

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス研究事業）  
（分担）研究報告書

マダニの生態から考察する血液製剤を介するダニ媒介感染症の予防

研究分担者 沢辺 京子 国立感染症研究所・昆虫医科学部  
研究協力者 伊澤 晴彦 国立感染症研究所・昆虫医科学部

**研究要旨**

マダニ媒介感染症の予防には、マダニの生態や生理的な知見を得ることが重要であるが、野外における情報は限られている。主に大型の哺乳動物がマダニの重要な吸血源となるため、その移動は基本的には宿主である野生動物の移動範囲となり、比較的狭いと考えられるが、一方で、鳥類に咬着するマダニが海外から運ばれる可能性も指摘されている。本研究では渡り鳥の飛来地を調査地を選び、周辺環境に生息する植生マダニを採取しウイルス検出を行なった。また、SFTSウイルスを媒介すると推定されているフタトゲチマダニとキチマダニに注目し、その国内サーベイランスを行いウイルス分離を試みると同時に、鳥類を含めた吸血源動物種を特定し、これらのマダニの吸血履歴を明らかにすることを計画した。

本年度は、渡り鳥飛来地で採取したマダニからのウイルス検出、ならびに吸血源動物を推定するReverse Line Blot (RLB) 法の改良を行った。北陸地方の渡り鳥飛来地（石川県および富山県）周辺で採取されたキチマダニからKabuto Mountain virus (KAMV)、Tarumizu tick virus (TarTV)、未分類のPicorna-like virus、未分類のフレボウイルスを分離、あるいは次世代シーケンス (NGS) 解析によりウイルス遺伝子を検出した。次いで、国内に生息する鳥類10種（スズメ、ヤマドリ、キジバト、シジュウカラ、ツグミ、フクロウ、カケス、ヒガラ、ホオジロ、キジ）を検出するために種特異的なプローブを作製した。実際に植生マダニからの検出を試みたが、これまでに鳥類由来DNAは検出されていない。今後さらにプローブの配列、検出条件等を検討し、RLB法を改良する。

**A. 研究目的**

国内では、2012年秋に渡航歴のない山口県在住の女性が重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) により死亡したことが、翌2013年1月に国内1例目として報道された。その後も西日本を中心に患者が発生し、2017年までに西日本の23県から合計300名を超える患者(うち60名が死亡)が報告されている。一方で患者が発生していない東日本の地域からもウイルス抗

体陽性の野生動物が確認されており、また、複数のマダニ種から SFTS ウイルス遺伝子が検出されるなど、今後の流行拡大も危惧されている。国内での SFTS ウイルス媒介ダニの種類は明らかになっていないが、中国ではフタトゲチマダニとオウシマダニから遺伝子が検出され、韓国のフタトゲチマダニからはウイルスが分離されている。

一方、ダニ脳炎は1993年に北海道で初

めての感染例が報告され、その後の疫学調査で道南地域のヤマトマダニからウイルスが分離され、野鼠とイヌに抗体陽性の個体が確認された。しかし、抗体陽性の野鼠は北海道以外に本州からも見つかっており、ダニ脳炎が国内に常在していると推察された。近年では、2016年、2017年と感染例が相次いで報告された。

これらの病原体は、いずれもウイルス血症を起こすことから血液製剤を介して感染する可能性がある。近年、山歩きを趣味とする人が増え、また、シカやイノシシなどの野生動物の個体数も増加し、人がマダニに吸血される機会が増えている。幸い、これまでダニ媒介ウイルス感染症が輸血によって感染した報告はないが、これらの感染症は、重篤になることからリスクは無視できない。マダニの生態や吸血する対象動物の嗜好性を調査解析することによって献血者への注意喚起や問診等へ反映させ、感染リスクを減少させる努力が必要である。

ダニ媒介感染症は、病原体も媒介ダニも従来より国内に常在している場合が多い。国内には5属49種のマダニ類が様々な環境に広く生息しているが、大型の哺乳動物が重要な吸血源となるため、マダニの移動は基本的には宿主である野生動物の移動範囲となり、比較的狭いと考えられている。一方で、鳥類に咬着するマダニは海外から運ばれるなど、広域に移動する可能性も指摘されている。事実、中国のマダニから検出された Jingmen tick virus (JMTV) (Qin et al., 2014) は、長崎県でも見つかり (Fujita et al., 投稿準備中)、オルビウイルス属 Muko virus (MUV) は長崎県 (Hayasaka et al., 2016) と兵庫県 (Ejiri et al., 2015) から、コルチウイルス属 Tarumizu tick virus (TarTV) は、鹿児島県、鳥取県、福島県 (Fujita et

al., 2017) で、それぞれスポット的に定着していることが明らかになった。いずれのウイルスも、鳥類寄生性の高いとされるアカコッコマダニやキチマダニ等から分離・検出されている。

マダニ媒介性感染症の予防にはマダニの生態や生理的知見を得ることが重要であるが、自然界での情報はあまり得られていない。そこで本研究では、渡り鳥の飛来地周辺で植生マダニを採取しウイルス検出を行なった。また、SFTS ウイルスを媒介すると推定されるフタトゲチマダニとキチマダニに注目し、その国内サーベイランスを行いウイルス分離を試みると同時に、鳥類を加えた吸血源動物種を特定し、これらマダニの吸血履歴を明らかにすることを目的とした。

本年度は、渡り鳥飛来地で採取したダニからのウイルス検出、ならびに吸血源動物を推定する Reverse Line Blot (RLB) 法の改良を行った。

## B. 研究方法

### マダニの採取

石川県および富山県内の渡り鳥飛来地を選定し、合計6地点でマダニ相の調査を行った (輪島市、珠洲市、能登町、片野鴨池、津幡市および富山市)。調査は2017年10月に実施し、フランネル法 (約70 cm×100 cmの白い布で地面および植生の上を引きずる方法) により植生マダニを採取した。

### 吸血源動物の探索 (RLB法の改良)

これまで我々は、Reverse Line Blot (RLB) 法 (Pichon et al., 2003, Estrada-Pena et al., 2005) を本邦産マダニに応用し、微量な動物血液由来DNAの検出を可能にした。まず、マダニからDNAを抽出し、ミトコンドリアDNA内の12Sリボ

ソーム DNA 領域に設計した共通プライマーを用いて PCR で増幅、次いで各種動物種に特異的なプローブと反応させた。本法により、国内で一般的な野生動物の十数種類を同定できるようになったが、本研究においては、鳥類も対象にするために、新たに鳥類のプローブを試作した。

#### マダニからのウイルス分離・検出

採取されたマダニを採取地、種類に分けて乳剤を調整し、各種培養細胞に接種しウイルス分離を行った。分離されたウイルスについてはゲノム配列を解析し、ウイルス種や遺伝子型の解析、病原性等の性状解析を行った。また、マダニの破砕物あるいはウイルス分離作業後の細胞培養上清からウイルス核酸を選択的に回収し増幅後、次世代シーケンサー(NGS)により配列を解析した。次いでパイオインフォマティクス解析により保有ウイルスを網羅的に探索し、種を同定した。

#### C. 研究結果

石川県および富山県の渡り鳥飛来地周辺ではキチマダニが多数採取された。その他には、片野鴨池周辺でタカサゴチマダニの雄が1頭、輪島市でフタトゲチマダニの若虫1頭が採取されただけであった(表1)。それら植生マダニからウイルス分離を行ったところ、キチマダニからフレボウイルス属の Kabuto Mountain virus (KAMV)、TarTV (図1) 未分類の Picorna-like virus、同じく未分類のフレボウイルスが分離、あるいはNGS解析によりウイルス遺伝子が検出された。

これまでに、欧米の野生動物を検出するために報告されたプローブ(Scott et al., 2012, Harmon et al., 2015)を国内の各調査地周辺に生息すると予想される野生動物を検出するために、新たにプローブを設

計し、現在までに国内の十数種類の哺乳類動物種を検出できるようになった。そこで本研究では、山内健生「日本産鳥類とマダニ類との宿主-寄生関係に関する文献的検索」(2001)を参考に、鳥類10種(スズメ、ヤマドリ、キジバト、シジュウカラ、ツグミ、フクロウ、カケス、ヒガラ、ホオジロ、キジ)を検出する種特異的なプローブを試作した。予備的に実施した愛媛県下の調査で得られたマダニを供したが、これまでにそれらマダニから鳥類種は検出されてきていない。

#### D. 考察

一般的に、ダニ媒介感染症にはホットスポットと呼ばれる比較的狭い範囲での流行が特徴として挙げられる。一方で、渡り鳥を介して海外からマダニが侵入する可能性も指摘されており、その場合はかなりの距離を病原体が運ばれることになる。本研究で得られた KAMV(石川県)および TarTV(富山県)は、いずれもキチマダニから分離された。上述した山内の著書(2001)によると、キチマダニは36種類の鳥類への寄生例が報告されており、本邦産マダニの中で最も鳥類嗜好性が高い種類であると言える。これまでも KAMV は、兵庫県南部で捕獲されたイノシシに寄生していたマダニ、およびイノシシの生息地周辺の植生マダニからも分離され(Ejiri et al., 2018)。また、長崎県からの分離報告もある(Hayasaka et al., 2016)。他方 TarTV は、地理的な連続性がない地域(鹿児島県、鳥取県、福島県)の植生マダニからそれぞれ分離されている(Fujita et al., 2017)。これらの結果から、石川県に分布する KAMV は、イノシシの移動で運ばれたとも考えられるが、長崎県との地理的な関係や TarTV の国内分布の特徴、宿主であるキチマダニの鳥類寄

生性が高い特徴等を考慮すると、両ウイルスの分布に鳥類の移動が関係している可能性は高いと考えられる。

次に鳥類寄生例が多い種類はアカコッコマダニで、山内(2001)によると27種類の鳥類への寄生例が報告されている。本種マダニからはMUVが分離されており(Ejiri et al., 2015)、今後はMUVにも注目したい。

今回、10種類の鳥類から種特異的なプローブを作製し、RLB法の改良を試みたが、これまでのところ鳥類種は植生マダニからは検出されてきていない。供したマダニが実際に鳥類を吸血していなかった可能性はあるものの、鳥類プローブが機能しなかった可能性も否定できない。今後は、鳥類共通のプローブを用いた検出も視野に入れ、共通および種特異的プローブの作製、検出条件等を再度検討する。RLB法により、実際に鳥類を吸血した履歴を持つマダニ集団の存在を把握することができれば、鳥類とマダニの接点の両方を考慮し、マダニが保有する病原体の自然生態、ならびにその移動を解析することが可能になる。

本年度の調査は、10月に一回行っただけであり、採取されたマダニの種類も数も非常に少なかった。来年度も同じ地点で継続してマダニ相の調査を行う予定である。できるだけ多くのマダニ種と数を採取することに努める。

## E. 結論

1) 石川県および富山県の渡り鳥飛来地周辺で採取されたキチマダニからKAMV、TarTV、未分類のPicorna-like virus、未分類のフレボウイルスが分離、あるいはウイルス遺伝子が検出された。

2) 国内に生息する鳥類10種(スズメ、ヤマドリ、キジバト、シジュウカラ、ツグミ、フクロウ、カケス、ヒガラ、ホオジロ、キジ)を検出する種特異的なプローブを試作し、RLB法での検出を試みた。

## G. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

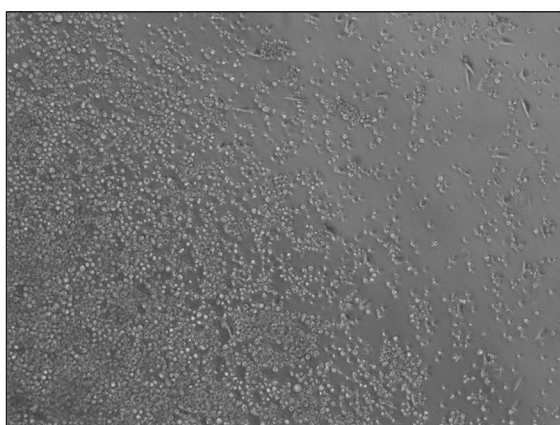
## H. 知的所有権の取得状況

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

表1 石川県および富山県の渡り鳥飛来地周辺のマダニ相

和名	学名		石川県					富山県	合計
			輪島市	珠洲市 狼煙町	能登町	片野鴨池	津播町	富山市 三熊	
キチマダニ	<i>H. flava</i>	N	17	0	0	42	9	11	79
			5	0	2	5	2	11	25
			13	1	2	8	2	5	31
タカサゴチマダニ	<i>H. formosensis</i>	L	0	0	0	0	0	0	0
			0	0	0	1	0	0	1
			0	0	0	0	0	0	0
フタトゲチマダニ	<i>H. longicornis</i>	N	1	0	0	0	0	0	1
			0	0	0	0	0	0	0
			0	0	0	0	0	0	0
合計			36	1	4	56	13	27	137

17TYM-T2  
BHK-21細胞 3<sup>rd</sup> (接種6日後)



Negative control

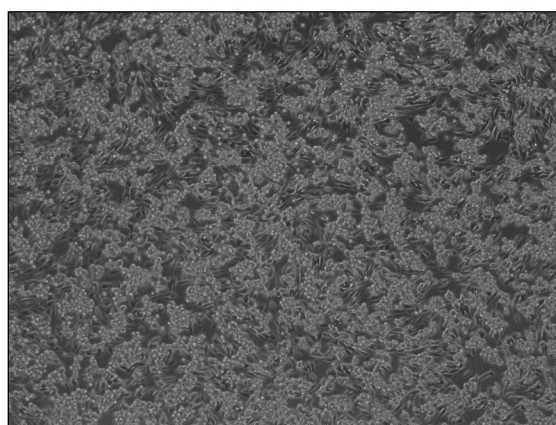


図1 2017年富山市内で採取したキチマダニ若虫(17TYM-T2)より分離された Tarumizu tick virus (TarTV) の BHK-21 細胞に見られた CPE (細胞変性効果)