

福井県内のマダニにおける SFTS (重症熱性血小板減少症候群) ウイルス遺伝子の検索

石畝 史・宇田晶彦*1・森川 茂*1・大村勝彦・矢野泰弘*2・高田伸弘*2

Serveillance of Virus gene of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome in Tick of Fukui Prefecture

Fubito ISHIGURO, Masahiko UDA*1, Shigeru MORIKAWA*1,
Katsuhiko Omura, Yasuhiro YANO*2, Nobuhiro TAKADA*2

1. はじめに

わが国初の重症熱性血小板減少症候群 (severe fever with thrombocytopenia syndrome: SFTS) の患者が 2013 年 1 月に確認後¹⁾、西日本の各県から患者報告が続き²⁻⁴⁾、しかも、死亡率が高い傾向があることから全国的に注目された。これまでわが国ではマダニ媒介性ウイルス感染症は、北海道におけるダニ媒介性脳炎の 1 例⁵⁾のみであった。一方、SFTS については中国で 2009 年に患者報告があり、病因物質はフタトゲチマダニ *Haemaphysalis longicornis* (Hl) およびオウシマダニ *Boophilus microplus* が媒介する、SFTS ウイルスと特定されていたもの⁶⁻⁷⁾、国内におけるマダニの SFTS ウイルス保有状況調査は、患者発生がなかったことから全く実施されていなかった。

これまで県内におけるマダニ調査は、中部地方以北で発生が見られるライム病および 2004 年にわが国で初めて本県で患者が確認された紅斑熱群リケッチア症について、媒介種の分布調査およびそれらのマダニにおける病原体保有調査⁸⁻¹⁰⁾を行って来た。各々の媒介種は前者がシュルツェマダニ *Ixodes persulcatus* (Ip)、後者がヒトツトゲマダニ *I. monospinosus* (Im) であり、本県において生息する標高は前者が 1,000m 以上、後者が 400~1,200m であることから、フタトゲチマダニが生息する低い標高での調査は特に嶺北地方ではあまり実施して来なかった。そこで、今回、国立感染症研究所 (以下、感染研と略す) が主導する「SFTS 制圧にむけた相互的研究」に一部参画し、フタトゲチマダニが属するチマダニ属 *Haemaphysalis* を主に低山帯を中心にマダニ分布を調べ、さらに感染研においてマダニから SFTS ウイルス遺伝子の検出を試みた。

2. 材料および方法

2. 1 材料

2. 1. 1 調査期間および調査地域

2013 年夏季 (5~7 月) は福井県越前地区の浄法寺山①、吉峰寺②、城山③、越知山④、日野山⑤、鬼ヶ岳⑥、奥越地区の大師山⑦、勝山市谷のブナの道⑧、取立山⑨、赤兎山⑩、大長山⑪、飯降山⑫および若狭地区の野坂岳⑬、三方石観世音⑭および百里ヶ岳 (鯖街道) ⑮の計 15 ヶ所で延べ 17 回実施した (図 1)。同年秋季 (9~10 月) には、夏季の調査で SFTS ウイルス遺伝子保有マダニが確認された浄法寺山、城山、大師山、野坂岳および三方石観世音の 5 ヶ所の他に、奥越地方の荒島岳⑯を追加して実施した。

合計すると 16 ヶ所で延べ 23 回実施した。調査地域の標高は約 50~800m の地域が 13 ヶ所および 1,100m 以上が 3 ヶ所であった。

2. 1. 2 材料

フランネル法により植生上から採集したマダニ 985 個体を成書¹¹⁻¹²⁾を参考に同定し、そのうち成虫 111 個体、若虫 544 個体および幼虫 40 個体の計 695 個体をウイルス遺伝子検査に供した。成虫は個別に、若虫および幼虫は地域別および採集時期別に 2~5 個体プールして 1 検体とした。なお、遺伝子検査に供したマダニは、6 月末までの採集個体は -80°C に凍結保存した個体、7 月以降は生存した個体を用いた。

2. 2 方法

2. 2. 1 マダニからの RNA の直接抽出

マダニの入った破砕チューブに Isogen II (NipponGene) を添加し、BEATER (家田貿易) で破砕後、水を加え激しく混和し、夾雑物を遠心沈澱させた。回収した上清から DNA、タンパク質、ポリサッカライド等を除去するために、p-Bromoanisole (Wako) を添加して遠心除去を行った。得られた RNA 抽出用液を濃縮するために、2-プロパノールおよびエタ沈メイトを添加混和し、遠心上清を取り除き、75% エタノールを添加・上清除去を 2 回繰り返して、乾燥させた。20μL の水を添加・溶解後、ナノドロップ (LMS 社) で RNA 濃度を測定し、用事まで -80°C で保存した。

2. 2. 2 抽出された SFTS ウイルスの RNA の PCR

マダニから抽出した RNA の 1/10 量を、SFTS ウイルスの S セグメントを標的とする MGB プローブを用いたリアルタイム RT-PCR で検査し、10 コピー/reaction 以上) を陽性とした。



図 1 マダニ採集地
(番号毎の地名は本文中に示す)

*1 国立感染症研究所獣医科学部

*2 福井大学医学部

表1 マダニ採集結果

採集地	標高(m)	採集月日	Hl		Hf		Hm		Hk	Hj		At		Dt	Io	Ip	Im
			成虫	若虫	成虫	若虫	成虫	若虫	成虫	成虫	若虫	成虫	若虫	成虫	成虫	成虫	成虫
鯖街道	200~500	5月25日	1	18		1	1	20 ¹⁾	5								
三方石観世音	50~100	5月25日	1	58		1		6 ²⁾	5			3					
		10月14日		2 ³⁾	2	4	29	46 ⁴⁾									
野坂岳	200~400	5月25日		58	1		1	40	4			1					
		10月14日		2 ⁵⁾	1	6	10	34 ⁶⁾									
浄法寺山	350~600	6月1日			1	20		4				1	1	1			
		10月6日				6											
城山	200~400	6月1日		2	2	20						1			5		
		10月6日				9											
大師山	150~550	6月8日			1	49 ⁷⁾				1		5	2	2			
		9月28日				7											
越知山麓	350~500	6月9日		9	3	37						6					
飯降山	200~600	6月16日			5	35					1	1	4	4			
吉峰寺	100~200	6月22日			2		1					1		2			
日野山	100~800	6月29日	2	9	8	40				1	7	6	9				1
		7月7日	1	1	5	9	1	1			11	5	10	1			
谷 ブナの道	500~700	7月10日				1				1			1	8			
取立山	1,000~	7月10日			1	2				1					13	7	1
	1,300	7月26日			2	4									29		
鬼ヶ岳	100~550	7月20日	7	4 ⁸⁾		1							1				
赤兎山	1100~1,600	7月21日											1	18	1		
大長山	1,400~1,600	7月21日												16	2 ⁹⁾		
荒島岳	500~800	9月29日				2	1			1							

その他の採集個体：幼虫；1) 1個体 2) 20個体 3) 3個体 4) 20個体 5) 5個体 6) 20個体 7) 20個体 8) 20個体 若虫；9) 1個体

Hl: フタトゲチマダニ、Hf: キチマダニ、Hm: オオトゲチマダニ、Hk: ヒゲナガチマダニ、Hj: ヤマトチマダニ

At: タカサゴキララマダニ、Dt: タイワンカクマダニ、Io: ヤマトマダニ、Ip: シュルツエマダニ、Im: ヒトツトゲマダニ

3. 結果

3. 1 採集マダニ種

3. 1. 1 夏季および秋季採集分

採集個体はチマダニ属ではHl、キチマダニ *H. flava* (Hf)、オオトゲチマダニ *H. megaspinosa* (Hm)、ヒゲナガチマダニ *H. kitaokai* (Hk) およびヤマトチマダニ *H. japonica* (Hj) の5種類、マダニ属 (*Ixodes*) ではIp、Im および *I. ovatus* (Io) の3種類、その他にタカサゴキララマダニ *Amblyomma testidinarium* (At) およびタイワンカクマダニ *Dermacentor taiwanensis* (Dt) の計4属10種類であった。

地域別、採集時期別、種類別および発育段階別に採集個体数を表1に示す。夏季ではフタトゲチマダニが7地点、キチマダニが13地点、オオトゲチマダニが6地点、ヒゲナガチマダニが3地点、タカサゴキララマダニが9地点およびタイワンカクマダニが7地点から採集できた。また、成虫が10個体以上採集できたのは、フタトゲチマダニ、キチマダニ、ヒゲナガチマダニ、タカサゴキララマダニ、タイワンカクマダニなどで、このうち若虫が100個体以上採集できたのは前二者のみであった。秋季ではフタトゲチマダニが2地点、キチマダニが6地点およびオオトゲチマダニが3地点から採集できた。成虫が10個体以上採集できたのはオオトゲチマダニのみで、若虫で30個体以上採集できたのはキチマダニおよびオオトゲチマダニであった。合計すると成虫269個体、若虫607個体および幼虫109個体であった。

種類別にみるとヒゲナガチマダニは若狭地区のみで採集でき、オオトゲチマダニは若狭地区で優勢で、フタトゲチマダニは県東北部で確認されなかった。一方、大型種のタイワンカクマダニとタカサゴキララマダニは比較的広範囲で得られた。

3. 1. 2 夏季と秋季採集分の比較

夏と秋の両季に採集した5地点のうち、大師山、浄法寺山および城山の3地点は、秋季はいずれの地点でもキチマダニ若虫6~9個体のみで、フタトゲチマダニなど3種類は採集できなかった。一方、若狭地区の野坂岳および三方石観世音では、秋はヒゲナガチマダニなど2種類が採集できず、フタトゲチマダニ若虫が2個体ずつの採集であったのに対し、オオトゲチマダニ成虫は10個体と29個体、同若虫は34個体と46個体採集できた(表1)。

3. 2 SFTS ウイルス遺伝子

3. 2. 1 SFTS ウイルス遺伝子保有状況

SFTS 遺伝子ウイルス検出マダニ種は夏季ではフタトゲチマダニ若虫、キチマダニ若虫、オオトゲチマダニ若虫、ヒゲナガチマダニ♂およびタイワンカクマダニ♀の4種類で、計7検体であった(表2~3)。即ち、陽性検体はフタトゲチマダニ若虫143個体をプールした(以下、「プールした」を略す)30検体中1検体、キチマダニ若虫201個体の41検体中3検体、オオトゲチマダニ若虫66個体の14検体中1検体、ヒゲナガチマダニ成虫6検体中1検体(16.7%) およびタイワンカクマダニ成虫19検体中1検体(6.3%)であった。なお、タカサゴキララマダニは、

表2 マダニにおけるSFTSウイルス遺伝子検査結果

採集地	採集月	Hl		Hf			Hm			Hk	Hj		At		Dt	Io	Im
		成虫	若虫	成虫	若虫	幼虫	成虫	若虫	幼虫	成虫	成虫	若虫	成虫	若虫	成虫	成虫	成虫
鯖街道	5月	0/1	0/4 ¹⁾				0/1 ²⁾	0/4/20		0/2							
	5月		0/12/58					0/2/6	0/4/20	1/3							
三方石観世音	10月		1/1/2	0/2	1/1/4		10/24	2/10/43									
							41.7%	4.7~16.3%									
野坂岳	5月		1/12/58	0/1			0/1	1/8/40		0/1							
			1.7~8.6%					2.5~12.5%									
浄法寺山	10月		1/1/2	0/1	1/2/6		2/10	2/7/34									
							20.0%	5.9~26.5%									
城山	6月			0/1	0/4/20										1/1		
	10月				0/2/6												
大師山	6月			0/2	1/4/20											0/5	
					5.0~25%												
越知山麓	10月				1/2/9												
					2/10/49	0/4/20				0/1	0/1/4	0/2	0/2				
					4.1~20.4%												
飯降山	9月				1/2/7												
吉峰寺	6月			0/3	0/8/37									0/2/6			
日野山	6月			0/5	0/7/35								0/1	0/1	0/4	0/4	
ブナの道	6月															0/2	
取立山	6月	0/2	0/2/9	0/8	0/8/40					0/1	0/7	0/2/6	0/9	0/9	0/1		
鬼ヶ岳	7月									0/1				0/1			
赤兎山	7月	0/1													0/1		
荒島岳	7月														0/1		
	9月									0/1							

1) 陽性数/検体数(プール) /マダニ個体数 2) 陽性数/検体数

成虫 8 個体および若虫 17 個体すべて陰性であった。

一方、秋季ではフタトゲチマダニ若虫、キチマダニ若虫、オオトゲチマダニ成虫および若虫の 3 種類で、計 22 検体であった(表2~3)。即ち、陽性検体はフタトゲチマダニ若虫 4 個体の 2 検体中 2 検体、キチマダニ若虫 32 個体の 9 検体中 4 検体、オオトゲチマダニ成虫 34 個体中 12 個体 (35.3%)、同若虫 77 個体の 17 検体中 4 検体であった。夏季に陽性個体が確認された 5 地点のうち 4 地点で陽性個体が確認された。プール検体から検出された若虫における SFTS ウイルス遺伝子保有率は、たとえば、夏季のフタトゲチマダニは野坂岳では 1.7~8.6%であった。また、キチマダニは夏季の城山で 5.0~25%および夏季の大師山では 4.1~20.4%、オオトゲチマダニは野坂岳では夏季は 2.5~12.5%および秋季は 5.9~26.5%、および秋季の三方石観世音では 4.7~16.3%であった(表2)。

3. 2. 2 検出コピー数

SFTS 遺伝子が検出された夏季の 7 検体のコピー数/reaction は、フタトゲチマダニは 23.6、キチマダニは 30.6、38.7 および 35.5、オオトゲチマダニは 60.7、ヒゲナガチマダニは 26.3 およびタイワンカクマダニは 64.3 で、7 検体すべてが 10²未満のコピー数であった。

一方、秋季の 22 検体のコピー数/reaction は、フタトゲチマダニは 458 および 449、キチマダニは 18.2~908、オオトゲチマダニ成虫は 11.7~353 が 9 検体および 1,110~4,990 が 3 検体、同若虫は 324~30,500 であった。

表3 マダニ種別のSFTSウイルス遺伝子保有状況

マダニ種	採集月	成虫	若虫 ¹⁾
フタトゲチマダニ	5~7月	0/4	1/32/147 ²⁾
	10月	-	2/2/4
キチマダニ ³⁾	5~6月	0/20	3/41/201
	9~10月	0/3	4/9/32
オオトゲチマダニ ³⁾	5月	0/2	1/14/66
	10月	12/34	4/17/77
ヒゲナガチマダニ	5月	1/6	
ヤマトチマダニ	6~9月	0/1	0/4/4
タイワンカクマダニ	6~7月	1/19	
タカサゴキララマダニ	6月	0/8	0/6/17
ヤマトマダニ	6月	0/13	
ヒトツトゲマダニ	6月	0/1	

1) 若虫と幼虫は2~5個体で1検体(プール検体)

2) 陽性数/検体数/検査個体数 3) 幼虫 0/4/20

4. 考察

SFTS ウイルスは 3 分節の 1 本鎖 RNA を有する RNA ウイルスであり、クリミア・コンゴ出血熱ウイルス¹³⁾ などと同じブニヤウイルス科でフレボウイルス属に分類され

る¹⁴⁾。ブニヤウイルス科に共通して見られる性質から、SFTS ウイルスは酸や熱に弱く、消毒用アルコールや台所用洗剤、紫外線の照射によって急速に失活すると考えられている¹⁵⁾。

感染研が SFTS ウイルス遺伝子保有種¹⁶⁾としたマダニ5種（フタトゲチマダニ、キチマダニ、オオトゲチマダニ、ヒゲナガチマダニおよびタカサゴキララマダニ）が本県内で再確認でき、南方系のタカサゴキララマダニおよびタイワンカクマダニの生息も広いことが新たに判明した。

夏季と秋季のマダニ採集結果を比較すると、大師山、浄法寺山および城山の3地点では、キチマダニ若虫が夏季に比べ秋季はかなり少なく、さらに夏季に採集できた他の3～4種類のマダニは全く採集できなかった。一方、若狭地方の野坂岳および三方石観世音では、秋季はヒゲナガチマダニ、タカサゴキララマダニおよびフタトゲチマダニは採集できないか、あるいは極めて少数しかできなかったものの、オオトゲチマダニ成虫は両地域で、同若虫は三方石観世音では夏季に比べ多く採集できたのが特筆される。

感染症発生動向調査で届けられた SFTS 症例の概要（2013年1月1日～12月25日）では、40名の患者報告があり、そのうち5月に12名、次いで7月に8名、8月に5名と、5月にピークを示していることから、春～夏に刺咬される機会が多いことを示している¹⁷⁾。

ちなみに、フタトゲチマダニの季節的消長については仙台市内の公園における調査報告¹⁸⁾がある。それによると、若虫は5月から現れ7月にピークを示し9月まで活動している。また、成虫は7月と8月にのみ採集されており、今回の若狭地方の成績は同様の結果が得られたと思われる。

フタトゲチマダニにおける SFTS ウイルス遺伝子保有状況については、中国の SFTS 患者発生地域の2か所の調査によると、Hubei 地区では牛、山羊および犬などへの寄生個体、および茶畑での採集個体では 10/2,432 (0.41%)、Henan 地区では 8/1,066 (0.75%) で、非発生地区の個体を含めたプール検体では 18/365 (4.9%) であった⁷⁾。今回の夏季のフタトゲチマダニ若虫における保有率は野坂岳では 1.7～8.6%であった。また、検査個体数が多かったキチマダニ若虫およびオオトゲチマダニ若虫における保有率は、最小に想定した場合、前者は 4.1～5.0%、後者は 2.5～5.9%の範囲でこれら3種類のマダニにおける保有率は同様と思われた。しかし、地区ごとにみると調査個体数はまだ少ないものの、現時点では、これらのマダニのうち、ヒト嗜好性の高いフタトゲチマダニおよびキチマダニには特に注意を要すると思われた。

SFTS ウイルス遺伝子保有コピー数/reaction は、夏季は7検体ともに 10²未満であったが、秋季ではフタトゲチマダニは 10²台、キチマダニは 10²および 10³台が各2検体、およびオオトゲチマダニは 10³が5検体および 10⁴が1検体など、秋季の方が高い傾向をみた。

今後は、SFTS ウイルスの生息域が拡大していると考えられることから¹⁹⁾、今回検査できなかったシュルツェマダニおよび SFTS ウイルス遺伝子が確認されなかったタカサゴキララマダニを含め、さらなる調査が必要と思われた。

5. まとめ

2013年夏季および秋季に、県内の山間部16地点において、延べ23回、マダニ採集を試み、SFTS ウイルス遺伝子検出も行った。その結果、4属10種類985個体のマダニ

が採集でき、695個体の遺伝子検査を行った。SFTS ウイルス遺伝子が陽性となったマダニは、フタトゲチマダニ、キチマダニ、オオトゲチマダニ、ヒゲナガチマダニおよびタイワンカクマダニの2属5種であった。県内にも広く分布するタカサゴキララマダニについては、今回、陽性個体は確認できなかった。

参考文献

- 1) 西條政幸他：国内で初めて診断された重症熱性血小板減少症候群患者，病原微生物検出情報，34，40-41(2013)
- 2) 西條政幸他：国内で初めて確認された重症熱性血小板減少症候群(SFTS)患者に続いて後方視的に確認された2例，病原微生物検出情報，34，108-109(2013)
- 3) 下島昌幸他：日本における重症熱性血小板減少症候群，ウイルス，63，7-12(2013)
- 4) 井内新他：フタトゲチマダニ刺咬後に早期診断され良好な経過をたどった重症熱性血小板減少症候群の1例，病原微生物検出情報，34，207-208(2013)
- 5) Takahashi et al : A case of tick-borne encephalitis in Japan and isolation of the virus, J Clin Microbiol, 35, 1943-1947(1997)
- 6) Yu XJ et al : Fever with thrombocytopenia associated with a Novel Bunyavirus in China, N Engl J Med, 364,1523-1532(2011)
- 7) Yu XJ et al : The ecology, genetic diversity, and phylogeny of Huaiyangshan Virus in China, J Virol,86,2864-2868(2012)
- 8) 石畝 史他：福井県におけるマダニ類の分布相とライム・ボレリア保有状況，ダニ学会誌，1，27-35(1992)
- 9) Survey of the vectorial competence of ticks in an Endemic area of spotted fever group rickettsioses in Fukui prefecture, Japan, Microbiol Immunol, 52, 305-309(2008)
- 10) 石畝 史他：福井県の紅斑熱群発生に係るベクターと病原リケッチアの調査，福井県衛環研年報，7，46-49(2009)
- 11) 高田伸弘：病原ダニ類図譜，金芳堂，105-132(1990)
- 12) 藤田博己他：日本産マダニの種類と幼弱期の検索，ダニと新興再興感染症（SADI組織委員会編集），全国農村教育協会，53-68(2007)
- 13) 高島郁夫：ダニ媒介性ウイルス感染症，Med Entomol Zool, 64, 61-66(2013)
- 14) Lu J et al : Expression of structural and non-structural proteins of severe with thrombocytopenia syndrome bunyavirus, Bing Du Xue Bao, 27, 515-520 (2011)
- 15) 岸本壽男他：最近のダニ媒介性疾患—マダニ媒介の SFTS (重症熱性血小板減少症候群)，日本内科学会雑誌，102, 2846-2853(2013)
- 16) 森川 茂他：＜速報＞重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルスの国内分布調査結果(第一報) 病原微生物検出情報，34, 303-304(2013)
- 17) <http://www.nih.go.jp/niid/ja/diseases/sa/sfts.html>
- 18) 大竹秀男，重症熱性血小板減少症候群(SFTS)とその媒介マダニについて，公衆衛生情報みやぎ，424, 5-9(2013)
- 19) 前田 健：重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルスの分離から最新の知見まで，化学療法の領域,30, 291-304(2014)