

# 茨城県内の日本紅斑熱好発地域におけるマダニの活動時期および保有する病原体の網羅的解析について

衛生研究所 ○大澤修一 坪山勝平 阿部櫻子<sup>1)</sup> 本谷匠 上野絵里  
1) 県立中央病院

## 【背景と目的】

茨城県では、マダニ媒介性感染症 (TBD) として日本紅斑熱が 2019 年以降ほぼ毎年確認されており、2023 年には TBD と考えられるオズウイルス (OZV) 感染症が世界で初めて報告された。県内における日本紅斑熱の発生には地理的な特徴があり、特に県南地域で多く確認されている。また、イノシシの血清学的調査の結果、この地域では OZV の分布密度が他の地域よりも高いことが示唆されている<sup>1)</sup>。これらの知見から、茨城県では、県南地域における TBD 対策が最も重要と考えられる。本県では、日本紅斑熱の原因となる *Rickettsia japonica* (Rj) がヤマアラシチマダニ (*Haemaphysalis hystricis* : Hh)、OZV 感染症の原因となる OZV がタカサゴキララマダニ (*Amblyomma testudinarium* : At) から検出されている。効果的な TBD 対策には各マダニ種の季節的動態の把握が重要であるが、県南部の日本紅斑熱好発地域における各マダニ種の活動時期は不明である。そこで本研究では当該地域において Hh および At の活動期を明らかにすると共に、これらのマダニが保有する病原体を網羅的に解析し、感染リスクのある病原体を調査した。

## 【材料と方法】

### 1. マダニ採取

2024 年 3 月～2024 年 12 月にかけて県南部の日本紅斑熱好発地域 2 地点において植生マダニを採取した。本研究では、成虫と若虫を採取し、形態学的特徴から、種、発育ステージおよび性別を鑑別した。各マダニ種の数を採取日別に集計した。

### 2. マダニからの核酸抽出

マダニは、採取地点、採取日、種、発育ステージおよび性別ごとに、プール検体を作製した。1 プール検体中のマダニ数は、成虫で 1～5 個体、若虫で 1～10 個体とした。プール検体から ISOGENOME (ニッポン・ジーン社) および ISOGEN II (ニッポン・ジーン社) を用いて DNA および RNA を抽出した。

### 3. 病原体遺伝子の検出

OZV RNA の検出は、セグメント 5 を標的としたリアルタイム RT-PCR 法により行なった。紅斑熱群リケッチア遺伝子の検出は、リアルタイム PCR によりスクリーニングを行い、陽性検体はリケッチア属共通の 17kDa タンパク遺伝子をターゲットとするコンベンショナル PCR を行った。PCR 増幅産物を用いてサンガーフラッシュ法により塩基配列を決定し、系統解析からリケッチア種を同定した。

### 4. 次世代シーケンサー (NGS) による RNA ウィルスのメタゲノム解析(mNGS)

抽出した RNA から、NEBNext® Ultra™ II RNA Library Prep Kit for Illumina (NEW ENGLAND Biolabs 社) によりライブラリー調製を行なった。調製したライブラリーにより、MiSeq Reagent Kit v3 (イルミナ社) を用いてリードデータを取得し、QIAGEN CLC Genomics Workbench (QIAGEN 社) により解析を行なった。

##### 5. Jingmen tick virus (JMTV) の系統解析

mNGS で検出された JMTV の系統解析は、セグメント 1 の部分配列をサンガーフラットパネル法により決定し、最尤法により系統解析 (ブートストラップ解析 1,000 回試行) を行った。

##### 【結果】

当該地域において計 1,979 個体 (Hh 227 個体、At 731 個体およびその他マダニ種 1,021 個体) のマダニを採取した (表 1)。これらマダニの採取数の推移は図 1 のとおりである。Hh は 4 月～10 月、At は 3 月～12 月にかけて採取された。At においては 4 月～7 月に採取数の顕著な増加が認められた。一方、Hh では採取数に明確なピークは認められず、年間を通じて恒常的に推移した。当該地域におけるマダニの優占種は、季節により変動がみられ、4 月～7 月は At が優占種となることが多く、8 月は Hh が優占種となった。その他すべての期間は、キチマダニが優占種であった。

採取した Hh および At からプール検体を作製し、病原体遺伝子の検出を行った結果、Hh では、55 検体中 3 検体から Rj が検出された。また、At においては、94 検体中 65 検体から *R.tamurae* (Rt) が検出され、Rt が検出された 1 検体から OZV も検出された。これら病原体遺伝子が検出された計 68 検体のうち、21 検体について RNA ウィルスの mNGS 解析を行った (表 2)。その結果、すべての At 検体から JMTV のリードが検出され、RT-PCR においても JMTV 遺伝子が検出された。JMTV セグメント 1 の部分配列 (629bp) における系統解析では、これらの検出株は他の国内検出株と同系統に分類された (図 2)。mNGS 解析を行った At プール検体では、全検体で同一検体から 2 種類以上の病原体が検出され、At の成虫 1 個体 (t\_pool\_24\_336) から Rt および JMTV が検出された。

表 1 採取されたマダニ種および採取数 (%)

マダニ種	採取数 (%)
ヤマアラシチマダニ	227 (11.5)
タカサゴキララマダニ	731 (36.9)
キチマダニ	996 (50.3)
オオトゲチマダニ	9 (4.5)
フタトゲチマダニ	3 (1.5)
アカコッコマダニ	6 (3.0)
ヤマトマダニ	7 (3.5)
計	1,979

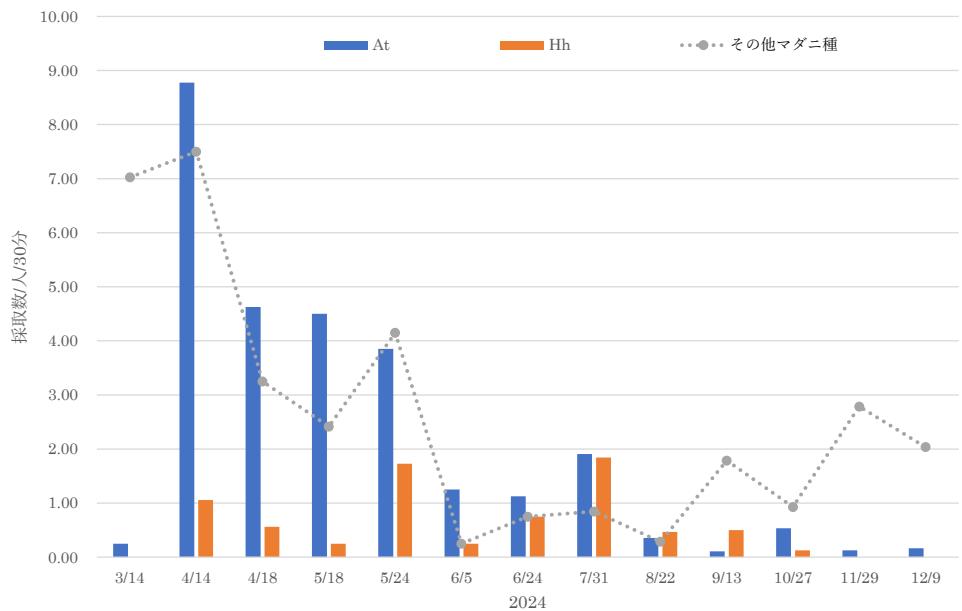


図 1 当該地域におけるマダニ採取数の推移 (2024 年)

表 2 mNGS 解析を実施したマダニ検体および病原体検出結果

サンプル名	マダニ種	プール マダニ数	<i>R.japonica</i>	<i>R.tamuriae</i>	OZV	JMTV	検出病原体数
t_pool_24_225	Hh	成虫 ♀ 5	+	-	-	-	1
t_pool_24_326	Hh	成虫 ♂ 3	+	-	-	-	1
t_pool_24_329	Hh	若虫 8	+	-	-	-	1
t_pool_24_1	At	若虫 10	-	+	-	+	2
t_pool_24_5	At	若虫 10	-	+	+	+	3
t_pool_24_36	At	若虫 10	-	+	-	+	2
t_pool_24_37	At	若虫 10	-	+	-	+	2
t_pool_24_43	At	若虫 10	-	+	-	+	2
t_pool_24_44	At	若虫 10	-	+	-	+	2
t_pool_24_67	At	若虫 10	-	+	-	+	2
t_pool_24_68	At	若虫 10	-	+	-	+	2
t_pool_24_187	At	若虫 10	-	+	-	+	2
t_pool_24_188	At	若虫 10	-	+	-	+	2
t_pool_24_209	At	若虫 10	-	+	-	+	2
t_pool_24_210	At	若虫 10	-	+	-	+	2
t_pool_24_249	At	若虫 9	-	+	-	+	2
t_pool_24_315	At	若虫 10	-	+	-	+	2
t_pool_24_316	At	若虫 10	-	+	-	+	2
t_pool_24_320	At	若虫 7	-	+	-	+	2
t_pool_24_333	At	若虫 10	-	+	-	+	2
t_pool_24_336	At	成虫 ♂ 1	-	+	-	+	2



● : 本研究の検出株

図2 検出された JMTV のセグメント 1 部分配列 (629bp) における系統解析

### 【考察】

本研究では、日本紅斑熱好発地域においてマダニ調査を実施し、Hh の活動に季節変動は少ないが、At の活動は特に 4 月～7 月に活発化することを明らかにした。また、マダニから複数の病原体が検出されたことから、当該地域には多様な病原体の感染リスクが存在すると考えられた。

本調査で Hh と At の活動時期および活動最盛期は、他県のマダニ調査結果とほぼ一致した<sup>2) 3) 4)</sup>。本県では At が優占種となる時期があるが、このようなマダニ相の季節的変動は他県では報告されていない。At は西日本を中心に分布するマダニであるが、当該地域は At の生息に適した自然環境であると考えられた。県内では、日本紅斑熱の発生は 4 月から 10 月にかけて認められており、本研究における Hh の活動時期と一致していた。また、OZV 感染症は初夏に報告されてお

り<sup>5)</sup>、At の活動が最も活発となる時期と重なっていた。Hh および At は、病原体保有状況から感染症を媒介する可能性が示唆されていたが、本調査の結果、活動状況と感染症の発生時期にも関連性がみられ、各感染症の媒介に関与することが改めて示唆された。

Hh では Rj、At では OZV、Rt および JMTV が検出され、当該地域には多様なマダニ媒介性病原体が存在することが明らかとなった。JMTV は海外でマダニ咬傷歴のあるヒトから検出されており、病原性を有することが示唆されている<sup>6)</sup>。特に At では、Rt と JMTV が高率に検出され、県南地域に高密度に分布していると考えられた。4月～7月は、At が活発化することでヒトと遭遇する頻度が高まるところから、複数の TBD のリスクが上昇する時期であると考えられた。Rt と JMTV はいずれも県内で感染症は確認されていないが、TBD が疑われる不明疾患では検査を積極的に行う必要がある。また、注目すべき点として、同一の At プール検体から複数の病原体が検出された。中でも Rt と JMTV は単一の At 個体から検出されており、2種の病原体を保有するマダニの存在が確認された。このことは、県内の At の咬傷により、複数の病原体に感染するリスクがあることを示している。その他のプール検体では、病原体が同一個体内に存在していたかは不明である。しかし、当該地域は各病原体の分布域が重複しており、マダニが複数の病原体を獲得しやすい環境であることが考えられた。

本調査対象の地域は、新たに Rt および JMTV が高率に検出され、複数の TBD 病原体のホットスポットであると考えられた。各々異なる臨床像を呈する TBD が発生しうる状況は、地域住民だけでなく、医療機関に対し啓発および注意喚起が必要である。茨城県では各マダニの活動が 4月から活発化するため、3月からマダニに関する注意喚起を実施し、At の活動がピークを迎える4月～7月は特に重点的に行う必要があると考えられた。実効性のある TBD 対策には野外調査に基づく情報が必須であることから、今後もマダニ相や病原体保有状況のモニタリングを継続して行い、得られた情報を県民および関係機関に対して積極的に広報する必要がある。

#### 【参考文献】

- 1) 大澤修一ら、茨城県内のイノシシにおけるオズウイルスの伝播について、第 77 回日本衛生動物学会 口頭発表
- 2) 柴田祥明ら、鳥取県東部におけるマダニ科の季節消長、*Bulletin of the Tottori Prefectural Museum* 57: 1-18、March 27、2020
- 3) 岩元由佳ら、マダニの SFTS ウィルス保有状況等に関する調査研究、鹿児島県環境保健センター所報 第 18 号 (2017)
- 4) 濱野雅子ら、岡山県におけるマダニの生息状況と重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウィルス保有調査、岡山県環境保健センター年報 39、125-129、2015
- 5) 峰宗太郎ら、初めて診断されたオズウイルス感染症患者、IASR Vol.44 p109-111：2023 年 7 月号
- 6) Wu, Zhen et al. "Jingmen tick virus: an emerging arbovirus with a global threat." *mSphere* vol. 8,5 (2023): e0028123.