

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	比嘉 由紀子	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
	林 利彦	国立感染症研究所・昆虫医科学部
	渡辺 護	国立感染症研究所・昆虫医科学部
	沢辺 京子	国立感染症研究所・昆虫医科学部
	小林 大介	国立感染症研究所・昆虫医科学部
	Astri Nur Faizah	東京大学

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ている。一方で、鳥類に寄生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ことから、本研究では渡り鳥の飛来地に生息する植生マダニからウイルス検出を行なうと同時に、それらマダニの吸血履歴を調査することで、マダニが保有する病原体の感染環を明らかにしようと考えた。

2020年は、前年度の結果を踏まえ、より効率的にウイルス検出を行うため、北陸2県（富山県・石川県）の渡り鳥飛来地の計3地点において、重点的に調査を行った。愛媛県の渡り鳥飛来地で採集された植生マダニも本研究のためのウイルス検出に供した。4月～翌3月（積雪時を除く）に実施したフランネル法により、富山県、石川県において合計で3属8種329個体の植生マダニを採集した（2020年4～10月の積雪のない前半期集計）。キチマダニ（186個体）、フタトゲチマダニ（107個体）が多く、この2種で全体（329個体）の89.1%を占めた。採集された植生マダニの成虫は、マダニの吸血源動物種の検出に用いた。ユニバーサルプローブにより吸血源動物の分類群をスクリーニングし、次いでNGS解析による動物種を同定する効率的な検出系の構築を試み、本検出系で多様な動物種の検出が可能であることが確認された。若虫はウイルス分離および次世代シーケンサー（NGS）解析に供した結果、Kabuto mountain virus（キチマダニ）やJingmen tick virus（タカサゴキララマダニ）が検出・分離された。また、愛媛県のマダニからは3種の新規ウイルスを含め、6種のマダニ媒介ウイルスが分離・検出された。

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、その後も西日本を中心に患者が発生している。2020年の患者数は75名であった。これまでの総患者数573名（2020年12月30日現在）のうち、西日本の府県から合計で558名の患者が報告されてお

り、圧倒的に西日本からの報告が多い。一方で、患者の発生報告が少ない東日本の地域からも SFTS ウイルス抗体陽性の野生動物が確認され、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 SFTS ウイルスを媒介するマダニの種類は特定できていないが、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。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、感染の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し、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、病原体も媒介マダニも従来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するが、主に大型の哺乳動物がマダニの吸血源となることが多く、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。これまでの日本産マダニからのマダニ媒介ウイルスの調査において、我々は複数のマダニ媒介ウイルスを分離・発見してきた。それらウイルスのうち、Muko virus (MUV) は長崎県 (Hayasaka et al., 2016) と兵庫県 (Ejiri et al., 2015) か

ら、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。

B. 研究方法

マダニの採集

石川および富山県内の渡り鳥飛来地の合計 3 地点 (輪島市門前町・猿山岬、輪島市舳倉島、および富山市古洞の森の 3 地点を選定) でマダニ相の調査を行った。2020 年は 4~翌 3 月の間 (積雪時を除く)、原則月に 1 回、フランネル法 (約 70 cmX100 cm の白い布で地面および植生の上を引きずる方法) により各地点 30 分間、3 (新型コロナウイルス感染症の発生状況に応じて 1~4) 名で植生マダニを採集した。

愛媛県の SFTS 浸淫地において、上記フランネル法により採集された植生マダニも以後の実験に供した。

マダニからのウイルス分離および遺伝子検出

採集されたマダニを種、発育ステージ、雌雄、採集地、採集日に分けて乳剤を調整し、主にシリアンハムスター腎臓由来 BHK-21 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

削除:

ーケンサー (NGS) により配列を解析した。次いで、バ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北陸2 県の渡り鳥飛来地から、合計で3 属 8 種 329 個体の植生マダニを採集した (2020 年 4~10 月の積雪のない前半期集計)。キチマダニ (56.5%)、フタトゲチマダニ (32.5%)、ヤマトマダニ (3.6%) の順に多く採集されたが (表 1)、特に前 2 種は、山内 (2001) によると、鳥類寄生例が多い種類のマダニであった。石川県舩倉島は日本で最も多くの鳥類が確認されており、渡り鳥飛来地として多くの種が往来していると考えられる。その舩倉島で 10 月に調査を行ったところ、4 名 3 時間の調査において、数こそ 21 個体で少ないもののキチマダニ (10 個体)、タカサゴチマダニ (8)、オオトゲチマダニ (2)、シェルツェマダニ (1) が採集された。特にタカサゴチマダニは南方系のマダニで石川県からこれまで記録がなく、渡り鳥によって持ち込まれた可能性が高いと考えられた。

採集された植生マダニ成虫を用いて吸血源動物種の検出系を構築した。ユニバーサルプローブにより吸血源動物の分類群をスクリーニングし、次いで NGS 解析による動物種を同定する効率的な検出系の構築を試み、本検出系で多様な動物種の検出が可能であることが確認された。一方で、環境中に大量に存在するコンタミのヒト遺伝子を検出してしまうことから、ヒトの吸血の確認は課題として残った。

これまでに採集した植生マダニをもちいて、それらが保有するウイルスの解析を行った結果、石川県で採集されたキチマ

ダニからフェヌイウイルス科の *Kabuto mountain virus* (KAMV) が新たに 2 株分離された (表 2)。本ウイルスは前年 (2018 年) に同一調査地点で採集されたキチマダニからも分離されていることから、調査地には KAMV の安定的なウイルス伝播に関する要因が存在するものと考えられた。また、中国でヒトへの病原性が確認されている *Jingmen tick virus* (JMTV) が愛媛県や石川県で採集されたタカサゴキララマダニから検出された (表 2、Kobayashi et al. 投稿準備中)。さらに愛媛県において採集されたマダニ検体からは、TarTV や Tofla virus、その他、複数のウイルス分類群に属する新規ウイルスが分離あるいは検出された (表 2)。

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。前年度までの本研究班の研究成果として、KAMV ならびにカプトヤマウイルス、TarTV タルミズダニウイルスはについて、北陸地方におけるこれらウイルスの分布を初めて報告し (Kobayashi et al., 2020)、これらのウイルスは日本各地に広範囲に分布していることを指摘した。KAMV および TarTV は、いずれもキチマダニから分離されたが、山内 (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キチマダニ、およびイノシシの生息地周辺の植生キチマダニからも分離さ

削除: 

れている (Ejiri et al., 2018)。その一方で 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が (Fujita et al., 2017)、本研究の成果によって、石川県および愛媛県からも、同一ウイルスが分離された。

石川県内のキチマダニから分離された KAMV は、イノシシの移動で運ばれたとも考えられるが、TarTV は、九州、四国、山陰、北陸、東北地方に至る国内各地に点在するという分布の特徴、および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、本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。

本研究で導入した NGS 解析により、マダニは上記ウイルスに加え、複数の新規および未分類のウイルスを保有していることが明らかになった。野外のマダニが多数のウイルスを保有していることが示唆されたものの、これまで使用してきた汎用性の高い培養細胞では、一部のウイルスについては分離されなかった。この事実は、これまでのウイルス分離を中心としたマダニ媒介ウイルスのサーベイランス手法では、把握しきれない病原ウイルスが存在する可能性を示しているものと考えられる。それゆえ、NGS 解析を利用したマダニ媒介性ウイルスのサーベイランスは、本邦のマダニ媒介ウイルスの流行実態の解明に大きく貢献するものと思われる。

E. 結論

1) 富山県、石川県の渡り鳥飛来地の計 3 地点でマダニ相の調査を行い、種構成を把握した。

2) マダニの吸血源動物の検出系を構築した。

3) 採集された植生マダニをウイルス分離および NGS 解析に供した結果、KAMV ならびに TarTV 以外に、新規ウイルスを含め 5 種のマダニ媒介ウイルスが分離・検出された。

4) マダニは多様なウイルスを保有しており、国内の広範な地域に同一ウイルスが点在することが明らかになった。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Kobayashi D, Faizah AN, Amoa-Bosompem M, Watanabe M, Mackawa Y, Hayashi T, Higa Y, Sawabe K, and Isawa H. Analysis of Trypanosoma sequences from *Haemaphysalis flava* (Acari: Ixodidae) and *Tabanus rufidens* (Diptera: Tabanidae) collected in Ishikawa, Japan. *Medical Entomology and Zoology*, 71: 225-243. 2020.

- Kobayashi, D., Watanabe, M., Faizah, A. N., Amoa-Bosompem, M., Higa, Y., Tsuda, Y., Sawabe, K., and Isawa, H. Discovery of a novel flavivirus (Flaviviridae) from the horse fly, *Tabanus rufidens* (Diptera: Tabanidae): The possible coevolutionary relationships between the classical insect-specific flaviviruses and host dipteran insects. *Journal of Medical Entomology*, 58: 880-890. 2021

2. 学会発表

- SFTS 感染ネコの周辺環境におけるマダニ相および SFTS ウイルス調査, 木村俊也, 鍼田龍星, 南博文, 小林大介, 伊澤晴彦, 前川芳秀, 比嘉由紀子, 林利彦, 葛西真治, 沢辺京子, 第 71 回日本衛生動物学会大会, 2020/4/17-19, 東京, 口頭 (みなし開催).

- 吸血性節足動物の保有する多種多様なウイルスの世界, 小林大介, 第 71 回日本衛生動物学会大会シンポジウム, 2020/4/17-19, 東京, 口頭 (みなし開催).

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

種名	富山県古洞の森	石川県猿山岬	石川県舳倉島	合計
キチマダニ	83	93	10	186
フタトゲチマダニ	3	104		107
タカサゴキラマダニ	4			4
ヤマトマダニ	6	6		12
タカサゴチマダニ			8	8
ヤマアラシチマダニ	3	1		4
オオトゲチマダニ			2	2
シュルツェマダニ		2	1	3
チマダニ sp.	3			3
合計	102	206	21	329

表1 2020年に富山県および石川県で採集された植生マダニ

ウイルス名	ウイルス科・属	ヒト病原性	株名	検出・分離源マダニ種	採集地
Kabuto mountain virus	フェヌイウイルス科・ウウクウイルス属	不明	ISK49	キチマダニ	石川県
			ISK53	〃	〃
Tarumizu tick virus	レオウイルス科・コルチウイルス属	不明	IM-OI21	キチマダニ	愛媛県
Tofla virus	ナイロウイルス科・オルソナイロウイルス属	不明	IM-OI4	キチマダニ	愛媛県
			IM-OI31	タカサゴチマダニ	〃
			IM-OI36	〃	〃
			IM-OI61	〃	〃
			IM-OI89	〃	〃
Jingmen tick virus	未分類	有	19EH-IM24	タカサゴキラマダニ	愛媛県
			IM-OI2	〃	〃
			IM-OI96	〃	〃
			IM-OI108	〃	〃
			IM-OI119	〃	〃
			ISK55	〃	石川県
新規Uukuvirus	フェヌイウイルス科・ウウクウイルス属	不明	IM-OI100	タカサゴチマダニ	愛媛県
新規Jingmenvirus	未分類	可能性有*	IM-OI32	タカサゴチマダニ	愛媛県
			IM-OI36	〃	〃
			IM-OI60	〃	〃
			IM-OI70	〃	〃
			IM-OI110	〃	〃
新規Quarantavirus	オルソミクソウイルス科	不明	IM-OI114	ヤマアラシチマダニ	愛媛県
			IM-OI115	〃	〃
			IM-OI125	〃	〃

表2 2020年の解析によってマダニから分離・検出されたマダニ媒介ウイルスの一覧

削除: <オブジェクト>