

研究課題名：新規開発高感度・同時検出 PCR 法を用いたダニ媒介感染症の後方視的疫学研究

1 研究の概要

国内で届け出数の多いダニ媒介性疾患は、日本紅斑熱、つつが虫病、重症熱性血小板減少症候群（SFTS）である。これら 3 疾患は臨床症状から鑑別することは難しい。そこで、我々は、これら 3 疾患を同時に検出するリアルタイム PCR 法を開発した。我々の開発した方法では、SFTS ウイルス（SFTSV）の検出感度が病原体検出マニュアルに記載のリアルタイム PCR 法と比べて 10 倍程度、コンベンショナル PCR と比べて 100～1000 倍程度向上し、検査時間も大幅に短縮した。また、リケッチアの検出感度も既存のリアルタイム PCR 法と比較して 100 倍程度上昇した。リケッチアの検出感度上昇の原因について検証したところ、SFTSV と同時検出するために検査系に組み込んだ逆転写反応によりリケッチアの mRNA も検出されるようになったためであると判明した。リケッチア症の場合、血液よりも痲疲の方がリケッチア遺伝子の検出率が高いと報告されているが、痲疲が見つからず、血液のみが検体として提供されることも多い。こうした場合、これまでの検査法では遺伝子検査陰性となることが多かった。我々の開発した方法であれば、こうした遺伝子量が少ない検体からもリケッチアを検出できる可能性がある。また、SFTS 症例においても検体採取時期によっては、既存の方法では検出感度の問題で SFTSV 未検出となった症例がある可能性がある。そこで、本研究では、感染症発生動向調査においてダニ媒介性疾患疑いとして過去に提供された検体について、我々の開発した高感度・同時検出リアルタイム PCR 法を用いて SFTSV およびリケッチアの検出を行い、既存の検出方法との検出感度の差を比較検証する。

本研究により、これまでに感度の問題により SFTS やリケッチア症と診断できなかった症例がどの程度存在したのか、評価することが出来る。また、同時検出することで SFTSV とリケッチアの複合感染についても評価することが出来る。さらに、我々のリアルタイム PCR 法では、*Rickettsia japonica* 単独ではなく、*R. japonica* の含まれる紅斑熱群リケッチアを検出対象にしている。紅斑熱群には、病原性不明の種も含め非常に多くの種が含まれており、*R. japonica* 以外のリケッチア属菌によるリケッチア症も報告されている。本研究で新規にリケッチアが検出された場合には、遺伝子解析も併せて実施することにより、国内における日本紅斑熱以外の紅斑熱群リケッチア症の実態解明にもつながると期待される。

2 研究の方法

2-1 研究対象

感染症発生動向調査におけるダニ媒介感染症疑いの検査のため、2016 年 4 月から 2027 年 3 月までに下記の地方衛生研究所に急性期検体（血液、痲疲等）が提出された症例を対象とする。

富山県衛生研究所、三重県保健環境研究所、島根県保健環境科学研究所、
大分県衛生環境研究センター、石川県保健環境センター

2-2 高感度リアルタイム PCR 法を用いた SFTSV・リケッチアの検出

上記検体から抽出された核酸について、高感度リアルタイム PCR 法で SFTSV およびリケッチアの検出を行う。検出結果について、過去に実施した既存の方法の結果と比較検証する。

2-3 RT-LAMP 法等の別法を用いた SFTSV・リケッチアの検出

別法である RT-LAMP 法、流路チップリアルタイム PCR 法、全自動リアルタイム PCR 法でも検査を行い、検出感度等を比較する。

2-4 新規検出リケッチアの遺伝子同定

本研究の高感度リアルタイム PCR 法で新たに検出された紅斑熱群リケッチアがあった場合は、コンベンショナル PCR およびシーケンスも実施し、種同定を行う。

2-5 研究期間

2025 年 6 月 12 日～2029 年 3 月 31 日

3 研究の実施体制

研究責任者：佐賀由美子（富山県衛生研究所ウイルス部）

研究協力者：後藤里歌、谷口咲羅、黒田真弘、吉田琴羽、瀧田嵩久、矢澤俊輔、福山 圭、

谷 英樹（以上、富山県衛生研究所ウイルス部）

前田千恵、楠原 一（以上、三重県保健環境研究所）

藤澤直輝、福間藍子（以上、島根県保健環境科学研究所）

長田綾美、佐々木麻里（以上、大分県衛生環境研究センター）

小橋奈緒、児玉洋江（以上、石川県保健環境センター）

4 倫理的配慮

4-1 個人情報等の取扱い

「富山県衛生研究所の保有する個人情報等の安全管理に関する規程」（平成 28 年 7 月 27 日作成、令和 4 年 4 月 1 日改定）に従う。検体には、当所または研究協力機関において個人を特定できない番号を付与する。試料の採取日、試料の種類、症例番号、発症日、過去に実施した検査結果等を連結する。その他の個人情報（氏名、生年月日、住所等）は当該研究では利用しない。対応表や、加工前の情報は施錠やパスワードロックなどによりアクセス権限が制限された状況で管理する。

4-2 研究対象者に生じる負担並びに予測されるリスク及び利益、これらの総合的評価並びに当該負担及びリスクを最小化する方法

既存試料のみを用いることから、研究対象者に肉体的な危険性や不利益を生ずることはな

い。また、当該検体を用いてヒトの遺伝情報の解析は行わない。

4-3 インフォームド・コンセントを受ける手続等（説明書及び同意書を含む。）

以下の理由により、研究対象者から同意を得ない。

- 本研究に使用する患者臨床検体は感染症法に基づく調査を目的に採取された後、保存された、もしくは保存される試料であり、研究対象者に対して検体採取に伴う危険は発生しない。（本研究は、法令の規定により実施される研究により既に取得している試料を用いる。）
 - インフォームド・コンセントを受ける手続きをとらないことによって研究対象者の不利益にならない。
 - すでに採取された検体は、診断または感染拡大防止のための病原体検査を目的として検体採取が実施されているため、さかのぼって同意を得ることが困難である。
- ただし、研究対象者から拒否の申し出があった場合には、これに対応する。
- 研究に協力を希望されない方は、下記の問い合わせ先までお知らせ下さい。

4-4 その他参考となるべき事項

本研究は、富山県衛生研究所倫理審査委員会の承認を得ている（令和7年6月12日、受付番号 R7-2、変更申請：令和8年6月22日、受付番号 R8-5）。

【問い合わせ先】

富山県衛生研究所 ウイルス部

主任研究員 佐賀 由美子

電話番号：0766-56-8143（受付時間：平日 9:00～17:00）