

G. 研究発表 (2008年4月～)

1. 論文発表

- 1) Ooshiro, M., Zakimi, S., Matsukawa, Z., Katagiri, Y., Inokuma, H*. Detection of *Anaplasma bovis* and *Anaplasma phagocytophilum* from cattle on Yonaguni Island, Okinawa, Japan. *Vet. Parasitol.* 154(3-4): 360-364 (2008)
- 2) Jilintai, Seino, N., Matsumoto, K., Hayakawa, D., Suzuki, M., Hata, H., Kondo, S., Yokoyama, N., Inokuma, H. Serological and molecular survey of *Rickettsia* infection in cattle and sika deer in a pastureland in Hidaka district, Hokkaido, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 61(4): 315-317 (2008)
- 3) Tagawa, M., Matsumoto, K., Inokuma, H. Molecular detection of *Mycoplasma wenyonii* and 'Candidatus *Mycoplasma haemobos*' in cattle in Japan. *Vet. Microbiol.* 132(1-2): 177-180 (2008)
- 4) Jilintai, Seino, N., Hayakawa, D., Suzuki, M., Hata, H., Kondo, S., Matsumoto, K., Yokoyama, N., Inokuma, H. Molecular survey for *Anaplasma bovis* and *Anaplasma phagocytophilum* infection in cattle in a pastureland where sika deer appear in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 62(1): 73-75 (2009)
- 5) Ooshiro, M., Zakimi, S., Matsukawa, Y., Yafuso, M., Katagiri, Y., Inokuma, H. *Anaplasma marginale* infection in a

Japanese Black cow occurred 13 years after eradication of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, in Okinawa, Japan. *Vet. Parasitol.* (2009) (in press)

- 6) Matsumoto K, Inokuma H. Identification of spotted fever group *Rickettsia* species by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis of the *Sca4* gene. *Vector Born. Dis.* (in press)

2. 学会発表

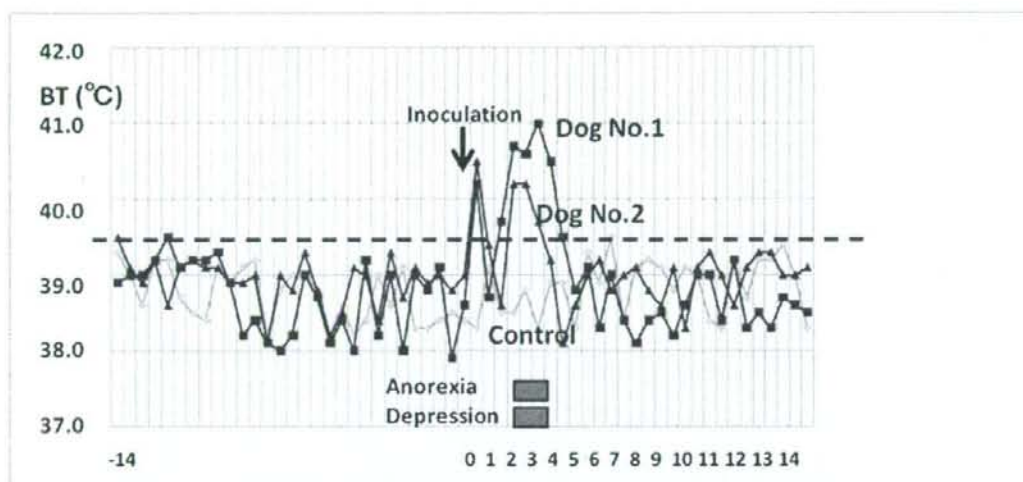
- 1) Inokuma, H., Tagawa, M., Kubota, N., Seino, N., Murata, Y., Konishi, K. Clinical and hematological changes in dogs experimentally inoculated with *Rickettsia japonica*. May 2008. 5th International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases. Marseille, France.
- 2) 猪熊 壽. 潜在する人と動物のリケッチア疾患 - 紅斑熱・エーリキア・アナプラズマ. 第145回日本獣医学会・ランチョンセミナー 2008. 9. 24
- 3) 佐鹿万里子、阿部 豪、松本高太郎、猪熊 壽. 北海道で捕獲されたアライグマ血液からの *Anaplasma bovis* DNAの検出. 2008. 9. 26. 第146回日本獣医学会講演要旨集, p. 245.
- 4) 猪熊 壽、清野伸隆、吉林台、早川大輔、鈴木正嗣、秦 寛、近藤誠司、松本高太郎、横山直明. 放牧牛からの *Anaplasma phagocytophilum* DNAの検出. 2008. 9. 26.

第146回日本獣医学会講演要旨集、p. 246.

- 5) 田川道人、松本高太郎、猪熊 壽、2種の牛へモブラスマの病原性および感染のリスク要因としての牛白血病ウイルスとの関連性. 2008. 9. 26. 第146回日本獣医学会講演要旨集、p. 246.
- 6) 松田浩典、坂本礼央、竹内俊彦、吉本 薫、松山雄喜、久保田直樹、田川道人、松本高太郎、猪熊 壽. *Rickettsia japonica*の犬に対する病原性の検討. 第26回日本クラミジア研究会・第15回リケッチア研究会合同研究発表会抄録集. P19. 2008. 11. 1. 岐阜.
- 7) 猪熊 壽. ダニと獣医学 - マダニ媒介性感染症の多様性と動物の役割. 第3回日本衛生動物学会西日本支部例会・シンポジウム. 神戸 2008. 11. 2
- 8) 猪熊 壽、松山雄喜、水野大介、太田奈保美、松本高太郎、横山直明. 北海道のタイレリア陽性牧野におけるマダニの病原微生物検索. 2009. 1. 23. 日本産業動物獣医学会. 平成20年度日本獣医師会学会年次大会 (盛岡) 講演要旨集. P. 161

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



Days after inoculation of *Rickettsia* sp. AOKI

図1. *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。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。

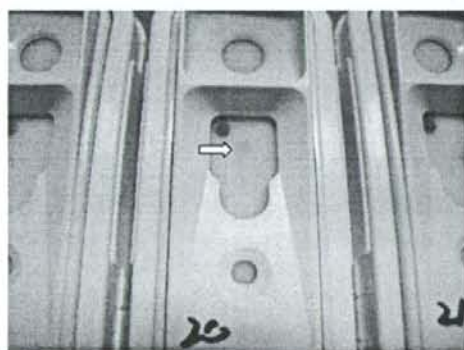


図2 : IDEXX-canine snap 4D test による *A. phagocytophilum* 陽性所見。真ん中の淡い点 (矢印) が *A. phagocytophilum* 抗体陽性を表す。左上の濃い点はコントロール。

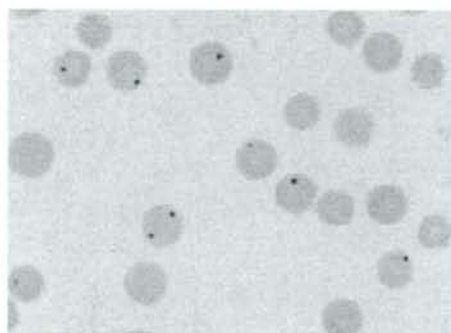


図3：沖縄県で発生した *A. marginale* 感染発症牛の末梢血塗抹

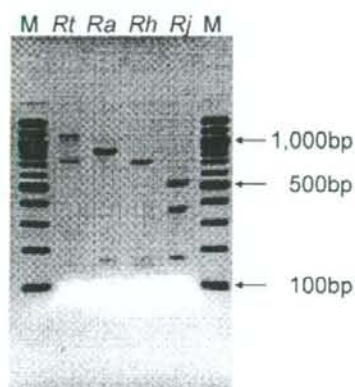


図3. 4種の紅斑熱群リケッチアの *sca4* 遺伝子の一部をPCRで増幅したのち、制限酵素 *MspI* にて切断したPCR-RFLPプロファイル。Rt: *R. tamurae*, Ra: *R. asiatica*, Rh: *R. helvetica*, Rj: *R. japonica*, M: Marker

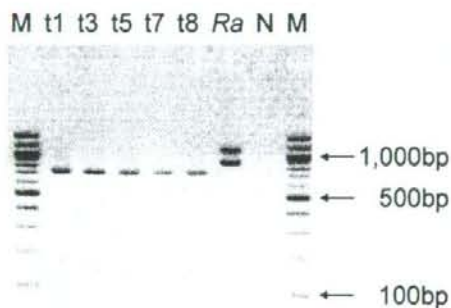


図4. 北海道十勝地方のマダニから抽出したDNAを材料にリケッチア *Sca4* PCR-RFLPを実施したところ、サンプルは *R. helvetica* と診断された。

Ehrlichia の国内分布に関する研究

研究分担者	川端寛樹	(国立感染症研究所・細菌第一部)
研究協力者	高野 愛, 渡邊治雄	(国立感染症研究所・細菌第一部, 岐阜大学・連合獣医)
	坂田明子, 安藤秀二, 岸本壽男	(国立感染症研究所・ウイルス第一部)
	武藤麻紀	(国立感染症研究所・細菌第一部)
	藤田博己	(大原総合病院付属研究所)
	角坂照貴	(愛知医科大学)
	新田芳樹	(沖縄県家畜衛生試験場)
	大橋典男	(静岡県立大学)
	田原研司	(島根県保健環境科学研究所)

研究要旨

1999年から2005年に国内で採取したマダニより抽出、精製されたのち凍結保存されていたDNAを用い、マダニ媒介性感染症病原体の網羅的検出を行った。360個体のマダニを試験に供し、ミナミネズミマダニ (*Ixodes granulatus*) より新種 *Ehrlichia* DNA を検出した。本 *Ehrlichia* 細菌のヒト、家畜等への病原性は不明であり、今後その評価が必要であるとともに、*Ehrlichia* に関するサーベイランスの参照配列として有用であると考えられる。

研究背景

現在、世界各国でマalariaやウエストナイル熱、ペスト、ライム病などの節足動物媒介性感染症が報告され、注目を集めている。日本も例外ではなく、細菌感染症をはじめウイルス、寄生虫感染症の国内感染例及び輸入感染例が多数報告されている。

エーリキア感染症およびアナプラズマ感染症はアナプラズマ科に属する細菌、*Ehrlichia chaffeensis* または *Anaplasma phagocytophilum* の感染によって起こる。アナプラズマ科細菌は古くから家畜やペットに重要な病気を引き起こすことが知られているが、1990年代になって、本細菌がヒトにも感染することが明らかとなったことから、米国等ではヒトの感染症としても重要視されるようになってきている。本細菌は血液細胞の細胞質内に膜に包まれた空胞(封入体)を作りその中で増殖する。ヒトエーリキア症にはマクロファージや単球に寄生するヒト単球エーリキア症(HME)と、顆粒球に寄生するヒト顆粒

球アナプラズマ症(HGA)が知られており、それぞれ *E. chaffeensis* と *A. phagocytophilum* が原因となつて発症する。アナプラズマ科には多くの菌種が含まれるが、これら細菌の多くが、主にマダニによって媒介されると考えられている。本症の日本での患者報告例、病原体検出例は未だないが、マダニからこれら細菌のDNAが検出されている。*E. chaffeensis* と近縁である '*Candidatus E. ovata*' 及び野生げっ歯類から検出される *E. muris*、またはイヌ及びイヌ寄生マダニから検出される *E. canis*、*A. platys* などが報告されている。

節足動物媒介性感染症は、野外に生息する病原体保有のダニやノミ、シラミ、カなどの刺咬を受けることで感染が成立する。このため、患者または患畜の発生は媒介節足動物の分布とよく一致している。このような背景から、節足動物の病原体保有状況、頻度の特定、及びその保有病原体種を調査すると同時に、その病原メカニズムの解明に基づく情報から、感染防御対策の立案を行うことが不可欠である。

A. 研究目的

本研究では積極的疫学調査の一環として、日本各地の野外で採取されたマダニを用い、マダニ媒介性細菌感染症のうち、国内での浸潤状況が不明な点が多いエーリキアについて病原体検出を行い、病原体浸潤の有無、及び媒介ベクターの調査を行った。

B. 研究方法

1999年5月から2005年1月にかけて日本各地で旗ざり法にて採取したマダニ(Ixodidae)318頭、および沖縄県で捕獲された12頭の野生哺乳類(*Rattus rattu* 2頭, *Mus caroli* 4頭, *Crocidura watasei* 2頭, *Suncus murinus* 4頭)より採取した *Ixodes granulatus* 42個体を試験に用いた(表1)。採取したマダニは形態学的に種、性別、ステージを同定後、それぞれについて SDS-アルカリ法(DNeasy tissue kit, Qiagen)にて DNA 抽出を行った。

一部のマダニについては形態学的同定と平行して、Ushijima らの方法に従い(Ushijima et al.(2003) J. Parasitol.)マダニミトコンドリア DNA の 16SrRNA 遺伝子(mt-rns)領域の直接シーケンスを行い、マダニの遺伝子タイピングを行った。

病原体の検出には、常法に従った PCR を行った。すなわち omp-1 PCR では以下プライマー(conP28-F1: 5'-AT(C/T)AGTG(G/C)AAA(A/G)TA(C/T)(A/G)T(A/G)CCA A-3', conP28-R1:

5'-TTA(A/G)AA(A/G)G(C/T)AAA(C/T)CT(T/G)CCTCC-3', conP28-F2:

5'-CAATGG(A/G)(A/T)GG(C/T)CC(A/C)AGA(A/G)TAG-3', conP28-R2: 5'-

TTCC(C/T)TG(A/G)TA(A/G)G(A/C)AA(T/G)TTTAGG-3')

および groEL PCR では以下プライマー (gro607F:

5'-GAAGATGC(A/T)GT(A/T)GG(A/T)TGTC(T/G)GC-3', gro1294R:

5'-AG(A/C)GCTTC(A/T)CCTTC(A/T)AC(A/G)TC(C/T)TC-3', gro677F: 5'-ATTACTCAGAGTCTTCTCA(A/G)TG-3', gro1121R:

5'-TGCATACC(A/G)TCAGT(C/T)TTTTCAAC-3')を用い

PuRe Taq™ Ready-To-Go™ PCR beads (GE Healthcare, UK)により DNA 検出を試みた。これら Primer 配列は、Inayoshi M et al. (2004) Microbiol Immunol, および Tabara K et al. (2007) Microbiol Immunol によって報告されている。

エーリキアについて PCR が陽性となった検体ではさらにエーリキア 16SrDNA の一部の直接シーケンスを行い、保有病原体種、型の同定を行った。塩基配列が決定できたものは、MEGA4 ソフトウェアを用い、NJ 法にて系統解析をおこない、それぞれの DNA 配列の近縁度を調べた(www.ddbj.nig.ac.jp)。

NJ 法では、Open-gap Penalty=10, gap extension penalty=0.5, gap distance=8 の条件で、それぞれの塩基配列を整列させ系統解析を行うとともに、解析された結果をもとに、系統樹を作成した。

C. 研究結果 および D. 考察

沖縄県で採取された *I. granulatus* 42個体中2個体から *Ehrlichia* DNA が検出された(*Ehrlichia* sp. 360)。検出された *Ehrlichia* sp. 360 の 16SrDNA 配列は、他 *Ehrlichia* 種と、96.5~98.6%の相同性を示した。また *A. phagocytophilum* , '*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*'とは 92.2~93.3%の相同性を示した。最も近縁関係にあると考えられた *Ehrlichia* sp. FN147 では 98.6%の相同性を示した(図1)。本 *Ehrlichia* は *I. granulatus* 特異的に見いだされた(表1)。これら結果から本 *Ehrlichia* は未知の種であると考えられた。北海道、青森、山梨県で採取された *Ixodes ovatus* より *Ehrlichia* DNA が検出された(7.4%)。 *I. ovatus* 由来の本 *Ehrlichia* は *Ehrlichia* sp. HF565 と同一種と考えられた(図1)。

E. 結論

I. granulatus より新種 *Ehrlichia* DNA を検出した。本 *Ehrlichia* 細菌のヒト、家畜等への病原性は不明であり、今後その評価が必要であるとともに、*Ehrlichia* に関するサーベイランスの参照配列として有用であると考えられる。

謝辞

適切なご助言を賜りました新井智先生(感染症研究所, 感染症情報センター)に深謝いたします。ま

た, マダニ採取にご協力頂きました, 粕谷大河, 小泉信夫, 蔵本強, 宮本健司, 山内健生, 角田隆各氏に感謝いたします。

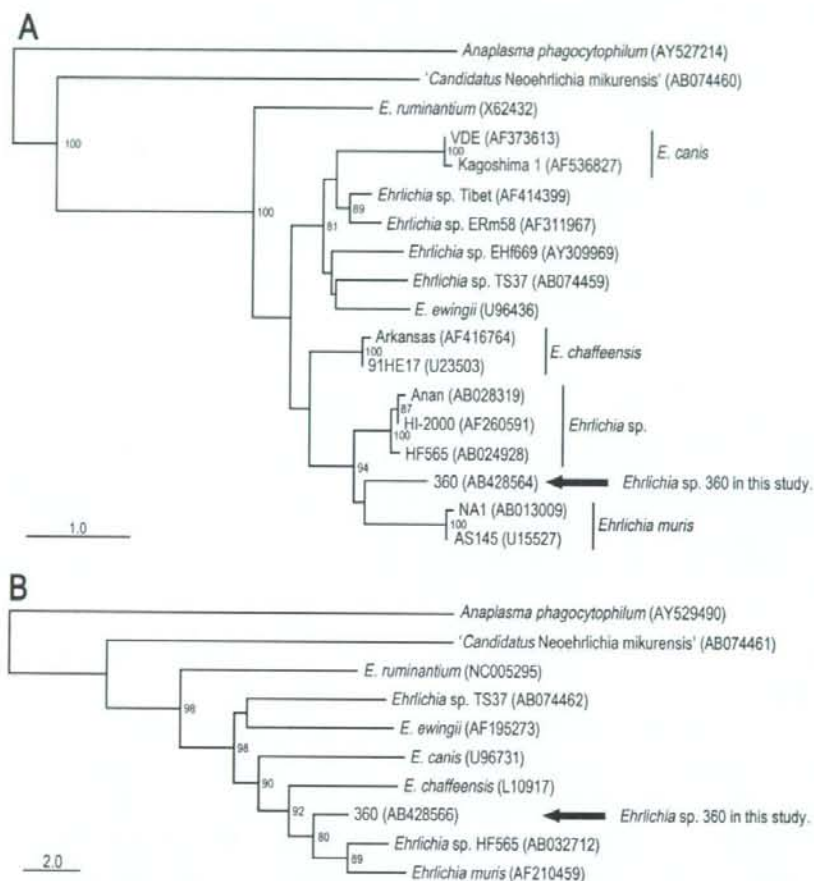


図 1. Phylogenetic analysis based on 16SrDNA (A) and groEL (B).

Sequences were aligned using the MEGA software package, and the neighbor-joining (NJ) phylogenetic tree construction and bootstrap analysis were carried out according to the Kimura 2-parameter distances method (<http://www.megasoftware.net>). Pairwise alignments and multiple alignments were performed with an open-gap penalty of 15 and a gap extension penalty of 6.66. The percentage of replicate trees in which the associated taxa clustered together in the bootstrap test (1,000 replicates) are calculated. It was indicated that the phylogenetic branches was supported in >80% by bootstrap analysis. Bar indicates the percentage of sequence divergence. All positions containing alignment gaps and missing data were eliminated in pairwise sequence comparisons (Pairwise deletion).

表1. Number of ticks and prevalence of *Ehrlichia*

Tick species	No. of <i>Ehrlichia</i> positive ticks / No. of ticks tested (<i>Ehrlichia</i> positive rate: %) which were collected in,												
	Hokkaido	Aomori	Fukushima	Chiba	Tokyo	Kanagawa	Yamanashi	Gifu	Hyogo	Tokushima	Kagoshima	Okinawa	Total
<i>I. ovatus</i>	4/106 (3.77)	3/21 (14.28)					4/20 (20.00)	0/2 (0)					11/149 (7.38)*
<i>I. persulcatus</i>	0/41 (0)	0/3 (0)					0/2 (0)						0/46 (0)
<i>I. pavlovskyi</i>	0/1 (0)												0/1 (0)
<i>I. acutarsus</i>		0/2 (0)											0/2 (0)
<i>I. philipi</i>					0/2 (0)								0/2 (0)
<i>I. granulatus</i>												2/42** (4.76)	2/42 (4.76)***
<i>H. japonica</i>	0/2 (0)	0/7 (0)	0/3 (0)										0/12 (0)
<i>H. flava</i>		0/4 (0)				0/2 (0)					0/6 (0)		0/12 (0)
<i>H. longicornis</i>				0/5 (0)					0/23 (0)				0/28 (0)
<i>H. kitaokai</i>				0/3 (0)			0/5 (0)						0/8 (0)
<i>H. cornigera</i>				0/1 (0)					0/1 (0)				0/2 (0)
<i>H. megaspinosa</i>				0/3 (0)							0/6 (0)		0/9 (0)
<i>H. hystrix</i>									0/17 (0)	0/6 (0)			0/23 (0)
<i>H. formosensis</i>									0/8 (0)	0/5 (0)			0/13 (0)
<i>H. yeni</i>										0/2 (0)			0/2 (0)
<i>H. mageshimaensis</i>										0/4 (0)			0/4 (0)
<i>A. testudinarius</i>									0/1 (0)				0/1 (0)
<i>A. geoemydas</i>												0/4 (0)	0/4 (0)
Total	4/150 (2.67)	3/37 (8.11)	0/3 (0)	0/12 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	4/27 (14.81)	0/2 (0)	0/24 (0)	0/26 (0)	0/29 (0)	2/46 (4.35)	13/360 (3.61)

G. 研究発表

発表論文, 著書

1. Takano A, Ando S, Kishimoto T, Fujita H, Kadosaka T, Nitta Y, Kawabata H, Watanabe H. Novel *Ehrlichia* sp. found in *Ixodes granulatus* infested to rodents in Okinawa, Japan. **Microbiology and Immunology**. (In press) DOI: 10.1111/j.1348-0421.2008.00093.x
2. Hanaoka N, Sakata A, Takano A, Kawabata H, Watanabe H, Kurane I, Kishimoto T, Ando S. Development of a pUC19-based recombinant plasmid to serve as a positive control in PCR for *Orientia tsutsugamushi*. **Microbiology Immunology**. (Accepted)
3. Takada N, Fujita H, Kawabata H, Ando S, Sakata A, Takano A, Chaithong U. *Rickettsia japonica* in Thailand. **Emerging Infectious Diseases**. (In press)
4. Sato H, Takano A, Kawabata H, Une Y, Watanabe H, Mukhtar MM. Trypanosoma cf. varani in an imported ball python (*Python regnus*) from Ghana. **Journal of Parasitology**. 2009. (In press)
5. Fujita H, Kadosaka T, Nitta Y, Ando S, Takano A, Watanabe H, Kawabata H. Isolation of *Rickettsia* sp. from *Ixodes granulatus*, Japan. **Emerging Infectious Diseases** 14: 1963-1965, 2008.
6. Inoue K, Maruyama S, Kabeya H, Yamada N, Ohashi N, Sato Y, Yukawa M, Masuzawa T, Kawamori F, Kadosaka T, Takada N, Fujita H, Kawabata H. Prevalence and genetic diversity of *Bartonella* species isolated from wild rodents in Japan. **Applied Environmental Microbiology**. 74:

5086-5092, 2008.

7. Ato M, Ikebe T, Kawabata H, Takemori T, Watanabe H. Incompetence of Neutrophils to Invasive Group A streptococcus Is Attributed to Induction of Plural Virulence Factors by Dysfunction of a Regulator. *PLoS ONE*. 3: e3455. 2008.

学会発表

- 高野 愛, 藤田博己, 安藤秀二, 川端寛樹, 渡邊治雄. 野生鳥類を主とした国内生態系におけるボレリアの存在様式と病原体拡散に関するリスクの検討. 第 82 回日本細菌学会総会. 2009 年 3 月. 愛知.
- 大橋典男, 鳥日図, 高蛙, 川森文彦, 高野愛, 川端寛樹, 安藤秀二, 岸本壽男. 国内初の新興感染症「アナプラズマ症」について. 第 82 回日本細菌学会総会. 2009 年 3 月. 愛知.
- 井上 快, 壁谷英則, 川端寛樹, 宇根有美, 吉川泰弘, 丸山総一. 小型哺乳類を自然宿主とする病原性 *Bartonella* 属菌の生態に関する研究. 第 147 回日本獣医学会学術集会. 2009 年 3 月. 栃木.
- 岡田玲奈, 木花いづみ, 武藤麻紀, 高野愛, 川端寛樹, 渡邊治雄. ライム病にの一例. 第 823 回日本皮膚科学会東京地方会. 2009 年 1 月. 神奈川.
- 川端寛樹, 高野 愛, 渡邊治雄. 実験室内に病原体の姿を探る. 第 63 回日本衛生動物学会西日本支部大会(教育講演). 2008 年 11 月. 神戸.
- 大橋典男, 高蛙, 鳥日図, 川森文彦, 千屋誠造, 安藤秀二, 川端寛樹, 岸本壽男. 新興感染症「アナプラズマ症」患者の発見. 第 26 回日本クラミジア研究会・第 15 回リケッチア研究会合同学術集会. 2008 年 11 月. 岐阜.
- 安藤秀二, 坂田明子, 宇根有美, 五箇公一, 藤田博己, 花岡 希, 高野 愛, 川端寛樹, 岸本壽男. 輸入爬虫類が病原体を持ち込むリスクに関する考察. 第 26 回日本クラミジア研究会・第 15 回リケッチア研究会合同学術集会. 2008 年 11 月. 岐阜.
- 岸本壽男, 安藤秀二, 猪熊壽, 岩崎博道, 大橋典男, 岡部信彦, 川端寛樹, 倉田毅, 高田伸弘, 堤寛, 田原研司, 藤田博己, 古屋由美子, 山本正吾. リケッチア感染症の早期警鐘システム構築-国内実態調査及び早期診断体制の確立に向けた現状と課題. 第 26 回日本クラミジア研究会・第 15 回リケッチア研究会合同学術集会. 2008 年 11 月. 岐阜.
- 安藤秀二, 坂田明子, 鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己, 花岡希, 高野 愛, 川端寛樹, 渡邊治雄, 岸本壽男. 鳥類に関連するマダニ類からのリケッチアの検出. 第 146 回日本獣医学会学術集会. 2008 年 9 月. 宮崎.
- 高野 愛, 鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己, 安藤秀二, 川端寛樹, 渡邊治雄. 野生鳥類を主とした国内生態系におけるボレリアの存在様式と病原体拡散に関するリスクの検討. 第 146 回日本獣医学会学術集会. 2008 年 9 月. 宮崎.
- 森 亜紀奈, 今内 寛, 山田慎二, 今村彩貴, 伊東拓也, 川端寛樹, 小沼 操, 大橋 和彦. シュルツェマダニ (*Ixodes persulcatus*) 唾液腺由来免疫抑制因子の同定および発現解析. 第 146 回日本獣医学会学術集会. 2008 年 9 月. 宮崎.
- 下長根藍, 井上 快, 壁谷英則, 川端寛樹, 高田伸弘, 林谷秀樹, 丸山総一. わが国の野鼠における *Yersinia enterocolitica* の保有状況と分離株の *gyrB* 遺伝子系統解析. 第 146 回日本獣医学会学術集会. 2008 年 9 月. 宮崎.
- 鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己, 坂田明子, 武藤麻紀, 高野愛, 山内健生, 川端寛樹, 安藤秀二, 岸本壽男. 鳥類外部寄生虫からの病原体の検出—鳥類標識調査を主とした外部寄生虫採集—. 日本鳥学会 2008 年度大会. 2008 年 9 月. 東京.
- 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. 栃木.
15. 本田俊郎, 藤田博己, 藏元強, 御供田睦代, 角坂照貴, 高田伸弘, 矢野泰弘, 川端寛樹, 高野 愛, 山本正悟, 田原研司, 及川陽三郎. 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. 栃木
 16. 本田俊郎, 角坂照貴, 川端寛樹, 高野 愛, 藤田博己, 藏元強, 御供田睦代, 高田伸弘, 矢野泰弘, 山本正悟, 田原研司, 及川陽三郎. 鹿児島県トカラ列島の野鼠類と野鼠保有病原体の調査. 第 60 回日本衛生動物学会大会. 2008 年 4 月. 栃木
 17. 川端寛樹, 坂田明子, 安藤秀二, 高野 愛, 渡辺治雄, 鶴見みや古, 尾崎清明, 藤田博己. 国内生態系における *Borrelia* 属細菌の拡散に関する宿主鳥類と媒介マダニ. 第 60 回日本衛生動物学会大会. 2008 年 4 月. 栃木.
 18. 川端寛樹, 高野 愛, 安藤秀二, 花岡希, 坂田明子, 藤田博己, 河村好章, 清島真理子, 角坂照貴, 渡辺治雄. マダニ刺咬例調査によって見いだされた新しいボレリア感染症. 第 82 回日本感染症学会総会 2008 年 4 月. 島根
 19. 田原研司, 藤田博己, 新井 智, 矢野泰弘, 高田伸弘, 片山 丘, 川端寛樹. 島根県におけるダニ媒介性感染症の実態と病原体の浸淫状況. 第 82 回日本感染症学会総会 2008 年 4 月. 島根

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

富山県におけるつつが虫病に関する調査とマダニ類調査 及び東海北陸地域のリケッチア感染症について

研究分担者 倉田毅(富山県衛生研究所 所長)

研究協力者 小原真弓 山内健生 渡辺護 品川保弘 中村一哉 堀元栄詞
長谷川澄代 岩井雅恵 滝澤剛則 (富山県衛生研究所)

研究要旨

富山県内のつつが虫病および紅斑熱の浸淫状況を調査するため、野生げっ歯類およびマダニ類の調査を行った。野生げっ歯類 14 頭のうち港湾地区で捕獲した 1 頭がつつが虫病リケッチアに対する抗体を保有していた。つつが虫病患者発生地で捕獲した野生げっ歯類から抗体及び病原体は検出されず、1980 年代に比較してつつが虫病病原体による汚染が減ったことが、患者減少につながっている可能性が示唆された。

マダニの季節消長調査においてキチマダニ、ヤマトマダニが多数採集された。マダニ 286 検体からの遺伝子検出では、マダニの成虫 20 個体、若虫 5 個体より紅斑熱群リケッチアの遺伝子が検出されたが、日本紅斑熱リケッチアは検出されなかった。これまでに患者が報告されていないことと合わせて、富山県内における日本紅斑熱リケッチアの浸淫の可能性は低いと考えられた。

東海北陸ブロック内におけるつつが虫病および日本紅斑熱の患者発生状況を調査した。つつが虫病は全ての県で発生しており、特に岐阜県での発生が多かった。日本紅斑熱は 2 県でのみ発生しており、特に三重県での発生が数年で急激に増加していた。

A. 研究目的

富山県においては、1978 年の患者確認以来、ほぼ毎年つつが虫の発生がみられている。流行は黒部川扇状地に集中しているが、その他の地域でも散発することがある。日本紅斑熱については、県内の患者の発生はないものの、近年、国内の患者は増加傾向にあり、富山県においても発生が危惧される。

そこで、これらリケッチア感染症の県内の浸淫状況を調査するため、県内各地の野生げっ歯類を捕獲し、病原体・抗体保有状況について調査した。また、日本紅斑熱を媒介するマダニ類の分布調査および病原体検出を行なった。

昨年度に引き続き、富山県を含む東海北陸ブロック(富山県、石川県、福井県、岐

阜県、愛知県、三重県)におけるリケッチア感染症について把握するため、各県の患者発生状況を調査した。

B. 研究方法

野生げっ歯類:

平成 20 年 6 月から 12 月の間、シャーマントラップまたはカゴ式トラップを用いた生け捕り法で野生げっ歯類を捕獲した。過去のつつが虫病患者宅と推定感染地(入善町、黒部市、小矢部市)及び流行地の豚舎(黒部市)、港湾地区(富山新港、伏木港、富山港)及び富山空港の計 10 地点で調査を行った。捕獲した野生げっ歯類は分類計測後、採血、剖検を行い臓器試料は保存した。これらの野生げっ歯類の血清について、各種

病原体に対する抗体の保有調査を行った。抗原として、つつが虫病リケッチアの Kato 型、Karp 型、Gilliam 型、Kawasaki 型、Kuroki 型を用いた。さらに、脾臓から DNA を抽出し、つつが虫病リケッチアの遺伝子検出を行った。

マダニ類:

調査地点(標高 110-140m)は、都市部周辺に位置し、ハイキングやバードウォッチングなどに適した環境であるため、休日には多くの家族連れが訪れる行楽地である。この定点において、4 月から 12 月までの毎月 1 回、調査者 1 人が 90×150cm のネル布を用いた旗ざり法を 2 時間実施し、ネル布に付着したマダニ類の成虫と若虫全個体を採集した。

マダニ類を分類計数した後、一部の個体から DNA を抽出し、紅斑熱群リケッチアおよび日本紅斑熱リケッチアの遺伝子を検索した。得られた PCR 産物は、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。

東海北陸ブロック内の疫学情報:

国立感染症研究所感染症情報センターに報告された数をもとに、1999~2008 年の各県におけるつつが虫病および日本紅斑熱の患者発生を調査した。

C. 研究結果

野生げっ歯類:

ドブネズミ 10 頭、ハツカネズミ 3 頭、クマネズミ 1 頭の計 3 種 14 頭が捕獲された(表 1)。血清検査では、港湾地区で捕獲したドブネズミ 1 頭(7%)がつつが虫病リケッチア Kato 型に対する抗体(64 倍)を保有していた(表 1)。遺伝子検出では、いずれの個体からもつつが虫病リケッチアの遺伝子は検出されなかった。

マダニ類:

合計で 2 属 7 種 1,043 個体を採集した。採集個体の大多数はキチマダニで、ヤマトマダニがこれに次いだ。その他の種は少数の個体が採集されたのみであった。キチマ

ダニは調査を実施したすべての月(4~12 月)に採集されたが、ヤマトマダニは 4~8 月にのみ採集された(図 1)。

マダニ類のうち、成虫 226 個体、若虫 60 個体を遺伝子検出に用いたところ、成虫 20 個体、若虫 5 個体より多様な紅斑熱群リケッチアの遺伝子が検出された(表 2)。しかしながら、日本紅斑熱リケッチアは検出されなかった。

東海北陸ブロック内(富山県、石川県、福井県、岐阜県、愛知県、三重県)のリケッチア感染症報告数を調査した。つつが虫病は全ての県で発生しており、岐阜県を除き年間 5 名前後であった(図 2)。岐阜県でのつつが虫病発生は、年間 20 名前後であった。日本紅斑熱に関しては、福井県と三重県での発生があり、特に三重県での報告は急激に増加していた(図 3)。

D. 考察

野生げっ歯類 1 個体からつつが虫病リケッチアに対する抗体が検出され、調査地点である港湾地区におけるつつが虫の浸淫を示唆していた。なお、抗体が検出された Kato 型は、近年国内ではほとんど報告がないため、海外からの輸入例としての可能性も否定できないが、病原体自体は検出されていないことから、さらなる検討が必要である。

つつが虫病患者発生地及び流行地で捕獲した野生げっ歯類 7 頭から、抗体及び病原体は検出されなかった。1980 年に調査した結果では、黒部市及び入善町の患者宅付近で捕獲したドブネズミの抗体保有率が 100%であった(石倉ら, 1997; 渡辺ら, 1994; Ishikura et al. 1985; 富山県厚生部公衆衛生課, 1984)ことから、ドブネズミの感染率は減少していると考えられる。すなわち、1980 年代前後に比較してつつが虫病病原体による汚染が減り、患者減少につながっている可能性が示唆された。しかしながら、調査個体数が少なかったこと、全く捕獲で

きなかった地点があったことから、さらなる調査が必要と考えられる。

都市部周辺の定点で実施したマダニ調査によって、キチマダニとヤマトマダニが当地における優占種であることが判明した。両種ともマダニ人体刺咬症の原因となるが、特にヤマトマダニは人体刺咬症が日本でもっとも多く報告されている種である。そのため、ヤマトマダニ成虫の活動が活発な4月から6月に山野へ入る際は、たとえ都市部周辺であっても刺咬被害への注意が必要である。

マダニ類からの病原体遺伝子検出では、日本紅斑熱リケッチアは全て陰性であり、これまでに患者が報告されていないことと合わせて、日本紅斑熱リケッチアの浸淫の可能性は低いと考えられた。

東海北陸ブロック内における患者発生数をみると、岐阜県におけるつつが虫病、三重県における日本紅斑熱が多かった。つつが虫病は全ての県で広く発生していたが、発生数としては横ばいの傾向を示した。日本紅斑熱は、三重県での発生増加が顕著であった。これは、本研究班で行われた疫学調査の結果から、志摩半島での新たな流行によるものと推測される。

日本紅斑熱は全国的にも近年増加傾向にあり、発生地域も徐々に拡大してきている。よって、富山県のように、日本紅斑熱が発生していない県においても、新たな発生に備える必要があると考えられる。

E. 結論

富山県内で捕獲した野生げっ歯類のつつが虫病リケッチアに対する抗体および病原体検索から、1980年代に比較してつつが虫病病原体による汚染が減り、患者減少につながっている可能性が示唆された。

マダニ類の調査では、キチマダニ及びヤマトマダニが多数採集された。マダニからの遺伝子検出では、多様な紅斑熱群リケッチアの遺伝子が検出されたものの、*Rickettsia*

japonica は検出されず、浸淫は少ないと考えられた。

東海北陸ブロック内の患者発生状況から、三重県での日本紅斑熱の発生急増が示された。今後は日本紅斑熱の発生拡大を見越した啓発活動が必要と思われた。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamauchi, T, Obara, M., Watanabe, M., Ando, S., Ishikura, M., Shinagawa, Y., Hasegawa, S., Nakamura, K., Iwai, M., Kurata, T. & Takizawa, T. (2009) Survey of tick fauna possessing the ability to act as vectors of rickettsiosis in Toyama Prefecture, Japan. *Med. Entomol. Zool.*, 60(1): in press.
- 2) 山内健生・渡辺 護 (2008) 富山県衛生研究所における同定依頼検査で記録した富山県内のノミ被害。昆虫 (ニューシリーズ), 11(2): 95-98.

2. 学会発表

- 1) 小原真弓・山内健生・渡辺護・安藤秀二・石倉康宏・品川保弘・長谷川澄代・中村一哉・堀元栄詞・岩井雅恵・滝澤剛則「富山県のマダニ相および紅斑熱群リケッチア検出」第16回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー。田辺市、2008年5月30日～6月1日
- 2) 山内健生・岸本年郎・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。下野市、2008年4月19日
- 3) 山内健生・小原真弓・渡辺 護・安藤秀二・品川保弘・滝澤剛則・堀元栄詞・長谷川澄代・中村一哉・倉田毅「富山県のマダニ相と紅斑熱リケッチア」日本昆虫学会第68回大会。高松市、2008年9月16日

- 4) 山内健生・小原真弓・渡辺 護・上田泰史・滝澤剛則「富山県の住家性ネズミ類に寄生するノミ類」第63回日本衛生動物学会西日本支部大会。神戸市、2008年11月3日

- 3) Ishikura M, Watanabe M, Morita O, Uetake H. (1985) Epidemiological studies on the background of the endemic occurrence of tsutsugamushi disease in Toyama Prefecture. I. Epidemiology of infection with *Rickettsia tsutsugamuchi* among field rodents in endemic and nonendemic areas. Microbiol. Immunol. 29(9):859-72.

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

- 4) 富山県厚生部公衆衛生課。(1984) 富山県におけるつつが虫病。

参考文献

- 1) 石倉康宏, 渡辺 護, 北村 敬.(1997) 富山県内に流行しているつつが虫病リケッチアの型別. 富山県衛生研究所年報 20:120-127.
2) 渡辺 護, 石倉康宏, 森田修行.(1994)ダニと疾患のインターフェイス. p84-92.

謝辞

検体の採取にご協力くださった新潟検疫所富山空港出張所の上田泰史先生に深くお礼申し上げます。

表 1. 野生げっ歯類におけるつつが虫病調査

患者発生年	調査地		ネズミ頭数	IFA陽性	PCR陽性	備考:患者の型別
1991年	黒部市	住宅	5	0	0	不明
2000年	入善町	住宅	0	-	-	不明
2006年	小矢部市	畑等	1	0	0	Karp?
2006年	入善町	住宅	0	-	-	Kawasaki
2008年	入善町	住宅	0	-	-	Kawasaki
-	黒部市	豚舎	1	0	0	-
-	富山新港	港湾	3	0	0	-
-	伏木港	港湾	0	-	-	-
-	富山港	港湾	3	1(Kato)	0	-
-	富山空港	空港	1	0	0	-
計			14	1(Kato)	0	

IFA:間接蛍光抗体法による抗体検出

図 1. 都市部周辺定点で採集されたマダニ成虫の月別の種構成

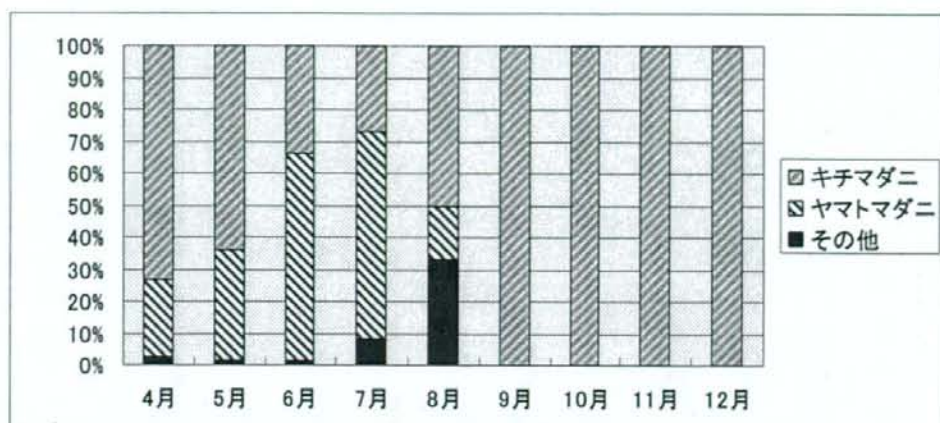


表 2. マダニ類における紅斑熱群リケッチア遺伝子の検出率

マダニの種類		陽性数 / 検査数	(%)
キチマダニ	♀	4 / 68	(5.9)
	♂	3 / 70	(4.3)
	若虫	1 / 51	(2.0)
フタトゲチマダニ	♀	0 / 4	(0.0)
	♂	-	-
	若虫	0 / 2	(0.0)
オオトゲチマダニ	♀	-	-
	♂	0 / 1	(0.0)
	若虫	0 / 1	(0.0)
タネガタマダニ	♀	2 / 2	(100.0)
	♂	2 / 2	(100.0)
	若虫	-	()
ヤマトマダニ	♀	5 / 38	(13.2)
	♂	4 / 41	(9.8)
	若虫	-	-
アカコッコマダニ	♀	-	-
	♂	-	-
	若虫	4 / 6	(66.7)
合計		25 / 286	(8.7)

-:検体なし

図2. 東海北陸地域におけるつつが虫病発生数

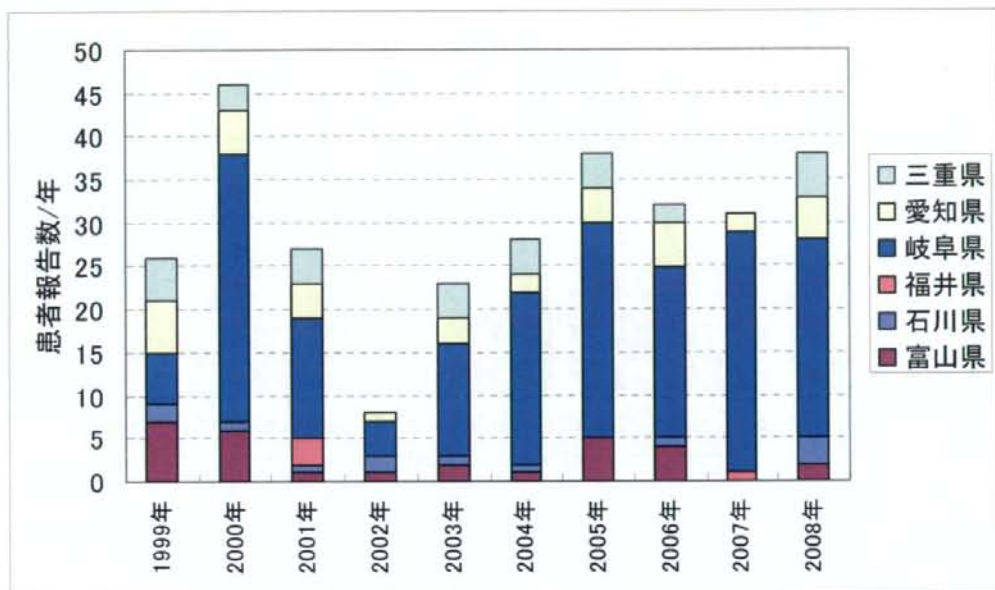
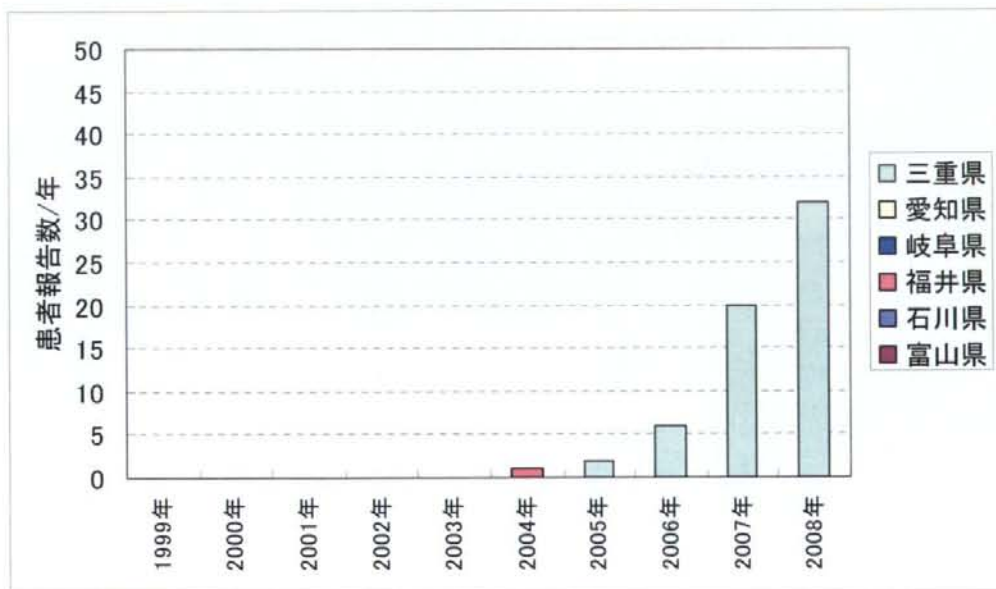


図3. 東海北陸地域における日本紅斑熱発生数



紀伊半島を含む西日本地域における紅斑熱群リケッチア、アナプラズマ属菌 およびエーリキア属菌の実態調査

研究分担者 大橋典男 静岡県立大学・食品栄養科学部・大学院生活健康科学研究科・教授

研究協力者	川森文彦	静岡県環境衛生科学研究所
	本田俊郎	鹿児島県環境保健センター
	高田伸弘	福井大学医学部 (研究分担者)
	及川陽三郎	金沢医科大学医学部
	藤田博己	大原総合病院附属大原研究所 (研究分担者)
	猪熊 壽	帯広畜産大学畜産学部 (研究分担者)
	岸本壽男	国立感染症研究所 (研究代表者)
	安藤秀二	国立感染症研究所 (研究分担者)
	川端寛樹	国立感染症研究所 (研究分担者)
	鳥日岡 (ウリト)	静岡県立大学大学院博士課程 3 学年
	高娃 (コウワ)	静岡県立大学大学院修士課程 2 学年
	青地美南	静岡県立大学大学院修士課程 1 学年
	古川英嗣	静岡県立大学大学院修士課程 1 学年
	呉東興 (ウトン)	静岡県立大学大学院研究生
	芹澤委子	静岡県立大学食品栄養科学部 4 学年
	田中実穂	静岡県立大学食品栄養科学部 4 学年

研究要旨

日本国内におけるリケッチア関連細菌群の実態を明らかにするため、本年度は紀伊半島を含む西日本地域 (和歌山県、三重県、長崎県五島列島、および沖縄県与那国島) でマダニ採集を行い、これらマダニの唾液腺 DNA から紅斑熱群リケッチアの *gltA* 遺伝子、アナプラズマ属菌の *p44* 遺伝子群、およびエーリキア属菌の *p28* 遺伝子群の検出と解析を行った。その結果、三重県のヤマアラシチマダニ、タカサゴチマダニ、およびツノチマダニから日本紅斑熱病原体の *Rickettsia japonica* が検出され、さらに三重県のタカサゴチマダニとキチマダニおよび五島列島のタカサゴチマダニからは新たな Genotype とと思われる紅斑熱群リケッチアが検出された。アナプラズマ属菌に関しては、五島列島のタカサゴチマダニとオオトゲチマダニ、また与那国島のフタトゲチマダニからヒトに感染の恐れがある *Anaplasma phagocytophilum* が検出された。特に、五島列島のマダニは、*A. phagocytophilum* の保有率が極めて高く (42%)、ヒトへの感染が懸念される。エーリキア属菌では、昨年度より継続して解析していた鹿児島県のタカサゴキラマダニから *Ehrlichia ruminantium* と 83-86% の相同性をもつ *p28* 遺伝子群が検出され、また与那国島のフタトゲチマダニからは *E. ewingii* と 67-73% の相同性をもつ *p28* 遺伝子群が検出された。これらは、いずれも既存のエーリキア属菌と低い相同性を示すことから、新種のエーリキア属菌である可能性が示唆された。

研究の背景

我々は、国内におけるリケッチア関連細菌群（特に、紅斑熱群リケッチア、アナプラズマ属菌、およびエーリキア属菌）の実態を明らかにするため、媒介ベクターであるマダニを各地で採集し、その唾液腺中に存在するこれらリケッチア関連細菌群を調査してきた。昨年度は鹿児島県で実態調査を行い、紅斑熱群リケッチアの *gltA* 遺伝子解析により、ヤマアラシチマダニが Ishikura らにより報告されている Genotype IV を、またタカサゴキララマダニが Fujita らにより報告されている *R. tamurae* を、さらにタカサゴチマダニが新たな Genotype (New type 1) を保有していることを明らかにした。また、アナプラズマ属菌の *p44* 遺伝子群の解析では、タカサゴキララマダニがヒトアナプラズマ症起因細菌である *A. phagocytophilum* を保有していることが判った。アナプラズマ属菌に関しては、我々はすでに、静岡県、山梨県、青森県、および岩手県に生息するシュルツェマダニ (*Ixodes persulcatus*) とヤマトマダニ (*I. ovatus*) が *A. phagocytophilum* を保有していることを明らかにしているが、南方に生息するタカサゴキララマダニが媒介ベクター種のひとつであることが昨年度の調査で初めて明らかとなった。

また、*A. phagocytophilum* のヒト感染症例については、過去に高知県でリケッチア症と疑われた発熱性疾患患者の血液検体を調査したところ、2名の患者で *A. phagocytophilum* の感染が疑われる症例が見つかった。一例は *A. phagocytophilum* の単独感染か、あるいはボレリアとの混合感染で、もう一例は *A. phagocytophilum* と *R. japonica* との混合感染であった。

従って、日本紅斑熱のみならず、その他の

リケッチア関連感染症や混合感染の実態解明も極めて重要な調査と位置付けられる。

以上のような背景のもと、本年度もリケッチア関連細菌群に関するさらなる実態解明に努めた。

A. 研究目的

本年度は、日本紅斑熱の発生が見られる紀伊半島（特に志摩半島周辺）と長崎県五島列島、および Inokuma らにより *A. phagocytophilum* の家畜感染が確認された沖縄県与那国島においてマダニ採集を行い、これらのマダニが保有するリケッチア関連細菌群について調査することを目的とした。さらに、昨年度の鹿児島県のマダニ検体についても継続して解析（特にエーリキア属菌の検出）を行った。

B. 研究方法

マダニからの紅斑熱群リケッチア、アナプラズマ属菌、およびエーリキア属菌の遺伝子検出と解析

2008年4月下旬に沖縄県与那国島および沖縄本島（沖縄県名護市、沖縄県国頭村）で、また2008年6月上旬に紀伊半島（和歌山県古座川町、和歌山県那智勝浦町、三重県志摩市、三重県鳥羽市、三重県伊勢市）で旗ずり法によりマダニを採集した。長崎県五島列島のマダニについては、2007年11月下旬に高田班が五島列島（新上五島町〔南松浦郡〕鯛ノ浦郷、同町岩瀬浦郷、同町有川郷）を調査した際、これに同行した本田氏より分与頂いた。これらのマダニを1匹ずつ解剖して唾液腺を摘出し、DNA抽出を行った。そして、紅斑熱群リケッチアに特異的な *gltA* 遺伝子、アナプ

ラズマ属菌の *p44* 遺伝子群、およびエーリキア属菌の *p28* 遺伝子群を標的とした PCR を行った。得られた増幅産物は、紅斑熱群リケッチアの場合は RFLP 解析と direct sequence でリケッチア種の同定を行い、またアナプラズマ属菌の *p44* とエーリキア属菌の *p28* の増幅産物の場合は TA-cloning を行い、各クローンの塩基配列を決定した。そして、得られた塩基配列やアミノ酸配列を基に、系統樹解析を行い、マダニ中に存在するリケッチア関連細菌種の分類学的位置付けを行った。

C. 研究結果および D. 考察

1. 紅斑熱群リケッチアについて (紀伊半島を含む西日本地域)

紀伊半島 (和歌山県古座川町、和歌山県那智勝浦町、三重県志摩市、三重県鳥羽市、三重県伊勢市) の調査においては合計 352 匹のマダニを、また沖縄県与那国島と沖縄本島 (沖縄県名護市、沖縄県国頭村) の調査では合計 100 匹のマダニを採集した。長崎県列島 (新上五島町 [南松浦郡] 鯛ノ浦郷、同町岩瀬浦郷、同町有川郷) の高田班の調査については、採集した 40 匹のマダニを本田氏より分与して頂いた。これらのマダニの唾液腺 DNA から紅斑熱群リケッチアの *gltA* 遺伝子の検出を試みたところ、紀伊半島で採集した 352 匹のマダニのうち、153 匹のマダニで増幅物が検出され、この地域に生息するマダニのリケッチア保有率 (43.4%) が極めて高いことが判明した (表 1)。そして、得られた増幅産物を RFLP 解析と direct sequence によりリケッチア種の同定を行った。その結果、表 2 に示すように、7 匹のヤマアラシチマダニ、1 匹のタカサゴチマダニ、および 1 匹のツノチマダニから日本紅斑熱病原体の *R.*

japonica が得られた。これらのマダニは、いずれも三重県内の志摩半島を中心に生息しているマダニで、志摩市、鳥羽市、伊勢市で採集したものである。この結果は、近年、この地域での日本紅斑熱の流行を裏付ける証拠となった。また、和歌山県と三重県のタカサゴキララマダニからはこれまで良く知られている *R. tamurae* が検出された。さらに、Genotype II (LON type) は紀伊半島に生息するフタトゲチマダニで高頻度に検出され、キチマダニでも検出された。Ishikura らにより報告されている Genotype IV については、三重県のヤマアラシチマダニでのみ検出された (表 2)。

新たなリケッチアとしては、昨年度、鹿児島県の調査で見出した New type 1 が三重県志摩市のタカサゴチマダニでも見つかり、BLAST サーチの結果、最も近い関係にあるリケッチアが *R. ambryonmii* で、そのアミノ酸配列の相同性は 97% であることが判った。その他では、新たに New type 2 を見出した。これも、BLAST サーチでは、*R. ambryonmii* に最も近く、その相同性は 96% であった。さらにもう一つ、BLAST サーチで、*Candidatus Rickettsia principis* from *Haemaphysalis japonica douglasi* 061 と 179 個の部分アミノ酸配列で 100% の相同性をもつリケッチアが検出された。しかし、この *Candidatus R. principis* に関しては GenBank に配列が登録されているのみで、関連論文が publish されていないため、その実態は全く不明である。よって、我々が検出した *Candidatus R. principis* と思われるリケッチアも New type 3 と位置付けた。

長崎県五島列島のマダニでは、40 匹中 2 匹のタカサゴチマダニから *gltA* が検出された (表 3)。BLAST サーチの結果、このリケ

ッチアも *R. ambryommi* に近いが、95%の相同性であったため、New type 4 と位置付けた。また、沖縄県与那国島および沖縄本島で採集した 100 匹のマダニからは *gltA* 遺伝子は検出されなかった (表 3)。得られた結果を基に系統樹解析を行った結果、図 1 に示すように、鹿児島県、三重県、五島列島から得られた New type 1, New type 2, および New type 4 は 1 つのクラスターを形成し、既存のリケッチアとは離れた関係にあることが判明した (図 1)。

2. アナプラズマ属菌について (長崎県五島列島および沖縄県与那国島)

アナプラズマ属菌については、五島列島で採集した 40 匹のマダニのうち、15 匹のタカサゴチマダニと 1 匹のオオトゲチマダニの計 16 匹で *p44* 遺伝子群の増幅産物が検出され、この地域に生息するマダニのアナプラズマ保有率 (42.5%) が極めて高いことが判明した (表 3)。また、沖縄県与那国島と沖縄本島のマダニについては、採集した 100 匹のマダニのうち、与那国島で採集した 72 匹中 2 匹のフタトゲチマダニから *p44* 遺伝子群の増幅産物が検出された (表 4)。しかし、沖縄本島で採集した 28 匹のマダニからは *p28* 遺伝子群は検出されなかった。

得られた増幅産物について、五島列島の場合は、PCR 陽性の 16 匹のマダニのうち、代表として 6 匹のマダニのものを選り、TA cloning を行って、各 *p44* クローンの塩基配列を決定した。また、与那国島の場合は、PCR 陽性を示した 2 匹のマダニの増幅産物についてクローニングを行い、各 *p44* クローンの塩基配列を解読した。得られた配列の BLAST サーチを行った結果、本研究での配列は米国のヒト患者由来の *A. phagocytophilum* の *p44*

クローンのいずれかの配列と同一か、または類似しており、ヒト感染型 *A. phagocytophilum* のものと極めて近いことが明らかとなった。そして、昨年度明らかにした鹿児島県の 3 匹のタカサゴキラマダニからの得られた結果を含めて系統樹解析を行った。その結果、図 2 に示すように、西日本地域で見つかった *A. phagocytophilum* からの *p44* クローン達は地域ごとにクラスターを形成することが判った (系統樹内の “*” は米国のヒト患者由来の *p44* クローンを示す)。今回の調査では、新たにフタトゲチマダニ、タカサゴチマダニ、オオツノチマダニも *A. phagocytophilum* の媒介ベクターとなり得ることが明らかとなった。

尚、紀伊半島で採集したマダニが保有するアナプラズマ属菌に関しては、現在、解析中である。

3. エーリキア属菌について (鹿児島県および沖縄県与那国島)

エーリキア属菌については、紀伊半島で採集した 352 匹のマダニと長崎県五島列島で採集した 40 匹のマダニからは *p28* 遺伝子群の PCR 産物は検出されなかった。しかし、沖縄県与那国島の 100 匹のマダニのうち、1 匹のフタトゲチマダニで、また昨年度鹿児島県で採集した 251 匹のうち、1 匹のタカサゴキラマダニで、*p28* 遺伝子群の PCR 産物が検出された (表 4 と表 5)。これらの増幅産物を TA cloning し、得られた各 *p28* クローンの塩基配列を解読して系統樹解析を行った。その結果、図 3 に示すように、鹿児島県および与那国島のマダニからの *p28* クローン達は既存のエーリキア属菌とはそれぞれ離れた関係にあることが判った。鹿児島県のタカサゴキラマダニから得られたエーリキア属菌は、最