

相次いでヒト感染例が報告されている *Candidatus N. mikurensis* の 16S rDNA 検出を試みたところ、T-176 のマダニで明瞭なバンド (733 bp) が検出され、その塩基配列も *Candidatus N. mikurensis* と同一であった。さらに確認のため、*Candidatus N. mikurensis* の *groEL* 遺伝子のプライマーを設計し検出を試みた結果、16S rDNA 検出の場合と同様に明瞭な DNA バンド (554 bp) が観察され、その配列も *Candidatus N. mikurensis* のものであった。また、マダニ T-162 および T-176 のいずれからも *A. centrale* の 16S rDNA (426 bp) が検出され、その配列も *A. centrale* のものであった。しかし、いずれのマダニからも *Ehrlichia* 属菌の *p28* および *A. bovis* の 16S rDNA は検出されなかった。紅斑熱群リケッチアの *gltA* の場合、T-162 の 350 bp 付近にバンドが見られたが、予想サイズの 581 bp とは異なり、その配列もリケッチアのものではなく、ホモロジー検索では相同性遺伝子は見つからなかった。おそらく、マダニの遺伝子が非選択的に増幅されたものと思われる。以上を総合すると、マダニ T-162 にはヒト型 *A. phagocytophilum* と *A. centrale* の 2 菌種が混合感染しており、またマダニ T-176 にはヒト型 *A. phagocytophilum*、*Candidatus N. mikurensis*、および *A. centrale* の 3 菌種が混合感染していることが明らかとなった。

D. 考察

以上述べてきたように、本年度の研究では、(i) 野生シカの脾臓からは様々な *Anaplasma* 属菌が検出されること、そしてその保有率も極めて高いこと、(ii) 野生シカの血清中に抗 *A. phagocytophilum* 抗体や抗

Rickettsia 抗体が存在すること、(iii) シェルツェマダニには、ヒト型 *A. phagocytophilum* や *Candidatus N. mikurensis* などのヒト感染症例が報告されている病原体が存在することなどを明らかにした。ここで、(i) の遺伝子検出では野生シカの脾臓から検出されたシカ型 *A. phagocytophilum* の陽性率が 95.7-96.2% と極めて高いことに対し、(ii) の抗体検査では血清中の抗 *A. phagocytophilum* 抗体の陽性率が 25% と低かった。これは、抗体検査に使用した抗原が米国のヒト型 *A. phagocytophilum* であり、国内のシカ型の抗原性と異なっているため、交差反応性が低いのではないかと考えている。よって、国内の *A. phagocytophilum* を分離し、これを検査用抗原として使用することが重要である。それとは対照的に、野生シカの紅斑熱群リケッチアに対する抗体陽性率は 73.9% と高かったが、*gltA* を標的とした遺伝子検査では検出されなかった。抗体価のみが認められた理由としては、マダニの刺咬を介してリケッチアがシカに感染し、これにより抗体は産生されるが、その後リケッチアはシカ体内でクリアランスされたものと考えている。つまり、これは、紅斑熱群リケッチアの保菌動物が野生シカではないことを示唆している。しかし、野生シカはリケッチアを保有するマダニを遠方に運搬するため、リスク区域の拡大が懸念される。したがって、野生シカも重要なリスクファクターと考える。(iii) では、上述のように、シェルツェマダニはヒト型 *A. phagocytophilum* を保有していることが判った。(i) や (ii) の結果と総合して考察すると、自然界ではシカ型 *A. phagocytophilum* が優占となっており、ヒト型はその中に潜在しているものと考えて

いる。これら *A. phagocytophilum* が野生シカからシュルツエマダニに移行すると、マダニ種に依存してマダニ中で selection がかかり、ヒト型 *A. phagocytophilum* がそのマダニ中で優占となるのではないか。そして、それがヒトに移行するとアナプラズマ症を発症するのではないかと想像している。そのように考えた場合、今回の遺伝子検出はコンタミを考慮してすべて Single PCR でスクリーニングを行ったため、野生シカ中に僅かに潜在するヒト型 *A. phagocytophilum* が検出できなかったかもしれない。今後は、Nested PCR やリアルタイム PCR を用いて野生シカ中のシカ型とヒト型の *A. phagocytophilum* の検出とその存在比率などを解析することが重要であり、それを試みる予定である。

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。

E. 研究発表

1. 発表論文

- 1) Hiroi, M., Harada, T., Kawamori, F., Takahashi, N., Kanda, T., Sugiyama, K., Masuda, T., Yoshikawa, Y., and Ohashi, N.: A survey of β -lactamase-producing *Escherichia coli* in farm animals and raw retail meat in Shizuoka prefecture, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* In press.
- 2) Hayashi, T., Nakamichi, M., Naitou, H.,

Ohashi, N., Imai, Y., and Miyake, M.: Proteomic analysis of growth phase-dependent expression of *Legionella pneumophila* proteins for identifying novel virulence-associated factors. *PLoS One* 22, e11718 (2010)

2. 学会発表

- 1) 大橋典男: 最近本邦でも確認されたアナプラズマ症-その実態と今後の課題. 第84回日本感染症学会総会 (京都) 2010年4月6日
- 2) 川森文彦, 長岡宏美, 杉山寛治, 山本正悟, 大橋典男: MultiplexリアルタイムPCRによる「つつが虫病」および「紅斑熱」の迅速診断. 第84回日本感染症学会総会 (京都) 2010年4月5日
- 3) Gaowa, Wuritu, Kawamori F., Yoshikawa, Y., Ohashi, N.: Molecular detection of tick-borne *Rickettsia*-related bacteria in western Japan. Japan-China International Symposium on Health Sciences (Shizuoka), Oct. 14, 2010.

F. 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
3. その他: など

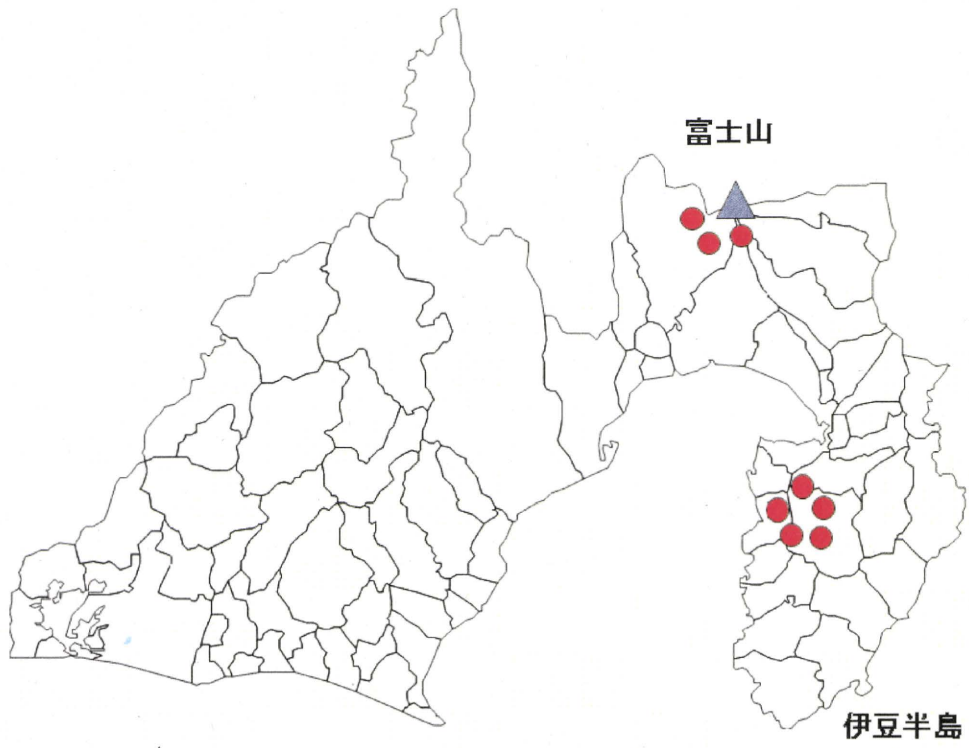


図1 野生シカ捕獲地（静岡県）

表 1-a. 捕獲した野生シカの個体情報(伊豆半島)

| シカ連番 | シカ No. 農林 | シカ No. | 日付 | 性別 | 体重 (kg) | 脾臓 | 血清 | 場所 |
|------|--------------|--------|------------|----|---------|----|----|-----------|
| 1 | 101 | Izu-1 | 03/11/2010 | 雄 | 30 | ○ | ○ | 船原峠 |
| 2 | 102 | Izu-2 | " | 雄 | 66 | ○ | ○ | " |
| 3 | 103 | Izu-3 | " | 雌 | 42.5 | ○ | ○ | " |
| 4 | 104 | Izu-4 | " | 雌 | 43 | ○ | ○ | " |
| 5 | 105 | Izu-5 | " | 雌 | 48 | ○ | ○ | " |
| 6 | 106 | Izu-6 | " | 雄 | 28 | ○ | ○ | " |
| 7 | 107 | Izu-7 | " | 雄 | 69 | ○ | ○ | " |
| 8 | 108 | Izu-8 | " | 雌 | 37 | ○ | ○ | " |
| 9 | 109 | Izu-9 | " | 雄 | 41 | ○ | ○ | " |
| 10 | 110 | Izu-10 | " | 雄 | 45 | ○ | ○ | " |
| 11 | 111 | Izu-11 | " | 雄 | 20 | ○ | ○ | " |
| 12 | 112 | Izu-12 | " | 雌 | 43 | ○ | ○ | " |
| 13 | 7 | Izu-13 | 06/03/2010 | 雌 | 55 | ○ | ○ | 天城放牧場付近 |
| 14 | 9 | Izu-14 | " | 雌 | 49 | ○ | ○ | " |
| 15 | 12 | Izu-15 | " | 雌 | 39 | ○ | ○ | " |
| 16 | 20 | Izu-16 | " | 雄 | 38.5 | ○ | ○ | " |
| 17 | 24 | Izu-17 | " | 雄 | 60 | ○ | ○ | " |
| 18 | 25 | Izu-18 | " | 雌 | 42 | ○ | ○ | " |
| 19 | 29 | Izu-19 | " | 雄 | 77 | ○ | ○ | " |
| 20 | 32 | Izu-20 | " | 雌 | 55 | ○ | ○ | " |
| 21 | 22IK-041 | Izu-21 | 06/10/2010 | 雄 | 23.5 | - | ○ | 伊豆市湯ヶ島土肥峠 |
| 22 | 22IK-042 | Izu-22 | " | 雌 | 50 | - | ○ | " |
| 23 | 22IK-043 | Izu-23 | " | 雌 | 41 | - | ○ | " |
| 24 | 22IK-044 | Izu-24 | " | 雌 | 53 | - | ○ | " |
| 25 | 22IK-045 | Izu-25 | " | 雌 | 45 | - | ○ | " |
| 26 | 22IK-049 | Izu-26 | " | 雌 | 51 | - | ○ | " |
| 27 | 22IK-050 | Izu-27 | " | 雄 | 50 | - | ○ | " |
| 28 | 22IK-051 | Izu-28 | " | 雌 | 22 | - | ○ | " |
| 29 | 22IK-054 | Izu-29 | " | 雌 | 42 | - | ○ | " |
| 30 | 22IK-058 | Izu-30 | 06/17/2010 | 雄 | 79 | - | ○ | 伊豆市棚場山 |
| 31 | 22IK-059 | Izu-31 | 06/18/2010 | 雌 | 46 | - | ○ | " |
| 32 | 22IK-060 | Izu-32 | 06/19/2010 | 雄 | 65 | - | ○ | " |
| 33 | 22IK-062 | Izu-33 | 06/21/2010 | 雄 | 39 | - | ○ | " |
| 34 | 22IK-063 | Izu-34 | 06/22/2010 | 雌 | 35.5 | - | ○ | " |
| 35 | 22IK-048 | Izu-35 | 06/14/2010 | 雄 | 5 | - | ○ | 伊豆市湯ヶ島土肥峠 |
| 36 | 22IK-052 | Izu-36 | " | 雄 | 8 | - | ○ | " |
| 37 | IK66 | Izu-37 | 2010/10/13 | 雌 | 44.5 | ○ | - | 達磨山東 |
| 38 | IK67 | Izu-38 | " | 雌 | 37.5 | ○ | - | 達磨山東 |
| 39 | IK68 | Izu-39 | " | 雄 | 51 | ○ | - | 達磨山東 |
| 40 | 81 | Izu-40 | 11/25/2010 | 雄 | 64.5 | ○ | ○ | 天城放牧場付近 |
| 41 | 82 | Izu-41 | " | 雄 | 69 | ○ | - | " |
| 42 | 83 | Izu-42 | " | 雌 | 54 | ○ | ○ | " |
| 43 | 84 | Izu-43 | " | 雄 | 49 | ○ | ○ | " |
| 44 | 85 | Izu-44 | " | 雄 | 53.5 | ○ | ○ | " |
| 45 | 86 | Izu-45 | " | 雌 | 37.5 | ○ | ○ | " |
| 46 | 87 | Izu-46 | " | 雌 | 53.5 | ○ | ○ | " |
| 47 | 88 | Izu-47 | " | 雄 | 65 | ○ | ○ | " |
| 48 | 89 | Izu-48 | " | 雌 | 30.5 | ○ | ○ | " |
| 49 | 90 | Izu-49 | " | 雄 | 58.5 | ○ | - | " |
| 50 | 91 | Izu-50 | " | 雄 | 55 | ○ | ○ | " |
| 51 | 92 | Izu-51 | " | 雄 | 75.5 | - | ○ | " |
| 52 | 93 | Izu-52 | " | 雌 | 50.5 | ○ | - | " |
| 53 | 94 | Izu-53 | " | 雄 | 31.5 | ○ | ○ | " |
| 54 | 95 | Izu-54 | " | 雄 | 75 | ○ | ○ | " |

表 1-b. 捕獲した野生シカの個体情報(伊豆半島)

| シカ連番 | シカ No. 農林 | シカ No. | 日付 | 性別 | 体重 (kg) | 脾臓 | 血清 | 場所 |
|------|--------------|---------|------------|----|---------|----|----|---------|
| 55 | 96 | Izu-55 | 11/25/2010 | 雌 | 57 | ○ | ○ | 天城放牧場付近 |
| 56 | 98 | Izu-56 | " | 雄 | 47 | ○ | ○ | " |
| 57 | 99 | Izu-57 | " | 雄 | 65 | ○ | ○ | " |
| 58 | 100 | Izu-58 | " | 雄 | 67 | - | ○ | " |
| 59 | 101 | Izu-59 | " | 雄 | 60 | ○ | - | " |
| 60 | 102 | Izu-60 | " | 雌 | 33 | ○ | - | " |
| 61 | 103 | Izu-61 | " | 雄 | 53.5 | ○ | ○ | " |
| 62 | 104 | Izu-62 | " | 雌 | 52 | ○ | ○ | " |
| 63 | 106 | Izu-63 | " | 雄 | 47.5 | ○ | ○ | " |
| 64 | 107 | Izu-64 | " | 雌 | 32 | ○ | ○ | " |
| 65 | 108 | Izu-65 | " | 雄 | 48.5 | ○ | ○ | " |
| 66 | 109 | Izu-66 | " | 雄 | 47 | ○ | ○ | " |
| 67 | 110 | Izu-67 | " | 雄 | 63.5 | ○ | ○ | " |
| 68 | 111 | Izu-68 | " | 雌 | 28.5 | ○ | ○ | " |
| 69 | 112 | Izu-69 | " | 雌 | 44 | ○ | - | " |
| 70 | 113 | Izu-70 | " | 雄 | 60 | ○ | ○ | " |
| 71 | 114 | Izu-71 | " | 雌 | 47 | ○ | ○ | " |
| 72 | 115 | Izu-72 | " | 雌 | 39 | ○ | ○ | " |
| 73 | 116 | Izu-73 | " | 雄 | 30 | ○ | - | " |
| 74 | 117 | Izu-74 | " | 雄 | 68 | ○ | - | " |
| 75 | 119 | Izu-75 | " | 雄 | 70 | ○ | - | " |
| 76 | 120 | Izu-76 | " | 雄 | 53 | ○ | ○ | " |
| 77 | 121 | Izu-77 | " | 雄 | 51.5 | ○ | ○ | " |
| 78 | 122 | Izu-78 | " | 雄 | 83 | ○ | ○ | " |
| 79 | 123 | Izu-79 | " | 雌 | 41.5 | ○ | - | " |
| 80 | 124 | Izu-80 | " | 雌 | 46 | ○ | - | " |
| 81 | 125 | Izu-81 | " | 雌 | 24 | ○ | ○ | " |
| 82 | 126 | Izu-82 | " | 雄 | 55.5 | ○ | - | " |
| 83 | 127 | Izu-83 | " | 雌 | 48 | ○ | - | " |
| 84 | 128 | Izu-84 | " | 雄 | 65 | ○ | - | " |
| 85 | 129 | Izu-85 | " | 雄 | 46 | ○ | ○ | " |
| 86 | 130 | Izu-86 | " | 雄 | 47 | ○ | - | " |
| 87 | 132 | Izu-87 | " | 雌 | 36.5 | ○ | - | " |
| 88 | 133 | Izu-88 | " | 雄 | 29.5 | ○ | - | " |
| 89 | 134 | Izu-89 | " | 雄 | 32 | ○ | - | " |
| 90 | 135 | Izu-90 | " | 雄 | 47 | ○ | - | " |
| 91 | 136 | Izu-91 | " | 雄 | 30 | ○ | - | " |
| 92 | 137 | Izu-92 | " | 雌 | 47 | ○ | - | " |
| 93 | 138 | Izu-93 | " | 雌 | 43 | ○ | - | " |
| 94 | 140 | Izu-94 | " | 雌 | 42 | ○ | - | " |
| 95 | 144 | Izu-95 | " | 雌 | 48.5 | ○ | - | " |
| 96 | 145 | Izu-96 | " | 雄 | 46.5 | ○ | - | " |
| 97 | 148 | Izu-97 | " | 雄 | 33 | ○ | - | " |
| 98 | 149 | Izu-98 | " | 雄 | 59.5 | ○ | - | " |
| 99 | 150 | Izu-99 | " | 雄 | 43 | ○ | - | " |
| 100 | 152 | Izu-100 | " | 雌 | 59 | ○ | - | " |
| 101 | 154 | Izu-101 | " | 雌 | 34 | ○ | - | " |
| 102 | 155 | Izu-102 | " | 雄 | 49 | ○ | - | " |
| 103 | 156 | Izu-103 | " | 雌 | 45 | ○ | - | " |

表 1-c. 捕獲した野生シカの個体情報(富士山麓)

| シカ連番 | シカ No. 農林 | シカ No. | 日付 | 性別 | 体重 (kg) | 脾臓 | 血清 | 場所 |
|------|--------------|---------|------------|----|---------|----|----|--------|
| 104 | FY010 | Fuji-1 | 03/27/2010 | 雌 | 36 | ○ | ○ | 上井出国有林 |
| 105 | FY011 | Fuji-2 | " | 雄 | 26 | ○ | ○ | " |
| 106 | FY012 | Fuji-3 | 04/11/2010 | 雄 | 43 | ○ | ○ | " |
| 107 | FY013 | Fuji-4 | 04/24/2010 | 雌 | 53 | ○ | ○ | " |
| 108 | FY014 | Fuji-5 | 04/25/2010 | 雄 | 30 | ○ | ○ | " |
| 109 | FY015 | Fuji-6 | " | 雌 | 30 | ○ | ○ | " |
| 110 | FY016 | Fuji-7 | " | 雄 | 71 | ○ | ○ | " |
| 111 | FY017 | Fuji-8 | " | 雌 | 46 | ○ | ○ | " |
| 112 | FY018 | Fuji-9 | " | 雄 | 47 | ○ | ○ | " |
| 113 | 26 | Fuji-10 | 06/27/2010 | 雌 | 51.5 | ○ | ○ | " |
| 114 | 27 | Fuji-11 | " | 雌 | 23 | ○ | ○ | " |
| 115 | 28 | Fuji-12 | " | 雌 | 40 | ○ | ○ | " |
| 116 | 31 | Fuji-13 | 07/10/2010 | 雄 | 44.5 | ○ | ○ | 富士宮市人穴 |
| 117 | 61 | Fuji-14 | 08/19/2010 | 雄 | 43 | ○ | ○ | " |
| 118 | 62 | Fuji-15 | 08/20/2010 | 雄 | 50 | - | - | " |
| 119 | 63 | Fuji-16 | 08/22/2010 | 雌 | 14 | ○ | ○ | " |
| 120 | 64 | Fuji-17 | " | 雄 | 83 | ○ | ○ | " |
| 121 | 66 | Fuji-18 | 08/25/2010 | 雄 | 60.5 | ○ | ○ | 富士宮市北山 |
| 122 | 67 | Fuji-19 | " | 雄 | 17.0 | ○ | ○ | 富士宮市人穴 |
| 123 | 68 | Fuji-20 | 08/28/2010 | 雄 | 21.0 | ○ | ○ | 富士宮市北山 |
| 124 | 69 | Fuji-21 | 08/31/2010 | 雌 | 45.5 | ○ | ○ | 富士宮市人穴 |

Table 2. PCR detection of *Rickettsia*-related bacteria from spleen of wild deer

| Bacteria | Target gene | Positive% (Positive/Total) |
|--|-------------|-------------------------------|
| Spotted fever group rickettsiae | <i>gltA</i> | 0 (0/105) |
| <i>E. chaffeensis</i> | <i>p28</i> | 0 (0/105) |
| <i>Candidatus N. mikurensis</i> | 16S rDNA | 0 (0/105) |
| <i>A. phagocytophilum</i> | <i>p44</i> | 95.7 (89/93) |
| <i>A. phagocytophilum</i> (human type) | 16S rDNA | 0 (0/105) |
| <i>A. phagocytophilum</i> (deer type) | 16S rDNA | 96.2 (101/105) |
| <i>A. bovis</i> | 16S rDNA | 58.1 (61/105) |
| <i>A. centrale</i> | 16S rDNA | 79.0 (83/105) |

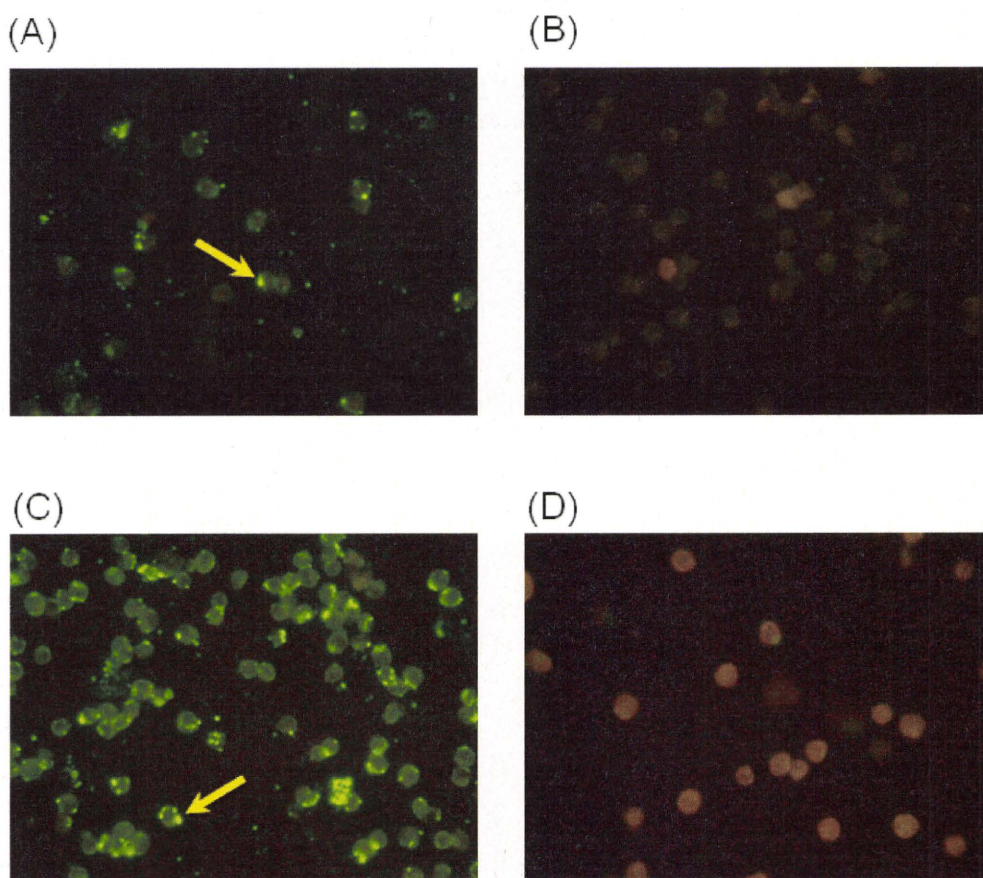


Fig. 2. Detection of anti-*A. phagocytophilum* antibody in sera obtained from wild deer using IFA method. (A) positive control: mouse anti-recombinant P44 protein serum. (B) negative control: normal mouse serum. (C) positive deer serum. (D) negative deer serum. Fluorescent *A. phagocytophilum* inclusions in infected cells are shown by yellow arrows.

Table 3. Detection of anti-*A. phagocytophilum* antibody and anti-*Rickettsia* antibody in sera from wild deer

| | <i>A. phagocytophilum</i> | | <i>R. japonica</i> | |
|------|---------------------------|----------|--------------------|------|
| | 陽性数 (陽性率) | 抗体価 | 陽性数 (陽性率) | 抗体価 |
| 伊豆シカ | 21/68 (31.0%) | 20倍~320倍 | 53/68 (78.0%) | >20倍 |
| 富士シカ | 1/20 (5.0%) | 40倍 | 12/20 (60.0%) | >20倍 |
| 合計 | 22/88 (25.0%) | | 65/88 (73.9%) | |

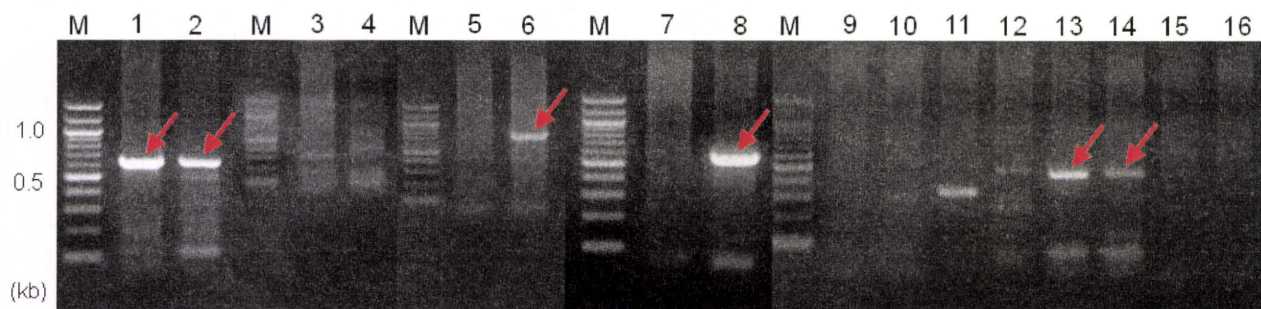


Fig. 3. PCR amplification of *Rickettsia*-related bacteria from salivary glands of ticks. Odd and even lanes show *Ixodes persulcatus* ticks T162 and T176, respectively. Lanes 1 and 2: *A. phagocytophilum* (human type) 16S rDNA (646bp). Lanes 3 and 4: *A. phagocytophilum* (deer type) 16S rDNA (645 bp). Lanes 5 and 6: *Candidatus N. mikurensis* 16S rDNA (733 bp). Lanes 7 and 8: *Candidatus N. mikurensis groEL* (554 bp). Lanes 9 and 10: *Ehrlichia* spp. p28 (300 bp). Lanes 11 and 12: Spotted fever group rickettsia *gltA* (581 bp). Lanes 13 and 14: *A. centrale* 16S rDNA (426 bp). Lanes 15 and 16: *A. bovis* 16S rDNA (551 bp). M: 100-bp DNA ladder size marker. Red arrows indicate specific amplification of respective genes.

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）

リケッチアを中心としたダニ媒介性細菌感染症の総合的対策に関する研究

分担研究報告書

伴侶動物、家畜および野生動物におけるダニ媒介性細菌感染症に関する研究

| | | | |
|-------|----------|---------------------|-------|
| 分担研究者 | 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 |
| | 佐鹿万里子 | 岐阜大学大学院連合獣医学研究科 | 大学院生 |
| | A YBANEZ | 岐阜大学大学院連合獣医学研究科 | 大学院生 |
| | 安藤秀二 | 国立感染症研究所 | 室長 |
| | 原田 誠也 | 熊本県保健環境科学研究所微生物科学部 | 部長 |
| | 松本 一俊 | 熊本県保健環境科学研究所微生物科学部 | 主任研究員 |

研究要旨：我が国の医学領域で問題となっているダニ媒介性細菌感染症、とくにリケッチア目細菌について、伴侶動物、家畜および野生動物の感染状況を調査した。1. 伴侶動物のダニ媒介性細菌感染状況調査：(1) 全国の猫 1764 頭中 2 頭から *A. bovis* 遺伝子断片が検出され、本病原体が猫に感染することが示唆された。なお、陽性猫 2 頭はいずれも猫免疫不全ウイルス感染猫であり、宿主の免疫不全状態と感染が関与しているものと考えられた。なお、紅斑熱群リケッチアは全頭陰性であり、猫は紅斑熱群リケッチアの保菌動物としての可能性は低いものと考えられた。(2) 北海道内で飼育される犬 77 頭中 1 頭から *Rickettsia felis* 近縁種遺伝子断片が検出され、犬が同病原体に感染することが明らかとなった。2. 家畜のダニ媒介性細菌感染状況調査：北海道日高地域に放牧される競走馬 87 頭について、紅斑熱群リケッチア、*A. phagocytophilum* および *A. bovis* の感染状況を調査したが、陽性は検出されなかった。3. 野生動物のリケッチア類感染状況調査：熊本県上天草地域のイノシシ 49 検体全てで日本紅斑熱リケッチアに対する抗体がみられたが、末梢血 PCR は全て陰性を示したことから、上天草地域のイノシシは日本紅斑熱リケッチアに高率に暴露されているものの、保菌動物となる可能性は低いと考えられた。ただし、イノシシ付着マダニおよび植生上のマダニからは日本紅斑熱リケッチア遺伝子断片が検出されており、イノシシは日本紅斑熱リケッチア保有マダニの運搬者となっていることが考えられた。4. 道東地方におけるマダニのダニ媒介性細菌保有状況調査：北海道鹿追町の林道において採取されたシュルツェマダニ成メスの 35%とヤマトマダニ成メス 9%から *R. helvetica* が検出された。シュルツェマダニ成メスの *R. helvetica* 保有率は 6 月上旬がピークであった。

A. 研究目的

近年、我が国では新規リケッチア性病原体として、紅斑熱群リケッチア、アナプラズマ属細菌(*Anaplasma* spp. *Ehrlichia* spp.)が次々と検出または分離されている。しかし、それらの感染症のベクター、保菌動物など疫学的状況については不明な点が多く、また獣医学領域における意義 - 家畜への病原性などが不明である。そこで、本研究では、我が国のリケッチアを中心としたダニ媒介性細菌感染症について、獣医学領域からアプローチし、伴侶動物、家畜および野生動物の疫学的役割を明らかにするとともに、伴侶動物や家畜における病原性を明らかにすることを目的としている。本年度は次の項目について研究を実施した。

1. 伴侶動物のダニ媒介性細菌感染症調査

(1) 猫の病原性リケッチアおよびアナプラズマ科細菌感染状況調査

猫にもマダニが寄生し、人の生活環境内へマダニを持ち込むリスクがあるものの、猫についてはリケッチア類感染状況調査が調べられていない。そこで、本年度は我が国の猫における病原性リケッチアおよびアナプラズマ科細菌感染状況を明らかにすることを目的とした。

(2) 北海道の犬の紅斑熱群リケッチア感染状況調査

北海道にも病原性を有する紅斑熱群リケッチア *Rickettsia helvetica* が生息することが明らかとなっている。そこで本年度の研究では北海道の犬における紅斑熱群リケッチア感

染状況を明らかにすることを目的とした。

2. 家畜のダニ媒介性細菌感染状況調査

(1) 牛の病原性リケッチアおよびアナプラズマ科細菌感染状況調査

これまでの調査により北海道の牛から *A. phagocytophilum* および *A. bovis* の遺伝子断片が検出されたが、これらの牛に対する病原性、感染状況等は不明である。本年度の研究では北海道で飼養されている健康牛および病牛の *A. phagocytophilum* および *A. bovis* の感染状況および病原性を明らかにすることを目的とした。

(2) 馬の病原性リケッチアおよびアナプラズマ科細菌感染状況調査

北海道において放牧される馬についてリケッチア性病原体の感染状況を明らかにすることを目的とした。

3. 野生動物のダニ媒介性細菌感染状況調査

近年日本紅斑熱患者が急増している熊本県上天草地方において、日本紅斑熱病原体の保菌動物と疑われているイノシシの疫学的役割を解明することを目的とした。

4. 道東地方におけるマダニのダニ媒介性細菌保有状況調査

北海道にも病原性を有する紅斑熱群リケッチアアナプラズマ科病原体が生息することが明らかとなっている。今年度は道東において、マダニの感染状況を調査し、人への感染リスクを評価することを目的とした。

B. 研究方法

1. 伴侶動物のダニ媒介性細菌感染状況調査

(1) 全国の猫の調査

全国の動物病院の協力を得て採取した猫1764頭の末梢血からDNAを抽出し、紅斑熱群リケッチアおよび *Anaplasma* 科細菌感染状況をリアルタイムPCRによりスクリーニングした。陽性を示すものについては、さらにより特異性の高い nested PCR を実施し、陽性検体の遺伝子解析から感染種を同定した。

(2) 北海道の犬の調査

北海道内の動物病院の協力を得て採取した犬77頭の末梢血からDNAを抽出し、紅斑熱群リケッチア感染状況を属特異的 nested PCR にて調査した。陽性検体は遺伝子解析により感染種を解析した。また蛍光抗体法により紅斑熱群リケッチアに対する抗体を検出した。

2. 家畜のダニ媒介性細菌感染状況調査

(1) 牛の病原性リケッチアおよびアナプラズマ科細菌感染状況調査

北海道内で放牧される牛の血液を採取し、分子生物学的方法によりリケッチアおよびアナプラズマ科細菌感染状況を調査する予定であったが、口蹄疫発生により農場への立ち入りが制限され、材料採取が困難であった。

(2) 馬の病原性リケッチアおよびアナプラズマ科細菌感染状況調査

北海道日高地域において放牧される馬（サラブレッド種）87頭の末梢血からDNAを抽出し、紅斑熱群リケッチア属特異的 nested PCR、*A. phagocytophilum* 種特異的 nested PCR および *A. bovis* 種特異的 nested PCR によりそれぞれ

の病原体の感染状況を調査した。

3. 野生動物のダニ媒介性細菌感染状況調査

2009年10月～2010年9月に同地域で捕獲されたイノシシの血液49頭分、およびイノシシより回収されたマダニ388個体、また、2010年4月と8月に患者発生地周辺の畑で旗振法により採取されたマダニ197個体を材料とした。血液は血清と血餅に分離し、それぞれ *Rickettsia japonica* Aoki 株を抗原とした IFA および *Rickettsia* 属特異的 nested PCR に供した。マダニは同定後適宜114個体を選抜してDNA抽出を行い、nested PCR により *Rickettsia* 検出を行った。PCR 陽性検体は遺伝子解析または種特異的 PCR により感染種を同定した。

4. 道東地方におけるマダニのダニ媒介性細菌保有状況調査

調査地点は大雪山国立公園の麓、標高510mの鹿追町の林道で、2010年4月下旬～同年8月中旬まで2週間毎に旗振り法でマダニを採取した。一人125mを歩いてマダニを採取し、合計マダニ数を延500mでの採取数に換算して季節消長を検討した。マダニは固定同定後、成メスからDNAを抽出し、リケッチア属特異的 nested PCR により紅斑熱群リケッチアを検索した。陽性検体はPCR産物の遺伝子解析により種を同定した。

C. 研究結果

1. 伴侶動物のダニ媒介性細菌感染状況調査

(1) 全国の猫の調査

全国の猫1764頭の末梢血からDNAを収集し、*Anaplasma* 科細菌感染状況をリアルタイムPCRによりスクリーニングしたところ、196検体が陽性を示した。さらにより特異性の高いnested PCRを実施し、シーケンス解析を実施したところ、*Anaplasma bovis* 感染個体が2検体得られ、同病原体が猫にも感染することが示された。また、紅斑熱群リケッチア感染状況については、リアルタイムPCRスクリーニングで44検体が陽性を示したが、より特異性の高いnested PCRを実施では全検体が陰性であった。

(2) 北海道の犬の調査

北海道内で飼育される犬77頭について、紅斑熱群リケッチア感染状況をnested PCRを用いて調査したところ、1頭が陽性を示し、遺伝子解析の結果 *Rickettsia felis* 近縁であることが明らかとなった。これは我が国の犬の末梢血から紅斑熱リケッチア遺伝子断片が検出された初めての例である。なお、同77頭の紅斑熱群リケッチアに対する抗体保有状況をIFAにより調査したところ、6頭(7.8%)が40倍以上の抗体価を示した。

2. 家畜のダニ媒介性細菌感染状況調査

(1) 牛の調査

本年は宮崎県における牛の悪性家畜伝染病である口蹄疫発生の影響により、全国的に農場への立ち入りが制限され、牛の血液材料を採取することが困難であり、調査が実施できなかった。

(2) 馬の調査

北海道日高地域に放牧される競走馬87頭

について、紅斑熱群リケッチア属、*A. phagocytophilum* および *A. bovis* の感染状況をnested PCRにより検査したが、いずれも陰性を示した。

3. 野生動物のダニ媒介性細菌感染状況調査

イノシシ全個体で40~640倍以上の抗体価がみられたが、末梢血PCRは全て陰性を示した。イノシシからはヤマアラシチマダニ、タカサゴチマダニ、キチマダニ、タカサゴキラマダニの2属4種が回収され、PCRでは236検体中キチマダニ以外の3種10検体(4.2%)から *R. japonica* 遺伝子断片が検出された。旗振法ではフタトゲチマダニ、アカコッコマダニを加えた3属6種が採取された。PCRでは4月には87検体中タカサゴチマダニ1検体(1.1%)から、また8月には17検体中ヤマアラシチマダニ2検体(7.4%)から *R. japonica* 遺伝子断片が検出された。

(4) 道東地方におけるマダニのダニ媒介性細菌保有状況調査

当該調査地においてはシュルツェマダニが最優先種であり、次いでヤマトマダニ、ダグラスチマダニが採取された。マダニは雪どけ後5月上旬から活動を開始し、6月下旬までは気温上昇とともに活動を増加したが、7月以降は急速に活動が減少した。曇天による気温低下、雨天、夏の猛暑はマダニの活動減少要因と思われた。調査期間中シュルツェマダニ成メス計97検体中34検体(35%)とヤマトマダニ成メス82検体中7検体(9%)から *R. helvetica* が検出された。シュルツェマダ

二成メスの *R. helvetica* 保有率は6月上旬がピークであった。

D. 考察

1. 伴侶動物のダニ媒介性細菌感染状況調査

(1) 全国の猫の調査

全国の猫 1764 頭について調査したところ、2 頭から *A. bovis* 遺伝子断片が検出され、本病原体が猫にも感染することが示唆された。なお、陽性猫 2 頭はいずれも猫免疫不全ウイルス感染猫であり、宿主の免疫不全状態と感染が関与しているものと考えられた。なお、紅斑熱群リケッチアは全頭陰性であり、猫は紅斑熱群リケッチアの保菌動物としての可能性は低いものと考えられた。

(2) 北海道の犬の調査

北海道内で飼育される犬 77 頭について、紅斑熱群リケッチア感染状況を nested PCR を用いて調査したところ、1 頭が陽性を示し、遺伝子解析の結果 *Rickettsia felis* 近縁であることが明らかとなった。これは我が国の犬の末梢血から紅斑熱リケッチア遺伝子断片が検出された初めての例である。なお、同 77 頭の紅斑熱群リケッチアに対する抗体保有状況を IFA により調査したところ、6 頭 (7.8 %) が 40 倍以上の抗体価を示した。

2. 家畜のダニ媒介性細菌感染状況調査

(1) 牛の調査

前述のように今年度は調査ができなかった。

(2) 馬の調査

北海道日高地域に放牧される競走馬 87 頭について、紅斑熱群リケッチア、

A. phagocytophilum および *A. bovis* の感染状況を nested PCR により検査したが、いずれも陰性を示したことから、少なくとも末梢血にはこれら病原体が出現していないことが明らかとなった。今後抗体検査などを実施して病原体への暴露状況などを調査する必要があると思われた。

3. 野生動物のリケッチア類感染状況調査

イノシシ全個体で日本紅斑熱リケッチアに対する抗体がみられたが、末梢血 PCR は全て陰性を示したことから、上天草地域のイノシシは日本紅斑熱リケッチアに高率に暴露されているものの、保菌動物となる可能性は低いと考えられた。ただし、イノシシ付着マダニおよび植生上のマダニからは日本紅斑熱リケッチア遺伝子断片が検出されており、イノシシは日本紅斑熱リケッチア保有マダニの運搬者となっていることが考えられた。今後は他の野生動物の役割についても考慮する必要がある。

4. 道東地方におけるマダニのダニ媒介性細菌保有状況調査

シュルツェマダニ成メスの 35% とヤマトマダニ成メス 9 % から *R. helvetica* が検出された。シュルツェマダニ成メスの *R. helvetica* 保有率は6月上旬がピークであったが、その原因は不明であった。5~6月の同地域は山菜採りの人で賑わうが、その時期はマダニ寄生および紅斑熱群リケッチア感染のリスクが最も高い時期と重なるため、注意が必要と思われた。

E. 結論

1. 伴侶動物のダニ媒介性細菌感染状況調査

全国の猫1764頭中2頭から *A. bovis* 遺伝子断片が検出され、本病原体が猫に感染することが示唆された。なお、陽性猫2頭はいずれも猫免疫不全ウイルス感染猫であり、宿主の免疫不全状態と感染が関与しているものと考えられた。なお、紅斑熱群リケッチアは全頭陰性であり、猫は紅斑熱群リケッチアの保菌動物としての可能性は低いものと考えられた。また、北海道内で飼育される犬77頭中1頭から *Rickettsia felis* 近縁種遺伝子断片が検出され、犬が同病原体に感染することが明らかとなった。

2. 家畜のダニ媒介性細菌感染状況調査

北海道日高地域に放牧される競走馬87頭について、紅斑熱群リケッチア、*A. phagocytophilum* および *A. bovis* の感染状況を調査したが、陽性は検出されなかった。

3. 野生動物のリケッチア類感染状況調査

熊本県上天草地域のイノシシ49検体全てで日本紅斑熱リケッチアに対する抗体がみられたが、末梢血PCRは全て陰性を示したことから、上天草地域のイノシシは日本紅斑熱リケッチアに高率に暴露されているものの、保菌動物となる可能性は低いと考えられた。ただし、イノシシ付着マダニおよび植生上のマダニからは日本紅斑熱リケッチア遺伝子断片が検出されており、イノシシは日本紅斑熱リケッチア保有マダニの運搬者となっていることが考えられた。

4. 道東地方におけるマダニのダニ媒介性細菌保有状況調査

北海道鹿追町の林道において採取されたシユルツエマダニ成メスの35%とヤマトマダニ成メス9%から *R. helvetica* が検出された。シユルツエマダニ成メスの *R. helvetica* 保有率は6月上旬がピークであった。

F. 健康危険情報

とくになし

G. 研究発表 (2010年4月～2011年3月)

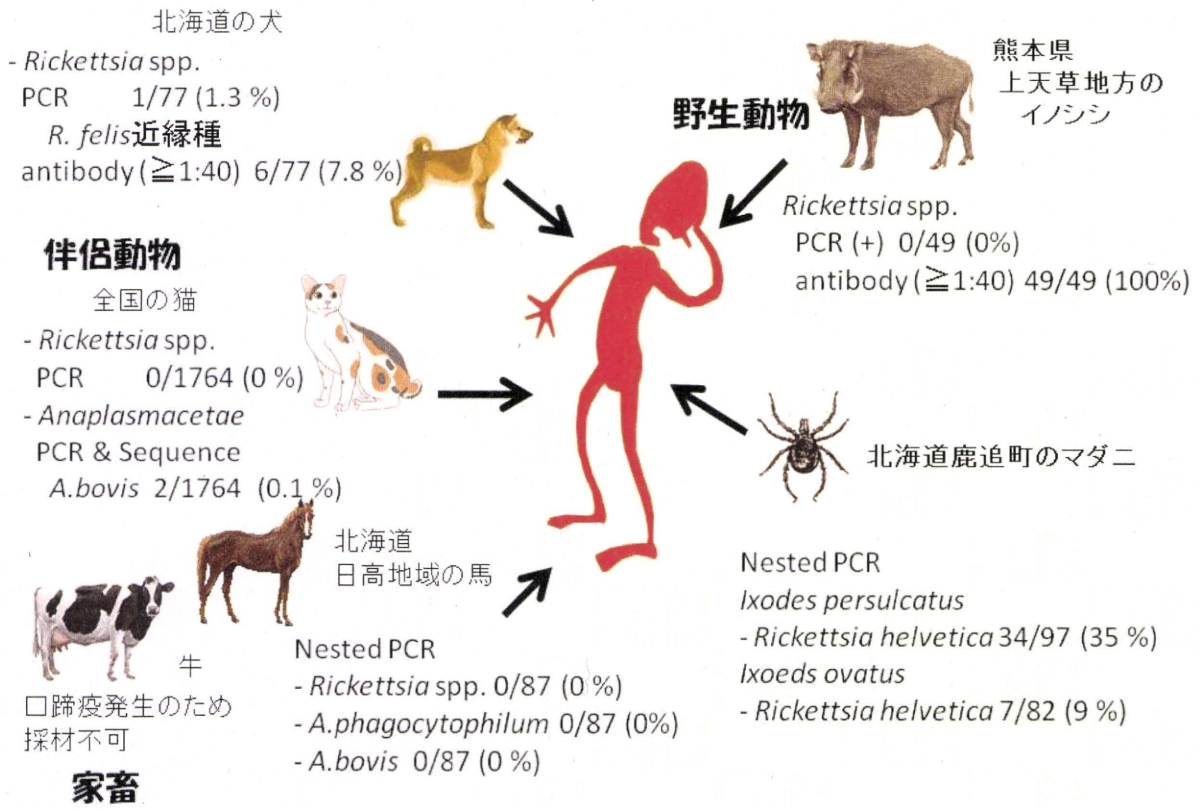
1. 論文発表

- 1) Sakamoto, L., Ichikawa, Y., Sakata, Y., Matsumoto, K., Inokuma, H. Detection of *Anaplasma bovis* DNA from peripheral blood of domestic dogs in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 63(5): 349-352 (2010)
- 2) Sashika, M., Abe, G., Matsumoto, K., Inokuma, H. Molecular survey of spotted fever group *Rickettsia* in feral raccoons (*Procyon lotor*) in Hokkaido, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 63(5): 353-354 (2010)
- 3) Inoue, K., Kabeya, H., Fujita, H., Makino, T., Asano, M., Inoue, S., Inokuma, H., Nogami, S., Maruyama, S. Serological survey of five zoonoses, scrub typhus, Japanese spotted fever, tularemia, Lyme disease, and Q fever in feral raccoons (*Procyon lotor*) in Japan. *Vector Born. Dis.* 11 (1): 15-19 (2011)
- 4) Inokuma, H., Matsuda, H., Sakamoto, L., Tagawa, M., Matsumoto, K. Evaluation of

- Rickettsia japonica* pathogenesis and reservoir potential in dogs by experimental inoculation and epidemiologic survey. *Clin. Vacc. Immunol.* 18 (1): 161-166 (2011)
- 5) Sashika, M., Abe, G., Matsumoto, K., Inokuma, H. Molecular survey of *Anaplasma* and *Ehrlichia* infection of feral Raccoons (*Procyon lotor*) in Hokkaido, Japan. *Vector Born. Dis.* (in press)
- 6) 猪熊 壽. エーリキア症. *Small Animal Medicine.* Vol.12 (1). 29-30 (2010)
- 7) 猪熊 壽、清野信隆、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. 北海道の放牧牛からの *Anaplasma phagocytophilum* および *Anaplasma bovis* DNA の検出. *日仏獣医学雑誌.* 19 (1-2): 4-6 (2010)
- ovis* および ‘*Candidatus Mycoplasma haemovis*’ の検出. 2010. 9. 17 第150回日本獣医学会. 帯広
- 4) 佐々木広美, 市川康明, 坂田義美, 遠藤泰之, 西垣一男, 松本高太郎, 猪熊 壽. 全国の猫におけるマダニ媒介性リケッチア感染の疫学調査. 日本内科学アカデミー2011年大会. 横浜
- 5) 松本高太郎, 竹内俊彦, 猪熊 壽. 北海道の飼育犬からの *Rickettsia felis* 近縁種の検出. 第151回日本獣医学会. 東京都府中市

2. 学会発表

- 1) 齋藤 亨, 佐々木広美, 竹内俊彦, 藤澤哲郎, 吉本 薫, 松本高太郎, 猪熊 壽. 日本紅斑熱患者が増加する熊本県上天草地域におけるイノシシの疫学的役割. 第150回日本獣医学会. 帯広
- 2) 松本高太郎, 佐々木広美, 山内健生, 猪熊 壽. エゾリス由来ノミからのリケッチア属最近の検出. 2010. 9. 17. 第150回日本獣医学会. 帯広
- 3) 竹内俊彦, 山本慎二, 今野泰博, 西原純一, 内田桐子, 猪熊 壽. 国内において重度貧血を呈した羊末梢血からの *Mycoplasma*



獣医学領域におけるダニ媒介性細菌感染症サーベイランス2010【要約】

各種野生動物を対象とするリケッチアに関する血清疫学調査

— 島根県美郷町におけるニホンイノシシのリケッチア抗体・DNA 検査, 北海道洞爺湖中島と静内におけるエゾシカの紅斑熱群リケッチア感染状況調査 —

| | | |
|-------|------|---------------------|
| 研究分担者 | 鈴木正嗣 | 岐阜大学応用生物科学部獣医学講座 |
| 研究協力者 | 本井祐太 | 岐阜大学大学院連合獣医学研究科博士課程 |
| | 猪熊 壽 | 帯広畜産大学畜産学部臨床獣医学研究部門 |
| | 安藤秀二 | 国立感染症研究所・ウイルス第一部 |
| | 川端寛樹 | 国立感染症研究所・細菌第一部 |
| | 高野 愛 | 国立感染症研究所・細菌第一部, |
| | 辻 知香 | 兵庫県森林動物研究センター, |
| | | 岐阜大学大学院連合獣医学研究科博士課程 |
| | 安田 亮 | 島根県美郷町役場産業振興課 |

研究要旨：日本紅斑熱発生と野生動物との関連性について明らかにすることを目的として調査を行った。島根県美郷町ではイノシシにおける紅斑熱群リケッチア感染状況調査を実施したところ、体表から採取したタカサゴキラマダニと咬着した皮膚部分から *Rickettsia tamurae* が検出された。また皮膚のみにおいて *Rickettsia felis* が検出された。紅斑熱群リケッチアに対する血清抗体価と年齢との関係を調査したところ、加齢とともに抗体価が上昇する傾向が見られた。北海道の洞爺湖中島と静内ではエゾシカの末梢血から DNA を抽出し、紅斑熱群リケッチア感染状況を調査したが陽性検体は認められなかった。

A. 研究目的

本研究では野生動物の分布や生息環境との関連性に注目した疫学調査を目指しており、本年度の研究は主に島根県美郷町におけるイノシシの紅斑熱群リケッチア感染状況調査について焦点を当てた。日本紅斑熱の非流行地である当地域を調査対象とした理由は、夏期に有害捕獲としてイノシシの生体捕獲が行なわれており、末梢血や血清、マダニなど 1 個体から多種類のサンプルを採集、解析することが可能なためである。これにより、これまで指摘されていた日本

紅斑熱の発生とイノシシの関連性について、個体レベルでリケッチアの動態を精査することが可能となる（同町における予備調査では、イノシシの体表に咬着していたタカサゴキラマダニから *R. tamurae* を確認している）。*R. tamurae* は 2009 年島根県においてヒトでの症例が確認されており、今後島根県における *R. tamurae* の浸淫状況調査の必要性が指摘される。また、同じく日本紅斑熱の発生との関連性が指摘されているニホンジカに関して、北海道の 2 地域について紅斑熱群リケッチアの保有状況も

調査した。エゾシカ（ニホンジカの一亜種）
個体群では北海道の各地で生息数の増加と
生息範囲の拡大が起こっており，調査地
の一つである洞爺湖中島は閉鎖系の高密度
個体群となっている。そのため紅斑熱群リ
ケッチアの浸淫に関して，ニホンジカ
の高密度化が進行した場合の影響を予測
するモデルとしての有用性が想定される
ため，今回調査対象に組み入れた。

B. 研究方法

1. 島根県美郷町のイノシシにおける紅斑熱群リケッチア感染状況調査

(1) 予備調査

2009年12月22日から2010年1月27日にかけて島根県美郷町で捕獲されたイノシシ 24 検体の体表から採集したマダニについて形態学的検索後に DNA の抽出を行い，マダニミトコンドリア DNA の 16SrRNA 遺伝子領域の配列の直接シーケンスにより種を特定した。続いて紅斑熱群リケッチアを検出するための nested PCR（17kDa：1 段階目 R1/R2，2 段階目 Rr17.61p/492n，*gltA*：1 段階目 RpCS.877p/1273r，2 段階目 RpCS.896f/1258n）により，その保有状況を明らかにした。

(2) 本調査

2010年7月23日から2010年8月26日にかけて島根県美郷町で捕獲されたイノシシ 65 検体について以下のサンプリングを行なった。イノシシ体表に咬着したマダニを刺し口周辺の皮膚ごと採取し，マダニが自然に遊離した後に，マダニおよびペアとなる皮膚を別々に保管した。マダニについては予備調査と同様の方法で種を特定し，

紅斑熱群リケッチア DNA の検出を試みた。皮膚についても DNA を抽出し，nested-PCR 法による紅斑熱群リケッチア DNA の検出を試みた。また末梢血と脾臓を採取し，マダニと同様に紅斑熱群リケッチア DNA の検出を試みた。血清については間接蛍光抗体法（IFA 法）による紅斑熱群リケッチアの血清疫学検査を実施した。抗原には *Rickettsia japonica* Aoki 株に感染した細胞を使用し，抗体価 40 倍以上を陽性とした。またイノシシの下顎を採取し，歯の萌出状況から齢査定を行った。さらに，同調査地にて 2010年8月27日～28日に旗振り法を用いて植生上からマダニを採集した。

2. 北海道のエゾシカにおける紅斑熱群リケッチア保有状況調査

2010年6月22日から11月5日にかけて洞爺湖中島にて学術捕獲されたエゾシカ 13 検体の末梢血と，2010年4月3日から10月31日にかけて静内にて捕殺されたエゾシカ 26 検体の末梢血から DNA を抽出し，前述と同様に紅斑熱群リケッチア DNA の検出を試みた。

C. 研究結果

1. 島根県のイノシシにおける紅斑熱群リケッチア感染状況調査

(1) 予備調査

島根県美郷町で冬期に捕獲されたイノシシ 24 検体の体表から採集したマダニ 332 個体はキチマダニとタカサゴキララマダニの 2 種類のみであり，キチマダニの方が多く見られた（表 1）。これらマダニについては紅斑熱群リケッチアの感染状況を PCR 検

査によって検索したところ、タカサゴキラマダニでは 27 検体中 8 検体 (30%) が陽性を示し、遺伝子解析の結果 *R. tamurae* と相同性の高い遺伝子が検出された。キチマダニについては現在解析中であり、解析分については 17 検体中 1 検体 (5.8%) が陽性を示し、遺伝子解析の結果 *Rickettsia* sp. Hj126 と相同性の高い遺伝子が検出された。

(2) 本調査

島根県美郷町で夏期に捕獲されたイノシシ 65 検体の体表から採集したマダニ 151 個体は冬期と同様にキチマダニとタカサゴキラマダニの 2 種類のみであった(表 2)。

紅斑熱群リケッチアの感染状況を PCR 検査によって検索したところ、キチマダニからは 72 検体中 6 検体 (8.3%) が陽性を示し、遺伝子解析の結果 *Rickettsia* sp. Hj126 および *R. tamurae* と相同性の高い遺伝子がそれぞれ 2 検体と 4 検体検出された。キチマダニが咬着していたイノシシの皮膚では 72 検体の全てで陰性であった。

またタカサゴキラマダニでは 79 検体中 17 検体 (22%) が陽性を示し、遺伝子解析の結果 *R. tamurae* と相同性の高い遺伝子が検出された。またタカサゴキラマダニが咬着していた皮膚では 79 検体中 10 検体 (13%) が陽性を示し、遺伝子解析の結果 9 検体から *R. tamurae* と相同性の高い遺伝子が検出された。残り 1 検体の陽性検体において *R. felis* と相同性の高い遺伝子が検出されたが、このマダニに関しては陽性反応が認められなかった。陽性と判断された皮膚 10 検体に咬着していたマダニのうち、7 検体から紅斑熱群リケッチア DNA が検出された。野生動物の皮膚からの紅斑

熱群リケッチア DNA の検出は本邦初の報告である。

末梢血 63 検体および脾臓 63 検体について同様に紅斑熱群リケッチアの PCR 検査による検索を行なったところ、全て陰性であった。

また IFA 法により *R. japonica* に対する抗体価を測定したところ、80 倍 6 検体、40 倍 7 検体、40 倍未満 46 検体であり、血清 59 検体中 13 検体 (22%) から抗リケッチア抗体が見出された。また抗体価をイノシシの年齢と照らし合わせた結果、加齢と共に抗体価が上昇する傾向が見られた(表 3)。植生上から得られたマダニ 59 検体 (♀3 検体、若虫 5 検体、幼虫 51 検体) は全てキチマダニであった。

2. 北海道のエゾシカにおける紅斑熱群リケッチア保有状況調査

洞爺湖中島のエゾシカ 13 検体と静内のエゾシカ 26 検体の末梢血について紅斑熱群リケッチアの PCR 検査による検索を行なったところ、全て陰性であった。

D. 考察

1. 島根県のイノシシにおける紅斑熱群リケッチア感染状況調査

(1) 予備調査

島根県美郷町において冬期のイノシシの体表から採集したタカサゴキラマダニについて、27 検体中 8 検体 (30%) が陽性を示し、*R. tamurae* と高い相同性を示した。このことから同地域において *R. tamurae* が存在しており、これを媒介するタカサゴキラマダニの維持や増殖にイノシシが関与していることが示された。*R. tamurae* は

2009年島根県においてタカサゴキララマダニが咬着していた1症例から感染が確認されているが、ヒトに対する病原性に関しては不明な点が多い。今後島根県における*R. tamurae*の浸淫状況とイノシシとの関連性について調査する必要があると考えられる。

(2) 本調査

予備調査に加え、夏期に捕獲されたイノシシ65検体の体表から採集したタカサゴキララマダニにおいても*R. tamurae*が確認された。このことからイノシシによって*R. tamurae*を保有するタカサゴキララマダニが年間を通して維持されている可能性が示唆された。また刺し口部分の皮膚から紅斑熱リケッチアDNAの検出を試みたところ、79検体中10検体(13%)が陽性を示し、うち9検体は*R. tamurae*と高い相同性を示した。皮膚の陽性検体に対し、咬着したマダニにおいても陽性を示したものは10検体中7検体に達していた。このことから*R. tamurae*がイノシシの皮膚を通して体内に侵入している可能性が示唆された。

また皮膚の陽性検体のうち1検体から*R. felis*と相同性の高い遺伝子が検出された。咬着していたマダニにおいては陰性を示しており、またこれまでにタカサゴキララマダニからの検出例は報告されていない。そのため、イノシシの皮膚中に当該リケッチアもしくはその遺伝子断片が残留していたものと考えられる。イノシシの皮膚にはマダニ以外にも他の吸血性節足動物が見られたため、今後これらの外部寄生虫の病原性リケッチアの保有状況についても調査が必要と考えられる。イノシシ体表から採集したキチマダニ72検体中のうち4検体から

*R. tamurae*と相同性の高い遺伝子が検出された。*R. tamurae*はキチマダニからの検出例はなく、タカサゴキララマダニの特異的保有リケッチア種である。そのため、これらのキチマダニは何らかの原因で*R. tamurae*もしくはその遺伝子断片を体内に獲得した可能性が考えられる。

イノシシの体表には特定の部位(腹側の正中線付近や肛門周囲など)に高密度でマダニ類が咬着している。そのため、リケッチアが注入された局所の皮膚において、新たに咬着する他のマダニが直接リケッチアを獲得する可能性についても検討が必要と考えられる。

なおイノシシの末梢血63検体および脾臓63検体における紅斑熱群リケッチアのPCR検査結果は全て陰性であり、体内におけるリケッチアの増殖を示す証拠は得られなかった。

IFA法によるリケッチア抗体保有状況の調査において、抗体陽性率が流行地と比較して低い値を示した。これは流行地と非流行地での浸淫状況の違いがイノシシの抗体陽性率の違いにも現れる可能性を示している。抗体価の上昇は最大でも80倍までに留まったが、これに関しては抗原に対する交差性の違いなども考慮する必要がある。

また抗体価をイノシシの年齢と照らし合わせた結果、加齢と共に抗体価が上昇する傾向が見られた。サンプル集団の年齢構成は季節や捕獲方法の違いによっても変化する(箱わなでは幼獣が多く、銃猟では成獣が増える傾向がある)。そのため、地域間での陽性率の比較においては、それらに起因するバイアスについても考慮する必要があることが示された。