

# 宮城県内に生息するマダニの病原体保有状況調査

## Surveillance of pathogens in ticks of Miyagi prefecture.

木村 俊介\*<sup>1</sup> 鈴木 優子\*<sup>2</sup> 菅原 直子 佐々木 美江 植木 洋  
渡邊 節 宇田 晶彦\*<sup>3</sup> 川端 寛樹\*<sup>3</sup>

Shunsuke KIMURA, Yuko SUZUKI, Naoko SUGAWARA, Mie SASAKI, Yo UEKI,  
Setsu WATANABE, Akihiko UDA, Hiroki KAWABATA

平成 26 年 4 月から平成 27 年 10 月にかけて、県内 5 市 4 町（仙台市を除く）で計 1,091 個体のマダニを採取した。形態学的に分類した結果、2 属 9 種が確認され、フタトゲチマダニ（HI）が 686 個体と最も多く全体の 62.9%を占めた。成ダニは 1 個体を 1 検体、若ダニ及び幼ダニは各々 5 個体程度を 1 検体とし、989 個体 547 検体を対象に SFTS ウイルス(SFTSV)遺伝子検査を実施した。その結果、平成 27 年 6 月と 7 月に気仙沼市で捕獲したシカに吸着していた、ヒトツトゲマダニ 1 個体とヤマトマダニ 2 個体から SFTSV 遺伝子を検出した。また、377 個体 177 検体についてボレリア属細菌遺伝子検査を実施した結果、ライム病群ボレリア遺伝子を 10 個体から、回帰熱群ボレリア遺伝子を 5 個体から検出した。

キーワード：マダニ；重症熱性血小板減少症候群ウイルス；ボレリア属細菌

Key words : ticks ; Severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) virus ; *Borrelia*

## 1 はじめに

重症熱性血小板減少症候群（SFTS）、ライム病及び回帰熱はマダニ媒介性の感染症であり、前者は SFTS ウイルス(SFTSV)、後者はボレリア属細菌を原因とする。

SFTS は、2013 年 1 月以降、国内では西日本を中心に 170 例の患者発生が報告され、うち 46 例の死亡が確認されている（2016 年 2 月 24 日時点）。さらに、国立感染症研究所や地方衛生研究所の調査では患者発生報告のない地域に生息する複数のマダニ種から SFTSV 遺伝子が検出され、ヒトへの感染が危惧されている<sup>1)</sup>。

一方ライム病は「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（感染症法）」施行以来、年間 10 例前後の国内感染例があり、回帰熱については 2013 年、2014 年に土着性回帰熱の国内感染例が報告され、注目を集めている。

本調査では、本県におけるマダニ媒介性感染症の感染リスクを把握するため、マダニの生息状況調査と併せて SFTSV 及びボレリア属細菌遺伝子検査を実施することで、マダニの病原体保有状況を調査した。

## 2 対象及び検査方法

### 2.1 対象

平成 26 年 4 月から平成 27 年 10 月にかけて、県内 5 市 4 町（石巻市、気仙沼市、白石市、栗原市、大崎市、蔵王町、丸森町、加美町、女川町）において旗ざり法を実施し、草むらに生息する植生マダニを計 749 個体採取した。加え

て、気仙沼市、石巻市、丸森町にて地元猟友会の協力により野生のシカ、イノシシ等捕獲時に動物付着マダニを計 342 個体採取した。植生マダニと付着マダニを合わせて 1,091 個体であった（図 1、表 1）。採取したマダニは形態学的に種を同定し、同一場所で採取した同種同性マダニについて、成ダニは 1 個体を 1 検体、若ダニ及び幼ダニは各々 5 個体程度を 1 検体として、989 個体 547 検体を得た。

### 2.2 方法

#### 2.2.1 マダニの分類

採取したマダニは幼ダニ、若ダニ、成ダニと 3 つの成長段階、さらに成ダニは性別で区別し、顎体部や棘の形や大きさでマダニの種を確定した。

形態鑑別が困難な検体は、マダニのリボゾーム RNA を増幅し、シーケンシングすることによって種を同定した。

#### 2.2.2 SFTSV 遺伝子検査

マダニは 1 検体毎に予め ISOGEN II（ニッポン・ジーン）を入れたチューブ内で破碎後遠心分離を行った。遠心上清に p-Bromoanisole（和光純薬工業）を添加した。これを遠心した上清にエタノール沈殿処理を行ない RNA を抽出した<sup>2)</sup>。抽出した RNA は SuperScriptVILO(Invi-trogen)で逆転写反応を行い cDNA 合成後、Premix EX Taq™(TAKARA)を用いた realtime PCR で SFTSV 遺伝子を検出した。プライマーには SFTS-S3-237s 及び SFTS-S3-400a を、プローブには SFTSV-S2-317 を使用した（表 1）。増幅曲線が認められた検体の cDNA に同プライマーを用いたダイ

\*1 現 仙台保健福祉事務所黒川支所

\*2 現 仙台保健福祉事務所

\*3 国立感染症研究所

レクトシーケンシングを実施し、得られた塩基配列を MEGA5 でアライメント及び系統解析し、BLAST で相同性解析することで SFTSV 遺伝子であることを確認した。

表 1 SFTSV 遺伝子検査プライマー・プローブ

Primer	塩基配列 [5'-3']
1 SFTSV-S3-237s:	GCAACAAGATCGTCAAGGCATC
2 SFTSV-S3-400a:	TGCTGCAGCACATGTCCAAGTGG
Probe	塩基配列 [5'-3']
1 SFTSV-S2-317 :	FAM-CTGGTTGAGAGGGCA-MGB

2.2.3 ボレリア属細菌遺伝子検査

2.2.2 と同様に cDNA を合成後、Premix EX Taq™ (TAKARA)を用いた real-time PCR でボレリア属細菌遺伝子を検出した。プライマーには 16S rRNA 遺伝子の一部を標的として設計された *Borrelia* 16s-F 及び 16s-R を、プローブにはライム病群ボレリアを特異的に検出する ProbeLD, 回帰熱群ボレリアを特異的に検出する ProbeRF を使用した<sup>3)</sup>。増幅曲線が認められた検体の cDNA に 1stPCR 及び 2ndPCR を実施した。この時、1stPCR のプライマーには鞭毛遺伝子の一部を標的領域とした BflaPAD 及び BflaPDU を、2ndPCR のプライマーには BflaPBU 及び BflaPCR を使用した (表 2)。

表 2 ボレリア属細菌遺伝子検査プライマー・プローブ

Primer	塩基配列 [5'-3']
1 <i>Borrelia</i> 16s-F:	GCTGTAAACGATGCACACTTGGT
2 <i>Borrelia</i> 16s-R:	GGCGGCACACTTAACACGTTAG
3 BflaPAD:	GATCA(G/A)GC(T/A)CAA(C/T)ZATAACCA(A/T)ATGCA
4 BflaPDU:	AGATTCAAGTCTGTTTTGGAAAGC
5 BflaPBU:	GCTGAAGAGCTTGAATGCAACC
6 BflaPCR:	TGATCAGTTATCATTTCTAATAGCA
Probe	塩基配列 [5'-3']
1 ProbeLD :	FAM-TTCGGTACTAACTTTTAGTTAA-MGB
2 ProbeRF :	VIC-CGGTACTAACCTTTTCGATTA-MGB

3 結果

3.1 採取したマダニの種類

植生マダニと付着マダニを形態学的に分類した結果、2 属 9 種が確認された。内訳はフタトゲチマダニ (H1) 686 個体、キチマダニ (Hf) 121 個体、オオトゲチマダニ (Hm) 115 個体、ヤマトマダニ (Io) 105 個体、ヒゲナガチマダニ (Hk) 15 個体、ヒトツトゲマダニ (Im) 9 個体、イスカチマダニ (Hc) 5 個体、ヤマトチマダニ (Hj) 4 個体、シュルツェマダニ (Ip) 3 個体、他 28 個体は不明であった (表 3)。

また、沿岸部の気仙沼市、石巻市、女川町では採取した半数以上がフタトゲチマダニであったのに対し、内陸部の栗原市、大崎市、白石市、加美町、蔵王町、丸森町ではキチマダニとヤマトマダニが多かった (図 1)。

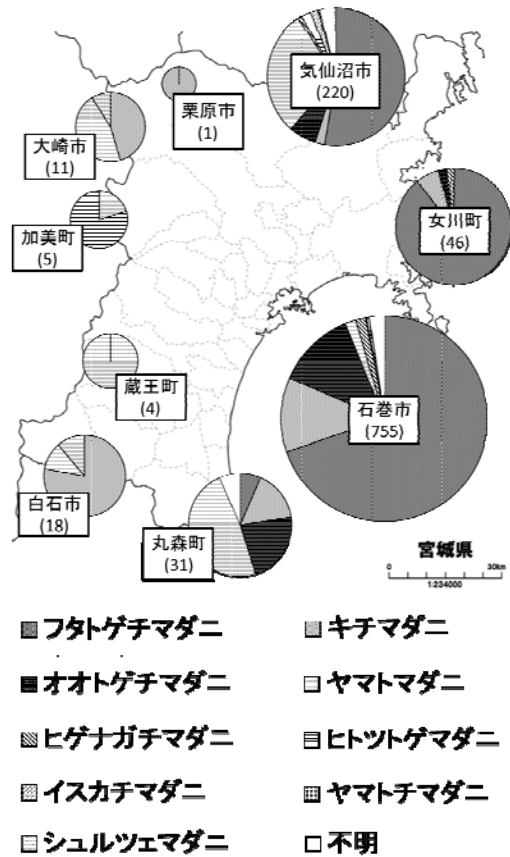


図 1 採取したマダニの種類及び採取地域

※数字は採取マダニ数

表 3 採取したマダニの種類及び採取地域 ※数字は植生マダニ数 (付着マダニ数)

	石巻市	気仙沼市	白石市	栗原市	大崎市	蔵王町	丸森町	加美町	女川町	総計
フタトゲチマダニ	505(22)	2(114)					2		41	550(136)
キチマダニ	72(16)	3(2)	14	1	5		1(4)		3	99(22)
オオトゲチマダニ	35(58)	13(1)					(7)		1	49(66)
ヤマトマダニ	3(10)	2(63)	2		5	4	4(11)	1		21(84)
ヒゲナガチマダニ	8(4)	2							1	11(4)
ヒトツトゲマダニ		(5)						4		4(5)
イスカチマダニ	1	(4)								1(4)
ヤマトチマダニ	1(2)	(1)								1(3)
シュルツェマダニ			2		1					3
不明	10(8)	(8)					(2)			10(18)
<b>総計</b>	<b>635(120)</b>	<b>22(198)</b>	<b>18</b>	<b>1</b>	<b>11</b>	<b>4</b>	<b>7(24)</b>	<b>5</b>	<b>46</b>	<b>749(342)</b>

### 3.2 SFTSV 遺伝子検査

採取したマダニ1,091個体のうち989個体547検体を対象として遺伝子検査を行った結果、気仙沼市で捕獲したシカに吸着していた、ヒトツトゲマダニ1個体とヤマトマダニ2個体からSFTSV遺伝子を検出した(表4)。

表4 SFTSV 遺伝子検出検体一覧

マダニ種	成長段階	生態	採取場所(採取日)
Im	成ダニ	シカ付着	気仙沼市(6/27)
Io	成ダニ	シカ付着	気仙沼市(6/30)
Io	成ダニ	シカ付着	気仙沼市(7/6)

### 3.3 ボレリア属細菌遺伝子検査

採取マダニ1,091個体のうち、マダニ種や採取地域を考慮した377個体177検体を対象に遺伝子検査を行った結果、15個体15検体(4.0%)からボレリア属細菌遺伝子を検出した。その内訳はライム病群ボレリア(LD)が10検体、回帰熱群ボレリア(RF)が5検体であった。またライム病群ボレリアのうち7検体はボレリア・ジャポニカ(B.j)であった(表5)。

表5 ボレリア属細菌遺伝子検出検体一覧

マダニ種	成長段階	生態	採取場所(採取日)	ボレリア種
Io	成ダニ	植生	大崎市(5/8)	B.j
Io	成ダニ	植生	大崎市(5/8)	B.j
Io	成ダニ	イヌ付着	丸森町(5/15)	LD
Io	成ダニ	植生	丸森町(5/15)	B.j
Io	成ダニ	植生	大崎市(6/2)	B.j
Io	成ダニ	植生	大崎市(6/2)	B.j
Io	成ダニ	植生	大崎市(6/2)	B.j
Ip	若ダニ	植生	大崎市(6/2)	LD
Io	成ダニ	植生	蔵王町(6/16)	LD
Io	成ダニ	植生	白石市(6/16)	B.j
Hl	成ダニ	シカ付着	気仙沼市(6/3)	RF
Io	成ダニ	シカ付着	気仙沼市(6/3)	RF
Io	成ダニ	シカ付着	気仙沼市(6/10)	RF
Hm	若ダニ	シカ付着	気仙沼市(6/10)	RF
Io	成ダニ	シカ付着	気仙沼市(6/14)	RF

## 4 考察

採取したマダニの上位3種(Hl, Hf, Hm)はSFTSV遺伝子検出報告の多いマダニであった<sup>4)</sup>。一方本調査でSFTSV遺伝子を検出した検体はSFTSV遺伝子検出報告例が少ないIoとImであった。このことから、マダニは種によってSFTSV保有率は異なるものの、種に関わらずSFTSVを保有していると考えられた。さらにSFTSV遺伝子を検出した検体はいずれも気仙沼市で捕獲したシカに付着していたマダニであったことから、SFTSV保有マダニの生息には地域性があることが示唆

された。さらに、植生マダニと付着マダニのSFTSV遺伝子の陽性率を比較すると、本調査では植生マダニ0%(0/749)、付着マダニ0.88%(3/342)と共に陽性率は非常に低いものの、植生マダニより付着マダニが高かった。森川らの報告でのSFTSV陽性率は植生マダニは6.7~16.1%、付着マダニは43.9%<sup>4)</sup>で今回確認された陽性率よりも高かったが、付着マダニの陽性率が植生マダニよりも高い傾向は一致していた。今回の調査ではヒトや野生動物などに付着し吸血する機会を窺っている植生マダニからはSFTSV遺伝子を検出していないことから、SFTSVのヒトへの感染リスクは非常に低いと考えられるが、県内においてもマダニ刺咬によりSFTSVに感染する可能性が示された。

ボレリア属細菌は、LD遺伝子を大崎市、丸森町、蔵王町、白石市で採取した植生マダニから検出した。LD遺伝子の中でもB.jは、Ioの約20~50%から検出されるが病原性は低いとの報告がある<sup>5)</sup>。また、Ipはライム病の媒介種として知られており<sup>6)</sup>、IpからもLD遺伝子を検出した。さらにRF遺伝子をシカ付着マダニから検出した。2014年北海道においてシカ付着マダニから新種のRFを検出したという報告もある<sup>7)</sup>。これらのことから病原性に不明な点は多いものの、県内に生息するマダニからライム病や回帰熱に感染するリスクも示された。

今回の調査結果より、本県に生息するマダニがSFTSV及びボレリア属細菌を保有していることが明らかになった。さらに、SFTSV保有マダニの生息に地域特異性が確認されたことから、関連機関と協力し継続した調査が必要と考えられた。マダニによる刺咬予防対策の他、万が一刺咬されてしまった場合に迅速に対応できるよう、マダニ媒介性感染症の感染リスクについて県民、特に林業・農業従事者や医療従事者に対して情報提供が必要である。

最後に、野生動物付着マダニ採取にご協力頂いた宮城県猟友会河北支部 三浦信昭氏、県北支部 菅原安雄氏、県南支部 小野庄一氏に感謝申し上げます。

## 参考文献

- 1) 重症熱性血小板減少症行軍(SFTS)ウイルスの国内分布調査結果(第二報)について(情報提供):厚生労働省健康局結核感染症課 事務連絡 平成26年2月25日
- 2) 「マダニからのSFTSウイルス検出マニュアル」(感染研獣医科学部 SOP ver3.1 互換)
- 3) Barbour AG, et al. Am J Trop Med Hyg. 2009;81(6):1120-1131
- 4) 森川 茂 他:日本の自然界におけるSFTSウイルスの存在様式の解明.SFTSの制圧に向けた総合的研究(H25-新興・指定-009)

- 5) 栗田 亨, 川端 寛樹, 山田 和人, 他 : 静岡県のマダニ類のライム病病原体保有状況. 感染症学雑誌 1995;69:324-326
- 6) Kawabata M, Baba S, Iguchi K, Yamaguchi N, Russell H: Lyme disease in Japan and its possible incriminated tick vector, *Ixodes persulcatus*. J Infect Dis 1987;156:854
- 7) Lee K, Takano A, Taylor K, Sashika M, Shimozuru M, Konnai S, Kawabata H, Tsubota T: A relapsing fever group *Borrelia* sp. similar to *Borrelia lonestari* found among wild sika deer (*Cervus nippon yesonesis*) and *Haemaphysalis* spp. Ticks in Hokkaido, Japan. Ticks and Tick-borne Diseases 5(2014)841-847