

福岡県内に生息するダニ類の病原体保有状況に関する研究

石橋哲也*・中山志幸**・緒方健*・山崎正敏*・世良暢之*・千々和勝己*

福岡県内における日本紅斑熱、ツツガムシ病の病原体リケッチアの野外での分布状況を調べるために、過去に患者発生が報告された地域を含む山林周辺のマダニ類及び野ネズミの捕獲調査を実施した。144個体のマダニ類及び捕獲した35個体の野ネズミから3,372個体のツツガムシ類が採取された。マダニ類と野ネズミについて紅斑熱群リケッチアとツツガムシ病リケッチアの遺伝子検出検査を行ったが、いずれの検体からも遺伝子は検出されなかった。全てのマダニ類及びツツガムシ類について同定を行った結果、ツツガムシ病を媒介するタテツツガムシ、フトゲツツガムシが、また、日本紅斑熱を媒介するキチマダニ、タカサゴチマダニ、フタゲチマダニ等が確認されたため、今後も調査が必要だと考えられる。

[キーワード：日本紅斑熱，ツツガムシ病，マダニ，野ネズミ]

1 はじめに

我が国においてダニによってヒトに媒介される重要な疾患としてツツガムシ病、日本紅斑熱がある。ツツガムシ病は、ツツガムシが保有する *Orientia tsutsugamushi* によって引き起こされ、全国で毎年400名前後の患者発生が報告されている。また、日本紅斑熱はマダニ類が保有する *Rickettsia japonica* によって引き起こされ、1984年に始めて報告されて以来関東以西で毎年50名前後の患者発生が報告されている^{1) 2)}。福岡県内では、ツツガムシ病患者は、1986年の初めての報告以来ほぼ毎年散発的ではあるが報告されている。また、日本紅斑熱患者も2005年に始めて報告されている。我々は福岡県内でのリケッチア症発生の背景を知るためにマダニ類及び野ネズミのリケッチア保有状況と野ネズミに寄生するツツガムシ相の調査を行ったのでその結果について報告する。

2 方法

2・1 ダニ採取

平成20年5月から11月にかけて合計5回、宗像市孔大寺山周辺、田川市ロマンスが丘周辺及び前原市一貴山川上流域においてフランネル布を用いた flagging 法（旗振り法）により山林周辺の下草等の植生上のマダニ類を採取した。

2・2 野ネズミ捕獲及びツツガムシ類の採取

平成20年11月から平成21年3月にかけて太宰府市北谷地区、筑紫野市平等寺地区を中心に県内6地域の山林周

辺部や耕作放棄農地においてシャーメントラップによる野ネズミの捕獲を行った^{3) 4)}。捕獲した野ネズミは、脾臓を摘出後耳介を切除し、懸垂法により2～3日放置しツツガムシを採取した。また、切除した耳介は密閉ガラス容器に2～3日放置後離脱したツツガムシを採取した。

2・3 ダニの分類

採取したマダニ及びツツガムシは、直接またはプレパラートを作成し鏡検により分類・同定を行った。⁵⁾

2・4 リケッチア検査

採取したマダニ類は、藤田の方法⁶⁾に従いイソジン加エタノールで約10分消毒後洗浄し、ホールスライドグラス上でガラス棒を用いて腹部を圧迫し内容物の抽出を行った。5匹分の内容物を合わせたものを元に、市販キット QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて DNA 抽出を行った。野ネズミの脾臓は PBS(-) で約10%乳剤とした後遠心分離を行い得られた上清5件をプールし、ダニ内容物と同様のキットで DNA 抽出を行った。紅斑熱群リケッチアは、1st-PCR は R1/R2プライマーセット⁷⁾、2nd-PCR は R1/R2プライマーセット及び Rr17.61p/434nプライマーセット⁸⁾、ツツガムシリケッチアは1st-PCR は55/34プライマーセット、2nd-PCR は11/10プライマーセット⁹⁾ をそれぞれ用いた。得られた PCR 産物を2%アガロース電気泳動で目的とするバンドの有無を確認し、疑わしいバンドが確認された検体については塩基配列の解析により確認を行った。

*福岡県保健環境研究所

(〒818-0135 福岡県太宰府市大字向佐野39)

**福岡県筑紫保健福祉環境事務所

(〒816-0943 福岡県大野城市白木原3-5-25)

3 結果及び考察

採取したマダニ類及び野ネズミから採取したツツガムシ類の種類個体数を表1及び表2に示した。マダニ類は3属7種、144個体採取された。キチマダニ（図1）が79匹で最も多く、次いでタカサゴチマダニ33個体、フタトゲチマダニ（図2）23個体の順であった（未同定1個体）。一方、捕獲された野ネズミ35個体は全てアカネズミであった。アカネズミに付着していたツツガムシ類は6属14種、3,372個体であった。フジツツガムシが1,777個体で最も多く、次いでタテツツガムシ（図3）422個体、フクオカツツガムシ334個体の順であった。

表1 マダニ類採取結果

属	種	成ダニ		若ダニ	幼ダニ	計
		♀	♂			
チマダニ属	キチマダニ	4	5	69	1	79
	タカサゴチマダニ			33		33
	フタトゲチマダニ	5		15	3	23
	ヤマアラシチマダニ	1		1		2
マダニ属	アカコッコマダニ	1		1	1	3
	ヤマトマダニ		2			2
キララマダニ属	タカサゴキララマダニ			1		1



図1 キチマダニ（若ダニ）

マダニ類の体液を元に行った遺伝子検査の結果、紅斑熱群リケッチアを検出する R1/R2プライマーにより6検体からバンドが検出されたが、いずれも Rr17.61p/434nプライマーでは検出されず日本紅斑熱リケッチアではなかった。検出された6検体についてシークエンスを行い得られた塩基配列を検索した結果、登録されているリケッチアとの相同性は低かった。今後、紅斑熱群リケッチアの他の領域に設定されたプライマーを用いて同定していくことが課題である。

捕獲した野ネズミの脾臓抽出液を元に行った遺伝子検査の結果、ツツガムシ病リケッチア、紅斑熱群リケッチアのいずれの遺伝子も検出されなかった。ツツガムシ病リケッチアはフトゲツツガムシ（図4）タテツツガムシ



図2 フタトゲチマダニ（若ダニ）



図3 タテツツガムシ（幼ダニ）



図4 フトゲツツガムシ（幼ダニ）

によって媒介される。

今回の調査では、上記2種類のツツガムシが合計494個体確認されたが、豊前市で採取された1個体を除いた493個体が過去にツツガムシ病患者が発生した太宰府市北谷周辺、筑紫野市平等寺地区、朝倉市杷木志波地区で捕獲された野ネズミがら採取された。このことよりこれらの地域では、今回の調査ではリケッチア遺伝子を保有して

いる野ネズミは検出されなかったが、今後もツツガムシ病患者が発生する可能性が示唆された。また、採取したマダニ類からは日本紅斑熱リケッチアは検出されなかった。しかし、採取数が多かったキチマダニ、タカサゴチマダニ、フタトゲチマダニはいずれも日本紅斑熱リケッチアを媒介することが指摘されているため、今後も監視が必要と考えられる。

4 まとめ

福岡県内で過去にツツガムシ病、日本紅斑熱が発生した地域を中心としたマダニ類及び野ネズミと付着しているツツガムシ類の調査を行った。144匹のマダニ類及び35頭の野ネズミと3,372匹のツツガムシ類が採取された。マダニ類、野ネズミの脾臓からは日本紅斑熱リケッチア、ツツガムシ病リケッチア遺伝子は検出されなかった。しかし、病原体を媒介するタテツツガムシ、フトゲツツガムシ、キチマダニ、タカサゴチマダニ、フタトゲチマダニが採取され今後もリケッチア症患者発生の可能性が示唆された。

謝辞

今回の調査に日本紅斑熱リケッチア DNA 及びツツガ

(英文要旨)

Survey of Rickettsia of Tick-borne Diseases in Fukuoka Prefecture

Tetsuya ISHIBASHI, Shiko NAKAYAMA, Takeshi OGATA, Masatoshi YAMASAKI,
Nobuyuki SERA and Katsumi CHIJIWA

*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,
Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan*

To investigate the presence of rickettial pathogens in ticks from fields in Fukuoka prefecture, 144 ticks were collected by flagging and 35 field mice were collected using Sharman Traps. There were 3,372 larval trombiculid mites detected on field mice. There were no ticks showing the DNA of *Rickettsia japonica*. There were no field mice showing the DNA of *Orientia tsutsugamushi*. However certain kinds of ticks that can transmit *Rickettsia japonica* or *Orientia tsutsugamushi* were found.

[Key words ; Japanese spotted fever, Tsutsugamushi disease, Tick, Field Mouse]

ムシ病リケッチア DNA を供与していただいた、宮崎県衛生環境研究所山本正悟氏に深謝します。

文献

- 1) 国立感染症情報センター：病原微生物検出情報月報，259，1-2，2001.
- 2) 国立感染症情報センター：病原微生物検出情報月報，312，1-2，2006.
- 3) 山崎正敏：臨床とウイルス，15（3），373-382，1987.
- 4) 福吉成典：臨床とウイルス，15（3），383-390，1987.
- 5) SACI 組織委員会：ダニと新興再興感染症，2007.
- 6) 厚労科研費新興・再興感染症研究事業平成19年度総括・分担研究報告書（リケッ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），131-136，2008.
- 7) 日本感染症学会：感染症学雑誌，70（6），561-568，1996.
- 8) H. Noda et al. : AEM, 63（10），3926-3932，1997.
- 9) 国立感染症研究所・地方衛生研究所全国協議会：リケッチア診断マニュアル，2001.

表2 ツツガムシ分類結果

No.	採集年月日	採集場所	宿主名 種名	ツツガムシ科 Trombiculidae										計	種数			
				カニヒラツツガムシ属 <i>Gnathocetrans</i>	カンサツツガムシ属 <i>Leptocrombium</i>	キヤリツツガムシ属 <i>Leptocrombium</i>	タチツツガムシ属 <i>Leptocrombium</i>	クサツツガムシ属 <i>Leptocrombium</i>	アキツツガムシ属 <i>Leptocrombium</i>	アキツツガムシ属 <i>Leptocrombium</i>	アキツツガムシ属 <i>Leptocrombium</i>	アキツツガムシ属 <i>Leptocrombium</i>	アキツツガムシ属 <i>Leptocrombium</i>			アキツツガムシ属 <i>Leptocrombium</i>		
No.1	2008.11.26	本郷市大字北谷 (豊原山)	アカネズミ ♀	44	7	11	4	9	34								109	6
No.2	2008.11.26	本郷市大字北谷 (豊原山)	アカネズミ ♀	96	1	30	3	2	17								149	6
No.3	2008.11.26	本郷市大字北谷 (豊原山)	アカネズミ ♀		4	5		3									12	3
No.4	2008.12.3	本郷市大字北谷	アカネズミ ♂	40	135	3	20	1	8							6	296	9
No.5	2008.12.3	本郷市大字北谷	アカネズミ ♀	5	16	6			30								57	4
No.6	2008.12.3	本郷市大字北谷	アカネズミ ♀	1	57	12	10		95						12		187	6
No.7	2008.12.3	本郷市大字北谷	アカネズミ ♀						28								28	1
No.8	2008.12.3	本郷市大字北谷	アカネズミ ♀	11	21	21	9	10	106								179	7
No.9	2008.12.3	本郷市大字北谷	アカネズミ ♂	34	179	1	47	3	8							1	343	9
No.10	2008.12.16	本郷市大字北谷 (赤土村)	アカネズミ ♀		32	34	3		116								189	6
No.11	2008.12.16	本郷市大字北谷 (赤土村)	アカネズミ ♀		28	3			154								185	3
No.12	2009.2.18	網走市北谷	アカネズミ ♀	7			62		92							3	164	4
No.13	2009.2.18	網走市北谷	アカネズミ ♂				2		80								82	2
No.14	2009.2.18	網走市北谷	アカネズミ(死亡) ♂				5		85							4	94	3
No.15	2009.2.18	網走市北谷	アカネズミ ♂				3		102							3	108	3
No.16	2009.2.18	網走市北谷	アカネズミ(死亡) ♀	1		35	3		16							23	78	5
No.17	2009.3.10	網走市北谷	アカネズミ ♂			1			5							27	33	3
No.18	2009.3.10	網走市北谷	アカネズミ ♂			25			90							18	136	4
No.19	2009.3.10	網走市北谷	アカネズミ ♂	12	1	19	12	4	153						2		263	9
No.20	2009.3.10	網走市北谷	アカネズミ(死亡) ♀		2	4	1		61						6		98	7
No.21	2009.3.10	網走市北谷	アカネズミ ♀	7	3	15	1		98							24	148	7
No.22	2009.3.17	あやま山峠	アカネズミ ♀			4											4	1
No.23	2009.3.17	あやま山峠	アカネズミ ♀	13					8						1		43	4
No.24	2009.3.17	あやま山峠	アカネズミ ♀	1		3			28								33	4
No.25	2009.3.17	あやま山峠	アカネズミ ♀	3	2	6			1								12	4
No.26	2009.3.17	あやま山峠	アカネズミ ♀	22		9			106								137	3
No.27	2009.3.17	あやま山峠	アカネズミ ♀		1	4			19								24	3
No.28	2009.3.17	あやま山峠	アカネズミ ♀			18			15								34	2
No.29	2009.3.17	あやま山峠	アカネズミ ♀		4				3						1		8	3
No.30	2009.3.24	本郷市大字北谷	アカネズミ ♀				1		5								8	4
No.31	2009.3.26	あやま山峠 (赤土村)	アカネズミ(死亡) ♂				1		2						4		33	4
No.32	2009.3.26	あやま山峠 (赤土村)	アカネズミ(死亡) ♂	1					34						25		60	3
No.33	2009.3.26	あやま山峠 (赤土村)	アカネズミ ♀			1			9						1		12	4
No.34	2009.3.26	あやま山峠 (赤土村)	アカネズミ ♀			3			10						1		17	5
No.35	2009.3.26	あやま山峠 (赤土村)	アカネズミ ♂	2		2			1						2		7	4
				300	422	72	113	65	1777	208	14	8	10	7	3372	14		