

沖縄県におけるレプトスピラの研究

1) 伊是名村におけるレプトスピラの血清疫学的調査

疫学室： 福村 圭介， 新城 長重，
徳村 勝昌， 新城 長善，
吉田 朝啓

緒言

沖縄県におけるレプトスピラ症の存在は、昭和12年沖縄県獣疫血清所の大橋らにより患者血液及び尿中よりレプトスピラを分離してはじめてその存在が裏付けられた。その後、レプトスピラ症についての報告は若干あり、それらによるとワイル病の発生はまれで、ワイル病以外のレプトスピラ症が沖縄県下全域にわたって発生しているものと推測される。ワイル病以外のレプトスピラ症、例えば、秋疫等は典型的臨床症状を示さず類似熱性疾患との類症鑑別が難しく、見のがされる可能性が強い。しかし、ワイル病以外のレプトスピラ症といえども、比較的急性に経過し、治療時期を失すると死に到ることもあるとの報告もあり、危険な感染症の一つと言える。

我々は現在、沖縄県下各地におけるレプトスピラの浸淫状況を調査するため血清疫学的調査とネズミのレプトスピラ保有状況を検索中であるが、その第1報として、伊是名村住民の健康者を対象として血清疫学的調査を行ったので、その成績を報告する。

材料及び方法

1. 検査血清

被検血清は1971年4月19日より同年4月24日まで、総計2885人の健康者を対象に採血したものである。

2. 抗原

使用した抗原は現地にて捕獲したネズミより分離した株 (*L. pyrogenes* — Izena 株と命名した) を用いた。なお、一部426例の血清を無作為に取り出し、*L. autumnalis* (秋疫A)、*L. hebdomadis* (秋疫B)、*L. australis* (秋疫C)、*L. canicola* (H. Utr. IV)、*L. icterohaemorrhagiae* (内田) を用いて現地分離株以外のレプトスピラの浸淫の状況について検討した。

3. 血清検査方法

血清検査方法は Schüffner-Mochtar 法 (凝集溶菌反応) に準じて行い、抗体価100倍以上をもって陽性とした。なお、2~3種の抗原に同程度凝集溶菌価を示したものはそのまま記載した。

4. *Leptospira* の分離及び同定法

分離材料は1971年4月19日より同年4月24日までに伊是名村5部落にて捕獲したネズミで、クロロホルムで麻醉死させた後、腎を無菌的に摘取し、5ccディスプレイ注射器に入れ圧出し、フレッチャ培地で培養(30°C)を行った。培養後2週目に鏡検し、レプトスピラ菌が見えないものは更に1週間培養を続け、4週目に最終鏡検を行って、レプトスピラ菌が見えないものを陰性とした。分離レプトスピラ菌は交叉凝集溶菌反応及び Schüffner-Bohlauder 法に準じて吸収試験を行って同定した。

実験成績

1. ネズミよりの分離成績

トラップは各部落毎に夕方設置して翌朝回収し、*riukiuanus*であった。分離成績は表1に示した捕獲したネズミを解剖し培養した。捕獲されたネズミの種類は3種に分けられ、*Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* 及び *Suncus murinus riukiuanus* 陽性ネズミの捕獲場所は仲田部落で、*Rattus rattus* より分離された。

第1表 伊是名村におけるネズミのレプトスピラ検索成績

被 検 総 数	83					
種 別	<i>R. n. orvegicus</i>		<i>R. rattus</i>		<i>Suncus murinus riukiuanus</i>	
頭 数	46		20		22	
性 別	♂	♀	♂	♀	♂	♀
頭 数	19	27	10	10	16	6
細菌学的検索	0/19	0/27	0/10	1/10	0/16	0/6

分離レプトスピラの同定は交叉凝集溶菌反応と吸収試験法を行った。表2に示す如く、分離株は血清学的にOKINAWA株に近縁であることが分かったので、家兎で免疫血清を作り、10種の抗

原と交叉凝集溶菌反応を行った。表3に示す通りの結果を得たので、Schüffner-Bohlanderの法に準じて、新分離株—*L. pyrogenes*間で吸収試験を実施した。

第2表 交叉凝集溶菌反応成績

免疫血清 抗 原	L. ictero.	L. autumn.	L. hebde.	L. aust.	L. canic.	L. pyrog.	Izena str'n
<i>Leptospira icterohaemorrhagiae</i>	10,000	300	—	—	—	30	1,000
<i>L. autumnalis</i>	—	100,000	—	100	—	30	—
<i>L. hebdomadis</i>	—	—	300,000	—	30	100	—
<i>L. australis</i>	30	—	—	300,000	—	—	—
<i>L. canicola</i>	1,000	—	—	—	300,000	—	100
<i>L. pyrogenes</i>	—	—	—	100	—	1,000,000	1,000,000
Strain Izena	300,000	—	10	—	100,000	1,000,000	3,000,000

※ 使用菌株は下記の通り

L. icterohaemorrhagiae : 内田株

L. autumnalis : 秋疫A株

L. hebdomadis : 秋疫B株

L. australis : 秋疫C株

L. canicola : H.Utr. IV株

L. pyrogenes : 沖縄株

第3表 吸収試験成績

Leptospira pyrogenes(沖縄県)抗血清			
抗原 \ 抗血清	吸収前凝集溶菌価	吸収後凝集溶菌価	
	沖縄株	沖縄株	Strain Izena
Leptospira pyrogenes	100	—	—
Strain Izena	100	—	—

Strain Izena 抗血清			
抗原 \ 抗血清	吸収前凝集溶菌価	吸収後凝集溶菌価	
	Strain Izena	Strain Izena	沖縄
Strain Izena	300	—	—
Leptospira pyrogenes	100	—	—

※ 吸収前血清は1:1000倍に希釈し使用した。

我々は以上の結果から、新分離株をL. pyrogenes と同定し、Izena 株の命名した。そして、この新分離 Izena 株を血清疫学的検索に使用するため、Stuart 培地で増菌し使用した。

2. Izena 株に対する年齢層別抗体分布
 現地より分離した Izena 株を用いて、被検総数 2385 例の健康者血清を凝集溶菌法に従い検索した結果が表4である。

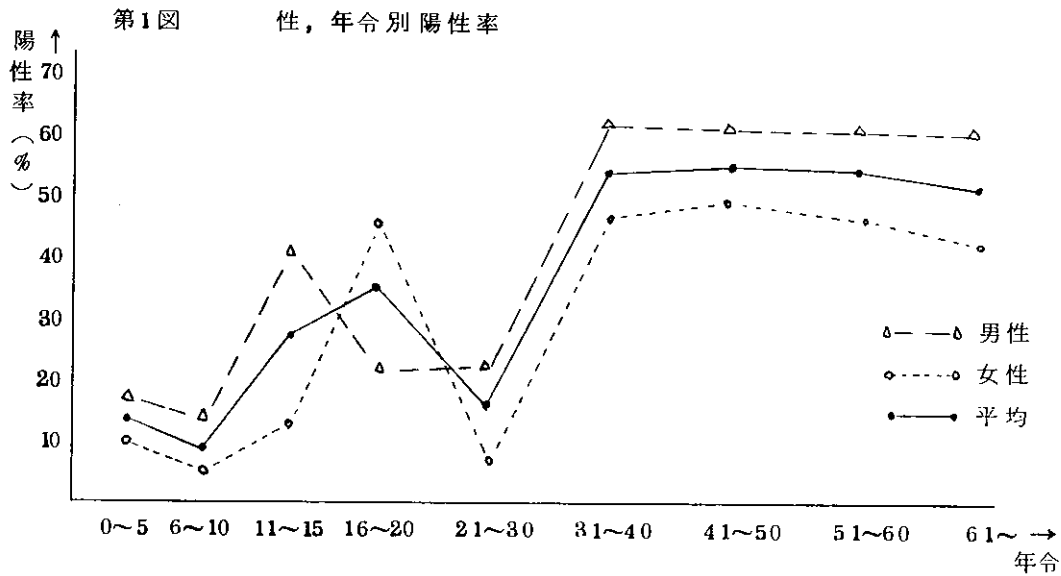
第4表 年齢層別抗体価分布

年齢 \ 抗体価	0~5	6~10	11~15	16~20	21~30	31~40	41~50	51~60	61~	合計
≥ 1:3000	4	20	115	2	3	29	51	40	44	308
1:1000	5	7	48	0	3	26	31	41	63	224
1:300	3	8	28	0	2	16	50	35	46	188
1:100	5	6	18	2	4	19	52	29	41	176
陽性件数	17	41	209	4	12	90	184	145	194	896
被検件数	118	448	665	11	60	157	317	251	368	2385
陽性率(%)	14.4	9.3	31.4	36.4	20.0	56.8	58.1	57.8	53.4	37.6

※ 抗原 Izena 株

すなわち、若年層より高年令層に移行するにしたがって陽性率は高くなり、31才以上は50%強の陽性率を保ち平衡している。ここで注目に値することは0~5才層の14.4%と非常に高い陽性

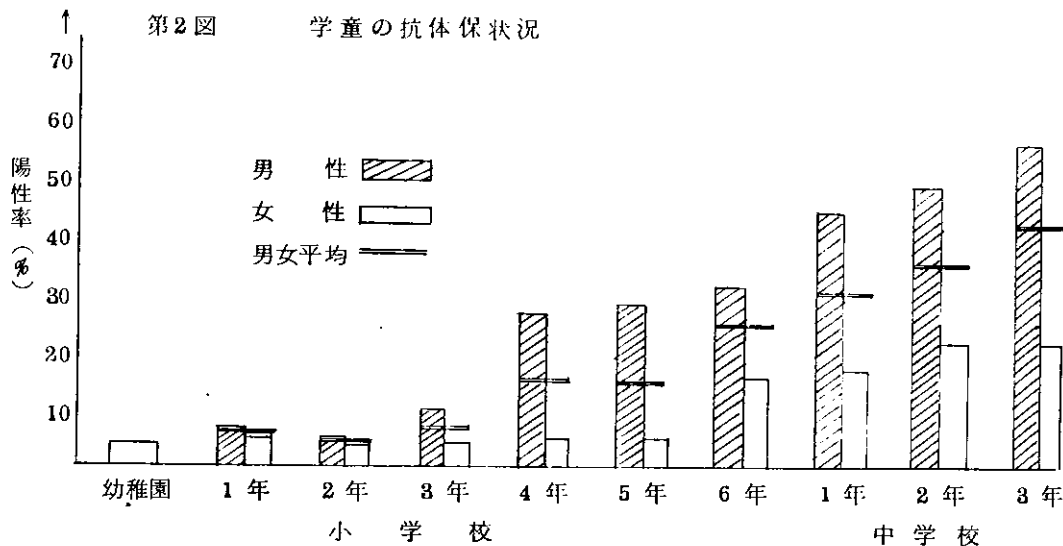
率を示していること、及び学童期年令層の非常に高い陽性率を示していることである。表4を更に男女別に分けて図示したものが図1である。



16~20才層で男女陽性率が逆転している以外は全般に男性は女性に比較して高い陽性率を示していた。男女比は大体一定していた。21~30才層の陽性率の落込みについて原因は不明である。しかも、20才前後の年令層の被検件数が他の年

令層に比べ非常に少ないことから、結論をだすことは危険に思える。

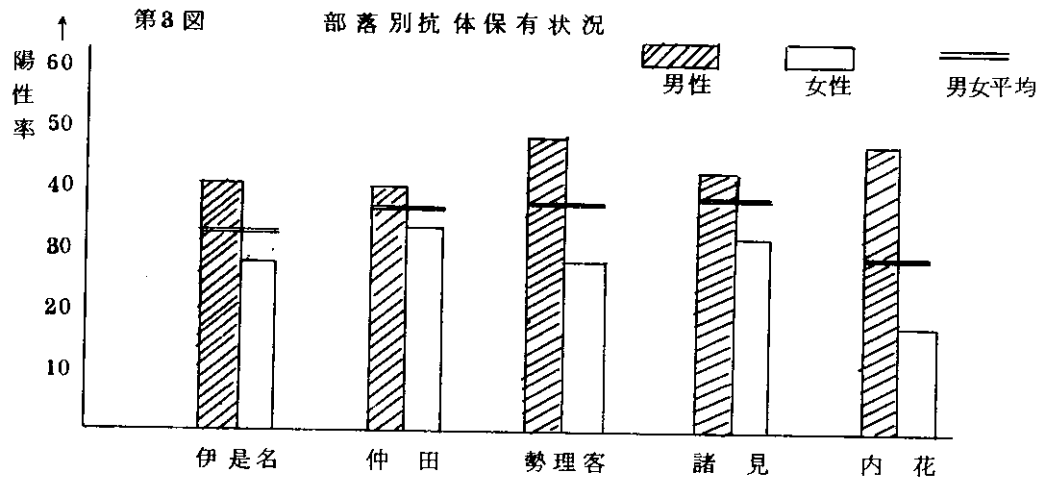
学童期年令層だけを小学校、中学校の学年別に分類し図示したものが図2である。



幼稚園及び小学校低学年層においてもかなりの陽性率をみるが、小学校4年生頃から急速に陽性率が高まる傾向がみられる。これらの結果を更に男女別にみた場合、男性の場合小学校4年生から急速に陽性率が高まるが、女性の場合、小学校5年生まではほぼ4%前後を保って平衡しているが、

6年生以降急速に陽性率が高まる。したがって、男女比も小学校低学年までは1:1だが、小学校4年生以降は急速に差がひらき、中学校まで2:1の差がみられた。

伊是名村に5つの部落が島の周囲にあり、部落毎の陽性率を示したものが図8である。



5つの部落の立地条件は大体同じで、水田及びさとうきび畑等の耕作地に接近した状態である。部落別の陽性率には大差はなく、男女比も大差はみられなかったが、内花部落のみが1:2強の差がみられた。その原因は不明である。

3. 血清型別抗体保有状況

426例の血清を無作為に取り出し、秋疫A、秋疫B、秋疫C、H.Utr. IV, Izena, 内田株の6抗原に対する抗体の保有状況を調べた結果を表5に示した。

第5表 血清型別抗体保有状況

(426件)

抗原 抗体価	L. autumnalis (秋疫A)	L. hebdomadis (秋疫B)	L. australis (秋疫C)	L. canicola (H.utr. IV)	L. pyrogenes (Izena)	L. icterohaem (内田)
≥ 1:8000	5	1	0	0	44	0
1:1000	11	2	0	0	51	3
1:300	20	4	3	0	47	4
1:100	15	1	5	0	46	2
合計	51	8	8	0	188	9
陽性率(%)	11.9	1.9	1.9	0	43.8	2.1

すなわち、*L. pyrogenes* に対する抗体保有率が一番高く43.8%であった。次いで、*L. autumnalis* に対して11.9%、*L. icterohaemorrhagiae*、*L. hebdomadis*、*L. australis* に対しては大体同率であった。しかし、*L. canicola* に対する抗体保有者はいなかった。なお、この表中には2~3の抗原に対して同程度の凝集溶菌価を示した事例が13例もあったが、そのまゝ記載した。今後、この事例について、吸収試験を実施し検討したい。

考 察

健康人を対象として、レプトスピラの浸淫状況を調査するため、血清疫学的調査を行うことは沖縄県においては初めての試みであった。大橋らが沖縄県におけるレプトスピラの存在を確認して以来、本症による患者発生について若干の報告があり、また、本症が人畜共通伝染病であることから、家畜等における疫学調査についても2~3報告がある。それらによると、本県におけるレプトスピラ症は沖縄県下全島に浸淫しているものと推測される。

今回伊是名診療所より、1967年以降1971年までの間に、8例のレプトスピラ症患者とそのうち1名は死亡したとの報告を受け、総合的な調査を行った。県立伊是名診療所藤江によると、患者発生は水稲1期作の取り入れ後次期作田植の頃に発生しているとのことから、感染の場は刈入れどきの水田であろうと推定した。しかし、今回の調査時期は水稲1期作取り入れ時期と大分ずれているため、ネズミのレプトスピラ保有の有無のみを合せて調査した。その結果、83匹中1匹より*L. pyrogenes* を分離した。従って、水田での感染源はネズミであろうと推測されるが、今後更に1期作刈入れ前後の時期と、野鼠等の野性動物及び家畜のレプトスピラ保有状況を検索したい。

血清疫学調査の結果、*L. pyrogenes* (Izena株) に対して、37.6%とかなり高い抗体保有率を有している。この成績を直ちにすべて不顕性感染によるものとみるわけにはいかないかも知れない。それは臨床的に症状が軽微で、感冒程度に考えて医師の診療を乞わない程度の軽微感染である場合も考えられるからである。従って、*L. pyrogenes* によるレプトスピラ症も秋疫等と似て臨床的に軽症で、しかも典型的な症状を示さないものだろうか。藤江は上記8例のうち、*L. pyrogenes* によるもの5例があり、そのうち3例は重症だったと報告している。しかしワイル病以外には欠くことが多いとされている黄疸及び出血が、7例及び4例認めたと報告している。今後、更に臨床的面で検討が必要と思われる。

年令別にみた場合、0~5才年令層から学童期年令層にかなり高い抗体保有率を示していることである。特に学童期年令層が、家事の農耕の手伝いをすると思われる年令になるにつれて抗体保有率が上っていくことは特徴的である。ネズミ—水田と感染経路を仮定した場合、今後、感受性者特に学童期年令層に患者発生が予測される。

血清型別の抗体保有状況は、*L. pyrogenes* に対する抗体保有率が優位を占め、次いで *L. autumnalis* に対する抗体保有率が11.9%であった。我々は伊是名よりのレプトスピラ症患者8名中7名の検査依頼を受け、血清学的に *L. pyrogenes* によると思われるもの5名、*L. hebdomadis* によると推測されるもの2名を検査した。これらのことと、今回の調査結果とを関連づけて考察すると、*L. pyrogenes* による患者発生数が多いのはある程度一致するが、*L. hebdomadis* による患者2例発生は今回の調査結果とづれがあるようにみるが、今後更に観察検討したい。

また、血清疫学的調査から村内部落間の抗体保有率に差がないこと、更に、前記患者発生状況も

各部落から発生していることから、レプトスピラによる汚染が島内全域に及んでいることが推測される。

レプトスピラ症の対策は、ワイル病及び秋疫に関しては我が国ではワクチンがあり予防対策がある程度立てられているが、*L. pyrogenes* によるレプトスピラ症にはワクチンもなく抜本的対策が困難な現状である。従って、現在のところ個人予防対策（ワクチン対策以外）を主に購ずるより外ないような現状である。

要約

我々はレプトスピラによる沖縄県における浸淫状況を把握するため、ネズミのレプトスピラ保有状況の検索と併せて、血清疫学的調査を実施中である。今回はその一環として伊是名村での健康者2385人を対象に抗体調査を行って、次のような結果が得られた。

1) 伊是名村5部落より捕獲したネズミ83匹中1匹 (*Rattus rattus*) よりレプトスピラを分離した。分離レプトスピラは同定試験の結果 *L. pyrogenes* と同定し、我々は *Izena* 株と命名した。

2) 新鮮分離 *Izena* 株を用いて伊是名村住民2385人の血清疫学検査の結果、37.6%の抗体保有率があることが判明した。

3) 年齢別陽性分布は若年齢より高年齢に移行するに従って陽性率は高くなり、31才以上では50%強の陽性率であった。

4) 性別にみた場合、全般的に男性の方は女性より陽性率は高かった。

5) 村内部落間の陽性率には差がなく、従って島全体が汚染されているものと推測された。

6) *L. pyrogenes* が流行主位を占め、次いで、*L. autumnalis* が浸淫しているものと推測された。

なお、本稿の要旨は第40回沖縄医学会総会で講演したものである。

参考文献

1. 大橋正之助, 吉田安盛, (昭和13年) 沖縄に於けるワイル病様疾患に関する臨床的並に実験的観察 東京医事新誌 3112号
2. 城間祥行, 他(1965年) 与那原町周辺の秋季レプトスピラ病について 第27回沖縄医学会口演
3. 北岡正見, 他(1966年) 沖縄における *Leptospira javanica* の存在 第39回日本細菌学会口演
4. 北岡正見, 他(昭和40年) 沖縄における家畜の各種レプトスピラ 国立予防衛生研究所年報
5. J.W.WOLFF(1954) THE LABORATORY DIAGNOSIS OF LEPTOSPIROSIS. CHARLES C THOMAS, PUBLISHER
6. J.M.ALSTON, & J.C.BROOM(1958) LEPTOSPIROSIS IN MAN AND ANIMALS E. & S.LIVINGSTONE LTD.
7. 藤江良雄(1971年) 伊是名村に発生せるレプトスピラ病の臨床 第40回沖縄医学会総会口演
8. 本永博一(1962) 犬及び牛を対象としたレプトスピラ抗体分布調査成績(予報) 琉球家畜衛生試験場研究報告(3)
9. 仲田安雄, 他(1968年) レプトスピラに関する研究 人及びネズミから分離されたレプトスピラについて 琉球家畜衛生試験場研究報告(9)