

東京都におけるつつが虫病リケッチアの検出状況（2020年度から2022年度）

原田 幸子^a, 熊谷 遼太^a, 糟谷 文^a, 天野 有紗^a, 岡田 若葉^a, 矢尾板 優^a,
鈴木 愛^b, 長谷川 道弥^a, 森 功次^c, 三宅 啓文^d, 長島 真美^a, 貞升 健志^d

2020年4月から2022年3月までに東京都内の保健所（主に伊豆諸島）で採取されたツツガムシ病患者21検体について、*Orientia tsutsugamushi* 特異的56KDaポリペプチドコード領域のnested-PCR検査を行った。PCR陽性のものは塩基配列を決定し、系統樹解析を行った。その結果、21検体中16検体から*O. tsutsugamushi* 遺伝子が検出され、伊豆諸島の*O. tsutsugamushi* は3つの血清型に分類された。各島における*O. tsutsugamushi* の血清型分類の結果、伊豆大島ではKarp株とKawasaki株、三宅島、御蔵島、式根島ではKuroki株、新島ではKawasaki株が検出され、島しょ部でのつつが虫病は3つの異なる血清型によって引き起こされていることが示された。

キーワード：つつが虫病リケッチア，ツツガムシ，*Orientia tsutsugamushi*，tick-borne disease，rickettsiosis，

はじめに

つつが虫病は、4類感染症に指定されている全数把握疾患であり、*Orientia tsutsugamushi* を病原体とするリケッチア症である。ダニの一種のつつが虫によって媒介され¹⁾、感染すると発熱、発疹、全身倦怠感、頭痛、リンパ節腫脹などの症状を認める。血清型は、Kato, Karp, Gilliam型の標準3血清型の外に、Kawasaki, Kuroki, Shimokoshi型を含む6種類の血清型が確認されている²⁾。

ツツガムシの種類によって媒介する*O. tsutsugamushi* の血清型は異なり、アカツツガムシがKato型を、フトゲツツガムシがKarp型とGilliam型を、タテツツガムシがKawasaki型とKuroki型を、ヒゲツツガムシがShimokoshi型を媒介することが報告されている³⁾。また、各血清型により病原性の強さに違いがある⁴⁾。つつが虫病は、近年においても死亡例が報告されており⁵⁾、今後も発生状況を注視する必要がある疾患の一つである。

東京都におけるつつが虫病は、古くから伊豆諸島の七島熱と言われる風土病として存在が知られていた。島しょ部で1950年代に大流行を起こした後、患者報告数が減少し、1970年代半ばから再び伊豆諸島からの患者発生が多くを占めてきた^{5,7)}。近年、東京都における患者発生は都内多摩地区での感染疑いの報告もあるが⁶⁾、伊豆諸島からの発生報告と検体搬入が大部分を占めている。

これまでに、*O. tsutsugamushi* の遺伝子学的解析により血清型と地理的要因との関連を示唆してきた⁹⁾。そこで、2020年度から2022年度に、弊所に検体が搬入された*O. tsutsugamushi* の検出状況と地域別の解析を試みたのでその結果を報告する。

実験方法

1. 供試材料

2020年4月から2023年3月までの間に、積極的疫学調査事業において都及び区の保健所より搬入されたつつが虫病疑い患者21例から採取された血液及び痂皮、31検体（2020年度が5検体、2021年度が10検体、2022年度が16検体）を検査材料とした（表1）。

2. 核酸抽出

全血及び血清は400 µLを核酸抽出に供した。痂皮は500 µLのPBSを加え、電動ディスポーサブルマイクロミキサーにて粉碎後5,300 g（8,000 rpm）で10分間遠心分離を行い、その上清400 µLを核酸抽出の試料としてQIAamp DNA mini Kit（QIAGEN）を用いて核酸を抽出した。

3. 遺伝子検査

抽出した核酸について、リケッチア感染症診断マニュアルに記載の*O. tsutsugamushi*共通プライマーを用いたNested PCRを実施した⁸⁾。すなわち、56KDaのポリペプチドを検出するプライマー34'/55'のプライマーペアに、Simokoshi型を考慮したSH6プライマーを加え1stPCRを実施し、10m2/11'及び10'/11'のプライマーペアを用いて2ndPCRを実施した。PCR反応条件は、98°C3分の後、94°C30秒、57°C1分、72°C1分を35回繰り返す、最終伸長反応を72°C7分とした。PCR反応液にはExTaq（TaKaRa）を用い、得られたPCR産物はQIAquick PCR Purification Kit（QIAGEN）を

^a 東京都健康安全研究センター微生物部ウイルス研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

^b 東京都健康安全研究センター微生物部食品微生物研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

^c 東京都健康安全研究センター微生物部病原細菌研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

^d 東京都健康安全研究センター微生物部

用いて精製し、Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequence Kit (Applied Biosystems) によるシーケンス反応を行った。反応産物は、Centri-Sep Columns (PRINCETON SEPARATIONS) を用いて精製し、3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) で塩基配列を決定した。

4. 系統樹解析

得られた塩基配列は、MEGA10⁹⁾を用いて最尤法⁹⁾により、分子系統解析(485塩基)を行った。各系統の参照配列としてKarp株系統M33004, AF173043, AF173176, AF302987, Gilliam株系統DQ485289, Kato株系統M63382, Kawasaki株系統M63383, Kuroki株系統M63380,

Shimokoshi株系統M63381を使用した。

結果および考察

1. 検査件数及びO.tsutsugamushi遺伝子検出状況

供試検体21例31検体のうち、10検体が陰性となった(表1)。また、島しょ部からの検体は17例を占め、5つの島からの検体搬入が確認された(表1)。搬入された患者の年齢階層は、20代後半から70代で中高年に偏りがみられ、特に、50代以降が多かった(表1)。

表 1. 東京都健康安全研究センターに搬入されたつつが虫病疑い患者情報、搬入検体および検出病原体

検出年度	検体搬入月	患者	年齢	性別	検体種	推定感染地域	検出病原体
2020	11月	A	70	女	血液	伊豆大島	Kawasaki株
		B	27	男	血液	伊豆大島	Karp株
	12月	C	67	女	血液	伊豆大島	Kawasaki株
		D	74	男	血液	御蔵島	Kuroki株
		E	28	男	血液	伊豆大島	Kawasaki株
2021	7月	F	62	男	痂皮		陰性
		G	70	男	血液	式根島	Kuroki株
	12月		70	男	痂皮		陰性
		H	33	男	血液	伊豆大島	Kawasaki株
		I	58	女	血液		陰性
			68	男	血液	新島	Kawasaki株
		J	68	男	血液		陰性
			68	男	血清・血漿		陰性
		K	31	女	血液	伊豆大島	Kawasaki株
		L	83	男	血液	伊豆大島	Karp株
2022	9月	M	75	男	血液	伊豆大島	陰性
	10月	N	18	男	血液	伊豆大島	陰性
		O	60	女	血液	式根島	陰性
	11月		60	女	痂皮		Kuroki株
		P	62	男	血液	式根島	Kuroki株
			62	男	痂皮		Kuroki株
	12月	Q	74	男	血液	他県	Kawasaki株
			74	男	痂皮		Kawasaki株
		R	58	女	痂皮	伊豆大島	Kawasaki株
			58	女	血液		Kawasaki株
			45	女	血液		Kuroki株
		S	45	女	痂皮	三宅島	Kuroki株
			45	女	痂皮		Kuroki株
1月	T	79	女	血液	伊豆大島	Kawasaki株	
	U	58	男	血清・血漿		陰性	
		58	男	血清・血漿		陰性	

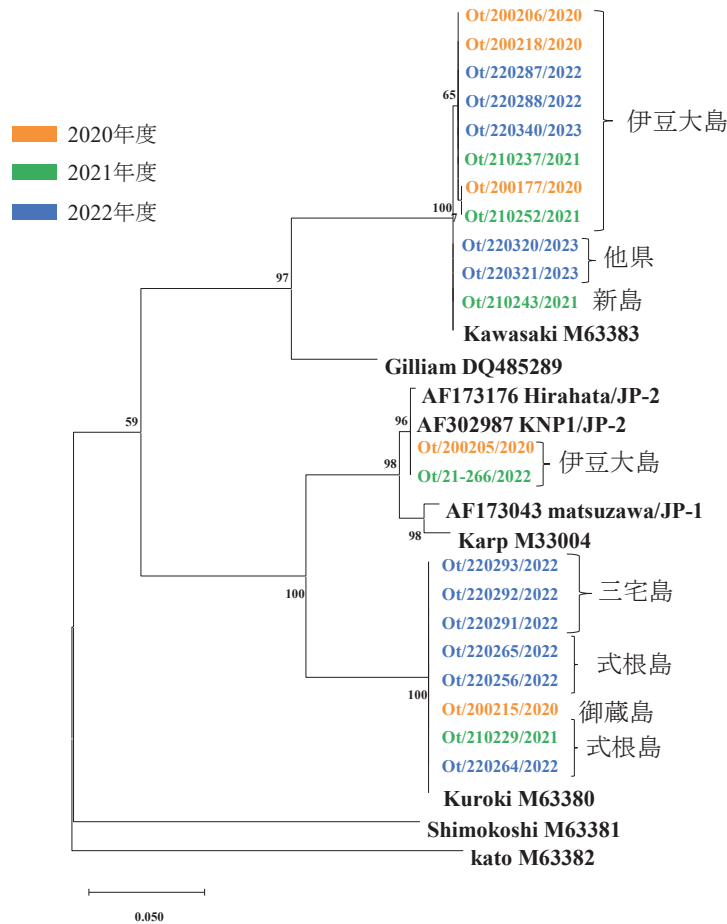


図 1. 東京都内で検出された *O.tsutsugamushi* の系統樹解析 (2020~2022 年度)

そのうち、*O.tsutsugamushi* 遺伝子が検出された検体数は 21 検体であり、陽性事例数は 16 例だった (表 1, 2)。年度別にみると、2020 年度及び 2021 年度は陽性検体数/陽性事例数が 5/5 であり、2022 年度は 11/6 であった (表 1, 2)。

感染症発生動向調査における東京都のつつが虫病の報告数は、2019 年が 12 例、2020 年は、21 例であり、2021 年は 12 例、2022 年は 14 例と 2020 年に例年よりも報告数の増加がみられた¹⁴⁾。このことは、新型コロナウイルス感染症の流行により影響を受け、多くの疾患で患者報告数が減少する中、つつが虫病については影響がなく、密を避け、山野に行くことが増加したことによる影響が考えられた。

表 2. 東京都健康安全研究センター搬入事例数と *O.tsutsugamushi* 陽性数 (2020~2022 年度)

年度	事例	検体数	陽性検体数/陽性事例数
2020	5	5	5/5
2021	7	10	5/5
2022	9	16	11/6
計	21	31	21/16

2) 推定感染地と *O.tsutsugamushi* 血清型

陽性検体の推定感染地は、伊豆大島が 9 例、三宅島が 1 例、御蔵島が 1 例、新島が 1 例、式根島が 4 例、他県が 1 例と、島しょ部での感染を疑う検体が多数を占めた (表 3)。系統樹解析の結果、それぞれ Karp 株系統が 2 例、Kawasaki 株系統が 9 例、Kuroki 株系統が 5 例であった (図 1, 表 3)。また、Karp 株系統は遺伝子型 JP-2 に属した (図 1)。

血清型ごとの推定感染地を見ると、Karp 株系統は伊豆大島から、Kawasaki 株系統は伊豆大島と新島及び他県から、Kuroki 株系統は、三宅島と御蔵島及び式根島由来の患者検体から検出された (表 1, 3)。このことから、島しょ部で

表 3. 検出された *O.tsutsugamushi* 血清型と推定感染地

推定感染地	Karp	Kawasaki	Kuroki	事例数
伊豆大島	2	7		9
三宅島			1	1
御蔵島			1	1
新島		1		1
式根島			3	3
他県		1		1
事例数	2	9	5	16

文 献

- 1) 国立感染症研究所感染症疫学センター：感染症発生動向調査週報, **13**, 2002.
- 2) 山藤栄一郎：病原微生物検出情報, **43**, 186-188, 2022.
- 3) 国立感染症研究所感染症疫学センター：病原微生物検出情報, **43**, 173-175, 2022.
- 4) Keisuke N., Ken K., Masahiro F., et al.: *DNA Res.* **17**, 281-291, 2010.
- 5) 伊藤忠彦：病原微生物検出情報, **15**, 100-102, 1994.
- 6) 森 功次, 鈴木 淳, 糟谷 文, 他：病原微生物検出情報, **43**, 178-179, 2022.
- 7) 村田道里, 野上貞雄, 白坂昭子, 他：感染症学雑誌, **54**, 235-241, 1980.
- 8) 国立感染症研究所：リケッチア感染症診断マニュアル
- 9) Kumar S., Stecher G., Li M., et al.: *Mol Biol Evol.* **35**, 1547-1549, 2018.
- 10) Tamura K. and Nei M.: *Mol Biol Evol.* **10**, 512-526, 1993.
- 11) 国立感染症研究所：発生動向調査年別報告数一覧.
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/ydata/11529-report-ja2021-20.html> (2023年7月3日現在, なお本 URL は変更または抹消の可能性がある)

Genetic analysis of *Orientia tsutsugamushi* and estimated infected areas in Tokyo (April 2020 - March 2022)

Sachiko HARADA^a, Ryota KUMAGAI^a, Fumi KASUYA^a, Arisa AMANO^a, Wakaba OKADA^a,
Yuu YAOITA^a, Ai SUZUKI^a, Michiya HASEGAWA^a, Kohji MORI^a,
Hirofumi MIYAKE^b, Mami NAGASHIMA^a, and Kenji SADAMASU^b

Nested PCR tests of *Orientia tsutsugamushi* specific 56KDa polypeptide coding region were performed on 21 samples of tsutsugamushi disease patients collected from April 2020 to March 2022 from public health centers in Tokyo (mainly on the Izu Islands). PCR positives were sequenced and phylogenetic tree analysis was performed. As a result, the *O. tsutsugamushi* gene was detected in 16 of 21 patients' specimens, and *O. tsutsugamushi* on Izu islands was classified into three serotypes. Results of serogenotyping of *O. tsutsugamushi* on each island showed that Karp and Kawasaki strains were detected from the patients on Izu Oshima, Kuroki strains on Miyakejima, Mikurajima, and Shikinejima, and Kawasaki strains on Nijijima, indicating that Shichitou fever is caused by three different serotypes.

Keywords: tsutsugamushi disease, tsutsugamushi, *Orientia tsutsugamushi*, tick-borne disease, rickettsiosis

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan