

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
研究分担報告書

－九州沖縄地域におけるリケッチア症（つつが虫病と日本紅斑熱）の  
疫学調査及び宮崎県版啓発用リーフレット作成の試み－

研究分担者	山本正悟	宮崎県衛生環境研究所
研究協力者	平野 学	長崎県環境保健研究センター
	松本一俊	熊本県保健環境科学研究所
	北野智一	宮崎県衛生環境研究所
	三浦美穂	宮崎県衛生環境研究所
	御供田睦代	鹿児島県環境保健センター
	本田俊郎	鹿児島県立大島病院
	平良勝也	沖縄県衛生環境研究所
	岡野 祥	沖縄県衛生環境研究所
	高田伸弘	福井大学医学部：研究分担者
	藤田博己	大原総合病院附属大原研究所：研究分担者
	角坂照貴	愛知医科大学
	安藤秀二	国立感染症研究所ウイルス第一部：研究分担者
	川端寛樹	国立感染症研究所細菌第一部：研究分担者
	高野 愛	国立感染症研究所細菌第一部
	岸本壽男	岡山県環境保健センター：研究代表者

研究要旨： 分担研究課題「九州沖縄地域におけるリケッチアを中心としたダニ媒介性感染症のレファレンスネットワークの構築と疫学的解明」に沿って、九州沖縄地域の地衛研と協同して①九州沖縄地域における患者の発生状況を整理するとともに、②日本紅斑熱患者が確認された宮崎県南部と長崎県長崎半島北東部および紅斑熱患者の確認された奄美大島でマダニ類の調査を実施した。また、③恙虫病患者の確認された沖縄県宮古島市池間島におけるベクターと保有動物に関する調査に加わり、以下の結果が得られた。

また、本研究班の課題である「啓発法のモデル化」に関連する試みの一環として、研究班の調査で得られた成果をもとに、日本紅斑熱とつつが虫病に関する宮崎県版のリーフレットを作成した。

1. 2010年の九州地域におけるつつが虫病患者の報告数は、鹿児島県 54 例、宮崎県 24 例、熊本県 11 例、大分県 6 例、長崎県 5 例、福岡県 2 例、佐賀県 1 例、沖縄県 1 例の計 104 例で、全国の患者数（396 例）の 26%を占めた。沖縄県の 1 例は、2008 年に次ぐ 2 例目で、宮古島市の池間島での感染が確認されている。また、九州地域におけるつつが虫病の主な発生時期は 11 月と 12 月をピークとして 10 月から 3 月であるが、6 月に発生したこの沖縄の例以外に、熊本県で 5 月に 1 例、鹿児島県で 7 月に 1 例の報告がある。これらの九州地域における夏場の発生例については、病原体とベクターに関する知見に乏しく、今後、詳細な検討が望まれる。

2010年の日本紅斑熱患者の報告数は、鹿児島県11例、熊本県9例、宮崎県6例、長崎県3例、沖縄県1例の計30例で、全国の患者数(133例)の23%であった。沖縄県の1例は、本県における初発例で、*Rickettsia japonica*による感染が確認されており、今後も、この地域におけるベクター等の調査を継続する必要がある。

2. 日本紅斑熱患者が発生した宮崎県南部でマダニの調査を行った。採取されたタカサゴキラマダニ、キチマダニ、タカサゴチマダニ、ヤマアラシチマダニ、フタトゲチマダニから、病原体の分離を試みたが、いずれも陰性であった。また、長崎県長崎半島北東部で、この地域で初めての日本紅斑熱の発生が確認されたため、マダニの予備的調査を行った。キチマダニとアカコッコマダニが採取されており、他の九州地域と共通したマダニ相と思われる。九州地域では、これらの地域に加え、五島列島の福江島と中通島、熊本県八代地域など媒介種の確認されていない地域が残っており、今後も調査を継続する必要がある。

3. 宮古島市池間島におけるつつが虫病のベクターと保有動物に関する調査により、デリーツツガムシがベクターである可能性が示された。また、これまでに国内で確認された型とは異なる型(台湾系)の *Orientia tsutsugamushi* が原因であることが判明した(詳細については他の研究分担者が報告する)。

#### A. 研究目的

つつが虫病と日本紅斑熱は、それぞれ *Orientia(O.) tsutsugamushi* と *Rickettsia(R.) japonica* を病原体とする疾患で、それぞれ、ツツガムシとマダニで媒介される。九州沖縄地域では例年、両疾患ともに、国内の患者数の25%程度が発生しており、これらの疾患に対する早期診断体制の確立および、病原体、ベクター、保有動物、感染リスク等の疫学情報の適切な提供が衛生行政上の課題となっている。このため、研究課題「九州沖縄地域におけるリケッチアを中心としたダニ媒介性感染症のレファレンスネットワークの構築と疫学的解明」の一環として、九州沖縄地域の地衛研と協同して患者発生状況を整理するとともに、日本紅斑熱の患者が確認された宮崎県南部と長崎県長崎半島北東部および紅斑熱患者の確認された奄美大島でマダニ類の調査を実施した。また、恙虫病患者の確認された沖縄県宮古島市池間島におけるベクターと保有動物に関する調査にも参加した。以下、これらの結果について報告する。

さらに、本研究班の課題である「啓発法のモデル化」に伴う試みの一環として、研究班の調査等で得られた成果をもとに、日本紅斑熱と恙虫病に関する宮崎県版のリーフレットを作成したので報告する。

#### B. 研究方法

##### 1. 患者発生状況

感染症発生動向調査による報告数を患者数とした。日本紅斑熱の発生地については各地研に問い合わせた。またレファレンスネットワークの構築の一環として、要望のあった地研に対して診断用抗原や抗原スライドを供給した。

##### 2. 宮崎県南部、長崎県長崎半島北東部および奄美大島における日本紅斑熱に関する調査

###### 1) 調査時期および調査地区

平成22年5月19日～22日に鹿児島県奄美市とその周辺地域、8月4日に宮崎県日南市、12月24日～25日に長崎県長崎半島北東部における調査を、いずれも患者発生地域を中心

として実施した。なお、奄美大島における調査とその結果の詳細は他の分担研究者の報告に記載し、本報告には分担した結果のみを記載する。

## 2) *R. japonica* の分離

採取したマダニから藤田らの方法（リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築, 平成19年度 総括・分担報告書, p131-136）に準じて内容物を取り出し、L929細胞に接種して分離を試みた。

## 3. 沖縄県宮古島市池間島におけるつつが虫病のベクターと保有動物に関する調査

### 1) 調査参加時期および調査地区

平成22年8月14日～17日、10月11日～13日および平成23年1月21日～24日に実施された調査に参加した。また、今年度は、患者発生地の池間島に加えて、近隣の来間島、伊良部島、多良間島でも調査が実施された。

### 2) 調査内容

ツツガムシの分布と *O. tsutsugamushi* 保有状況、野鼠（家鼠）の *O. tsutsugamushi* と抗体の保有状況を主な調査項目とした。

## 4. 啓発用リーフレットの作成

つつがむし病と日本紅斑熱について、一般住民向けの啓発用リーフレットを作成した。主な内容は、年次別患者発生状況、月別患者発生状況、患者発生地、感染機会、ベクターに関する情報、予防に関する情報とした。また、これらの情報は全て、本研究班の研究・調査によって実際に確認されたものを用いた。

## C. 研究結果

### 1. 患者発生状況

#### 1) つつが虫病

2010年の九州地域におけるつつが虫病患

者の報告数は104例で、全国の患者数（396例）の26%を占めた。依然として九州南部の鹿児島県と宮崎県で多く、報告数はそれぞれ54例と24例であった。次いで熊本県11例、大分県6例、長崎県5例、福岡県2例、佐賀県1例、沖縄県1例であった。また、年次別にみた場合、2007年以降100例を越えているが、2008年以降減少傾向が伺える（図1）。

沖縄県の1例は、2008年に次ぐ2例目で、宮古島市の池間島での感染例であった。また、104例中101例が10月から4月にかけて報告されているが、6月に発生したこの沖縄の例の他に、5月に熊本県で1例、7月に鹿児島県で1例の報告が見られた。また、2009年にも、8月に長崎県で1例の報告があり、少数ではあるが、例年、夏場の発生が報告されている（表1, 2）。

#### 2) 日本紅斑熱

2010年の九州地域における日本紅斑熱患者の報告数は30例で、全国の患者数（133例）の23%を占めた。各県の報告数は、鹿児島県11例、熊本県9例、宮崎県6例、長崎県3例、沖縄県1例で、福岡県、佐賀県、大分県、からの報告はなかった。沖縄県の例は、本県における初発例であった。1999年の九州沖縄地区の報告数は32例であり、大きな報告数の変動は見られないが、依然として増加傾向にある（図2）。また、2009年と同様に、患者は夏場を中心に3月から12月にかけて報告されており、年間を通じて発生する傾向がある（表3, 4）。

## 2. 宮崎県南部、長崎半島北東部および奄美大島における紅斑熱に関する調査

### 1) 宮崎県南部における調査

2属5種 {*Amblyomma (A.) testudinarium*, *Haemaphysalis (H.) flava*, *H. formosensis*, *H. hystricis*, *H. longicornis*} の計42個体

が採取された(表5)。L929細胞を用いて、これらのマダニから *R. japonica* の分離を試みたが、何れも陰性であった。

#### 2) 長崎県長崎半島北東部における予備的調査

2属2種(*H. flava*, *Ixodes(Ix.) turdus*)の計73個体が採取された(表5)。

#### 3) 奄美大島における調査

持ち帰った3属4種(*A. testudinarius*, *H. formosensis*, *H. hystricis*, *Ix. Granulatus*)28個体について、L929細胞を用いて *R. japonica* の分離を試みたが、いずれも陰性であった。他に、*A. testudinarius* の若虫2個体から *Rickettsia tamurae* が分離された。(奄美大島の調査の詳細は他の研究分担者の報告に記載)

#### 3. 沖縄県宮古島市池間島におけるつつが虫病のベクターと保有動物に関する調査

デリーツツガムシがベクターである可能性が示された。さらに、これまで国内で確認されたものとは異なる型の *O. tsutsugamushi* が分布することが判明した。(詳細は他の研究分担者の報告に記載)

#### 4. 啓発用リーフレットの作成

つつが虫病については1991年から2010年までに得られた成績を、日本紅斑熱については1984年から2010年にかけて得られた成績を参考として、一般向けの宮崎県版リーフレットを作成した。いずれも、A4版折りたたみ4頁印刷とA4版裏表印刷(下敷きタイプ)の2種を用意し、同時に作成したレプトスピラ症のリーフレットとともに、県内の内科と皮膚科および獣医師会と猟友会に配布する。資料として、つつが虫病のリーフレットの一部を図3に示した。

#### D. 考 察

つつが虫病が全数把握疾患となった1999年以降、九州沖縄地域における報告数は、2000年の329例を最高に、以後減少傾向を示し、この数年間は100例から150例で推移している。九州沖縄本土域ではタテツツガムシとフトゲツツガムシ媒介性のつつが虫病が秋から春先にかけて例年発生しているが、例数は少ないものの例年夏場の報告もある。また、九州沖縄地域におけるつつが虫病の疫学調査は主として1980年代から1990年代前半にかけて実施されている。従って、九州沖縄地域におけるつつが虫病の実態を明らかにするため、これらの夏場の事例を含め、*O. tsutsugamushi* の系統別分布および媒介ツツガムシの分布に関する再調査が必要と思われる。

また、沖縄県池間島では、これまで国内では例のない型の *O. tsutsugamushi* の分布が確認された。今後、これらの型の分布域と患者の有無についての調査が必要である。

九州地域の日本紅斑熱については、本研究班により、鹿児島県の大隅半島から宮崎県の南東部に加えて熊本県天草が多発地であることが明らかになった。また既に、福岡県、長崎県本土、熊本県天草、鹿児島県、宮崎県の患者発生地で採取されたヤマアラシチマダニから *R. japonica* を分離して、本種が九州本土域における媒介種として重要なことを明らかにしているが、奄美大島のヤマアラシチマダニからも藤田らによって *R. japonica* が分離されており、本種の重要性が改めて明らかとなった。さらに、沖縄県で発生した紅斑熱が、*R. japonica* による日本紅斑熱であることが沖縄県衛生環境研究所の平良らによって確認された。今後、沖縄を含めて、媒介マダニ種の不明な地域では、さらなる検討が必要である。

今回、狩猟者を含む一般住民向けに、宮

崎県版のつつが虫病と日本紅斑熱のリーフレットを作成した。県内の内科、皮膚科とともに、獣医師会と猟友会を通じて配布することとなっており、啓発に役立つことが期待される。

#### E. 結論および課題

1. 九州沖縄地域では、この数年、つつが虫病患者の報告数は100から150例前後で推移している。今回、沖縄県宮古島市池間島における調査により、これまで国内で確認された型と異なる *O. tsutsugamushi* の分布が確認されるとともにデリーツツガムシが媒介種と推定されている。これらの病原体と媒介種の分布については、今後、詳細に検討する必要がある。また、九州本土域では少数ながら夏場の発生が例年報告されておりこれらの夏場の事例を含め、*O. tsutsugamushi* の系統別分布および媒介ツツガムシの分布に関する再調査が必要と思われる。

2. 九州沖縄地域では、日本紅斑熱の報告数が依然として増加傾向にある。今年度、*R. japonica* を原因とする日本紅斑熱の発生が沖縄県で初めて確認された。奄美大島を含めてヤマアラシチマダニが本疾患の重要なベクターであることを本研究班の活動で明らかにしてきたが、沖縄県を含めてベクター種が不明の地区も多く残っており、これらの地区での調査が課題として残っている。

3. 今回、狩猟者を含む一般住民向けに、宮崎県版のつつが虫病と日本紅斑熱のリーフレットを作成した。県内の内科、皮膚科とともに、獣医師会と猟友会を通じて配布することとなっており、啓発に役立つことが期待される。また、医療従事者向けの

情報発信についても今後検討していきたい。

4. リケッチア症に関するレファレンスネットワークの構築に向けて、①実験室内診断法、②マニュアル、③標準株の供給、④陽性コントロールの供給、⑤研修資材など検討すべきことが依然として多い。

#### F. 健康危険情報

1) つつが虫病と日本紅斑熱に関する一般住民向けリーフレットの作成と配布の実施(平成23年3月)。

#### G. 研究発表等

##### 1. 論文発表

1) Nakayama K, Kurokawa K, Fukuhara M, Urakami H, Yamamoto S, Yamazaki K, Ogura Y, Ooka T, Hayashi T. Genome comparison and phylogenetic analysis of *Orientia tsutsugamushi* strains. DNA Res., 2010; 17(5):281-291.

##### 2. 学会等発表

1) 山本正悟, 三浦美穂, 北野智一, 松本一俊, 八尋俊輔, 平野学, 本田俊郎, 御供田陸代, 石橋哲也, 安藤秀二, 岸本壽男: 九州地域の日本紅斑熱対策における地方衛生研究所の役割. 衛生微生物技術協議会第31回研究会, 鹿児島県鹿児島市, 2010年5月25-26日.

1) 山本正悟, 北野智一, 三浦美穂, 大橋典男, 川森文彦, 高娃, 呉東興, 安藤秀二, 岸本壽男: 日本紅斑熱発生地におけるイノシシの役割. 第3回日本リケッチア症臨床研究会・第17回リケッチア研究会合同研究発表会, 滋賀県大津市, 2011年1月15-16日.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

- |           |     |
|-----------|-----|
| 1. 特許取得   | なし。 |
| 2. 実用新案登録 | なし。 |

報告数

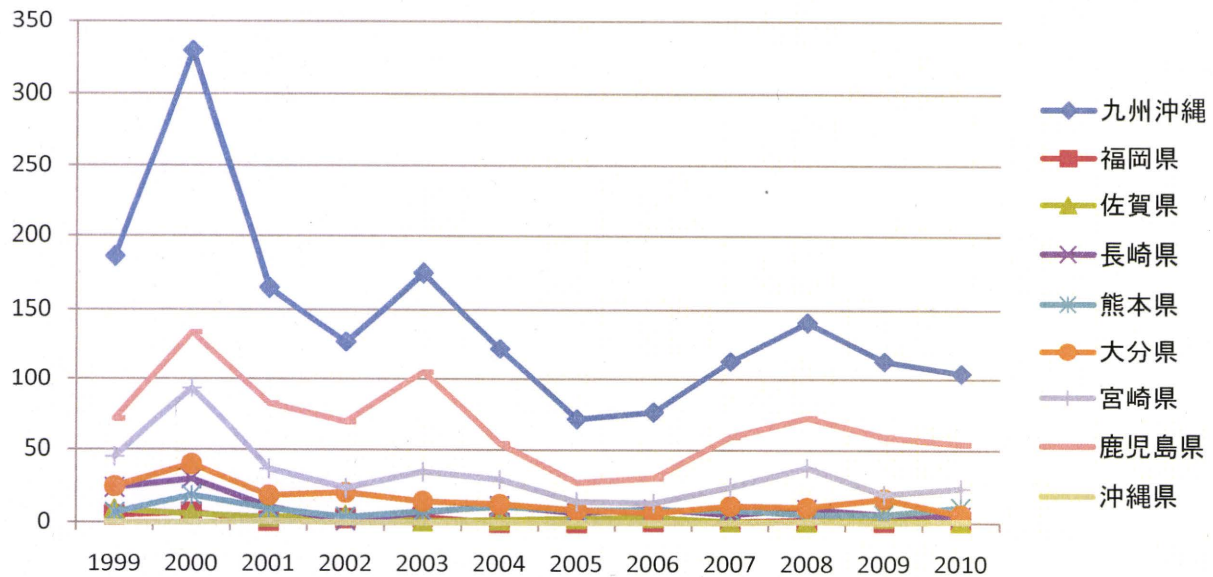


図1. 九州沖縄地域における、つつが虫病の年次別報告数

表1. 九州沖縄地域における、つつが虫病の月別報告数(2010年)

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計
福岡県												2	2
佐賀県												1	1
長崎県											1	4	5
熊本県		1			1						2	7	11
大分県				1							1	4	6
宮崎県		1									4	19	24
鹿児島県	8						1			1	5	39	54
沖縄県						1							1
計	8	2	0	1	1	1	1	0	0	1	13	76	104

表2. 九州沖縄地域における、つつが虫病の月別報告数(2009年)

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計
福岡県												1	1
佐賀県		1									1	2	4
長崎県								1	1		2	2	6
熊本県	1										2	3	6
大分県	1		1							1	11	3	17
宮崎県	4			1							8	7	20
鹿児島県	9										8	42	59
沖縄県													0
計	15	1	1	1	0	0	0	1	1	1	32	60	113



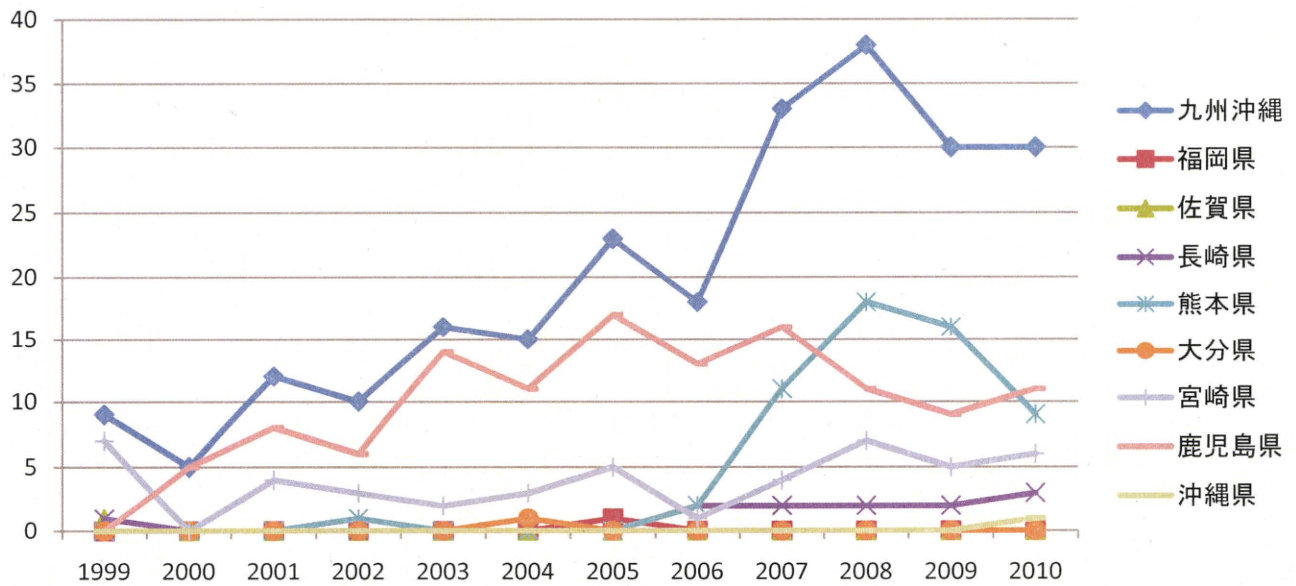


図2. 九州沖縄地域における、日本紅斑熱の年次別報告数

表3. 九州沖縄地域における、日本紅斑熱の月別報告数(2010年)

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計
福岡県								3					3
佐賀県													0
長崎県								2				1	3
熊本県					1	2	1	1	2	1	1		9
大分県													0
宮崎県								3		2	1		6
鹿児島県			3	1		2		2	2			1	11
沖縄県				1									1
計	0	0	3	2	1	4	1	11	4	3	2	2	33

表4. 九州沖縄地域における、日本紅斑熱の月別報告数(2009年)

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計
福岡県													0
佐賀県													0
長崎県									1	1			2
熊本県						2	6			4	2	2	16
大分県													0
宮崎県				1	2	1		1					5
鹿児島県					1	1	2		3	2			9
沖縄県													0
計	0	0	0	1	3	4	8	1	4	7	2	2	32

表5. 宮崎県日南市および長崎県長崎半島北東部における日本紅斑熱のベクター関連調査成績

	採取個体数(分離陽性数/検査数)							
	2010.8.4				2010.12.24-25			
	宮崎県日南市				長崎県 A			
	Larva	Nymph	♀	♂	Larva	Nymph	♀	♂
<i>Amblyomma testudinarium</i>		7(0/7)						
<i>Haemaphysalis flava</i>		7(0/7)				28	16	11
<i>Haemaphysalis formosensis</i>			5(0/5)	3(0/3)				
<i>Haemaphysalis hystricis</i>		3(0/3)	10(0/10)	4(0/4)				
<i>Haemaphysalis longicornis</i>		1(0/1)	2(0/2)					
<i>Ixodes turdus</i>					10	8		
Total		18(0/18)	17(0/17)	7(0/7)	10	37	16	11

表6. 奄美大島における日本紅斑熱のベクター関連調査成績

	採取個体数(分離陽性数/検査数)											
	奄美大島 (市小学校付近)				奄美大島 (大川上流・ダム)				奄美大島 (東仲間)			
	Larva	Nymph	♀	♂	Larva	Nymph	♀	♂	Larva	Nymph	♀	♂
<i>Amblyomma testudinarium</i>		3 (2/2)										
<i>Haemaphysalis formosensis</i>		5 (0/4)				7 (0/7)				2 (0/2)		1
<i>Haemaphysalis hystricis</i>		4 (0/4)	2 (0/2)	2 (0/1)			1 (0/1)					
<i>Ixodes granulatus</i>							1 (0/1)					
Total		12 (2/10)	2 (0/2)	2 (0/1)		7 (0/7)	2 (0/2)			2 (0/2)		1

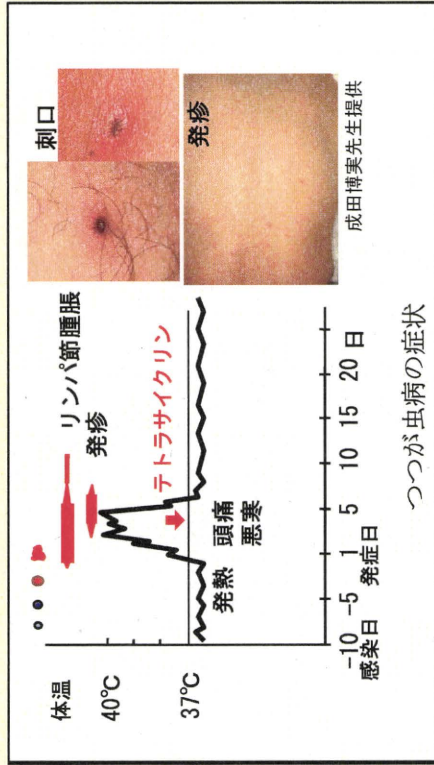


# つつが虫病 に注意

## 1. つつが虫病

宮崎県では、つつが虫病が、毎年発生しています。

- つつが虫病(恙虫病)は、**オリエンチア・ツツガムシ**と呼ばれる病原体を持った**ツツガムシの幼虫**に刺されて発症します。
- ツツガムシは林や草地、畑、河川敷、道ばたや庭などにいます。ツツガムシには農作業、山菜採り、工事、各種レジャーなど、野外での活動中に刺されます。

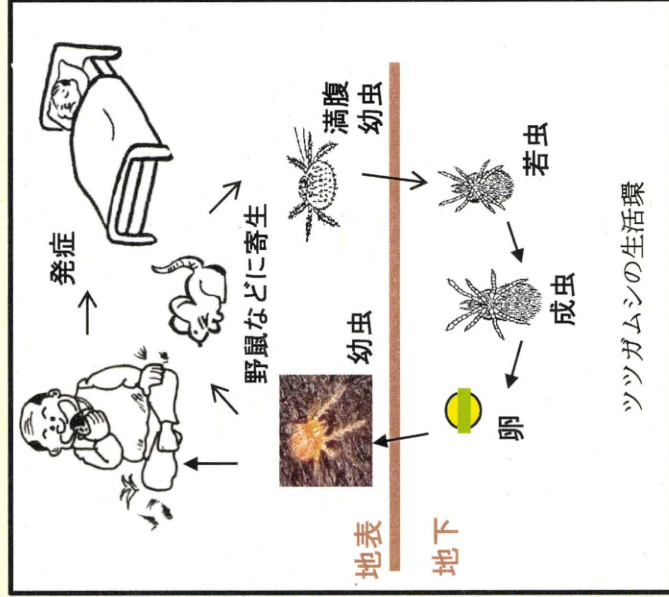


- 刺されてから約10日前後して、全身がだるい、食欲が無い、激しい頭痛、39°Cから40°Cの**高熱**などの症状があらわれ、身体のあるところに**発疹**がでてきます。また、ツツガムシに刺されたところに、**刺し口**(さしぐち)と呼ばれるカサブタができてきます。典型的な例ではこれらの特徴的な症状がそろって見られますが、刺し口を確認できない例や、発疹が不明瞭な例もあります。
- つつが虫病には良く効く抗生物質があり、適切な治療ですぐに治ります。しかし、ほうっておくと死亡することもありますが、**早めに病院で見てもらうことが重要**です。

## 2. ツツガムシの生活と感染

図3

- ツツガムシは卵→幼虫→若虫→成虫と形を変えて、野外で生活しています。若虫や成虫は地中で虫の卵を食べて暮らしますが、幼虫は、ほら動物の体液を吸うために地表にでてきます(幼虫は、体液を吸わないと若虫になれません)。
- 幼虫は、通常、ノネズミなどの小動物に寄生しますが、まれに人に寄生して、つつが虫病の原因となります。



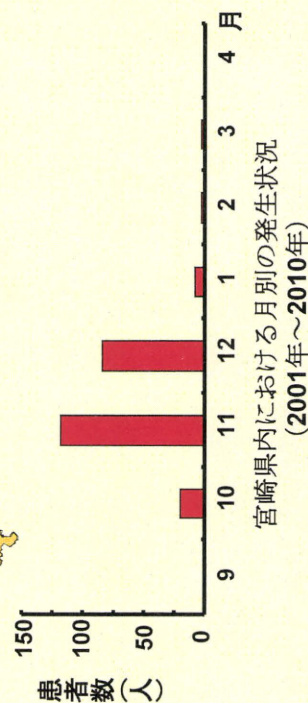
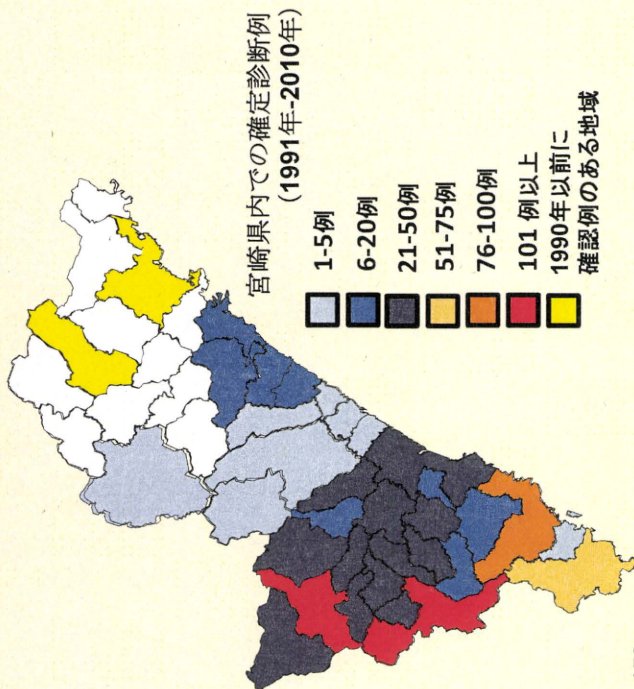
高橋守先生提供  
(標本写真)

- 宮崎県内では、タテツツガムシとフトツツガムシの幼虫がつつが虫病を媒介しています。
- タテツツガムシとフトツツガムシは県内全域に生息していますが、病原体をもっているのは、ごく一部です。



### 3. つつか虫病の発生状況

- ・宮崎県内では、ほぼ全域で患者が発生していますが、南部で多い傾向があります。
- ・県内ではタテツツガムシとフトゲツツガムシの幼虫が9月末から4月初めにかけて地表にでてきます。このため、この時期に患者が発生し、特に11月と12月に多い傾向があります。
- ・しかし、九州では、数は少ないものの、夏場の発生も報告されていますので、注意が必要です。



### 4. 予防と早期診断・早期治療が重要です

図4

つつかが虫病は、死亡例もあり、重症になりやすい病気です。野山や畑での作業、山菜採りなどに出かける際には、ツツガムシに刺されないように注意しましょう。

- 肌を露出しない（長袖、長ズボン、手袋など着用）。
- 草むらや地面に、座って休憩しない、衣服を置かない。
- 肌の露出部に人用防虫スプレーを使う。
- 草むらや山林に立ち入った後は、入浴して、着替える。

つつかが虫病にはテトラサイクリン系の抗生物質が有効です。早く治療すればするほど、重症化を防ぐことができます。

**早期診断と早期治療が重要です。疑わしいなど思ったら、すぐに医師の診察を受けましょう。**

#### 問い合わせ先

- ・中央保健所
- ・日南保健所
- ・都城保健所
- ・小林保健所
- ・高鍋保健所
- ・日向保健所
- ・延岡保健所
- ・高千穂保健所
- ・宮崎市保健所
- ・宮崎県衛生環境研究所

くわしいことは、最寄りの保健所にお問い合わせください。

- TEL 0985-28-2111 宮崎市霧島1-1-2
- TEL 0987-23-3141 日南市吾田西1-5-10
- TEL 0986-23-4504 都城市上川東3-14-3
- TEL 0984-23-3118 小林市大字堤字金鳥居3020-13
- TEL 0983-22-1330 高鍋町大字蚊口裏5120-1
- TEL 0982-52-5101 日向市北町2-16
- TEL 0982-33-5373 延岡市大貫町1-2840
- TEL 0982-72-2168 高千穂町大字三田井1086-1
- TEL 0985-29-5281 宮崎市宮崎駅東1-6-2
- TEL 0985-58-1410 宮崎市学園木花台西20302

(宮崎県衛生環境研究所・宮崎県健康増進課作成)

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
研究分担報告書

宮崎県におけるアナプラズマ症のリスクおよび  
日本紅斑熱の発生におけるイノシシの役割

研究分担者	山本正悟	宮崎県衛生環境研究所
研究協力者	北野智一	宮崎県衛生環境研究所
	三浦美穂	宮崎県衛生環境研究所
	大橋典男	静岡県立大学：研究分担者
	高娃	静岡県立大学
	呉東興	静岡県立大学
	川森文彦	静岡県環境衛生科学研究所
	安藤秀二	国立感染症研究所ウイルス第一部：研究分担者
	岸本壽男	岡山県環境保健センター

研究要旨：本研究班の研究分担者である大橋らは、国内のマダニから *Anaplasma (A.) phagocytophilum* を検出するとともに、高知県で 2 例の *A. phagocytophilum* 感染の疑われる症例を発見した。そこで、宮崎県におけるアナプラズマ症のリスクについて検討することを目的に、①つつが虫病あるいは紅斑熱を疑って宮崎県衛生環境研究所に検査依頼のあった患者 142 例の血液および②宮崎県内で捕獲されたイノシシの検体（血液 113 例、脾臓 116 例）と鹿の検体（血液 5 例、脾臓 9 例）から *A. phagocytophilum* の p44 遺伝子群の検出を試みた。その結果、患者、イノシシ、鹿のいずれの検体からも p44 遺伝子群は検出されず、宮崎県におけるアナプラズマ症のリスクの低いことが示唆された。しかしながら、宮崎県内には高知県内と同種のマダニが分布しており、今後も本疾患の存在を念頭に置いた調査を継続する必要がある。

また、日本紅斑熱の発生におけるイノシシの役割を検討するため、昨年度に引き続き、日本紅斑熱の発生地である宮崎県南東部で捕獲されたイノシシの検体（血液 39 例、脾臓 40 例）について *R. japonica* 遺伝子の保有状況を調べたが、*R. japonica* の保有例は見られず、病原体の供給源としてのイノシシの役割は確認されなかった。九州地域ではヤマアラシチマダニ、フタトゲチマダニ、キチマダニが媒介種として報告されている。多くの患者発生地では、家や畑などのヒトの活動域にまでイノシシの活動域が拡大しており、イノシシは、これらの媒介マダニのヒト活動域への拡散役として、日本紅斑熱の発生に係わっていると思われる。

A. 研究目的  
大橋らは、静岡県、山梨県、青森県、岩手 県、鹿児島県、長崎県五島列島、沖縄県与那国島で採取したマダニが *A. phagocytophilum*

を保有していることを明らかにするとともに、高知県で2例の *A. phagocytophilum* 感染の疑われる症例を発見した。そこで、①つつが虫病あるいは紅斑熱を疑って2007年から2010年春先にかけて宮崎県衛生環境研究所に検査依頼のあった患者の検体に加え、②宮崎県内で捕獲されたイノシシと鹿の血液と脾臓から *A. phagocytophilum* の *p44* 遺伝子群の検出を試みて、宮崎県におけるアナプラズマ症のリスクについて検討した。

また、本研究班では、日本紅斑熱の患者発生地でベクターや保有動物の調査を実施しているが、その際に、地域の住民から本疾患の発生にシカやイノシシが関与している可能性を指摘されることが多い。このため、日本紅斑熱の発生におけるイノシシの役割を検討することを目的に、昨年度に引き続き、県北部および日本紅斑熱の発生地である県南東部で捕獲されたイノシシについて、*R. japonica* 遺伝子の保有状況を調べた。

## B. 研究方法

### 1. 患者材料

つつが虫病や紅斑熱を疑って宮崎県衛生環境研究所に2007年から2009年春までに検査依頼のあった計181例の患者のうち、血液を保存していた143例を対象とした。対象とした143例中、53例がつつが虫病確定例、16例が日本紅斑熱確定例、39例がペア血清で両疾患を否定された例、34例が判定不能例、1例がデング熱であった。各年度に対象とした患者の数とその内訳を表1に示した。

### 2. イノシシおよびシカの材料

日本紅斑熱の発生地である宮崎県南部の6地区および発生の確認されていない県北部の2地区の猟友会から、猟期の2009年11月15

日から2010年3月15日の間に捕獲されたイノシシあるいはシカの血液と脾臓の提供を受けた。捕獲地区、捕獲状況、検査に供した血液と脾臓の数および検体の状況を図1に示した。

### 3. 血液あるいは脾臓からのDNA抽出

凝固防止血はそのまま、血餅はバイオマッシャー（ニッピ バイオマトリックス研究所）で処理した後、それぞれ100 $\mu$ lから市販のキット（DNeasy Blood & Tissue Kit, QIAGEN等）を用いてDNAを抽出した。また、脾臓はホモジナイザーで乳剤とした後、その約20mgから上記Kitを用いてDNAを抽出した。

### 4. *A. phagocytophilum* の検出

患者材料およびイノシシとシカの検体を対象として、大橋らの方法により、*p44* 遺伝子群の検出を行った。

### 5. *R. japonica* の検出

宮崎県北部および南部の猟友会から提供されたイノシシの血液と脾臓のうち、昨年度の報告書で報告できなかった血液39検体と脾臓40検体を対象とした。また、*R. japonica* の遺伝子の検出は、花岡らのTaqMan-MGB probeリアルタイムPCR法（Emerging Infectious Disease, vol.15 (12), 1994-1997, 2009）により実施した。

## C. 研究結果

### 1. つつが虫病および日本紅斑熱疑い例における *A. phagocytophilum* の検出

2007年に検査依頼を受けた7例中50例、2008年に検査依頼を受けた91例中79例および2009年春に検査依頼を受けた16例中14

例の計 143 例の患者材料から *p44* 遺伝子群の検出を試みたが、いずれも検出限界以下であった(表 1)。

## 2. イノシシとシカにおける *A. phagocytophilum* の検出

県北部で捕獲されたイノシシ 9 頭の脾臓と 9 頭中 5 頭の血液およびシカ 9 頭の脾臓および県南東部で捕獲されたイノシシ 103 頭中 98 頭の脾臓および 99 頭の血液から *p44* 遺伝子群の検出を試みたが、いずれも検出限界以下であった(表 2)。

## 3. イノシシにおける *R. japonica* の検出

県北部で捕獲された 12 頭を含めて、イノシシ 39 頭の血液および 40 頭の脾臓から、*R. japonica* 検出を試みたが、いずれも検出限界以下であった(表 3)。

## D. 考 察

近年、大橋らは、各種マダニ、シカおよびつつが虫病と日本紅斑熱の検査に供された高知県の患者材料を解析して、国内に *A. phagocytophilum* が分布し、ヒトアナプラズマ症が存在する可能性を示している。そこで、宮崎県内におけるヒトアナプラズマ症のリスクの検討を目的に、①つつが虫病や日本紅斑熱を疑って検査依頼のあった患者および②県内で捕獲されたイノシシとシカから、PCR 法によって *A. phagocytophilum p44* 遺伝子の検出を試みたが、検出された例はなかった。これらの結果から、宮崎県内におけるヒトアナプラズマ症の感染リスクは低いと思われる。しかしながら、宮崎県内には高知県と共通のマダニが分布しており、今回と同様の調査に加えてマダニからの検出を試みる必要もあり、本疾患のリスクについては今後さらに検討し

たい。

昨年度の調査と合わせて、日本紅斑熱の発生する県南部に生息するイノシシ計 101 頭の血液(97 頭)と脾臓(96 頭)から *R. japonica* の検出を試みたが、検出された例は無く、*R. japonica* の増幅や維持にイノシシの関わっている可能性は低いことが示唆された。九州地域ではヤマアラシチマダニ、フタトゲチマダニ、キチマダニが媒介種として報告されている(図 2)。また、近年各地で家や畑などのヒトの活動域にまでイノシシの活動域が拡大している状況が見られることから、イノシシは、これらの媒介マダニのヒト活動域への拡散役として、日本紅斑熱の発生に係わっていることが示された。

## E. 結論および課題

### (結論)

1. 宮崎県におけるアナプラズマ症のリスクを検討するために、①つつが虫病あるいは紅斑熱を疑って宮崎県衛生環境研究所に検査依頼のあった患者 143 例および②宮崎県内で捕獲されたイノシシ 122 例と鹿 9 例から *A. phagocytophilum* の *p44* 遺伝子群の検出を試みたが、検出されず、宮崎県におけるアナプラズマ症のリスクの低いことが示唆された。
2. 昨年度の調査と合わせて、日本紅斑熱の発生地で捕獲されたイノシシ 101 頭の *R. japonica* 遺伝子の保有状況を調べたが、保有例を見いだせなかった。この結果から、イノシシは、ヤマアラシチマダニ、フタトゲチマダニ、キチマダニなどの媒介マダニ種をヒト活動域へ拡散させることにより、宮崎県内における日本紅斑熱の発生に係わっていると思われる。



(課題)

1. つつが虫病や日本紅斑熱を疑って検査を依頼された症例のうち、これらの疾患として確定される割合は、例年、30 から 40%程度の症例にとどまっており、全国で診断の確定されない症例数は、相当な数に上ると推定される。今回、宮崎県の未確定例についてヒトアナプラズマ症の可能性を検討したが該当する症例はなかった。これら未確定例について継続的な検討を行い、確定率の向上につながる知見を集積することが、今後も、重要な課題と思われる。

2. 各種マダニ、シカの解析から、国内に *A. phagocytophilum* が分布し、ヒトアナプラズマ症が存在する可能性が示されている。宮崎県内には高知県と共通のマダニが分布しており、今回と同様の調査に加えてマダニからの検出を試みる必要もあり、本疾患のリスクについては今後さらに検討したい。

F. 健康危険情報

1) つつが虫病と日本紅斑熱に関する一般住民向けリーフレットの作成と配布の実施(平成 23 年 3 月)。

G. 研究発表等

1. 論文発表

1) Nakayama K, Kurokawa K, Fukuhara M, Urakami H, Yamamoto S, Yamazaki K, Ogura Y, Ooka T, Hayashi T. Genome comparison and phylogenetic analysis of *Orientia tsutsugamushi* strains. *DNA Res.*, 2010; 17(5):281-291.

1. 学会等発表

1) 山本正悟, 三浦美穂, 北野智一, 松本一俊, 八尋俊輔, 平野学, 本田俊郎, 御供田陸

代, 石橋哲也, 安藤秀二, 岸本壽男:九州地域の日本紅斑熱対策における地方衛生研究所の役割. 衛生微生物技術協議会第 31 回研究会, 鹿児島県鹿児島市, 2010 年 5 月 25-26 日.

1) 山本正悟, 北野智一, 三浦美穂, 大橋典男, 川森文彦, 高娃, 呉東興, 安藤秀二, 岸本壽男: 日本紅斑熱発生地におけるイノシシの役割. 第 3 回日本リケッチア症臨床研究会・第 17 回リケッチア研究会合同研究発表会, 滋賀県大津市, 2011 年 1 月 15-16 日.

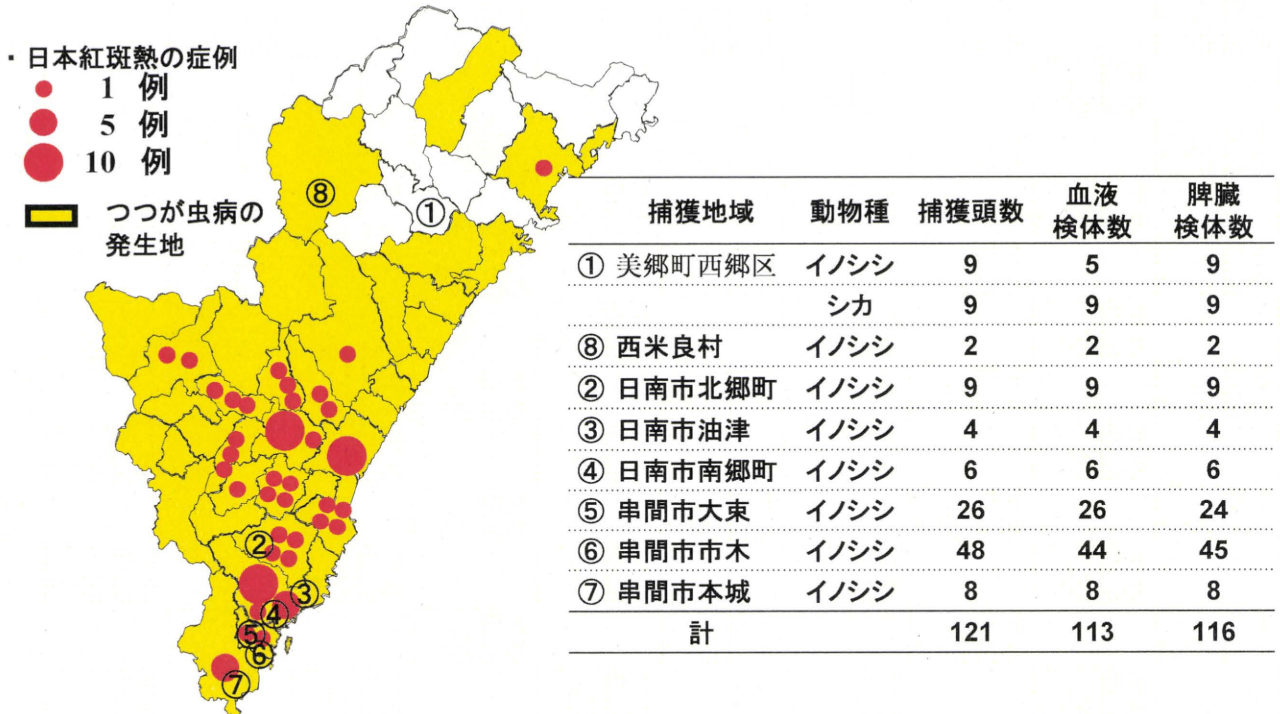
H. 知的財産権の出願・登録状況

- 1. 特許取得                   なし。
- 2. 実用新案登録           なし。

表1 宮崎県で恙虫病・日本紅斑熱を疑われた症例における  
*A. phagocytophilum* p44遺伝子群の検出結果

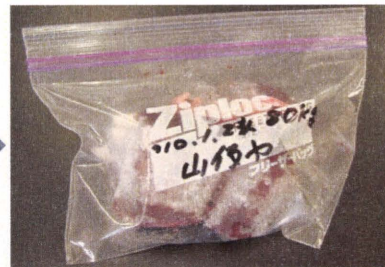
年	リケッチア症 疑い検体数	アナプラズマ p44遺伝子 検査数	アナプラズマp44遺伝子を検査した患者の リケッチア症診断結果					PCR 結果 アナプラズマ p44遺伝子
			つつが虫病	紅斑熱	陰性	判定不能	デング熱	
2007	74	50	21	5	8	16	0	
2008	91	79	31	8	26	14	0	
2009	16	14	1	3	5	4	1	
計	181	143	53	16	39	34	1	

図1 宮崎県内におけるイノシシとシカの検体採取状況



イノシシの解体

脾臓(冷凍保存)



血液(冷蔵保存)



イノシシから採取した脾臓と血液



表2 宮崎県内で捕獲されたイノシシとシカにおける*A. phagocytophilum* p44遺伝子群の検出結果

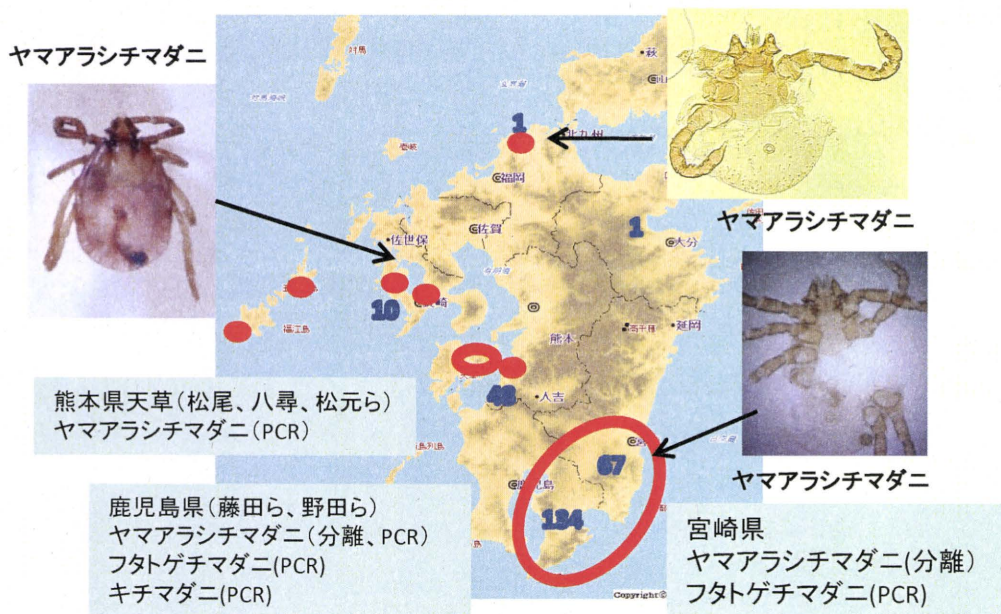
捕獲地域	動物種	捕獲頭数	血液	脾臓	アナプラズマp44遺伝子検出例
美郷町西郷区	イノシシ	9	5	9	0
	シカ	9	9	9	0
西米良村	イノシシ	2	2	2	0
日南市北郷町	イノシシ	9	9	9	0
日南市油津	イノシシ	4	4	4	0
日南市南郷町	イノシシ	6	6	6	0
串間市大東	イノシシ	26	26	24	0
串間市市木	イノシシ	48	44	45	0
串間市本城	イノシシ	8	8	8	0
		121	113	116	0

表3 宮崎県内で捕獲されたイノシシにおける *R. japonica* の検出結果

捕獲地域	動物種	捕獲頭数	血液	脾臓	<i>R. japonica</i> 検出例
① 美郷町西郷区	イノシシ	9	5	9(2)*	0
⑧ 西米良村	イノシシ	2	2(2)	2(2)	0
② 日南市北郷町	イノシシ	9	9(2)	9(2)	0
③ 日南市油津	イノシシ	4	4(4)	4(4)	0
④ 日南市南郷町	イノシシ	6	6	6	0
⑤ 串間市大東	イノシシ	26	26(6)	24(6)	0
⑥ 串間市市木	イノシシ	48	44(25)	45(24)	0
⑦ 串間市本城	イノシシ	8	8	8	0
計		112	104(39)	107(40)	0

\*: 括弧内の数字は2011年の成績に追加した検体数。

図2 九州地域における *R. japonica* のベクターの概要



## アナプラズマ属菌を中心としたリケッチア関連細菌群の分子疫学調査

分担研究者 大橋典男	静岡県立大学 食品栄養科学部 教授
研究協力者 吉川悠子	静岡県立大学 食品栄養科学部 助教
川森文彦	静岡県環境衛生科学研究所 微生物部
湊 千尋	静岡県環境衛生科学研究所 微生物部
大橋正孝	静岡県農林研究所 森林林業研究センター
大竹正剛	静岡県農林研究所 森林林業研究センター
鳥日囃(ウリト)	日本予防医学協会・リサーチレジデント
高娃(コウワ)	静岡県立大学大学院博士課程 2 学年
呉東興(ウヅツ)	静岡県立大学大学院修士課程 2 学年

### 研究要旨

本年度は、これまで知見の乏しかったリケッチア関連細菌群の保菌動物としての大型哺乳動物、野生シカの検体試料が入手できるようになり、主にこの野生シカにおける解析に力を注いだ。害獣としての野生シカ駆除の現場に出向き、124 頭のうち、105 頭から脾臓サンプルおよび 88 頭から血清サンプルを得ることができた。野生シカの脾臓 DNA からリケッチア関連細菌群の各種遺伝子検出を行った結果、紅斑熱群リケッチア、エーリキア属菌、ネオエーリキア属菌は検出されなかったが、アナプラズマ属菌の *Anaplasma phagocytophilum*、*A. bovis*、*A. centrale* の遺伝子が高頻度に検出された。*A. phagocytophilum* の場合、特異遺伝子の *p44* では、95.7% (89/93) の陽性率であった。また、今回は *A. phagocytophilum* のヒト型とシカ型を区別できる 16S rDNA プライマーの設計に成功し、これを用いて検出を試みたところ、ヒト型は検出されなかったものの、シカ型は 96.2% (101/105) の陽性率を示し、*p44* の場合とほぼ同程度であった。さらに、*A. bovis* では 58.1%、および *A. centrale* では 79.0%であった。また、2 種以上のアナプラズマ属菌種の混合感染率は 90.5% (95/105) と極めて高いことが判った。脾臓サンプルからのリケッチア関連細菌群の分離も試みたが、成功にはいたらなかった。シカ血清中の抗体測定では、今回初めて *A. phagocytophilum* の抗体価を安定に測定できる IFA 法の確立に成功し、これを用いて調べたところ、88 頭中 22 頭のシカで 20 倍以上の抗体価を示した(陽性率 25.0%)。また、紅斑熱群リケッチアの IFA では、65 頭が陽性を示した(陽性率 73.9%)。最後に、*A. phagocytophilum* が検出されている 2 匹のシュルツェマダニの唾液腺 DNA から、ヒト型およびシカ型 *A. phagocytophilum*、*A. bovis*、*A. centrale*、*Cnadicatus Neoehrlichia mikurensis*、紅斑熱群リケッチアの各種遺伝子検出を試みた。その結果、1 匹のマダニからはヒト型 *A. phagocytophilum*、*A. centrale*、および *Cnadicatus N. mikurensis* が、またもう 1 匹からはヒト型 *A. phagocytophilum* および *A. centrale* が検出された。

以上、本研究で得られた知見は、公衆衛生学および獣医学分野において貴重な情報を提供するものと考えられる。

## 研究の背景

我々は、国内におけるアナプラズマを中心としたリケッチア関連細菌群(紅斑熱群リケッチアやエーリキア属菌などを含む)の実態を明らかにするため、これまで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。そして、日本紅斑熱の発生地を含む各地(静岡県、山梨県、青森県、岩手県、鹿児島県、長崎県五島列島、沖縄県与那国島、和歌山県、三重県)で実態調査を行い、紅斑熱群リケッチアの *gluA* 遺伝子解析により、タカサゴチマダニ(*Haemaphysalis formosensis*)がこれまでに報告のない新型の紅斑熱群リケッチア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、シュルツエマダニ(*Ixodes persulcatus*)、ヤマトマダニ(*I. ovatus*)、タカサゴキラマダニ(*Amblyomma testudinarium*)、タカサゴチマダニ(*H. formosensis*)、オオトゲチマダニ(*H. megaspinosa*)、フタトゲチマダニ(*H. longicornis*)が *Anaplasma phagocytophilum* を保有していることを明らかにした。しかし、これら病原体の保菌野生動物、特に大型野生哺乳動物に関する知見は未だに乏しい。

以上のような背景のもと、本年度は、大型哺乳類の野生シカを調査できる体制が整ったことから、主に野生シカが保有するリケッチア関連細菌群について解析を行った。

### A. 研究目的

静岡県におけるマダニ媒介性リケッチア感染症については、2000年9月に東部地域の沼津市で日本紅斑熱の1例発生が認められている。また、リケッチア関連細菌群の

調査では、当研究室が2005年に富士山麓のシュルツエマダニ(*I. persulcatus*)とヤマトマダニ(*I. ovatus*)から *A. phagocytophilum* を検出し、さらに2006年に野ネズミから *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* を検出し報告している。しかし、大型野生哺乳動物の調査については、試料入手が困難であったため、これまで解析が不可能であった。静岡県では、現在、害獣として野生ニホンジカの大規模な駆除が行われている。我々は、今年度から、この野生シカ駆除の現場に参加できるようになり、これにより、これまで知見が少なかったリケッチア関連細菌群の保菌動物としての大型哺乳動物の野生シカを調査することが可能となった。特にこれまでに野生シカの脾臓中に存在するリケッチア関連細菌群を詳細に調査した報告は極めて乏しい。よって、本研究では、主に、野生シカの脾臓中に潜在するリケッチア関連細菌群(紅斑熱群リケッチア、アナプラズマ属菌、エーリキア属菌、ネオエーリキア属菌)を解析し、これら野生シカがリケッチア関連細菌群の保菌動物としての可能性について検討した。

### B. 研究方法

伊豆半島の天城山系(5ヶ所)と富士山麓(3ヶ所)で行われた野生シカ駆除に参加し、駆除された124頭のうち、105頭のシカから脾臓サンプル、また88頭から血清サンプルを得ることができた(図1および表1a-c)。これらの脾臓からDNAを抽出し、リケッチア関連細菌群の各種遺伝子検出を行った。また、脾臓の一部はホモジネートした後、ヒト白血病株化細胞のHL-60あるいはTHP-1に接種し、リケッチア関連細菌

群の分離も試みた。さらに、血液から調製した血清は、蛍光抗体 (IFA) 法に使用した。

## C. 結果

### 1. 静岡県野生シカが保有するリケッチア関連細菌群について

#### (i) リケッチア関連細菌群の遺伝子検出

検出を試みたリケッチア関連細菌群としては、日本紅斑熱リケッチア (*Rickettsia japonica*) を含む紅斑熱群リケッチア、米国で発見されたアナプラズマ症の起因細菌 *A. phagocytophilum* やエーリキア症の起因細菌 *Ehrlichia chaffeensis*、近年ヒトへの感染症例が報告されたネオエーリキアの *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*、ウシなどの反芻動物の単球に感染し変動の激しい発熱を伴ったリンパ節症を引き起こす *A. bovis*、および反芻動物の赤血球に感染し軽い貧血を引き起こす *A. centrale* である。*A. phagocytophilum* の遺伝子検出の場合は、米国のヒト分離株の 16S rDNA 配列を基にしたプライマー (ヒト型検出用) と国内のシカの血液から検出された 16S rDNA 配列を基にしたプライマー (シカ型) を設計し、これらを区別して PCR 検出できるように計画した。さらに、*A. phagocytophilum* に特異的な *p44* 外膜タンパク遺伝子を標的とした PCR も行った。その他のリケッチア関連細菌群の標的遺伝子および PCR 検出の結果を表 2 に示す。得られた PCR 産物は、RFLP 解析とシーケンス解析により確認した。ここで、紅斑熱群リケッチアの *gltA* (クエン酸合成酵素遺伝子)、*E. chaffeensis* の *p28* 外膜タンパク遺伝子、*Candidatus N. mikurensis* の 16S rDNA は検出されなかったが、各 *Anaplasma* 属菌種の遺伝子が高い頻度で検出された。*A.*

*phagocytophilum* の *p44* 遺伝子検出では 95.7% の陽性率を示し、ヒト型の 16S rDNA は検出されなかったものの、シカ型の 16S rDNA は 96.2% の陽性率で、*p44* 検出の陽性率とほぼ同程度であった。また、*A. bovis* は 58.1% で、*A. centrale* は 79.0% の陽性率であった。さらに 2 種以上の *Anaplasma* 属菌種の混合感染率は 90.5% (95/105) と極めて高いことが判った。

#### (ii) IFA 法を用いた野生シカ血清中の抗 *A. phagocytophilum* 抗体および抗 *Rickettsia* 抗体の検出

*A. phagocytophilum* の IFA 法は、一般に、抗原として *A. phagocytophilum* 感染 HL-60 細胞が用いられている。しかし、HL-60 細胞は細胞表面に Fcγ レセプターを発現しているため、非特異的に抗体が細胞に結合しやすく、感染細胞全体が蛍光を発して陽性陰性の判定が困難な場合が多い。我々は、この非特異反応を抑えるため、種々の試薬やその濃度を検討した結果、5% スキムミルクを用いて 1 次抗体を希釈して使用することで最も良好な結果が得られることを見出し、血清診断にも応用可能な手順を確立した。図 2 にその蛍光染色像を示す。ここでは、HL-60 細胞に感染した *A. phagocytophilum* の封入体が緑色に蛍光染色されている像が明確に認められ、陽性陰性の判定が容易となった (図 2A と 2C の黄色矢印)。この手法を用いて、得られた 88 頭の野生シカの血清中抗 *A. phagocytophilum* 抗体の存否を調べたところ、表 3 に示すように、22 頭のシカで 20 倍以上の抗体価を示した (陽性率 25.0%)。また、日本紅斑熱の血清診断に用いられている IFA 法により、20 倍希釈血清を用いて抗 *Rickettsia* 抗体を

スクリーニングしたところ、65頭のシカで陽性を示した（陽性率73.9%）。

## 2. 野生シカの脾臓からのリケッチア関連細菌群の分離について

野生シカ駆除で得られた脾臓と血液のうち、61頭の脾臓組織と32頭のシカ血液の合計93個のサンプルから *A. phagocytophilum* を含むリケッチア関連細菌群の分離培養を試みた。分離には、*A. phagocytophilum* の継代培養に用いている白血球株化細胞 HL-60 あるいは THP-1 を使用した。採取した組織サンプルをそれぞれホモジナイズし、1 サンプルずつ培養細胞に加えて3週間ほど培養を行った。*A. phagocytophilum* はほとんどの抗菌剤に感受性を示すため、抗生物質を含む培地を用いた分離培養はできない。また、シカの駆除後の採血や脾臓摘出はできる限り素早く行い、その後すぐに冷蔵して研究室に持ち帰り分離培養を開始するが、サンプルの採取が野外作業のため無菌的な採血や脾臓摘出が極めて困難であった。そのため、分離培養の多くはコンタミが発生し、コンタミしなかった残りのサンプルからはいずれのリケッチア関連細菌群も分離できなかった。しかし、今回の数多くの分離の試みにより、比較的無菌的な脾臓摘出や採血などができるようになってきた。また、*A. phagocytophilum* は内皮細胞株の RF/6A にも感染することが知られているので、今後はこの細胞を用いて *A. phagocytophilum* の分離を試みたい。さらには、シカ脾臓細胞の初代培養からの形質転換細胞株の作製に挑み、これを用いて *A. phagocytophilum* の分離を試みることに挑戦したいと考えている。

## 3. マダニ中のリケッチア関連細菌群の遺伝子検出と混合感染解析：特に、ヒト型とシカ型の *A. phagocytophilum* の識別検出について

我々は、これまでにシュルツェマダニの唾液腺 DNA から *A. phagocytophilum* 遺伝子を検出し、その p44 主要外被膜タンパク遺伝子群のゲノム上発現領域の構造解析に成功し報告した [Wuritu *et al.*, *J. Med. Microbiol.* **58**, 1638-1644, 2009; *Jpn. J. Infect. Dis.* **62**, 142-145, 2009]。しかし、当時は、ヒト型とシカ型の *A. phagocytophilum* に関する知見が乏しかったことやこれらを識別して検出する方法を確立していなかったため、いずれの遺伝子型のものが検出されたかは不明であった。幸運にも、サンプルの唾液腺 DNA は GenomiPhi で Total DNA をまるごと増幅して、さらなる遺伝子解析に十分な DNA 量を保存してあった。今回、この GenomiPhi-amplified total DNA を用いて、ヒト型とシカ型の *A. phagocytophilum* を含むリケッチア関連細菌群の詳細な PCR 解析を行った。*A. phagocytophilum* の p44 遺伝子が検出されたシュルツェマダニは T-162 と T-176 (Tick ID) の2匹で、いずれも岩手県での調査で採集したものである。得られた PCR 産物は RFLP 解析とシーケンス解析により菌種などを確認した。その結果を図3に示す。ここで、マダニ T-162 および T-176 のいずれからもヒト型 *A. phagocytophilum* 16S rDNA の明瞭な DNA バンド (646 bp) が見られたが、シカ型は検出されず、これらのマダニがヒト型 *A. phagocytophilum* を保有することが明らかとなった。また、つい最近、スウェーデン、ドイツ、スイスで