

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：14101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K17769

研究課題名（和文）マダニ中のリケッチア存在有無による行動変貌の調査及びミノサイクリン適正利用の研究

研究課題名（英文）Investigation of Behavioral Changes Due to the Presence or Absence of Rickettsia in Ticks and Research on Appropriate Utilization of Minocycline

研究代表者

近藤 誠（Kondo, Makoto）

三重大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：40464169

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、日本紅斑熱の発生予防と疫学調査に焦点を当てた。三重県を対象に、日本紅斑熱の流行域と非流行域で旗振り法を使用して500匹のマダニを捕獲した。329匹のマダニ種をシーケンス法により同定し、PCR法によりマダニ内のリケッチアの存在を確認し比較した。日本紅斑熱の流行地域ではフタトゲチマダニが多く捕獲され、非流行地ではキチマダニがやや多かった。リケッチアの検出率は日本紅斑熱流行地域で高かった。さらに、マダニの行動パターンについて、天候や温度、湿度の影響を観察した。また、ミノマイシンの投与後のマダニ内のリケッチアの検出率と野生の生息マダニのリケッチア検出率と違いは認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

三重県内でのマダニの分布はまだはっきりとわかっておらず少数マダニの検索ではあるが、日本紅斑熱の流行地域はフタトゲチマダニが多く捕獲された。また非流行地では捕獲されたマダニ種は多種に富んでいたがキチマダニがやや多く捕獲された。日本紅斑熱流行地に生息するマダニの方がリケッチア検出率は高く、また2種のプライマーともPCR産物が増幅されることが多かった。非流行地においても6割程度のリケッチアが検出された。日本紅斑熱流行地域のマダニ種の分布状況やリケッチアの保有状況が判明し疫学的に貢献できたと考える。

研究成果の概要（英文）：This study focused on the prevention and epidemiological investigation of Japanese spotted fever (JSF). A total of 500 ticks were collected using flagging methods in both JSF-endemic and non-endemic areas of Mie Prefecture, Japan. Among the collected ticks, 329 specimens were identified using sequencing, and PCR was conducted to detect the presence of Rickettsia within the ticks. A higher number of *Haemaphysalis longicornis* were captured in JSF-endemic regions, while a variety of tick species, with a slight predominance of *Haemaphysalis flava*, were found in non-endemic regions. The detection rate of Rickettsia within ticks was higher in JSF-endemic areas. The behavioral patterns of ticks were observed in relation to weather conditions, temperature, and humidity. No significant difference was observed in the detection rates of Rickettsia between ticks treated with minocycline and untreated wild ticks.

研究分野：Dermatology

キーワード：Japanese spotted fever Rickettsia tick epidemiology

#### 1. 研究開始当初の背景

日本紅斑熱は早期診断と早期加療が必要なリケッチア感染症である。その多発地域では住民や医師にも広く疾患の啓蒙がされており、重症患者の頻度は少なくなっている。その病原体である *Rickettsia japonica* を保有するマダニ種も何種類かは判明しているものの、そのマダニの分布は三重県ではわかっていない。また日本紅斑熱多発地域でのマダニ刺傷後にミノマイシンを予防的に内服すべきかどうかの是非も定まっていない。

#### 2. 研究の目的

日本紅斑熱は年々増加傾向であり、その診断方法、治療法、病態の研究は進みつつある。今回の研究の目的は発生予防と疫学調査に注目し研究を進めた。マダニに刺咬された場所が *Rickettsia japonica* を保有するマダニの種が多い地域かどうかわかればその感染リスク想定することができる。またマダニの活動しやすい環境背景がわかればマダニの刺咬リスクも減らすことができる。治療薬であるミノマイシンはめまいや肝障害等の副作用が多い薬剤である。ゆえにミノマイシンの予防内服である程度の血中濃度があれば、内服の副作用を軽減させつつ日本紅斑熱の発症を予防や症状の軽減ができるのではないかと考えた。

#### 3. 研究の方法

a: 日本紅斑熱多発地域である三重県において、日本紅斑熱の流行域と非流行域で旗振り法にてマダニを 500 匹捕獲した。そのうち、329 匹のマダニ種をシークエンズ法にて同定し、また PCR 法にてマダニ内のリケッチアの存在の有無を確認した。

b: マダニを採取した非流行地域では過去に日本紅斑熱を含めた人体に感染するリケッチアの報告はなかったため、安全に研究が実施できると判断した。まずこの非流行地に生息するマダニを利用し、天候や気温、湿度などによる行動様式の変容を確認した。天候であるが晴れの日には日陰で湿った場所が捕獲しやすく、雨上がりはとくに多く捕獲できた。また雨の日には捕獲が困難であった。このことをふまえて採取したマダニを数匹ごとにわけ室温を変えた場所で飼育した。

c: 採取したマダニの観察結果より、明室内で 37 度で保温したウオーターバス上のシャーレにマダニを 10 匹程度置き、マダニにミノマイシンを溶かした血液を吸血させて、その後のリケッチアの検出率がかわるかどうかを比較することとした。まず血液を吸血するかどうかを確認した。血液は研究者自身の血液をその場で採取し、ヘパリンを入れて固まらないようにしたものと同様の FBS を容易した。これらをガーゼに浸してマダニの動きを観察した。

#### 4. 研究成果

a: 三重県内でのマダニの分布はまだはっきりとわかっておらず少数マダニの検索ではあるが、日本紅斑熱の流行地域はフタトゲチマダニが多く捕獲された。また非流行地では捕獲されたマダニ種は多種に富んでいたが、キチマダニがやや多く捕獲された。リケッチアの遺伝子検出には 17kDa タンパク遺伝子と gltA 領域を増幅させる既知の 2 種のプライマーを用いて PCR 法を施行した。日本紅斑熱流行地に生息するマダニの方がリケッチア検出率は高く、また 2 種のプライマーとも PCR 産物が増幅されることが多かった。非流行地においても 6 割程度のリケッチアが検出された。

b: 25 度と 37 度では最初動くがやがて止まり、4 度では最初から動きはにぶかった。これらのマダニを同じ温度で暗室と明室にわけて観察したがとくに動きに対しては変わらない印象であった。次に湿度の影響を観察した。37 度の温室と 37 度のウオーターバスに容器を入れた物を準備して観察した。とくに動きにかわった印象は認めなかった。

c: 数時間様子を観察したが全く血液のガーゼによって来る気配はなく、この方法では困難と判断した。ゆえにマダニの口器、気門から強制的にミノマイシン粉末を注入させ

ることとした。PBS に溶かした様々な濃度としたミノマイシンとマダニを密閉したチューブに入れてウォーターバスに浮かして水蒸気化させ、25 度の室温に戻し翌日観察したがマダニは動いていた。3 日後、死亡したマダニが出始め、7 日後にはほぼ死亡していたため、ここでそれぞれのマダニから DNA を抽出し、前述の PCR 法にてリケッチアの遺伝子を確認した。数十匹のマダニを対象としたが、リケッチアの検出率は 6 割程度であり、野生に生息していたマダニと差は認めなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------