

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

皮膚科の臨床 (2006.09) 48巻10号:1359～1362.

【知っておきたい検査とその読み方】

感染症

Bartonella henselae

橋本喜夫

3 感染症

8) *Bartonella henselae*

橋本 喜夫*

I. はじめに

ネコひっかき病 (cat-scratch disease, 以下 CSD) は、ネコから受けた創傷や咬傷で発症する人獣共通感染症で、患者は世界各地に存在する。CSD の主要な病原体はネコの赤血球内に寄生しているグラム陰性、多形性単桿菌の *Bartonella henselae* (以下 *B. henselae*) である。本邦では従来のリンパ節腫脹を主とする CSD 以外に、脳症、不明熱、反復性発熱、肉芽腫性肝炎などの非定型的 CSD が注目されている。本稿では CSD と診断するために必要な *B. henselae* の検査法を概説したい。

II. ネコひっかき病とは

ネコの接触や、咬傷、搔傷が原因で感染する疾患で、受傷後 3~5 日後に受傷部位に丘疹、膿疱、潰瘍、硬結などが生じる。結節性紅斑様皮疹が生じることもある。受傷約 2 週間経過して所属リンパ節の腫脹と発熱が生じる。1950 年に Debre¹⁾ が初めて報告して以来、起因菌は不明であった。その後 1993 年に、Dolan²⁾ らが *Rochalimae henselae* の分離に成功し、遺伝子学的な解析が進み、従来の *Rochalimae* 属の菌は *Bartonella* 属に入ることになり、*Bartonella henselae* と改名され現在に至っている。米国では年間 2 万人以上のネコひっかき病 (CSD) が発生し、本邦では 1953 年の初報告以来 200 例以上の報告³⁾ がある。発症年齢は 15 歳以下が 45~50% を占め、秋から冬に多い。原因の

ネコは仔猫が多く、ベクターとしてネコノミが重要視される。免疫不全状態のヒトが *B. henselae* に感染した場合は、細菌性血管腫をきたすことは留意すべきである。細菌性血管腫は、臨床的に Kaposi 肉腫に類似した紫色や無色の嚢胞性病変で、まれに同じ *Bartonella* 属の *Bartonella quintana* によっても生じる。CSD の予後であるが、ほとんどの症例で自然治癒し、一過性で良好な経過を示す。したがって、有痛性のリンパ節の腫脹には鎮痛解熱薬を対症的に投与する。全身性の CSD に関してはマクロライド、テトラサイクリン系、ニューキノロンなどの抗生物質の投与が有効である。今後、高齢化社会、核家族化、ペットブームが継続すると考えられるので、CSD は重要な感染症であり、特に皮膚科領域においても CSD の早期発見、予防のために皮膚科医の初期診療、患者指導が重要である。

III. 基本的な診断法

診断は臨床症状が基本であり、ネコとの接触歴と、リンパ組織や膿からの細菌培養、後述する血清 *B. henselae* 抗体の測定が重要である。特にネコとの接触歴は患者本人が忘れていた場合もあり、しっかりと問診する必要がある。確定診断は感染症であるから、患部またはリンパ節からの *B. henselae* の分離であるが、後述するごとく血液、患部組織からの *B. henselae* の分離培養は容易ではない。臨床的に鑑別が問題となるのはやはり、

* Yoshio HASHIMOTO, 旭川厚生病院, 皮膚科, 主任部長

別刷請求先 橋本喜夫: 旭川厚生病院皮膚科 (〒078-8211 旭川市 1 条通 24 丁目 111 番地)

キーワード ネコひっかき病, *Bartonella henselae*, 血清診断

表1 CSD と *Pasteurella* 感染症の比較 (文献4)を改変)

	<i>Pasteurella</i> 皮膚感染症	CSD
原因動物	ネコ, イヌ, 哺乳動物	主にネコ
ベクター	なし	ノミ
感染経路	咬傷 (搔傷)	咬傷, 搔傷
症状	受傷部の炎症, 疼痛	有痛性のリンパ節腫脹
発症までの時間	受傷後 数時間~数日	受傷後 約2週間
診断	分泌液の分離培養 分泌液のスペルマ臭	血清学的診断 (IF 法, ELISA 法) PCR 法
治療	ほとんどの抗生剤有効	テトラサイクリン, ニューキノロン系薬剤など
予防	爪切り	爪切り, ノミの駆除
日和見感染	敗血症, 髄膜炎など	細菌性血管腫, 細菌性肝臓紫斑病など

表2 健常人の血清 *Bartonella henselae* IgG 抗体価 (文献6)より)

対象患者	例数	抗体価				陽性例 (%)
		<64	64	128	256≤	
ネコとの接触歴のない群	173	169	2	2	0	4 (2.3)
ネコとの接触歴のある群	80	70	8	2	0	10 (12.5)
CSD の患者家族	14	11	3	0	0	3 (21.4)
合計	267	250	13	4	0	17 (6.4)

Pasteurella 感染症である。どちらもネコなどの咬傷などのあとに局所の腫脹や発熱を生じる。二つの疾患の比較を表1に示すが、*Pasteurella* の発症時の発熱は受傷後早期にみられ、局所の滲出液にスペルマ臭を伴うなどの鑑別点が存在する。

IV. 検査が不可能なときの臨床スコア診断

CSD の病原体である *B. henselae* がまだ明確でないときは、臨床症状によるスコアで診断がなされていた。荒島⁴⁾は Carithers のスコア診断を紹介している。すなわち、①1カ所あるいは局所リンパ節の腫脹 (1点), ②ネコ, 特に幼ネコとの接触 (2点), ③創傷部の存在 (2点), ④Hanger-Rose 抗原を用いた皮膚反応陽性 (2点) の基準を設けて、合計5点でCSDの疑いが強く、7点でCSDと診断した。Hange-Rose 抗原は患者のリンパ節から採取した膿汁や培養物を60°C, 10時間加熱し、冷凍保存したものを用いていたもので、安全性、標準性に問題があり、現在は使用されない。

V. 血清診断法

従来CSDの診断、検査は上記の臨床症状と、皮内反応およびリンパ節生検によって診断されて

いた。しかし、皮内反応は前述したように抗原の安全性、特異性に問題があり、現在は行われない。リンパ節の病理組織は壊死性肉芽腫性病変でCSDに非特異的である。また、リンパ節腫脹を認めない非定型例もあり、臨床診断は容易ではない。現在は、*B. henselae* に対する抗体価を測定する間接蛍光抗体 (indirect fluorescence antibody, 以下IFA) 法や、酵素抗体法による血清学的診断法が開発され、特にIFA法はキット化されて欧米で広く使用されている。本邦でも保険適用外で、SRLなどはアメリカに外注している。

1. IFA 法

1993年、Regnery⁵⁾らによって開発された方法が頻用される。IgG抗体は被検血清をPBSで64~1024倍まで倍数希釈して、それらを20μlずつ抗原スライドにのせ、インキュベーターで37°C, 30分反応させ、PBSで洗浄後、水洗、自然乾燥させる。これにFITC標識抗ヒトIgGヤギ血清を20μlずつのせ、再び37°C, 30分反応させて、PBS洗浄、水洗後、グリセリン封入し、蛍光顕微鏡で観察する。IgM抗体に関しては、被検血清を20~320倍まで倍数希釈し、それぞれ20μlずつ抗原スライドにのせる。90分反応後は、同様に

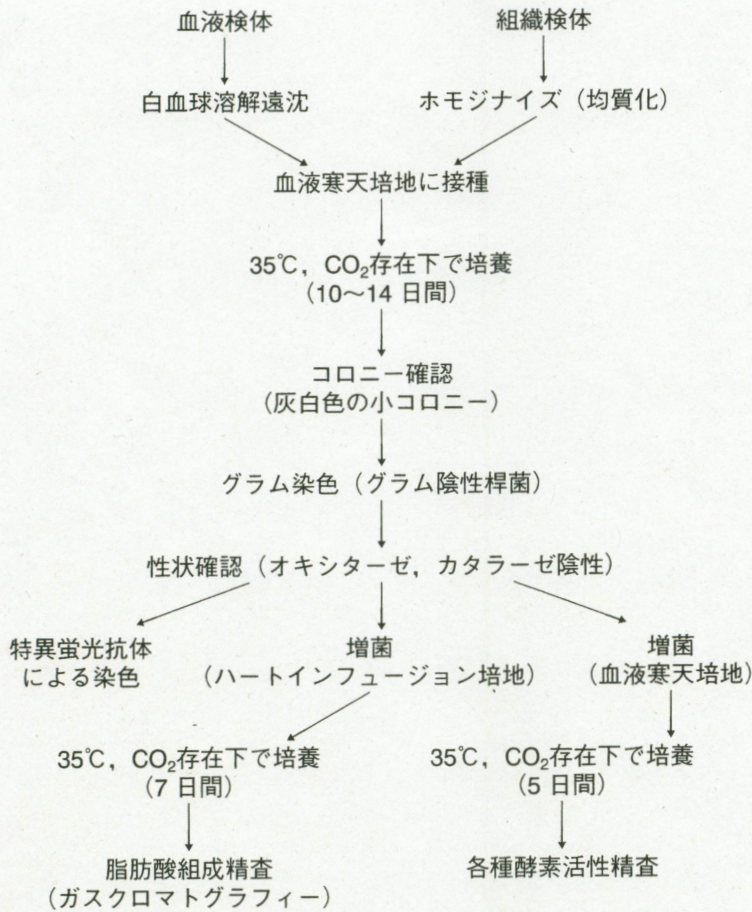


図1 CSDの病原体検査のフローチャート(文献14)15)から一部改変して引用)

FITC 標識抗ヒト抗体 IgM ヤギ血清を添加して観察する。IFA では IgG の抗体価が 64 倍以上, IgM の抗体価が 20 倍以上を陽性と診断する。1 回だけの抗体測定であれば, IgG の抗体価が 256 倍以上であれば感染の可能性が高い。ペア血清が可能であれば, IgM が陰性の場合でも IgG 抗体価が 4 倍以上の上昇があれば陽性としてよい。常岡ら⁶⁾は 267 人の健常血清検体を用いて, IFA 法を施行したところ, IgG 抗体陽性者が 6.4% にみられ, ネコとの接触歴のある群に有意差をもって陽性率が高い結果であった(表 2)。しかしながら, その抗体価のほとんどが 128~64 倍以下であった。このことから, 単一血清の場合は 256 倍以上であることが, CSD の診断根拠となりうる。

2. 酵素抗体法 (EIA 法)

EIA 法であれば IgG, IGM の抗体価がともに 12EIA unit 以上を陽性⁴⁾と判断する。

◎血清診断法の問題点

B. henselae の同属菌種である *B. quintana* との間に交叉反応を示すことが問題⁷⁾である。常岡ら⁸⁾の検討でも約 87% に交叉反応を認める。したがって, 血清抗体価のみで両菌種を鑑別することは困難と考えた方がよい。一方, バルトネラ属以外でも *Coxiella burnetti*⁹⁾, *Chlamydia pneumoniae*¹⁰⁾ の一部の株と交叉反応が報告されている。

最近では *B. henselae* IgG, IgM と *B. quintana* IgG, IgM を同時に行っているが, それでも交叉がみられるという。慢性の Q 熱患者⁹⁾でも *B. henselae* と交叉反応を示すことが知られる。また, *B. henselae* は 16SrRNA 遺伝子型により type I と type II に大別され, 日本のネコやヒトに分布する *B. henselae* は type I の遺伝子型が主流であることが明らかになっている¹¹⁾。したがって, 血清診断に使用する *B. henselae* の 16SrRNA 遺伝子型は type I を使用する必要があるし, その type I の中でも株により抗原性が異なるものがあることを考慮

すべきである。

VI. 細菌学的検査法

1. *B. henselae* の分離培養法

分離には患者リンパ節や血液を用いる。その手順は図1に示す。培地は5~7%家兎血液加ハートインフュージョン寒天培地に塗抹し、35~37°C、5%CO₂存在下で培養する。通常1~2週間でコロニーが形成されるが、4週間までは観察を続ける必要がある。*B. henselae* は灰白色、表面が隆起したカリフラワー状、非溶血性、直径0.5~1mm程度の微小なコロニーを形成する。顕微鏡下では*B. henselae* は小型(2×0.5~0.6μm)の微小なグラム陰性、多形単桿菌の特徴を示す。分離した*B. henselae* の同定はDNAを抽出して、クエン酸合成酵素遺伝子(*gltA*)のPCR増幅産物(379bp)を2種の制限酵素TaqI, HhaIで切断し、その断片電気泳動パターンで比較する方法¹²⁾と、16S-23SrRNA間領域の遺伝子特異的プライマーを用いたPCR法¹³⁾で*B. henselae* と他の*Bartonella*属菌を鑑別することが可能である。前者の方法では*B. henselae* はTaqIで136bp, 170bp, 73bpに切断され、HhaIでは162bp, 217bpに切断される。後者の方法では*B. henselae* は172bpのバンドとして現れる。

血液からの菌の分離で重要なことは、通常の血液培養では多くの施設で2週間程度まで引き伸ばしばしば行うのは困難であるから、CSDを疑った場合は主治医はその旨、検査の担当者に伝える必要がある。さらに、*B. henselae* は細胞内寄生を示すことから、白血球を溶解させるアイソレーターを用いる必要性をWelchら¹⁴⁾¹⁵⁾は報告している。

VII. 病理組織学的検査

受傷部皮膚の病理組織：真皮内に柵状配列するリンパ球、組織球、巨細胞に取り囲まれた壊死ないしは類壊死病巣を認める。

リンパ節の病理組織像：初期では反応性のリンパ濾胞の増生が認められる。中期では中心壊死を伴う好中球膿瘍を組織球が取り囲む肉芽腫構造がみられる。後期では膿瘍が著明で、線維化も認められる。*B. henselae* はWarthin-Starry染色により黒色に染まる多型性桿菌として認められるが、検出率は50%程度である。

VIII. 遺伝子診断法

患者リンパ球、あるいは感染初期の血液からDNAを抽出して、前述したPCR法で*B. henselae*のDNAを検出する。遺伝子診断では患者材料から抽出したDNAに種々のDNAや、PCR阻害物質が含まれている可能性があるため、プライマーの設計やPCRの条件などに注意する必要がある。本邦では可能な施設が限られて、実際的ではない。

文 献

- 1) Debre R et al : Bull Mem Soc Med Hosp Paris, **66** : 76-79, 1950
- 2) Dolan MJ et al : Annals Int Med, **118** : 331-336, 1993
- 3) 吉田 博 : 小児科臨床, **52** : 69-71, 1999
- 4) 荒島康友 : MB Derma, **45** : 15-21, 2001
- 5) Regnery RL et al : Lancet, **340** : 557-558, 1992
- 6) 常岡英弘ほか : 感染症誌, **73** : 90-91, 1999
- 7) Dalton MJ et al : Arch Intern Med, **155** : 1670-1676, 1995
- 8) 常岡英弘, 塚原正人 : 日本臨牀 (増), **57** : 213-215, 1999
- 9) Scola BL, Raoult D : J Clin Microbiol, **34** : 2270-2274, 1996
- 10) Maurin M et al : J Clin Microbiol, **135** : 2283-2287, 1999
- 11) Maruyama S et al : Microbiol Immunol, **48** : 103-109, 2004
- 12) Maruyama S et al : J Vet Med Sci, **62** : 273-279, 2000
- 13) Jensen WA et al : J Clin Microbiol, **38** : 1717-1722, 2000
- 14) Welch DF et al : J Clin Microbiol, **31** : 2381-2386, 1993
- 15) 松本哲哉 : 臨床検査, **42** : 555-557, 1998