

県立大島病院, ¹⁰⁾ 宮崎大学医学部

「第4回日本リケッチア症臨床研究会・第18回リケッチア研究会合同研究発表会

(平成24年2月12日 大阪市中央区)」

2008年6月に沖縄県宮古島市において沖縄県初となるツツガムシ病が確認され、現在までに4例の発生が認められている。2008年10月から2011年7月までに宮古列島(宮古島, 池間島, 来間島, 伊良部島, 多良間島)において計10回の野外調査が行われた。調査の結果, 患者の発生やベクター種として疑われる *Leptotrombidium deliense* (*Ld*) の浸潤および *Orientia tsutsugamushi* (*Ot*) を保有するネズミの分布は, 宮古列島のなかでも池間島との関連がみられている。また, 患者から検出された *Ot* の遺伝子配列が台湾系の株と一致したことや日本本土とは異なる *Ld* という東南アジアにおける主要ベクター種の浸潤を確認したことから, 池間島における本疾病の感染環が注目された。

今回, これまでの調査に関連してネズミと *Ld* から検出あるいは分離された *Ot* について, 56kDa 抗原領域の遺伝子系統解析および Multi Locus Sequence 解析 (MLSA) を行った。

45頭中13頭(クマネズミ11頭, ドブネズミ2頭)から *Ot* が分離され, ドブネズミ1頭から *Ot* の遺伝子のみが検出された。また, *Ld* の付着を認めた35頭中クマネズミ1頭から回収した *Ld* から *Ot* が分離され, これまでの調査ではじめて *Ld* からの分離に成功した。さらに, 分離は陰性であったが, 他のクマネズミ2頭から回収された *Ld* から *Ot* 遺伝子が検出された。これらの検出例はいずれも宮古列島の中の池間島で捕獲されたネズミに由来するものであった。

56kDa 抗原領域の遺伝子系統解析では, 池間島という限られた地域から分離・検出されたにも関わらず, 4つのグループに分類され, それぞれ台湾系 Gilliam 株, Saitama 株, Karp 株, タイの TA678 株に一致または近縁であった。タイの TA678 株に近縁なグループは, *Ld* から *Ot* 遺伝子が検出されたが分離株は得られなかった。

56kDa 抗原は表層抗原であり, それをコードする遺伝子は株間でバリエーションが著しい。また, 外環境にさらされるため遺伝子配列が一度に大きく変化する可能性があり, 進化系統を正確に反映

しないと考えられる。今回, より正確な *Ot* の進化系統を明らかとするため, 分離株の得られた3つのグループについて house keeping 遺伝子を用いた MLSA を行った。

その結果, *Ld* 由来株を含めたすべての株は, Kato, Ikeda に近縁であったが, これらを含めて国内で分離されている主要株とは異なる一つのクラスターを形成した。これらの株はさらに3つのサブクラスターを形成し, 有意な配列多様性を示すことも明らかとなった。さらに, MLSA により形成された各サブクラスター内の 56kDa 抗原領域の遺伝子は一致していることも明らかとなり, 少なくとも 56kDa 外膜蛋白の異なる3種のクローンが池間島に混在していると考えられる。

56kDa 抗原領域の遺伝子解析から, 患者は台湾系 Gilliam 株に近縁な *Ot* に感染したと推定されている。今回分離された *Ld* 由来株は 56kDa 抗原領域の遺伝子解析では Saitama 株に近縁で, *Ld* がベクターであるという直接的証拠は得られなかった。しかし, 池間島で分離された株は MLSA で同じクラスターを形成しており, *Ld* をベクターとして複数のサブクラスターの *Ot* が共進化している可能性が高い。今後さらに調査を継続し, 宮古島列島における本疾病の感染環や東南アジアとの疫学的関連を明らかにする必要がある。

○宮古島の恙虫病に関する調査—池間島のネズミとツツガムシから検出された病原体—

・北野智一¹⁾, 平良勝也, 岡野祥²⁾, 角坂照貴³⁾, 藤田博己⁴⁾, 高田伸弘⁵⁾, 高橋守⁶⁾, 安藤秀二, 高野愛, 川端寛樹⁷⁾, 御供田睦代⁸⁾, 本田俊郎⁹⁾, 林哲也, 山本正悟¹⁰⁾

¹⁾宮崎県衛生環境研究所, ²⁾ 沖縄県衛生環境研究所, ³⁾ 愛知医科大学, ⁴⁾ 大原総合病院附属大原研究所, ⁵⁾ 福井大学, ⁶⁾ 埼玉医科大学, ⁷⁾ 国立感染症研究所, ⁸⁾ 鹿児島県環境保健センター, ⁹⁾ 鹿児島県立大島病院, ¹⁰⁾ 宮崎大学医学部

「第19回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー (SADI) つつがの里大会 2011

(平成23年11月3日~5日 広島県安芸太田町)」

2008年6月に, 沖縄県で第1例目のツツガムシ病が宮古島市で発生した。これを受けて, 2008年10月から2011年7月までに宮古列島(宮古島,

池間島, 来間島, 伊良部島, 多良間島) で計 10 回の調査が行われ, 患者の発生やベクター種として疑われる *Leptotrombidium deliense* (*Ld*) の浸潤, さらには *Orientia tsutsugamushi* (*Ot*) を保有するネズミの分布は, 宮古列島のなかでも池間島との関連がみられている。また, 患者から検出された *Ot* の遺伝子配列が台湾系の株と一致したことや *Ld* という東南アジアにおける主要ベクター種の浸潤を確認したことから, その感染環が注目されている。

今回, 2010 年 7 月以降の調査でネズミと *Ld* から検出あるいは分離された *Ot* について, 56kDa 抗原領域の遺伝子系統解析および Multi Locus Sequence 解析 (MLSA) を行った。

45 頭中 13 頭 (クマネズミ 11 頭, ドブネズミ 2 頭) から *Ot* が分離され, ドブネズミ 1 頭から *Ot* の遺伝子のみが検出された。また, *Ld* の付着を認めた 35 頭中クマネズミ 1 頭から回収した *Ld* から *Ot* が分離され, これまでの調査ではじめて *Ld* からの分離に成功した。さらに, 分離は陰性であったが, 他のクマネズミ 2 頭から回収された *Ld* から *Ot* 遺伝子が検出された。これらの検出例はいずれも宮古列島の中の池間島で捕獲されたネズミに由来するものであった。

56kDa 抗原領域の遺伝子系統解析では, 池間島という限られた地域から分離・検出されたにも関わらず, 4 つのグループに分類され, それぞれ台湾系 Gilliam 株, Saitama 株, Karp 株, タイの TA678 株に一致または近縁であった。タイの TA678 株に近縁なグループは, *Ld* から *Ot* 遺伝子が検出されたのみで分離株は得られなかった。

56kDa 抗原は表層抗原であり, それをコードする遺伝子は株間でバリエーションが著しい。また, 外環境にさらされるため遺伝子配列が一度に大きく変化する可能性があり, 進化系統を正確に反映しないと考えられるため, 今回, 分離株の得られた 3 つのグループについて MLSA を行った。その結果, *Ld* 由来株を含めたすべての株は, Kato, Ikeda に近縁であったが, これらを含めて国内主要株とは異なる一つのクラスターを形成した。これらの株はさらに 3 つのサブクラスターに別れ, 各サブクラスターは, 56kDa 抗原領域の遺伝子解析で示されたグループと一致し, 現在, 最低でも 3 種のクローンが池間島に混在していると考えら

れる。

56kDa 抗原領域の遺伝子解析から, 患者は台湾系 Gilliam 株に近縁な *Ot* に感染したと推定されている。今回分離された *Ld* 由来株は 56kDa 抗原領域の遺伝子解析では Saitama 株に近縁で, *Ld* がベクターであるという直接的証拠は得られなかった。しかし, 池間島で分離された株は MLSA で同じクラスターを形成しており, *Ld* をベクターとして複数のサブクラスターの *Ot* が共進化している可能性が高い。今後さらに調査を継続し, 宮古島列島における本疾病の感染環や東南アジアとの疫学的関連を明らかにする必要がある。

○衛生環境研究所における呼吸器系 RNA ウイルスの遺伝子検査法について 新型インフルエンザを否定された症例における呼吸器系ウイルスの検索

・北野智一 三浦美穂 櫻井涼子 山本正悟
「宮崎小児感染症研究会学術講演会
(平成 23 年 9 月 29 日 宮崎市)」

2009 年 4 月 28 日, 日本政府が新型インフルエンザの発生を宣言した。以降, スクリーニング検査や臨床症状から新型インフルエンザが疑われる症例の検体が急激に増加し, 検査対応に追われた。検査対応としては, リアルタイム PCR 法を用いた遺伝子検出により迅速に結果を還元するとともに, 細胞培養法による検体からの病原体分離も同時に行ってきた。

2009 年度, リアルタイム PCR 法で検査した患者数は, のべ 754 名であり, 498 名については, 新型インフルエンザまたは A 香港型の遺伝子が検出され, うち 467 名からインフルエンザウイルスが分離された。一方, 256 名については, その多くが発熱や呼吸器症状を呈していたにも関わらず, 遺伝子検査と病原体分離ともに陰性となった。そこで今回, これらの遺伝子検査と病原体分離ともに陰性となった例について病因を明らかとするため, ヒト RS ウイルス (hRSV), ヒトメタニューモウイルス (hMPV), ヒトライノウイルス (hRV), パラインフルエンザウイルス 1 型から 4 型 (PIV-1,-2,-3,-4), ヒトコロナウイルス OC43 および 229E (HCoV) の 9 種類の呼吸器系 RNA ウイルスの遺伝子検索を行った。

インフルエンザが否定された 207 検体中 61 件