

17. 静岡県におけるマダニの分布相の変化から日本紅斑熱患者発生地域を予測する研究

- 大石 沙織（旧所属：静岡県環境衛生科学研究所 現所属：静岡県健康福祉部生活衛生局衛生課）
- 阿部 冬樹（旧所属：静岡県環境衛生科学研究所 現所属：静岡県動物管理指導センター）
- 小野田 伊佐子（静岡県環境衛生科学研究所）
- 有田 世乃（静岡県環境衛生科学研究所）

【研究目的】

静岡県内のヤマアラシチマダニの分布状況及び採取したヤマアラシチマダニの *Rickettsia japonica*（日本紅斑熱リケッチア、以下 *R. japonica*）保有状況に基づき、日本紅斑熱患者発生地域の予測を行うとともに、県民に対する注意喚起への活用の可能性について検討する。

【研究の必要性】

静岡県での日本紅斑熱患者の発生は、2000年に初めて患者が発生して以降、2015年からは毎年患者が発生しており、2021年7月末現在までに36名の患者が報告され、うち6名は死亡している。

日本紅斑熱は、*R. japonica* を保有するマダニに刺されることにより感染する。*R. japonica* 保有マダニは、経卵伝播により子孫にリケッチアを伝えるため、患者の発生地域は限られてきた。当所の過去の調査¹⁻⁶⁾では、患者発生地域近辺でヤマアラシチマダニが採取されており、両者の関係性が注目される。加えて、ヤマアラシチマダニの分布地域の拡大が認められることから、分布状況の変化及び *R. japonica* の保有状況を知ることは、日本紅斑熱の拡大の可能性を把握し、県民への効果的な注意喚起を行ううえで重要である。

【研究計画】

過去にマダニ採取を行った地点に加え、地形的特徴からヤマアラシチマダニの生息が予想される地点について、植生上のマダニを旗ずり法で採取し、形態的特徴から種類、ステージを同定する。採取したヤマアラシチマダニについて、*R. japonica* 遺伝子の保有状況を調査する。ヤマアラシチマダニの分布状況の変化と *R. japonica* 遺伝子検出状況を県民、医療関係者に情報提供する。

【実施内容・結果】

1 実施内容

1) マダニの分布状況調査

2021年3月から6月に、県内計51カ所で旗ずり法によりマダニの採取を行った。採取したマダニは実体顕微鏡下で、形態的特徴からマダニ種及び発育段階（成ダニ、若ダニ、幼ダニ）を同定した。

2) ヤマアラシチマダニからの *R. japonica* 遺伝子の検出及び遺伝子解析

成ダニは1匹を1検体、若ダニと幼ダニは1~5匹（同一場所で採取したもの）を1検体としQIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN) を用いてDNA抽出し、PCR用のテンプレートとした。紅斑熱群リケッチアに特異的な *gltA* 領域のPCR²⁾ を Blend Taq-Plus (東洋紡) を用いて行い、特異的なバンドが確認された検体を紅斑熱群リケッチア陽性検体とし、2種類の制限酵素 (Taq I 及び Rsa I) を用い、説明書に従って制限酵素処理を行った後、その切断パターンを *R. japonica* と比較した。

gltA 遺伝子陽性検体について、リケッチア属共通抗原である17kDa領域を標的とした nested PCR 法⁷⁾ を実施した。17kDa領域の379塩基について、ダイレクトシーケンス法により遺伝子配列を決定し、最尤法による系統樹解析を行った。系統樹解析には塩基配列解析ソフトウェア Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA 6.06) を用いた。

2 結果

1) マダニの分布状況調査

本調査では、2,758匹(3属11種)が採取され、優占種はフタトゲチマダニであり、1,493匹(54.1%)であった(表1)。ヤマアラシチマダニは78匹採取され、採取地点を図1に示した。

2) ヤマアラシチマダニからの *R. japonica* 遺伝子の検出及び遺伝子解析

ヤマアラシチマダニ78匹66検体のうち、28検体が紅斑熱群リケッチア陽性であったが、*R. japonica* と同じ切断パターンを示すものはなかった(表2)。なお、陽性28検体の切断パターンはすべて同一であった。

また、17kDa領域の遺伝子配列は、解析可能であった26検体のうち、25検体が同一であり、1検体で1塩基の置換が認められた。得られた2つの配列は、系統樹解析では同一の分枝に位置し、*R. japonica* とは異なる種であった。

表 1 マダニの採取状況

種	匹数 (ステージ*)
計	2,758 (563, 2,145, 50)

*マダニの成長段階。成ダニ、若ダニ、幼ダニの順に記載。

採取匹数	検査検体数	紅斑熱群リケッチア陽性検体数	<i>R. japonica</i> と同じ切断パターンを示した検体数
78	66	28	0

図 1 ヤマアラシチマダニの採取地点



表 2 ヤマアラシチマダニからの *R. japonica* 遺伝子検出

【考察と今後の課題】

当所の過去の調査¹⁻⁶⁾ および本研究におけるヤマアラシチマダニの採取地点ならびに日本紅斑熱患者の推定感染地域の推移を図 2 に示す。ヤマアラシチマダニは、1989-90 年には採取されなかったが、2000 年に沼津アルプス周辺で感染したと思われる静岡県内初の日本紅斑熱患者が確認された後、2008 年から沼津アルプス周辺で採取されるようになり、採取されたヤマアラシチマダニから *R. japonica* が分離された。その後、沼津アルプス周辺では 2013 年に 13 年ぶりに患者が発生すると、2015 年から毎年発生し、2017 年 9 月には関連のない人ら 5 名が異なる場所で 2 週間の間に相次いで発症した。現在までに沼津アルプス周辺では 9 名の患者が発生している。

浜名湖西側周辺では、2010 年以降ヤマアラシチマダニが採取されるようになり、約 10 年後の 2019 年に日本紅斑熱患者が発生した。

伊豆東部地域では、2015 年にヤマアラシチマダニが採取されるようになり、翌 2016 年に日本紅斑熱患者が発生した。その後、患者発生は隣県にまで拡大し、現在までにこの地域を推定感染地とする患者は 18 名（隣県居住者を含む）となっている。なお、この地域で過去の調査で採取されたヤマアラシチマダニからは *R. japonica* 遺伝子が検出されている。

今回の調査では、昨年初めて日本紅斑熱患者の発生があった伊豆南部地域で、ヤマアラシチマダニが初めて採取された。

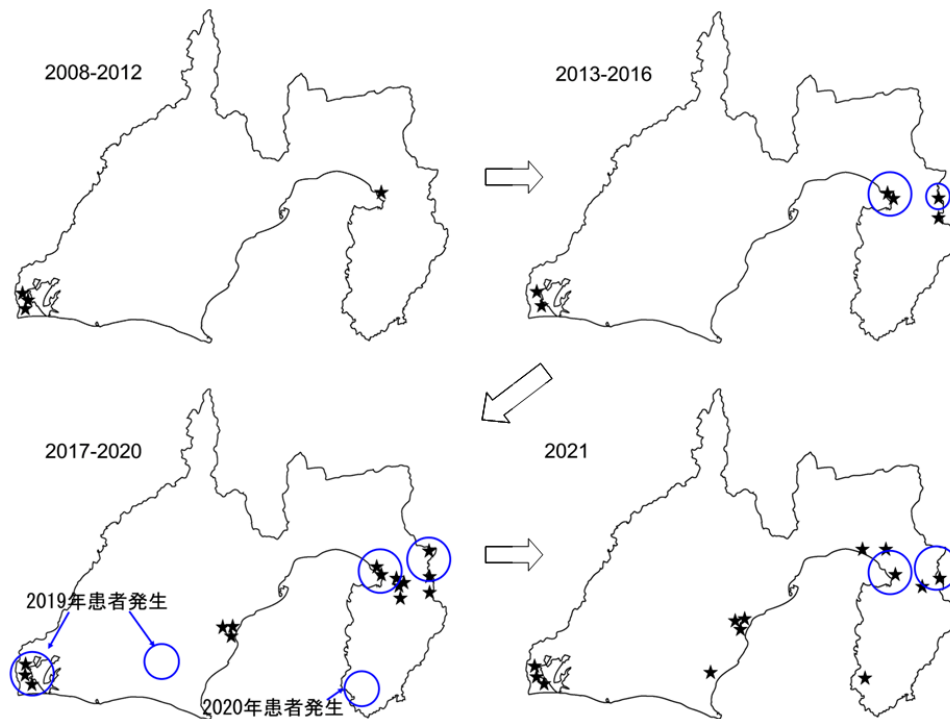


図2 ヤマアラシチマダニの採取地点と患者推定感染地域

★ ヤマアラシチマダニ採取地点

○ 患者の推定感染地域

今回の調査で採取された78匹のヤマアラシチマダニから *R. japonica* 遺伝子の検出を試みたが、検出されたリケッチアは、*R. japonica* とは異なるものであった。ヤマアラシチマダニにおいて *R. japonica* と他の非病原性リケッチアが共感染していると、両者の感染量によっては、非病原性リケッチアの遺伝子のみが増幅されてしまうことが報告されており、その識別方法についても検討がなされている⁸⁾。過去に *R. japonica* が検出された地域では、その後の患者の増加が起きていることから、採取したヤマアラシチマダニにおける共感染時の識別は、今後の患者発生動向を予測するためにも重要である。

2017年から、日本紅斑熱患者の発生のない中部地域でもヤマアラシチマダニが採取されるようになった。この地域は、2021年3月に県内初の重症熱性血小板減少症候群（以下、SFTS）患者発生があり、SFTSに対する医療機関の認知、関心は日本紅斑熱より高い。日本紅斑熱とSFTSは、早期診断と早期治療が重要であり、第1選択薬が明確になっている日本紅斑熱と、治療薬が未だ確定されていないSFTSとの鑑別は重要である。そのため、中部地域を対象とした医療関係者への日本紅斑熱患者発生リスクの周知や、早期の診断治療のための県民への注意喚起は必須となる。現在、静岡県では日本紅斑熱患者発生時に、県のホームページと報道機関を通じ注意喚起を行っている。今後は、患者の発生していない地域に向けた、よりわかりやすく危機感の伝わる注意喚起のため、今回の調査結果を基に作成したヤマアラシチマダニ分布図の活用等、患者発生リスクの見える化を図る、新たな注意喚起方法を展開していきたい。

【参考文献】

- 1) 川森文彦 マダニの採取・同定法および静岡県における採取状況 技術情報 10 (1) : 1-4, 1992
- 2) 川森文彦ら、静岡県東部におけるマダニの分布状況ならびにマダニ、野ネズミからの紅斑熱群リケッチアの検出 静岡県環境衛生科学研究所報告 No. 52:1-6, 2009
- 3) 川森文彦ら、静岡県中西部におけるマダニの分布状況ならびに紅斑熱群リケッチア浸淫状況 静岡県環境衛生科学研究所報告 No. 53:41-44, 2010
- 4) 池ヶ谷朝香ら、静岡県における重症熱性血小板減少症候群ウイルスの浸淫実態および媒介マダニに関する研究 静岡県環境衛生科学研究所報告 No. 58:35-38, 2015
- 5) 大石沙織ら、静岡県におけるマダニの日本紅斑熱リケッチア保有状況について 環境衛生科学研究所報告 No. 62:6-10, 2019
- 6) 大石沙織ら、静岡県における日本紅斑熱患者発生状況とマダニの分布域の変化病原微生物検出情報 Vol. 41 No. 8 (No. 486) , 2020
- 7) リケッチア感染症診断マニュアル (令和元年 6 月版)
- 8) 小野田瑛厘ら、マダニ内の *Rickettsia japonica* と非病原性 *Rickettsia* の識別検出 日本細菌学雑誌 75 (1) , 2020

【経費使途明細】

使 途	金額 (円)
調査旅費	4,400
PrepMan Ultra Sample Preparation Reagent	17,204
KOD FX Neo(東洋紡)	46,200
Blend Taq-Plus-(東洋紡)	55,440
Agarose S(和光)	15,048
PCR8 連チューブ&シングルフラットキャップ 0.2ml (BM 機器)	39,600
Tryptose Phosphate Broth solution	4,037
QIAamp DNA Mini Kit	115,761
振込手数料	2,310
合 計	300,000
大同生命厚生事業団 地域保健福祉研究助成	300,000