

ライム病の感染と遊走性紅斑出現の機構について

(課題番号 08670273)

平成8年度～平成9年度科学研究費補助金 (基盤研究(C)(2))
研究成果報告書

平成11年3月

研究代表者 宮本健司
(旭川医科大学医学部・助教授)

ライム病はスピロヘーターの1種のボレリアが起因菌で、これが媒介者のマダニにより伝播されて発病する感染症である。本病原体は1982年米国で媒介者と推定されたマダニ (*Ixodes scapularis* = *I. dammini*) から発見され、1984年に新種の病原体 *Borrelia burgdorferi* と命名された。本病は山野で有毒マダニの寄生を受けると病原体が伝播されて皮膚症状、神経症状、循環器障害などの多彩な病態を示す。マダニの有毒化機構は自然界で病原体保有動物である野ネズミ類 (エゾアカネズミ、エゾヤチネズミなど) や鳥類 (アカハラ、アオジなど) へマダニの幼虫または若虫が寄生・吸血時にボレリアを授与され有毒個体となる事が著者らにより明らかにされた。その後病原体は経期感染 (Transstadial transmission) により若虫や成虫へ移行・維持される人畜共通感染症である。本疾患は北半球の各地、特に欧米で患者が多発して大きな社会問題となっている。

米国では届け出の感染症に指定され、1989年以降は全米各地で年間約10,000人の患者が報告される。本病に特異的所見として現れる慢性遊走性紅斑 (*Erythema chronicum migrans*=ECM) は1921年スウェーデンのAfzelius医師によりマダニ (*Ixodes ricinus*) の刺咬後に出現する皮膚症状として既に報告され、本疾患が古くからヨーロッパに存在していた事が推測されている。

日本では1987年長野県で患者が初めて発見され注目を引いた。その後関東以北の各地、特に北海道で患者が多く確認されており我々はこれまで多くのマダニ寄生者の皮膚組織から病原体を検出する事に成功し、また日本ではシュルツェマダニが主要な病原体の媒介者である事を確認した。

現在世界に病原体は *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii*, *B. afzelii* の3種が分布している。この病原体の種の構成はアメリカ、ヨーロッパおよび日本で異なるが、遊走性紅斑は各国の患者に高頻度に認められる症状である。この紅斑の出現には旭川医大の症例から寄生したマダニ除去後7日間を必要するものと推測された。しかしダニ除去後2~3日で紅斑を認めたとの報告もある。北海道で我々の経験した多くの症例は寄生マダニを自分で除去した後、その部位に紅斑の出現やダニの残留口器の除去のため受

診している。今回この特異的な遊走性紅斑を実験動物で再現の試みや、その発生の機構と病原体のダニ腸管内から手指圧力のため逆流により移行する説を確認する目的で計画した。

研究組織

研究代表者：宮本健司（旭川医科大学医学部助教授）

研究分担者：橋本喜夫（旭川医科大学医学部助教授）

研究分担者：佐藤雪太（旭川医科大学医学部助手）

研究経費

平成8年度 800千円

平成9年度 400千円

計 1200千円

研究発表

(1) 学会誌等

1. Hashimoto, Y., H. Takahashi, S. Matsuo, K. Hirai, N. Takemori, M. Nakao, K. Miyamoto, and H. Iizuka (1996): Iizuka (1996): Polymerase chain reaction of Borrelia burgdorferi flagellin gene in Shulman syndrome. *Dermatology*. 192 (2): 136-139.
2. Fukunaga, M., A. Hamase, K. Okada, H. Inoue, Y. Tsuruta, K. Miyamoto, and M. Nakao (1996): Characterization of spirochetes isolated from ticks (Ixodes tanuki, Ixodes turdus, and Ixodes columnae) and comparison of the sequences with those of Borrelia burgdorferi sensu lato strains. *Applied and environmental microbiology*. 62 (7): 2338-2344.
3. Sato, Y., K. Miyamoto, A. Iwaki, T. Masuzawa, Y. Yanagihara, E. I. Korenberg, B. N. Gorelova, I. V. Volkov, I. L. Ivanov, and R. I. Liberova (1996): Prevalence of Lyme disease spirochetes in Ixodes persulcatus and wild rodents in Far Eastern Russia. *Applied and environmental microbiology*. 62 (10): 3887-3889.
4. Miyamoto, K., Hashimoto, Y. Hirokawa, M. (1997): A case of infestation with a nymphal tick, Ixodes persulcatus in Hokkaido, Japan. *Med. Entomol. Zool*. 48 (3): 261-263.
5. 木ノ内基史・橋本喜夫・宮本健司・飯塚 一 (1997) : 北海道の1地方病院において2年間に経験したマダニ刺咬症30例のまとめ. *皮膚科の臨床*. 39 (4): 581- 585.
6. Miyamoto, K., Y. Sato, K. Okada, M. Fukunaga, and F. Sato (1997): Competence of a migratory bird, red-bellied thrush (Turdus chrysolaus), as an avian reservoir for Lyme disease spirochetes in Japan. *Acta Tropica* 65 (1): 43-51.
7. Masuzawa, T., Iwaki, A. Sato, Y. Miyamoto, K. Korenberg, E. I. and Y. Yanagihara (1997): Genetic diversity of Borrelia burgdorferi sensu lato isolated in Far Eastern Russia. *Microbiology and Immunology*. 41 (8): 595-600.

8. 橋本喜雄・木ノ内基史・高橋英俊・川岸尚子・岸山和敬・中尾 稔・宮本健司・飯塚 一 (1997):日本のライム病、自験40例の検討. 臨床皮膚科. 51(13):1081-1086.
9. 宮本健司・橋本喜夫 (1998):ライム病感染の予防について. 感染症学雑誌. 72(5): 512-516.
10. Kawagishi, N., Takahashi, H. Hashimoto, Y. Miyamoto, K. and Iizuka, H. (1998): A case of Lyme disease with parotitis. Dermatol. 197(4):386-387.

(2) 口頭発表.

1. 宮本健司・佐藤雪太・佐藤文男. ライム病の病原体保有動物としての渡り鳥の役割. 第48回日本衛生動物学会大会(福岡) 3. 28-29. 1996.
2. Sato, Y., Miyamoto, K. Yanagihara, Y. Korenberg, I.E. Volkov, IV. and Ivanov, IL. Analysis of the Lyme disease spirochetes isolated in the far east of Russia. VII International Congress on Lyme borreliosis(California, USA). June, 16-21. 1996.
3. Miyamoto, K., Y. Sato, and F. Sato. Isolation of Borrelia burgdorferi sensu lato from migratory birds, Turdus chrysolaus, at Nemuro, Hokkaido. VII International Congress on Lyme borreliosis(California, USA). June, 16-21. 1996.
4. Miyamoto, K. (1996): Lyme borreliosis in Japan. XX International Congress of Entomology(Firenze, Italy). August, 25-31. 1996.
5. 宮本健司・橋本喜夫. ライム病病原体の伝播機構について. 第43回日本衛生動物学会北日本支部大会(青森・十和田) 9, 6. 1996.
6. 橋本喜夫・木ノ内基史・飯塚 一・宮本健司・中尾 稔. 北海道のライム病. 第5回寒圏医学研究会(旭川) 8, 14. 1996.
7. 宮本健司・橋本喜夫・広川政己. 函館の幼児に寄生したマダニ若虫について. 49回日本衛生動物学会大会(千葉・幕張) 4, 2-4. 1997.
8. 橋本喜夫・木ノ内基史・川岸尚子・飯塚 一・宮本健司.

- 中尾 稔．日本のライム病．第96回日本皮膚科学会総会
（岡山）4．12，1997．
9. 宮本健司．ライム病の感染機構について．第5回ダニと疾患の
インターフェースに関するセミナー・北海道大会（北広島）．
6，26-28，1997．
10. 宮本健司．寄生マダニの防除方の考案．第6回日本ダニ学会大
会（つくば）．10，4-5．1997．
11. 宮本健司．ライム病の流行地拡大に関する渡り鳥の役割につい
て．第50回日本衛生動物学会大会（高知）4，23-25．1998．
12. 宮本健司．日本のライム病．第126回日本獣医学会総会
（江別）．8，21-23．1998．

(3) 総説など

1. 橋本喜夫・宮本健司(1996)：ライム病．歯界展望．88(3)：
730-737．
2. 宮本健司・橋本喜夫(1996)：ライム病．感染症．150(4)：
138-144．
3. 橋本喜夫・宮本健司(1997)：北海道のライム病の実情．
病原微生物検出情報．205:56．
4. 宮本健司(1997)：ダニ媒介性疾病・世界と日本の現状，ツツガ
ムシ病，ライム病，紅斑熱．生活と環境．42(6):28-33．
5. 宮本健司・橋本喜夫(1997)：ライム病．小児科診療．60(8)：
1279-1285．
6. 板垣 博監修(1997)：臨床寄生虫病．III-1.人畜共通寄生虫
病．III-2.外部寄生虫によって媒介される病原体．p289-300．
学窓社（東京）．

研究成果

(1) 家兎（日本白色品種）における感染実験。

兎15羽へシュルツェマダニの暴露、2羽へヤマトマダニの暴露、3羽へ注射器による培養病原体の皮下への接種 (*B. garinii*= 10^5 /ml) をそれぞれに行った。

しかし、20羽すべての個体に紅斑の出現は見られなかった。有毒個体のシュルツェマダニが寄生した兎皮の膚組織より病原体の再分離はできなかった。病原体の再分離に成功したのは注射器接種群で認められた。

マダニ吸着と病原体皮下接種の兎の皮膚組織は真皮管内にリンパ球や好酸球を主体とする細胞が浸潤して、非特異的な炎症反応が見られた。

兎にシュルツェマダニやヤマトマダニを吸着させ手指で胴体部を摘み除去すると顎体部や口下片の欠損する個体が多く認められる。一方ピンセットや毛抜きで顎体部を摘み除去すると完全個体か口下片欠損個体が回収される。

(2) 豚での感染実験（大ヨーク系品種）

前種動物での実験は不成功に終わったので人体皮膚と組織学的構築が類似し皮膚科領域で良く使用される豚で同様な感染実験を試みた。使用した個体は生後20日目（体重・6.0Kg, 雄）の2頭で、ネンブータル麻酔下で両腹側部を剪毛し1側に人体分離株 (J-38=*B. garinii*) を 10^6 /mlを、他側は対照としてBS K培地1ml をそれぞれ皮下に接種した。豚は感染後18日目まで観察してから深麻酔下の基に剖検した。

本実験においてもA, B両豚共に紅斑の出現は見られず、また病原体接種部皮膚組織を6mmパンチで採取してBSK培地へ移植して型の如く培養したがボレリアの再分離を試みたが菌体は検出されなかった。

この事を更に確認するために豚血清を新鮮群と非動化群 (56°C, 30分) に分けBSK培地へ1.0ml と0.5ml をそれぞれ加えボレリアの増殖に対する影響を検討した。その結果培養開始後14日目の観察で新鮮群と非動化群の血清を加えた培地は正常の培地（対照）に比べその菌数の増殖を著しえ抑制した（表-1）。

表-1. 豚血清がボレリアの増殖に及ぼす影響

培地の種類	菌数 (mm ³)
BSK 培地 (対照)	995*
BSK 培地+新鮮血清1.0ml.	23
BSK 培地+非動化血清1.0ml	5
BSK 培地+新鮮血清0.5ml	18
BSK 培地+非動化血清0.5ml	15

*各培地4本の平均数

感染部皮膚の病理組織学的所見は真皮上層から中層の小血管、毛細血管周囲にリンパ球細胞浸潤は対照に比べ明らかに強く、また、毛細血管の拡張と一部に赤血球の漏出も認められる。以上の事から豚個体は殺ボレリア物質を保持している事が強く示唆された。

考 察

今回の動物感染実験で家兎は日本産病原株に対し感受性を示したが、豚は強い抵抗性を持つ個体であることが初めて確認された。これまで動物血清中の殺ボレリア物質に関する研究はエゾシカの補体に誘導される殺菌活性 (Isogai, E. et al., 1994) や米国西海岸産カキネハリトカゲ (*Sceloporus occidentalis*) 血液中の熱に不安定な蛋白質がその性質を備えている (Lane and Quistad, 1998) の報告が見られるのみで自然抵抗性に関する研究は少ない。

家兎へ吸着したダニの胴部を手指で除去すると顎体部や口下片は皮膚内に残存する例が多く、ピンセットにて除去すると完全個体の回収例が多く我々の考えは最善な手段であることが確認された。また有毒マダニ寄生の場合に手指で除去するとその指圧で消化管内の病原体が逆流し口下片を介して短時間で感染が成立することが推測される。

米国で家兎の感染実験では遊走性紅斑の出現を認めているが、今回の我々の実験では確認できなかった。これは使用した兎の品種とボレリアの種との組み合わせの異なるためか、また日本産病原体による紅斑の出現は“恙虫病の発疹”の様に人体特有の症状なのか今後検討しなければならない。