

鹿児島県で捕獲した野鼠からの病原体検索

—各種病原体分離と抗体価測定—

本 田 俊 郎 ¹	中 山 浩 一 郎	吉 國 謙 一 郎
石 谷 完 二	新 川 奈 緒 美	藏 元 強
川 元 孝 久	藤 田 博 己 ²	斎 藤 あ つ 子 ³
矢 野 泰 弘 ⁴	高 田 伸 弘 ⁴	川 端 寛 樹 ⁵

要 旨

2003年10月から2004年3月にかけて、鹿児島県内各地でアカネズミ37頭とヒメネズミ17頭を捕獲し、つつが虫病、日本紅斑熱、バベシア症、レプトスピラ症、ライム病及び野兎病の各病原体の感染状況を検索した。

つつが虫病、紅斑熱群及び野兎病の血清抗体検査では、各種リケッチア抗体の陽性例を見いだしたが、野兎病抗体は全個体が陰性であった。また、各種病原体の分離は全て陰性で、検査対象外であるトリパノソーマ科の不明原虫を、アカネズミ2頭から分離した。

キーワード：野鼠、感染症法、リケッチア、スピロヘータ、原虫

1 はじめに

鹿児島県は全国最多のつつが虫病患者発生県であり、最近では、ほかのリケッチア感染症である日本紅斑熱患者発生も増加傾向にある¹⁾。

両疾患の発生原因究明のために、ベクター(媒介動物)であるマダニ類とリザーバー(保菌動物)の野鼠からの病原体検索を実施してきたけれども、現在までに主たるベクター及びリザーバーは確認されていない。そこで、少なからず散発している不明熱疾患の原因解明に向け、2003年11月の感染症法見直しで、新たに新四類感染症に指定されたレプトスピラ病²⁾、マダニが媒介して動物の赤血球に寄生する原虫の起因するバベシア症³⁾、北海道、東北・中部地方で多く発生しているスピロヘータ(ボレリア)感染症のライム病⁴⁾、テロ対策等で問題視されているマダニ媒介性疾患野兎病⁵⁾の野鼠からの病原体分

離を実施し、本県における各種病原体の浸淫状況確認を実施した。

さらに、紅斑熱群リケッチアの各種血清抗体とつつが虫各種血清抗体検査、野兎病菌に対する血清抗体検査を実施したので報告する。

2 材料と方法

2.1 調査期間と調査地域

図1のとおり、県内各地から、日置地域(郡山町)、南薩地域(指宿市、頼娃町、開聞町)、大隅・鹿屋地域(内之浦町)、鹿児島近郊(松元町)、霧島地域(霧島町)、北薩地域(宮之城町)、薩南諸島地域(三島村黒島)の合計16(①~⑯)地点を選定し、表1に示すとおり、2003年10月から2004年3月までの期間で合計7回、野鼠を捕獲し、調査した。

1 鹿児島県出水保健所	〒899-0202	鹿児島県出水市昭和町18-1
2 大原総合病院附属大原研究所	〒960-0195	福島県福島市鎌田字中江33
3 神戸大学大学院医学系研究科	〒895-2511	兵庫県神戸市中央区楠町7-5-1
4 福井大学医学部病因病態医学講座	〒910-1193	福井県吉田郡松岡町下合月23-3
5 国立感染症研究所細菌部	〒162-8640	東京都新宿区戸山1-23-1

2. 2 野鼠の捕獲方法と種の同定

2003年4月16日改正の鳥獣保護法により、事前に県知事へ鳥獣捕獲許可申請書（学術研究用）を提出、鳥獣捕獲許可を受けてから、図2に示すシャーマントラップを用いネズミを捕獲した。野鼠の行動習性を考慮し、1地点あたり50個から100個のトラップを午後3時頃から午後6時頃までに設置し、翌日早朝回収した。

なお、捕獲した野鼠は、体長（頭胴長）、尾長、後足長、耳長等の計測により同定した。

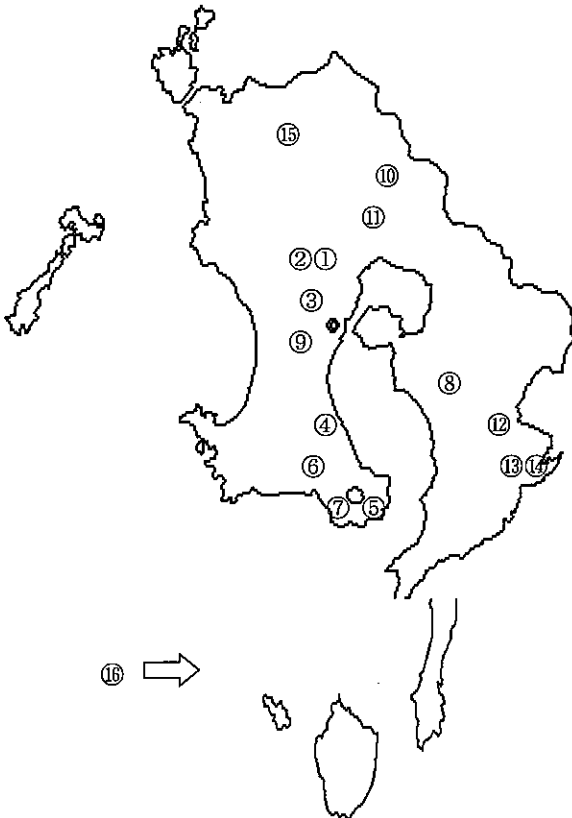


図1 捕獲地点

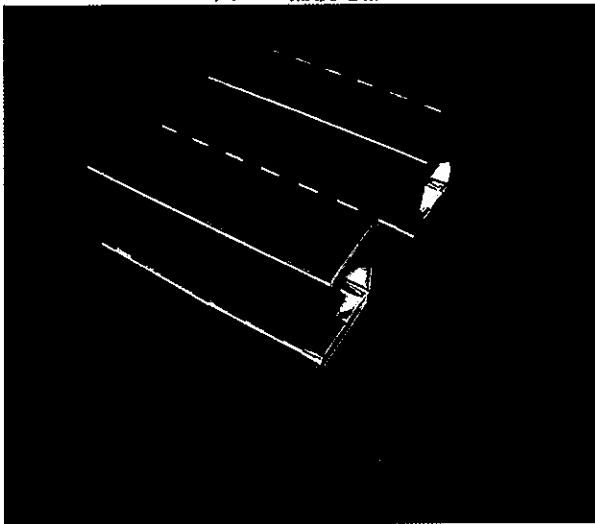


図2 野鼠捕獲用トラップ

2. 3 野鼠からの検査検体処理と方法

野鼠の取り扱い「動物の保護と管理に関する法律」に基づき、材料の採取等は、国立感染症研究所実験動物取扱規程に準じて行った。

トラップで生け捕り後に、麻酔死させ解剖し、無菌操作により検査材料を採取した。

レプトスピラの分離は、野鼠の腎臓乳剤をコルトフ培地に接種し、30℃にて1～3か月間培養した。

バベシア原虫検索は、野鼠の心腔穿刺した血液を塗抹標本とし、メタノール固定後染色し、鏡検した後、病原体DNA検出用にEDTA加血とし凍結保存した。残血液は、各種血清抗体検査用に、遠心分離後、血清凍結保存した。

ただし、捕獲時点ですでに死亡していた場合には、心臓を摘出し、0.5mlの滅菌生食中で細切し、血液成分を滲出させた後の遠心上清を用いた。

ライム病ボレリアの分離は、野鼠の耳介を消毒後2mm角に切除、これをBSK-II培地に接種し、35℃にて1～3か月間培養した。

野兎病菌とリケッチア（つつが虫病、日本紅斑熱）の分離には、肝臓、脾臓、血液のいずれかを無菌的に採取し、接種材料とした。

また、野兎病菌の分離は、ユーゴン血液寒天培地を用い、リケッチアの分離は材料乳剤をL929細胞に接種して、一定期間培養維持し、増殖の有無を確認した。

なお、脾臓は、今後の病原体遺伝子検索のために、-80℃フリーザーに凍結保存した。

2. 4 各種病原体に対する抗体検査

野兎病菌の場合、野兎病菌凝集反応迅速スライド法を用い、最終血清希釈は20倍（心臓滲出液では2倍）を下限とした。

リケッチア（つつが虫病、日本紅斑熱）の抗体検出には、紅斑熱群リケッチア（R. j: *Rickettsia japonica*, R. h: *Rickettsia helvetica*, AT: *Rickettsia* sp, AT type, FLA-2: *Rickettsia* sp, FLA-2 type）と、つつが虫病リケッチア *Orinetia tsutsugamushi* (Gil: Gilliam, Kp: Karp, Kt: Kato, Kw: Kawasaki, Kr: Kuroki, Sh: Shimokoshi) を抗原とした間接免疫ペルオキシダーゼ（IP）反応によった。

なお、血清希釈は10倍（心臓浸出液では原液）を下限とした。

3 結果と考察

3. 1 野鼠捕獲状況

表2に示すとおり、2003年10月26日に日置地域の郡山

表1 捕獲地点状況等

地点	捕獲月日	捕獲地域(方面)	捕獲市町村	地点名	現況(環境)
①	2003年10月26日	日置	郡山町	花尾山南面	竹林縁
②	2003年10月26日	日置	郡山町	花尾山西面	岩斜面, 杉林
③	2003年10月26日	日置	郡山町	八重山南面	竹林
④	2004年1月28日	南薩	喜入町	生見	竹林縁
⑤	2004年1月28日	南薩	指宿市	池崎	竹林縁
⑥	2004年1月28日	南薩	頤娃町	郡	竹林縁
⑦	2004年1月28日	南薩	開聞町	松原田	雑木林縁
⑧	2004年2月13日	大隅・鹿屋	垂水市	新御堂	キャンプ場草地
⑨	2004年2月14日	鹿兒島市近郊	松元町	角免	杉林縁
⑩	2004年2月14日	霧島	霧島町	中岳南面	雑木林縁
⑪	2004年2月14日	霧島	霧島町	永池	雑木林縁
⑫	2004年2月15日	大隅・鹿屋	内之浦町	国見トンネル	雑木林縁
⑬	2004年2月15日	大隅・鹿屋	内之浦町	馬込	竹林縁
⑭	2004年2月15日	大隅・鹿屋	内之浦町	大平見	竹林縁
⑮	2004年2月25日	北薩	宮之城町	高峯	竹林縁
⑯	2004年3月9日	薩南諸島	三島村	黒島宮向川	川沿い

表2 各種病原体に対する抗体価検査

地点No.	野鼠No.	野鼠種類	性別	検査材料	TUL(RSA)	SFG(IP)				Ot(IP)						
						R. j	R. h	AT	FLA-2	Gil	Kp	Kt	Kw	Kr	Sh	
①	1	As	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
①	2	As	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
①	3	As	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
②	4	As	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
②	5	As	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
②	6	As	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
③	7	As	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
③	8	As	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
③	9	As	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
③	10	As	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
④	11	As	♀	S	<20	320	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
⑤	12	As	♂	S	<20	40	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
⑤	13	As	♂	S	<20	160	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
⑥	14	As	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
⑥	15	As	♂	S	<20	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
⑥	16	As	♀	S	<20	160	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
⑦	17	As	♂	S	<20	640	<10	<10	40	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
⑧	18	As	♀	胸水	<20	<10	<10	<10	<10	10	<10	<10	40	<10	<10	<10
⑧	19	As	♂	S	<20	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
⑧	20	As	♀	S	20	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
⑨	21	As	♂	H	<2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
⑨	22	As	♂	H	<2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
⑨	23	As	♂	H	<2	1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
⑨	24	As	♂	H	<2	32	<1	16	<1	2	2	1	8	2	<1	<1
⑨	25	As	♂	H	<2	2	<1	8	<1	<1	<1	<1	<1	<1	32	<1
⑨	26	As	♀	H	<2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
⑩	27	Aa	♂	H	<2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
⑩	28	Aa	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
⑩	29	Aa	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
⑩	30	Aa	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
⑩	31	Aa	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
⑩	32	Aa	♂	H	<2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
⑩	33	As	♀	H	<2	32	<1	2	<1	<1	<1	<1	<1	16	<1	<1
⑩	34	As	♂	H	<2	40	<1	4	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
⑩	35	Aa	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
⑩	36	Aa	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
⑩	37	Aa	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
⑩	38	Aa	♀	H	<2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
⑩	39	As	♂	H	<2	1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
⑩	40	Aa	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
⑩	41	Aa	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
⑩	42	Aa	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
⑩	43	As	♀	H	<2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
⑩	44	As	♂	H	<2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
⑩	45	As	♀	H	<2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
⑩	46	As	♂	H	<2	<1	<1	<1	<1	16	<1	<1	<1	<1	<1	<1
⑩	47	As	♂	H	<2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
⑩	48	As	♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
⑩	49	As	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
⑩	50	As	♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

野鼠種類 Aa: Apodemus argenteus ヒメネズミ As: Apodemus speciosus アカネズミ
 検査材料 H: 心浸出液上清 S: 全血血清 -: サンプル無し
 TUL(RSA): Francisella tularensis
 SFG(IP) R.j: Rickettsia japonica R.h: Rickettsia helvetica AT: Rickettsia sp, AT type FLA-2: Rickettsia sp, FLA-2 type
 Ot(IP) Gil: Gilliam Kp: Karp Kt: Kato Kw: Kawasaki Kr: Kuroki Sh: Shimokoshi

町花尾山から八重山に至る地域（地点①～③）でアカネズミ *Apodemus speciosus* 10頭、2004年1月28日に南薩地域（地点④～⑦）でアカネズミ 7頭、2004年2月13日に大隅・鹿屋地域の垂水市新御堂（地点⑧）でアカネズミ 3頭、2004年2月14日に鹿児島市近郊の松元町角免（地点⑨）でアカネズミ 6頭と霧島地域の霧島町（地点⑩、⑪）でヒメネズミ *Apodemus argeuteus* 5頭を、2004年2月15日に大隅・鹿屋地域の内之浦町国見トンネル・馬込・大平見（地点⑫～⑭）でアカネズミ 9頭とヒメネズミ 8頭の計17頭、2004年2月25日に北薩地域の宮之城町高峯（地点⑮）でアカネズミ 1頭、2004年3月9日に薩南諸島三島村黒島宮向川でアカネズミ 1頭をそれぞれ捕獲した。捕獲した野鼠合計50頭中、アカネズミは37頭を捕獲し、うち雄が22頭、雌が15頭で雄が多く、ヒメネズミは13頭中雄が6頭、雌が7頭であった。

なお、アカネズミは37頭中17頭（46%）がトラップ回収時にすでに死亡、ヒメネズミも13頭中3頭（23%）が死亡していた。このことから、ヒメネズミが高所（岩場、高度山地）に多く生息し、耐寒性があるものと推測できる。

3. 2 野鼠の各種血清抗体価

表2に示すとおり、野兔病菌に対する血清抗体価は、検査した26頭の全てが陰性であった。

紅斑熱群リケッチアの抗体価は、南薩地域の野鼠6頭中5頭（83%）に40倍から640倍の範囲で陽性、垂水市新御堂の野鼠1頭が20倍の陽性、松元町の野鼠6頭中3頭（50%）が1倍から32倍の範囲で陽性、内之浦町の野鼠10頭中3頭（33%）に1倍から32倍の範囲で陽性を示した。このように、本県の日本紅斑熱患者多発地域¹⁾以外（南薩地域及び松元町）の野鼠からも、高確率で陽性を認めたことは疫学的に興味深く、今後この地域での患者発生動向に注意が必要であると同時に、野鼠捕獲数の増加と捕獲地点を広域化して、検討を要す課題と考えられた。

つつが虫病リケッチアに対する抗体価は、26頭中5頭が陽性を示し、南九州で患者発生が多いとされる血清型のKawasaki株とKuroki株に対する抗体価が4頭で8倍から32倍と陽性を示し、また、Gilliam株に対する抗体価も3頭で陽性を示していた。この中で、松元町の野鼠No. 24とNo. 25及び内之浦町国見トンネルの野鼠No. 33のように、紅斑熱群とつつが虫病リケッチアの両方に抗体陽性を示す事例もあった。本県が、つつが虫病患者と日本紅斑熱患者発生の全国最多発生県であることを考慮すると、リザーバーである野鼠抗体価から、数種の抗体価が上昇していることを証明できた。

3. 3 各種病原体分離結果

今回、各種病原体分離に供した野鼠50頭から、レプトスピラ、ライム病ボレリア、野兔病菌、つつが虫病リケッチア、日本紅斑熱のリケッチア分離は、全て陰性であった。また、バベシア原虫検出も全て陰性であった。

今後、捕獲頭数の増加及び通年で野鼠を捕獲することで、これらの病原体の浸淫状況が明らかになるものと推測される。

なお、今回捕獲した内之浦町大平見のアカネズミ2頭から、リケッチア分離過程の培養細胞中に、少数個体ながら活発に運動するトリパノゾーマ様原虫を見いだし、現在精査中である。

4 まとめ

2003年10月から2004年3月にかけて県内各地で野鼠を捕獲し、各種病原体分離と抗体価測定を行い検討した結果、以下のことが明らかになった。

- 1) 捕獲した地形（高度、環境等）により、野鼠の種類が異なり、アカネズミが多く捕獲された。
- 2) 紅斑熱群リケッチア抗体陽性を示す野鼠の捕獲地点が、患者発生多発地域と必ずしも一致しなかった。
- 3) 紅斑熱群とつつが虫の両方に抗体陽性を示す野鼠も存在した。
- 4) 新4類感染症疾患に係る病原体の分離及び検出は全て陰性であったが、2頭のアカネズミから病原性の不明なトリパノゾーマ科原虫を分離した。

今後、野鼠捕獲数の増加及び捕獲地点の拡大により、本県野鼠の各種病原体の感染状況を把握し、不明熱疾患との関連を解明することが重要であると考えられる。

参考文献

- 1) 本田俊郎、中山浩一郎、他；日本紅斑熱陽性例の検討. 本誌, 4, 58-61(2003)
- 2) 増澤俊幸；スピロヘータ感染症 レプトスピラ病. 日本臨床, 61, 557-563(2003)
- 3) 斎藤あつ子, Anchalee Dontrakool, 他；原虫感染症 バベシア症. 日本臨床, 61, 623-628(2003)
- 1) 増澤俊幸；日本のライム病ボレリア症. 総合臨床, 50(3), 551-554(2003)
- 5) 藤田博己；人獣共通感染症-最近のトピックス 野兔病. 臨床と微生物, 30, 375-379(2003)

Survey of zoonotic disease agents in field rodents of Kagosima Prefecture isolation of disease agents and detection of serum antibodies

Toshiro HONDA¹, Ko-ichiro NAKAYAMA, Ken-ichiro YOSHIKUNI
Kanji ISHITANI, Naomi SHINKAWA, Tsuyoshi KURAMOTO
Takahisa KAWAMOTO, Hiromi HUJITA², Atsuko SAITO³
Yasuhiro YANO⁴, Nobuhiro TAKADA⁴, Hiroki KAWABATA⁵

¹Izumi Public Health Center, 18-18, Showa-machi, Izumi-shi, 899-0202, JAPAN, and ²Ohara Research Laboratory, Ohara General Hospital, 33, Aza Nakae, Kamata, and Fukushima-shi, 960-0195, JAPAN, and ³Section of Parasitology, Department of Genome Sciences, Faculty of Medical Sciences, Kobe University Graduate School of Medicine, 7-5-1, Kusu-machi, Chuo-ku, Kobe-shi, 895-2511, JAPAN, and ⁴Department of pathological Sciences, Faculty of Medical Sciences, University of Fukui, 23-3, Shimoaitsuki, Matsuoka-cho, Yoshida-gun, Fukui, 910-1193, JAPAN, and ⁵Department of Bacteriology, National Institute of Infectious Diseases, 1-23-1, Toyama Shinjuku-ku, 162-8640, JAPAN

Abstract

From October 2003 to March 2004, a survey of zoonotic disease agents of tsutsugamushi disease, Japanese spotted fever, babesiosis, leptospirosis, Lyme disease and tularemia in field rodents of Kagoshima Prefecture was conducted. 37 *Apodemus speciosus* and 17 *Apodemus argenterus* were captured from various survey sites in this prefecture. Several rodents were positive for antibodies against the agents of tsutsugamushi disease or spotted fever group. All rodents were negative for tularemia antibody. In isolation of objective agents, all rodents were negative. In the course of isolation, two strains of unknown Trypanosomatidae protozoa were incidentally isolated from two *Apodemus speciosus*.

Key Words : field rodent, infectious diseases control raw, Rickettia, spirochete, protozo