

2008年の国内各地におけるマダニ相とマダニ保有リケッチアの調査

研究分担者

藤田博己

大原総合病院附属大原研究所

研究協力者

高田伸弘 (研究分担者)

福井大学医学部

矢野泰弘

福井大学医学部

角坂照貴

愛知医科大学

本田俊郎

鹿児島県環境保健センター

及川陽三郎

金沢医科大学

山本正悟 (研究分担者)

宮崎県衛生環境研究所

田原研司 (研究分担者)

島根県保健環境科学研究所

馬原文彦

馬原医院

川端寛樹 (研究分担者)

国立感染症研究所細菌第一部

安藤秀二 (研究分担者)

国立感染症研究所ウイルス第一部

岸本壽男 (研究代表者)

国立感染症研究所ウイルス第一部

坂田明子

国立感染症研究所ウイルス第一部

大竹秀男

宮城大学食産業学部

伊東拓也

北海道立衛生研究所

高尾信一

広島県総合技術研究所

平良勝也

沖縄県衛生環境研究所

中村正治

沖縄県衛生環境研究所

高野 愛

岐阜大学大学院, 国立感染症研究所細菌第一部

要旨：2008年3月から2009年1月に実施した国内各地のマダニ相調査とマダニ類からのリケッチアの分離結果を整理した。調査地域は県別に、北海道北部地域（利尻島と礼文島を含む）、東北地方の青森、岩手、宮城および福島、関東地方の栃木、近畿地方の和歌山と兵庫、四国地方の香川、徳島および高知、九州地方の鹿児島本土域、南西諸島域の鹿児島（竹島、硫黄島、黒島）と沖縄（宮古島、西表島）である。これらの地域から採集したマダニ類は、4属23種1,374個体で、このうち564個体についてリケッチア検査を実施し、2属9種から病原種を含む紅斑熱群リケッチア62株を分離した。これらは、*Rickettsia japonica*, *R. helvetica*, *R. heilongjiangensis*, *R. asiatica*, *R. honei* 類似種および *Rickettsia* sp. In56 type である。リケッチアとマダニの種類対応関係ならびに分離地域は次のようになる。*R. japonica*：ヤマアラシチマダニ *Hemaphysalis hystrix* (高知), *R. helvetica*：シュルツェマダニ *Ixodes persulcatus* (北海道), ハシブトマダニ *I. columnae* (福島), ヒトツトゲマダニ *I. monospinosus* (宮城), *R. heilongjiangensis*：イスカチマダニ *H. concinna* (宮城), *R. asiatica*：ヤマトマダニ *I. ovatus* (宮城), *R. honei* 類似種：ミナミネズミマダニ *I. granulatus* (宮古島), *Rickettsia* sp. In56：アサヌマダニ *I. asanumai* (硫黄島), タネガタマダニ *I. nipponensis* (福島, 徳島, 高知, 鹿児島)。今回の成績の中では、特に北海道北部地域のシュルツェマダニにおける *R. helvetica* の高い保有率に加え、宮城県での *R. heilongjiangensis* 感染症例に関連した当該リケッチア保有イスカチマダニの生息確認が注目された。

A. 研究目的

日本国内におけるマダニ媒介性リケッチア症実態解明の基礎となるマダニ相とマダニ類が保有するリケッチア類のフィールド調査を各地で実施した。調査地点は、日本紅斑熱発生地を含む全国各地に任意に設定し、とくに未発生地におけるマダニ媒介性リケッチア症の潜在の有無を把握するように努めた。

B. 研究方法

調査の期間と地域

調査は2008年3月から2009年1月に実施し、地域は、北部から順に北海道の礼文島と利尻島を含む道北部、東北地方の青森、岩手、宮城および福島の各県、関東地方北部の栃木県、近畿地方の和歌山県と兵庫県淡路島、四国地方の香川県、徳島県および高知県、九州地方では鹿児島県の本土域と三島村の3島、ならびに南西諸島では沖縄県の宮古島と西表島である。

方法

マダニ類は主に現地植生上から flagging 法によって未吸血個体を採集するとともに、幼若期の主要な宿主としての野鼠類を捕獲して体表より摘出採集した。また機会があるときには、人体刺咬症例やその他の動物体上に寄生している個体も採集した。採集個体は高湿度を維持した容器に収納して研究室まで輸送した後に、種別・個体別にリケッチアの分離検査に供した。分離は、培養細胞 L929 を用いた shell vial 法（大原研究所の簡易変法）によった。分離リケッチアの同定は、マウス抗血清と単クローン抗体を用いての免疫ペルオキシダーゼ反応と、感染症研究所（安藤、坂田、川端、高野）での DNA 解析によった。

C. 研究結果および D. 考察

1. 北海道の稚内市を含む宗谷丘陵、サロベツ

地区、利尻島および礼文島（表1）

6月11日から15日に調査を実施した。この日程は、北海道においてマダニの活動が活発化する時期にあわせてのものである。シュルツェマダニ *I. persulcatus* が80%以上と多数を占める2属5種合計119個体が採集された。*R. helvetica* が全調査地点のシュルツェマダニから分離され、分離成績から見たリケッチアの保有頻度は50%弱と高く、シュルツェマダニの強いヒト嗜好性とあわせると、この地域における当該リケッチア感染症の存在が十分に予想される。

かつて道内で発生した不明熱性疾患のエズ熱は、ウイルスの1種や現在の *Orientia* との関連が検討されたことがあったが、今後はマダニ媒介性の紅斑熱群リケッチア感染の可能性も含めて再検討すべきかもしれない。

2. 青森県下北半島（表2）

当地域内の佐井村古佐井川は、2007年5月に東北地方では初の紅斑熱患者が発生したときの推定感染地であり、2007年8月と9月に引き続き、2008年7月20日から23日に感染推定地を含めてさらに範囲を広げた調査を実施した。採集したマダニは2属8種合計98個体で、ヒゲナガチマダニ *H. s. kitaokai*、フタトゲチマダニ *H. longicornis* およびカモシカマダニ *I. acutitarsus* を追加した。フタトゲチマダニは東通村尻屋崎の草地環境における半野生ウマ個体群に依存した生息が予想され、半島内の他の地点での生息は確認できなかった。前回の調査では、多数採集されかつ *R. helvetica* が多数分離されたヒトツトゲマダニ *I. monospinosus* は、今回はわずかに1個体にすぎず、対照的に前回はごく少数であったヤマトマダニ *I. ovatus* が比較的多数を占めた。ヤマトマダニからは今回、*R. asiatica* が分離された。

これまでに同半島のマダニからは、過去2年間の調査で、*R. helvetica*、*R. canadensis* および不明種の *Rickettsia* sp. Sai 72 が分離されているが、患者の感染種はいまだに不明である。可能性としては、この地域の優占種と推測される *R. helvetica* の感染が有力視される

表1. 北海道北部の調査結果 2008年

地域別月日別マダニの種類		採集個体数 (リケッチア陽性数/検査数)				合計
		Larva	Nymph	♀	♂	
宗谷丘陵 11, 14, 15.VI.2008						
植生上	<i>Ixodes persulcatus</i>		1 (0/1)	29 (10/25)	27 (10/18)	57 (20/43)
アカネズミ	<i>Ixodes persulcatus</i>	3 (0/1)	4 (1/1)			7 (1/2)
タイリクヤチネズミ	<i>Ixodes persulcatus</i>		1 (1/1)			1 (1/1)
サロベツ地区 14.VI.2008						
植生上	<i>Ixodes ovatus</i>			1 (0/1)	1 (0/1)	2 (0/2)
	<i>Ixodes persulcatus</i>		1 (0/1)	4 (3/4)	7 (2/7)	12 (5/11)
稚内市区 13, 14.VI.2008						
植生上	<i>Ixodes ovatus</i>			1		1
	<i>Ixodes persulcatus</i>			1 (0/1)	4 (3/4)	5 (3/5)
アカネズミ	<i>Ixodes angustus</i>			1		1
	<i>Ixodes persulcatus</i>	2 (2/2)				2 (2/2)
利尻島 12, 13.VI.2008						
植生上	<i>Ixodes pavlovskiy</i>	6 (0/3)	3 (0/3)		2 (0/1)	11 (0/7)
	<i>Ixodes persulcatus</i>			2 (1/1)	1 (0/1)	3 (1/2)
ムクゲネズミ	<i>Ixodes angustus</i>		2 (0/2)			2 (0/2)
礼文島 14.VI.2008						
植生上	<i>Haemaphysalis flava</i>				1 (0/1)	1 (0/1)
	<i>Ixodes persulcatus</i>			11 (4/10)	3 (2/3)	14 (6/13)
種別合計	<i>Haemaphysalis flava</i>				1 (0/1)	1 (0/1)
	<i>Ixodes angustus</i>		2 (0/2)	1		2 (0/2)
	<i>Ixodes ovatus</i>			2 (0/1)	1 (0/1)	3 (0/2)
	<i>Ixodes pavlovskiy</i>	6 (0/3)	3 (0/3)		2 (0/1)	11 (0/7)
	<i>Ixodes persulcatus</i>	5 (2/3)	7 (2/4)	47 (18/41)	42 (17/33)	101 (39/81)
合計		11 (2/6)	12 (2/9)	50 (18/42)	46 (17/36)	119 (39/93)

表2. 青森県下北半島の調査結果 2008年

地域別月日別マダニの種類		採集個体数 (リケッチア陽性数/検査数)				合計
		Larva	Nymph	♀	♂	
大間町奥戸川 21, 22.VII.2008						
植生上	<i>Haemaphysalis flava</i>		1 (0/1)			1 (0/1)
	<i>Haemaphysalis japonica</i>			1 (0/1)		1 (0/1)
	<i>Haemaphysalis kitaokai</i>			3 (0/2)	2	5 (0/2)
	<i>Ixodes ovatus</i>			8 (0/4)	6 (0/2)	14 (0/6)
佐井村古佐井川 20, 21, 23.VII.2008						
植生上	<i>Haemaphysalis flava</i>		1 (0/1)			1 (0/1)
	<i>Haemaphysalis japonica</i>		2 (0/2)	2 (0/2)		4 (0/4)
	<i>Ixodes monspinosus</i>			1		1
	<i>Ixodes ovatus</i>			3	7 (0/7)	10 (0/7)
アカネズミ	<i>Ixodes acutitarsus</i>	1 (0/1)	2 (0/1)			3 (0/2)
	<i>Ixodes ovatus</i>		1 (0/1)			1 (0/1)
佐井村福浦縁道石山 20.VII.2008						
植生上	<i>Haemaphysalis japonica</i>			1 (0/1)		1 (0/1)
	<i>Ixodes ovatus</i>			1	2 (0/2)	3 (0/2)
むつ市薬研温泉 21.VII.2008						
植生上	<i>Ixodes ovatus</i>			2	1	3
むつ市奥薬研 23.VII.2008						
植生上	<i>Ixodes ovatus</i>			1	1 (0/1)	2 (0/1)
むつ市釜沢 23.VII.2008						
植生上	<i>Haemaphysalis japonica</i>		1 (0/1)			1 (0/1)
	<i>Ixodes ovatus</i>			2 (1/2)	1 (0/1)	3 (1/3)
むつ市朝比奈岳北東側道4拾い 23.VII.2008						
ノウサギ	<i>Ixodes ovatus</i>			1		1
	<i>Ixodes persulcatus</i>		1 (0/1)			1 (0/1)
むつ市恐山冷水 21.VII.2008						
植生上	<i>Ixodes ovatus</i>				2 (0/2)	2 (0/2)
東通村尻屋崎 23.VII.2008						
植生上	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	35 (0/10)	6 (0/5)			41 (0/15)
	<i>Haemaphysalis flava</i>	2 (0/2)				2 (0/2)
	<i>Haemaphysalis japonica</i>	3 (0/3)	4 (0/4)			7 (0/7)
	<i>Haemaphysalis kitaokai</i>		3 (0/2)	2		5 (0/2)
種別合計	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	1 (0/1)	35 (0/10)	6 (0/5)		41 (0/15)
	<i>Ixodes acutitarsus</i>		2 (0/1)			2 (0/2)
	<i>Ixodes monspinosus</i>			1		1
	<i>Ixodes ovatus</i>		1 (0/1)	17 (1/6)	20 (0/15)	38 (1/22)
	<i>Ixodes persulcatus</i>		1 (0/1)			1 (0/1)
合計		1 (0/1)	44 (0/18)	31 (1/17)	22 (0/15)	98 (1/51)

ものの、国内分布種を抗原とした血清反応（免疫ペルオキシダーゼ反応）によると、*R. helvetica*よりは*R. japonica*にやや高い抗体価を示した。2008年に新たに国内での分布が確認された*R. heilongjiangensis*を抗原に使用したところ、*R. japonica*よりもさらに高い抗体価を示すことが分かった。ただし、これまでに下北半島内で採集したマダニにおいては、分離とDNA検査のいずれでも*R. heilongjiangensis*は検出されていない。

3. 東北地方3県の河川敷（表3）

従来河川敷は、山間部を除きマダニの生息環境として不適と判断し、十分な調査は実施していなかった。ところが、2008年7月に仙台市の平野部市街地を流れる梅田川河川敷を推定感染地とする*R. heilongjiangensis*による紅斑熱が発生した。これを契機に、岩手県の北上川、宮城県梅田川、宮城県と福島県を連ねる阿武隈川の各河川敷の調査を実施した。

北上川では、2008年10月の調査で、水沢市から一関市に至る3箇所から少数のキチマダニ*H. flava*とヤマトマダニが採集されたのみで、リケッチア分離はすべて陰性であった。

梅田川では、2008年8月から毎月の不定期調査を開始した。8月にはマダニは採集できなかった。9月以降から毎回少数個体が採集され、11月までには2属5種が確認できた。この中には極東ロシアと中国東北部における新興感染症 Far Eastern tick-borne rickettsiosis の病原体 *R. heilongjiangensis* の主要媒介種として知られるイスカチマダニ *I. concinna* を含み(図1)、本種の複数個体から当該リケッチア種を分離できた(図2)。

阿武隈川では、2008年9月の調査で、下流部にあたる宮城県側の岩沼市とその上流部の福島県側の福島市の2箇所からフタトゲマダニが採集できた。

3県の河川敷環境における調査結果を合計すると、2属6種170個体が採集され、種類数としては宮城県仙台市の梅田川が最も多く、またリケッチアはこの河川においてのみ分離された。

河川敷環境は概してマダニ相が貧弱とさ



図1. 仙台市梅田川河川敷で採集のイスカチマダニ, 23. IX. 2008, H. Fujita leg.



図2. *R. heilongjiangensis*, Sendai-16株
L929細胞感染, 免疫ペルオキシダーゼ染色

れ、今回の調査でも北上川と阿武隈川では確かにそのことが窺われたが、梅田川のような例外的な場所もあり、リケッチア感染のハイリスク環境として注意すべきことが示唆された。

ちなみにイスカチマダニは、これまで国内の山林内からは全く見いだされておらず、フタトゲマダニと同様に草地のようなオープンな環境を好む種類と推測され、河川敷の草むらなどは本種の生息環境として適しているのかもしれない。

国内におけるイスカチマダニの地理的分布記録は、北海道の東部、青森県三沢市、佐賀県からの古い採集例があるが、比較的新しい記録としては岩手県水沢市の北上川河川敷での採集例がある(1 Larva, ex 植生上, 16. XI. 1997, 藤田, 未発表)。さらに2008年には青森県八戸市内の飼犬からも採集されている(安藤匡子博士私信)。

表3. 東北地方3県の河川敷環境における調査結果 2008年

地域別月日別マダニの種類	採集個体数 (リケッチア陽性数/検査数)				
	Larva	Nymph	♀	♂	合計
北上川 水沢 13, 26.X.2008 植生					
アカネズミ		<i>Haemaphysalis flava</i> 2 (0/2)			2 (0/2)
	1 (0/1)	<i>Ixodes ovatus</i>			1 (0/1)
北上川 前沢 26.X.2008 アカネズミ					
		<i>Ixodes ovatus</i>			1 (0/1)
北上川 一関 26.X.2008 植生					
		<i>Haemaphysalis flava</i>			3 (0/3)
梅田川 仙台 IX-XI.2008 植生					
	1 (0/1)	<i>Haemaphysalis concinna</i>			15 (3/14)
	4 (0/4)	<i>Haemaphysalis flava</i>			5 (0/5)
	64 (0/20)	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	1 (0/1)		68 (0/24)
		<i>Haemaphysalis megaspinoza</i>			1 (0/1)
	2 (0/1)	<i>Ixodes turdus</i>			2 (0/1)
阿武隈川 岩沼 28.IX.2008 植生	18	<i>Haemaphysalis longicornis</i>			18
阿武隈川 福島 14, 19.IX.2008 植生					
	52	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	1		54
	1 (0/1)	<i>Haemaphysalis concinna</i>			15 (3/14)
	5 (0/5)	<i>Haemaphysalis flava</i>			11 (0/11)
種別合計	134 (0/20)	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	4 (0/3)	1 (0/1)	139 (0/24)
		<i>Haemaphysalis megaspinoza</i>	1 (0/1)		1 (0/1)
	1 (0/1)	<i>Ixodes ovatus</i>			2 (0/2)
	2 (0/1)	<i>Ixodes turdus</i>			2 (0/1)
合計	143 (0/28)	26 (3/24)	1 (0/1)		170 (3/53)

表4. 東北地方南部と関東地方北部の山林における調査結果 2008年

地域別月日別マダニの種類	採集個体数 (リケッチア陽性数/検査数)				
	Larva	Nymph	♀	♂	合計
宮城県仙台市奥新川 18.V.2008 植生上					
		1 (0/1)			1 (0/1)
		<i>Haemaphysalis japonica</i>			1 (0/1)
		<i>Ixodes monospinosus</i>	1 (1/1)		1 (1/1)
		<i>Ixodes ovatus</i>	28 (1/27)	32 (0/32)	60 (1/59)
		<i>Ixodes persulcatus</i>	1 (0/1)		1 (0/1)
宮城県合計		2 (0/2)	30 (2/29)	32 (0/32)	64 (2/63)
福島県福島市 III, IV.2008 植生上					
		<i>Haemaphysalis flava</i>	25	3	36
	2	<i>Haemaphysalis japonica</i>	9	2	13
	1	<i>Haemaphysalis longicornis</i>			1
		<i>Ixodes columnae</i>	2 (2/2)		2 (2/2)
		<i>Ixodes ovatus</i>		14	25
福島県合計	3	36	22	16	77 (2/2)
栃木県日光市男鹿高原 13.VII.2008 植生上					
		<i>Haemaphysalis flava</i>	2 (0/2)		2 (0/2)
		<i>Haemaphysalis japonica</i>	1 (0/1)		1 (0/1)
		<i>Ixodes ovatus</i>		8 (0/8)	18 (0/18)
		<i>Ixodes persulcatus</i>		1 (0/1)	1 (0/1)
栃木県合計		3 (0/3)	8 (0/8)	11 (0/11)	22 (0/22)

4. 東北地方南部と関東地方北部の山林域 (表4)

宮城県仙台市の奥羽山系側に位置する奥新川地区は、遊歩道やキャンプサイトの整備された観光地で、降雪のある冬季を除いては人の出入りの多い場所である。これまでの遊歩道を中心とした数回におよぶ調査から、ヒト刺咬性のある種類を含むマダニ類の生息は確認済みで、1997年以降はマダニ保有リケッチアの検査も試みてきたが、これまでに陽性例は見いだされていない。2008年5月18日の調査でもマダニの種類構成は従来と同様の2属5種であっ

た。リケッチアの分離検査では、この地域では初めてとなる陽性例がヒトツトゲマダニとヤマトマダニから各1例検出され、それぞれ *R. helvetica* と *R. asiatica* と同定された。ヒトツトゲマダニの今回の採集数はわずかに1個体であったが、ヒト嗜好性の強い本種は山形県に接する山岳地帯の森林内にはごく普通に生息していることに加え、*R. helvetica* はヒト病原性リケッチアであることから、宮城県においては今後、山間部での紅斑熱発生にも注意する必要がある。

福島県福島市郊外の山林内においては、これ

表5. 和歌山県における調査結果 2008年

地域別月日別マダニの種類	採集個体数 (リケッチア陽性数/検査数)				合計
	Larva	Nymph	♀	♂	
田辺市高尾山 30.V.2008					
植生		13 (0/13)	1 (0/1)		13 (0/13)
<i>Haemaphysalis flava</i>					1 (0/1)
<i>Haemaphysalis hystrix</i>					13
<i>Haemaphysalis longicornis</i>		13			2 (0/1)
アカネズミ	1	1 (0/1)			1 (0/1)
<i>Dermacentor taiwanensis</i>		1 (0/1)			
<i>Dermacentor taiwanensis</i>					
中辺路町 熊野古道 31.V.2008					
植生		3 (0/3)	1 (0/1)	1 (0/1)	5 (0/5)
<i>Haemaphysalis flava</i>		1 (0/1)			1 (0/1)
<i>Haemaphysalis formosensis</i>					23 (0/19)
<i>Haemaphysalis kitaokai</i>			14 (0/11)	9 (0/8)	11
<i>Haemaphysalis longicornis</i>		10	1		
古座川町三尾 30.V.2008					
アカネズミ		1 (0/1)			1 (0/1)
<i>Dermacentor taiwanensis</i>	1 (0/1)				4 (0/39)
<i>Dermacentor taiwanensis</i>	2 (0/1)	2 (0/2)			18 (0/18)
<i>Haemaphysalis flava</i>		16 (0/16)	1 (0/1)	1 (0/1)	1 (0/1)
<i>Haemaphysalis formosensis</i>		1 (0/1)			1 (0/1)
<i>Haemaphysalis hystrix</i>			1 (0/1)		23 (0/19)
<i>Haemaphysalis kitaokai</i>			14 (0/11)	9 (0/8)	24
<i>Haemaphysalis longicornis</i>		23	1		
合計	2 (0/1)	42 (0/19)	17 (0/13)	10 (0/9)	71 (0/42)

までにヤマトマダニから *R. asiatica* が、フタトゲチマダニからは不明種の *Rickettsia* sp. LON タイプが分離されている。その中で、昨年度の調査においては、ハシブトマダニ *I. colmunae* から初めて *R. helvetica* が1株分離された。2008年3月と4月にはその確認のため、さらに本種個体数を確保しての検索を試みたところ、わずかに採集できた2個体からも追加分離でき、本種がシュルツェマダニとヒトツトゲマダニに続く3番目の *R. helvetica* 保有種であることが再確認できた。ハシブトマダニは北海道から九州に至る各地に分布するものの希少種で、刺咬症例の集積はまだ少ないが、幼若期ともにヒトを刺咬することが知られている。

栃木県におけるマダニ情報は少ない。今回は、福島県会津地方に接する日光市男鹿高原の山林内での調査を7月13日に実施した。この地域は標高900m前後に位置して積雪量も多いために、マダニの活動時期は夏を中心としたものと推測される。今回、リケッチア保有が知られる種類を含む2属4種22個体を採集し、全個体についてリケッチア分離を試みたが陰性であった。

5. 和歌山県 (表5)

和歌山県は日本紅斑熱の多発地を含むが、その多くは古座川町を中心とした地域で、今回の主な調査地域の田辺市とその近隣地区での発生はほとんど知られていない。2008年5月下

旬に田辺市郊外の高尾山と中辺路町の熊野古道で植生上からのマダニ採集を、また高尾山と古座川町では捕鼠を実施した。

植生上からはチマダニ属の5種が、野鼠からはタイワンカクマダニ *Dermacentor taiwanensis* の幼若虫が採集された。リケッチア検査はすべて分離陰性であった。前年度の田辺市郊外上芳養地区での調査ではフタトゲチマダニから *Rickettsia* sp. LON タイプが分離されているが、病原種の *R. japonica* はこれまでのところマダニ類からの検出例がない。

6. 淡路島と四国 (表6)

淡路島と四国地方は日本紅斑熱の多発地を多く含む。しかしながら、香川県での発生はこれまでに確認されておらず、そのためかマダニ類の調査もほとんど実施されていない。

2008年11月に、淡路島における紅斑熱多発地の一つである洲本市郊外において捕鼠とマダニ採集を行った。アカネズミにタイワンカクマダニ幼虫の多数寄生を認めたが、一部の個体について試みたリケッチア分離はすべて陰性であった。植生上からはキチマダニを少数個体とフタトゲチマダニを採集できたが、リケッチア分離はすべて陰性であった。

淡路島のマダニ類においては、これまでにタカサゴキララマダニ *Amblyomma testudinarium* から *R. tamurae*、ツノチマダニ *H. cornigera* とフタトゲチマダニから *R. japonica* と *Rickettsia* sp. LON タイプ、ヤマトマダニか

表6. 淡路島と四国における調査結果 2008年

地域別月日別マダニの種類	採集個体数 (リケッチア陽性数/検査数)				合計	
	Larva	Nymph	♀	♂		
淡路島洲本市小路谷 02.04.XI.2008						
アカネズミ	<i>Derma-centor taiwanensis</i>	74 (0/10)			74 (0/10)	
植生上	<i>Haemaphysalis flava</i>		2 (0/2)	1 (0/1)	3 (0/3)	
	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	13 (0/3)	1 (0/1)		14 (0/4)	
淡路島合計		87 (0/13)	3 (0/3)	1 (0/1)	91 (0/17)	
香川県東かがわ市川股 05.XI.2008						
アカネズミ	<i>Ixodes columnae</i>	1			1	
徳島県神山阿野 08.VIII.2008						
植生上	<i>Haemaphysalis hystricis</i>		5 (0/5)	3 (0/3)	8 (0/8)	
	<i>Haemaphysalis longicornis</i>		1 (0/1)		1 (0/1)	
徳島県阿南市新野町 04.05.XI.2008						
植生上	<i>Haemaphysalis flava</i>		49 (0/49)	3 (0/3)	54 (0/54)	
	<i>Haemaphysalis longicornis</i>		1 (0/1)		1 (0/1)	
	<i>Haemaphysalis megaspino-sa</i>	10 (0/5)	11 (0/11)		21 (0/16)	
	<i>Derma-centor taiwanensis</i>	9 (0/2)	9 (0/2)		18 (0/4)	
アカネズミ	<i>Ixodes ovatus</i>		2 (0/2)		2 (0/2)	
徳島県阿南市福井町 04.XI.2008						
植生上	<i>Amblyomma testudinarium</i>		1		1	
	<i>Haemaphysalis flava</i>		2		2	
	<i>Haemaphysalis megaspino-sa</i>		1		1	
徳島県美波町深瀬 09.VIII.2008						
植生上	<i>Amblyomma testudinarium</i>		2		2	
	<i>Haemaphysalis flava</i>		1 (0/1)		1 (0/1)	
	<i>Haemaphysalis formosensis</i>		1 (0/1)		1 (0/1)	
	<i>Haemaphysalis longicornis</i>		2	1	3	
徳島県阿南市福井町 24.VI.2008						
ヒト刺咬症例	<i>Haemaphysalis longicornis</i>			1	1	
徳島県阿南市椿町 30.VI.2008						
ヒト刺咬症例	<i>Ixodes nipponensis</i>			1 (1/1)	1 (1/1)	
徳島県阿南市 09.VIII.2008						
ヒト刺咬症例	<i>Haemaphysalis longicornis</i>			1	1	
	<i>Amblyomma testudinarium</i>		3		3	
	<i>Derma-centor taiwanensis</i>	9 (0/2)	9 (0/2)		18 (0/4)	
	<i>Haemaphysalis flava</i>		52 (0/50)	3 (0/3)	57 (0/55)	
	<i>Haemaphysalis formosensis</i>		1 (0/1)		1 (0/1)	
	<i>Haemaphysalis hystricis</i>			5 (0/5)	8 (0/8)	
	<i>Haemaphysalis longicornis</i>		3 (0/1)	4 (0/1)	7 (0/2)	
	<i>Haemaphysalis megaspino-sa</i>	10 (0/5)	12 (0/11)		22 (0/16)	
	<i>Ixodes nipponensis</i>			1 (1/1)	1 (1/1)	
	<i>Ixodes ovatus</i>		2 (0/2)		2 (0/2)	
徳島県合計		19 (0/7)	82 (0/67)	13 (1/10)	5 (0/5)	119 (1/89)
高知県壱戸岬 09.VIII.2008						
植生上	<i>Amblyomma testudinarium</i>		7 (0/3)		7 (0/3)	
	<i>Haemaphysalis flava</i>		1 (0/1)		1 (0/1)	
	<i>Haemaphysalis formosensis</i>			7 (0/7)	6 (0/6)	13 (0/13)
	<i>Haemaphysalis hystricis</i>			4 (1/3)	5 (0/5)	9 (1/8)
	<i>Haemaphysalis longicornis</i>			2 (0/2)	1 (0/1)	3 (0/3)
	<i>Ixodes nipponensis</i>	2 (2/2)				2 (2/2)
高知県壱戸岬 06.XI.2008						
アカネズミ	<i>Derma-centor taiwanensis</i>	39 (0/15)			39 (0/15)	
高知県合計		41 (2/17)	8 (0/4)	13 (1/12)	12 (0/12)	74 (3/45)

ら *R. asiatica* およびキチマダニから *R. canadensis* が分離されているように、豊富なマダニ相を反映してリケッチア類も多様性に富むことが知られている。

香川県では、2008年11月5日に捕獲したアカネズミからハシブトマダニが1個体採集されたのみであった。本県においては前年度の調査で、フタトゲチマダニから *Rickettsia* sp. LON タイプを分離したが、これまでのところ、これが唯一のマダニ媒介性リケッチアの情報である。マダニ相とマダニ保有リケッチアとも今後の調査が待たれる。

徳島県の徳島市郊外地域(神山)と紅斑熱多発地域の阿南市で2008年8月と11月に調査を実施した。また阿南市の馬原医院における人体刺咬症例から得られた虫体のリケッチア検査も行った。4属9種のマダニ類が採集され、このうち人体刺咬例のタネガタマダニ *I. nipponensis* から1株が分離され、*Rickettsia* sp. In56 タイプと推定された。このリケッチア種は徳島県からは初の記録となる。この症例の患者に紅斑熱の症状は認められず、また血清抗体の検査も実施したが、当該リケッチア種を含む各種紅斑熱群リケッチア抗原に対する抗

表7. 鹿児島県本土域における調査結果 2008年

地域別月日別マダニの種類		採集個体数 (リケッチャ陽性数/検査数)				合計
		Larva	Nymph	♀	♂	
吉田町三重岳 07.IV.2008	植生					
	<i>Amblyomma testudinarium</i>	1				1
	<i>Haemaphysalis flava</i>	6			3	9
	<i>Haemaphysalis formosensis</i>	1			2	3
	<i>Haemaphysalis kitaokai</i>			2		2
<i>Haemaphysalis longicornis</i>	1				1	
吉田町五反田 07.IV.2008	植生					
	<i>Haemaphysalis flava</i>	5		3	4	12
	<i>Haemaphysalis formosensis</i>	7		1	2	10
	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	6				6
	<i>Ixodes nipponensis</i>			1 (1/1)	1 (1/1)	2 (2/2)
<i>Ixodes ovatus</i>				1 (0/1)	1 (0/1)	
霧島山系 新床 28.IV.2008	植生					
	<i>Haemaphysalis flava</i>	1				1
	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	6				6
<i>Haemaphysalis megaspinoza</i>	17	4	1		22	
霧島山系 明礬橋 28.IV.2008	植生					
	<i>Haemaphysalis flava</i>	1				1
	<i>Haemaphysalis formosensis</i>	1				1
	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	2				2
<i>Haemaphysalis megaspinoza</i>	4			1	5	
牧園町 ラムネ温泉 28.IV.2008	植生					
	<i>Haemaphysalis flava</i>	10		5	6	21
	<i>Ixodes nipponensis</i>	1 (1/1)		2 (2/2)	3 (2/3)	6 (5/6)
	<i>Ixodes ovatus</i>			1 (0/1)	1 (1/1)	2 (1/2)
	<i>Amblyomma testudinarium</i>	1				1
種別合計	<i>Haemaphysalis flava</i>	23		8	13	44
	<i>Haemaphysalis formosensis</i>	9		1	4	14
	<i>Haemaphysalis kitaokai</i>			2		2
	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	15				15
	<i>Haemaphysalis megaspinoza</i>	17	8	1	1	27
	<i>Ixodes nipponensis</i>	1 (1/1)		3 (3/3)	4 (3/4)	8 (7/8)
	<i>Ixodes ovatus</i>			1 (0/1)	2 (1/2)	3 (1/3)
	合計	17	57 (1/1)	16 (3/4)	24 (4/6)	114 (8/11)

表8. 鹿児島県三島村における調査結果 2008年

地域別月日別マダニの種類		採集個体数 (リケッチャ陽性数/検査数)				合計
		Larva	Nymph	♀	♂	
竹島 26.IV.2008	植生					
	<i>Haemaphysalis formosensis</i>				1 (0/1)	1 (0/1)
<i>Haemaphysalis longicornis</i>		1 (0/1)			1 (0/1)	
硫黄島 26, 27.IV.2008	植生					
	<i>Haemaphysalis formosensis</i>			1 (1/1)		1 (0/1)
	<i>Ixodes asanumai</i>					1 (1/1)
<i>Ixodes granulatus</i>		1 (0/1)			1 (0/1)	
黒島 26, 27.IV.2008	植生					
	<i>Haemaphysalis flava</i>	1 (0/1)		1 (0/1)		2 (0/2)
	<i>Haemaphysalis formosensis</i>	3 (0/3)			1 (0/1)	4 (0/4)
	<i>Haemaphysalis flava</i>	1 (0/1)		1 (0/1)		2 (0/2)
	<i>Haemaphysalis formosensis</i>	4 (0/4)			2 (0/2)	6 (0/6)
種別合計	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	1 (0/1)				1 (0/1)
	<i>Ixodes asanumai</i>			1 (1/1)		1 (1/1)
	<i>Ixodes granulatus</i>	1 (0/1)				1 (0/1)
	合計	7 (0/7)		2 (1/2)	2 (0/2)	11 (1/11)

体は陰性であった。

阿南市一帯におけるこれまでの調査では、日本紅斑熱病原体がタイワンカクマダニ、キチマダニ、ヤマアラシチマダニ *H. hystricis* およびフタトゲチマダニから分離されているほか、*R. tamurae* がタカサゴキラマダニから、*R. asiatica* がヤマトマダニから、*Rickettsia* sp. LON タイプがフタトゲチマダニから分離され

ている。

高知県室戸岬一帯も日本紅斑熱の多発地である。2008年8月9日の調査では、植生上とカナヘビから合わせて3属6種のマダニが採集され、このうち、植生上から採集のヤマアラシチマダニから *R. japonica* が、カナヘビから採集のタネガタマダニからは *Rickettsia* sp. In56 タイプが分離できた。これら2種のリケ

表9. 沖縄県宮古島と西表島における調査結果 2008年, 2009年

地域別月日別マダニの種類	採集個体数 (リケッチア陽性数/検査数)				合計
	Larva	Nymph	♀	♂	
宮古島 02, 03.X.2008; 24, 25.1.2009					
ジャコウネズミ <i>Ixodes granulatus</i>	14 (0/13)	39 (0/8)	10 (1/4)		63 (1/25)
クマネズミ <i>Ixodes granulatus</i>	16 (2/14)		1		17 (2/14)
ドブネズミ <i>Ixodes granulatus</i>	16 (0/14)	2 (0/1)	1 (0/1)	1	20 (0/16)
植生上 <i>Haemaphysalis formosensis</i>		6			6
<i>Ixodes turdus</i>		1			1
<i>Haemaphysalis formosensis</i>		6			6
種別合計 <i>Ixodes turdus</i>		1			1
<i>Ixodes granulatus</i>	46 (2/41)	41 (0/9)	12 (1/5)	1	100 (3/55)
宮古島合計	46 (2/41)	48 (0/9)	12 (1/5)	1	107 (3/55)
西表島 22-24.V.2008					
セマルハコガメ <i>Amblyomma geoemydae</i>	110	70	12	4	196
イシガメ <i>Amblyomma geoemydae</i>		1			1
植生上 <i>Amblyomma geoemydae</i>	33 (0/7)				33 (0/7)
<i>Haemaphysalis hystricis</i>		3 (0/1)	1	1 (0/1)	5 (0/2)
<i>Haemaphysalis mageshimaensis</i>		1 (0/1)			1 (0/1)
種別合計 <i>Amblyomma geoemydae</i>	143 (0/7)	71 (0/2)	12	4 (0/1)	230 (0/10)
<i>Haemaphysalis hystricis</i>		3	1	1	5
<i>Haemaphysalis mageshimaensis</i>		1			1
西表島合計	143 (0/7)	75 (0/2)	13	5 (0/1)	236 (0/10)

ツチアは、高知県のマダニからは最初の分離例である。また、同年11月6日に捕獲したアカネズミからはタイワンクマダニの幼虫が採集されたが、これらマダニからのリケッチア分離は陰性であった。高知県のマダニ類ではこれまでに、タカサゴキラマダニからの *R. tamurae*、ヒトツトゲマダニからの *R. helvetica* およびフタトゲチマダニからの *Rickettsia* sp. LON タイプの分離記録がある。

7. 鹿児島県本土域 (表7)

鹿児島県吉田町から霧島山系に至る数地点で2008年4月7日と28日に、3属8種114個体のマダニを採集し、これまでに検索が不十分であった2種類、タネガタマダニとヤマトマダニ、についてリケッチア検査を実施した。タネガタマダニでは、吉田町と牧園町の採集個体から *Rickettsia* sp. In56 タイプが分離できた。またヤマトマダニでは牧園町の1個体から *R. asiatica* が分離できた。今回の調査地点はいずれも鹿児島県における日本紅斑熱発生地には含まれず、これまでもこれらの地点のマダニ類からは *R. japonica* が分離されたことはない。

8. 鹿児島県三島村 (表8)

2008年4月26日と27日に有人3島における調査を実施した。いずれの島においてもマダ

ニ採集数は少なく、3島を合わせても2属5種11個体を採集できたのみであった。このうち、キチマダニとフタトゲチマダニ以外の3種は分布上の新記録と思われる。このうちアサヌマダニ *I. asanumai* からは *Rickettsia* sp. In56 タイプが分離できた。

9. 沖縄県宮古島と西表島 (表9)

宮古島では2008年に、同島内での感染がほぼ確実と推測されたツツガムシ病が1例発生したのを契機に、同年10月と2009年1月に媒介動物の調査を実施した。このときに捕獲された野鼠類からは多数のミナミネズミマダニ *I. granulatus* が、また植生上からは少数のタカサゴチマダニ *H. formosensis* とアカココマダニ *I. turdus* が採集された。このうち、ミナミネズミマダニからは紅斑熱群の *R. honei* 様のリケッチアが3株分離された。

南西諸島の中では、沖縄県に含まれる島々における紅斑熱の発生記録はない。しかし、これまでに沖縄本島のミナミネズミマダニからは、今回と同様の *R. honei* 様リケッチアが多数分離されている。*R. honei* は Thai tick typhus や Flinders Island spotted fever の病原体であることから、国内の類似種がこれと同様の病原性を有するものであるならば、ミナミネズミマダニの分布域にある鹿児島県の奄美諸島、ト

カラ列島、大隈諸島も含めた南西諸島一帯にもこのリケッチア種による紅斑熱が潜在している可能性がある。ちなみに、奄美諸島の奄美大島と徳之島で発生記録のある紅斑熱症例においては病原リケッチア種が特定されていない。

西表島では2008年5月にカメ類からカメキララマダニ *A. geoemydae* の多数と植生上から同マダニ種、ヤマアラシチマダニおよびマゲシマチマダニ *H. mageshimaensis* が採集された。同島からのマゲシマチマダニは初記録となる。リケッチア分離はいずれも陰性であった。

E. 結論

今年度も引き続き、全国各地のマダニ相とリケッチア情報の収集に努めた。その中で、注目すべき事例として、北海道北部のシュルツエマダニにおける極めて高い *R. helvetica* の保有頻度と宮城県仙台市におけるイスカチマダニ媒介が強く疑われる *R. heilongjiangensis* の感染症例の確認があげられる。今回得られた知見によって、国内各地に生息するマダニ類が何らかのリケッチアを保有していることが改めて明らかにできた。検出された複数種のリケッチアのヒト病原性については、不明な種類があるものの、各地において、これらのリケッチアが関係する不明疾患の潜在が危惧される。

G. 研究発表

論文発表

- Ishiguro, F., Takada, N., Fujita, H., Noji, Y., Yano, Y. and Iwasaki, H.: Survey of the vectorial competence of ticks in an endemic area of spotted fever group rickettsioses in Fukui Prefecture, Japan. *Microbiol. Immunol.*, 52: 305-309, 2008.
- 藤田博己: 過去15年間における培養細胞を用いた病原体分離法の改良と実績。大原年報, 48: 21-42, 2008.
- Fujita, H., Kadosaka, T., Nitta, Y., Ando, S., Takano, A., Watanabe, H. and Kawabata, H.: *Rickettsia* sp. in *Ixodes granulatus*

ticks, Japan. *Emerging Infectious Diseases*, 14: 1963-1965, 2008.

- 本田俊郎, 御供田睦代, 藤田博己, 角坂照貴, 川端寛樹, 高野 愛, 山本正悟, 及川陽三郎, 矢野泰弘, 高田伸弘: 鹿児島県内の野鼠とダニ類からの病原体検索 -2007年度調査から-。鹿児島県環境保健センター所報, 9: 75-79, 2008.

学会発表

- 本田俊郎, 角坂照貴, 川端寛樹, 高野 愛, 藤田博己, 蔵元 強, 御供田睦代, 矢野泰弘, 山本正悟, 田原研司, 及川陽三郎, 高田伸弘: 鹿児島県トカラ列島の野鼠類とその保有病原体の調査。第60回日本衛生動物学会大会。2008年4月17日-19日。栃木県下野市。
- 藤田博己, 安藤秀二, 川端寛樹, 坂田明子, 高野 愛: 福島県のハシブトマダニとタネガタマダニからのリケッチア分離例。第60回日本衛生動物学会大会。2008年4月17日-19日。栃木県下野市。
- 本田俊郎, 藤田博己, 蔵元 強, 御供田睦代, 角坂照貴, 矢野泰弘, 川端寛樹, 高野 愛, 山本正悟, 田原研司, 及川陽三郎, 高田伸弘: 鹿児島県トカラ列島のマダニ相とマダニ保有病原体の調査。第60回日本衛生動物学会大会。2008年4月17日-19日。栃木県下野市。
- 山内健生, 岸本啓年郎, 角坂照貴, 杉浦真治, 岡部貴美子, 藤田博己: 小笠原諸島の弟島と父島で採集されたマダニ類。第60回日本衛生動物学会大会。2008年4月17日-19日。栃木県下野市。
- 藤田博己: 国内のマダニ媒介性リケッチア症にかかるベクターとリケッチアの多様性。シンポジウム「わが国のマダニ媒介リケッチア症 -特に紅斑熱の新展開-」。第60回日本衛生動物学会大会。2008年4月17日-19日。栃木県下野市。
- 及川陽三郎, 高田伸弘, 藤田博己, 本田俊郎, 田原研司, 山本正悟, 石畝 史, 矢野泰弘, 呉 弘植: *Ixodes ovatus* はどこから入って

ヤマトマダニと呼ばれたか？. 第 63 回日本衛生動物学会西日本支部大会. 2008 年 11 月 2, 3 日. 神戸市.

森田裕司, 下松智哉, 藤田博己: 水様便と筋力低下を伴った日本紅斑熱の 1 例. 第 63 回日本衛生動物学会西日本支部大会. 2008 年 11 月 2, 3 日. 神戸市.

田原研司, 高塚純子, 藤田博己, 高田伸弘: 日本紅斑熱患者およびその刺咬マダニからの *Rickettsia japonica* の検出. 第 63 回日本衛生動物学会西日本支部大会. 2008 年 11 月 2, 3 日. 神戸市.

森田裕司, 藤田博己: 無紅斑で消化器症状が主体の日本紅斑熱の 1 例. 第 78 回日本感染症学会西日本地方学術集会. 2008 年 12 月 5, 6 日. 広島市.

島津幸枝, 高尾信一, 田原研司, 藤田博己, 佐々木由枝: 広島県における日本紅斑熱患者発生状況と *Rickettsia japonica* の検索. 第 78 回日本感染症学会西日本地方学術集会. 2008 年 12 月 5, 6 日. 広島市

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

獣医学領域からのリケッチア感染サーベイランス

研究分担者	猪熊 壽	帯広畜産大学畜産学部臨床獣医学研究部門	教授
研究協力者	松本高太郎	帯広畜産大学畜産学部臨床獣医学研究部門	助教
	横山直明	帯広畜産大学原虫病研究センター	准教授
	近藤誠司	北海道大学北方圏フィールド科学センター	教授
	秦 寛	北海道大学北方圏フィールド科学センター	准教授
	鈴木正嗣	岐阜大学生物資源科学部	教授
	奥田 優	山口大学農学部獣医学科	准教授
	遠藤泰之	鹿児島大学農学部獣医学科	准教授
	松鶴 彩	鳥取大学農学部獣医学科	助教
	松川義昌	沖縄県家畜衛生試験場	場長
	座喜味聡	沖縄県家畜衛生試験場	主任研究員
	大城 守	沖縄県家畜衛生試験場	主任研究員
	井出直樹	徳島県動物病院開業	獣医師
	佐鹿万里子	岐阜大学大学院連合獣医学研究科	大学院生
	田川道人	帯広畜産大学畜産学部獣医学科	学生
	久保田直樹	帯広畜産大学畜産学部獣医学科	学生
	坂本礼央	帯広畜産大学畜産学部獣医学科	学生
	松田浩典	帯広畜産大学畜産学部獣医学科	学生
	松山雄喜	帯広畜産大学畜産学部獣医学科	学生

研究要旨：我が国の医学領域で問題となっているリケッチア感染症について、獣医学領域からアプローチした。1. 伴侶動物のリケッチア類感染状況調査：(1) 全国の犬 1427 頭の末梢血から PCR により紅斑熱リケッチア遺伝子検出を試みたが、全頭陰性であり、犬が紅斑熱リケッチアの保菌動物になりうる可能性は低いものと考えられた。(2) シクロスポリン投与による免疫抑制犬に対して *Rickettsia japonica* Aoki 株を接種したところ、接種後 2~3 日目に元気消沈、食欲・飲水欲の低下および 39.7~41.0 °C の発熱が見られた。しかし、4 日目以降一般状態は回復し、体温も平熱に復した。紅斑、リンパ節腫脹などは認められなかった。接種後 14 日目の抗体価は接種犬 2 頭とも 160 倍を示した。末梢血 PCR では病原体は検出されなかった。*R. japonica* Aoki 株の犬に対する病原性は強くないものと思われた。(3) 全国の犬 1065 頭の末梢血から PCR によりエーリキアおよびアナプラズマ検索を行ったところ、150 頭 (14.1%) が陽性を示した。PCR 産物の遺伝子解析により *Wolbachia* spp. および *Anaplasma bovis* 遺伝子の

一部が検出された。また血清学的検索により、*A. phagocytophilum* 陽性犬が検出された。2. 家畜のリケッチア類感染状況調査：(1) 北海道の牛放牧地におけるシュルツェマダニおよびオトゲチマダニから *A. phagocytophilum* および *A. bovis* の遺伝子断片が検出され、これらのマダニがベクターである可能性が示唆された。(2) 沖縄県与那国島の牛放牧地におけるフタトゲチマダニから *A. phagocytophilum* 種特異的 PCR 陽性検体が検出され、フタトゲチマダニが本地域における *A. phagocytophilum* のベクターである可能性が示唆された。(3) 沖縄県石垣島において *A. marginale* 感染症牛を摘発し症例報告した。3. 野生動物のリケッチア類感染状況調査：北海道のアライグマ末梢血について、PCR を用いてリケッチアの検出を試みたところ、紅斑熱リケッチアでは 0.5% が陽性を示し、遺伝子解析の結果 *R. heilongjiangensis* と高い相同性を示した。またエーリキア/アナプラズマでは 3.8% が陽性を示し、遺伝子解析で *A. bovis* および *Ehrlichia canis* に近縁であった。4. 日本の紅斑熱群リケッチア DNA の迅速鑑別法の検討：sca4 遺伝子に基づく PCR 産物の RFLP により我が国に生息する 4 種の紅斑熱群リケッチア *R. japonica*、*R. asiatica*、*R. helvetica*、*R. tamurae* を迅速に鑑別することが可能となった。またこの方法はマダニを用いたリケッチアの疫学調査に応用可能であることが示唆された。

A. 研究目的

我が国の医学領域で問題となっているリケッチア感染症について、獣医学領域からアプローチする。すなわち家畜と野生動物を材料に、リケッチア感染の実態を明らかにするとともに、リケッチア感染症における動物の疫学的役割を解明することを目的とする。本年度は次の項目について研究を実施した。

1. 伴侶動物のリケッチア類感染状況調査

(1) 犬の紅斑熱リケッチア感染状況調査及び感染実験

日本紅斑熱は *R. japonica* を病原体とするマダニ媒介性感染症であり、西日本を中心に患者の発生が見られるが、他の哺乳動物との関連には不明な点が多い。一方、犬は *R. japonica* に対する抗体を保有することが知られているが、発生例の報告はこれまでになく、日本紅斑熱患

者の飼い犬が急死し、その犬の腎臓などから病原体が検出された例が報告されているのみである。つまり *R. japonica* の犬に対する病原性は不明であり、犬の疫学的役割も明らかではない。そこで本年度の研究では犬に対する *R. japonica* の病原性および犬の疫学的役割を検討することを目的とした。

(2) 犬のエーリキアおよびアナプラズマ感染状況調査

わが国には *E. canis*、*A. platys* など犬に感染するアナプラズマ科病原体の存在が知られているが、その実態は明らかではない。そこで本年度の研究では我が国の犬におけるエーリキア/アナプラズマの感染状況を明らかにすることを目的とした。

2. 家畜のリケッチア類感染状況調査

昨年度までの調査により北海道および沖縄県の牛から *A. phagocytophilum* および *A. bovis* の遺伝子断片が検出されたが、これらの病原性、ベクター、その他のエーリキア病原体の感染状況については不明である。本年度の研究では北海道および沖縄県の牛の *A. phagocytophilum* および *A. bovis* のベクターを明らかにすることを目的とした。

3. 野生動物のリケッチア類感染状況調査

昨年度までの調査により北海道のエゾシカが紅斑熱リケッチア、*A. phagocytophilum* および *A. bovis* に高率に感染していることが明らかとなった。今年度は近年生息数が増加傾向にある外来野生動物アライグマを対象にリケッチア類の感染状況を明らかにすることを目的とする。

4. 日本の紅斑熱リケッチア DNA の迅速鑑別法の検討

近年、わが国では新規の紅斑熱リケッチアが複数分離されているため、動物やマダニの分子生物学的疫学調査の際に属特異的なプライマーを用いた PCR では、迅速な感染種の同定が困難である。そこで、本年度はわが国に生息する 4 種の紅斑熱リケッチアを PCR-RFLP プロファイルにより鑑別する方法を検討した。

B. 研究方法

1. 伴侶動物のリケッチア類感染状況調査

(1) 犬の紅斑熱リケッチア感染症に関する疫学調査

2007 年から 2008 年にかけて、全国 32 都道府県（北海道、青森、宮城、福島、栃木、茨木、埼玉、東京、千葉、神奈川、新潟、静岡、山梨、福井、愛知、三重、滋賀、大阪、京都、奈良、和歌山、兵庫、鳥取、島根、山口、香川、徳島、愛媛、高知、福岡、大分、熊本）の個人開業動物病院から全血 1316 検体、また西日本の大学動物病院（鳥取大学、山口大学、鹿児島大学）から全血 111 検体、合計 1427 検体の犬末梢血サンプルを収集した。なお対象動物は外出のある犬に限り、健康動物、および不明または腎不全を呈した症例とした。全血サンプルから DNA を抽出し紅斑熱リケッチアを検出する nested PCR（① RpCS877p/1273r ② RpCS896f/1258n）により感染状況を調査した。

(2) 犬に対する紅斑熱リケッチアの病原性

供試犬には临床上健康な 6 ヶ月齢の雄ビーグル犬 3 頭、接種には *R. japonica* Aoki 株を用いた。供試犬 3 頭全てにおいてシクロスポリン経口投与（50mg/day）を 28 日間行い、投与開始 14 日後に 2 頭には *R. japonica* 持続感染 L929 懸濁液を、また 1 頭は非感染 L929 懸濁液を頸部皮下に接種した。一般状態、体重、体温等を連日定時にモニターし、接種 2 日前より接種後 14 日目まで隔日で血液学検査および PCR による末梢血中の病原体の検索を行った。接種後 14 日目に病理解剖を実施し、脾臓と腎臓を用いて PCR による病原体の検索を行うと共に、蛍光抗体法 (IFA) により抗体価を測定した。なお感染実験は帯広畜産大学バイオセーフティレベル 3 の実験動物施設において実施した。

(3) 犬のエーリキアおよびアナプラズマ感染

に関する疫学調査

①分子生物学的検索：(1)と同じサンプルのうち、小動物開業獣医師から得られた犬の末梢血全血 1065 検体を対象にした。これらの末梢血サンプルから DNA を抽出しエーリキア属およびアナプラズマ属の病原体を検出することのできるスクリーニング PCR

(EHR16D/EHR16R)により感染状況を調査した。

②血清学的検索：2005～2006年に30都道府県（北海道、青森、宮城、福島、栃木、埼玉、東京、千葉、神奈川、新潟、福井、長野、静岡、山梨、愛知、三重、大阪、京都、奈良、和歌山、兵庫、鳥取、山口、香川、徳島、福岡、長崎、熊本、宮崎、沖縄）の動物病院の協力を得て35都道府県の犬から収集された計1206検体の血清を用いて、犬に感染する *E. canis* および人獣共通感染症である *A. phagocytophilum* の血清疫学検査を実施した。スクリーニングは *E. canis* および *A. phagocytophilum* に持続感染した細胞をそれぞれ抗原として用いた IFA により行い、40倍以上のものを陽性とした。また IFA 陽性のものについては、組換え *E. canis* および *A. phagocytophilum* 抗原を用いた IDEXX-canine snap 4D test を米国より輸入し、それぞれの病原体に対する特異抗体を検出した。

2. 家畜のリケッチア類感染状況調査

(1) 北海道の *A. phagocytophilum* および *A. bovis* 陽性牛放牧地におけるマダニの病原体保有状況調査

前年に *A. phagocytophilum* および *A. bovis*

が牛から検出された北海道日高管内の1牧野を対象として、2008年4～6月に旗振り法によって牧野の未吸血マダニを採取した。マダニは種同定後 DNA を抽出し、エーリキア属およびアナプラズマ属の病原体を検出することのできるスクリーニング PCR (EHR16D/ EHR16R) を用いて、エーリキア/アナプラズマの保有状況を検索した。*A. phagocytophilum* および *A. bovis* にそれぞれ特異的な PCR も実施した。さらに PCR 陽性検体については PCR 産物の遺伝子解析により感染種を推定した。

(2) 沖縄県の *A. phagocytophilum* および *A. bovis* 陽性牛放牧地におけるマダニの病原体保有状況調査

前年に *A. phagocytophilum* および *A. bovis* が牛から検出された沖縄県与那国島の牧野を対象として、2008年4月に旗振り法によって牧野の未吸血マダニを採取した。マダニは種同定後、DNA を抽出し、上記と同じ方法で検索を行った。

(3) 沖縄県における *A. marginale* 感染症牛の摘発

平成19年10月2日、黒毛和種成雌牛52頭、子牛28頭を飼養する石垣島の農場において、貧血および黄疸を主徴とする牛1頭について、病性鑑定を行った。血液検査、血液生化学検査および病原学的検査として原虫およびリケッチア類を分子生物学的および血清学的に検索した。

3. 野生動物のリケッチア類感染状況調査

北海道の野生アライグマを捕獲し採血後、分

子生物学的方法により紅斑熱リケッチアおよびエーリキア／アナプラズマの検出を試みた。方法は上記1と同様のPCRを用いた。

4. 日本の紅斑熱群リケッチア DNA の迅速鑑別法の検討

R. japonica の *sca4* 遺伝子配列からプライマー Rj1707f (CTCTGAATTAAGCAATG CGG) と Rj2837r (CCTGATACTACCCTTACATC) を設計し、PCR およびダイレクトシーケンス法により *R. japonica* AOKI, *R. asiatica* IO-1, *R. helvetica* IP-1, *R. tamurae* AT-1 の約 1100bp の塩基配列を決定した (FJ358500- FJ358503)。また PCR 産物を制限酵素 MspI で切断し、2% アガロースゲルで電気泳動した。さらに十勝管内の牧野から採取した未吸血のマダニを材料に、この PCR-RFLP によりリケッチア保有状況を検索した。

C. 研究結果

1. 伴侶動物のリケッチア類感染状況調査

(1) 犬の紅斑熱リケッチア感染状況調査

1427 頭全頭陰性であった。

(2) 犬に対する紅斑熱リケッチアの病原性

R. japonica を接種した免疫抑制犬 2 頭において、接種後 2~3 日目に元気消沈、食欲・飲水欲の低下が見られ、また接種 7 時間後と接種後 2~3 日目に 39.7~41°C の発熱が見られた (図 1)。しかし、4 日目以降一般状態は回復し、体温も平熱に復した。身体検査では紅斑、リンパ節腫脹などの変化は認められなかった。血液学検査では、接種後 2 日目に好中球増加に

伴う白血球数の増加が見られたが、赤血球や血小板数に有意な変化は見られなかった。接種後 14 日目の抗体価は接種犬 2 頭とも 160 倍を示した。PCR による病原体の検索結果は何れのサンプルにおいても陰性であった。

(3) 犬のエーリキアおよびアナプラズマ感染に関する疫学調査

①分子生物学的検索：調査した 1065 頭中 PCR 陽性は 150 頭 (14.1%) であった。PCR 産物の遺伝子解析を実施したところ、*Wolbachia* spp. および *A. bovis* の遺伝子の一部が検出された。

②血清学的検索：*E. canis* では 1206 検体中 42 頭 (3.5%) が 40 倍以上の抗体価を示した。陽性犬が認められたのは北海道、青森、秋田、宮城、東京、山梨、長野、静岡、福井、三重、京都、和歌山、鳥取、香川、徳島、長崎、沖縄と広範囲であり、また抗体価は 40 倍~640 倍までの幅がみられた。いっぽう、*A. phagocytophilum* では静岡、山梨、静岡の犬各 1 頭、計 3 頭が陽性を示したが、臨床症状は認められなかった。*E. canis*-IFA 陽性犬 42 頭のうち、検査を実施した 39 頭はいずれも IDEXX-canine snap 4D test では *E. canis* 陰性を示した。*A. phagocytophilum*-IFA 陽性犬 3 頭のうち 1 頭が IDEXX-canine snap 4D test では *A. phagocytophilum* 抗体陽性を示した (図 2)。

2. 家畜のリケッチア類感染状況調査

(1) 北海道の *A. phagocytophilum* および *A. bovis* 陽性牛放牧地におけるマダニの病原体保有状況調査

北海道日高管内の牧場ではオトゲチマダニが最優勢種で141個体(Female:10, Male:3, Nymph:82, Larva:46)が採取された。他にシエルトツエマダニ7個体(F:3, M:1, N:3)、ヤマトマダニ8個体(F:1, M:7)、ダグラスチマダニ5個体(F:3, M:1, N:1)、キチマダニ1個体(F:1)が採取された。エーリキア/アナプラズマの検索を行ったところ、日高管内のオトゲチマダニから*A. phagocytophilum* および*A. bovis* PCR陽性個体がN(若ダニ)とL(幼ダニ)から検出された。陽性率は*A. phagocytophilum*: 若ダニ5/48(10.4%)、幼ダニ1/4プール(5個体を1プールとして検索25%)、*A. bovis*: 若ダニ2/48(4.2%)、幼ダニ1/4プール(25%)であった。

(2) 沖縄県の*A. phagocytophilum* および*A. bovis* 陽性牛放牧地におけるマダニの病原体保有状況調査

沖縄県与那国島の牛放牧地から得られたマダニは計1170個体(F:199, N:969, L:2)で、すべてフタトゲチマダニであった。このうち無作為に抽出したマダニからDNAを抽出し、PCRでアナプラズマ類を検索したところ、*A. phagocytophilum* 特異的PCRにより130検体中2検体が陽性を示したが(1.5%)、*A. bovis* はすべて陰性であった(1/40)。またアナプラズマ科スクリーニングPCR(EHR16D/EHR16R)では52検体中2検体が陽性を示した。PCR産物(305bp)の遺伝子解析を実施したところ、宮崎県のチマダニから検出されたエーリキアの遺伝子(AY309971)および'*Candidatus Ehrlichia shimanensis*'(AB074459)と100%の相同性を示した。

(3) 沖縄県における*A. marginale* 感染症牛の摘発

血液検査および血液生化学検査の結果、当該牛は*A. marginale* 感染症であることが強く疑われた(図3)。16SrRNAおよび主要表面膜蛋白遺伝子を標的にしたPCRが陽性であり、また80倍以上のCF抗体価を保有していたことから、*A. marginale* によるアナプラズマ病と診断した。なお、*Theileria spp.*、*Babesia bigemina*、*B. ovata* および*A. central* についてはPCR陰性であった。

3. 野生動物のリケッチア類感染状況調査

(1) 紅斑熱リケッチア

2008年度に北海道の野生アライグマから採取した末梢血212検体についてリケッチアスクリーニングPCRを用いて検索したところ、1検体が陽性を示した(0.5%)。ダイレクトシーケンスにより遺伝子解析を行ったところ、*R. heilongjiangensis* に近縁な配列が得られた。

(2) エーリキア/アナプラズマ

2007年度に北海道の野生アライグマから採取した末梢血210検体についてエーリキア/アナプラズマスクリーニングPCRを用いて検索したところ、8検体が陽性を示した(3.8%)。PCR産物の遺伝子解析では6検体で*A. bovis* と相同性の高い遺伝子が検出された。*A. bovis* 種特異的 nested PCRを行ったところ、これら6検体全てが陽性を示した。また残りの2検体のうち1検体は*E. canis* と高い相同性を示した。

4. 日本の紅斑熱リケッチアDNAの迅速鑑別法

の確立

R. japonica AOKI, *R. asiatica* IO-1, *R. helvetica* IP-1, *R. tamurae* AT-1 の約 1100bp の PCR 産物を制限酵素 MspI で切断し、2%アガロースゲルで電気泳動したところ、それぞれ特異的なバンドパターンを示した (図 4)。

また、北海道十勝管内の牧野マダニ 36 検体から抽出した DNA をサンプルに PCR-RFLP を実施したところ、まず 5 検体が PCR 陽性を示し、これらを MspI で切断後泳動すると *R. helvetica* パターンを示すものが得られた (図 5)。

D. 考察

1. 伴侶動物のリケッチア類感染状況調査

(1) 犬の紅斑熱リケッチア感染状況調査

日本紅斑熱流行地を含む広範な地域から 1427 頭の犬全血を収集してリケッチアを検索したが、結果は全頭陰性であり、犬末梢血に紅斑熱リケッチアが出現する可能性は極めて低いことが示唆された。またこのことから犬は紅斑熱リケッチアの保菌動物になる可能性は低いものと考えられた。

(2) 犬に対する紅斑熱リケッチアの病原性

免疫抑制犬に対する *R. japonica* 接種により、発熱、元気食欲廃絶などの臨床症状がみられたものの、臨床症状は 3 日以内に消失し、また末梢血と主要臓器からは PCR により病原体が検出されなかったことから、*R. japonica* は犬の体内から早期に排除される可能性があり、犬は *R. japonica* の保菌動物としては重要な役割を

もたないものと考えられた。また少なくとも *R. japonica* Aoki 株の犬に対する病原性は強くないものと思われた。ただし今回は 2 頭だけを用いた実験であり、今後、接種する株、接種量、接種ルートなど検討する必要があると思われた。

(3) 犬のエーリキアおよびアナプラズマ感染に関する疫学調査

分子生物学的検索により 14.1%の犬がエーリキアまたはアナプラズマ PCR 陽性を示し、遺伝子解析の結果 *Wolbachia* spp. および *A. bovis* が検出された。*Wolbachia* spp. は犬糸状虫の共生微生物であり、犬の血液中にマイクロフィラリアが混入していれば陽性を示すことがある。したがって今回 *Wolbachia* 陽性を示したものは、犬糸状虫に感染していたと考えられる。また本来アフリカの牛の熱性伝染病の病原体である *A. bovis* は、近年国内の牛、鹿、マダニから検出されている。今回犬からも検出されたことは新しい知見である。今後、さらに遺伝子解析を継続し、16S rRNA の長い遺伝子配列を解析する必要があると思われる。

血清学的検査では、IFA によるスクリーニングで 1206 検体中 42 頭 (3.5%) が *E. canis* 陽性を、また *A. phagocytophilum* では 3 頭が陽性を示したが、臨床症状は認められなかった。IFA 陽性検体については、米国より輸入した組換え *E. canis* および *A. phagocytophilum* 抗原を用いた IDEXX-canine snap 4D test により、抗体の特異性を確認した結果、*E. canis*-IFA 陽性犬 42 頭は

いずれも IDEXX-canine snap 4D test では *E. canis* 抗体陰性を示し、IFA の結果が病原性の低い他種との交差反応である可能性が考えられた。しかし *A. phagocytophilum*-IFA 陽犬 3 頭のうち 1 頭が *A. phagocytophilum* 抗体陽性を示し、わが国の犬が *A. phagocytophilum* に感染している可能性が示唆された。

2. 家畜のリケッチア類感染状況調査

(1) 北海道の *A. phagocytophilum* および *A. bovis* 陽性牛放牧地におけるマダニの病原体保有状況調査

北海道日高管内ではオオトゲチマダニが *A. phagocytophilum* および *A. bovis* のベクターである可能性が示唆された。また未吸血の幼ダニプールの検出されたことから、これらの病原体が経卵巣伝播される可能性が考えられた。

(2) 沖縄県の *A. phagocytophilum* および *A. bovis* 陽性牛放牧地におけるマダニの病原体保有状況調査

沖縄県与那国島ではフタトゲチマダニが *A. phagocytophilum* のベクターである可能性が示唆されたが、*A. bovis* はマダニから検出されず不明であった。今後さらに検索を継続する必要があると思われる。

また沖縄県与那国島のフタトゲチマダニからは、これまで宮崎県のチマダニから検出されたエーリキア (AY309971) および '*Candidatus Ehrlichia shimanensis*' (AB074459) と 100% の同一性を示す遺伝子が検出され、これらの病原体が与那国島にも存在することが予想され

た。今後さらに長い 16S rRNA 遺伝子の解析が必要である。

(3) 沖縄県における *A. marginale* 感染症牛の摘発

A. marginale は家畜の法定伝染病であるが、沖縄県では平成 6 年 7 月のオウシマダニ清浄化以降、牛における感染率が年々減少し、発生もみられなくなっていた。*A. marginale* は若齢牛に比べて 2 歳以上の成牛において症状が強く、急性経過の場合は死亡するが、感染耐過した牛は生涯病原体を宿し、キャリアとなる。今回発生があった農場は周年放牧形態であったが、牛へのマダニ寄生はみられなかった。当該牛はオウシマダニ清浄化以前に石垣島に導入されており導入された後現地で感染耐過したキャリア牛による発症と考えられた。

3. 野生動物のリケッチア類感染状況調査

(1) 紅斑熱リケッチア

野生アライグマ末梢血のリケッチアスクリーニング PCR 陽性率は 0.5% と、エゾシカに比較すると低く、アライグマは紅斑熱の保菌動物としてはあまり重要ではない可能性が考えられた。なお、PCR 陽性産物の遺伝子解析で得られた *R. heilongjiangensis* は、最近東北地方から検出されており、その関連性を調べるため、より詳細な遺伝子解析が必要と考えられる。

(2) エーリキア/アナプラズマ

野生アライグマ末梢血のエーリキア/アナプラズマスクリーニング PCR 陽性率は 3.8% であったが、PCR 産物の遺伝子解析ではうち 6 検体で *A. bovis* と同一性の高い遺伝子が検出さ

れ、*A. bovis*はアライグマにも感染していることが示唆された。また残り2検体のうち1検体は*E. canis*と高い相同性を示した。*E. canis*は欧米の犬に感染しているがわが国の土着の動物ではほとんど得られない。アライグマが米国からの外来動物であることを考えると、米国の*E. canis*との関連を調べるため、より詳細な遺伝子解析が必要と考えられる。

4. 日本の紅斑熱群リケッチア DNA の迅速鑑別法の検討

紅斑熱群リケッチア病原体は種の多様性が大きく、かつ互いに塩基配列が非常に近似しているため、種特異的 PCR の確立が困難であり、我が国に生息する4種の紅斑熱群リケッチア種を迅速に鑑別する方法がなかった。今回比較的ばらつきの大い *ScaA* 遺伝子に基づく PCR 産物の RFLP により我が国の4種の紅斑熱群リケッチアを比較的迅速に鑑別することが可能となった。またこの方法はマダニを用いたリケッチアの疫学調査に応用可能であることが示唆された。

E. 結論

1. 伴侶動物のリケッチア類感染状況調査

全国の犬の末梢血 1426 検体を材料にした紅斑熱リケッチア PCR はすべて陰性を示したことから、犬は紅斑熱リケッチアの保菌動物としては重要ではないと考えられた。また犬への *R. japonica* Aoki 株感染実験からも、犬は *R. japonica* の保菌動物としては重要な役割をもたないこと、および少なくとも *R. japonica*

Aoki 株の犬に対する病原性は強くないものと思われた。

我が国の犬の 14.1% がアナプラズマ科 PCR 陽性を示し、*Wolbachia* spp. および *A. bovis* 遺伝子が検出された。また血清疫学的調査により *A. phagocytophilum* 陽性を示す犬が 1 頭検出された。

2. 家畜のリケッチア類感染状況調査

北海道日高地方の *A. phagocytophilum* および *A. bovis* 陽性牛放牧地においてはオオトゲチマダニがこれら病原体のベクターとなる可能性が示唆された。いっぽう沖縄県与那国島の *A. phagocytophilum* および *A. bovis* 陽性牛放牧地においてはフタトゲチマダニが *A. phagocytophilum* のベクターとなる可能性が示唆された。また沖縄県石垣島では牛の *A. marginale* 感染症が発生した。

3. 野生動物のリケッチア類感染状況調査

野生アライグマ末梢血から PCR により、*R. heilongjiangensis*, *A. bovis*, *E. canis* に近縁な遺伝子が検出された。

4. 日本の紅斑熱群リケッチア DNA の迅速鑑別法の確立

sca4 遺伝子に基づく PCR 産物の RFLP により我が国の4種のリケッチア *R. japonica*, *R. asiatica*, *R. helvetica*, *R. tamurae* を比較的迅速に鑑別することが可能となった。またこの方法はマダニを用いたリケッチアの疫学調査に応用可能であることが示唆された。