

## 京都市内におけるマダニの生息調査およびリケッチアの保有状況について（第一報）

池永充宏\*，染谷梓\*\*，イゴール・ベラド・フェルナンデス\*\*，西野佳以\*\*，前田秋彦\*\*，大西修\*\*\*

## Survey of Ticks and Holdings Rickettsia in the Kyoto City (First Report)

Mitsuhiro IKENAGA, Azusa SOMEYA, Igor Velado Fernandes,  
Yoshii NISHINO, Akihiko MAEDA, Osamu ONISHI

## Abstract

Japanese spotted fever patients has been increasing at western Japan. In Kyoto Prefecture Japanese spotted fever patients has not been reported, the bite damage have occurred in the city of Kyoto. We started an investigation into Survey of Ticks and Holdings Rickettsia in the Kyoto City. Conducted a survey from May to August, captured the 3,130 ticks of five genus. We were detected about 50% approximation of *Rickettsia japonica* by PCR testing of 201 ticks

## Key Words

日本紅斑熱 Japanese spotted fever, マダニ Ticks, 京都市 Kyoto City,  
日本紅斑熱群リケッチア *Rickettsia japonica*

## 1 はじめに

人のマダニによる被害は、刺咬症と感染症が考えられる。マダニの生息する場所に立ち入った際、体に付着して気づくことなく、そのまま咬着されることがある。その場所は、畑、草刈中、自宅、周辺散歩中、竹やぶ、登山中、山歩き中、ハイキング中など様々である。

マダニは、病原性のあるウイルス、細菌、リケッチア、スピロヘーター、原虫などを保有することが知られており、これらによって感染症を引き起こすことがある。国内では、リケッチアによる日本紅斑熱患者が増加しており、死亡患者も稀にみる。特に西日本での発生患者は多く、京都府周辺でも発生している。<sup>1)</sup>

京都市内でも刺咬被害は発生していることから<sup>2)</sup>、京都市内におけるマダニの生息状況等の調査に着手した。

## 2 調査方法

## (1) 調査場所

京都市の北、東、西部周辺の山間地域及び山際で、人が通る場所 14 か所を選択し採集した。

## (2) 調査方法

90×90 cmのフランネル布を用いた flagging 法（旗振り法）によって植生上のマダニを採集した。（図 1）

成虫及び若虫は、湿らしたろ紙を入れたサンプルビンにピンセットで回収し、幼虫はアルコールを入れたサンプルビンにピンセットで、可能な限り回収した後、ビニル袋に入れて持ち帰り、クロロホルム処理してすべてを回収した。

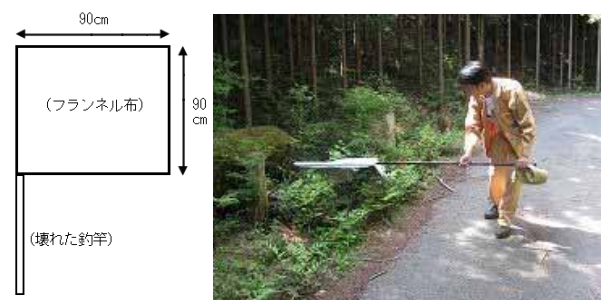


図 1 flagging 法によるマダニの採集

成虫及び若虫は、スライドガラス上に虫体を置いて PBS(-)バッファーを数十  $\mu$  l 滴下し、滅菌した爪楊枝で虫体の顎体部から腹部にかけてよく押しつぶす。さらにバッファーを滴下（1 匹あたりの使用バッファー全量を 100  $\mu$  l とする）して、体液とともにマイクロチューブに回収した。体液の入ったマイクロチューブは、 $-80^{\circ}\text{C}$ で冷凍保存した。つぶれた虫体は、ガムク

\* 京都市衛生環境研究所 衛生動物部門

\*\* 京都産業大学総合生命科学部動物生命医科学科

\*\*\* 退職

ロラーを用いて封入し鑑別した。

また、京都市内で駆除されたイノシシ6頭に咬着していたマダニについても同様に体液を回収し、合わせて201検体のPCR検査について、共同調査研究を行う京都産業大学 総合生命科学部 動物生命医科学科で行った。

PCRは、*Rickettsia*属に特異的な *proWazekii* クエン酸合成酵素遺伝子 (*gltA*) を増幅するプライマーを用いると同時に国立感染症研究所の病原体検出マニ

ュアルに従い、紅斑熱群リケッチアおよび発疹チフス群リケッチアを検出するプライマープライマー-R1/R2を用いてから *R. japonica* のみを特異的に増幅するプライマー-Rj5/Rj10を用いて nested-PCR を行った。

R1 (5'-TCAATTCACAACCTGCCATT-3')

R2 (5'-TTTACAAAATTCTAAAAACC-3')

Rj5 (5'-CGCCATTCTACGTTACTACC-3')

Rj10 (5'-ATTCTAAAACCATATACTG-3')

3 結果

表1 採集及びPCR結果

行政区	場所	種別	ステージ	採取匹数	PCR実施数	gltA (+)	R1/R2(+) Rj5/Rj10(-)	Rj5/Rj10 (+)
北区	氷室 (標高380m)	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	male	4	3	1	0	2
			female	1	1	1	0	1
			nymph	157	63	42	3	47
			larva	134				
		<i>Haemaphysalis flava</i>	nymph	15				
			larva	14				
		<i>Haemaphysalis kitaokai</i>	male	2				
female	3							
<i>Amblyomma testudinarium</i>	larva	1						
右京区	沢池 (標高370m)	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	male	8	5	3	1	4
			female	8	3	2	0	2
			nymph	72	36	20	1	24
		<i>Haemaphysalis flava</i>	male	5				
	female		4					
	nymph	42	1	0	0	0		
	<i>Amblyomma testudinarium</i>	nymph	2					
	京北弓楯 (標高232m)	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	male	3	3	3	0	3
			female	6	6	2	0	2
			nymph	3	3	2	0	2
larva			147					
嵐山公園 (標高71m)	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	larva	26					
	<i>Haemaphysalis flava</i>	larva	47					
左京区	大文字山 (標高437m)	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	male	2	2	0	1	0
			female	9	9	1	0	3
			nymph	16	16	10	0	11
		<i>Haemaphysalis flava</i>	nymph	1	1	0	0	0
	<i>Amblyomma testudinarium</i>	nymph	4	4	2	0	1	
	花背峠頂上 (標高765m)	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	male	1	1	0	0	0
			female	1	1	0	0	0
			nymph	4	4	1	1	3
	花背別所 (標高496m)	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	nymph	12	12	7	0	11
			larva	182				
	貴船芹生峠 (標高428m)	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	nymph	1	1	1	1	1
			larva	367				
		<i>Haemaphysalis flava</i>	larva	4				
	静原キャンプ場 (標高274m)	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	female	1	1	0	0	1
nymph			3	3	3	0	3	
<i>Haemaphysalis flava</i>		larva	1,564					
		larva	22					
山科区	毘沙門堂付近 (標高98m)	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	male	1				
			female	1				
		<i>Haemaphysalis flava</i>	nymph	8				
			nymph	2				
<i>Amblyomma testudinarium</i>	nymph	2						
東山区	将軍塚(207m)	<i>Dermacentor taiwanensis</i>	female	1	1	0	0	0
西京区	灰方 (標高392m)	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	larva	166				
		<i>Haemaphysalis flava</i>	larva	51				
	吉峰寺(292m)			0				
	十輪寺(114m)			0				
猪5頭(捕獲場所:山科区)		<i>Haemaphysalis longicornis</i>	male	10	10	1	0	1
			female	9	9	0	0	2
			nymph	2	2	1	0	2
		<i>Haemaphysalis flava</i>	male	5				
			female	14				
		<i>Amblyomma testudinarium</i>	male	25				
female	3							
合計					201	103	8	126

(1) 採集されたマダニの種類と発育期について

調査した14か所のうち、12か所から延べ5種類3,130匹のマダニ科を採集、鑑別した。そのうち2,908匹(92.9%)がチマダニ属であるフタトゲチマダニ *Haemaphysalis longicornis* である。その他には、同じチマダニ属であるキチマダニ *Haemaphysalis flava* 207匹(6.6%)、ヒゲナガチマダニ *Haemaphysalis kitaokai*(0.2%)及びキララマダニ属のタカサゴキララマダニ *Amblyomma testudinarium*(0.3%)、カクマダ

ニ属のタイワンカクマダニ *Dermacentor taiwanensis* (0.03%)を採集した。採集したマダニ科の発育期は、成虫が1.9%、若虫が11.0%、幼虫が87.1%である。(図2) また、イノシシから採集されたマダニ科は2属3種(フタトゲチマダニ、キチマダニ、タカサゴキララマダニ)の68匹で、3種の比率はほぼ同じである。

発育期は成虫が97.1%(オス:メス=3:2)、若虫が2.9%である。(図3)

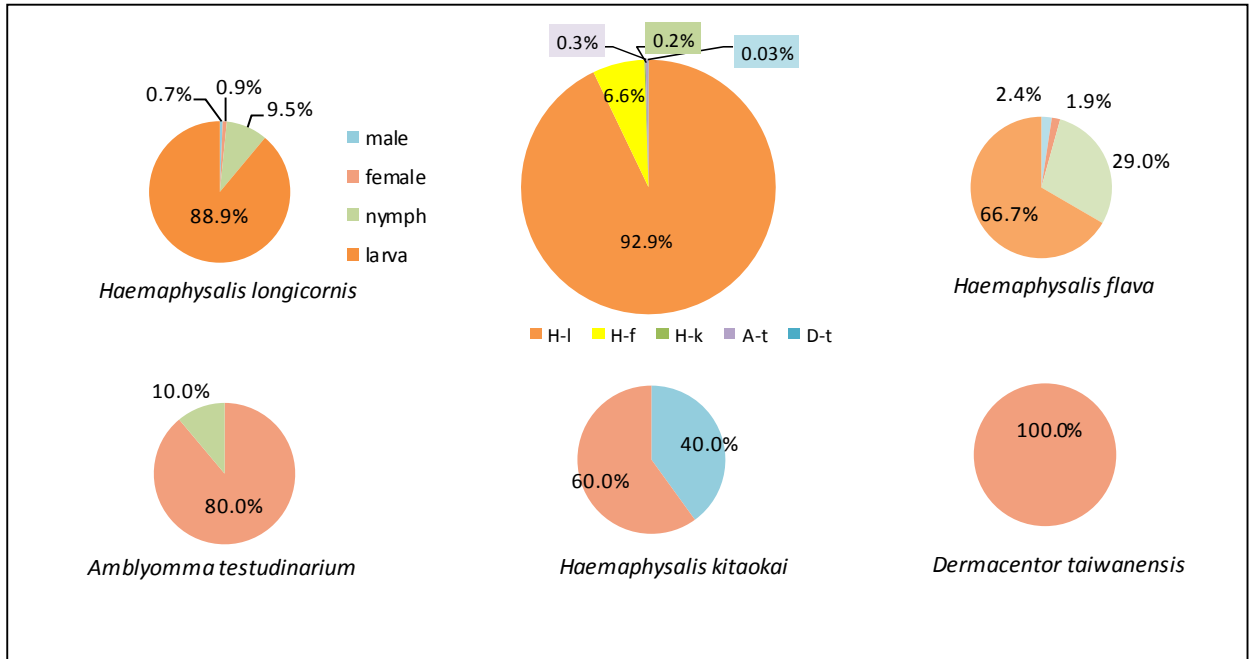


図2 12か所から採集したマダニの種類と発育期

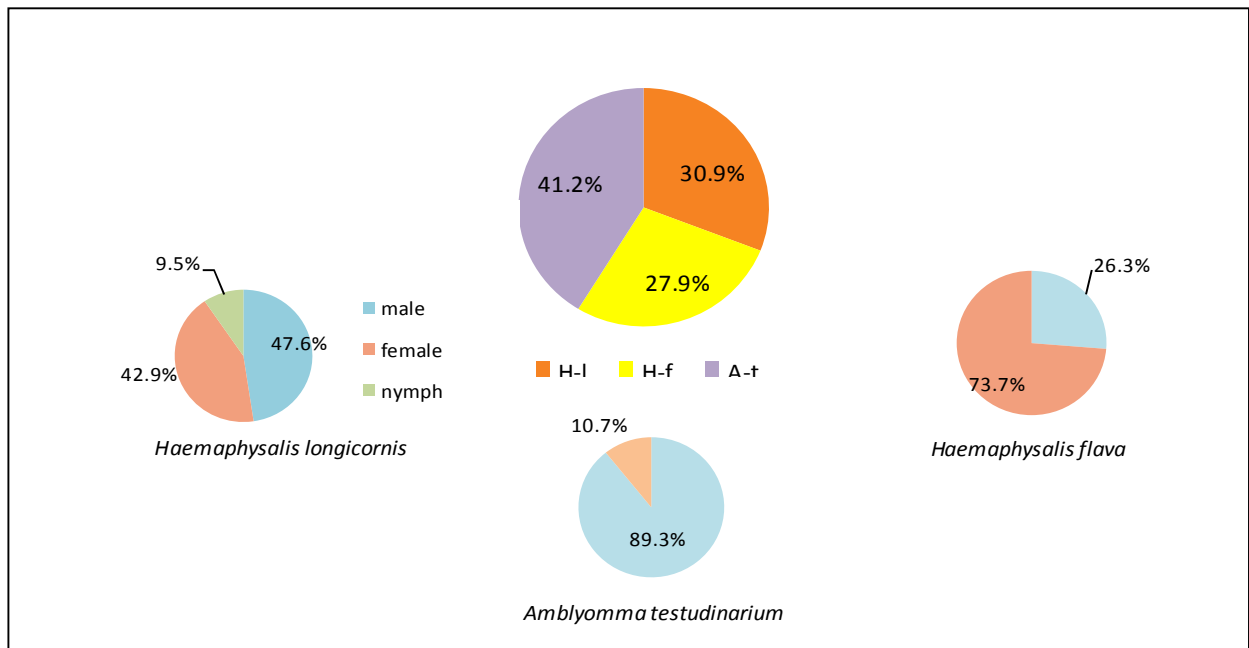


図3 イノシシから採集したマダニの種類と発育期

(2) 採集した季節と発育期について

採集は、5月3回、6月1回、7月3回、8月9回、9月1回行った。5月から7月中旬までは、若虫及び成虫が採集され、7月中旬以降は幼虫が大半を占めている。しかし、イノシシから採集したマダニは、季節による発育期に差はなく、幼虫は採集していない。

(図 4)

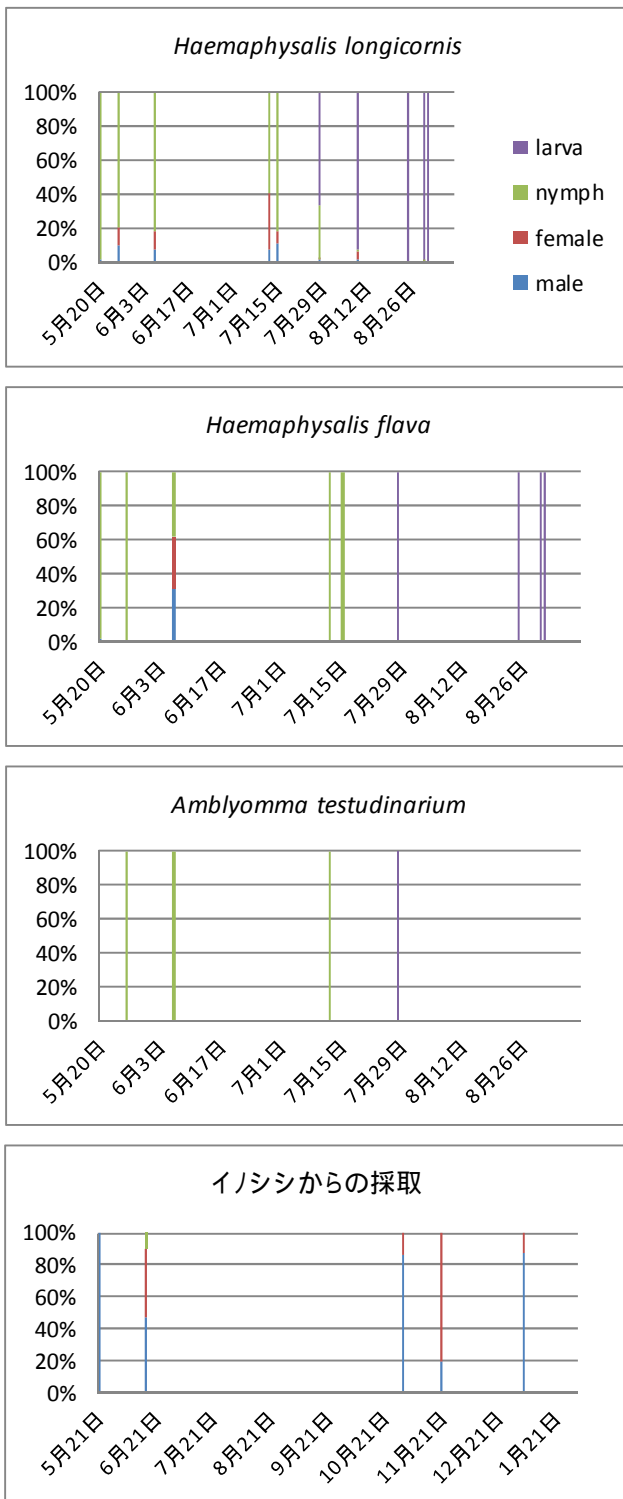


図 4 採集した季節と発育期

(3) 採集した場所と種別について

マダニが採集された12か所のうち、6か所が北部で、東部及び西部はそれぞれ3か所ずつである。標高は、98mから765mに亘っていたがマダニの種類に標高による差はみられない。

地域別に採集されたマダニの種別をみると、北部(フタトゲチマダニ 97.7%, キチマダニ 2.1%), 東部(フタトゲチマダニ 78.7%, タガサゴキララマダニ 12.8%, キチマダニ 6.4%), 西部(フタトゲチマダニ 65.0%, キチマダニ 34.6%) と差がみられた。(図 5)

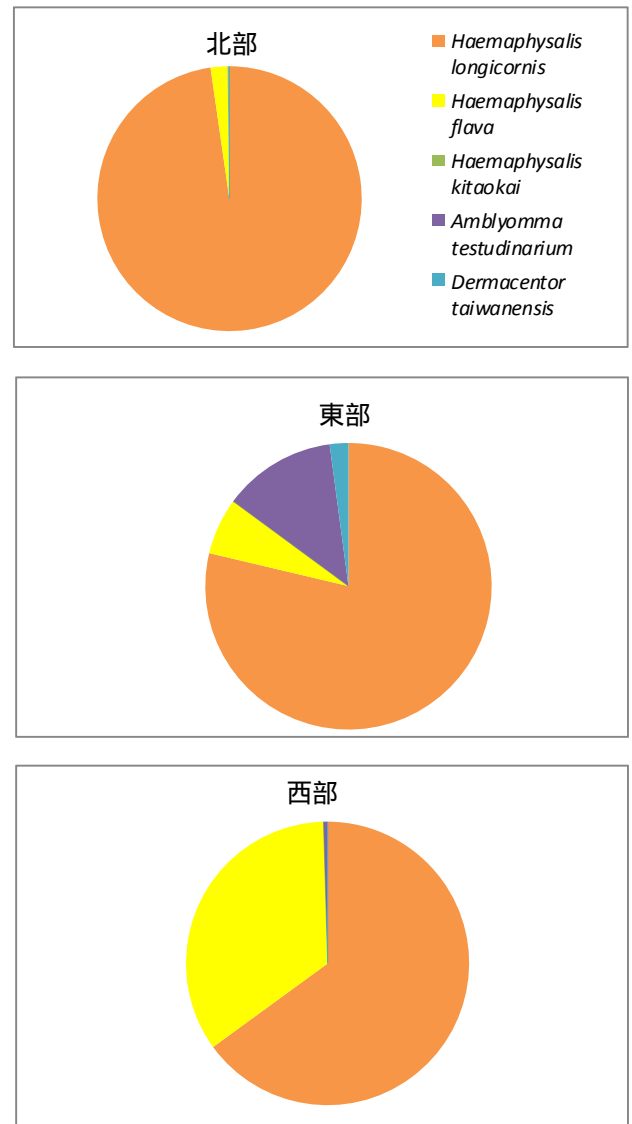


図 5 地域によるマダニの種別

(4) 採集した場所と性別について

フタトゲチマダニについてみると、北部、東部、西部ともにオス、メスが採集された。(図 6)

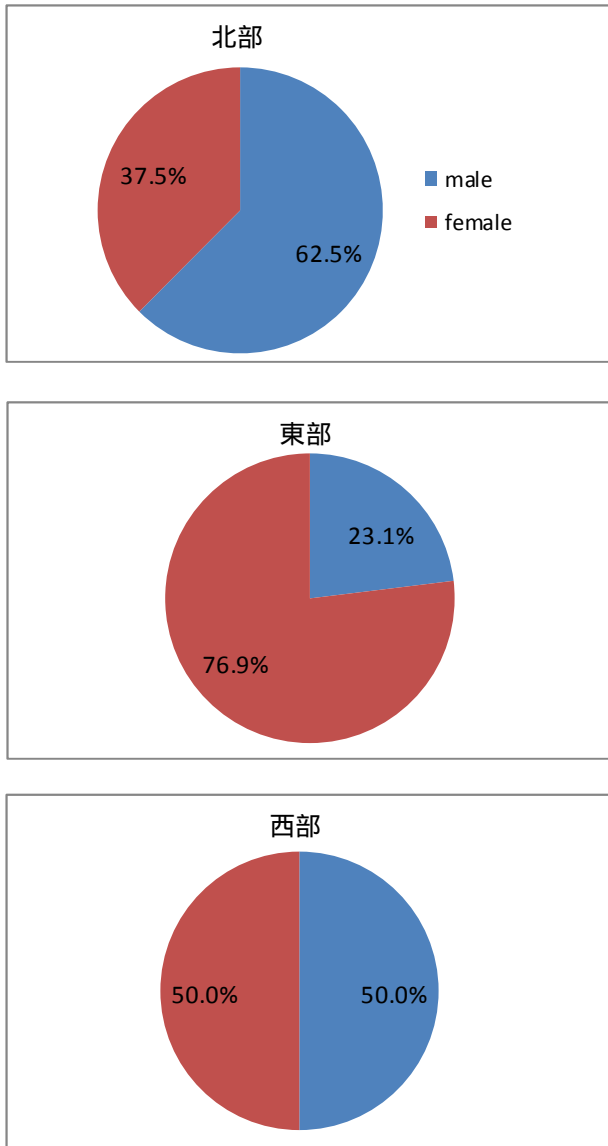


図6 フタトゲチマダニの性別 (成虫)

(5) PCRについて

201 検体の PCR 結果は, gItA 陽性が 103 検体 (51.2%), R1/R2 のみ陽性は 8 検体 (4.0%), Rj5/Rj10 陽性は 126 検体 (62.7%) というものである。

PCR に供したマダニの大半 (96.5%) がフタトゲチマダニである。そのため、種別による差をみることはできなかった。また、採集地域による差もみられない。

PCR に供したフタトゲチマダニは、79.8%が若虫、12.1%がメス、8.1%がオスである。gItA 陽性及び Rj5/Rj10 陽性比率は、ともに若虫が成虫より高く、メスよりオスのほうが高い。(図7)

Rj5/Rj10 陽性となった検体のうち、20 検体の塩基配列を解析したところ、*R. japonica* に高い相同性を示した。

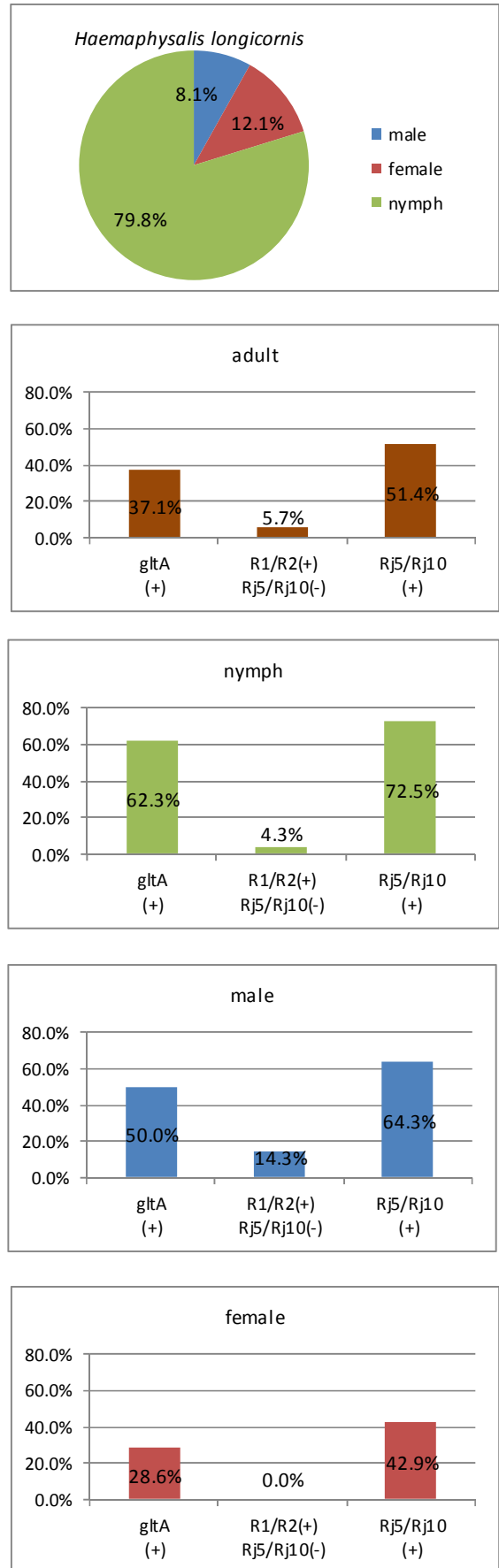


図7 フタトゲチマダニのPCR陽性率

## 4 考察

今回の調査で、京都市周辺には多種多数のマダニが生息することが判明した。その中でも一番多く採集されたフタトゲチマダニは日本紅斑熱を媒介する種であることが強く示唆されるとともに、ヒトへの嗜好性が強いことやイヌも宿主とすることが知られている。<sup>1) 3)</sup> マダニの分布種別は、気候等によるものか、生息地域に偏りがあるとされているが、今回採集したマダニはいずれも西日本で生息する種である。<sup>4-6)</sup> 採集したマダニの種別を北部、東部、西部に分けたところ、北部で採集した大半がフタトゲチマダニである。しかし、東部ではタカサゴキラマダニを、西部ではキチマダニを他の地域より多く採取している。(図5)(図8) 種別の異なりが自然環境や生息動物によるものかはわからない。今後、その傾向を再度確認し、原因についても調査していきたい。今回、生息するマダニの種別に標高による差はみられなかった。

フタトゲチマダニは両性生殖系と単為性生殖系の2系統があることが知られており、西日本では前者を中心に分布する。<sup>7-8)</sup> 今回採集したフタトゲチマダニはオスが含まれており、比率も北部、東部、西部で著しい差はなかったことから、両性生殖系であると推測される。また、マダニはオスも吸血する。

7月中旬までは成虫、若虫が採集されたが、それ以降は大半が幼虫であった。成虫で越冬したものと若虫で越冬したものでは産卵のずれがあり、成虫で越冬したものは、5~6月に産卵して3~4週間で幼虫になり、若虫で越冬したものは7~8月にかけて産卵し3~4週間で幼虫になる。成虫で越冬したマダニ由来の幼虫は6月中旬には採集されるはずであるが、幼虫が取れだしたのは7月中旬以降で、8月末になっても幼虫を採集した。9月から10月にかけて採集すればより明確になるであろうが、京都市周辺でのマダニは、若虫越冬が多いものと推測される。大型の野生動物であるイノシシからは年間を通じて成虫を中心に採集された。3宿主性マダニの場合は成虫、若虫ともに吸血後に離脱して越冬するといわれるが、大型の動物に寄生した場合、そのまま越冬するものもあると考えられる。

リケツチアは、継卵伝搬及び齢間伝搬により受け継がれるが、齧歯類や野生動物(大型を含む)などが感染巣になっている可能性がある。*R. japonica*と塩基配列が完全一致していないが、201検体中62.7%の126検体がRj5/Rj10プライマーで陽性となっており、リケツチアを保有するマダニが多いことが明らかになった。地域のリケツチア保有率に差はみられなかったが、成虫のオス、

メス及びより若虫から検出した。これらのマダニに刺咬された場合、リケツチアに感染する可能性がある。今回の調査では、幼虫のPCRを行わなかったが、今後、飽血した成虫を採集した場合、産卵を待って幼虫に孵化させ、成虫、卵、幼虫それぞれについて、リケツチアの保有状況を確認したいと思う。

## 5 むすび

京都市住民がマダニの刺咬被害に遭ったことを耳にすることはあるが、日本紅斑熱患者発生の届出はない。マダニが多数採集された地域のひとつでは、昔から周辺にマダニが生息していることを把握しており、刺咬被害もよくあるように聞くことから、住民がリケツチア等に対する抗体を有している可能性がある。今回、採集したマダニは、高い確率でリケツチアを保有していることを示唆したが、日本紅斑熱患者発生の届出がないことから、感染症のベクターとして、さほど懸念する必要がないのかもしれない。しかし、*R. japonica*の近縁種なども検出されているため、今後、病原性については確認していく必要があるだろう。<sup>9)</sup> マダニは、イヌにも好着することが知られている。野生動物であるタヌキなどが山間部から河川敷等に運んだマダニが、散歩するヒトやイヌに寄生することも十分考えられることから、市内河川敷等についても生息状況を調査するとともに、マダニの刺咬被害について市民啓発を行う必要があると思われる。

## 6 文献

- (1) <http://idsc.nih.go.jp/iasr/31/363/tpc363-j.html>
- (2) 沖野哲也, 他: 本邦におけるマダニ類人体寄生例の概観. 川崎医学会誌 34(3), 185-201, 2008
- (3) 佐伯英治: マダニの生物学. 動薬研究 57(5), 13-21, 1198
- (4) 佐々学: ダニ類. 東京大学出版会, 1965
- (5) 江原昭三: 日本ダニ類図鑑. 全校農村教育協会, 1080
- (6) 高田伸弘: 病原ダニ類図譜. 金芳堂, 1990
- (7) KITAOKA, S: Physiological and ecological studies on some ticks. VII. Parthenogenetic and bisexual races of *haemaphysalis bispinosa* in Japan and experimental crossing between them. Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart 1, 142-149, 1961
- (8) 吉田利夫: 牧野におけるフタトゲチマダニの分布と生態. ダニ学の進歩, 北隆館, 1981
- (9) 猪熊壽: 紅斑熱群リケツチア症. Small Animal Clinic 143:4-11, 2006

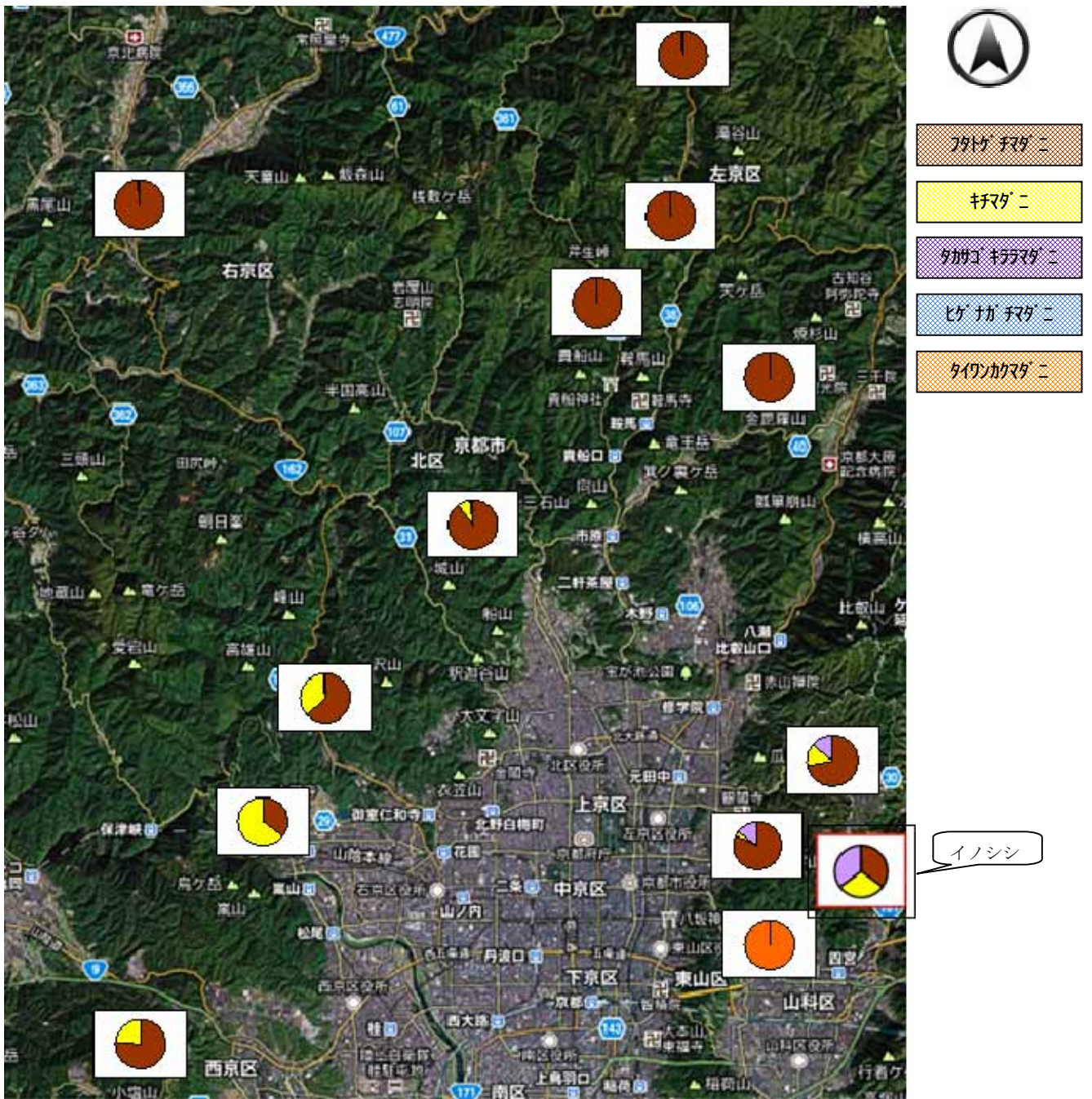


図8 採集した場所とマダニの種別