるのに対し、秋は主に県南地方で患者が報告される。2011年は例年に比べ9～12月の患者報告数が顕著に減少していた。

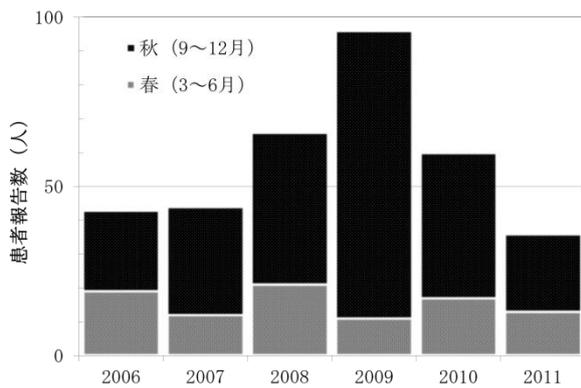


図1 つつが虫病患者報告数 (年次別)

2 タテツツガムシ生息調査

県中・県南地方において地表面や枯草に付着しているツツガムシを捕獲する黒布見取り法を用いて探索した結果、広い地域でタテツツガムシの生息が確認された (図2)。

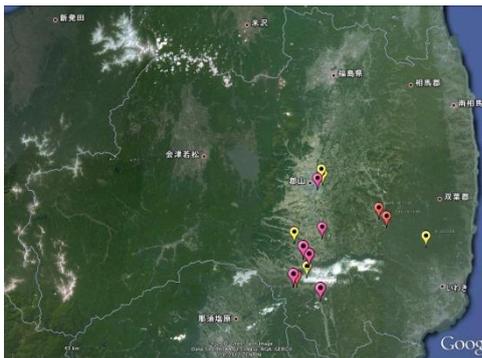


図2 タテツツガムシ生息確認地 (H23)

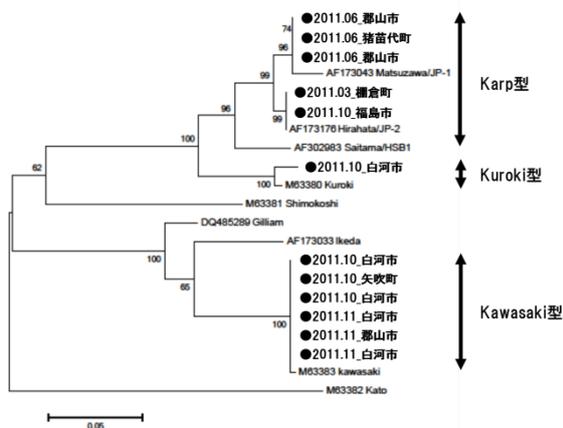


図3 Otの系統樹解析(56kDa 外膜タンパク質)

3 痂皮の遺伝子検査及び系統樹解析

県内医療機関から搬入された痂皮 18 検体について遺伝子検査を行った結果、全ての検体から Ot 遺伝子が検出された。そのうち 12 検体について Ot 遺伝子の塩基配列を解析し、系統樹を作成した結果、Karp, Kawasaki, Kuroki の血清型に分類された (図3)。

考察

2011 年のつつが虫病患者報告数は 37 名と例年に比べ少なく、特に秋の患者が顕著に減少していた。フィールド調査ではタテツツガムシの生息が広い地域で確認されており、患者数の減少はベクターではなく、その他の人的な要因が関係したものと考えられる。また、今回のフィールド調査は患者の推定感染地周辺で行っており、ほとんどの地点でタテツツガムシの生息が確認されたことから、今後は採取したツツガムシの Ot 保有率について調査する必要がある。

2011 年 10 月に白河市で感染したと思われる患者痂皮検体から Kuroki 型の Ot 遺伝子が検出された。一般的に Kuroki 型の患者の血清抗体は Karp 型の抗原とも交叉反応するため、商業的検査施設で行われる 3 種の抗原を用いた血清抗体価測定では Karp 型と混同され、場合によっては抗体価が低く、陰性と判断されることも考えられる。Ot の型別を正確に行うことで地域に生息するベクターが推測でき、季節に応じた注意喚起が可能になるため、今後も積極的に遺伝子検査を行う必要があると考える。

謝辞

本調査を行うにあたり、検体の採取にご協力いただきました県民の皆様、患者の感染推定地に関する情報を提供いただいた県南保健福祉事務所に深く感謝いたします。

引用文献

- 1) 高田伸弘, 藤田博己, 岩崎博道, 矢野泰弘, 大竹秀男, 溝口二郎: 河川敷環境のツツガムシ病「予防の手引き」策定の試み. 大原総合病院年報 1999; 42: 11-25.

- 2) リケッチア感染症診断マニュアル：国立感染症研究所・地方衛生研究所全国協議会編