

氏名(本(国)籍)	大久保 梢(鹿児島県)
推薦教員氏名	岐阜大学 准教授 川 端 寛 樹
学位の種類	博士(獣医学)
学位記番号	獣医博乙第167号
学位授与年月日	令和元年9月20日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学位論文題目	Epidemiological study of <i>Borrelia miyamotoi</i> disease in Japan (我が国におけるボレリア・ミヤモトイ病に関する疫学研究)
審査委員	主査 岐阜大学 准教授 川 端 寛 樹 副査 帯広畜産大学 教授 猪 熊 壽 副査 岩手大学 教授 寺 嶋 淳 副査 東京農工大学 教授 水 谷 哲 也 副査 岐阜大学 准教授 高 島 康 弘

学位論文の内容の要旨

本研究は、人獣共通の新興感染症である *Borrelia miyamotoi* disease (BMD) の国内発生状況を、病原体 DNA の検出ならびに抗体保有調査によって明らかにすることを目的としている。本研究が開始された当初は BMD の症例定義が明確ではなかった一方で、シュルツェマダニ刺咬によって媒介される可能性が示唆されていたことから、申請者は、BMD 調査対象としてシュルツェマダニ刺咬により感染が成立するライム病ならびにライム病が疑われた患者群 (LD 群) を母集団として選び調査研究を行った。

第一章では、国内の医療機関を受診した LD 群の血清から *B. miyamotoi* DNA の検出を試み、北海道在住の 2 例のライム病患者急性期血清から本菌の DNA を検出することに成功した。うち 1 例では、BMD を含む回帰熱の抗体検査で用いられる Glycerophosphodiester phosphodiesterase (GlpQ) 抗原に対して、回復期血清で抗体上昇があったことを明らかにした。これらの患者は 2 例とも発症前 10 ないし 14 日に道内でマダニ刺症歴があったことが確認されている。このことから、国内においてもマダニが媒介した BMD 例が存在することを我が国で初めて明らかにした。マダニの *B. miyamotoi* 保菌状況調査では、シュルツェマダニの他、パブロフスキーマダニや、全国的に分布しヒト刺咬例も多数報告されるヤマトマダニが本ボレリアを保菌していることが明らかになっている。このことから、*B. miyamotoi* 感染は北海道以外の地域でも起こりうると考えられた。他方、臨床症状等から BMD を診断することは現在でも困難である。このため、国内における BMD の感染実態解明のためには、血清疫学などの手法を用いた、さらなる調査が必要であると考えられた。そこで第二章では、*B. miyamotoi* および回帰熱ボレリアの抗体測定で Gold standard とされている GlpQ 抗原を用いた試験法により、LD 群について血清学的な調査を行った。本研究では、LD 群に加え、年齢階級、性別、ならびに在住地域を LD 群にあわせた健常者血清を

対照群として用い比較検討も行った。LD 群では、その 2.6%が抗 G1pQ 抗体陽性を示す一方で、対照群である健常者群では 0.2%で陽性が見られ、両群間でその陽性率に有意の差があることを見出した。また LD 群においては、1) 4 月から 10 月の間に抗 G1pQ 抗体陽性例が見出され、これはマダニの活動期と一致すること、2) 抗体陽性例は、北海道から九州まで広く見出されることが明らかになった。ライム病患者の発生はライム病ボレリアを媒介するシュルツェマダニが生息する地域に限られているが、本研究ではこれら地域以外からも BMD と考えられる抗 G1pQ 抗体陽性例が見られた。これは、ヤマトマダニなど、シュルツェマダニ以外のダニ種による *B. miyamotoi* 感染例が存在するためと考えられた。

本研究では、人獣共通感染症である BMD の存在を我が国で初めて明らかにするとともに、血清疫学調査から疾患の発生動向を推定するための基礎的データを提供することができた。これら研究成果は今後、BMD の感染予防などヒトや愛玩動物等の公衆衛生対策に活用されていくものと思われる。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、新たに発見されたマダニ媒介性感染症である *Borrelia miyamotoi* 病(BMD)の国内における発生動向を調査し、そのリスク評価のための基礎的データを提供することを目的として実施された。

第一章では、国内における BMD 患者の探索を行い、ロシア、アメリカ、オランダに続きアジア地域ではじめて患者が発生していることを明らかにした。これら BMD の 2 症例では、ライム病ボレリアとの共感染が認められたことから、ロシア同様、我が国においてもライム病ボレリア媒介性マダニであるシュルツェマダニ刺咬が感染機会になる可能性が示された。また、患者は高度の菌血症による高熱を示したと考えられるが、この病原メカニズム解明は今後の研究課題と考えられた。

第二章では、BMD の国内発生状況を明らかにするために、ライム病疑い患者血清を用いた後向き血清疫学調査を実施している。調査では適切な対照群を用いた比較対照研究が実施されており、健常者群と比較してライム病群では抗 BMD 抗体陽性例が多く見られることも示された。BMD 感染はマダニの活動期で見出されることも本調査で明らかにされている。一方、BMD 感染は、従来までシュルツェマダニ生息地に限られると考えられていたが、本研究により、BMD 感染は国内で広く起こりえることを明らかにした。今後はシュルツェマダニ生息地以外の地域で *B. miyamotoi* を媒介するマダニの同定が望まれる。

本研究は新興感染症の発見ならびに感染実態を明らかにしたことは、本感染症のリスクマネジメントにおいて有益な知見になるものと評価できる。また、申請者が共著となっている既発表学術論文(13, 18, 20)にあるとおり、自然界における媒介マダニ調査、野生動物の感染状況調査等も幅広く行ってきており、今後、獣医領域における BMD 研究についても本研究成果に基づく貢献が期待された。

この他、基礎となる学術論文、ならびに既発表学術論文中の申請者著者名は、いずれも本人の旧姓表記であることを確認した。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Human infections with *Borrelia miyamotoi*, Japan
著 者 名 : Sato, K., Takano, A., Konnai, S., Nakao, M., Ito, T., Koyama, K., Kaneko, M., Ohnishi, M. and Kawabata, H.

学術雑誌名 : Emerging Infectious Diseases

巻・号・頁・発行年 : 20(8) : 1391-1393, 2014

2) 題 目 : Case control study: Serological evidence that *Borrelia miyamotoi* disease occurs nationwide in Japan

著 者 名 : Sato, K., Sakakibara, K., Masuzawa, T., Ohnishi, M. and Kawabata, H.

学術雑誌名 : Journal of Infection and Chemotherapy

巻・号・頁・発行年 : 24(10) : 828-833, 2018

既発表学術論文

1) 題 目 : Evaluation of PCR and nested PCR assays currently used for detection of *Coxiella burnetii* in Japan

著 者 名 : Ogawa, M., Setiyono, A., Sato, K., Cai, Y., Shiga, S. and Kishimoto, T.

学術雑誌名 : The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health

巻・号・頁・発行年 : 35(4) : 852-855, 2004

2) 題 目 : Biosynthesized tea polyphenols inactivate *Chlamydia trachomatis* *in vitro*

著 者 名 : Yamazaki, T., Kishimoto, T., Shiga, S., Sato, K., Hagiwara, T., Inoue, M., Sasaki, N., Ouchi, K. and Hara, Y.

学術雑誌名 : Antimicrobial Agents and Chemotherapy

巻・号・頁・発行年 : 49(6) : 2501-2503, 2005

3) 題 目 : *In vitro* inhibitory effects of hinokitiol on proliferation of *Chlamydia trachomatis*

著 者 名 : Yamano, H., Yamazaki, T., Sato, K., Shiga, S., Hagiwara, T., Ouchi, K. and Kishimoto, T.

学術雑誌名 : Antimicrobial Agents and Chemotherapy

巻・号・頁・発行年 : 49(6) : 2519-2521, 2005

4) 題 目 : The inhibitory effect of antihyperlipidemic drugs on the growth of *Chlamydia pneumoniae* *in vitro*

著 者 名 : Yamazaki, T., Yamaguchi, T., Inoue, M., Ohtake, A., Sasaki, N., Inoue, I., Sato, K., Ouchi, K. and Kishimoto T.

学術雑誌名 : Journal of Chemotherapy

巻・号・頁・発行年 : 18(1) : 107-109, 2006

5) 題 目 : The inhibitory effect of disodium cromoglycate on the growth of *Chlamydia (Chlamydia) pneumoniae* *in vitro*

著 者 名 : Yamazaki, T., Yamaguchi, T., Sasaki, N., Inoue, M., Sato, K. and Kishimoto, T.

学術雑誌名 : Biological & Pharmaceutical Bulletin

巻・号・頁・発行年 : 29(4) : 799-800, 2006

- 6) 題 目 : Longitudinal epidemiology of *Chlamydia trachomatis* serovars in female patients in Japan
著 者 名 : Takahashi, S., Yamazaki, T., Satoh, K., Inoue, M., Takahashi, S., Ishihara, O., Oka, Y., Horiguchi, Y., Okuwaki, Y., Suzuki, S. and Kishimoto, T.
学術雑誌名 : Japanese Journal of Infectious Diseases
卷・号・頁・発行年 : 60(6):374-376, 2007
- 7) 題 目 : *In vitro* activity of garenoxacin against *Chlamydia* spp.
著 者 名 : Hisada, H., Yamazaki, T., Inoue, M., Sato, K., Ando, S. and Kishimoto, T.
学術雑誌名 : Journal of Chemotherapy
卷・号・頁・発行年 : 20(2):282-284, 2008
- 8) 題 目 : The intracellular accumulation of phagocytic and epithelial cells and the inhibitory effect on *Chlamydophila (Chlamydia) pneumoniae* of telithromycin and comparator antimicrobials
著 者 名 : Yamazaki, T., Takemura, H., Inoue, M., Ogawa, M., Ando, S., Sato, K. and Kishimoto, T.
学術雑誌名 : Journal of Chemotherapy
卷・号・頁・発行年 : 20(4):428-430, 2008
- 9) 題 目 : A novel relapsing fever *Borrelia* sp. infects the salivary glands of the molted hard tick, *Amblyomma geoemydae*
著 者 名 : Takano, A., Sugimori, C., Fujita, H., Kadosaka, T., Taylor, KR., Tsubota, T., Konnai, S., Tajima, T., Sato, K., Watanabe, H., Ohnishi, M. and Kawabata, H.
学術雑誌名 : Ticks and Tick-borne Disease
卷・号・頁・発行年 : 3(4):259-261, 2012
- 10) 題 目 : Astasia and pyrexia related to *Borrelia garinii* infection in two dogs in Hokkaido, Japan
著 者 名 : Inokuma, H., Maetani, S., Fujitsuka, J., Takano, A., Sato, K., Fukui, T., Masuzawa, T. and Kawabata, H.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
卷・号・頁・発行年 : 75(7):975-978, 2013
- 11) 題 目 : Multilocus sequence typing and DNA similarity analysis implicates that a *Borrelia valaisiana*-related sp. isolated in Japan is distinguishable from European *B. valaisiana*
著 者 名 : Kawabata, H., Takano, A., Kadosaka, T., Fujita, H., Nitta, Y., Gokuden, M., Honda, T., Tomida, J., Kawamura, Y., Masuzawa, T.,

Ishiguro, F., Takada, N., Yano, Y., Andoh, M., Ando, S., Sato, K., Takahashi, H. and Ohnishi, M.

学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science

巻・号・頁・発行年 : 75(9):1201-1207, 2013

1 2) 題 目 : Construction of a DNA database for ticks collected in Japan: application of molecular identification based on the mitochondrial 16S rDNA gene

著 者 名 : Takano, A., Fujita, H., Kadosaka, T., Takahashi, T., Yamauchi, T., Ishiguro, F., Takada, N., Yano, Y., Oikawa, Y., Honda, T., Gokuden, M., Tsunoda, T., Turumi, M., Ando, S., Andoh, M., Sato, K. and Kawabata, H.

学術雑誌名 : Medical Entomology and Zoology

巻・号・頁・発行年 : 65(1):13-21, 2014

1 3) 題 目 : Tick surveillance for relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* in Hokkaido, Japan

著 者 名 : Takano, A., Toyomane, K., Konnai, S., Ohashi, K., Nakao, M., Ito, T., Andoh, M., Maeda, K., Watarai, M., Sato, K., and Kawabata, H.

学術雑誌名 : PLoS One

巻・号・頁・発行年 : 9(8):e104532, 2014

1 4) 題 目 : A novel Bunyavirus from the soft tick, *Argas vespertilionis*, in Japan

著 者 名 : Oba, M., Omatsu, T., Takano, A., Fujita, H., Sato, K., Nakamoto, A., Takahashi, M., Takada, N., Kawabata, H., Ando, S. and Mizutani, T.

学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science

巻・号・頁・発行年 : 78(3):443-445, 2016

1 5) 題 目 : Detection and characterization of emerging relapsing fever pathogen, *Borrelia miyamotoi*, from the *Ixodes ricinus* tick in the rural Trakya (Thrace) region of northwestern turkey

著 者 名 : Sakakibara, K., Sen, E., Sato, K., Kawabata, H., Ohashi, N. and Masuzawa, T.

学術雑誌名 : Vector-Borne and Zoonotic Diseases

巻・号・頁・発行年 : 16(12):797-799, 2016

1 6) 題 目 : The first case of imported *Borrelia miyamotoi* disease concurrent with lyme disease

著者名：Oda, R., Kutsuna, S., Sekikawa, Y., Hongo, I., Sato, K., Ohnishi, M. and Kawabata, H.

学術雑誌名：Journal of Infection Chemotherapy

巻・号・頁・発行年：23 (5) : 333-335, 2017

17) 題 目：Clinical features of a case of suspected *Borrelia miyamotoi* disease in Hokkaido, Japan

著者名：Yamano, K., Ito, T., Kiyonagi, K., Yamazaki, H., Sugawara, M., Saito, T., Ohashi, N., Zamoto-Niikura, A., Sato, K. and Kawabata, H.

学術雑誌名：American Journal of Tropical Medicine and Hygiene

巻・号・頁・発行年：97(1), 84-87, 20107

18) 題 目：Tick surveillance of *Borrelia miyamotoi* and phylogenetic analysis of isolates in Mongolia and Japan

著者名：Iwabu-Itoh, Y., Bazartseren, B., Naranbaatar, O., Yondonjamts, E., Furuno, K., Lee, K., Sato, K., Kawabata, H., Takada, N., Andoh, M., Kajita, H., Oikawa, Y., Nakao, M., Ohnishi, M., Watarai, M., Shimoda, H., Maeda, K. and Takano, A.

学術雑誌名：Ticks and Tick-borne Diseases

巻・号・頁・発行年：8(6):850-857, 2017

19) 題 目：Serologic evidence of tick-borne encephalitis virus infection in a patient with suspected Lyme disease in Japan

著者名：Yoshii, K., Sato, K., Ishizuka, M., Kobayashi, S., Kariwa, H. and Kawabata, H.

学術雑誌名：American Journal of Tropical Medicine and Hygiene

巻・号・頁・発行年：99(1):180-181, 2018

20) 題 目：A relapsing fever group *Borrelia* sp. is widely distributed among wild deer in Japan

著者名：Kumagai, Y., Sato, K., Taylor, K.R., Zamoto-Niikura, A., Imaoka, K., Morikawa, S., Ohnishi, M. and Kawabata, H.

学術雑誌名：Ticks and Tick-borne Diseases

巻・号・頁・発行年：9(3):465-470, 2018

21) 題 目：Spotted fever group rickettsiae in inner Mongolia, China, 2015-2016

著者名：Gaowa, Wulantuya, Yin, X., Guo, S., Ding, C., Cao, M., Kawabata, H., Sato, K., Ando, S., Fujita, H., Kawamori, F., Su, H., Shimada, Y., Masuda, S. and Ohashi, N.

學術雜誌名 : Emerging Infectious Diseases

卷・号・頁・発行年 : 24(11):2105-2107, 2018