

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

石畝 史^{*3}・藤田博己^{*1, 3}・外川佳奈・矢野泰弘^{*2}・高田伸弘^{*2, 3}

Survey of vectors and pathogens in an endemic area of Japanese spotted fever in Fukui Prefecture, Japan

Fubito ISHIGURO^{*3}, Hiromi FUJITA^{*1, 3}, Kana TOGAWA, Yasuhiro YANO^{*2}, Nobuhiro TAKADA^{*2, 3}

1. はじめに

日本紅斑熱は1984年に徳島県で確認されて以来、南西日本を中心に発生し¹⁻²⁾、患者は増加傾向にある³⁾。そうの中で、日本海側をみれば従来から島根県の島根半島の西部で多発していたものが⁴⁾、2007年からは鳥取県東部で発生が確認されるようになり⁵⁾、2014年8月に兵庫県北部でも初めて患者が確認された⁶⁻⁷⁾。

そういう状況下、2014年9月中旬に三州健康福祉センター管内で本県初となる日本紅斑熱の感染が報告された。患者の概況および同年10月～2015年3月に実施した発生地区および周辺地域のマダニの分布相、さらにマダニからの紅斑熱群リケッチア (spotted fever group rickettsiae : SFGR) の分離状況は既報⁷⁻⁸⁾に報告したが、今回はその後実施した患者発生地区の調査結果の概要を報告する。

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

2015年5月、7月、9月および11月に嶺南の患者発生地区の4～5箇所を調査対象とした。いずれの箇所も海岸から約100m～1.5km (標高数m～約100m) にあり、普通の里山麓の小道や森林内であった。

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 951 個体を成書を参考に分類同定した上で⁹⁻¹⁰⁾、5月採集分 206 個体中の 154 個体、7月採集分 272 個体中の 214 個体、9月採集分 206 個体中の 166 個体、および11月採集分 267 個体中の 218 個体、以上合計 752 個体を生菌分離に供した。また、同年3月の分離株のタイワンカクマダニ由来株 (DT-2) およびタカサゴキララマダニ由来株 (AT-102) も材料とした。

2. 2 方法

2. 2. 1 マダニからの SFGR 生菌分離

マダニからの SFGR の分離は、既報¹¹⁾のとおり実施した。マダニ表面を 0.01% イソジン加 70% エタノールで消毒後、1% 牛胎児血清加 0.01M PBS (pH 7.2) で 5 分間洗浄した。その後、SPG (sucrose phosphate glutamate) で乳剤とした各内臓を L929 細胞で培養し 2～4 週間観察した。

2. 2. 2 分離株の同定

単クローン抗体 (*Rickettsia japonica* 種特異的 C3、紅斑熱群特異的 S3、X1、F8)¹²⁾、および *Rickettsia Tamurae*

のマウス抗血清¹³⁻¹⁴⁾に対する反応性を調べ、同定の目安とした。

3. 結果

3. 1 採集されたマダニ種

3. 1. 1 マダニ種

採集できたマダニは 951 個体で、チマダニ属のヤマアラシチマダニ *Haemaphysalis hystricis*、フタトゲチマダニ *Haemaphysalis longicornis*、キチマダニ *Haemaphysalis flava*、タカサゴチマダニ *Haemaphysalis formosensis*、オオトゲチマダニ *Haemaphysalis megaspinosa* およびヒゲナガチマダニ *Haemaphysalis kitaokai* の他に、タイワンカクマダニ *Dermacentor taiwanensis*、およびタカサゴキララマダニ *Amblyomma testudinarium* の 3 属 8 種であった (表 1)。採集月別にみると、5 月はオオトゲチマダニおよびヒゲナガチマダニ以外の 6 種、7 月はそれに加えたタカサゴチマダニ以外の 5 種、9 月はタカサゴチマダニおよびヒゲナガチマダニ以外の 6 種、および 11 月は 8 種全てが採集できた。

3. 1. 2 発育段階別のマダニ種

発育段階別にみると、成虫はいずれの月も比較的少ないものの、7 月にヤマアラシチマダニが 16 個体および 11 月にキチマダニが 12 個体採集できたのが目立った。若虫はいずれの月も採集できたのはヤマアラシチマダニ、キチマダニおよびタカサゴキララマダニの 3 種類で、特に多かったのは 5 月のヤマアラシチマダニおよび 11 月のキチマダニであった。幼虫はいずれの月も採集できたのはヤマアラシチマダニのみであった。クラスター (孵化後の幼虫塊) 数は採集月およびマダニ種により異なるが、1～5 のクラスターが確認された (表 1)。それらのクラスターについては、各々数十個体までの採集に留めた中、個体数が特に多かったのは 5 月のタカサゴキララマダニ、7 月と 9 月のキチマダニ、9 月のヤマアラシチマダニおよび 11 月のタカサゴチマダニであった。全体では成虫は 4.1%、若虫は 30.8% および幼虫は 65.1% であった。

3. 1. 3 主要マダニ種における時季別採集頻度

採集個体数が多かったキチマダニ、ヤマアラシチマダニ、フタトゲチマダニ、タカサゴチマダニおよびタカサゴキララマダニの 5 種類について、成虫、若虫および幼虫を合計して時季別の採集頻度を図に示す (図 1)。なお、3 月分の採集成績は既報から引用した。3 月、7 月、9 月および 11 月はキチマダニの頻度が高く、特に 7 月は約 80% を占めた。その一方、5 月はタカサゴキララマダニとヤマアラシチマダニがほぼ同じ頻度であった。

患者が感染したと思われる 9 月の採集成績をみると、成虫はヤマアラシチマダニ ♀ 1 個体のみで、若虫はキチマダニおよびヤマアラシチマダニが各 4 個体、幼虫はキチマダニ

*1 馬原アカリ医学研究所 (徳島県阿南市)

*2 福井大学医学部

*3 医学野外研究支援会 (MFSS)

表1 日本紅斑熱患者発生地におけるマダニ採集成績

採集月日	Hf				Hfo		Hh				Hk	Hl				Hm				Dt			At	
	♀	♂	N	L	N	L	♀	♂	N	L	♀	♀	N	L	♀	♂	N	L	♀	♂	L	N	L	
5月3日		1	34		5	8	1		41	19			21						2	4	6	64 ²⁾		
7月15日			9	208 ²⁾			11	5	11	15 ¹⁾		1	8					2					2	
9月4日			4	127 ¹⁾			1		4	52 ¹⁾				12			1				4		1	
11月1日	4	8	122	16	11	61 ²⁾				2	1		14	1	1	8	5			6	6		1	
計	4	9	169	351	16	69	13	5	56	88	1	1	29	26	1	1	8	6	2	2	14	15	65	

1) 1～2のクラスターを確認 2) 4～5のクラスターを確認、N：若虫、L：幼虫、Hf；キチマダニ、Hfo；タカサゴチマダニ、Hh；ヤマアラシチマダニ、Hk；ヒゲナガチマダニ、Hl；フタトゲチマダニ、Hm；オオトゲチマダニ、Dt；タイワンカクマダニ、At；タカサゴキララマダニ（以下、略号は同じ）

表2 日本紅斑熱患者発生地のマダニにおけるSFGR分離個体数

採集月日	Hf				Hfo		Hh				Hk	Hl				Hm				Dt			At	
	♀	♂	N	L	N	L	♀	♂	N	L	♀	♀	N	L	♀	♂	N	L	♀	♂	L	N	L	
5月3日		1	31		5	5	1		40	10			21						2	4	5	29 ²⁾		
7月15日			9	166			11 ¹⁾	5	4	7		1	7					2				2		
9月4日			4	103			1		4	38			11								4	1 ¹⁾		
11月1日	4	8	116	14	11	26				1	1		11	1	1	8	5				5	6 ¹⁾		
計	4	9	160	283	16	31	13	5	48	56	1	1	28	22	1	1	8	5	2	2	13	14	29	

1) 各1個体からSFGRを分離 2) 2個体からSFGRを分離

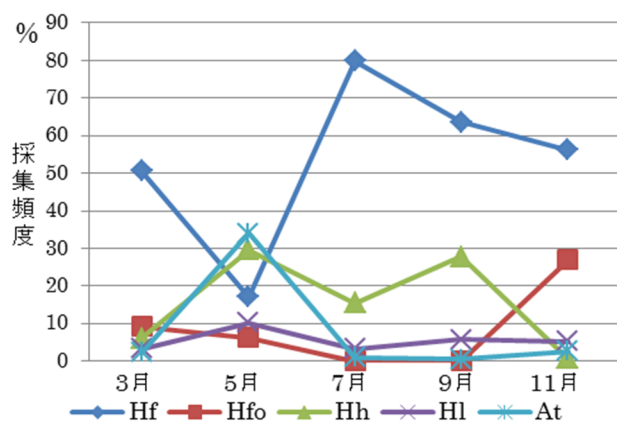


図1 主要マダニにおける時季別採集頻度
—成虫・若虫・幼虫の合計—

ニが最も多く、次いでヤマアラシチマダニ、フタトゲチマダニであった。

3. 2 SFGR 分離状況 & 分離株の性状

3. 2. 1 SFGR 分離状況

リケッチア分離に供したのは、成虫、若虫および幼虫の合計で示すと、キチマダニが 456 個体、次いでヤマアラシチマダニが 122 個体、フタトゲチマダニが 51 個体、タカサゴチマダニが 47 個体およびタカサゴキララマダニが 43 個体などであった。そのうち、リケッチアが分離できたのは、ヤマアラシチマダニでは 7 月の 11 個体中♀1 個体、タカサゴキララマダニでは 5 月の幼虫 29 個体中 2 個体、9 月および 11 月の若虫各 1 個体であった（表 3）。

3. 2. 2 単クローン抗体等の反応性

ヤマアラシチマダニ由来株（HH-30）およびタイワンカクマダニ由来株（DT-2）は 4 種類の単クローン抗体全てに陽性であったことから、*R. japonica* と推定された（表 4）。また、タカサゴキララマダニ由来 4 株（AT-102～104, 107）は、*R. tamurae* のマウス抗血清に対する反応性から *R. tamurae* と推定された。なお、11 月のタカサゴキララマダニ若虫由来株については未同定である。

表3 日本紅斑熱発生地のマダニにおけるSFGR分離状況

マダニ種	成虫	若虫	幼虫	計
キチマダニ	0/13	0/160	0/283	0/456
ヤマアラシチマダニ	1/18	0/48	0/56	1/122
フタトゲチマダニ	0/1	0/28	0/22	0/51
タカサゴチマダニ	-	0/16	0/31	0/47
タカサゴキララマダニ	-	2/14	2/29	4/43
タイワンカクマダニ	0/4	-	0/13	0/17
オオトゲチマダニ	0/2	0/8	0/5	0/15
ヒゲナガチマダニ	0/1	-	-	0/1
計	1/39	2/274	2/439	5/752

表4 分離株におけるモノクローナル抗体および
R. tamurae のマウス抗血清に対する反応性

供試株 および由来	モノクローナル抗体				マウス抗血清
	紅斑熱群特異的		R.j 特異的		抗・
	S3	X1	F8	C3	<i>R. tamurae</i>
福井株 HH-30 ヤマアラシチマダニ	+	+	+	+	160
DT-2 タイワンカクマダニ	+	+	+	+	320
AT-102～104 107 タカサゴキラマダニ	+	+	—	—	10240
標準株					
<i>R. japonica</i>	+	+	+	+	160
<i>R. tamurae</i>	+	+	—	—	10240
<i>R. helvetica</i>	+	+	—	—	<40

4. 考察

ヤマアラシチマダニおよびタカサゴキララマダニから SFGR が分離された。過去に *R. japonica* が分離されて日本紅斑熱の媒介種と言われるヤマアラシチマダニ、フタトゲチマダニおよびキチマダニ¹⁵⁻¹⁶⁾のうち、今回は、ヤマアラシチマダニから *R. japonica* と推定される株が生菌分離された。ヤマアラシチマダニについては熊本県上天草地区

では196個体中2個体から *R. japonica* が分離されている¹⁷⁾など、西日本の患者発生地で媒介種として有力視されている一種である。福井県の患者が感染したと推定される9月の採集では、成虫はヤマアラシチマダニ1個体のみで、若虫もヤマアラシチマダニおよびキチマダニが各4個体などと少なかった。一方、幼虫はヤマアラシチマダニおよびキチマダニのクラスターが確認された。ひとつのクラスターからの採集個体数は10数個体までとし、それぞれ50個体以上、100個体以上採集でき、ヤマアラシチマダニはキチマダニに次いで多く採集できた。分離結果と併せてヤマアラシチマダニは当地でも媒介有力種として考えられた。

一方、フタトゲチマダニおよびキチマダニの2種からは分離できなかったが、今回の成虫の検査個体数が、それぞれ1個体、13個体と少なかったためかも知れない。ちなみに、島根半島のフタトゲチマダニ585個体中16個体から *R. japonica* 遺伝子が検出されている^{4, 18)}。また、三重県志摩半島において *R. japonica* 遺伝子が検出されて媒介の可能性が言われるツノチマダニ *Haemaphysalis cornigera*²⁾は今回も採集されなかった。

タカサゴキラマダニでは若虫14個体中2個体および幼虫29個体中2個体から *R. tamurae* と推定される株が分離された。同マダニ由来株は藤田ら¹⁵⁾およびMotoi *et al*¹⁹⁾の報告により *R. tamurae* と推定され、このリケツチア感染例は島根県で1例報告²⁰⁾されていること、さらにヒト嗜好性が高い種類であることから注意が必要である¹⁵⁾。

前年度の調査結果を併せると、患者発生地ではタイワンカクマダニ幼虫72個体中1個体およびヤマアラシチマダニ成虫18個体中1個体から *R. japonica* と推定される株、タカサゴキラマダニ幼虫29個体中2個体および若虫23個体中3個体から *R. tamurae* と指定される株が分離されたことになる。

5. まとめ

2015年5月～11月に4回、日本紅斑熱発生地区にてマダニを採集してSFGRの分離を試みた。その結果、4属8種の951個体が採集できた。SFGRの分離は752個体について試みたところ、ヤマアラシチマダニ1個体およびタカサゴキラマダニ4個体からSFGRが分離でき、前者は *R. japonica*、後者は *R. tamurae* と推定された。

謝辞

本研究の一部は、平成27年度厚生労働省科学研究費補助金(新興再興感染症研究事業)により実施した。

参考文献

- 1) 御供田睦代、濱田まどか他：鹿児島県におけるつが虫及び日本紅斑熱について、鹿児島県環境保健センター所報, **14**, 50-52 (2013)
- 2) 高田伸弘：三重県志摩半島に多発する紅斑熱、その感染環と環境要因、厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業—リケツチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築—平成20年度総括・分担研究報告, 85-101 (2009)

- 3) つが虫病・日本紅斑熱 2006～2009, IASR, **31**, 120-122 (2010)
- 4) Tabara, K., Kawabata, H. et al : High incidence of Rickettsiosis correlated to prevalence of *Rickettsia japonica* among *Haemaphysalis longicornis* tick, J Vet Med Sci, **73**, 507-510 (2011)
- 5) 白井僚一、松本尚美他：鳥取県における日本紅斑熱, IASR, **31**, 130-131 (2010)
- 6) 高田伸弘：地域特性に伴う多様な感染環調査～シモコシ型や南方系の恙虫病および日本海側の紅斑熱～、厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業—ダニ媒介性細菌感染症の診断・治療体制構築とその基盤となる技術・情報の体系化に関する研究—平成26年度総括・分担研究報告書, 93-98 (2015)
- 7) 高田伸弘、清水達人他：福井県南部で初確認できた紅斑熱の速報、若狭湾地方の環境要因と症例比較から、衛生動物, **69**, 60 (2015)
- 8) 石畝史、藤田博己他：福井県の紅斑熱発生に係るベクターと病原リケツチアの調査、福井県衛環研年報, **7**, 46-49 (2009)
- 9) 高田伸弘：病原ダニ類図譜, 金芳堂, 107-130
- 10) 藤田博己、高田伸弘：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)
- 11) Takada, N., Fujita, H. et al : First isolation of *arickettsia* closely related to Japanese spotted fever pathogen from a tick in Japan, J Med Entmol, **31**, 183-185 (1994)
- 12) Oikawa, Y., Takada, N. et al : Identity of pathogenic strains of spotted fever rickettsiae isolated in Shikoku District based on reactivates to monoclonal antibodies, Jpn J Med Sci Biol, **46**, 45-49 (1993)
- 13) 藤田博己、渡辺小百合他：日本産マダニ類から分離された紅斑熱群リケツチア, ダニと疾患のインターフェイス, SADI 組織委員会編, YUKI 書房, 142-149 (1994)
- 14) Takada, N., Fujita, H. et al : First records of tick-borne pathogens, *Borrelia*, and spotted fever group rickettsiae in Okinawajima Island, Japan, Microbiol, Immunol, **45**, 163-165 (2001)
- 15) 藤田博己、高田伸弘：マダニ類から検出されるリケツチアの多様性, 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, 129-139 (2007)
- 16) 馬原文彦：マダニ媒介性疾患を考える～日本紅斑熱の現況と SFTS の出現～, モダンメディア, **60**, 13-20 (2014)
- 17) 大迫英夫、古川真斗他：熊本県における日本紅斑熱の疫学調査, 熊本県保健環境研究所所報, **41**, 27-33 (2011)
- 18) 田原研司：島根半島における日本紅斑熱 (*Rickettsia japonica*) の感染リスクとニホンジカの影響, JVM, **65**, 817-822 (2012)
- 19) Motoi, Y., Asano, M. et al : Detection of *Rickettsia tamurae* DNA in ticks and wild boar (*Sus scrofa leucomystax*) skin in Shimane Prefecture, Japan, J Vet Med Sci, **75**, 263-267 (2013)
- 20) Imaoka, K., Kaneko, S. et al : The first human case of *Rickettsia tamurae* infection in Japan, Case Rep Dermatol, **3**, 68-73 (2011)