

資 料

岐阜県におけるマダニ媒介性感染症のリスク評価

西岡真弘, 山口智博, 浦本雄大, 丸山友美, 葛口剛, 亀山芳彦

要 旨

岐阜県内において SFTS や日本紅斑熱等のマダニ媒介感染症が発生するリスクを評価するため、マダニの分布状況及びマダニの病原体保有状況について調査した。県内各地でフランネル法にてマダニを採取したところ、県内の標高 1,000 m 以下のすべての採取地で SFTS, 日本紅斑熱等を媒介するフタトゲチマダニ等が採取され、標高 1,000 m 以上の地点においては主にライム病を媒介するシュルツェマダニが採取された。このことから、病原体保有動物、マダニが県内に入り込んだ場合に病原体が定着してしまう環境であることが示された。

採取したマダニから SFTS ウイルス遺伝子は検出されなかったが、紅斑熱群リケッチアや回帰熱ボレリア、アナプラズマ遺伝子が検出された。これら疾患の岐阜県内における報告例はこれまで無いが、今回調査したマダニの分布から病原体を保有するヒト嗜好性マダニがすでに県内で定着している可能性が示唆された。行政としてダニ媒介感染症への注意喚起を行うと共に、岐阜県内におけるマダニの病原体保有状況について引き続き調査を行う必要性が高いと考える。

キーワード：マダニ, SFTS, 日本紅斑熱, ボレリア属, アナプラズマ

1 はじめに

マダニが媒介する感染症としては、従来から日本紅斑熱やライム病が知られていたが、近年、重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) や新興回帰熱など新たな感染症も問題となっている。このマダニ媒介性感染症を引き起こす病原体はリケッチアやスピロヘータ、ウイルス、寄生虫等の多岐に渡り、それぞれの疾患ごとに有力媒介種となるマダニが異なることが知られ、更には地域性があることも知られている¹⁾。

令和4年10月現在、推定感染地域が岐阜県内とされる日本紅斑熱、ライム病が報告されているものの、SFTS や回帰熱等のマダニ媒介性感染症の岐阜県内における報告例は無い^{1,2)}。一方で、岐阜県隣接県においてはそれらマダニ媒介性感染症の患者が報告されており、SFTS や日本紅斑熱については患者報告数が年々増加傾向にある^{2,3)}。このような状況下において、岐阜県内で令和3年11月に採材された患者検体より日本紅斑熱リケッチアの遺伝子が検出された。

岐阜県においては、平成26年度より動物由来感染症対策として実施している動物由来感染症病原体保有状況調査において、ペットや野生獣に付着していたマダニの SFTS ウイルス及び紅斑熱群リケッチア遺伝子の検出等を行っている。平成26年度には岐阜県内で飼

養されているイヌ及びネコの付着ダニから紅斑熱群リケッチア遺伝子が、野生獣 (シカ) 及び付着していたマダニから SFTS ウイルス遺伝子が検出されたが、吸血ダニが対象であったためマダニの種同定が困難であった。また、ヒトを刺咬したダニではないことからヒトへの嗜好性を持つ種であるかも分からないため、これらの病原体保有マダニの存在のヒトに対するリスクは不明である⁴⁾。

隣接県における状況、及び動物由来のダニの検査状況から、いつマダニ媒介性感染症が岐阜県内において発生してもおかしくない状況にある。しかし、岐阜県内におけるマダニの分布状況及び病原体の保有状況の詳細は明らかになっておらず、リスク評価と対策を行うための情報が不足していた。今回、フランネル法を用いたダニの捕獲を行うことで県内におけるマダニ分布状況を把握し、更にそのマダニが保有する病原体検査を加えることで、岐阜県内におけるマダニ媒介性感染症のリスク評価を行ったので報告する。

2 材料と方法

2.1 マダニの分布調査

2.1.1 マダニの季節的消長

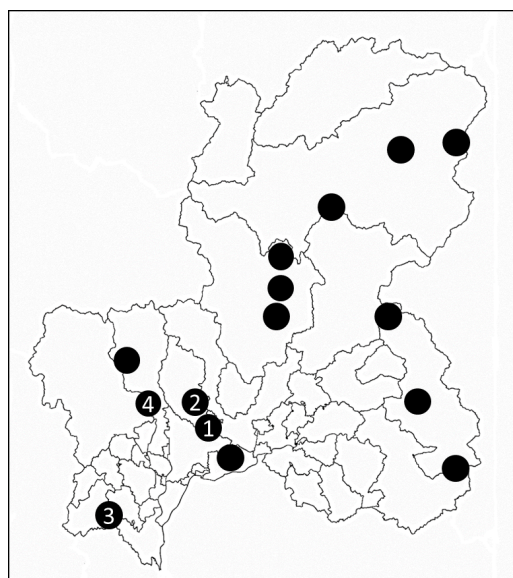
図1の採取地①、②を定点とし、2019年4月から

2020年3月まで2週おきに、2日以上連続して晴れた2日目以降の午後3時から午後5時頃に同じ場所、範囲で採取を行った。

どちらもトレッキング等で多数のヒトの出入りが見られる山道である。採取地①は標高約70mにあり、入口から採取終了地点の前半が日の当たる明るい道、後半が木々のアーチで両端が薄暗い藪になっている道である。採取地②は標高約100mにあり、入口から見て左側に川があり、右側の山に接する藪の中にところどころ獣道が走っている道である。

マダニの採取は、白いフランネル布を草むらや地面に接触させながら歩き、布に付着したマダニを集めるフランネル法を用いた⁵⁾。白布は1m×1mの不織布を使用し、10歩ごとに旗からマダニを回収した。採取したマダニは顕微鏡的手法により種及び発育段階を同定した⁶⁾。

図1 マダニ採取地



2.1.2 分布状況の調査

2017年から2021年の間に図1の点で示した採取地を対象に、各地点複数回、1回の採取につき30分程度、

1m×1mの白布を用いたフランネル法によりマダニを採取した。採取したマダニは顕微鏡的手法により種及び発育段階を同定した^{5,6)}。

2.2 マダニの病原体保有状況

2.2.1 マダニからのRNA, DNAの抽出

マダニは採取数日以内に同定を行い、マダニ種ごとに成虫は1匹、若虫は5匹、幼虫5匹を目安にプールして1検体とした。ただし、布上で塊クラスターとして採取された幼虫は卵塊から孵化した幼虫が集まったものと考え、塊クラスターを1検体とした。検体は遺伝子抽出を行うまで-80℃で保存した。

RNA抽出はISOGEN II (ニッポンジーン)を用い、「マダニからのSFTSウイルス検出マニュアル」のビーズビーダー使用時の方法に準拠して行った⁷⁾。また、RNA抽出工程内のp-Bromoanisole添加、遠心後の沈査を破棄せず回収し、下記の方法でDNA抽出を行った。沈査に10倍量(約500μL)のISOGENOME (ニッポンジーン)と3μLのエタ沈メイトを加えて激しく混合した後10分静置し、10,000 x g, 10分4℃で遠心した。上清を回収し、添加したISOGENOMEの半量の99.5%エタノールを加えて転倒混和し、5,000 x g, 5分室温で遠心した後上清を破棄した。沈査に75%エタノール1mLを加えて転倒混和し、1,000 x g, 1分室温で遠心した後上清を破棄する操作を2回行った。真空乾燥機を用いて沈査を完全に乾燥させ、20μLのDEPC水を添加して5分静置後に完全に溶解するまでピペッティングし、得られた溶液をDNA抽出物とした。

2.2.2 マダニからの病原体遺伝子検出

マダニから得られたRNA抽出物は、RNA-direct Realtime PCR Master Mix (TOYOBO)及び表1に示すプライマー・プローブを用いてSFTSウイルス遺伝子のreal-time RT-PCRを行った⁷⁾。

マダニから得られたDNA抽出物は、TaKaRa Ex-Taq (タカラバイオ)及び表1に示すプライマーを用いてリ

表1 遺伝子検査に使用したプライマー・プローブ

標的	プライマー・プローブ	配列
SFTSウイルス	S2-237s	GCA ACA AGA TCG TCA AGG CAT CAG G
	S2-400a	TGC TGC AGC ACA TGT CCA AGT GG
	S2-317MGB	5'- FAM - CTG GTT GAG AGG GCA - MGB - 3'
リケッチア属 17kDa蛋白遺伝子	1st R1	TCA ATT CAC AAC TTG CCA TT
	R2	TTT ACA AAA TTC TAA AAA CC
	2nd Rr17.61p	GCT CTT GCA ACT TCT ATG TT
ボレリア	Rr17.492n	CAT TGT TCG TCA GGT TGG CG
	1st BflaPAD	GAT CAR GCW CAA YAT AAC CAW ATG CA
	BflaPDU	AGA TTC AAG TCT GTT TTG GAA AGC
エーリキア・アナプラズマ	2nd BflaPBU	GCT GAA GAG CTT GGA ATG CAA CC
	BflaPCR	TGA TCA GTT ATC ATT CTA ATA GCA
	1st ge3a	CAC ATG CAA GTC GAA CGG ATT ATT C
	ge10r	TTC CGT TAA GAA GGA TCT AAT CTC C
	2nd ge2	GGC AGT ATT AAA AGC AGC TCC AGG
	ge9f	AAC GGA TTA TTC TTT ATA GCT TGC T

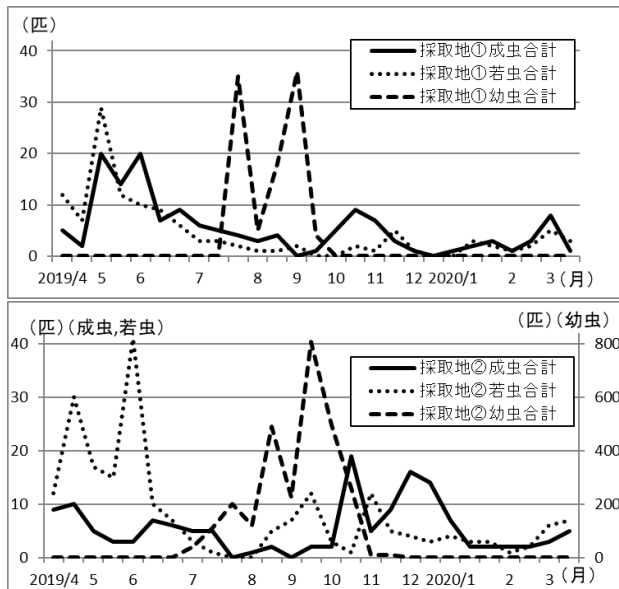
ケッチア共通 17 kDa 蛋白遺伝子, ボレリア属及びエー
リキア・アナプラズマの Nested PCR を行った^{8,9,10}. 特
異的増幅が確認された検体は BigDye Terminator v3.1
Cycle sequencing kit (ABI) 及び各 2nd のプライマーを
用いてシーケンスを行い, NCBI の Blast 解析により病
原体の推定を行った.

3 結 果

3.1 分布状況の調査

地点①②におけるマダニの季節消長は図2に示す通
りであった. 採取地①において12月に行った1回を除
き, すべての時期でマダニが確認された. どちらの採
取地においても成虫, 若虫は通年で確認された一方,
幼虫は7月から11月の間のみ確認された.

図2 採取地①②におけるマダニの季節的消長



各採取地を合計して成虫メス 261 匹, 成虫オス 102
匹, 若虫 367 匹, 幼虫 2,839 匹のマダニを採取した.
採取したマダニは表2に示すとおりである. 図1の地
点で採取したマダニを標高別に分け, 採取できた種を
○で示した.

表2 岐阜県内で採取されたマダニ

	標高 (m)		
	1,000 ~ 1,000	1,000 ~ 2,000	2,000 ~
オオトゲチマダニ	○	○	○
キチマダニ	○	○	○
シュルツェマダニ		○	○
タカサゴキラマダニ	○		
ヒゲナガチマダニ	○	○	
ヒトツトゲマダニ	○	○	○
フタトゲチマダニ	○		
ヤマトマダニ	○	○	○

3.2 病原体保有状況

各採取地で採取したマダニから検出された病原体遺
伝子は表3のとおりである. 採取されたすべてのマダ
ニから SFTS ウイルス遺伝子, 日本紅斑熱リケッチア
遺伝子は検出されなかった. また, 標高 1,000 m 以上
の採取地で採取したマダニから病原体は検出されなかつ
た. 検出された病原体の内, *Candidatus Rickettsia* は
採取したマダニ 377 検体中 77 検体から検出された. ま
た, ヒトに対する病原性が報告されている *Borrelia*
*japonica*¹¹が採取地①において 164 検体中 1 検体から,
Rickettsia conorii, *Borrelia miyamotoi*¹², *Anaplasma*
*capra*¹³がそれぞれ採取地②において 185 検体中各々1
検体から表4のとおり検出された.

表4 病原体保有マダニの採取日

病原体	保有マダニ	採取年月日
<i>Borrelia japonica</i>	フタトゲチマダニ 若虫	2019年5月3日
<i>Rickettsia conorii</i>	フタトゲチマダニ 成虫♂	2019年10月21日
<i>Borrelia miyamotoi</i>	ヤマトマダニ 若虫	2019年5月13日
<i>Anaplasma capra</i>	フタトゲチマダニ 成虫♂	2019年12月5日

4 考 察

マダニの季節消長を確認したところ, 真冬を含むど
の時期であってもその存在が確認された. 少なくとも,

表3 採取したマダニから検出された病原体

マダニ種	検体数	検出数	検出率 (%)	検出病原体	採取地別検出数			
					①	②	③	④
フタトゲチマダニ	310	1	0.3	<i>Rickettsia conorii</i>		1		
		88	28.4	<i>Candidatus Rickettsia</i>	1	69	8	10
		33	10.6	<i>Rickettsia sp.</i>	17	16		
		1	0.3	<i>Borrelia japonica</i>	1			
		5	1.6	<i>Borrelia sp.</i>	4	1		
		1	0.3	<i>Anaplasma capra</i>		1		
ヤマトマダニ	71	3	4.2	<i>Candidatus Rickettsia</i>		3		
		1	1.4	<i>Borrelia miyamotoi</i>		1		
		1	2.8	<i>Candidatus Rickettsia</i>		1		
ヒゲナガチマダニ	36	1						

①岐阜市 ②山県市 ③養老郡養老町 ④揖斐郡揖斐川町

採取地①②のような標高 100 m 程度の低標高地においては、季節を問わず外出時にはマダニ対策を講じるよう呼び掛ける必要がある。

県内各地における採取結果では、どの採取地においても病原体を媒介しうるキチマダニやヒゲナガチマダニ、シュルツェマダニ等のヒト嗜好性マダニが確認された。病原体を保有するヒト嗜好性マダニが野生動物等を介して県内に侵入した場合に生存可能であること、マダニ媒介性の病原体は成虫から卵へと経卵伝達することから、県内に侵入したこれらのマダニが定着してしまう環境下にあると言える¹⁴⁾。また、採取地①、②において県内発生が報告されていない紅斑熱群リケツチア症、ライム病、回帰熱及びアナプラズマ症の病原体である *Rickettsia conorii*, *Borrelia japonica*, *Borrelia miyamotoi* 及び *Anaplasma capra* の遺伝子が検出された。これら 4 種の病原体が採取された採取地①②は岐阜県を中心部に位置しており、登山客のほとんどが近隣住民である。季節的消長を調査した 1 年間の中で各々 1 検体からのみ検出されていること、病原体保有マダニが鳥類を含む中型動物への嗜好性を持つ種であることから、渡り鳥などの長距離を移動する動物によって運ばれたマダニであった可能性が考えられる。一方で、病原体保有マダニが採取地近隣に既に侵入、定着しており、野生動物や登山客等によって持ち込まれた可能性も否定出来ない。また、*Borrelia japonica* 及び *Borrelia miyamotoi* については高標高地に生息するシュルツェマダニが媒介することが知られているが、今回の調査では低標高地のフタトゲチマダニ及びヤマトマダニから検出された。特に *Borrelia japonica* を保有するフタトゲチマダニについては報告例がなく、採取地周辺の重点的な調査が必要であると考えられる。

今回の調査結果より、岐阜県では季節や地域に関係なく病原体を保有するヒト嗜好性マダニが存在することが分かった。また、今回の調査で採取したマダニは県内の限定的な地域における事例であるが、県内報告例のないマダニ媒介性感染症の病原体が検出されたことから、それらの患者がいつ発生してもおかしくない環境であると考えられる。このことから、今後、より多くの地点での調査、監視を行うと共に、地域住民への注意喚起を行っていく必要があると考える。

謝 辞

本調査の実施に当たり、ご指導、ご協力いただきました高田伸弘先生、矢野泰弘先生に深謝いたします。

文 献

- 1) 高田伸弘, 藤田博己, 医ダニ学図鑑, 高田伸弘編, 表 14 わが国を中心とするマダニ媒介性感染症, 201, 北隆館, 2019
- 2) 国立感染症研究所, 感染症発生動向調査事業年報 (2014-2020 年)
- 3) 国立感染症研究所, IDWR 速報データ (2022 年第 44 週, 2021 年第 52 週)
- 4) 岐阜県健康福祉部生活衛生課, 平成 26 年度動物由来感染症予防体制整備事業報告書, 8-9, 2014
- 5) 高田伸弘, 医ダニ学図鑑, 高田伸弘編, マダニの採取と標本作製法, 166-171, 北隆館, 2019
- 6) 高田伸弘, 藤田博己, 医ダニ学図鑑, 高田伸弘編, 日本産マダニの分類, 115-164, 北隆館, 2019
- 7) 国立感染症研究所: マダニからの SFTS ウイルス検出マニュアル, 衛生研究所配布用, 感染研獣医科学部 SOP ver 3.1 互換, 1-2, 2014
- 8) 片山 丘 他; 感染症学雑誌 第 70 巻第 6 号, 561-568, 1996
- 9) 国立感染症研究所: ライム病感染症マニュアル, 6, 2012
- 10) Chen S-M, Dumler J S, Bakken J S, Walker D H. Identification of a granulocytotropic Ehrlichia species as the etiologic agent of human disease. J Clin Microbiol. 1994;32:589-595..
- 11) 増澤俊幸, 柳原保武, 藤田 弘: *Borrelia japonica* 感染が疑われるライムボレリア症の 1 例, 感染症誌, 70, 264-267, 1996.
- 12) Fukunaga M, et al. : Genetic and phenotypic analysis of *Borrelia miyamotoi* sp. nov., isolated from the ixodid tick *Ixodes persulcatus*, the vector for Lyme disease in Japan., Int J Syst Bacteriol 45, 804-810, 1995
- 13) Li H, Zheng YC, Ma L, et al. : Human infection with a novel tick-borne *Anaplasma* species in China: a surveillance study, Lancet Infect Dis. 15, 663-670, 2015
- 14) 高田伸弘, 藤田博己, 医ダニ学図鑑, 高田伸弘編, マダニの病原媒介性, 200-245, 北隆館, 2019

Risk assessment of tick-borne infectious diseases in Gifu Prefecture

Masahiro NISHIOKA, Tomohiro YAMAGUCHI, Yuta URAMOTO, Tomomi MARUYAMA, Tsuyoshi KUZUGUCHI,
Yoshihiko KAMEYAMA

*Gifu Prefectural Research Institute for Health and Environmental Sciences:
1-1, Naka-fudogaoka, Kakamigahara, Gifu 504-0838, Japan*

Keywords: Tick, SFTS, Rickettsia japonica, Borrelia, Anaplasma