

宮城県におけるマダニの生息および病原体保有状況

Surveillance of tick distribution and tick-borne pathogens in Miyagi Prefecture.

佐々木 美江 大槻 りつ子 坂上 亜希恵 植木 洋*1
島山 敬*1 山木 紀彦

Mie SASAKI, Ritsuko OTSUKI, Akie SAKAGAMI, Yo UEKI,
Takashi HATAKEYAMA, Norihiko YAMAKI

病原体を保有するマダニに刺咬されることで感染するマダニ媒介感染症は公衆衛生上大きな問題となる。2018年からの調査⁶⁾及び本調査により気仙沼・河北地区の野生シカではチマダニ類、丸森地区の野生イノシシではチマダニ類に加えてマダニ類が付着していることが確認され、この地域のマダニ生息分布が明らかとなった。マダニ種では県内で初めてタカサゴキララマダニが確認され、タカサゴキララマダニからはヒトへの病原性を示す *Rickettsia tamurae* 遺伝子が検出された。また、イヌ付着イスカチマダニから極東紅斑熱リケッチア遺伝子が検出されたことから、過去の感染地域やその周辺で極東紅斑熱リケッチア保有のイスカチマダニが定着している可能性も考えられる。今後も継続的にマダニ種及び病原体保有マダニの動向に注意する必要がある。

キーワード：タカサゴキララマダニ；イスカチマダニ；極東紅斑熱リケッチア

Key words : *Amblyomma testudinarium* ; *Haemaphysalis concinna* ; *Rickettsia heilongjiangensis*

1 はじめに

重症熱性血小板減少症候群 (Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome : SFTS) 及び日本紅斑熱、ライム病は、病原体を保有するマダニに刺咬されることで感染するマダニ媒介感染症で公衆衛生上大きな問題となる。

2019年12月の新型コロナウイルス感染症の発生により行動変容が進み、感染症発生動向調査におけるインフルエンザウイルス、ノロウイルスなどの患者の報告数は減少している¹⁾²⁾。その一方、SFTSは年間約100症例が継続して報告され、日本紅斑熱の患者報告数は年々増加している³⁾。特にSFTSは致死率10～30%の疾患⁴⁾のため、マダニに刺咬される機会の多い狩猟者や山菜を採取する人は注意が必要である。

これまで宮城県ではSFTS患者の報告はないが、2014年から2015年に木村ら⁵⁾が行った調査では県内に生息しているシカに付着したマダニからSFTSウイルス (SFTSV) 遺伝子、ライム病群 *Borrelia* 及び回帰熱群 *Borrelia* 遺伝子を検出し、県内で感染する可能性を示唆した。さらに、調査後の状況を確認するために、我々は2018年から2020年に採取した気仙沼地区及び河北地区に生息する植生マダニ、付着マダニのマダニの分類及びSFTSV遺伝子保有調査を行った⁶⁾。

今回、気仙沼・河北地区と同時期に、丸森地区及び県動物愛護センター等の県施設で採取されたマダニについて、マダニの分類及びSFTSV遺伝子保有状況調査を実施した。加えて、気仙沼・河北地区、丸森地区、県施設

で採取したマダニについて、日本紅斑熱、ライム病及び回帰熱の病原体保有調査を行ったので報告する。

2 対象及び検査方法

2.1 対象

マダニの採取は、2019年9月から2021年3月に実施した。マダニの分類及びSFTSV遺伝子の検出には、丸森地区で採取した野生イノシシ付着マダニ114個体、県動物愛護センター等の県施設で保護したイヌ・ネコ付着マダニ11個体を対象とした。日本紅斑熱及びライム病、回帰熱は、病原体である紅斑熱リケッチア遺伝子、*Borrelia* 属細菌遺伝子について、気仙沼・河北地区、丸森地区、県施設で採取されたマダニ221個体を対象に検出した。

2.2 方法

2.2.1 マダニの分類

マダニの採取は、猟友会及び県施設に依頼した。猟友会では有害駆除等の目的で捕獲したシカ、イノシシに付着した成マダニを1頭から5個体を目安に採取された。県施設では保護したイヌ、ネコから採取された。採取されたマダニは検査まで凍結保管した。

採取されたマダニは1検体ごとにあらかじめISOGEN II (ニッポン・ジーン) とビーズを入れたチューブ内で破碎後遠心分離を行い、遠心上清に p-Bromoanisole (富士フィルム和光純薬株式会社) を添加した。更に遠心した後、遠心上清にエタノール沈殿処理を行い、RNAを抽出した。RNA抽出後は、抽出RNAを鋳型とした SuperScript VILO cDNA Synthesis Kit (invitrogen) の逆転写反応によりcDNAを合成し、Takanoら⁷⁾の方

*1 前 保健環境センター

表 1 病原体遺伝子検出に用いたプライマー・プローブ

病原体	検査法	標的領域	Primer (Probe)	塩基配列 [5'-3']	参考文献
SFTSV	リアルタイムPCR	S segment	SFTSV-S3-237s	GCAACAAGATCGTCAAGGCATC	8)
			SFTSV-S3-400a	TGCTGCAGCACATGTCCAAGTGG	
			SFTSV-S2-317	FAM-CTGGTTGAGAGGGCA-MGB	
紅斑熱リケッチア	PCR	<i>gltA</i>	<i>gltA</i> -Fc	CGAACTTACCGCTATTAGAATG	9)
			<i>gltA</i> -Rc	CTTTAAGAGCGATAGCTTCAAG	
<i>Borrelia</i> 属細菌	リアルタイムPCR	16S rRNA gene	16s-F	GCTGTAAACGATGCACACTTGGT	10)
			16s-R	GGCGGCACACTTAACACGTTAG	
			LD	FAM - TTCGGTACTAACTTTTAGTTAA - MGB	
	PCR	<i>flaB</i>	PF	VIC - CGGTACTAACCTTTCGATTA - MGB	11)
			BflaPAD	GATCARGCWCAAYATAACCAAWATGCA	
			BflaPDU	AGATTCAAGTCTGTTTTGGAAAGC	
			BflaPBU	GCTGAAGAGCTTGAATGCAACC	
			BflaPCR	TGATCAGTTATCATTCTAATAGCA	

法によりミトコンドリア16SrRNAの塩基配列解析により種を同定した。

2.2.2 マダニからの病原体遺伝子の検出

病原体遺伝子の検出には、2.2.1で精製したRNA及びDNAを使用した。SFTSV遺伝子の検出には、紅斑熱リケッチア及び*Borrelia*遺伝子の検出にはcDNAを用い、プライマー及びプローブを表1に示した。

2.2.2.1 SFTSV遺伝子

既報⁸⁾に準じてTaqManプローブによるリアルタイムPCRでSFTSV遺伝子の検出を行った。

2.2.3 紅斑熱リケッチア遺伝子

Gaowaら⁹⁾の方法に準じTAKARA Ex Taq Hot Start Version (TAKARA)を用いたconventional PCR法を行い、増幅産物が認められた検体はPCR反応に用いたプライマーを用いてサイクルシーケンス反応を行った。さらに、ダイレクトシーケンス法を用いて遺伝子配列を決定し、BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)による相同性検索によりリケッチア属の同定を行った。MEGA7¹⁰⁾を用いて近隣結合法 (NJ法)による分子系統樹解析を行った。

2.2.4 *Borrelia*属細菌遺伝子の検出

Barbourら¹¹⁾の方法に準じてMGB probeをいたMultiplex real-time PCRでライム病群ボレリア及び回帰熱群ボレリア遺伝子を検出した。増幅曲線が認められた検体は、conventional PCR法¹²⁾により1stPCR及び2ndPCRを実施し、2ndPCRと同じプライマーを使用したダイレクトシーケンシングを実施し、得られた塩基配列をMEGA7でアライメント及びBLASTで相同性解析することでボレリア属を同定した。

3 結果

3.1 マダニの分類

丸森地区のイノシシ付着マダニは、キチマダニが82.5%(94/114)を占め、タカサゴキララマダニ5.3%(6/114)、ヤマトマダニ6.1%(7/114)であった(図1)。一方、県施設で採取されたマダニは、イノシシ付着マダニと同

様にキチマダニ、ヤマトマダニが採取されたほか、イスカチマダニ、シュルツェマダニであった(表2)。

3.2 SFTSV遺伝子

丸森地区で採取されたイノシシ付着マダニ114個体、県施設で採取された11個体を対象として遺伝子検査を行った結果、SFTSV遺伝子は検出されなかった。

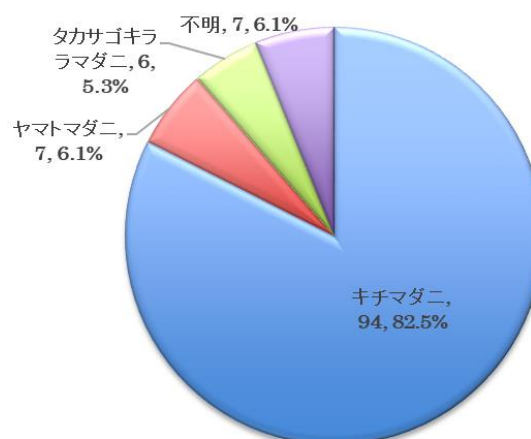


図1 丸森地区のイノシシ付着マダニ種 (数字は個体数、種構成割合)

表2 県施設で採取されたマダニ種

動物種	マダニ種	個体数	紅斑熱	<i>Borrelia</i>
イヌ	キチマダニ	2	0	0
	フタトゲチマダニ	2	0	0
	イスカチマダニ	1	1	0
	ヤマトマダニ	2	0	0
	不明	1	0	0
ネコ	ヤマトマダニ	2	1	0
	シュルツェマダニ	1	0	0
計		11	2	0

3.3 紅斑熱リケッチア遺伝子

気仙沼・河北・丸森地区及び県施設で採取したマダニ221個体のうち5個体(2.3%)から紅斑熱リケッチア遺伝子が検出された。マダニ種別では、イスカチマダニ1個体(1/1, 100%)、タカサゴキララマダニ1個体(1/6, 16.7%)、ヤマトマダニ1個体(1/11, 9.1%)オオトゲチマダニ2個体(2/91, 2.2%)であった(表3)。

表3 マダニ種別の紅斑熱リケッチア及び*Borrelia*属細菌遺伝子検出率

マダニ種	検体数(件)	紅斑熱リケッチア		<i>Borrelia</i> 属	
		遺伝子検出(件)	検出率(%)	遺伝子検出(件)	検出率(%)
ヒゲナガマダニ	1	0	0.0	0	0.0
オオトゲマダニ	91	2	2.2	1	1.1
ヤマトマダニ	1	0	0.0	0	0.0
キチマダニ	98	0	0.0	1	1.0
フタトゲマダニ	2	0	0.0	0	0.0
イスカチマダニ	1	1	100.0	0	0.0
ヤマトマダニ	11	1	9.1	0	0.0
シュルツェマダニ	1	0	0.0	0	0.0
タカサゴキラマダニ	6	1	16.7	0	0.0
不明	9	0	0.0	0	0.0
計	221	5	2.3	2.0	0.9

表4 検出されたリケッチア属

マダニ種	動物種	リケッチア属
イスカチマダニ (M1-H.concinna)	イヌ	<i>Rickettsia heilongjiangensis</i>
タカサゴキラマダニ (M2-A.testudinarium)	イノシシ	<i>Rickettsia tamurae</i>
ヤマトマダニ (M3-Iovalus)	ネコ	<i>Rickettsia asiatica</i>
オオトゲマダニ (M4-H.megaspinosa)	シカ	<i>Rickettsia conorii</i>
オオトゲマダニ (M5-H.megaspinosa)	シカ	<i>Rickettsia conorii</i>

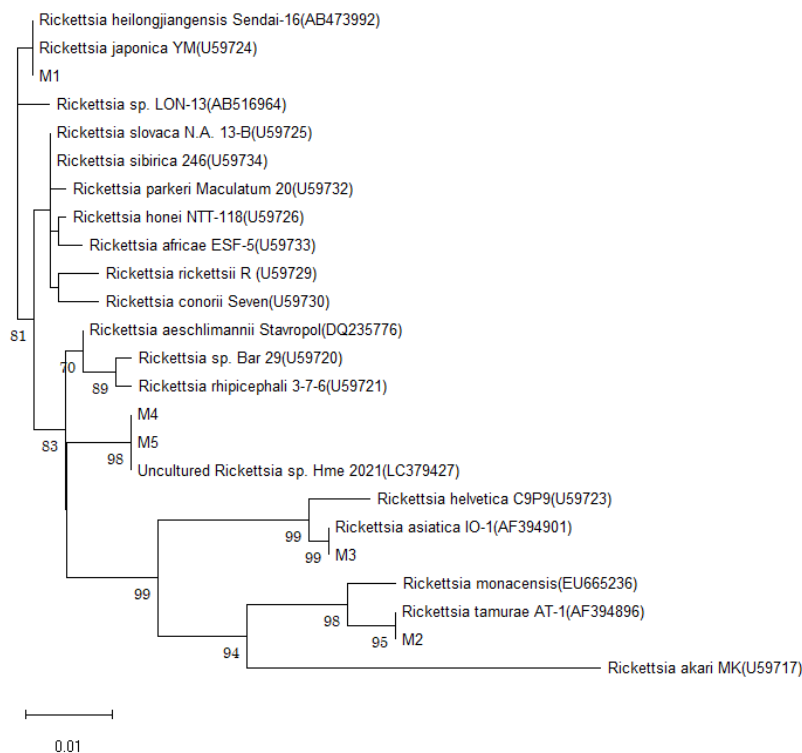


図2 紅斑熱リケッチア遺伝子系統樹 (*gltA* 遺伝子 537nt)
 NJ法 (Kimura 2-parameter method).
 Bootstrap values. (1,000 replicates; values less than 70% were not shown.)

極東紅斑熱リケッチア (*Rickettsia heilongjiangensis*) はイヌ付着のイスカチマダニから、*Rickettsia tamurae* はイノシシ付着のタカサゴキララマダニから検出され (表4)、検出された*R. heilongjiangensis* (図2のM1) は、*R. heilongjiangensis* Sendai-16(AB473922)と99%以上の高い相同性を示した。

3.4 *Borrelia*属細菌遺伝子

*Borrelia*属遺伝子は、オオトゲチマダニ1個体、キチマダニ1個体の計2個体から検出された。遺伝子解析の結果、2個体からはいずれも*Borrelia* spが検出され、ライム病*Borrelia*及び回帰熱*Borrelia*は検出されなかった (表4)。

4 考察

2018年からの調査⁶⁾及び本調査により気仙沼・河北地区の野生シカではチマダニ類、丸森地区の野生イノシシではチマダニ類及びマダニ類が採取され、この地域のマダニ生息分布が明らかとなった (図3)。瀬戸らの報告¹³⁾では山形県内のシカからヤマトマダニ、イノシシからキチマダニを採取している。気仙沼・河北地区は野生シカからマダニ類は採取されなかったことから、地域によるマダニ種構成の違いと考えられた。その一方、丸森地区は山形県と同様のマダニ種構成であった。丸森地区は蔵王連峰から連なる山や川に囲まれている地域であるため、イノシシが県を越えて移動している可能性が考えられた。加えて、丸森地区ではこれまで確認されていなかったタカサゴキララマダニが県内で初めて確認された¹⁴⁾。タカサゴキララマダニは、国内では関東地方以南に分布する大型種でイノシシなどの大・中型哺乳類を嗜好する¹⁵⁾。イノシシは分布域を関東・東北地方に拡大し¹⁶⁾、福島第一原子力発電所事故の影響でこの地域のイノシシ等の野生動物が急増¹⁷⁾していることから、イノシシとともに移動したタカサゴキララマダニが県南部の丸森地区で確認されたと推察される。また、採取されたタカサゴキララマダニから*R. tamurae*が検出されている。タカサゴキララマダニはヒト刺咬例が多く、*R. tamurae*を高率に保有しSFTSVとの関連も報告¹⁵⁾されていることから、県内においてもヒトへの感染リスクは高く、狩猟や山菜採りなどでマダニ生息域に近づく場合には注意が必要と考える。さらに、イヌ付着イスカチマダニからは*R. heilongjiangensis*が検出された。2008年に仙台市内で極東紅斑熱患者が確認された後に実施した環境調査ではイスカチマダニから*R. heilongjiangensis*が分離¹⁸⁾されている。本調査において仙台市近郊の公園を散歩しているイヌに付着したマダニから*R. heilongjiangensis*が検出された。本調査で得られた塩基配列が99%以上の相同性を示していることから過去の感染地域やその周辺で極東紅斑熱リケッチア保有のイスカチマダニが定着している可能性も否定できない。今後も病原体を保有したタカサゴキララマダニ及びイカスチマダニが県内に定着したか、追跡していく必要があると考える。

過去の調査^{5) 19)}でSFTSV遺伝子保有マダニと抗体陽性のニホンジカが確認されているが、本調査ではマダニからSFTSV遺伝子は検出されていない。一時的に検出されたものか確認するためにも、定期的な検査を行う必要があると考えられた。

本調査では、県内で初めてタカサゴキララマダニが採取され、更に*R. heilongjiangensis*、*R. tamurae*の病原体も確認されたことから、今後も継続的にマダニ種及び病原体保有マダニの動向に注意する必要がある。

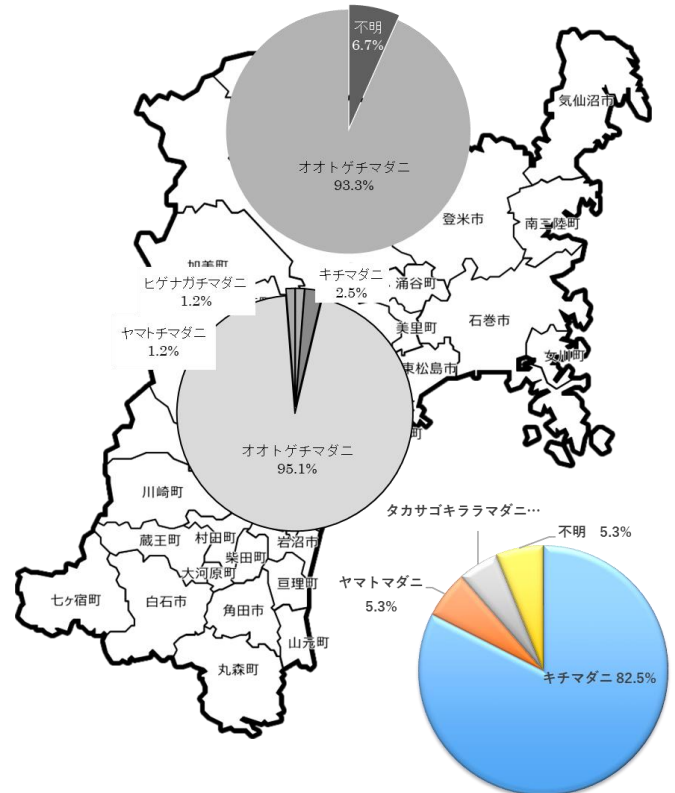


図3 定点別のマダニ種の採取状況

5 謝辞

本調査を実施するに当たり技術指導いただきました国立感染症研究所獣医科学部 宇田晶彦先生及び付着マダニの採取に御協力いただきました宮城県猟友会気仙沼支部、河北支部、丸森支部並びに関係機関の皆様へ感謝申し上げます。

6 参考文献

- 国立感染症研究所：IASR, 42, 230-232 (2021)
- 国立感染症研究所：<https://www.niid.go.jp/niid/images/idsc/disease/influ/fludoko2022.pdf> (2022年9月1日アクセス)
- 国立感染症研究所：<https://www.niid.go.jp/niid/ja/sfts/sfts-idwrs/7415-sfts-nesid.html> (2022年9月1日アクセス)

- 4) 国立感染症研究所 : IASR, 41, 133-135 (2020)
- 5) 木村俊介, 鈴木優子, 菅原直子, 佐々木美江, 植木洋, 渡邊節, 宇田晶彦, 川端寛樹 : 宮城県保健環境センター年報, 34, 43-46 (2016)
- 6) 佐々木美江, 大槻りつ子, 神尾彩楓, 坂上亜希恵, 植木洋, 畠山敬 : 宮城県保健環境センター年報, 39, 68-72 (2020)
- 7) Takano A, Fujita H, Kadosawa T, Takahashi M, Yamaguchi T, Ishiguro F, Takada N, Yano Y, Oikawa Y, Honda T, Gokuden M, Tsunoda T, Tsurumi M, Ando S, Andoh M, Sata K, Kawabata H : *Med Entomol Zool*, 65, 13-21 (2014)
- 8) Severe fever with thrombocytopenia syndrome ; SFTS Standard Operating Procedure/OneStep real-time RT-PCR SOP ver.3.2 (国立感染症研究所獣医科学部)
- 9) Gaowa, Ohashi N, Aochi M, Wurutu, Wu D, Yoshikawa Y, Kawamori F, Honda T, Fujita H, Takada N, Oikawa Y, Kawabata H, Ando S, Kishimoto T : *Emerg Infect Dis*, 19, 338-340 (2013)
- 10) Kumar S, Stecher G, Tamura K : *Molecular Biology and Evolution*, 33, 1870-1874 (2016)
- 11) Barbour AG, Bunikis J, Travinsky B, Hoen AG, Diuk-Wasser MA, Fish D, Tsao JI : Niche partitioning of *Borrelia burgdorferi* and *Borrelia miyamotoi* in the same tick vector and mammalian reservoir species, *Am J Trop Med Hyg*, 81, 1120-1131 (2009)
- 12) Takano A, Goka K, Une Y, Shimada Y, Fujita H, Shiino T, Watanabe H, Kawabata H : Isolation and characterization of a novel *Borrelia* group of tick-borne borreliae from imported reptiles and their associated ticks, *Environ Microbiol*, 12, 134-146 (2010)
- 13) 瀬戸順次, 東英生, 田中静佳, 小城伸晃, 中村夢奈, 池田辰也, 水田克巳 : 日本獣医師会雑誌, 73, 517
- 14) 藤田博巳, 高田信弘 : 医ダニ学図鑑, 193 (2019)
- 15) 高田信弘, 藤田博巳 : 医ダニ学図鑑, 122 (2019)
- 16) 環境省 : <https://www.env.go.jp/content/900517069.pdf> (2022年9月1日アクセス)
- 17) 環境省 : <https://www.env.go.jp/nature/choju/effort/effort10/effort10.html> (2022年9月1日アクセス)
- 18) 国立感染症研究所 : IASR, 31, 136-137 (2010)
国立感染症研究所 : IASR, 37, 50-51 (2016)