

SADI ニュース

2013 年 12 月 1 日 SADI 組織委員会

第 21 回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナーの議事録
Proceedings of 21th Seminar on Acari-Diseases Interface 2013 in Periglacial Wakkanai
SADI ホームページ [<http://sadi.workarea.jp/>]

第 21 回集会（周氷河大会）は以下のとおり開催された。

1. 開催要領

ホスト：SADI 組織委員会（支援：今内 覚<北海道大学>，伊東拓也<北海道立衛生研究所>，
協賛：稚内市，同教育委員会）

期 日：2013 年 6 月 21 日（金）～6 月 23 日（日）

会 場：稚内市少年自然の家（稚内市富士見 4 丁目 Tel0162-28-1632）

会場は本館多目的プレールーム；貸切の別館は宿泊のほか食堂で情報交換会

交 通 参加者自身による手配。稚内空港の送迎は発着便をみてホスト側が手配。

宿 泊 会場周辺の利尻岳を望む民宿（主催側が紹介済み）および市内。

登 録 当日会場前にて（参加費 1,000 円（学生無料）、疫学ツアー代（昼食付 2,500 円）、
情報交換会費 3,500 円）、当日参加も可。

発 表 話題は全てワークショップまたは研究ナイトバザールとしてまとめられ、発表の形
式は問わないが、口演なら ppt スライド映写とする（スライドファイルは会場の映
写係に時間の余裕をもって USB を渡す）。発表は骨子だけを 7 分間、討論を 8 分間、
ただし特別ワークショップでは時間延長あり。

2. プログラム

1 日目 6 月 21 日（金）

18:00 開会，オリエンテーション（高田）

18:10 研究ナイトバザール

「フィールドは北にも南にも」 今内 覚座長

伊東拓也：北海道のマダニ相についての現状と課題

鶴岡美幸：ベトナムで 2011-12 年にかけて数百例の報告がされた先天性風疹症候群
のサーベイランスについて

「恙虫病，その問題は尽きず」 山本正悟座長

佐藤寛子：IP 法に使用する Ot 抗原の最適化に向けた検討，確実な診断へ向けて

門馬直太：タテツツガムシの遺伝的多形性，福島～トカラ～済州島

山本正悟：九州の恙虫病型を考える，野鼠保有 Ot 抗体から

「ダニの皮膚科，その問題は尽きず」 馬場俊一座長

馬場俊一：ヒゼンダニのウンチ，皮膚科医に美味しい？ところ

和田康夫：スキャナーによる疥癬の診断

- ・資料配布「マダニ刺し考」

20:30 終了後、別館大広間にて有志による座談会

2日目 6月22日(土)

- 7:30 疫学ツアー(会場～サロベツ原野～宗谷丘陵(周氷河地形/採集)～会場)
12:00 会場別館にてバイキング昼食(ツアー代に含む), 休憩
13:00 歓迎講演
「駆け足で巡る利尻の自然」 佐藤雅彦(利尻町立博物館) 伊東拓也座長
13:30 ワークショップ「紅斑熱, その多様化と対策」 馬原文彦座長
坂部茂俊: 日本紅斑熱におけるPCTの非有効性, 効果がなかった抗生剤の一覧
國米崇秀: 初診時における日本紅斑熱の3徴候と検査異常の検討
川上万里: 当院にてリケッチア症との鑑別を要した疾患
和田正文: 日本紅斑熱流行地としての当院の役割
14:30 休憩
14:45 特別ワークショップ「SFTS元年を迎えて」 岩崎博道座長
吉満 誠(鹿児島大学血液膠原病内科): 発症時に確定診断を得たSFTSウイルス感
染症例の経過と剖検所見について
追加発言: SFTSを経験して(御供田睦代: 鹿児島県環境保健センター)
調 恒明(山口県環境保健センター): 山口県におけるSFTSについて(及び研究班
の紹介)
馬原文彦: SFTS患者への早期アプローチ
高田伸弘: SFTSとマダニ相の関係を一考, 南西日本から済州島まで
16:00 休憩
16:10 ワークショップ「マダニ刺症, その対応を探る」 夏秋 優座長
矢野泰弘: マダニの刺し様
安西三郎: マダニをむしるということ
和田康夫: マダニの取り方
夏秋 優: マダニ刺症とTARI
17:00 イブニング・フリーディスカッション後に, 別館食堂へ移り情報交換会

3日目 6月23日(日)

- 8:00 ワークショップ「病原性ダニ類の生理活性」 杉本千尋座長
今内 覚: シュルツェマダニ(*Ixodes persulcatus*)由来因子の宿主免疫抑制機能の解析
磯貝恵美子: マダニデフェンシンの生物活性と構造-共生決定のための篩い分け機構
磯貝 浩(代行: 磯貝恵美子): 哺乳類細胞へのマダニデフェンシンの作用
三好就英: 野生動物モニタリングシステム-マダニデフェンシン及びライム病ボレリ
アに対する抗体応答
8:50 休憩
9:00 ワークショップ「マダニ媒介感染症研究の手練手管」 岸本壽男座長
杉本千尋: マダニ媒介性原虫のゲノム解析
木田浩司: *Rickettsia japonica* のreal-timePCR検出系における検体への汚染が検証
可能な陽性コントロールの作成
及川陽三郎: 発疹熱リケッチアのアルカリ抽出抗原に対する日本紅斑熱患者血清の反

応性について

益田 翔：極東ロシア，モンゴルにおけるヒト顆粒球アナプラズマの検出

邱 永晋：次世代シーケンス技術を活用したマダニ保有菌種組成解析

中尾 亮：SFTSV と近縁なマダニ媒介性ウイルスの検出

10:30 ブランチ・フリーディスカッション

11:00 組織委員会報告，閉会

3. 登録参加者名簿（2013年6月6日現在の登録簿による；以下70名に検討中の数名と現地関係機関からも随時の参加があった）

安藤匡子	国立感染症研究所
安藤秀二	国立感染症研究所
安西三郎	安西皮膚科
安西恭子	安西皮膚科
馬場俊一	ばば皮ふ科医院
馬場厚子	ばば皮ふ科医院
邱永晋	北海道大学
江尻寛子	国立感染症研究所
福井貴史	千葉科学大学
古屋由美子	(前) 神奈川県衛生研究所
御供田睦代	鹿児島県環境保健センター
入江隆夫	北海道立衛生研究所
磯貝恵美子	東北大学
伊東拓也	北海道立衛生研究所
岩崎博道	福井大学
片山 丘	神奈川県衛生研究所
川上万里	岡山済生会総合病院
木田浩司	岡山県環境保健センター
岸本寿男	岡山県環境保健センター
今内 覚	北海道大学
國米崇秀	山田赤十字病院
久米愛子	帯広畜産大学
馬原文彦	馬原医院
馬原けい子	馬原医院
益田 翔	千葉科学大学
増澤俊幸	千葉科学大学
三好就英	東北大学
溝口嘉範	岡山県環境保健センター
門馬直太	福島県衛生研究所
森田裕司	明神診療所
中尾 亮	北海道大学
夏秋 優	兵庫医科大学
及川陽三郎	金沢医科大学
大庭千早	北海道空知家畜保健衛生所

坂部茂俊	山田赤十字病院
佐藤雅彦	利尻町立博物館
佐藤寛子	秋田県健康環境センター
調 恒明	山口県環境保健センター
島津幸枝	広島県立総合技術研究所
杉本千尋	北海道大学
田原研司	島根県隠岐保健所
高田伸弘	福井大学
高野 愛	山口大学
多村 憲	(前)新潟薬科大学
鶴岡美幸	WHO 西太平洋地域事務所
堤 寛	藤田保健衛生大学
和田正文	上天草総合病院
和田康夫	赤穂市民病院皮膚科
山本正悟	(前)宮崎県衛生環境研究所
矢野泰弘	福井大学
吉満 誠	鹿児島大学病院

4. 次回開催の予告

次回開催の予告

名 称：第22回 SADI (?大会)

ホスト：吉田真一 (九州大学・医)

期 日：2014年7月4～6日

会 場：「大宰府館」まほろばホール (福岡県太宰府市)

交 通：隣接する福岡市を目処にするとよい

編集や事務連絡などは下記まで

- ・高田伸弘 (福井大学医学部)
〒910-1193 福井県吉田郡永平寺町松岡下合月 23-3
Tel/Fax 0776-61-8330 (直)
e-mail acari@u-fukui.ac.jp
- ・藤田博己 (大原研究所)
〒960-0195 福島県福島市鎌田字中江 33
Tel 024-554-2001(内 235)
Fax 024-554-6879
e-mail fujitah7knu@y8.dion.ne.jp

SADI 組織委員会

医ダニ学担当

- ・高田伸弘, 矢野泰弘 (福井大学医学部)
- ・藤田博己 (大原研究所)

臨床医学担当

- ・馬原文彦 (馬原医院)
〒779-1510 徳島県阿南市新野町信里町 6-1

Tel. 0884-36-3339 Fax. 0884-36-3641

- ・大滝倫子（九段坂病院）
〒102-0074 千代田区九段坂南 2-1-39
Tel. 03-3262-9191 Fax.03-3264-5397

- ・馬場俊一（ばば皮ふ科医院）
〒171-0051 東京都豊島区长崎 4-20-6
Tel. 03-3957-0102

微生物学担当

- ・岸本寿男（岡山県環境保健センター）
〒701-0298 岡山市南区内尾 739-1
Tel. 086-298-2681 Fax. 086-298-2088
- ・吉田芳哉（株式会社シマ研究所）
〒174-0063 東京都板橋区前野町 3-6-10
Tel. 03-3966-2283
- ・山本正悟（宮崎大学医学部）
〒880-0923 宮崎市希望ヶ丘 4 丁目 3-11
Tel. 090-5487-1803

ホスト挨拶

本セミナーは、昨年、南国の徳島で 20 回記念大会を持つことができました。今年は新たな出発となる 21 回目と位置づけられましょうか。本セミナーは日本（島嶼を含む）の南北各地を巡っての開催、今年は思い切り北国として北海道宗谷地方の稚内市が候補に上がりました。探して見つかった会場が、納沙布岬を西に向かう海岸の利尻富士を望む少年自然の家でして、そこはサロベツ原野の入口にも当たります。

古典的な昆虫媒介性感染症は国内では皆無に等しくなりましたが、近年はダニ媒介性感染症や刺症の国内常在が確認され、この年初からは重症熱性血小板減少症候群の勃発まで知られる現状、これら課題について専門家による討議が今回の癒しの空間において展開されます。一方で、宗谷地方はダニ起因性疾患の調査研究が未だ僅少、このセミナーを契機に一層の進展も期待されます。

各位におかれましては、ご関係の方々もお誘い合わせの上、奮ってご参加いただければ幸いと存じます。

講演抄録

1 日目 6 月 21 日（金）
研究ナイトバザール

<フィールドは北にも南にも>

北海道のマダニ相についての現状と課題：伊東拓也（北海道立衛生研究所）
北海道のマダニ科は、現在 15 種類前後が土着していると考えられる。これらマダニ相

を衛生動物学的な視点で眺めた場合、ヒト刺症例ではシュルツェマダニによるものが大多数を占め、残りのほとんどをヤマトマダニが占めている。また、これら 2 種は、北海道でも中型～大型ほ乳類を成虫の吸血源としており、北海道に広く分布していることが様々な調査によって明らかになってきた。一方で、シュルツェマダニのみが分布する地点や逆にヤマトマダニのみが分布する地域があり、ヒト刺症もいわゆる山野のみならず、都市などのヒト生活域にても発生していることなどにより、マダニ対策が全道一律ではなく、各地域の現状把握に基づく必要があることもわかってきた。

そこで、道北と道南のキャンプ場周辺で旗ずり法により詳細なマダニ密度調査を行うと共に、札幌市で植生・ペット（主にイヌとネコ）・ヒト上でのマダニ類の動態を観察したところ、いずれの地点でも遊歩道はもとよりテント設営場所や炊事場を含むヒト利用区域にも生息していた。さらに、札幌市の調査では、植生・ペット・ヒト共にヤマトマダニが優占し、次いでシュルツェマダニの順であった。地域ごとのマダニのリスク評価を今後も継続する必要があると考えられた。

南のフィールドベトナムから ～先天性風疹症候群サーベイランス～：鶴岡美幸（WHO 西太平洋地域事務所）

2012 年にベトナム WHO 予防接種部門フェローとして、ワクチンで予防可能な疾患のサーベイランスに携わった経験から、ベトナムにおける先天性風疹症候群のサーベイランスについて紹介する。

新生児と乳児を対象とする先天性風疹症候群のサーベイランスは、実際には病院を受診しないケースも多いと考えられ、その実数把握は世界的な課題である。世界中で年間 11 万人発生しているという推測値に対して、実際には 2009～11 年の各年で 165 例、31 例、214 例の報告に留まっている。このような現状の中で、2011 年の 214 例のうち、201 例がベトナムから報告された。ベトナム政府は 2011 年に先天性風疹症候群サーベイランスを新たに立ち上げ、これが 2010 年の風疹大流行に引き続いて起きた 2011～12 年の先天性風疹症候群児の発生を一部ではあるが、数値として捉えることができたのである。この成果は、風疹ワクチン未導入の同様な国々における、先天性風疹症候群サーベイランスシステム確立の可能性を示唆する重要な報告であった。

サーベイランスは予防接種プログラムの運営において、非常に重要なものである。ある疾病の負担を、漠然と抱かれる主観的な問題意識から、実数値として認識できる客観的な問題事象へと翻訳できるからである。幸いにも、ベトナムでは 2013 年から風疹ワクチンの導入が計画されており、今後風疹ならびに先天性風疹症候群の症例数は減少すると予測される。本サーベイランスシステムが継続して機能し、ワクチン導入後の実態把握も可能になると期待される。

<恙虫病, その問題は尽きず>

IP 法に使用する抗原の最適化に向けた検討, 確実な診断へ向けて：佐藤寛子, 柴田ちひろ, 斎藤博之（秋田県健康環境センター）, 須藤恒久（秋田大学）

【背景と目的】つつが虫の抗体検査診断において、秋田県健康環境センターでは、これまで標準 3 株を抗原として使用してきた。しかし、このうち患者の感染型が Gilliam 型あるいは Karp 型である場合、抗体価上昇あるいは感染型の確認ができるまで 10 病日以上を要することがあった。本県では Karp 型感染例が圧倒的に多いことから、早期の感染型究明のため、標準 3 株および国内分離株 4 種を抗原とした IP 法を実施し、その抗体

価について比較検討したので報告する。

【方法】2013年4月～5月に、当センターにつが虫病抗体検査の依頼があった20例の急性期、回復期の血清について、IP法により抗体検査を実施した。抗原として使用した分離株は、標準3株、KMG株（野鼠由来JG型）、Matsuzawa株（国内患者由来JP-1型）、Sato株（国内患者由来JP-2型）およびKakuma株（野鼠由来Kato型）である。

【結果】20例中、抗体上昇が認められたのは6例であった。これらの標準株を抗原とした抗体検査では、IgM抗体価においては1例がKarp型感染と判明したが、5例はGilliam株あるいはKato株に対する抗体価との有意差がなく、感染型が不明であった。同じくIgG抗体価では6例中3例がKarp型と判定されたが3例は不明であった。一方、国内分離株を抗原とした抗体検査では、IgM抗体価においては6例中6例全てがJP-1型あるいはJP-2型感染と判明したが、両者の抗体価に有意差はなかった。この現象はIgG抗体価でも同様で、6例全例がJP-1型あるいはJP-2型感染と判定された。また、これらKarp型感染6例のJGに対するIgMおよびIgG抗体価は、Gilliamのそれよりも有意に低く、最大で64倍の差が認められた。JP-1およびJP-2に対するIgMおよびIgG抗体価は、Karpのそれよりも有意に高く、最大で16倍の差が認められた。

【考察】Gilliam, Karp株の抗原性は、国内の患者由来であるJG型株、JP-1型株およびJP-2型株と異なることが指摘されていたが、実際に複数の患者血清による抗体価の比較で差異が確認された。国内の患者由来株を利用した抗体検査は、より早期の抗体検出が期待できるため、今後のルーチン検査においては、国内の株を使用する事が望ましいと思われる。

タテツツガムシの遺伝的多形性（福島～トカラ～済州島）：門馬直太（福島県衛生研究所）、東海林彰（青森県環境保健センター）、佐藤寛子（秋田県健康環境センター）、山本正悟（宮崎大学）、角坂照貴（愛知医科大学）、藤田博己（馬原アカリ医学研究所）、高田伸弘（福井大学）

タテツツガムシはKawasaki型及びKuroki型のつが虫病を媒介し、北は岩手県から南は鹿児島県に渡る日本の広い範囲で生息が確認されている。これまで、つが虫病病原体 *Orientiatusugamushi* に関しては、56kDa 外膜タンパク質遺伝子やMLST (Multi Locus Sequence Typing) 解析など様々な手法で分子疫学的な解析がなされており血清型や遺伝子型、さらには様々なバリエーションの存在などが確認されているが、媒介種であるTrombiculid miteに関する解析はほとんど行われていない。福長らは、Trombiculid miteのミトコンドリア遺伝子が種によってダイナミックに組み換わる事を示し、併せて *cox1* がその中では比較的安定した遺伝子であること、さらにはその塩基配列からTrombiculid miteの分類がある程度可能な事を報告している。今回、地域において媒介種に多様性がみられるかどうか検討するため、タテツツガムシの *cox1* 遺伝子の部分塩基配列 (783bp) を解析した。タテツツガムシは福島県白河市、茨城県太子町、鹿児島県トカラ列島悪石島、韓国済州島において黒布見取り法で採取した未吸着個体を用いた。計93個体について解析した結果、①福島県・茨城県グループ、②悪石島グループ、③済州島グループ、④悪石島・済州島グループの大きく4グループに分けられ、地域における遺伝的な多様性が示唆された。特に悪石島と済州島で採取されたタテツツガムシの一部が同じグループに分類されたことから、媒介種が何らかの要因により島間を移動した可能性もあり、興味深い結果となった。

九州の恙虫病を考える、野鼠保有抗体から：山本正悟（MFSS, 前宮崎県衛環研）

恙虫病の早期血清診断には、感染地域に分布する型の *Orientia tsutsugamushi* (Ot) を抗原とする事が重要で、分布する型を地域毎に確認しておく必要がある。今回、九州本土域に分布する型を改めて確認するために野鼠の抗体保有状況を調べた。

180 頭の野鼠(主にアカネズミ) (中通島 27 頭、福江島 30 頭、天草 61 頭、宮崎県北部 24 頭、宮崎県南部 38 頭) を対象に、Gilliam(亜型 G)、Karp(Kp)、Kato(KT)、Kawasaki(KW)、Kuroki(KR-1)、402I-14(JP-2)、Ikeda(JG)、Shimokoshi(S) 株を抗原とし、FITC 標識抗ラット IgG を用いた間接蛍光抗体法で血清抗体価を測定した。[括弧内に 56 -kDa 蛋白遺伝子による型名を示した (大橋ら、Microbiol. Immunol., 40(9), 627-, 1996)]

宮崎県南部の 1 例が 402I-14 株、中通島の 2 例と福江島の 1 例が Ikeda 株、中通島の 2 例・福江島の 1 例および宮崎県南部の 6 例が Kawasaki 株、天草の 4 例・宮崎県北部の 11 例および宮崎県南部の 8 例が Kuroki 株に、それぞれ最も高い抗体価を示した。他の株より Karp、Kato、Gilliam、Shimokoshi 株で高い抗体価を示す例は無かった。

調べた地域には JG、JP-2、KW、KR 型が分布する可能性が改めて確認され、これらの地域における感染では、Gilliam、Karp 株より JG と Jp-2 型の株が血清診断に有用と考えられる。

<ダニの皮膚科、その問題は尽きず>

ヒゼンダニのウンチ、皮膚科医に美味しい? ところ: 馬場俊一 (ばば皮ふ科医院)、
地家豊治 (日本大学医学部総合医学研究所電子顕微鏡室)

皮膚科診療で疥癬の顕微鏡検査は、通常、採取した皮膚検体に KOH 水溶液を滴下し、加温した後、観察が行われる。本方法は皮膚組織をたちまち融解し虫体や卵の観察を容易にする優れた方法である。しかしながら疥癬の病原体由来の要素である糞をもすぐに分解してしまうため、糞が観察される機会は意外に少ない。近時、ヒト疥癬の院内多発感染例を経験し、多数の皮膚鱗屑標本の顕微鏡検査を行った。その際 KOH 無添加観察を試みた。同時に一部、水添加観察、走査電顕 (SEM) 観察も行った。SEM は OsO₄ 蒸気固定、Pt/Pd のコーティングを施した。結果、光顕の絞りを開けて低倍率で無添加標本を観察すると、黄褐色の楕円形に見える、ほぼ大きさのそろった卵形、俵形の糞が、多数見られた。散在性、列序性あるいは小塊状に認められた。これらは卵に混じって認められる場合もあった。水添加観察でも同様であった。一個の大きさは長径で卵の 1/5~6 で、卵よりばらつきがあった。高倍率でみると、無定形の挽肉用の物質がハンバーグ様に丸められ、糊状の物質で薄くコーティングされたような形に見られた。SEM ではトンネルの中のあちらこちらにジャガイモ状の小体として認められた。観察した標本の大多数で、糞陽性と、虫体、卵あるいは卵殻陽性検体の一致を見た。さらに、治療後虫体や卵が消失した標本においても糞の色が残存する検体も認められた。無添加標本での、糞あるいは糞の色による検査は容易で、加温溶解の時間も要さず、大量の検体のスクリーニングには有用であると思われた。

スキャナーによる疥癬の診断: 和田康夫 (赤穂市民病院皮膚科)
抄録なし。

2 日目 6 月 22 日 (土)

歓迎講演：「駆け足で巡る利尻の自然」 佐藤 雅彦（利尻町立博物館）

現在の利尻島の環境は、約 20 万年前からの火山活動によって主に形成された。主成層火山からは時代や場所ごとに様々な溶岩が山頂や山腹から流れ、山麓にはいくつもの溶岩ドームやマール地形などが見られる。また、利尻島周辺の海は比較的浅く、火山活動の中期から終期にかけては寒冷な時代を迎えたことで、サハリンや北海道本土とも陸続きになったとされ、アイスウェッジカスト、氷河の痕跡なども近年になって相次いで発見されている。これらの火山活動による多様な環境の形成と、周辺地域からの生物の往来によって、現在の利尻島の生物相は長い年月をかけて形成されてきたと言える。本島の生物相の解明は 1888 年の堀正太郎氏による植物調査などから始まり、その後も多くの研究者が訪れてきた島であるが、近年でもリシリハタザオなどの固有種の発見などがされているほか、地元でも研究助成制度が継続されている。演者は本島のほか、北海道北部において翼手目相の調査を行い、これまでに国内からは記録がなかったヒナコウモリ属およびクビワコウモリ属の計 2 種を確認することができた。これら 2 種は大陸から飛来した可能性が高いが、その経路や手段については不明な点も多い。コウモリはリッサウィルスなど人畜共通感染症の宿主としても知られており、海外からの新たな感染症の侵入については十分な警戒をすべきであろう。

<ワークショップ：紅斑熱、その多様化と対策>**日本紅斑熱急性期における血液検査所見特にプロカルシトニン(PCT)の検討:坂部茂俊
(伊勢赤十字病院 内科)**

背景:ここ数年一部医療者の間で、狂信的に特異的マーカーを求める傾向がある。田舎の臨床医である私は、感染症診断は臨床経過、臨床所見、検査所見などから総合的に原因を推測し、病理学、細菌学、血清学的に確定するものと考えているので、参考程度であるはずのマーカーを卑下したり(CRPに代表される)、賞賛したり(PCTに代表される)といった稚拙な議論に加わる気は毛頭ない。ただ多くの日本紅斑熱をみた立場上、細菌、真菌感染症などに特異性が高いとされるPCTが、リケッチア感染症ではいかなる傾向を示すのか検討する必要があると考えた。

方法:2012年に当院で確定診断を得た19例を対象に急性期血液検査結果を分析した。選択したマーカーはこれまでの経験に基づいたもので、以下である。

主に上昇:CRP,AST,ALT,LDH,CK,フェリチン,白血球数,赤沈,フィブリノーゲン,FDP
主に低下:Alb,Na,血小板数

結果:各項目における平均値、異常値を示す患者の割合は、白血球数(異常高値 $>9000/\mu\text{l}$):平均 $8310/\mu\text{l}$, 32%. 赤沈 1 時間(異常高値 $>5\text{mm}$):平均 19mm, 100%. CRP(異常高値 $>0\text{mg/dl}$):平均 11.9mg/dl, 100%. PCT(異常高値 $>0.5\text{ng/ml}$):平均 1.1ng/ml, 53%. フェリチン(異常高値 $>160\text{ng/ml}$):平均 1184ng/ml, 100%. Fib(異常高値 $>130\text{mg/dl}$):平均 416mg/dl, 100%. FDP(異常高値 $>5\mu\text{g/ml}$):平均 13.3 $\mu\text{g/ml}$, 76%. 血小板数(異常低値 $<15\text{万}/\mu\text{l}$):平均 14.9 万/ μl , 58%. Na(異常低値 $<135\text{mEq/l}$):平均 133.6mEq/l, 72%. Alb(異常低値 $<3.9\text{g/dl}$):平均 3.4g/dl, 72%. CK(異常高値 244IU/l):平均 217IU/l, 32%だった。

結論:日本紅斑熱でPCT陽性を示すのは約半数で数値は他のマーカーに相関しない。陽性感度は低く、陰性特異度も低い。他の感染症、非感染性疾患との鑑別には役立たない。PCT値はCRP値と相関しない。「重症感」にも相関しない印象がある。いずれにしても診断の補助にはならない。日本紅斑熱で、急性期から高率に異常を示すのはCRP,LDH,フェリチンである。成人の典型的な日本紅斑熱では一般的な細菌感染症と比較し白血球

数の増加に乏しく（好中球の割合は増加，リンパ球，好酸球減少），低ナトリウム，低アルブミンなど全身の炎症，特に微細な血管の障害を反映したと思われる異常がみられる。

初診時における日本紅斑熱の3徴候と検査異常の検討：國米崇秀，坂部茂俊（伊勢赤十字病院 内科）

当院での2005年8月から2011年5月までの成人日本紅斑熱症例67例に関して発熱・紅斑・ダニの刺し口の3徴候，また特徴ある検査所見について検討を行った結果：初診時に発熱は100%，紅斑は96%，ダニの刺し口は70%に認められた。初診時の血液検査では①血小板数5万/ μ l未満；9%，5万-10万未満；34%，10万-15万未満；36%，15万以上；21%②白血球に占める好酸球分画0%；81%，0-2%；12%，2%以上7%③AST100U/L以上；26%，50-100U/L未満42%，50未満の異常値；20%正常範囲内12%④ALT100U/L以上；11%，50-100U/L未満40%，50未満の異常値；6%正常範囲内43%だった。結論：3徴候は有用な情報であるが，ダニの刺し口のように「存在するはずだが確認できない」所見もあり否定する材料に用いないことが重要である。

当院にてリケッチア症と鑑別を要した疾患：川上万里（岡山済生会総合病院 肝臓病センター）

2012年年度に当院にてリケッチア症と鑑別を要した疾患を二例認めたので報告する。**症例1：**50才代男性。主訴：高熱，下痢（水様便）。現病歴：フィリピンセブ島にて勤務中。帰国4日目より上記主訴出現。近医にて点滴を受けていたが軽快せず，当院救急外来受診。身体所見では体幹に点状紅斑多発し，四肢には小豆大までの紫斑様の紅斑を数か所認めた。血液検査にてAST 49 IU/l，ALT 57 IU/lと肝機能異常とPLT 14.7万/ μ lと血小板減少を認め，リケッチア症を疑ったが，Dengue熱と診断された。

症例2：70才代男性。主訴：会話不成立，言動不穏。現病歴：20XX年X月，「尿が出にくい」とのことで，朝から絶飲食で泌尿器科受診した。帰宅後上記主訴出現し，救急車にて当院救急外来受診した。身体所見にて上記の所見のほか，39.5度の高熱，黄疸を認めた。血液検査にてCRP 9.69 mg/dlと炎症反応陽性，PLT 4.3万/ μ l，PT 44%，FDP 18 μ g/ml，FBG 294 mg/dlと血小板数および凝固能低下のほか，総ビリルビン 5.1 mg/dl（直接ビリルビン 1.4 mg/dl），AST 99 IU/l，ALT 53 IU/l，BUN 49.9 IU/l，Cr 1.57 IU/l，UP4+と肝機能異常，腎機能異常を認め，またCK 709 IU/l，Myoglobin 1119 ng/mlと筋原性酵素も上昇していた。画像検査にて肝硬変および脾腫，前立腺肥大症 両水腎症を認め，既存のアルコール性肝硬変および糖尿病に前立腺肥大症による尿閉より生じた尿路感染症に併発したDICと腎機能低下，横紋筋融解症を推測したが，間接ビリルビン優位の高ビリルビン血症があり，尿蛋白陽性であることと腎機能の低下よりレプトスピラ症を疑い，抗体検査を提出し確定した。

まとめと考察：上記二例とも未経験の疾患であったが，その診断に至る過程に同じく熱性疾患である「リケッチア症」の経験があり，比較することで診断に近づけた。これらの検査を保健所を受けてもらうまでの道程は長く，説得するのに時間を要した。届出疾患の検査については現在保健所の介入が必須であるが，保健所の対応自体が迅速な診断に至らない原因となっている。患者と臨床医家は早期診断を求めており，行政機関との認識に大きな隔たりがあることを実感した。

日本紅斑熱の流行地として当院の役割：和田正文（上天草市立上天草総合病院 内科）

日本紅斑熱は発熱・紅斑・刺し口を3主徴としたマダニ媒介性疾患である。突如2004年頃から全国の様々な地域で日本紅斑熱患者が増え、研究や啓蒙活動の必要性が生じた。上天草市でも2006年に初めて発病し、年間15~20例程度ずつ積み重ね2012年12月までに80人と患者が増え続けている。罹患率は、R町0地区1537.4人、M町K地区1355.9人、M町U地区1149.4人、H町F地区959.9人(6年10万対)と、上天草市は全国でも有名な日本紅斑熱患者の多発地域である。当疾患は医療者の知識不足と患者側の情報不足が診断・治療の遅れとなりやすく、不明熱として発見されることが多い。重症化するとDICや髄膜炎、肺水腫、急性感染性電撃性紫斑病などの全身の合併症を起こし、他県では死亡例が報告されている。市民・医療機関・市役所・保健所・猟友会の連携・知識の共有が重要で多方面に情報発信が必要と考えられた。

啓蒙活動の手段として、新聞(熊本日日新聞・西日本新聞)・テレビ(テレビ熊本TKU・熊本朝日放送KAB・RKK熊本放送・NHK熊本放送)・ホームページ(熊本県庁・上天草市立上天草総合病院)を行った。自治体を通して、防災無線による各家庭への情報提供・上天草市の広報・回覧版にポスターをつけ各家庭に配布・医療機関と保健所と熊本県保健環境科学研究所に検体などの連携システムの構築を行った/病院では、市民と医療機関向けの講演会・院内の勉強会・ポスターと「診断と治療の手引き」のリーフレット作成と配布・マダニ刺傷の際のパンフレット作成・院内外来モニターへの情報提供・医療機関に配布する地域連携室通信・学会発表を行った。

様々な啓蒙活動の中でどの手段が有効であったか、当発病患者にアンケートを行い、22人中16名が認知していた/最も多いのは、知人からの情報提供で7名、次に回覧版5名、ポスター3名、市広報・防災無線・講演会2名、外来モニター・テレビ1名であった。年々受診までの日数・治療開始日数はともに短くなり効果が伺えた。合併症は、12症例で全体の14%と少なかった。

高齢者の一人暮らしが多く啓蒙活動が難しいが、当地域は年々疾患の認知度も高くなり、早期診断と治療が向上し重症者も少なく、連携が良好である。医療機関と県研究所との連携し診断システムの構築を行い、早期診断・新たな感染地域の発見につながった、今後は啓蒙活動を続け疾患の認知を向上させ、知人からの情報提供の効果を上昇させていく必要がある。院内に対しては最初に患者の問診を行う看護師に教育を行い早期診断につながるよう働きかけをしていきたい。

<特別ワークショップ：SFTS元年を迎えて>

当科で経験した重症熱性血小板減少症候群症例：吉満誠(鹿児島大学病院 血液膠原病内科)

重症熱性血小板減少症候群はマダニを媒介するSFTSウイルスによる感染症である。2013年本邦でも感染症例が報告された。当科で発症時に診断しえた症例を3例経験したため報告する。

症例1は80代女性、主訴：発熱、筋肉痛、全身倦怠感。ダニ咬傷歴あり。抗菌薬治療後も、発熱持続し、血小板減少、肝酵素・CPKの著増を認め前医転院となった。多臓器不全のため人工呼吸器管理、慢性維持透析が導入された。SFTS感染症の診断後当院へ転院となった。血清酵素異常は改善傾向であったが、アスペルギルス肺炎、緑膿菌敗血症を合併し、多臓器不全で永眠された。剖検で左鼠径リンパ節に化膿性リンパ節炎を認め、両鼠径リンパ節と脾臓でSFTSウイルスゲノムを検出した。

症例2は50代女性、ダニ咬傷歴なし。同様の症状、検査所見でSFTS感染症の診断の

もと転院となった。血清酵素異常は改善傾向にあったが、アスペルギルス肺炎・脳膿瘍を合併し、長期に渡る抗真菌薬投与を要した。

症例3は40代男性、ダニ咬傷歴あり。同様の症状、検査所見でSFTS感染症の診断のもと転院となった。転院後血清酵素異常は改善し合併症もなく退院となった。

発症時に診断しえたSFTS感染症3例を経験した。2症例において重篤なアスペルギルス感染症の合併を認めた。SFTS感染症においては合併感染症対策が重要であると考えられた。

追加発言：SFTSを経験して（御供田睦代：鹿児島県環境保健センター）

本年初頭に国内でも確認された重症熱性血小板減少症候群（SFTS）は3月4日に感染症法の四類感染症として届出対象となり、3月13日からは各地方衛生研究所に検査試薬等が配布され検査体制が整備された。そして当センターに検査依頼されたSFTS疑い患者は、2月20日以降～6月中旬まで7症例あり、それぞれ国立感染症研究所SFTS検査マニュアルに準じてQIAamp Viral RNA Mini Kitを使いOne Step RT-PCR法にて検査を実施している。国内の患者報告は西日本に限られ九州での発生も目立つが、鹿児島県での患者は40代以上で、地域差や男女差は認められていない。また、陽性者でも症例定義を満たすものばかりではなかった。SFTSについては未だ不明な点も多いことから、当県では来年度から3ヵ年計画でマダニの分布状況やマダニの季節消長およびウイルス保有状況について調査を実施し、県民への正確な情報提供を行えるよう準備中である。

山口県におけるSFTSについて（及び研究班の紹介）：調 恒明（山口県環境保健センター）

【背景】2009年、中国の山間部において発熱、血小板減少、消化器症状等を主症状とする原因不明の感染症と思われる患者が報告され、2011年、患者からブニヤウイルス科フレボウイルス属の新たなウイルスが検出され Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus (SFTSV/重症熱性血小板減少症候群ウイルス)と名付けられた¹。患者171例の死亡率は12%であった。また、流行地域においてフタトゲチマダニなどのマダニからSFTSVが検出されており、ダニ媒介性の感染症であることが示唆された。中国のSFTSについて、WHO西太平洋支局により、リスクアセスメントが行われ、low, moderate, high, very highの4段階のうち、lowとmoderateの中間のリスクと評価された²。

【日本における初発例】2012年秋、山口県内の医療機関において、発熱、血小板減少、黒色便を伴う下痢等の症状からDIC、多臓器不全に至った死亡例が経験された。この患者について病原体の検索が山口大学獣医学部等において行われた結果、中国において報告されたSFTSVと類似したウイルスが検出され、日本においてもSFTSの存在が初めて認知された³。国立感染症研究所において、患者剖検組織(肥大したリンパ節等)にウイルス抗原を検出し2013年1月30日、厚生労働省から患者発生の報告および、SFTSの症例定義、及びこれに一致する患者の報告を求める通知が発出された。その後のウイルスの全ゲノム解析により中国のウイルスとは異なる系統であり、かなり以前から日本に存在していたことが示唆された。

【今後の課題】疑い患者について、地方衛生研究所で可能な限り早期にPCR検査等による診断を行い、治療法の確立、医療従事者の感染防御に役立てること、および各地域に

においてダニのウイルス保有率、動物の抗体保有率の測定などの調査を行い、今後の公衆衛生対策を検討すること等が重要である。

1. Yu XJ, et al. Fever with thrombocytopenia associated with a novel bunyavirus in China. *N Engl J Med.* 2011 Apr 21;364(16):1523-32.
2. Xiong WY et al. Risk assessment of human infection with a novel bunyavirus in China. *Western Pac Surveill Response J.* 2012 Nov 12;3(4):61-6.
3. 高橋徹ら 本邦における重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) の初発例 日本内科学会中国支部会

SFTS 患者への早期アプローチ：馬原文彦

2013 年 1 月に初めて我が国において SFTS の発生が確認され、現在までに 44 例が報告されている。ダニ媒介性疾患—SFTS の出現を踏まえて、3 月 9 日山口県、4 月 6 日広島県、4 月 27 日愛媛県、5 月 24 日三重県、8 月 4 日岡山県と講演会が開催され、演者としてダニ媒介性疾患を再考する契機となった。

日本紅斑熱の MINO と CPFX の併用療法は、サイトカインストームを抑制し重症化を防ぐことが分かっているので、SFTS でも初期に投与すればプラスに働くのではないかと考えた。文献的に SFTS がサイトカインストームを起こしているとの報告もあり、米国からは DOXY で早期治癒した Phlebovirus の報告を見つけたのもこの推論を後押しした。長崎の 2005 年の報告は詳細にみると、MINO+CPFX で解熱したようにもみえる（日経メディカル 4 月号）。

4 月 23 日緊急に徳島県医師会感染症対策委員会を開き、ダニ媒介性疾患に対する治療、対処法について協議した。まず当時は厚労省が示した症例定義がタイトで、たとえば血小板数 10 万以下、ICU 入院中などの要件があったが、徳島では疑いがあれば直ちに検査を行うことを、行政との間で協議した。また、早期よりの併用療法により、徳島県の第 1 例は是非救命したいとの共通認識とした。

委員会開催数日後に徳島県において第 1 例目が発生、迅速な初期対応、治療により 15 日で軽快した。この症例については「フタトゲチマダニ刺咬後に早期診断され良好な経過をたどった重症熱性血小板減少症候群の 1 例」（IASR Vol. 34 p. 207-208: 2013 年 7 月号）として報告されている。

本例ではダニ媒介性リケッチア感染症が疑われたため発症当初より MINO が使用され、CPFX が追加投与されている。主治医が前記講演会に出席しており、早期診断、治療につながった。

早期アプローチの keyword はマダニであり、刺咬後、発熱があれば直ちに併用療法を行う。臨床的な分岐点は、発熱は必発、紅斑があればリケッチアに傾き、消化器症状が出ればウイルスに傾く。検査所見では血小板の減少と共に白血球数が敏感で、紅斑熱では 3000 以下になることは希であるが、SFTS ではある時点でストンと下がった。CRP が紅斑熱では強陽性になることが多いが SFTS 症例では陰性であった。

今後の SFTS 治癒例における治療内容の蓄積、経時的な抗体価の推移やサイトカインの測定などの詳細な解析が待たれる。

なお、刺咬していたマダニは馬原アカリ医学研究所（藤田博己所長）にてフタトゲチマダニ成虫雌と同定され、飽血状態であったため当研究所にて飼育し産卵した。その後のウイルス検出により経卵感染が証明された。

SFTS とマダニ相の関係を一考、南西日本から済州島まで：高田伸弘

わが国にも潜在することが分かった SFTS、その厚労省科研による総合調査は5月に正式に開始され、この SADI が終わる月末に第1回班会議が持たれる。演者も協力者として呼ばれていることと、福井県内で基礎調査を行っていることもあり、媒介動物（以下ベクター）ないし保有体動物の調査に協力すべきと思われ、今後の注意喚起など含めて対応してゆきたいと思う。

ところで、中国の報告から始まって関心が盛り上がった本病、わが国でも感染研を中心に既にかなりの予備調査が行われて来て、本ウイルス症はマダニが媒介することが確実と分かった（仮にヒトへ複数の感染経路があっても、マダニが介在することは否定できない）。したがって、国内でのマダニの生息分布相を新たな視点から見直してゆかねばならないし、周辺国での状況にも気を配りたい（我々は既に済州島を含む韓国南部の患者発生地のベクター調査を、現地関係者と共同している）。実際、中国で強く疑われているベクター種がフタトゲチマダニであることと、国内でも今のところ症例は南西日本に偏在していること、また上記予備調査でチマダニ類に同ウイルスが見られるらしい非公式情報まで考え合わせると、冬も暖かい南西日本に生息頻度が高いチマダニ属が主たる媒介種であろうことは疑いないと思われる。一方、日本列島の冬寒く降雪時期も長い東・北日本については *Ixodes* マダニ属が優勢なこともあり、本症が多発する要因は少ないと思われる。その境界は北陸から北関東に微妙に想定されるため、北陸を含む中部地方での調査は本症発生の頻度をうかがうキーポイントであろう。

いずれにしても、先発の中国の研究（文献）にみるベクター調査の解析は妙に不足が多過ぎるが、わが国での調査はそういった点を補うように以下の形が望まれる。

- ・中国のヒトへの媒介マダニが1種というのはいかが、複数種の検索が必要。
- ・国内のマダニの発育や生態などを考慮しつつ、実際のヒト感染頻度を考慮しながら、マダニ種ごとのウイルス検索が望まれる。
- ・マダニの分布に絡む環境要因も記録して疫学に資する。
- ・今後マダニ刺症をみる場合、本症と有意な関連があるか否かも検索する。
- ・調査では、必要に応じ住民へ説明しつつ、調査員の不要な感染も防ぐ。

ともかく、ベクターの実態の詳細は今後の調査に待つとして、いつまでも神秘性を高めてしまうような扱いで奇病と思わせて一般住民の平常心を乱さぬよう（マダニ刺症で皮膚科受診が急増している）、そのためには既に知られた多様なダニ媒介性感染症に包括した形で、医療関係者はもとより一般住民まで理解を助けるのが良い。

<ワークショップ：マダニ刺症、その対応を探る>

マダニの刺し様：矢野泰弘（福井大学医学部病因病態医学講座）

マダニの咬着・吸血様式を知ることは病原体媒介能を理解する上で最も重要である。今回はマダニ口器の外部・内部形態および吸血パターンなどを紹介し、マダニ体内における種々病原体の存在様式に関する電顕的観察結果から、マダニが宿主へ病原体を媒介するタイミングを考察してみたい。

マダニの口器である顎体部には触肢、口下片、鉗角鞘および鉗角を備える。触肢の先端には発達した感覚毛の集合体が見られる。口下片には後方に向けた多数の歯列があり、宿主皮膚への挿入と固定を行う。一对の鉗角は軸状で、その先端には爪を有する。伸縮可能な鉗角は宿主の皮下組織まで侵襲し、吸血を開始する。幼・若虫は約 5 日間、雌成虫は約 7 日間吸血し飽血離脱する。吸血初期には体重の増加は緩やかであるが、離脱直前にその速度を増し、飽血時の体重は未吸血時と比べ、幼・若虫で約 10 倍、雌で約 200 倍に達する。また、吸血開始時にはマダニ唾液腺からセメント様物質が分泌され、固着をさらに強固なものとする。唾液腺は一对の房状の器官で、顆粒を有しない I 型腺胞と顆粒を有する II・III 型腺胞からなる。この顆粒はセメント様物質で、吸血期間の初期に放出される。

リケッチアは観察したすべての器官（中腸、直腸囊、筋肉、中央神経塊および唾液腺）の細胞質内に遊離して存在していた。リケッチアの周囲は電子密度の低い halo zone で包まれ、紅斑熱群リケッチアに特徴的な細胞壁の明瞭な 3 重構造を呈していた。また、リケッチアの唾液腺細胞核内への侵入および増殖像を初めて確認した。唾液腺における存在状況から、リケッチアはマダニの吸血期間初期に唾液腺物質と共に宿主へ媒介されるものと考えられた。バベシア原虫は唾液腺の III 型腺胞細胞質内に検出された。未吸血時にはバベシア原虫は未分化の状態であったが、吸血 2 日目にはスポロゾイトに発達した。このことから、バベシア原虫の感染は吸血期間の中盤に起こるものと考えられた。ライム病ボレリアは未吸血時では中腸内腔にのみ検出され、微絨毛に接して存在し、上皮細胞への侵入像を確認できなかった。ボレリアは吸血中に唾液腺に移行して媒介されるといわれているので、感染は吸血期間の後期に起こるのかもしれない

マダニをむしるということ：安西三郎（安西皮膚科）、駒田信二（駒田皮膚科クリニック）、高崎修旨（中津皮膚科）

マダニ刺症では患者自身がマダニをむしって来院する例がしばしば認められる。マダニをむしることにより口下片残存に伴う肉芽腫形成や、リケッチアなどの病原体の注入などの問題が生じることが知られている。2013 年の 3 月から 5 月にかけて経験したマダニ刺症 32 例について患者自身がマダニをむしることの是非につき症例を供覧し改めて検討した。刺症種はタカサゴキラマダニ若虫 24 例、フタトゲチマダニ若虫 2 例、キチマダニ雌成虫 1 例、タネガタマダニ雌成虫 1 例、不明 4 例であった。32 例中、自分でむしったり液体窒素で処置された例が 11 例あった。11 例中、皮膚に口下片が残存した例が 5 例、リンパ管炎を生じた例が 1 例、皮膚症状のみが認められた例が 5 例であった。約半数に口下片の残存を認め、マダニを不適切な処置で除去することはやはり望ましくないとされた。虫体を皮膚とともに切除することが最も確実な除去方法として推奨されているが、マダニの種類やステージによってはワセリン塗布なども有効な場合がある。液体窒素での処置は虫体全体がもろくなり口下片部で折れる場合が多く、勧められない。局所にサロンパス®を貼付しマダニを除去した例を供覧したがその有効性評価については今後の症例の蓄積が必要と思われた。

マダニの取り方：和田康夫

抄録なし。

マダニ刺症と TARI：夏秋 優（兵庫医科大学皮膚科）

ライム病はライム病ボレリアを保有するマダニの刺咬によって生じる感染症で、日本ではシュルツェマダニが媒介する。その特徴的な皮膚病変として遊走性紅斑を生じることが知られており、ライム病の流行地では診断的価値が高い。しかし、米国では主に南東部に生息するキララマダニ属の 1 種である *Amblyomma americanum* の刺咬によって、ライム病で見られる遊走性紅斑と臨床的に区別のできない環状紅斑を生じることが知られており、southern tick-associated rash illness (STARI) と呼ばれている。STARI ではライム病ボレリアは検出されず、その病因はいまだ不明である。

一方、日本ではタカサゴキララマダニ刺症に伴って遊走性紅斑を生じる症例があるが、ライム病ボレリアや紅斑熱リケッチアに対する抗体は検出されない。このような症例を我々は tick-associated rash illness (TARI) と呼んでおり(夏秋ほか: Med Entomol Zool 64:47-49, 2013), ライム病と区別すべきと考えている。病理組織学的には真皮に T リンパ球を主体とする炎症細胞浸潤を認めることから、その病因としてタカサゴキララマダニ由来成分に対する遅延型アレルギー反応の可能性を想定している。

3 日目 6 月 23 日 (日)

<ワークショップ: 病原性ダニ類の生理活性>

シュルツェマダニ (*Ixodes persulcatus*) 由来因子の宿主免疫抑制機能の解析: ○今内 覚 1), 伊東拓也 2), 川端寛樹 3), 高野愛 4), 安藤秀二 3), 村田史郎 1), 大橋和彦 1)

1) 北海道大学大学院獣医学研究科, 2) 北海道立衛生研究所, 3) 国立感染症研究所, 4) 山口大学大学院連合獣医学研究科

A. phagocytophilum がダニに感染するとシカダニ唾液腺 *Salp16* 遺伝子の発現が上昇すること、および RNA 干渉法による *Salp16* の発現抑制により *A. phagocytophilum* のダニへの感染が著しく抑制されることが明らかとなっている。本研究ではシュルツェマダニにおける *Salp16* 様因子の同定および機能解析を行った。*Salp16 Iper* 遺伝子は若ダニおよび成ダニにおいてのみ発現し、唾液腺に特異的に発現していた。*Salp16 Iper* は宿主に曝露される抗原であることから、*Salp16 Iper* は吸血により発現が誘導され吸血初期から中期にかけて吸血の開始および維持に関与する因子であることが示唆された。また *A. phagocytophilum* 感染により、*Salp16 Iper* 遺伝子の発現が増強されることを確認し、*A. phagocytophilum* が何らかの形で *Salp16 Iper* を利用していることが示唆された。組換え *Salp16 Iper-1* および *Iper-2* はともに好中球の活性酸素産生を抑制した。さらに宿主への組換え *Salp16 Iper* 免疫により、吸血途中および飽血後に死亡するマダニが観察され、吸血 72 時間後のダニ体内に流入した好中球量は有意に増加していた。以上の結果から、本因子は自然免疫において重要な役割を持つ好中球の機能を阻害し宿主免疫応答を抑制することで、ダニ吸血の開始および維持に大きく寄与している可能性が示唆された。

マダニデフェンシンの生物活性と構造—共生決定のためのふるい分け機構: 磯貝恵美子 (東北大学農学研究科動物微生物学分野)

ダニや昆虫などの節足動物は、獲得免疫をもたず自然免疫のみで感染防御を行なっている。こうした節足動物は種の多様性に富み全動物種の 8 割以上を占めるまでに繁栄している。繁栄をもたらした要因にひとつに感染防御における自然免疫機構があげられる。この中でも抗菌ペプチドは主要な防御として機能していると考えられている。本研究で

は、マダニ抗菌ペプチドの活性と意義およびその応用について共生微生物・病原体の選択性に関与するマダニの抗菌ペプチド構造と機能を明らかにした。

ペプチドの合成は固相法で合成し、最終標品は高速液体クロマトグラフィー（逆相液体クロマトグラフィー）で精製する。HPLC カラムとしては YMC A-302: ODS, 150 X 4.6 mm I. D. を用い、設定温度は 40 あるいは 60 ° C とした (Exp Appl Acarol, 2009, Isogai E et al.)。マダニデフェンシンに特徴的な 6 つのシステインは S-S 結合していると考えられる。すでに、立体構造の解析が終了している昆虫のリネージと同様に最も安定した分子内構造が推測される。そこで、S-S 結合は Aerial Oxidation による。3D 構造体と考えられる最終産物はマスマイクロトメトリーによって確認した。シュルツエマダニ（日本のライム病媒介マダニ）由来のデフェンシンについて 3D 構造を持たないデフェンシンもあわせて作成した。アクセルリス社との共同研究により、ホモロジーモデリングによってその構造を推定した。

アミノ酸配列のみで S-S 結合を持たない構造ではサンプリングされた構造はいずれも $\alpha 1 \beta 1$ モチーフを取っておらず、ペプチド鎖はランダムな構造を取っていることがわかった。ヘリックス構造の一部分はシミュレーション過程で比較的構造が保持されているが、シート構造はシミュレーション過程ではほぼ観察できず、ランダムコンフォメーションをとることがわかった。S-S 結合を持った構造では全体の形状としてはやや折れ曲がったラグビーボール状の構造を取っていた。S-S 結合をもつ構造体と持たない構造体で抗菌活性を比較したところ、有意に抗菌活性は S-S 結合をもつ構造体のほうが高かった。このことから、マダニデフェンシンの活性発現に立体構造は重要な役割を演じていることが分かった。さらに、共生細菌ならびにライム病ボレリアは抗菌ペプチド抵抗性であり、皮膚などの常在菌であるブドウ球菌は感受性であることから共生決定のふい分けに抗菌ペプチドが関与することが示唆された。(科学研究費助成事業 22590381)

野生動物モニタリングシステム—マダニデフェンシンおよびライム病ボレリアに対する抗体応答：磯貝 浩，磯貝恵美子（札幌医科大学・動物実験，東北大学農学研究所）

抗菌ペプチドは広く植物，無脊椎動物，脊椎動物に存在し，重要な自然免疫のキープアクターとなっている。ダニにはダニデフェンシン (TD) が存在し，吸血によって，種々の唾液成分とともに寄生対象の動物に注入される。そこで，マダニ暴露状況を知るために，野生シカの TD およびライム病ボレリアに対する抗体応答を調べた。

対象としては北海道エゾシカ (49 頭)，青森日本シカ (25 頭)，岩手日本シカ (25 頭)，宮城日本シカ (25 頭) の血清を用いた。

頻繁にシュルツエマダニに暴露されているエゾシカではシュルツエマダニ TD に対して東北 3 県のシカに比べて有意に高い抗体価を示した。TD を合成する際に立体構造を反映させたものとそうでないものを作製し，シカの抗体が立体構造を認識しているかどうかを検討した。その結果，立体構造を維持する形での合成を行った TD を用いたときのほうが有意に高い抗体価を示した。このことから，シカの抗体は TD の立体構造も認識していると考えられた。抗体陽性率および抗体価は北海道のエゾシカでシュルツエマダニ TD に対して高く，東北ではフタトゲチマダニ TD に対して高いことがわかった。ライム病ボレリアに対する抗体価とシュルツエマダニ由来 TD に対する抗体価との相関を調べたところ，両者に相関を認めた。

TD に対する野生シカの抗体応答を調べることはその地域でのマダニの浸潤状態を知るマーカーになりうる。また，シカをはじめとする野生動物の抗体を調べることは地域におけるマダニ媒介性感染症のリスクを知るために有用であろうと考えられた。

(科学研究費助成事業 22590381)

哺乳類細胞へのマダニディフェンシンの作用：三好就英（東北大学農学部動物微生物学分野）

マダニ唾液中には様々な物質が含まれており、その中には免疫調節、生理活性に関わるものも確認されている。Salp15 は宿主の免疫反応を抑制する唾液タンパクであり多くの研究がなされている。一方マダニディフェンシンは抗菌活性を示すことが報告されているが、哺乳類細胞への影響は明らかにされていない。本研究では、マダニディフェンシンが線維芽細胞に対し影響を与えるかどうかを検討した。

マダニディフェンシンとしてはシュルツェマダニ (IP)，ヒツジマダニ (IR)，フタトゲチマダニ (HAE)，カズキダニ (OMBAC) 由来のアミノ酸配列から合成したペプチドを用いた。濃度は IP が 100 $\mu\text{g/ml}$ ，IR, HAE, OMBAC が 30 $\mu\text{g/ml}$ とした。細胞は牛線維芽細胞 (bovine fetal fibroblast cell line :NCC1 BFFs) を用いた。牛線維芽細胞をマダニディフェンシン存在下で培養した後、Muse Cell Analyzer で、DNA 二重らせんに対するインターカレーターを用いた試薬を用い、Cell Cycle Assay を行った。

牛線維芽細胞の G0/G1 期，S 期，G2/M 期の割合を比べると、48 時間後で IP 処理細胞の G1/G0 期の細胞割合が減少，G2/M の割合が増加しているという結果が得られた。このことからマダニディフェンシンが 48 時間後に影響を及ぼす可能性が考えられた。IR, HAE, OMBAC ディフェンシンを用いたときも、48 時間後に G1/G0 期の細胞割合が減少していることが分かった。以上の結果からマダニディフェンシンには細胞調節機能があることを示唆している。今後の展開として、マダニディフェンシンによる他の哺乳類細胞への影響ならびにライム病ボレリアあるいは菌体コンポーネントによって活性化した細胞への影響を研究していきたい。(科学研究費助成事業 22590381)

<ワークショップ：マダニ媒介感染症研究の手練手管>

次世代シーケンス技術によるマダニ媒介性病原体のゲノム解析：杉本千尋（北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター）

最近の次世代シーケンス技術の発展により、病原体のゲノム解析とその情報を利用した疫学解析に大きな展開がもたらされている。我々の研究グループでは、マダニ媒介性原虫、*Theileria parva* のゲノムを次世代シーケンサーにより解析し、疫学的な考察を加えた。*Theileria parva* は牛を自然宿主とするリンパ球・赤血球寄生性原虫であり、宿主細胞の不死化によりリンパ球増多症が引き起こされ、高率で宿主を死に至らしめる。本研究では、アフリカ 5 カ国で分離された株からゲノム DNA を精製し、Illumina GAII により塩基配列を解析した。すなわち、得られた 35 塩基の Short Read を参照ゲノム配列 (Muguga 株) にマッピングし、各株について全ゲノム (8.9M) の 97% 以上の領域を解読した。さらにゲノム配列から Single Nucleotide Polymorphism (SNP) を抽出し、SNP 情報に基づき株間の系統解析を行った。その結果、東アフリカ 4 カ国 (ケニア、タンザニア、ウガンダ、ブルンジ) の株は、南部アフリカ (ザンビア) の株とは遺伝学的に離れた位置にあり、後者に比べると多様性にも富んでいた。またアフリカ水牛由来株は牛由来株からはかなり遠い位置にあった。これらの結果は、家畜としてアフリカ大陸に導入された牛に野生動物 (水牛) を宿主とする *Theileria parva* の感染が東アフリカで起こり、牛・牛間での感染を通じて多様化するのと並行し、家畜の大陸南部への移動と共にある限られた原虫集団が移動し多様化してきたことを反映していると考えられた。

***Rickettsia japonica* の real-timePCR 検出系における検体への汚染が検証可能な陽性コントロールの作成**：木田浩司，溝口嘉範，磯田美穂子，濱野雅子，藤井理津志，岸本壽男（岡山県環境保健センター）

日本紅斑熱は感染症法で四類感染症に規定されるダニ媒介性細菌感染症であり，毎年 100 名を超える患者が報告され，治療が遅れると死に至ることもある重篤な熱性発疹性感染症である。この感染症の新たな遺伝子診断法として，花岡ら（EID, 2009）が開発した real-timePCR 法が，国立感染症研究所及び地方衛生研究所協議会で編集する「リケッチア感染症診断マニュアル」に記載される予定である。real-timePCR 法は，感度・迅速性に優れるなど多くの利点を併せ持つ検査法であるが，反面，陽性コントロール DNA の検体への混入による誤判定の危険性が高いことが知られており，本病原体に限らず，近年の実験室診断の大きな課題となっている。今回我々は，*R. japonica* 検出 real-timePCR 法の標的遺伝子領域に遺伝子マーカー配列を組み込んだプラスミドを作成し，陽性コントロールとして利用可能か検証した。

作成した陽性コントロール及び *R. japonica* (strain HH-14) からの抽出 DNA を 10 倍階段希釈して real-timePCR 法を実施し，検量線を描いたところ，ほぼ同等の PCR efficiency と Slope が得られた。このことから，遺伝子マーカー配列挿入による本法への影響はなく，感度は 1×10^1 copies/tube 程度であると考えられた。遺伝子マーカー配列を検出する VIC 標識の MGB probe を作成し，*R. japonica* 検出用 probe（FAM 標識 MGB probe）との Duplex real-timePCR 法を実施したところ，両 probe とも陽性コントロールに対して同等の感度を示し，干渉による感度の変動は認められなかった。次に，陽性結果が陽性コントロールの混入か否かを判別するための検査系として，陽性コントロール及び *R. japonica* からの抽出 DNA を鋳型とした real-timePCR 法による遺伝子増幅産物について，Duplex real-timePCR 法を実施したところ，両者を明確に区別できた。

今回作成した陽性コントロールを用いることで，*R. japonica* 遺伝子の定量が可能となった。また，Duplex real-timePCR 法によって，検体への陽性コントロールの混入を real-timePCR 増幅産物から迅速に確認できる検査系を確立した。今後，希望する地方衛生研究所へ陽性コントロールを配布する予定であり，*R. japonica* の定量検査及び結果判定の検証に役立てていただきたい。

発疹熱リケッチアのアルカリ抽出抗原に対する日本紅斑熱患者血清の反応性について：及川陽三郎（金沢医大），藤田博己（馬原アカリ医研），高田伸弘（福井大）

紅斑熱群リケッチア（SFGR）のアルカリ抽出多糖（APS）抗原は，日本紅斑熱リケッチアで免疫したマウスより作成したモノクローナル抗体 S3 と強く反応し，免疫電顕では，この抗体が SFGR の周囲に存在するハローゾーンと結合することから，SFGR に関連した抗原である。この抗体 S3 は，発疹熱リケッチア（*Rickettsia typhi*）の APS とは反応しないが，今回は，*R. typhi* の APS と交差反応する紅斑熱患者血清について報告する。

セルロース膜に APS $0.5 \mu\text{l}$ を吸引吸着させ，被検血清 $\times 200$ 希釈で，IgG-Dot-ELISA を行った。日本紅斑熱患者血清 12 検体中 10 検体（83%）で，SFGR の APS 抗原を用いた Dot-ELISA 陽性となり，そのうち 4 検体（40%）で *R. typhi* の APS 抗原とも陽性反応が認められた。このような交差反応は，従来の SFGR および *R. typhi* の菌体粒子抗原を用いた IF や IP でも認められているが，今後，その原因について検討する必要がある。

本研究の一部は，平成 25 年度厚労科研費「新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業」に依った。

極東ロシア，モンゴルにおけるヒト顆粒球アナプラズマの検出：益田翔¹⁾，増澤俊幸¹⁾，岡本能弘¹⁾，福井貴史¹⁾，大橋典男²⁾，Khasnatinov, M. A.³⁾，Danchinova G. A.³⁾，Ivanov, L. I.⁴⁾，Jantsandoo Bataa⁵⁾，及川陽三郎⁶⁾，石畝史⁷⁾，高田伸弘⁸⁾

¹⁾ 千葉科大学薬学部，²⁾ 静岡県立大学食品栄養科学部，³⁾ Institute for Epidemiology and Microbiology, Irkutsk, Russia，⁴⁾ Plague Control Station of Khabarovsk, Khabarovsk, Russia，⁵⁾ Mongolian National Investigation Center for Infectious Diseases, Ulaanbaatar，⁶⁾ 金沢医科大学，⁷⁾ 福井県衛生環境センター，⁸⁾ 福井大学医学部

【目的】スピロヘータの一種，ライム病ボレリア (*Borrelia burgdorferi* sense lato) とリケッチアの一種，ヒト顆粒球アナプラズマ (HGA, *Anaplasma phagocytophilum*) は *Ixodes* 属マダニをベクターとすることから，米国では重複感染による重症化が問題となっている。そこで，日本を含む極東アジアに共通な媒介マダニであるシュルツェマダニの両病原体保有実態解析を調べ，遺伝系統解析により病原体の大陸からの拡散の有無を調べた。

【材料と方法】イルクーツク，ハバロフスク，モンゴルで採取された *Ixodes persulcatus* シュルツェマダニ 778 匹からアナプラズマ属は 16S rDNA，ライム病ボレリアは 5S-23S rDNA intergenic spacer (IGS) を標的とする PCR により検出を行い，配列を決定し種の同定を行った。また，1 ゲノム中に 100 個以上の遺伝学的に多様性を示す遺伝子群として存在することが知られる HGA 主要外被膜タンパク質遺伝子 *p44/msp2* 遺伝子を PCR 増幅し，さらに大腸菌に TA クローニングして，これを鋳型として DNA 配列を決定した。この配列を用いて既報の欧米あるいは日本由来配列との遺伝系統解析を行った。

【結果・考察】イルクーツク，ハバロフスク，モンゴルにおけるボレリアと HGA の保有率は，それぞれ 15%~55%，0~13%，共感染率は 0~4.7%であった。イルクーツクでは地域により HGA の保有率が大きく異なったが，ボレリアの保有率には違いがみられなかった。共感染率が低いことから，保有動物は両病原体で異なることが示唆された。16S rDNA 配列は欧米由来 HGA 配列と完全に一致した。一方，日本のシカとイノシシ由来 HGA とされる配列とは異なっていた。多型性を示す *P44/msp2* 遺伝子配列解析から極東アジアのシュルツェマダニ由来配列には，日本のマダニ由来配列，並びに最近高知で見いだされた不明熱患者由来の配列と近縁なものが存在することが明らかとなり，ユーラシア大陸と日本の間で HGA の拡散があったことが示唆された。

次世代シーケンス技術を活用したマダニ保有菌種組成解析：邱 永晋，中尾 亮，大沼愛子，杉本千尋（北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター）

マダニは，様々な病原体を保有・媒介し，公衆衛生上極めて重要な節足動物の一つである。マダニ保有微生物叢の解明は潜在的な感染症発生の可能性やリスクの評価ならびに流行の予測など新興のマダニ媒介性感染症の先回り対策として重要である。

本研究では，北海道で採集した *Ixodes ovatus* (IO) と静岡県で採取された *I. ovatus*, *I. persulcatus* (IP), *Haemaphysalis flava* (HF) を材料に，次世代シーケンス技術を利用してマダニ保有細菌叢の解明と比較解析を行った。北海道内採集した IO は，雌雄別に 10 匹をプールし全虫体から DNA を抽出した。静岡のマダニは唾液腺を摘出し個別に DNA 抽出を行った。ユニバーサルプライマーを用いて各 DNA サンプルから細菌の 16SrDNA の V1-3 領域のアンプリコンを作製し，解析には 454 GS junior (Roche 社) を利用した。得られた配列情報をデータベースに参照することで保有細菌の同定を行った。

北海道のマダニからは合計 107 種類の細菌属が検出された。主成分分析により雌雄で細菌種組成が異なることが示唆された。特に、*Coxiella* 属は雌に多く、このような細菌群はマダニの一方の性に適応してきたと考えられる。

静岡のサンプルからは、IO で 70 種類、IP で 126 種類、HF で 65 種類の細菌属が検出された。この中には既知の病原体が属する Ehrlichia, Rickettia 属も含まれていた。比較解析の結果、マダニ種間で保有細菌叢に違いがあることが示唆された。また、IP のメスでは 56.3% が属レベルでは同定できず、新規の細菌群が含まれている可能性が高いと予想された。

マダニ媒介性フレボウイルスの検出: 中尾 亮¹, 梶原将大¹, 松野啓太², 邱 永晋¹, 森 亜紀奈¹, 海老原秀喜², 高田礼人¹, 杉本千尋¹ (¹北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター, ²米国立アレルギー感染症研究所)

昨年、西日本で SFTS ウイルス (重症熱性血小板減少症候群ウイルス) の存在が確認された。フレボウイルスに属する本ウイルスは、様々な動物に感染することが知られており、本邦における浸淫状況とその自然宿主や媒介マダニ種の調査が急がれる。一方で、マダニ媒介性フレボウイルス全体では、SFTS ウイルスの他、アメリカ合衆国で SFTS 様の疾病を引き起こしたハートランドウイルス、ヨーロッパを中心に分布するバンジャウイルス、海鳥や渡り鳥に付着するマダニから検出されるウークニエミウイルスなど、複数の種が知られている。しかしながら、本邦におけるこれらマダニ媒介性フレボウイルスの分布状況はほとんど分かっていない。そこで本研究では、北海道で採集された 2 属 4 種のマダニ (*Haemaphysalis japonica*, *H. megaspinosa*, *Ixodes ovatus*, *I. persulcatus*) の計 120 個体から RNA を抽出し、広範なフレボウイルスを検出可能なプライマーセットを用いてウイルス遺伝子の検出を試みた。RT-PCR 試験の結果、3 個体の *I. persulcatus* サンプルが陽性となった。PCR 増幅産物のダイレクトシーケンスにより得られた塩基配列は、フレボウイルスに属する Uriurana ウイルスの L セグメントと 71% の相同性を示した。現在、当該ウイルスの分離を試みており、SFTS ウイルスを含む既知のフレボウイルスとの系統学的位置関係を明らかにするとともに、哺乳動物に対する病原性の有無を検証する予定である。

後 記

今年は、昨年の徳島県阿南市での 20 回記念大会を終えた後、新たな出発となる 21 回目の開催、思い切り北国として北海道の稚内市でした。現地の方は「日本のてっぺん」と言われるようですが、その西海岸で水平線にそそり立つ利尻島を眼近にした少年自然の家にお世話になりました。周辺の民宿に寝泊まりされた方も多く、朝な夕なの利尻富士を拝むことができました。遠路北辺までどれだけの方が集まっていたか、組織委員および運営に全面協力いただきました北海道の関係者の一抹の不安を払拭するように 70 名余の参加があり、最も案じてました風雨にもならず、最北の周氷河地形に囲まれて 3 日間を悠々と過ごすことができ、盛会でありました。

参加者から出された各話題は、ダニ関連のフィールド調査、臨床 (内科と皮膚科)、基礎実験など内容にしたがってワークショップに分類されて発表討議が行われたほか、特別ワークショップとして「SFTS 元年を迎えて」が企画され、遠く九州地区の何人もの方々か

ら講演（初期にはつきものの裏話も含め）をいただき、文字通り、新たな研究対象を迎えて熱気が満ちたことでした。加えて、周氷河地形を巡る疫学ツアーでは罷（ヒグマ）の目線を感じつつも山盛りのシュルツェマダニを抱え込み、フィールドの先達、間宮林蔵が立つ宗谷岬では、史上初？最北端記念碑に全員がよじ登って集合写真という偉業も成し遂げました。この日採れたマダニ（撮像含む）や野鼠は、各位の研究やご講演に大いに役立つことになっているであります。

さて来年は、大宰府（ホスト：吉田真一先生）での開催、ひょっとして学問の神様大会などと呼ばれそうですが、参加さえいただければ賢くはなれる大会でありますので、各位におかれましては、ご関係をお誘い合わせの上、奮ってご参加下さい。

（文責 高田）

[集合写真]



[スナップ写真]



