

## 雄物川流域におけるツツガムシの生息状況とツツガムシ病病原体

*Orientia tsutsugamushi* の検索（平成21年の調査成績）

佐藤寛子 佐藤了悦 柴田ちひろ 斎藤博之 安部真理子 齊藤志保子 高橋守<sup>\*1</sup>  
 藤田博己<sup>\*2</sup> 角坂照貴<sup>\*3</sup> 高田伸弘<sup>\*4</sup> 川端寛樹<sup>\*5</sup> 高野愛<sup>\*5</sup> 国生泰範<sup>\*6</sup> 須藤恒久<sup>\*7</sup>

平成20年8月、秋田県においては15年ぶりとなるアカツツガムシ媒介性ツツガムシ病患者の発生が確認された。このことから翌平成21年、われわれは感染推定地点を含む雄物川流域において、ツツガムシの生息調査とツツガムシ病病原体*Orientia tsutsugamushi*の検索を実施した。その結果、アカツツガムシの生息を確認し、捕獲した野鼠からKato型*Orientia tsutsugamushi*を検出、分離した。雄物川流域では毎年8月、全国から観光客が集まる大規模イベントが開催されているが、その会場内においてもアカツツガムシの生息を確認した。今後も当該地域におけるツツガムシの生息調査と病原体の実態把握に努め、得られたデータを地域社会へフィードバックするとともに、夏季のツツガムシ病の発生に関する全国的な啓発も必要であると考えられた。

## 1. はじめに

ツツガムシ病はツツガムシ病病原体*Orientia tsutsugamushi*(*O.tsutsugamushi*)を保有するツツガムシの幼虫に刺咬されることにより発症する急性感染症で、届出を要する四類感染症に含まれる。テトラサイクリン系の薬剤治療が有効であり、予後は比較的良好であるが、治療が遅れた場合は播種性血管内凝固症候群などの重篤な症状を呈し、場合によっては死に至ることもあるため<sup>1,2)</sup>、初期の診断と治療が重要となる。我が国における患者発生は、全都道府県を合わせると年間400例前後あり、5～6月と11～12月の2つの時期に集中している<sup>3)</sup>。夏季に発生するツツガムシ病は、アカツツガムシが媒介するKato型*O.tsutsugamushi*によるものとされ、かつて本県の他に山形、新潟県で多発する風土病とされていた歴史がある<sup>4,5)</sup>。しかし、近年は全国的にKato型*O.tsutsugamushi*による患者発生や当該病原体検出の報告はなく<sup>6,7)</sup>、秋田県においては平成5年の患者発生が最後であった。ところが平成20年8月、血清診断の結果からアカツツガムシ媒介性ツツガムシ病が強く疑われる患者が確認された<sup>8)</sup>。患者は発病の9日前、かつて夏季に多くの患者報告があった大仙市大曲の雄物川河川敷で

釣りをしていたことが判明した。このことを受けて、翌平成21年、われわれは感染推定現場のツツガムシ生息調査と病原体の検索を行ったので報告する。

## 2. 方法

## 2.1 調査時期

平成21年4月24日、7月10日、8月6日、8月27日の計4回実施した。

## 2.2 調査地点

- ①平成21年4月24日 大仙市角間川大中島（感染推定地点）、木内、大曲門目地区
- ②平成21年7月10日 大仙市角間川大中島、川目、大曲長戸呂地区
- ③平成21年8月6日 大仙市角間川大中島
- ④平成21年8月27日 大仙市角間川大中島、川目、大曲西根地区（雄物川河川緑地公園）

## 2.3 調査方法

## 2.3.1 野鼠の捕獲

野鼠の捕獲はシャーマントラップを用いた生け捕りによった。1地点あたり20～50個のトラップを午後3時から5時頃までに設置し、翌朝、回

<sup>\*1</sup>埼玉県立川越高等学校、<sup>\*2</sup>大原総合病院附属大原研究所、<sup>\*3</sup>愛知医科大学医学部、<sup>\*4</sup>福井大学医学部、<sup>\*5</sup>国立感染症研究所、<sup>\*6</sup>秋田厚生連平鹿総合病院、<sup>\*7</sup>秋田大学

収した。

### 2.3.2 野鼠の処理

捕獲した野鼠は種別、性別、体重を記録した後、麻酔屠殺し、心臓穿刺による採血を行い、脾腫の確認と摘脾を行った。脾臓は使用時までドライアイスで凍結した。トラップ内で死亡していた野鼠については採血を行わなかった。

### 2.3.3 ツツガムシの捕集と同定

野鼠個体を持ち帰り、懸垂法<sup>9)</sup>によりツツガムシを捕集し、種別を同定した。また、地表面からのツツガムシ幼虫の直接採取は黒布見取り法<sup>10)</sup>により行った。

## 2.4 *O. tsutsugamushi*の検索

### 2.4.1 野鼠血清抗体価の測定

野鼠の血液は3,000 rpmで遠心後、血清を分離し、須藤の方法による間接免疫ペルオキシダーゼ (IP) 法<sup>11)</sup>に準じて *O. tsutsugamushi* 6抗原 (Gilliam, Karp, Kato, Irie/Kawasaki, Hirano/Kuroki, Shimokoshi型) に対する抗体価を測定し、抗体価10倍以上を示した場合を陽性と判定した。

### 2.4.2 野鼠脾臓からの *O. tsutsugamushi* のDNA検出と分離

野鼠脾臓は磨砕した後、SPG (sucrose phosphate-glutamic acid) 液で10%乳剤とし、この試料についてマウスへの接種とPCRを行った。発症が認められたマウスの脾臓を野鼠の場合と同様のSPG乳剤とし、L929細胞に接種して培養を行った。未発症マウスについては、さら

に2回継代し、その脾臓についてPCRを実施した。マウス接種は、国立感染症研究所病原体検出マニュアルの病原体検出法<sup>12)</sup>に準拠し、ICRマウス (8週齢) を用いて行った。細胞培養は藤田の方法<sup>13)</sup>に準じ実施した。PCRはQIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN社) を用いてDNA抽出を行い、これを鋳型として *O. tsutsugamushi* の56 kDa外膜蛋白遺伝子を標的にしたFuruyaらの方法<sup>14,15)</sup>に準じた。

## 3. 結果

### 3.1 野鼠の捕獲およびツツガムシ採取の結果

野鼠の捕獲総数は48頭であり、種別ではアカネズミ39頭とハタネズミ9頭であった。そのうち、アカネズミ13頭、ハタネズミ9頭から3属6種のツツガムシ幼虫を採取した。その内訳はフトゲツツガムシ182、アカツツガムシ115、アラトツツガムシ43、ヒゲツツガムシ45、タミヤツツガムシ110、サダスクガーリエップツツガムシ2であった (表1)。なお、アカツツガムシは7月と8月上旬の調査における捕獲野鼠と地表に認められた。

### 3.2 *O. tsutsugamushi*の検索結果

#### 3.2.1 野鼠血清抗体価

表2に各抗原に対する血清抗体価が10倍以上であった野鼠の個体数を示す。抗体陽性であったのは7月と8月上旬に捕獲した10頭で、そのうち7月の2頭と8月上旬の3頭のアカネズミがGilliam型に対する抗体価が他型より有意に高く、8月上旬に捕獲した2頭のハタネズミがKato型に対する抗体価が有意に高かった。抗体陽性の残り3

表1 捕獲した野鼠の種別と寄生ツツガムシ数

| 野鼠種別            | 調査月日 |      |     |      | 計   |
|-----------------|------|------|-----|------|-----|
|                 | 4/24 | 7/10 | 8/6 | 8/27 |     |
| アカネズミ           | 12   | 19   | 7   | 1    | 39  |
| ハタネズミ           | 1    | 0    | 1   | 7    | 9   |
| フトゲツツガムシ        | 112  | 0    | 20  | 50   | 182 |
| アカツツガムシ         | 0    | 5    | 81  | 29   | 115 |
| アラトツツガムシ        | 32   | 2    | 2   | 7    | 43  |
| ヒゲツツガムシ         | 45   | 0    | 0   | 0    | 45  |
| タミヤツツガムシ        | 110  | 0    | 0   | 0    | 110 |
| サダスクガーリエップツツガムシ | 0    | 0    | 0   | 2    | 2   |

表2 捕獲野鼠の血清中 *O. tsutsugamushi* 抗体陽性数

|      | 捕獲<br>野鼠 | 抗体価<br>(IP)<br>10 以上 | 抗原      |      |      |                   |                   |            |     |
|------|----------|----------------------|---------|------|------|-------------------|-------------------|------------|-----|
|      |          |                      | Gilliam | Karp | Kato | Irie/<br>Kawasaki | Hirano/<br>Kuroki | Shimokoshi | UT* |
| 4/24 | 13       | 0                    | 0       | 0    | 0    | 0                 | 0                 | 0          | 0   |
| 7/10 | 19       | 5                    | 2       | 0    | 0    | 0                 | 0                 | 0          | 3   |
| 8/6  | 8        | 5                    | 3       | 0    | 2    | 0                 | 0                 | 0          | 0   |
| 8/27 | 8        | 0                    | 0       | 0    | 0    | 0                 | 0                 | 0          | 0   |

\*UT：型別不可：有意差（抗体価 4 倍以上）なし

表3 野鼠の脾臓PCRと分離培養結果

| 捕獲月日 | 野鼠<br>捕獲数 | 野鼠種別  | 性別 | 体重<br>(g) | 脾臓 PCR  | 分離培養                  | Ot* <sup>1</sup> 抗体価 |
|------|-----------|-------|----|-----------|---------|-----------------------|----------------------|
| 4/24 | 13        | アカネズミ | ♀  | 37        | —       | Gilliam* <sup>2</sup> | 10 未満                |
|      |           | アカネズミ | ♂  | 37        | Gilliam |                       | 10 未満                |
|      |           | アカネズミ | ♂  | 31        | —       |                       | NT* <sup>3</sup>     |
|      |           | アカネズミ | ♀  | 33        | —       |                       | NT* <sup>3</sup>     |
| 7/10 | 19        | アカネズミ | ♀  | 36        | Gilliam | Gilliam               | 160 倍<br>(Gilliam)   |
| 8/6  | 8         | —     | —  | —         | —       | —                     | 10 未満                |
| 8/27 | 8         | ハタネズミ | ♂  | 27        | —       | Kato                  | 10 未満                |
|      |           | ハタネズミ | ♀  | 35        | Kato    | —                     | 10 未満                |
|      |           | ハタネズミ | ♀  | 17        | Kato    | Kato                  | 10 未満                |

\*1: *Orientia tsutsugamushi* \*2: 脾臓プール \*3: NT: 死亡個体により採血不可

頭は7月の捕獲個体で、Gilliam, Karp, Katoの3抗原に対し、2個体が20～40倍、1個体が80～160倍であった。よって、抗原の種類間での有意な抗体価の違いが認められず、血清型別は特定できなかった。

### 3.2.2 野鼠脾臓からの *O. tsutsugamushi* のDNA検出と分離結果

表3に野鼠脾臓におけるPCRあるいは分離培養が陽性であった個体を血清抗体価と共に示す。4月の調査では捕獲した野鼠13頭のうち、抗体陽性の個体は0であったが、PCRで1頭のアカネズミがGilliam型陽性であり、その1頭を含む4頭のアカネズミ脾臓プールからGilliam型を分離した。7月の調査では、Gilliam型の抗体が陽性であったアカネズミ1頭から同型をPCRにより検出、分離した。8月上旬の調査では捕獲した8頭は全てPCR

陰性であり、分離もできなかった。8月下旬の調査では、捕獲した8頭は全て抗体陰性であったが、2頭のハタネズミからPCRにおいてKato型を検出した。また、PCR陽性であったハタネズミ2頭のうち1頭から、陰性であったハタネズミ1頭から、それぞれKato型を分離した。さらに、感染推定現場より下流の河川公園においても多くのアカツツガムシを黒布見取り法により確認し得た。

## 4. 考察

江戸時代から記録が残る夏季発生のアカツツガムシ媒介性ツツガムシ病は近年患者報告がなく、アカツツガムシは消滅したと考えられるとする報告もある<sup>16)</sup>。しかし、今回の調査により本県では15年ぶりに発生した平成20年の同疾患患者の感染推定地点とその周辺地域で多くのアカツツガムシの生息を確認し、捕獲した野鼠脾臓から

アカツツガムシが特異的に保有するKato型を分離したことから、同地域には現在も *O. tsutsugamushi* を保有するアカツツガムシが生息していることが裏付けられた。また、感染推定現場より下流に位置する河川公園では毎年8月に全国から観光客が集まる大きなイベントが開催されているが、我々はその会場でも多数のアカツツガムシの生息を確認した。昭和51年以降の記録によれば秋田県内ではイベントへの参加が感染要因とされているツツガムシ病患者が、19人（主催者側スタッフ4人、立ち入り業者1人、観客14人）届出されている。その届出は平成3年を最後に途絶えていたが、平成20年に同河川域で患者が発生している事実と今回の調査結果から、再びイベント会場への立ち入りを原因とする患者が発生する可能性が示唆された。よって今後も過去に患者報告のある雄物川流域の調査を継続し、現在の病原体保有アカツツガムシの生息状況の実態を把握すると共に、秋田県内はもちろん、全国的な夏季のツツガムシ病の周知と医療機関へ向けての情報提供が重要であると考えられる。さらに、今後イベント開催地の自治体へも情報を提供しつつ、当センターと地元自治体が連携し観光客に向けての啓発と感染予防対策の実施が望まれる。

また、ツツガムシの活動期は環境温度に左右され、Gilliam型を媒介するフトゲツツガムシ幼虫の活動期は秋から初冬・翌春とされている<sup>17)</sup>。事実、本県においては5～6月と11月頃にその患者報告があり、このことはフトゲツツガムシ幼虫の活動期と合致している。しかし、今回の調査ではフトゲツツガムシが8月にも確認され、7月に捕獲した野鼠脾臓からGilliam型を分離した。このことから、この調査地域においては、古くから言われているアカツツガムシに加え、フトゲツツガムシも夏季に活動していて、病原体媒介に関係していることが明らかとなった。

今回の調査結果から、今後も当該地域におけるツツガムシ生息調査と病原体保有状況などの基礎データを収集し、地域社会へのフィードバックと共に、より積極的ツツガムシ病の啓発活動の実施が喫緊の課題であると考えられた。

## 参考文献

- 1) 須藤恒久：新ツツガムシ病物語，無明舎出版，1991，22.
- 2) 大谷勝実，村山尚子，早坂晃一，小川正見，木村淳：つつが虫病による死亡例-山形県，病原微生物検出情報，**22**，9，2001，216-217.
- 3) 国立感染症研究所感染症情報センター：つつが虫病・日本紅斑熱 2006～2009，病原微生物検出情報，**31**，5，2010，1.
- 4) 佐々学：恙虫と恙虫病，医学書院，1956.
- 5) 須藤恒久：ツツガムシ病を暴く，秋田魁新報社，1996，5-7.
- 6) 古屋由美子，片山丘：つつが虫病原体の知見ーより良い検査に向けてー，ダニと新興再興感染症，全国農村教育協会，2007，141-145.
- 7) 大谷勝実，金子紀子，青木敏也，村田敏夫：山形県で発生したKawasaki型つつが虫病，感染症誌，**83**，5，2009，496-499.
- 8) 佐藤寛子，國生泰範，柴田ちひろ，斎藤博之，斎藤志保子，藤田博己，須藤恒久：秋田県において15年ぶりに確認された古典型つつが虫の1例，感染症誌，**84**，4，2010，454-456.
- 9) 高田伸弘：病原ダニ類図譜，金芳堂，1990，94.
- 10) 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，**42**，1999，11-25.
- 11) 我が国における最近のつつが虫の現状と早期迅速診断法ー特に免疫ペルオキシダーゼ反応による三型IgG,IgM抗体の完全同時測定法についてー，臨とウイルス，**11**，1，1983，25-28
- 12) 国立感染症研究所(レファレンス委員会)地方衛生研究所全国協議会：リケッチア感染症診断マニュアル，平成12年
- 13) 藤田博己：過去15年における培養細胞を用いた病原体分離法の改良と実績．大原総合病院年報，2008，**48**：21-42
- 14) Furuya Y, et al.: Specific amplification of *Rickettsia tsutsugamushi* DNA from clinical specimens by polymerase chain reaction, J. Clin. Microbiol., **29**，11，1991，2628-2630.
- 15) Furuya Y, et al.: Serotype-specific amplification *Rickettsia tsutsugamushi* DNA by nested polymerase chain reaction, J. Clin. Microbiol., **31**，6，1993，1637-1640.
- 16) 国立感染症研究所感染症情報センター：感染

症の話 ツツガムシ病, 2002年第13週号

17)田原研司, 山本正悟: つつが虫病ー多種多彩

な疫学ー, ダニと新興再興感染症, 全国農村教育協会, 2007, 152.