

原 著

山形県内マダニのマダニ媒介感染症病原体調査

瀬戸順次^{1)†} 東 英生²⁾ 田中静佳¹⁾ 小城伸晃³⁾
 中村夢奈³⁾ 池田辰也¹⁾ 水田克巳¹⁾

- 1) 山形県衛生研究所 (〒990-0031 山形市十日町 1-6-6)
 2) ワイルドライフ・ワークショップ (〒999-3301 山形市山寺 184-1)
 3) Wildlife Partnership Office やまがたヤマネ研究会 (〒990-2413 山形市南原町 1-20-41-6 メゾン S-B)

(2019年7月30日受付・2020年3月16日受理)

要 約

山形県におけるマダニ媒介感染症 (TBD) 発生の考察の一助とするため、2016～2018年に山形県内で採取された植生マダニ成虫 158 匹及び野生動物由来マダニ成虫 112 匹を対象に TBD 病原体遺伝子の検出を試みた。結果、全マダニ検体で国内既知の TBD である日本紅斑熱、ライム病、回帰熱、ダニ媒介脳炎、及び重症熱性血小板減少症候群の病原体遺伝子は不検出だった。一方、ヒトツトゲマダニ 30 匹及びヤマトチマダニ 1 匹からは *Rickettsia helvetica*、タネガタマダニ 1 匹からは *Rickettsia monacensis* 特異的塩基配列が検出された。本研究により、山形県では国内既知の TBD は人に対する大いなる脅威とは言えないものの、国内未報告の TBD を含め、今後も TBD 症例発生に対する注意が必要であると考えられた。——キーワード：マダニ属、リケッチア感染症、マダニ類、マダニ媒介感染症、野生動物。

-----日獣会誌 73, 517～524 (2020)

わが国においてマダニ媒介感染症 (Tick-borne disease : TBD) に対する注目度が高まっている。感染症法で四類感染症に指定され、かつ国内で発生している 5 種類の TBD のうち、重症熱性血小板減少症候群 (Severe fever with thrombocytopenia syndrome : SFTS) は 2012 年に国内初症例が見出され [1]、以降、毎年 40～100 症例が報告されている (国立感染症研究所感染症発生動向調査週報, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/ydata/8114-report-ja2017-20.html>, 参照 2019-09-28)。日本紅斑熱の症例数は年々増加傾向にあり、先のデータによれば 2017 年には過去最多の 337 症例が報告された。その他、ライム病、ダニ媒介脳炎、及び遡り調査により 2011 年と 2013 年に国内症例の存在が確認された回帰熱 [2] に関しても、毎年散発的に国内症例が発生している。

日本紅斑熱の原因菌である *Rickettsia japonica* が属するリケッチア属は多くの種が人への病原性を有し、主としてマダニ媒介性である [3, 4]。実際に、日本では *Rickettsia heilongjiangensis* による極東紅斑熱国内感染例や *Rickettsia tamurae* によるリケッチア感染症症例が

報告されている他 [5, 6]、日本以外の東アジア地域においても *Rickettsia helvetica* や *Rickettsia monacensis* によるリケッチア感染症が発生している [3, 7]。これらリケッチア感染症を正確に診断するために、遺伝子学的検査手法の活用が重要とされている [3, 8]。また、ライム病は *Borrelia burgdorferi sensu lato*、回帰熱は *Borrelia miyamotoi*、ダニ媒介脳炎はフラビウイルス科フラビウイルス属ダニ媒介脳炎ウイルス、SFTS はフェニウウイルス科バンヤンウイルス属ファイヤンシャン・バンヤンウイルス (以下、SFTS ウイルスとする) が病原体であり、それら TBD の診断のために遺伝子学的検査手法が用いられている [9-11]。

マダニは種ごとに動物嗜好性が異なることが知られているが [12]、東北地方の各種野生動物に吸血するマダニの種別は追究が進んでいない。山形県では、旧レッドリスト (2003 年) で絶滅種に指定されていたニホンジカ *Cervus nippon* やイノシシ *Sus scrofa* の目撃例や捕獲数が増加傾向にあり、改訂レッドリスト (2019 年) において指定から除外された。現在、それら動物の県内で

† 連絡責任者：瀬戸順次 (山形県衛生研究所微生物部)

〒990-0031 山形市十日町 1-6-6 ☎ 023-627-1373 FAX 023-641-7486 E-mail : setoj@pref.yamagata.jp

表1 本研究に使用したプライマー及びプローブ

目的	対象	標的遺伝子 (非翻訳領域)	Primer (Probe)	Sequence (5' to 3')	増幅 産物長 (bp)	参考文献
スクリー ニング	紅斑熱群 リケッチ ア	16S ribosomal RNA gene	OR-F	GGAGCATGCGGTTTAATTTCG	120	Kawamori <i>et al.</i> [8]
			OR-R	GCCATGCAACACCTGTGTGT		
			(Rj-VIC)	VIC-CGGATCGCAGAGATG-MGB		
	ライム病 群, 回帰 熱群	16S ribosomal RNA gene	16S_RT_F	GCTGTAAACGATGCACACTTGGT	69	Barbour <i>et al.</i> [9]
			16S_RT_R	GGCGGCACACTTAACACGTTAG		
			(BB_FAM) (BM_VIC)	FAM-TTCGGTACTAACTTTTAGTTAA-MGB VIC-CGGTACTAACTTTTCGATTA-MGB		
	TBEV	(3' non-coding region)	F-TBE 1 R-TBE 1 (TBE- Probe-WT)	GGGCGGTTCTTGTCTCC ACACATCACCTCCTTGTCCAGACT FAM-TGAGCCACCATCACCCAGACACA-MGB	68	Schwaiger <i>et al.</i> [10]
	SFTSV	Nucleocapsid protein gene	SFTSV NP-2F SFTSV NP-2R	CATCATTGTCTTTGCCCTGA AGAAGACAGAGTTCACAGCA	461	Yoshikawa <i>et al.</i> [11]
シークエ ンス	リケッチ ア属	Citrate synthase gene, <i>gltA</i>	<i>gltA</i> -Fc*	CGAACTTACCGCTATTAGAATG	581	Gaowa <i>et al.</i> [21]
			<i>gltA</i> -Rc	CTTTAAGAGCGATAGCTTCAAG		
	ボレリア 属	Flagellin gene, <i>flaB</i>	BflaPAD	GATCARGCWCAAYATAACCAWATGCA	453	Takano <i>et al.</i> [22]
BflaPDU			AGATTCAAGTCTGTTTTGGAAAGC	347		
BflaPBU, nest*			GCTGAAGAGCTTGGAAATGCAACC			
BflaPCR, nest			TGATCAGTTATCATTCTAATAGCA			

TBEV: ダニ媒介脳炎ウイルス, SFTSV: 重症熱性血小板減少症候群ウイルス

*サイクルシークエンス反応に使用

の動向が注視されている(山形県庁みどり自然課, https://www.pref.yamagata.jp/kurashi/shizen/seibutsu/7050011wildanimalresearch_report.html, 参照 2019-09-28). 野生動物種の分布密度の変化とマダニ叢の変化を関連付けて追究していくことは, TBD 発生の可能性を考えていくうえでも重要である [13, 14]. 実際, 国内既知の TBD に関して, 野生動物を対象としたスクリーニングの重要性が指摘されている [15, 16].

山形県では, これまで TBD の県内感染例は発生していない (2019 年 9 月時点). しかし, 山形県内マダニの TBD 病原体保有状況を調査した報告は限られており [17], 山形県で TBD が人への脅威となるのかについての知見は乏しい. また, 山形県に生息するマダニの種構成についても調査が進んでおらず, TBD の媒介マダニ種, たとえば SFTSV の国内媒介種とされているフタトゲチマダニ *Haemaphysalis longicornis* やタカサゴキラマダニ *Amblyomma testudinarium* [18], が山形県内に分布しているかは不明である.

本研究では, 山形県における TBD 発生の可能性を考察する一助とするため, 山形県での植生マダニ及び野生動物吸血マダニの種構成を把握するとともに, それらマダニの TBD 病原体遺伝子保有状況を調査した.

材料及び方法

マダニ採取: 2016 年 3 月~2018 年 4 月, 山形県内 24 地点において, フランネル布を用いた旗ずり法により植生マダニを採取した (図 1). また, 2016 年 5 月~2018 年 10 月, 山形県内 20 地点で保護または捕獲された, もしくはロードキルで死亡していた野生動物を吸血していたマダニを採取した (図 1). 具体的には, カモシカ *Capricornis crispus*, ツキノワグマ *Ursus thibetanus*, ニホンジカ, 及びイノシシは生存 (もしくはそれに類する) 個体から, タヌキ *Nyctereutes procyonoides*, アナグマ *Meles anakuma*, 及びノウサギ *Lepus brachyurus* は死亡個体からマダニを採取した. 野生動物生存個体からのマダニ採取は, 鳥獣保護管理法の許可のもと実施した. カモシカについては, 文化財保護法に基づく特別天然記念物からの検体採取許可を別途取得した.

マダニ種同定: 本研究では, 成虫のみを調査の対象とした. 採取したマダニ成虫は, 実体顕微鏡での観察下, 検索キーに従って形態学的に種を同定した [19]. 飽血あるいは鑑別部位欠落により形態学的な種同定が困難であった場合, Takano ら [20] の方法により遺伝子学的にマダニ種を特定した.

表2 野生動物吸血マダニ成虫の種構成 (2016~2018年, 山形県)

マダニ種	n	野生動物種*						
		カモシカ (n=8)	タヌキ (n=4)	ニホンジカ (n=1)	アナグマ (n=3)	ツキノワ グマ (n=2)	ノウサギ (n=1)	イノシシ (n=1)
ヤマトマダニ	47 (9/38)	5 (1/4)	19 (3/16)	13 (2/11)	9 (3/6)		1 (0/1)	
ヒトツトゲマダニ	26 (1/25)	26 (1/25)						
キチマダニ	26 (13/13)	2 (1/1)	2 (2/0)			9 (1/8)	7 (7/0)	6 (2/4)
ヤマトチマダニ	11 (4/7)	11 (4/7)						
タネガタマダニ	2 (0/2)	1 (0/1)	1 (0/1)					
計	112 (27/85)	45 (7/38)	22 (5/17)	13 (2/11)	9 (3/6)	9 (1/8)	8 (7/1)	6 (2/4)

数字は総数(雄/雌)を示す

*カモシカ, ニホンジカ, ツキノワグマ, イノシシは生存個体から, タヌキ, アナグマ, ノウサギは死亡個体からマダニを採取した。

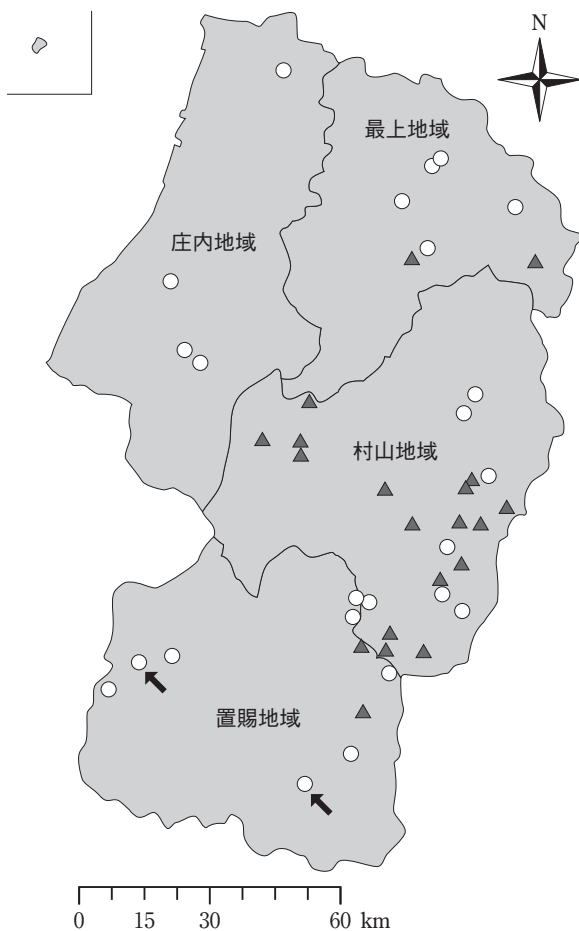


図1 マダニ採取地点 (山形県, 2016~2018年).

○: 植生マダニ採取地点, ▲: 野生動物由来マダニ採取地点, 矢印: タイワンカクマダニ採取地点

マダニからの遺伝子抽出: 形態学的な種同定を終えたマダニは22℃インキュベーター, もしくは直ちに処理できない場合は-80℃ディープフリーザーで保管した。植生マダニについては, 同一採取地点で同一マダニ種が15匹以上採取された場合は数を限定して遺伝子を抽出した。マダニを個別に70%エタノールで洗浄, 滅菌

PBSで2回洗浄し, 遺伝子抽出キット (BlackPREP Tick DNA/RNA Kit, Analytik jena AG, Germany) 同梱のビーズ入りチューブでマダニを破碎した後, DNA及びRNAを抽出した。マダニの破碎にはビーズ破碎機 (μ T-01, タイテック(株), 埼玉)を用いた。抽出後直ちに, RNAを鋳型として逆転写反応試薬 (PrimeScript RT Master Mix, タカラバイオ(株), 滋賀)により相補的DNAを調製した。

抽出したDNA全検体について, マダニのミトコンドリア16S rRNA 遺伝子を対象としたPCR [20]を実施し, 陽性検体をTBD病原体遺伝子検索に用いた。

TBD病原体遺伝子スクリーニング: 日本紅斑熱, ライム病, 回帰熱, ダニ媒介脳炎, 及びSFTSの病原体を対象としたリアルタイムPCRまたはPCRを実施した。反応に用いたプライマー, プローブを表1に示す。PCR反応にはマスターミックス (TaqMan Fast Advanced Master Mix, Life Technologies, U.S.A.: GoTaq Colorless Master Mix, Promega, U.S.A.)を用いた。その他の試薬組成, 熱反応条件は先行研究に準拠した [8-11]。PCR産物の電気泳動には, マイクロチップ電気泳動装置 (MultiNA MCE-202, (株)島津製作所, 京都)を用いた。

TBD病原体属特異的PCR及び塩基配列決定: スクリーニング陽性検体について, 表1に示すプライマーにより属特異的PCRを実施した [21, 22]。増幅産物が得られた場合, ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。決定した塩基配列 (GenBank accession numbers (Acc番号), LC492756-LC492834)は, DNA Data Bank of Japan ウェブサイト (<http://ddbj.nig.ac.jp/blast/blastn?lang=ja>) の basic local alignment search tool (BLAST)を用いて国際データベース登録塩基配列と比較し, 塩基配列が100%一致した種を成績に示した。

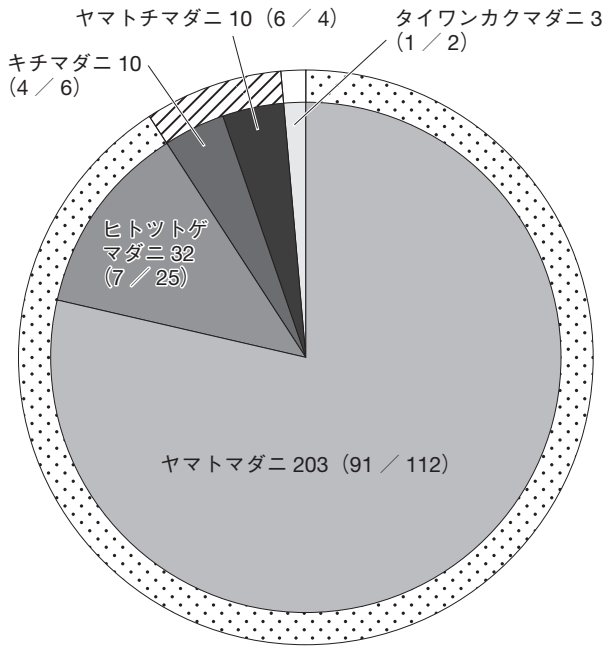


図2 植生マダニ成虫の種構成 (山形県, 2016~2018年). 数字は総数 (雄/雌) を示す

□ = マダニ属 ▨ = チマダニ属 □ = カクマダニ属

成 績

マダニの種構成：2016~2018年に山形県で採取された植生マダニ成虫258匹 (雄109匹, 雌149匹) の種構成を図2に示す。ヤマトマダニ *Ixodes ovatus* が全体の78.7%を占め、ヒトツトゲマダニ *Ixodes monospinosus* 12.4%と続いた。また、南方系のタイワンカクマダニ *Dermacentor taiwanensis* [12] が山形県置賜地域2地点 (北緯37.882005度, 東経140.079968度及び北緯38.080244度, 東経139.737925度: JGD2011測地系) で3匹確認された (図1)。

2016~2018年に山形県内の野生動物20頭から採取されたマダニ成虫112匹 (雄27匹, 雌85匹) の種構成を表2に示す。野生動物種ごとにマダニの種構成が異なる傾向がみられたが、全体では植生マダニ同様、ヤマトマダニ、ヒトツトゲマダニ、及びキチマダニ *Haemaphysalis flava* が上位3種を占めた。なお、野生動物の生死にかかわらず同様のマダニ種が採取された (表2)。

TBD病原体遺伝子スクリーニング：植生マダニでは、スクリーニング対象としたマダニ成虫158匹 (雄67匹, 雌91匹) について、回帰熱群、ダニ媒介脳炎、及びSFTS病原体のスクリーニングはすべて陰性だった (表3)。しかし、紅斑熱群リケッチアは19検体 (12.0%)、ライム病群は44検体 (27.8%) がスクリーニング陽性となった。

野生動物吸血マダニでは、ダニ媒介脳炎ウイルス及び

表3 植生マダニ成虫のマダニ媒介感染症病原体遺伝子スクリーニング結果

マダニ種	n (%)	スクリーニング陽性数, n (%)				
		紅斑熱群リケッチア	ライム病群	回帰熱群	TBEV	SFTSV
ヤマトマダニ	115 (100)	4 (3.5)	44 (38.3)	0	0	0
ヒトツトゲマダニ	21 (100)	13 (61.9)	0	0	0	0
キチマダニ	10 (100)	1 (10.0)	0	0	0	0
ヤマトチマダニ	9 (100)	1 (11.1)	0	0	0	0
タイワンカクマダニ	3 (100)	0	0	0	0	0
計	158 (100)	19 (12.0)	44 (27.8)	0	0	0

TBEV: ダニ媒介脳炎ウイルス

SFTSV: 重症熱性血小板減少症候群ウイルス

表4 野生動物吸血マダニ成虫のマダニ媒介感染症病原体遺伝子スクリーニング結果

マダニ種	n (%)	スクリーニング陽性数, n (%)				
		紅斑熱群リケッチア	ライム病群	回帰熱群	TBEV	SFTSV
ヤマトマダニ	47 (100)	2 (4.3)	8 (17.0)	0	0	0
ヒトツトゲマダニ	26 (100)	20 (76.9)	0	0	0	0
キチマダニ	26 (100)	4 (15.4)	0	1 (3.8)	0	0
ヤマトチマダニ	11 (100)	4 (36.4)	0	0	0	0
タネガタマダニ	2 (100)	1 (50.0)	0	0	0	0
計	112 (100)	31 (27.7)	8 (7.1)	1 (0.9)	0	0

TBEV: ダニ媒介脳炎ウイルス

SFTSV: 重症熱性血小板減少症候群ウイルス

SFTSウイルスはすべてスクリーニング陰性だった (表4)。しかし、紅斑熱群リケッチアは31検体 (27.7%)、ライム病群は8検体 (7.1%)、回帰熱群は1検体 (0.9%) がスクリーニング陽性となった。

TBD病原体属特異的PCR及び塩基配列比較：スクリーニング陽性検体を対象としたリケッチア属あるいはボレリア属特異的PCR、及び得られた塩基配列のBLAST検索結果を表5に示す。本研究では、日本紅斑熱、ライム病、及び回帰熱の病原体遺伝子は検出されなかった。

リケッチア属の *gltA* 解析の結果、4種のリケッチア遺伝子が検出された (表5)。本研究でヤマトマダニから検出された配列4検体 (Acc番号 LC492756-LC492759)、ヒトツトゲマダニ及びヤマトチマダニから検出された配

表5 リケッチア属, ボレリア属特異的 PCR 及び塩基配列解析結果

マダニ種	性別	gltA		flaB	
		植生マダニ	野生動物吸血マダニ	植生マダニ	野生動物吸血マダニ
ヤマトマダニ	雄	1 (<i>R. asiatica</i>)	0	18 (<i>B. japonica</i>)	0
	雌	2 (<i>R. asiatica</i>)	1 (<i>R. asiatica</i>)	21 (<i>B. japonica</i>)	1 (<i>B. japonica</i>)
ヒトツトゲマダニ	雄	1 (<i>R. helvetica</i>)	1 (<i>R. helvetica</i>)	—	—
	雌	11 (<i>R. helvetica</i>)	17 (<i>R. helvetica</i>)	—	—
キチマダニ	雄	—	0	—	—
	雌	0	0	—	1 (<i>B. sp.</i>)
ヤマトチマダニ	雄	0	1 (<i>R. helvetica</i>)	—	—
	雌	—	2 (<i>R. sp.</i>)	—	—
タネガタマダニ	雄	—	—	—	—
	雌	—	1 (<i>R. monacensis</i>)	—	—

R.: *Rickettsia*, B.: *Borrelia*, —: PCR対象検体なし

数字は特異的 PCR 陽性数, 括弧内は BLAST 検索により塩基配列が 100%一致した種を示す。

列 31 検体 (Acc 番号 LC492760-LC492790) は, それぞれデータベース上の *Rickettsia asiatica* (Acc 番号 AP019563), *R. helvetica* (Acc 番号 LC379431) の配列と一致した。一方, ヤマトチマダニ *Haemaphysalis japonica* から検出された配列 2 検体 (Acc 番号 LC492791, LC492792) は, データベース上の *Rickettsia* sp. (Acc 番号 JQ697957) と同一であった。タネガタマダニ *Ixodes nipponensis* から検出された配列 1 検体 (Acc 番号 LC492793) は, *R. monacensis* (Acc 番号 KC993860) と一致した。植生マダニ, 野生動物吸血マダニの別を問わず, 同一マダニ種からは同一リケッチア種遺伝子が検出される傾向にあった。ヤマトチマダニからの *R. helvetica* 配列検出に関して, 当該マダニが吸血していたカモシカにはヒトツトゲマダニ 5 匹, キチマダニ 1 匹も吸血しており, うちヒトツトゲマダニ 4 匹からも *R. helvetica* 配列が検出されていた。

ボレリア *flaB* 解析の結果, 2 種のボレリア属菌遺伝子が検出された (表 5)。本研究でヤマトマダニから検出された配列 40 検体 (Acc 番号 LC492794-LC492833) は, 非病原性の *Borrelia japonica* (Acc 番号 D82853) [23] と配列が一致した。キチマダニから検出された配列 1 検体 (Acc 番号 LC492834) は, 現状では病原性が不明な *Borrelia* sp. (Acc 番号 LC170025) [24] と同一であった。

考 察

本研究により, 山形県における植生及び野生動物由来マダニ成虫は日本紅斑熱, ライム病, 回帰熱, ダニ媒介脳炎, 及び SFTS の病原体遺伝子を保有していないことが示唆された。一方, 一部のマダニから国内未報告のリケッチア感染症の病原体遺伝子が見出された。以上より, 山形県では国内既知の TBD は人に対する大いなる脅威とは言えないものの, 国内未報告の TBD を含め,

今後も TBD 症例発生に対する注意が必要であると考えられた。

地域内に分布するマダニ種を把握し, TBD 病原体保有状況を調査することは, 当該地域における TBD 発生の可能性を考察するための基礎情報となる。TBD の国内のおもな媒介種は結論が得られていない部分があるものの, 日本紅斑熱はチマダニ属, マダニ属, カクマダニ属が媒介マダニ候補としてあげられており, ヤマアランチマダニ *Haemaphysalis hystricis*, タイワンカクマダニの分布域と患者発生地域がおおむね一致するとされている [25]。また, ライム病及び回帰熱はシュルツェマダニ *Ixodes persulcatus*, ダニ媒介脳炎はシュルツェマダニ及びヤマトマダニ, SFTS はフタトゲチマダニ及びタカサゴキララマダニがおもな媒介種とされている [2, 18, 25]。本調査では, 日本紅斑熱媒介種候補のタイワンカクマダニの他, ダニ媒介脳炎媒介種のヤマトマダニが採取された。しかし, いずれのマダニも国内既知の TBD 病原体遺伝子は保有していなかった。今後, 国内の TBD 発生の全体像を考察するために, 全国各地における同様の調査結果の蓄積が必要と考えられる。

本研究では, ヒトツトゲマダニ及びヤマトチマダニからは *R. helvetica*, タネガタマダニからは *R. monacensis* の *gltA* 塩基配列を検出した (表 5)。これらマダニ種は人を刺咬することを踏まえると [12], わが国においてもこれらリケッチア種による感染症が発生する可能性が否定できない。山形県以外の地域においても, 感染症法に定められている日本紅斑熱だけではなく, 他のリケッチア種も広範に検出可能な遺伝子学的手法を用いてリケッチア感染症疑い患者を検査していく必要がある [3, 8]。

国内において TBD の注目度が高まっている一方で, 近年のマダニ種の国内分布については情報が乏しい [17, 24]。そのような中, われわれは, 東北地方の一豪

雪地帯であり、県域の大半を山地が占める山形県ではマダニ属に属するマダニ種がおもに分布していることを示した。このことは、温暖な西日本でおもにチマダニ属マダニが分布している点と対照的である [17, 24]。山形県を含む東北地方ではチマダニ属マダニが少数派であるがゆえに [17]、チマダニ属が媒介種に含まれ西日本で発生が多い日本紅斑熱や SFTS [25] が未発生であることが考えられた。また、本調査により山形県南部で南方系のタイワンカクマダニが採取された (図 1)。われわれの知る限り、当該地点が現状のタイワンカクマダニ生息の北限であると考えられる。TBD を考えるうえでマダニ種の国内分布は必須の情報である。今後、全国におけるマダニの種構成の把握が進んでいくことが望まれる。

本研究では、野生動物を吸血するマダニを調査対象に含め、野生動物種によって吸血するマダニ種に偏りがある傾向を認めた (表 2)。今回は調査頭数が限られており生息場所や季節による偏りの可能性が否定できない他、野生動物死亡個体からのマダニの脱落により吸血マダニの分布が変化した可能性も考えられるが、マダニ種によって動物嗜好性が異なることの一端を示した結果とも考えられる [12]。本研究では、ニホンジカ及びイノシシは各 1 頭のみが調査対象となったが、これら野生動物は今後の県内生息数の増加が懸念されている。本調査を起点として、ニホンジカやイノシシを吸血するマダニの種構成の変化、特に TBD を媒介し得るマダニ種の山形県内への流入に注意を払っていく必要がある。

本研究には少なくとも 3 つの限界が存在する。はじめに、われわれは山形県に生息する無数のマダニの一部のみを調査したため、本結果により山形県内に国内既知の TBD 病原体を有するマダニがないということとはできない。次に、本研究では複数の TBD 病原体の調査を目的としたため、マダニ体内から DNA と RNA の両方を抽出した。したがって、DNA あるいは RNA に特化した抽出法に基づく追究に比べ病原体遺伝子の検出感度が劣っている可能性がある。最後に、本研究で対象とした野生動物由来マダニは吸血状態であるため、マダニ自身が病原体を垂直伝播している場合に加え、寄生動物の血液を介して病原体を水平保有するに至った可能性も考えられる。たとえば、*R. helvetica* はヒトツツゲマダニにおける垂直伝播が示唆されるが (表 5) [17]、本研究におけるヤマトチマダニからの *R. helvetica* 配列検出は、同マダニと同じ動物を吸血していたヒトツツゲマダニが保有する *R. helvetica* をヤマトチマダニが水平保有したことが原因と示唆される。このように、野生動物の遺伝子学的検査結果 (検出微生物種及び陽性率) の解釈には注意が必要と考えられる。

本研究により、マダニ属が優勢である山形県のマダニ

は国内既知の TBD 病原体遺伝子を保有していないことが示唆された。一方で、一部マダニ種から国内未報告のリケッチア感染症の病原体遺伝子が検出された。以上より、山形県において TBD が発生する可能性は否定できず、今後も県内での TBD 発生に対する警戒を解くべきではないと考えられた。

引用文献

- [1] Takahashi T, Maeda K, Suzuki T, Ishido A, Shigeoka T, Tominaga T, Kamei T, Honda M, Ninomiya D, Sakai T, Senba T, Kaneyuki S, Sakaguchi S, Satoh A, Hosokawa T, Kawabe Y, Kurihara S, Izumikawa K, Kohno S, Azuma T, Suemori K, Yasukawa M, Mizutani T, Omatsu T, Katayama Y, Miyahara M, Ijuin M, Doi K, Okuda M, Umeki K, Saito T, Fukushima K, Nakajima K, Yoshikawa T, Tani H, Fukushi S, Fukuma A, Ogata M, Shimojima M, Nakajima N, Nagata N, Katano H, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Yamagishi T, Oishi K, Kurane I, Morikawa S, Saijo M : The first identification and retrospective study of severe fever with thrombocytopenia syndrome in Japan, *J Infect Dis*, 209, 816-827 (2014)
- [2] Sato K, Takano A, Konnai S, Nakao M, Ito T, Koyama K, Kaneko M, Ohnishi M, Kawabata H : Human infections with *Borrelia miyamotoi*, Japan, *Emerg Infect Dis*, 20, 1391-1393 (2014)
- [3] Abdad MY, Abou Abdallah R, Fournier PE, Stenos J, Vasoo S : A concise review of the epidemiology and diagnostics of rickettsioses: *Rickettsia* and *Orientia* spp., *J Clin Microbiol*, 56, e01728-17 (2018), (online), (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6062794/>), (accessed 2019-07-30)
- [4] Parola P, Paddock CD, Socolovschi C, Labruna MB, Mediannikov O, Kernif T, Abdad MY, Stenos J, Bitam I, Fournier PE, Raoult D : Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach, *Clin Microbiol Rev*, 26, 657-702 (2013)
- [5] Ando S, Kurosawa M, Sakata A, Fujita H, Sakai K, Sekine M, Katsumi M, Saitou W, Yano Y, Takada N, Takano A, Kawabata H, Hanaoka N, Watanabe H, Kurane I, Kishimoto T : Human *Rickettsia heilongjiangensis* infection, Japan, *Emerg Infect Dis*, 16, 1306-1308 (2010)
- [6] Imaoka K, Kaneko S, Tabara K, Kusatake K, Morita E : The first human case of *Rickettsia tamurae* infection in Japan, *Case Reports in Dermatology*, 3, 68-73 (2011)
- [7] Kim YS, Choi YJ, Lee KM, Ahn KJ, Kim HC, Klein T, Jiang J, Richards A, Park KH, Jang WJ : First isolation of *Rickettsia monacensis* from a patient in South Korea, *Microbiol Immunol*, 61, 258-263 (2017)
- [8] Kawamori F, Shimazu Y, Sato H, Monma N, Ikegaya A, Yamamoto S, Fujita H, Morita H, Tamaki Y, Takamoto N, Su H, Shimada M, Shimamura Y, Masuda S, Ando S, Ohashi N : Evaluation of diagnostic assay for rickettsioses using duplex real-time PCR in multiple labo-

- ratories in Japan, *Jpn J Infect Dis*, 71, 267-273 (2018)
- [9] 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)
- [10] Schwaiger M, Cassinotti P : Development of a quantitative real-time RT-PCR assay with internal control for the laboratory detection of tick borne encephalitis virus (TBEV) RNA, *J Clin Virol*, 27, 136-145 (2003)
- [11] Yoshikawa T, Fukushi S, Tani H, Fukuma A, Taniguchi S, Toda S, Shimazu Y, Yano K, Morimitsu T, Ando K, Yoshikawa A, Kan M, Kato N, Motoya T, Kuzuguchi T, Nishino Y, Osako H, Yumisashi T, Kida K, Suzuki F, Takimoto H, Kitamoto H, Maeda K, Takahashi T, Yamagishi T, Oishi K, Morikawa S, Saijo M, Shimojima M : Sensitive and specific PCR systems for detection of both Chinese and Japanese severe fever with thrombocytopenia syndrome virus strains and prediction of patient survival based on viral load, *J Clin Microbiol*, 52, 3325-3333 (2014)
- [12] 江原昭三 : マダニ科, 日本ダニ類図鑑, 江原昭三編, 第1版, 145-161, 全国農村教育協会, 東京 (1980)
- [13] Roome A, Hill L, Al-Feghali V, Murnock CG, Goodsell JA, Spathis R, Garruto RM : Impact of white-tailed deer on the spread of *Borrelia burgdorferi*, *Med Vet Entomol*, 31, 1-5 (2017)
- [14] 田原研司, 藤澤直輝, 山田直子, 三田哲朗, 金森弘樹 : 島根半島弥山山地におけるニホンジカ密度管理による日本紅斑熱発生リスクの減少, *衛生動物*, 70, 79-82 (2019)
- [15] Uchida L, Hayasaka D, Ngwe Tun MM, Morita K, Muramatsu Y, Hagiwara K : Survey of tick-borne zoonotic viruses in wild deer in Hokkaido, Japan, *J Vet Med Sci*, 80, 985-988 (2018)
- [16] Kumagai Y, Sato K, Taylor KR, Zamoto-Niikura A, Imaoka K, Morikawa S, Ohnishi M, Kawabata H : A relapsing fever group *Borrelia* sp. is widely distributed among wild deer in Japan, *Ticks Tick-Borne Dis*, 9, 465-470 (2018)
- [17] Thu MJ, Qiu Y, Matsuno K, Kajihara M, Mori-Kajihara A, Omori R, Monma N, Chiba K, Seto J, Gokuden M, Andoh M, Oosako H, Katakura K, Takada A, Sugimoto C, Isoda N, Nakao R : Diversity of spotted fever group rickettsiae and their association with host ticks in Japan, *Sci Rep*, 9, 1500 (2019)
- [18] 西條政幸 : 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) 研究の話題, *ウイルス*, 68, 41-50 (2018)
- [19] 山口 昇 : 日本産マダニ上科の検索, *ダニ学の進歩*, 佐々 學編, 第1版, 451-472, 北隆館, 東京 (1977)
- [20] Takano A, Fujita H, Kadosaka T, Takahashi M, Yamauchi T, Ishiguro F, Takada N, Yano Y, Oikawa Y, Honda T, Gokuden M, Tsunoda T, Tsurumi M, Ando S, Andoh M, Sato K, Kawabata H : Construction of a DNA database for ticks collected in Japan: application of molecular identification based on the mitochondrial 16S rDNA gene, *Medical Entomology and Zoology*, 65, 13-21 (2014)
- [21] Gaowa, Ohashi N, Aochi M, Wuritu, Wu D, Yoshikawa Y, Kawamori F, Honda T, Fujita H, Takada N, Oikawa Y, Kawabata H, Ando S, Kishimoto T : Rickettsiae in ticks, Japan, 2007-2011, *Emerg Infect Dis*, 19, 338-340 (2013)
- [22] 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)
- [23] Takano A, Toyomane K, Konnai S, Ohashi K, Nakao M, Ito T, Andoh M, Maeda K, Watarai M, Sato K, Kawabata H : Tick surveillance for relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* in Hokkaido, Japan, *PLoS One*, 9, e104532 (2014), (online), (<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0104532>), (accessed 2019-07-30)
- [24] Furuno K, Lee K, Itoh Y, Suzuki K, Yonemitsu K, Kuwata R, Shimoda H, Watarai M, Maeda K, Takano A : Epidemiological study of relapsing fever borreliae detected in *Haemaphysalis* ticks and wild animals in the western part of Japan, *PLoS One*, 12, e0174727 (2017), (online), (<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0174727>), (accessed 2019-07-30)
- [25] 佐藤 梢, 高野 愛, 高娃, 安藤秀二, 川端寛樹 : ダニ媒介感染症 —国内に常在する感染症を主に—, *衛生動物*, 70, 3-14 (2019)

Surveillance of Tick-borne Disease Pathogens in Ticks in Yamagata
Prefecture, Japan

Junji SETO^{1)†}, Hideo HIGASHI²⁾, Shizuka TANAKA¹⁾, Nobuaki KOJO³⁾,
Yumena NAKAMURA³⁾, Tatsuya IKEDA¹⁾ and Katsumi MIZUTA¹⁾

- 1) *Yamagata Prefectural Institute of Public Health, 1-6-6 Toka-machi, Yamagata, 990-0031, Japan*
- 2) *Wildlife Workshop, 184-1 Yamadera, Yamagata, 999-3301, Japan*
- 3) *Wildlife Partnership Office-Yamagata Dormouse Research Group, 1-20-41-6 mezonS-B, Minamihara-machi, Yamagata, 990-2413, Japan*

SUMMARY

To investigate the possibility of tick-borne disease (TBD) occurrence in Yamagata, Japan, we attempted to detect the specific gene of TBD causative pathogens in 158 host-seeking adult ticks and 112 adult ticks biting wild animals in Yamagata from 2016 to 2018. Results revealed that all tick specimens were negative for the pathogens' gene of Japanese spotted fever, Lyme disease, tick-borne relapsing fever, tick-borne encephalitis, and severe fever with thrombocytopenia syndrome, all of which have been reported in Japan. In contrast, the specific gene sequence of *Rickettsia helvetica* was detected from 30 *Ixodes monospinosus* and a *Haemaphysalis japonica*. That of *Rickettsia monacensis* was detected from an *Ixodes nipponensis*. Results show that TBD known in Japan might not constitute a serious human health threat in Yamagata, but special attention is required to monitor the occurrence of TBD, including ones that have not been reported in Japan.

— Key words : Ixodes, rickettsial infection, tick, tick-borne disease, wild animals.

† Correspondence to : Junji SETO (Department of Microbiology, Yamagata Prefectural Institute of Public Health)
1-6-6 Toka-machi, Yamagata, 990-0031, Japan
TEL 023-627-1373 FAX 023-641-7486 E-mail : setoj@pref.yamagata.jp

— J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 73, 517 ~ 524 (2020)