

令和4年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
「野生鳥獣由来食肉の食中毒発生防止と衛生管理ガイドラインの改良に資する研究」
分担研究報告書

野生動物のkokshera科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌の保有状況に関する研究

分担研究者 鈴木康規（北里大学獣医学部）
研究協力者 安藤匡子（鹿児島大学共同獣医学部）

研究要旨 kokshera科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌は、全身感染を起こす人獣共通感染症の起因病原体である。マダニがベクターとなる感染症も含まれる。野生動物をジビエに利用する際に、処理・加工に携わる人が動物に吸着しているマダニや内臓および血液に接触することは避けられない。人への感染対策を考えるために、野生動物におけるこれら細菌の保有状況を調査した。今回の研究では、内臓（脾臓）50サンプル、血液16サンプル、マダニ125サンプルを用いて、遺伝子検出と配列解析を行った。アナプラズマ科細菌がヤクシカから高率に検出されたが、マダニからは検出されなかった。マダニからはマダニ共生菌と考えられるリケッチア科およびkokshera科細菌が検出された。アナグマからは、マダニ共生菌が血液からのみ検出され、脾臓からは検出されず、病原性のないリケッチアが一時的に血液中に存在する可能性が示された。ニホンザルからは特定できる細菌は検出されなかった。kokshera科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌には多くの菌種が存在し、病原性が不明なものも多いため、保有状況調査の継続が必要である。野生動物の取り扱いでは、通常の生活では存在しない病原体に暴露される可能性があり、基本的な感染防御対策が重要である。

A. 研究目的

野生鳥獣を食肉利用するためには、狩猟・運搬・処理・解体等の工程があり、野生鳥獣の血液や外部寄生虫（特にマダニ）を介する人獣共通感染症の病原体に暴露される可能性がある。感染防止対策のためには病原体の存在を把握する必要がある。そこで、Q熱を起こすkokshera科、日本紅斑熱やつつが虫病を起こすリケッチア科、アナプラズマ症を起こすアナプラズマ科細菌の保有状況を調査する。これらの細菌はマダニが保有する場合もあるため、捕獲した野生動物個体に寄生していたマダニ、野生動物の捕獲地域の植生から採集したマダニも調査した。

koksheraは宿主域が広く、海外では野生動物からの検出も報告されている。国内の野生動物における保有調査は古く、新しい情報が必要である。リケッチアは、日本紅斑熱患者の報告数の増加がシカやイノシシの生息域・個体数増加に関連するという地域が報告されており、注意が必要である。アナプラズマは、国内に様々な種が存在することは確認されているが、人や

動物への病原性など明らかではないことが多い。

本年度は、屋久島のヤクシカと鹿児島県のニホンザルを主な調査対象として研究を行った。

B. 研究方法

1) 野生動物の脾臓および血液

鹿児島県において狩猟または有害鳥獣として捕獲された野生動物（シカ、ニホンザル、アナグマ）から採集した。シカはヤクニク屋（鹿児島県屋久島町宮浦）、アナグマはいかくら阿久根（鹿児島県阿久根市）にて食用に解体される時に、脾臓および血液を採材した。ニホンザルは研究協力者である南日本野生動物保護管理センター・浅井隆之獣医師が捕獲した際に採材した。脾臓は50サンプル（シカ19、ニホンザル30、アナグマ1）、血液は16サンプル（シカ9、アナグマ8）採集できた。

2) マダニ

マダニは、ヤクニク屋に搬入されたシカに吸着／付着していた個体を採集した。また、屋久島においてシカの生息行動範囲内（世界遺産登録地、国立公園地域、原生自然環境保全地域を除く）で旗振り法にて植生上のマダニを採集した。マダニ種は形態学的に同定した。125 サンプル（動物由来 81、植生 41）採集できた。マダニの種およびステージを表 1 に示す。

3) DNA 抽出

脾臓は SPG 液にて乳剤を作成し、その一部から DNA を抽出した。脾臓乳剤と血液は High pure PCR template kit (Roche) を用いた。マダニは外皮を消毒後に破砕し、アルカリ法にて抽出した。

4) コクシエラ科、リケッチア科、アナプラズマ科細菌の遺伝子検出

コクシエラは、*com1* および 16S rRNA 遺伝子をターゲットにした。リケッチアは、リケッチア科リケッチア属 *glta* および 17kDa 外膜タンパク質遺伝子を、リケッチア科オリエンチア属は 47kDa 外膜タンパク質遺伝子をターゲットにした。アナプラズマは、*groEL* および 16S rRNA 遺伝子をターゲットにした。全て既報の PCR プライマーを用いた（表 2）。

5) 塩基配列解析

得られた増幅産物は精製し、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。NCBI の web ツールにより blast 検索を行った。MEGA X を用いて Neighbor-joining 法で系統樹解析を行った。

C. 研究結果

1) 野生動物およびマダニにおける細菌遺伝子保有状況

動物からアナプラズマ科細菌遺伝子が検出され、特にヤクシカ（脾臓 89.5%、血液 77.8%）とアナグマ（脾臓 100%、血液 50.0%）において高率であった（表 3）。リケッチア科細菌はアナグマ（血液 25.0%）、コクシエラ科細菌はニホンザル（血液 33.3%）であった。

マダニからは、リケッチア科リケッチア属細菌（7.2%）とコクシエラ科細菌（8.8%）が検出されたが、アナプラズマ科は検出されなかった。

オリエンチア属細菌はいずれのサンプルからも検出されなかった。

2) 野生動物が保有する細菌遺伝子の塩基配列決定および解析

増幅された PCR 産物はダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。得られた配列を blast 検索し、最も相同性の高い配列を表に示した（表 4～7）。ニホンザルから検出したコクシエラ科細菌 *com1* 遺伝子のように、PCR 産物の中には増幅量が少ないために塩基配列が決定できないものもあった。

3) コクシエラ科細菌遺伝子

コクシエラ科細菌については、16S rRNA 遺伝子のみ塩基配列が決定された。Q 熱の診断に用いられる外膜タンパク質 *com1* 遺伝子は、いくつかのサンプルで増幅されたが、増幅量が少なく配列は決定できなかった。Blast 検索では、動物および植生から採集したマダニからの配列全てがマダニ共生菌として登録されている配列と相同性が高く、100%一致する配列もあった（表 4）。系統樹においても、人や動物に病原性を示す *Coxiella burnetii* とは異なることが明らかになった（図 1）。

4) リケッチア科細菌遺伝子

動物（アナグマ、血液）から検出されたリケッチア科細菌の配列は、マダニ共生菌と考えられる配列と 100%一致した（表 5）。マダニから検出された配列も、マダニ共生菌と 99%以上の相同性であった（表 6）。系統樹からは、紅斑熱群に属すると考えられた。しかし、紅斑熱群リケッチアにも病原性がないことが明らかな種が含まれているため、病原性リケッチアであるかは不明である（図 2）。

5) アナプラズマ科細菌遺伝子

今回の調査では、アナプラズマ科細菌が動物サンプルから最も多く検出された。相同性検索と系統樹から、国内外で動物が保有する種と近縁であることが明らかになった（表 7）。人に顆粒球アナプラズマ症を起こす *Anaplasma phagocytophilum* とは異なった。ヤクシカが高率に保有するアナプラズマは *Anaplasma capra* であると考えられる（図 3）。

6) アナプラズマ保有ヤクシカ個体の臓器における病理組織学的検索

ヤクシカ個体については以前の研究班において主要臓器の病理組織標本が作成されていた。そこで、研究協力者の岡林佐知博士に依頼し、アナプラズマ保有個体に共通する病変など再度確認した。アナプラズマ菌体やその感染を疑う所見は認められなかった。

D. 考察

本研究の対象細菌は、培養が困難であるために分離試験がほとんど行われていない細菌である。リケッチア症の診断には抗体検査が行われるが、コクシエラは感染の有無にかかわらず抗体保有者がいること、アナプラズマは菌種や株により抗原性に大きな差があることから普及していない。PCR 検査が一般に普及したため、現在では急性期の材料からの遺伝子検出が診断にも用いられている。野生動物やマダニにおけるこれら細菌遺伝子の検出状況だけに注目すると、これらの動物を扱う人々は大きな危険を伴って作業しているように考えられる。しかし、実際には病原性細菌の他に、病原性の低いあるいは無い近縁種が多く存在し、これらが同時に検出されることを理解する必要があることが示された。

ヤクシカが高率にアナプラズマを保有していることが明らかになった。これは他の地域のシカと比較しても高い結果である。過去に本研究室で同じ方法で調査した九州・四国地域のシカでは陽性率は 27.9% (12/43 頭) であり、他の報告と大きな差はなかった。また、ヤクシカが保有するアナプラズマは同一の遺伝子配列が多く、1 菌種または 1 株がヤクシカ (屋久島) において伝播していることが推測される。病理組織学的には共通する所見はなかったため、ヤクシカに対する病原性は低く、不顕性に感染が維持されているのかもしれない。しかし、この *Anaplasma capra* の病原性については明確に示されていないため、今後、人と動物の両方への影響を明らかにする必要がある。海外では家畜や野生動物だけでなく人からも検出されているが、病因となっているか不明瞭である。屋久島は世界遺産登録されており、ヤクシカは保護区域と人居住地を行き来していることから、環境保全と人への健康危害対策の両方から重要な課題である。

ニホンザルからは、対象細菌はほとんど検出されなかった。ニホンザルを採材した地域は、日本紅斑熱とつつが虫病の患者報告が多い地域であることから、興味深い結果である。

血液からマダニ共生菌と 100% 一致する配列が検出されたアナグマは、脾臓からは細菌遺伝子は検出されなかった。これらのアナグマ個体に吸着していたマダニを得られなかったため確認できなかったが、吸血中のマダニから注入されたマダニ共生菌が一時的に血液中に存在したと考えた。人においても診断目的の PCR で非病原性リケッチアが検出され、検査精度が問題視されたり、新興感染症と捉えられたりすることがある。人でマダニ刺咬と身体状態が悪いことが重なった場合に日和見感染のようにマダニ共生菌が一時的に体内に存在する状態になる可能性を示唆する結果である。

コクシエラ科細菌は病原性のある *C. burnetii* は検出されなかったが、技術的な問題ではないと考えている。今回用いた PCR は、*C. burnetii* の *com1* と 16S rRNA 遺伝子の両方が増幅できることを複数の株を用いて確認している。*com1* は検出されず 16S rRNA 遺伝子のみ検出されるという海外の野外調査もあることから、おそらく本研究と同様にマダニ共生 *Coxiella* spp. の存在が Q 熱の分布疫学を難しくしていると考えている。

E. 結論

ジビエとして利用される動物も含めて野生動物はリケッチア科、アナプラズマ科細菌を保有している。保有菌種の病原性については明らかではないが、内臓だけでなく血液にも存在することから、基本的な感染防御は必須である。

動物種、地域により保有率に差があることが明らかになったため、保有状況の調査は継続すべきである。特に動物の移動が制限されていたり、出入が著しい地域は注意が必要である。

Anaplasma capra は特に注視すべきである。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Asai T, Usui M, Sugiyama M, Andoh M. A survey of antimicrobial-resistant

Escherichia coli prevalence in wild mammals in Japan using antimicrobial-containing media. J Vet Med Sci. 84(12): 1645-1652, 2022

2. 学会発表

- 1) 後藤真優, 浅井隆之, 安藤匡子. 鹿児島県の野生動物におけるアナプラズマ症, リケッチア症, Q熱起因菌細菌の遺伝子保有状況. 第165回日本獣医学会学術集会. Web開催. 2022年9月6日
- 2) 浅井隆之, Kwon MyoungHyun, 明石尚美, 後藤真優, 安藤匡子. 鹿児島県の野生ニホンザルにおける薬剤耐性大腸菌の保有状況. 第165回日本獣医学会学術集会. Web開催. 2022年9月7日.
- 3) 浅井鉄夫, 臼井優, 杉山美千代, 安藤匡子. 抗菌剤含有培地を用いた野生哺乳動物における

薬剤耐性大腸菌の分布. 第24回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 神奈川県川崎市. 2022年10月14日

- 4) 後藤真優, 安藤匡子. 屋久島のマダニとそのコクシエラ, リケッチア, アナプラズマ保有状況. 第74回日本寄生虫学会南日本支部大会第71回日本衛生動物学会南日本支部大会合同大会. 福岡県北九州市. 2022年10月30日.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし

表 1. 採集したマダニの種とステージ

種	Male	Female	Nymph	Larva	Total
<i>I. ovatus</i>	0	3	0	0	3
<i>I. turdus</i>	0	0	0	1	1
<i>H. cornigera*</i>	0	1	0	0	1
<i>H. flava</i>	1	7	13	4	25
<i>H. formosensis</i>	4	0	2	0	6
<i>H. hystricis</i>	0	1	0	0	1
<i>H. kitaokai</i>	1	1	0	5	7
<i>H. megaspinosa</i>	1	1	1	5	8
<i>H. yeni</i>	15	12	12	33	72
Total	22	26	28	48	124*

* *H. cornigera* 雌が産卵した卵も 1 サンプルとして使用したため、サンプル総数は 125 である。

表 2. 調査した細菌の標的遺伝子および PCR プライマー

	標的遺伝子	プライマー	増幅産物サイズ	引用文献	
コクシエラ科	<i>com1</i>	com1	501 bp	J Clinical Microbiol, 36(1), 77-80, 1998	
		com2			
		com3	325 bp		
		com4			
16S rRNA		F1	1231-1416 bp	Frontier cell Infect Microbiol, 7:25, 2017	
		R2			
		F2	624-625 bp		
		R2			
リケッチア科 リケッチア属	<i>gltA</i>	Cs2d	1200 bp	EID, 10(5), 810-817, 2004	
		CsEndR			
		RpCS. 877p	381 bp	Microbiol Immunol, 47(11), 823-832, 2003	
		RpCS. 1258n			
	17kDa		R1	533-539 bp	感染症学雑誌, 70(6), 561-568, 1996
			R2		
47kDa		Rr17. 61p	434 bp	J Clinical Microbiol, 30(7), 1758-1762, 1992	
		Rr17. 492n			
		OtsuFP555	238 bp		J Clinical Microbiol, 607-614, 2011
		OtsuRP771			
56kDa		OtsuFP630	118 bp		
		OtsuRP747			
オリエンチア属		34	1000-1020 bp	J Clinical Microbiol, 31(6), 1637-1640, 1993	
		55			
		10	480-500 bp		
		11			
アナプラズマ科	<i>groEL</i>	gro607F	687 bp	Microbiol Immunolo, 51(4), 359-367, 2007	
		gro1294R			
	16S rRNA		gro677F		444 bp
			gro1121R		
16S rRNA		Ehr521	247 bp	J Infect Dis, 172(4), 1007-1012, 1995	
		Ehr747			

表 3. 野生動物およびマダニにおける細菌遺伝子保有状況

動物	サンプル数	遺伝子保有数 (保有率)				
		コクシエラ科	リケッチア属	オリエンチア属	アナプラズマ科	
ヤクシカ	脾臓	19	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	17 (89.5%)
	血液	9	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	7 (77.8%)
ニホンザル	脾臓	30	1 (33.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
アナグマ	脾臓	1	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (100.0%)
	血液	8	0 (0.0%)	2 (25.0%)	0 (0.0%)	4 (50.0%)
マダニ	全組織	125	11 (8.8%)	9 (7.2%)	ND	0 (0.0%)

表 4. 増幅されたコクシエラ科細菌遺伝子の相同性検索結果

サンプル番号	マダニ種	由来	PCR	塩基数(bp)	BLAST検索結果		Accession number	国	分離材料	採集年
					最も相同性の高い配列(相同率)					
MT1320	H.yeni	ヤクシカ789	Coxiella 16S rRNA	410	Coxiella endosymbiont of Rhipicephalus sp. clone 5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.3%) Coxiella endosymbiont of Haemaphysalis sp. clone 15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.3%)	MG682449.1 MG682448.1	China: Jiangx China: Jiangxii	tick tick	2017年 2017年	
MT1340	H. megaspinosa	ヤクシカ791	Coxiella 16S rRNA	369	Uncultured bacterium clone HLC26 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(100.0%)	JN866567.1	China	Haemaphysalis longicornis	2011年	
MT1341	H. flava	ヤクシカ792	Coxiella 16S rRNA	391	Coxiella sp. (n: Bacteria) isolate XinXian-HL9 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(100.0%) Uncultured Coxiella sp. clone XCP-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(100.0%)	MG806671.1 KC776319.1	China -	Haemaphysalis longicornis Haemaphysalis longicornis	2013年 2014年	
MT1347	H.yeni	ヤクシカ793	Coxiella 16S rRNA	406	Coxiella endosymbiont of Rhipicephalus sp. clone 5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.3%) Coxiella endosymbiont of Haemaphysalis sp. clone 15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.3%)	MG682449.1 MG682448.1	China: Jiangx China: Jiangxii	tick tick	2017年 2017年	
MT1348			Coxiella 16S rRNA	415	Coxiella endosymbiont of Rhipicephalus sp. clone 5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.3%) Coxiella endosymbiont of Haemaphysalis sp. clone 15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.3%)	MG682449.1 MG682448.1	China: Jiangx China: Jiangxii	tick tick	2017年 2017年	
MT1349	H. flava	ヤクシカ795	Coxiella 16S rRNA	395	Coxiella endosymbiont of Rhipicephalus sp. clone 5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.2%) Coxiella endosymbiont of Haemaphysalis sp. clone 15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.2%)	MG682449.1 MG682448.1	China: Jiangx China: Jiangxii	tick tick	2017年 2017年	
MT1501-L3	H. kitaokai	ヤクシカ833	Coxiella 16S rRNA	405	Ornithodoros moubata symbiont A gene for 16S rRNA, partial sequence(98.0%)	AB001521.1	-	Ornithodoros moubata	2008年	
MT1509	H.yeni	ヤクシカ836	Coxiella 16S rRNA	398	Coxiella endosymbiont of Rhipicephalus sp. clone 5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.2%) Coxiella endosymbiont of Haemaphysalis sp. clone 15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.2%)	MG682449.1 MG682448.1	China: Jiangx China: Jiangxii	tick tick	2017年 2017年	
MT1510-egg	H. cornigera	ヤクシカ865	Coxiella 16S rRNA	402	Coxiella endosymbiont of Haemaphysalis shimoga isolate TSD35 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(99.8%) Bacterium symbiont of Haemaphysalis shimoga clone HSKY-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(99.8%)	KC170760.1 HQ287535.1	Thailand	Haemaphysalis shimoga Haemaphysalis shimoga	2015年 2011年	
MT1512	H.yeni	ヤクシカ866	Coxiella 16S rRNA	348	Coxiella endosymbiont of Rhipicephalus sp. clone 5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.0%) Coxiella endosymbiont of Haemaphysalis sp. clone 15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.0%)	MG682449.1 MG682448.1	China: Jiangx China: Jiangxii	tick tick	2017年 2017年	
MT1466	H.yeni	屋久島・植生	Coxiella 16S rRNA	391	Coxiella endosymbiont of Rhipicephalus sp. clone 5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.2%) Coxiella endosymbiont of Haemaphysalis sp. clone 15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence(98.2%)	MG682449.1 MG682448.1	China: Jiangx China: Jiangxii	tick tick	2017年 2017年	

表 5. 動物サンプルから増幅されたリケッチア科細菌遺伝子の相同性検索結果

サンプル 番号	材料	PCR	塩基数 (bp)	BLAST 検索結果				
				最も相同性の高い配列 (相同率)	Accession number	国	分離材料	採集年
アナグマ 667	血液	Rickettsia 17kDa	296	Uncultured Rickettsia sp. Hm_2021 htrA gene for genus-specific 17kDa common antigen, partial cds (100.0%)	LC379444.1	Japan:Wakayama	<i>Haemaphysalis megaspinosa</i>	2015
				Uncultured Rickettsia sp. Hj_01 htrA gene for 17-kDa outer membrane antigen, partial cds (100.0%)	LC656410.1	Japan:Gifu	<i>Haemaphysalis japonica</i>	2021
アナグマ 670	血液	Rickettsia 17kDa	323	Uncultured Rickettsia sp. clone ARRL2016-159 17kDa antigen gene, partial cds (100.0%)	MN431839.1	Australia: WA	<i>Amblyomma albolimbatum</i>	2020
				Uncultured Rickettsia sp. clone ARRL2016-156 17kDa antigen gene, partial cds (100.0%)	MN431838.1	Australia: WA	<i>Amblyomma albolimbatum</i>	2020

表6. マダニから増幅されたリケッチア科細菌遺伝子の相同性検索結果

サンプル番号	マダニ種	由来	PCR	塩基数(bp)	BLAST検索結果		
					最も相同性の高い配列(相同率)	Accession number 国	
MT1220	H. formosensis	アナグマ704	Rickettsia gItA	364	Uncultured Rickettsia sp. clone ARRL2016-149 citrate synthase (gItA) gene, partial cds(99.7%) Rickettsia sp. MT55-R gItA gene for citrate synthase, partial cds(99.7%)	MN431834.1 LC456206.1	Australia: WA Japan:kagoshima, Kamou
			Rickettsia 17kDa	400	Uncultured Rickettsia sp. Hhy_2024 htrA gene for genus-specific 17kDa common antigen, partial cds (100.0%) Rickettsia sp. 315 17kDa gene, partial cds (100.0%)	LC379445.1 KT753267.1	Japan:Wakayama Laos
MT1231	H. flava	アナグマ705	Rickettsia gItA	361	Uncultured Rickettsia sp. clone ARRL2016-159 citrate synthase (gItA) gene, partial cds(99.7%) Uncultured Rickettsia sp. clone ARRL2016-156 citrate synthase (gItA) gene, partial cds(99.7%)	MN431836.1 MN431835.1	Australia: WA Australia: WA
			Rickettsia 17kDa	412	Uncultured Rickettsia sp. Hhy_2024 htrA gene for genus-specific 17kDa common antigen, partial cds (100.0%)	LC379445.1	Japan:Wakayama
MT1234	H. formosensis		Rickettsia gItA	359	Uncultured Rickettsia sp. clone ARRL2016-149 citrate synthase (gItA) gene, partial cds(99.7%) Rickettsia raoultii isolate N21 citrate synthase (gItA) gene, partial cds(99.7%)	MN431834.1 MN550895.1	Australia: WA China: Yunnan
			Rickettsia 17kDa	411	Uncultured Rickettsia sp. Hhy_2024 htrA gene for genus-specific 17kDa common antigen, partial cds (100.0%) Rickettsia sp. 315 17kDa gene, partial cds (100.0%)	LC379445.1 KT753267.1	Japan:Wakayama Laos
MT1235			Rickettsia gItA	348	Uncultured Rickettsia sp. clone ARRL2016-159 citrate synthase (gItA) gene, partial cds(99.7%) Uncultured Rickettsia sp. clone ARRL2016-156 citrate synthase (gItA) gene, partial cds(99.7%)	MN431836.1 MN431835.1	Australia: WA Australia: WA
			Rickettsia 17kDa	409	Uncultured Rickettsia sp. Hhy_2024 htrA gene for genus-specific 17kDa common antigen, partial cds (100.0%) Rickettsia sp. 315 17kDa gene, partial cds (100.0%)	LC379445.1 KT753267.1	Japan:Wakayama Laos
MT1340	H. megaspina	ヤクシカ791	Rickettsia 17kDa	407	Uncultured Rickettsia sp. Hm_2021 htrA gene for genus-specific 17kDa common antigen, partial cds (100.0%)	LC379444.1	Japan:Wakayama
MT1428	H. megaspina	屋久島・植生	Rickettsia gItA	442	Rickettsia sp. Mie201 isolate Tick-201-Mie-Hfla citrate synthase (gItA) gene, partial cds(99.8%) Candidatus Rickettsia principis from Haemaphysalis japonica douglasi 054 citrate-synthase (gItA) gene, partial cds(99.8%)	JQ697957.1 AY578114.1	Japan -
			Rickettsia 17kDa	482	Uncultured Rickettsia sp. Hm_2021 htrA gene for genus-specific 17kDa common antigen, partial cds (100.0%)	LC379444.1	Japan:Wakayama
MT1429	H. megaspina	屋久島・植生	Rickettsia gItA	357	Rickettsia sp. Mie201 isolate Tick-201-Mie-Hfla citrate synthase (gItA) gene, partial cds(99.7%) Candidatus Rickettsia principis from Haemaphysalis japonica douglasi 054 citrate-synthase (gItA) gene, partial cds(99.7%)	JQ697957.1 AY578114.1	Japan -
			Rickettsia 17kDa	425	Uncultured Rickettsia sp. Hm_2021 htrA gene for genus-specific 17kDa common antigen, partial cds (100.0%)	LC379444.1	Japan:Wakayama
MT1430	H. megaspina	屋久島・植生	Rickettsia gItA	360	Rickettsia sp. Mie201 isolate Tick-201-Mie-Hfla citrate synthase (gItA) gene, partial cds(99.7%) Candidatus Rickettsia principis from Haemaphysalis japonica douglasi 054 citrate-synthase (gItA) gene, partial cds(99.7%)	JQ697957.1 AY578114.1	Japan -
			Rickettsia 17kDa	419	Uncultured Rickettsia sp. Hm_2021 htrA gene for genus-specific 17kDa common antigen, partial cds (100.0%)	LC379444.1	Japan:Wakayama

表 7. 動物サンプルから増幅されたアナプラズマ科細菌遺伝子の相同性検索結果

サンプル番号	材料	PCR	塩基数(bp)	BLAST検索結果				
				最も相同性の高い配列 (相同率)	Accession number	国	分離材料	採集年
アナグマ796	脾臓	16S rRNA conventional PCR	249	Anaplasma phagocytophilum strain HB-M6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (100.0%)	KF569916.1	China	goat	2013年
		groEL	339	Anaplasma phagocytophilum isolate 21F-2 GroES(groES) and GroEL(groEL) genes, partial cds (96.1%)	MT018452.1	China	Marmota himalayana	2019年
ヤクシカ721	血液	16S rRNA nested PCR	793	Anaplasma capra KWD-35 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (100.0%) Anaplasma capra KWD-34 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (100.0%)	LC432126.1 LC432125.1	South Korea South Korea	Hydropotes inermis argyropus Hydropotes inermis argyropus	2019年 2019年
ヤクシカ822	脾臓	16S rRNA conventional PCR	249	Anaplasma capra KWD-35 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (99.6%) Anaplasma capra KWD-34 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (99.6%)	LC432126.1 LC432125.1	South Korea South Korea	Hydropotes inermis argyropus Hydropotes inermis argyropus	2019年 2019年
		groEL	344	Ehrlichia sp. TC251-2 GroEL (groEL) gene, partial cds (97.7%) Ehrlichia sp. TC249-2 GroEL (groEL) gene, partial cds (97.7%) Ehrlichia sp. TC248-16 GroEL (groEL) gene, partial cds (97.7%)	KJ410296.1 KJ410295.1 KJ410294.1	China: Xinjiang China: Xinjiang China: Xinjiang	tick tick tick	2014年 2014年 2014年
ヤクシカ823	脾臓	16S rRNA conventional PCR	249	Anaplasma phagocytophilum isolate C210 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (100.0%) Anaplasma phagocytophilum isolate C55 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (100.0%)	MF787270.1 MF787269.1	South Korea South Korea	Bos taurus Bos taurus	2017年 2017年
		groEL	353	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.4%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ824	脾臓	groEL	337	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.4%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ825	脾臓	groEL	333	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.7%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ828	脾臓	groEL	343	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.7%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ829	脾臓	groEL	353	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.4%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ830	脾臓	groEL	330	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.7%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ832	脾臓	groEL	276	Ehrlichia sp. TC251-2 GroEL (groEL) gene, partial cds (97.5%) Ehrlichia sp. TC249-2 GroEL (groEL) gene, partial cds (97.5%) Ehrlichia sp. TC248-16 GroEL (groEL) gene, partial cds (97.5%)	KJ410296.1 KJ410295.1 KJ410294.1	China: Xinjiang China: Xinjiang China: Xinjiang	tick tick tick	2014年 2014年 2014年
ヤクシカ833	脾臓	16S rRNA conventional PCR	249	Anaplasma capra KWD-35 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (99.6%) Anaplasma capra KWD-34 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (99.6%)	LC432126.1 LC432125.1	South Korea South Korea	Hydropotes inermis argyropus Hydropotes inermis argyropus	2019年 2019年
		groEL	325	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.7%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ834	血液	16S rRNA nested PCR	789	Anaplasma capra KWD-35 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (100.0%) Anaplasma capra KWD-34 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (100.0%)	LC432126.1 LC432125.1	South Korea South Korea	Hydropotes inermis argyropus Hydropotes inermis argyropus	2019年 2019年
		groEL	310	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.4%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ834	脾臓	groEL	333	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.7%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
		groEL	330	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.4%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
	血液	16S rRNA nested PCR	771	Anaplasma capra KWD-35 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (100.0%) Anaplasma capra KWD-34 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (100.0%)	LC432126.1 LC432125.1	South Korea South Korea	Hydropotes inermis argyropus Hydropotes inermis argyropus	2019年 2019年
		16S rRNA conventional PCR	227	Anaplasma capra KWD-35 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (100.0%)	LC432126.1	South Korea	Hydropotes inermis argyropus	2019年
ヤクシカ835	脾臓	groEL	333	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.7%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ836	脾臓	groEL	343	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.4%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
	血液	groEL	330	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.7%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ865	脾臓	groEL	345	Ehrlichia sp. H9 groEL gene for heat shock protein, partial cds (98.0%) Uncultured Ehrlichia sp. clone Daishan GroEL (groEL) gene, partial cds (98.0%)	LC385854.1 KT886408.1	Japan: Chiba China	unknown Haemaphysalis longicornis	2013年 2015年
ヤクシカ866	脾臓	groEL	333	Ehrlichia sp. MieH9N113 GroEL gene, partial cds (99.7%)	MT268167.1	Japan	Haemaphysalis flava	2021年
	血液	groEL	270	Uncultured Anaplasma sp. clone 499 heat shock operon gene, partial cds (97.0%)	JN588562.1	Japan: Hokkaido	Procyon lotor	2016年
ヤクシカ867	脾臓	groEL	333	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.7%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
ヤクシカ1094	脾臓	16S rRNA conventional PCR	249	Anaplasma phagocytophilum isolate C210 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (100.0%) Anaplasma phagocytophilum isolate C55 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (100.0%)	MF787270.1 MF787269.1	South Korea South Korea	Bos taurus Bos taurus	2017年 2017年
		groEL	335	Ehrlichia sp. NS101 GroEL gene for heat shock protein, partial cds (99.4%)	AB454077.1	Japan: Nara	unknown	2016年
	血液	16S rRNA nested PCR	737	Anaplasma capra KWD-35 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (100.0%) Anaplasma capra KWD-34 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence (100.0%)	LC432126.1 LC432125.1	South Korea South Korea	Hydropotes inermis argyropus Hydropotes inermis argyropus	2019年 2019年
		groEL	327	Uncultured Anaplasma sp. clone Zhengxiaocun-goat-47 heat shock protein GroEL (groEL) gene, partial cds (100.0%)	MG869412.1	China: Shaanxi	goat	2017年
ヤクシカ1123	脾臓	16S rRNA conventional PCR	236	Anaplasma phagocytophilum isolate C210 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (99.6%) Anaplasma phagocytophilum isolate C55 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (99.6%)	MF787270.1 MF787269.1	South Korea South Korea	Bos taurus Bos taurus	2017年 2017年
		groEL	253	Uncultured Anaplasma sp. clone 499 heat shock operon gene, partial cds (96.8%)	JN588562.1	Japan: Hokkaido	Procyon lotor	2016年

図 1. 本研究で検出したコクシエラ科16S rRNA遺伝子の系統樹

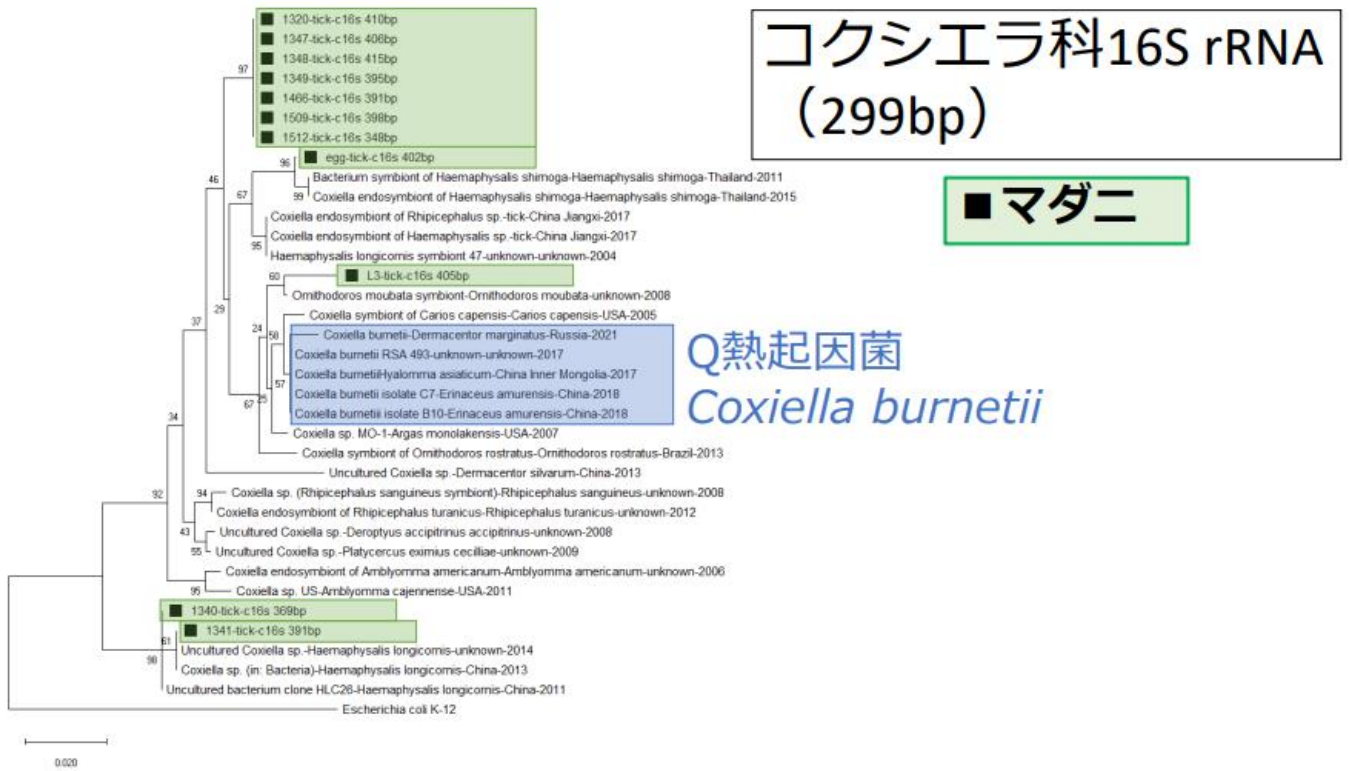


図2. 本研究で検出したリケッチア科17kDa遺伝子の系統樹

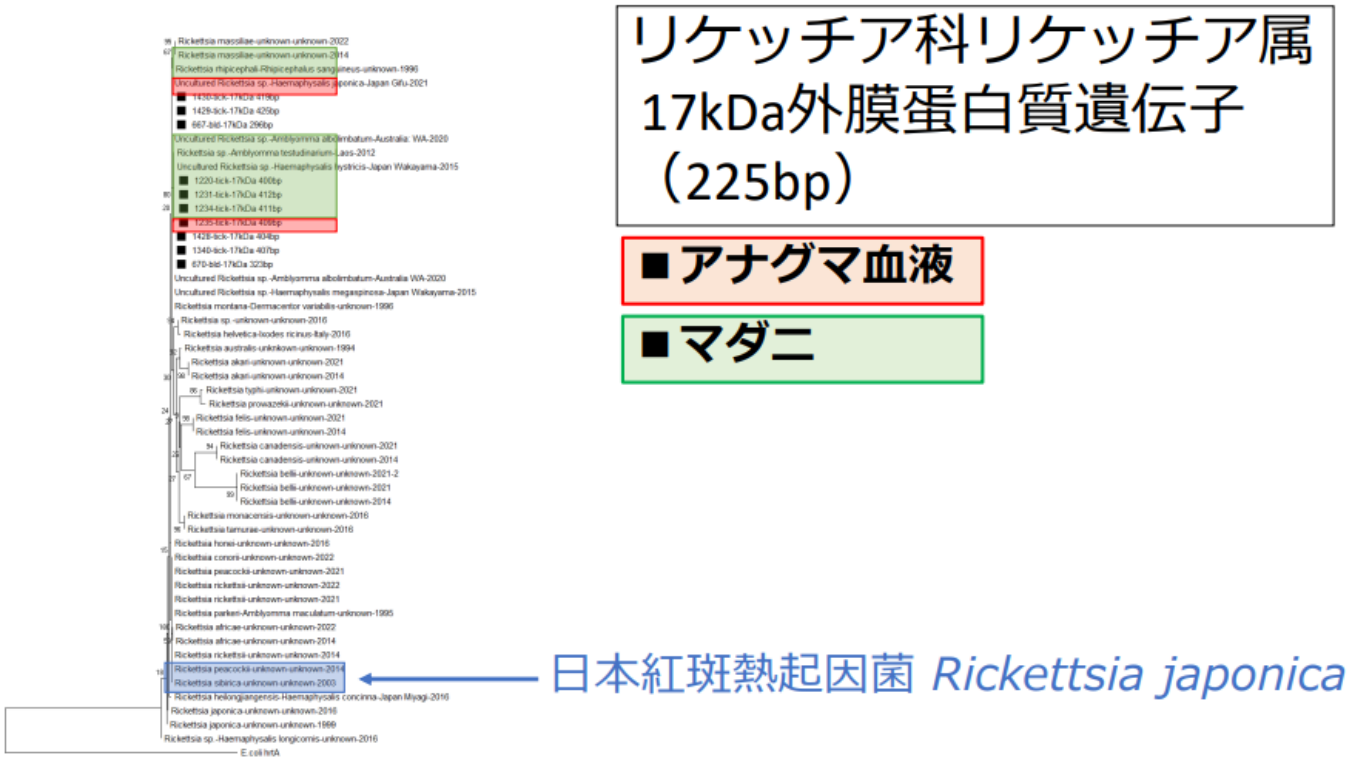


図3. 本研究で検出したアナプラズマ科groEL遺伝子の系統樹

