

北海道の狩猟者における抗 *Borrelia burgdorferi* 抗体の 測定と、抗体価に及ぼす因子の検討

日本大学医学部臨床病理学教室¹⁾, 旭川医科大学寄生虫学教室²⁾

久保 信彦¹⁾ 荒島 康友¹⁾ 川端 真人¹⁾

河野 均也¹⁾ 中尾 稔²⁾ 宮本 健司²⁾

(平成3年3月14日受付)

(平成3年8月13日受理)

Key words: Lyme borreliosis, *Borrelia burgdorferi*

要 旨

北海道の狩猟者587名の血清中の抗 *Borrelia burgdorferi* (*B. burgdorferi*) 抗体を酵素抗体法で測定し、狩猟者の抗体保有状況や、抗体価におよぼす年齢、生活歴など各種因子の影響を検討した。対照血清における抗 *B. burgdorferi* 抗体陽性率は7.1%で、狩猟者では16.0%となった。梅毒血清反応が陽性の血清を除いた場合の抗 *B. burgdorferi* 抗体陽性率は、対照では5.5%に対して、狩猟者では15.4%となり、狩猟者で有意に高かった ($p < 0.05$)。対照および狩猟者ともに抗 *B. burgdorferi* 抗体価は年齢が高い程、陽性者が多く認められる傾向があったが、相関はなく、狩猟者の抗 *B. burgdorferi* 抗体価は狩猟歴とも相関しなかった。また狩猟者の職業では酪農業に従事するものに抗 *B. burgdorferi* 抗体価が高い傾向があった。山菜採りに行く者は行かないものと比較して有意に抗 *B. burgdorferi* 抗体陽性率が高かった ($p < 0.05$)、これらのことから狩猟者の抗体陽性率が高い理由として、狩猟以外の野外活動の影響が大きいと考えられた。

はじめに

Lyme borreliosis (LB) は *Borrelia burgdorferi* によりおこる全身感染症でマダニが媒介する¹⁾。本邦では1987年に長野県での症例²⁾が報告されて以来、多数の罹患者の報告がある。我が国ではマダニ咬傷後の慢性游走性紅斑 (Erythema chronicum migrans, ECM) を伴った抗体陽性者の地理的分布³⁾や種々の疫学的検討から、北海道や、中部地方の山間部における分布が知られている。特に、北海道では *Borrelia burgdorferi* (B-31) を免疫して得られた monoclonal 抗体と反応する *Borrelia* sp. がマダニより分離されている⁴⁾。すでに欧米では、山林労働者等における抗体陽性例が報告されている^{5,6)}。本邦でも北海道の自衛隊員に

における抗体陽性率が一般人より高いことが報告されている⁷⁾。野外での活動が多い狩猟者は、LB 感染の危険集団と考えられ、抗体価の保有状況を調査することは LB の流行を考察する上で重要と考えられる。

一方で、*Borrelia burgdorferi* の抗原には他の近縁のスピロヘータと類似した抗原が存在する。梅毒患者血清では、LB の血清反応が偽陽性を呈することが知られている⁸⁾。このために LB の血清疫学的検討では梅毒血清反応の偽陽性の影響を考慮した解析が必要である。本研究では、北海道の狩猟者の抗 *Borrelia burgdorferi* 抗体の保有状況を明らかにし、梅毒血清反応の影響を考慮した解析をおこなうとともに抗体価におよぼす種々の因子の影響の解析をおこなった。

別刷請求先：(〒173) 板橋区大谷口上町30-1

日本大学医学部第1内科 久保 信彦

平成4年1月20日

材料および方法

対象：北海道の狩猟者587名を対象として、これらのものの血清検体を使用した。血清は抗体測定まで -20°C で保存した。狩猟者の内訳は年齢26歳から74歳までの男子585名、女子2名である。

対照血清は日大板橋病院検査科に梅毒血清検査の依頼のあった検体の中から240検体を無作為に抽出して用いた。このうち、梅毒血清反応陰性の200検体は既報告⁹⁾と同一検体である。

抗*Borrelia burgdorferi*抗体の測定：血清中の抗*Borrelia burgdorferi*抗体は3MIgG/IgM FAST-LYME test (3M Diagnostic System, Inc.)を用いておこなった。操作は添付説明書に準じておこなった。血清をキット添付の稀釈液で稀釈し、抗原がコートされているウェルに加えた。30分間インキュベートの後、洗浄操作を行い、二次抗体を反応させた。さらに洗浄し、蛍光基質を添加して発色させた後、蛍光量を測定した。

各検体の示した蛍光量 (Fluorescence Signal Unit, FSU) は、キット添付のリファレンス血清の示した FSU に対する百分率(%of Refer Reference Serum, %RS 値)に換算し、これを抗体価の指標とした。

cut off はキット説明書に従い、%RS 値で10%を採用した。

梅毒血清反応：梅毒血清反応はガラス板法 (slide test antigen, 住友製薬製)¹⁰⁾および、マイクロ用 TPHA (セロディア TP, 富士レビオ)¹¹⁾を使用し、このどちらかが、陽性を呈したものを梅毒陽性血清とした。

結 果

1. 抗体保有率の検討

抗体保有率の検討結果を Table 1 に示した。対照血清での抗体陽性率は7.1%で、狩猟者では16.0%となった。

抗*Borrelia burgdorferi*抗体が陽性を示した狩猟者および対照血清のうちで、それぞれ4検体ずつの梅毒血清反応陽性血清を認めた。このため、これらの梅毒血清反応陽性検体を除いた場合の抗体陽性率は狩猟者で15.4%となり、対照の5.5%と比較して有意に高値を示した ($p < 0.05$, chi

Table 1 Positivities of antibody to *Borrelia burgdorferi* of sera from hunters and controls

	Positive cases/Examined cases (%)	
	All cases	Case excluding syphilis positives
Hunters	94/587(16.0)	90/584(15.4)
Controls	17/240(7.1)	13/236(5.5)

* ($p < 0.05$)

chai square test

Table 2 Results of syphilis tests and %RS value of antibody positive cases of hunters and controls whose syphilis test was positive

No.	Variable	Age	Sex	Microslide test	TPHA	%RS value
1.	Hunter	49	male	+	+	11.8
2.	Hunter	35	male	-	+	10.7
3.	Hunter	61	male	-	+	14.1
4.	Hunter	58	male	-	+	11.0
5.	Control	47	male	+	+	29.9
6.	Control	66	male	+	+	10.1
7.	Control	85	female	+	+	12.2
8.	Control	59	male	+	+	13.1

square test).

Table 2 には狩猟者および対照の抗*Borrelia burgdorferi*抗体陽性検体中に認められた梅毒陽性血清の梅毒血清反応と、抗*Borrelia burgdorferi*抗体価の検討結果を示した。狩猟者の居住地区別抗体陽性率では、抗体陽性率は根室地区、留萌地区、網走地区、十勝地区、釧路地区の順に高かった (Table 3)。

2. 抗体価に及ぼす因子の検討

狩猟者および、26歳以上の男性の対照血清における%RS 値と年齢の関係を Fig. 1 に示した。対照および狩猟者の双方で高齢者に抗体価の高いものを認める傾向があったが、有意な相関は認められなかった (それぞれ $r < 0.3$, $r < 0.1$)。

%RS 値と狩猟歴の関係を Fig. 2 に示した。狩猟者では%RS 値と狩猟歴に相関を認めなかった ($r < 0.1$)。

抗体価と生活歴に関する調査結果を Table 4 に示した。職業の調査では酪農業のものに他の職種と比較して高い抗体価を示すものが認められ

Table 3 Distribution of %RS value and antibody positivities according to area of Hokkaido

Area cases	%RS value					Positive cases/Examined cases (%)
	<10	10-20	<30	<40	40<	
Nemuro	44	9	1	1	0	11/55(20.0)
Abashiri	40	8	0	0	0	8/48(16.7)
Kushiro	105	11	2	2	0	15/120(12.5)
Tokachi	252	44	2	1	1	48/300(16.0)
Rumoi	52	11	0	1	0	12/64(18.8)

Nemuro area includes ; Nemuro city and Bekkai town.

Abashiri area ; Bihoro town and Saroma town.

Kushiro area ; Kushiro city, Kushiro town, Akkeshi town, Hamanaka town, Shibechya town, Teshikaga town, Akan town, Tsurui town, Shiranuka town and Onbetsu town.

Tokachi area ; Obihiro city, Otofuke town, Shihoro town, Kamishihoro town, Memuro town, Nakasatsunai town, Sarabetsu town, Taiki town, Hiroo town, Makubetsu town, Honbetsu town, Ashyoro town, Rikubetsu town and Urahoro town.

Rumoi area ; Enbetsu town, Teshio town and Horonobe town.

Fig. 1 Distribution of %RS value according to age over sera from male controls of age over 26 (upper) and hunters in Hokkaido (lower).

%RS=%RS value, old=age

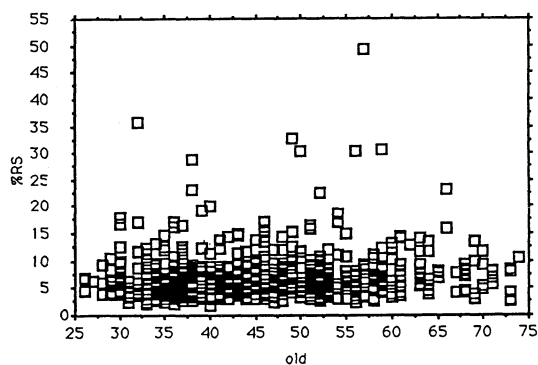
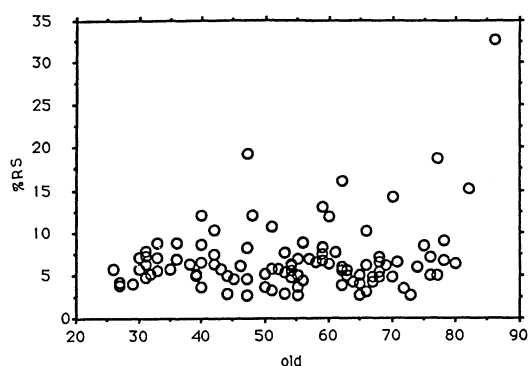


Fig. 2 Distribution of %RS value according to hunter career (year).

%RS=%RS value, HY=year of hunter career.

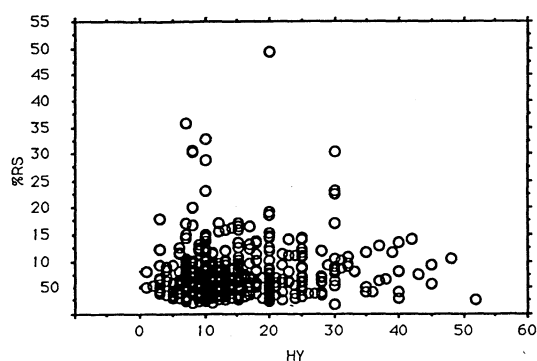


Table 4 Distribution of %RS value according to occupation of hunters

Occupation cases	%RS value				
	<10	10-20	<30	<40	40<
Farming (work in rice field)	19	3	0	1	0
Farming (work in farm)	67	11	0	0	1
Dairy farmer	69	14	2	1	0
Animal Husbandary	7	1	0	1	0
Forestry	12	3	0	0	0
Fishery	11	1	0	0	0
Civil engineer	15	2	0	0	0
Builder	23	2	0	0	0
Merchant	36	4	0	0	0
Company employee	88	10	1	0	0
Public servant	79	15	1	0	0
Others	60	17	1	1	0
Unknown	7	0	0	1	0

Table 5 Distribution of %RS value and antibody positivities according to lifestyles of hunters

Cases	%RS value					Antibody positive cases/ Examined cases (%)
	<10	10-20	<30	<40	40<	
Dog owning						
no	260	45	2	3	0	50/310(16.1)
yes	233	37	3	2	1	43/266(16.7)
unknown	10	1	0	0	0	1/11 (9.1)
Gathering of edible wild plants						
no	55	5	0	0	0	5/60 (8.3)**
yes (within 10 times/year)	270	54	2	4	1	61/331(18.4)
(about 10 times/year)	133	20	3	1	0	24/157(15.3)
(more than 10 times/year)	2	0	0	0	0	0/2 (0.0)
unknown	33	4	0	0	0	4/32 (12.5)

*p>0.05, **p<0.05 chi square test

た。また、犬の飼育と抗体価の関係は明らかではなかった。しかし、山菜採りに行くものは、行かないものと比較して有意に抗体陽性率が高かった (Table 5; $p<0.05$)。

考 察

狩猟者はマダニ咬傷の頻度が高いことが予想され、マダニが媒介するLBの危険集団と考えられる。狩猟者の抗体保有率は、対照と比較して有意に高かった。これまでの報告では梅毒患者血清ではLBの血清反応が偽陽性を呈することが知られている。このため、梅毒血清反応陽性血清を除外した検討をおこなったが、狩猟者の梅毒血清陽性例は少なく梅毒血清反応の影響は除外しても高いことが明らかとなった。ガラス板法では生物学的偽陽性 (BFP) が、TPHA でも他の稀なスピロヘータ感染症での交差反応が知られている。梅毒血清反応陽性血清を除外することは必ずしも梅毒感染を除外することにはならない。ボレリア感染が梅毒血清反応に及ぼす影響はこれまで知られておらず、今後の検討課題と考えられた。これまでの本邦での抗 *Borrelia burgdorferi* 抗体価の血清疫学的検討の報告は、北海道の自衛隊員の調査の報告がある。井口は北海道の自衛隊員641検体中の抗体を間接酵素抗体法で測定して、42検体に抗体陽性を認め、対照106検体中1検体と比較して有意に抗体陽性率が高かったことを報告している⁷⁾。すでに北海道では、*Borrelia burgdorferi* (B-31) を免疫して得られた Monoclonal 抗体と反応する

Borrelia sp. がマダニから分離されている⁴⁾。本症にともなって出現する抗体は感染から数年に渡って持続するものがある。本邦における初報告例の場合もこのことが確認されており¹²⁾、抗体陽性は感染の既往が反映されているものと考えられる。本検討では狩猟者の抗体陽性率に明瞭な地域的差異を見いだせなかったが、このことは、北海道の調査地域全域で感染が成立している可能性を示唆している。

抗体価におよぼす因子の検討結果では、年齢が高いものに抗体価が高いものが認められる傾向があったが、狩猟者の血清抗体陽性率と狩猟歴には関係が認められなかった。Nadal らはスイスの259名の森林労働者の血清中の抗 *Borrelia burgdorferi* 抗体 (IgG) を測定し、91名 (35%) に陽性を認め、抗体陽性率は、年齢および職歴に伴って上昇しており、マダニ暴露の期間に一致して高かったと報告している⁶⁾。狩猟歴との相関が北海道の狩猟者で明確でなかったことは、北海道における狩猟期は多くの場合10月から翌年の1月とマダニの活動力の低下している冬期であるためと考えられる。宮本らによる北海道の林務関係3機関職員722名の調査によると、北海道のマダニ咬傷は6月、7月を中心に5月から8月まで認められている¹³⁾。これらのことから狩猟に伴うマダニ咬傷による感染の機会は少ないと考えられる。また、北海道の狩猟では猟犬を使用する頻度は低く、猟犬由来のマダニ咬傷の機会は少ないことが予想さ

れるが、今回の検討でも犬飼育と抗体価の関係は少なかった。

狩猟者の職業と抗体価の関連では酪農業、畜産業、農業の人に抗体価の高いものが認められた。他の職種と比較してこれらの人々は郊外に居住していることが多く、マダニ咬傷の機会が多い可能性が考えられる。

山菜採りに行くことが多い人にも高い抗体価を示す人が多かった。山菜採りの季節は主に春から初夏で、マダニの活動期に一致することから、これをマダニ咬傷を受ける野外活動として認識する必要がある。マダニ咬傷は一般的に自覚される場合は少ないといわれ、Eichenfield は ECM を伴った LB の約 20~30% がこれを自覚するとし¹⁴⁾、また、井口による自衛隊員の調査では、抗体陽性 44 例中 17 例 (38.6%) にマダニ咬傷の既往が認められたと報告している⁷⁾。

本検討では対照で約 5% に陽性例を認めたが、健康人での抗体陽性例の存在があり、梅毒以外の他のスピロヘータ症との関連が指摘されている¹⁵⁾。このため、個々の例での抗体価の上昇が真のボレリア感染に由来するか否かの判断は慎重を要する。今回の個々の狩猟者における抗体価の解釈には、マダニ咬傷の有無とその機会からの期間と抗体価の関係、ECM や、関節症状、神経症状との関連等さらに詳しい調査が必要と考えられる。

本邦では北海道以外のマダニの *Borrelia burgdorferi* の保有状況は未だ明らかではない。今後、全国的なマダニのボレリア保有状況の調査や、慢性関節炎や慢性の皮膚症状、神経障害などの進行期の病変を保有する患者の調査が必要と考えられた。

本論文の要旨は第 39 回日本感染症学会東日本地方会総会 (1990 年、東京) において報告した。

本研究の一部は文部省科学研究費 (63571115) の援助によった。

試薬キットの供与をうけた 3M 薬品 (株) に謝意を表します。

文 献

- 1) Steere, A.C.: Lyme disease. N. Engl. J. Med., 321: 586-596, 1989.
- 2) Kawabata, M., Baba, S., Iguchi, K., Ymaguchi, N. & Russell, H.: Lyme disease in Japan and its possible incriminated tick vector, *Ixodes persulcatus*. J. Infect. Dis., 156: 854, 1987.
- 3) Kubo, N., Arachima, Y., Kawabata, M., Kawano, K., Baba, S. & Iguchi, K.: Sero-epidemiological Studies on Lyme Borreliosis in Japan. Preparing for Publication, 1992.
- 4) Miyamoto, K., Nakao, M., Sato, N. & Mori, M.: Isolation of Lyme disease spirochetes from an ixodid tick in Hokkaido, Japan. Acta Tropica, 49: 65-68, 1991.
- 5) Guy, E.C., Bateman, D.E., Martyn, C.N., Heckels, J.E. & Lawton, N.F.: Lyme disease: prevalence and clinical importance of *Borrelia burgdorferi* specific IgG in forestry workers. Lancet, 8636: 484-486, 1989.
- 6) Nadal, D., Wunderli, W., Briner, H. & Hansen, K.: Prevalence of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in forestry workers and blood donors from the same region in Switzerland. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 8: 992-995, 1989.
- 7) 井口和幸: 免疫ペルオキシダーゼ法によるライム病血清診断とその応用による疫学調査. 日大医誌, 47: 955-961, 1988.
- 8) Magnarelli, L.A., Anderson, J.F. & Johnson, R. C.: Cross-reactivity in serological tests for Lyme disease and other spirochetal infections. J. Infect. Dis., 156: 183-188, 1987.
- 9) 久保信彦, 荒島康友, 熊坂一成, 川端真人, 河野均也, 馬場俊一, 井口和幸: 3M IgG/IgM FAST-LYME test を用いた血清抗 *Borrelia burgdorferi* 抗体測定の検討. 機器試薬, 13: 504-508, 1990.
- 10) 松橋 直: ガラス板法の注目すべき点. 検査と技術, 4: 735-738, 1976.
- 11) 松橋 直, 安田純一, 鈴木達男, 河合 忠, 水岡慶三: マイクロ TPHA 試薬の比較実験. 臨床病理, 27: 199-202, 1979.
- 12) 馬場俊一, 鈴木啓之, 森島隆文, 久保信彦, 荒島康友, 川端真人, 河野均也, 井口和幸: erythema chronicum migrans. 皮膚病診療, 12: 893-896, 1990.
- 13) Miyamoto, K. & Takahashi, K.: Human ixodiasis in Hokkaido: Case report and questionnaire for the forestry organizations. Jpn. J. Zool., 40: 59-62, 1990.
- 14) Eichenfield, A.H.: Diagnosis and management of Lyme disease. Pediatric. Ann., 15: 583-594, 1986.
- 15) Magnarelli, L.A., Miller, J.N., Anderson, J.F. & Riviere, G.R.: Cross-reactivity of nonspecific treponemal antibody in serologic test for Lyme disease. J. Clin. Microbiol., 28: 1276-1279, 1990.

Study of the Anti *Borrelia burgdorferi* Antibody of Hunters in HokkaidoNobuhiko KUBO¹⁾, Yasutomo ARASHIMA¹⁾, Masato KAWABATA¹⁾, Kinya KAWANO¹⁾,
Minoru NAKAO²⁾ & Kenji MIYAMOTO²⁾¹⁾Department of Clinical Pathology, Nihon University School of Medicine²⁾Department of Parasitology, Asahikawa Medical College

We examined the sera of 587 hunters in Hokkaido (Japan's northernmost island) for the antibody to *Borrelia burgdorferi* (*B. burgdorferi*) by enzyme immunoassay, clarified the conditions related to antibody positivity in these subjects according to region, and studied the effects of factors such as age and lifestyle on the antibody titer. In contrast with an anti-*B. burgdorferi* antibody positive rate of 7.1% in control sera, that in the hunters' sera was 16.0%. Among those positive for the anti-*B. burgdorferi* antibody, the antibody positive rate in sera excluding those testing positive in the serological test for syphilis was 5.5% in the controls, and 15.4% in the hunters, the latter rate being significantly higher ($p < 0.05$). In both hunters and control groups, the antibody-positive rate tended to be higher in older subjects, but the antibody titer showed no correlation with their age, or the duration of their hunting experience. Examination of the hunters' occupations revealed a tendency toward high titers in those engaged in dairy farming. The antibody positivity of those who went gathering edible wild plants was significantly higher than those did not ($p < 0.05$). These observations suggested that the high antibody-positive rate in hunters may have been due largely to the effect of activities other than hunting as sources of infection by *Borrelia*.