



した。

## 2. マダニの採取と同定

マダニの採取は、70cm×70cmの白いフランネル布と約1 mの棒で旗を作成し、植生上のマダニを採取する旗振り法でマダニを採取した。成虫、若虫をピンセットで旗から回収し、小試験管に入れて研究室に持ち帰った。マダニは、-80℃の超低温槽で保存し、実体顕微鏡及び顕微鏡で同定を行った。

## 3. 紅斑熱群リケッチアの検出

マダニからのDNA抽出は、QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN) を用いた。リケッチア遺伝子の検出は、クエン酸合成酵素A (*gltA*) 遺伝子を標的としたStenosらのプライマー及びプローブを用い、リアルタイムPCR法で行った<sup>8)</sup>。リケッチアの遺伝子が検出された検体について、Hiraokaらの方法で*gltA*を標的としたPCRを実施し<sup>9)</sup>、そのPCR産物をダイレクトシーケンス法で遺伝子解析した。得られた遺伝子配列はBLAST検索で相同性検索を行い、種を同定した。

## 4. ライム病病原体の検出

マダニからのDNA抽出は、QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN) を用いた。ボレリア遺伝子の検出は、鞭毛遺伝子 (*flaB*) を標的としたNested-PCR法で行った<sup>10)</sup>。増幅された遺伝子は、ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定し、BLASTによる相同性検索で同定を行った。

# 結 果

## 1. 大分市佐賀関及び杵築市・日出町のマダニ相

大分市佐賀関では2属5種95個体のマダニ類が採取された。ヤマアラシチマダニが39個体と最も多かった。次いで、アカコッコマダニ22個体、タカサゴチマダニ17個体、キチマダニ11個体、フタトゲチマダニ6個体が採取された(表1)。

杵築市・日出町では3属6種143個体のマダニが採取された。最も多かったのがフタトゲチマダニの88個体であり、次いでキチマダニ49個体、ヤマアラシチマダニとタカサゴチマダニが2個体ずつ、タカサゴキララマダニとヤマトマダニが1個体ずつ採取された(表2)。

表1 大分市佐賀関におけるマダニの採取状況

マダニ種	2016年	2017年	2018年	計
ヤマアラシチマダニ	13	21	5	39
フタトゲチマダニ	3	2	1	6
タカサゴチマダニ	5	3	9	17
キチマダニ	1	1	9	11
アカコッコマダニ	0	13	9	22

表2 杵築市・日出町におけるマダニ採取状況

マダニ種	2016年	2017年	2018年	計
ヤマアラシチマダニ	0	1	1	2
フタトゲチマダニ	25	40	23	88
タカサゴチマダニ	0	0	2	2
キチマダニ	3	13	33	49
タカサゴキララマダニ	0	0	1	1
ヤマトマダニ	0	1	0	1

## 2. 大分市佐賀関及び杵築市・日出町のマダニが保有する紅斑熱群リケッチア

大分市佐賀関ではヤマアラシチマダニ39検体中7検体から紅斑熱群リケッチア遺伝子が検出され、このうち4件が日本紅斑熱の病原体である *R. japonica* であった。フタトゲチマダニ6検体中2検体から紅斑熱群リケッチア遺伝子が検出されたが、*R. japonica* ではなかった。種は同定していない。キチマダニ11検体中1検体から紅斑熱群リケッチア遺伝子が検出され、*R. japonica* であった。アカコッコマダニ22検体中2検体から紅斑熱群リケッチア遺伝子が検出され、いずれも不明な種であった（表3）。

杵築市・日出町ではフタトゲチマダニ88検体中2検体から紅斑熱群リケッチア遺伝子が検出されたが、*R. japonica* ではなかった。種は同定していない。キチマダニ49検体中3検体から紅斑熱群リケッチア遺伝子が検出され、いずれも *R. japonica* であった（表4）。

表3 大分市佐賀関におけるマダニからの紅斑熱群リケッチア遺伝子検出状況

マダニ種	検体数	紅斑熱群 リケッチア	<i>R. japonica</i>	不明
ヤマアラシチマダニ	39	7	4	0
フタトゲチマダニ	6	2	0	0
タカサゴチマダニ	17	0	—	—
キチマダニ	11	1	1	0
アカコッコマダニ	22	2	0	2

表4 杵築市・日出町におけるマダニからの紅斑熱群リケッチア遺伝子検出状況

マダニ種	検体数	紅斑熱群 リケッチア	<i>R. japonica</i>
ヤマアラシチマダニ	2	0	—
フタトゲチマダニ	88	2	0
タカサゴチマダニ	2	0	—
キチマダニ	49	3	3
タカサゴキララマダニ	1	0	—
ヤマトマダニ	1	0	—

## 3. 大分市佐賀関及び杵築市・日出町のマダニが保有するボレリア

大分市佐賀関ではアカコッコマダニ22検体中4検体からボレリア遺伝子が検出され、いずれも *Borrelia turdi*（以下、*B. turdi*）であった。

杵築市・日出町ではフタトゲチマダニ88件中37件がボレリア遺伝子陽性と判定したが、弱陽性のため遺伝子配列が決定できず、ボレリアとは確定されていない。ヤマトマダニ1件中1件からボレリア遺伝子が検出され、*Borrelia japonica* (以下、*B. japonica*) であった (表5)。

表5 大分市佐賀関地域におけるマダニからのボレリア遺伝子検出状況

マダニ種	検体数	ボレリア	<i>B. turdi</i>
ヤマアラシチマダニ	39	0	—
フタトゲチマダニ	6	0	—
タカサゴチマダニ	17	0	—
キチマダニ	11	0	—
アカコッコマダニ	22	4	4

表6 杵築市・日出町におけるマダニからのボレリア遺伝子検出状況

マダニ種	検体数	ボレリア	<i>B. japonica</i>
ヤマアラシチマダニ	2	0	—
フタトゲチマダニ	88	37	—*
タカサゴチマダニ	2	0	—
キチマダニ	49	0	—
タカサゴキララマダニ	1	0	—
ヤマトマダニ	1	1	1

\* 遺伝子配列未決定

## 考 察

2004年に大分県で初めて日本紅斑熱患者1名が報告された。我々は患者が感染したと推定された津久見市とその周辺の臼杵市、佐伯市のマダニの調査を行った。この地域のマダニ相はフタトゲチマダニ、タカサゴチマダニが優勢な地域で、日本紅斑熱の病原体である *R. japonica* を媒介するとされるヤマアラシチマダニやキチマダニは採取されず、*R. japonica* も検出されなかった<sup>19)</sup>。2008年から2011年にかけて上記3地点に加えて、国東市、杵築市についても調査したが国東地域はフタトゲチマダニが主要なマダニ相であり、ヤマアラシチマダニは採取されず、キチマダニが3個体採取された。採取したマダニから *R. japonica* は検出されなかった<sup>12)</sup>。2013年にはマダニのSFTSウイルス保有状況を調査する目的で、県内18全市町村を対象に各地域2~4カ所でマダニを調査し392個体のマダニを採取した。大分県全体のマダニ相は、フタトゲチマダニが299個体と最も優勢で、次いでキチマダニ40個体、タカサゴチマダニ25個体であった。ヤマアラシチマダニは中津市で2個体、日出町で2個体しか採取されなかった。キチマダニは別府市で26個体採取され、その他7市町村で少数採取された<sup>13)</sup>。今回の調査で大分市佐賀関のマダニ相がヤマアラシチマダニとアカコッコマダニが優勢であったが、県内でも特異なマダニ相である。これらのマダニは豊予海峡に突き出た佐賀関半島で採取されており、地形的に他の地域からある程度隔離された地域である。アカコッコマダニは県内で初めて採取したが主に鳥類を宿主とするダニである。この地域に渡り鳥が多く飛来することが推測される。大分市佐賀関で採取されたヤマアラシチマダニ4個体から *R. japonica* が検出されたが、本種は西日本の日本紅斑熱患者発生地での有力の媒介種<sup>14) - 16)</sup> であり、本県においても主要な媒介種と思われる。また、キチマダニ1個体から

*R. japonica* が検出された。患者が発生していない杵築市・日出町のキチマダニ 3 個体からも検出されている。県内にはキチマダニが多く分布している地域があるが日本紅斑熱患者は報告されていない。キチマダニがどの程度ヒトへの感染に関与しているか不明である。

ライム病患者が発生した周辺地域である杵築市・日出町のマダニから日本のライム病の主な病原体である *Borrelia garinii* や *Borrelia afzelii* は検出されなかった。ヤマトマダニ 1 個体から *B. japonica* が検出されたが、このボレリアはヤマトマダニ固有であり、弱病原性または非病原性とされている<sup>17)</sup>。大分市佐賀関で採取されたアカコッコマダニ 4 個体から *B. turdi* が検出されたが、このボレリアは日本ではアカコッコマダニ固有であり、病原性は不明である<sup>17)</sup>。今回の調査で、九重山系以外にもボレリアを保有するマダニが分布することが明らかとなったが、ライム病との関連は不明である。今後も継続した調査が必要である。

## 謝 辞

マダニの採取、分類、病原体遺伝子の検出にご協力いただいた大分県衛生環境研究センターの加藤聖紀氏、発酵食品学科の宇垣真人、岡田佳那子、佐藤静佳、清木 卓、平川裕太、福森裕太、宮本莉奈、山田陣太郎、山本貴士、入杉周作、小野貴章、鹿島英人、新名龍馬、船蔵辰也の各氏に深く感謝します。

## 参考文献

- 1) 馬原文彦、古賀敬一、沢田誠三、谷口哲三、重見文雄、須藤恒久、坪井義昌、大谷 明、小山 一、内山恒夫、内田孝宏：わが国初の紅斑熱リケッチア感染症，感染症学雑誌，59，1165-1172 (1985)
- 2) Uchida T., Uchiyama T., Kumano K., Walker D.H.: *Rickettsia japonica* sp. nov., the etiological agent of spotted fever group rickettsiosis in Japan. Int. J. Syst. Bacteriol., 42, 303-305 (1992)
- 3) 国立感染症研究所：つつが虫病・日本紅斑熱 2007～2016，病原微生物検出情報，38 (6)，109-112 (2017)
- 4) 加藤聖紀、本田顕子、百武兼道、河口政慎、高木 崇：SFTS疑い症例からの *Rickettsia japonica* 検出 (大分県)，大分県衛生環境研究センター年報，41，37-39 (2013)
- 5) 高下純平、林田翔太郎、今木裕幸、光尾邦彦：視神経乳頭炎を呈した神経ボレリア症の 1 例，臨床神経学 55 (4)，248-253 (2015)
- 6) 中尾昌弘、石畝 史、矢野泰弘、高田伸弘：九州のマダニ相 (3) 九重山系に於けるマダニの調査及びボレリア分離の試み，衛生動物，47，35 (1996)
- 7) 石畝 史、高田伸弘：北九州とくに対馬と九重山系で得られたボレリアの性状，衛生動物，47，35 (1996)
- 8) Stenos, J., Graves, R.S. and Unsworth, B.N.: A highly sensitive and specific real-time PCR assay for the detection of spotted fever and typhus group rickettsiae., Am. J. Trop. Med. Hyg., 73 (6), 1083-1085 (2005)
- 9) Hiraoka, H., Shimada, Y., Sakata, Y., Watanabe, M., Itamoto, K., Okuda, M. and Inokuma, H.: Detection of rickettsial DNA in Ixodid tick recovered from dogs and cats in Japan, J. Vet. Med. Sci., 67 (12), 1217-1222 (2005)

- 10) 国立感染症研究所：ライム病（ライムボレリア）病原体検出マニュアル
- 11) 小河正雄、加藤聖紀、人見 徹、本田顕子：大分県におけるマダニの分布状況及びマダニからのリケッチアの検出（第1報），大分県衛生環境研究センター年報，37，19-23（2009）
- 12) 小河正雄、加藤聖紀、本田顕子：大分県におけるマダニの分布状況及びマダニからのリケッチアの検出（第2報），大分県衛生環境研究センター年報，39，19-22（2011）
- 13) 小河正雄，加藤聖紀，本田顕子，田中幸代：大分県内のマダニのSFTSウイルス保有状況，第22回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー，2014年7月5日
- 14) 稲荷公一，大瀬戸光明，近藤玲子，山下育孝，豊嶋千俊，井上博雄：愛媛県におけるマダニの分布状況及びマダニからの*Rickettsia japonica*の検出，愛媛県立衛生環境研究所年報(7)，5-12（2004）
- 15) 大迫英夫、古川真斗、徳岡英亮他：熊本県における日本紅斑熱の疫学調査，熊本県保健環境科学研究所報，41，27-33（2011）
- 16) 石畝 史、藤田博己、外川佳奈、矢野泰弘：福井県の日本紅斑熱発生地におけるベクターとリケッチアの調査，福井県衛生環境研究センター年報，14，61-63（2015）
- 17) 増澤俊幸：ライム病ボレリアの多様性，「ダニと新興再興感染症」SADI組織委員会，183-192（2007），全国農村教育協会