

氏名（本（国）籍）	佐 鹿 万里子（神奈川県）
主 指 導 教 員 名	帯広畜産大学 教授 猪 熊 壽
学 位 の 種 類	博士（獣医）
学 位 記 番 号	獣医博甲第333号
学 位 授 与 年 月 日	平成23年3月14日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第3条第1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	帯広畜産大学
学 位 論 文 題 目	北海道のアライグマにおけるマダニ媒介性リケッチア 感染に関する疫学的研究
審 査 委 員	主査 帯広畜産大学 教授 山 田 一 孝 副査 帯広畜産大学 教授 猪 熊 壽 副査 岩 手 大 学 教 授 板 垣 匡 副査 東京農工大学 教授 白 井 淳 資 副査 岐 阜 大 学 教 授 杉 山 誠

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

アライグマは食肉目アライグマ科に属する北米原産の動物であり、ペットとして北米から大量に輸入された後、放逐や逃亡が続出した結果、全国各地で農作物被害や生態系への影響など、様々な問題が引き起こされている。さらに、アライグマが日本に輸入された際、日本には存在しない新規病原体が持ち込まれた可能性が懸念されている。

リケッチアは偏性細胞内寄生性細菌であり、紅斑熱群（SFG）リケッチアや *Anaplasma*, *Ehrlichia* をはじめとするマダニ媒介性リケッチア病原体が重要な新興感染症の病原体として注目されている。日本では1984年に初の日本紅斑熱患者（*Rickettsia japonica* 感染）が確認されたが、近年、*A. phagocytophilum*, *A. bovis*, *E. chaffeensis* や *R. helvetica* など、新規のリケッチアが検出されており、その感染拡大が懸念されている。また、米国では *R. rickettsii* 抗体陽性アライグマの存在や、アライグマが *A. phagocytophilum* および *E. chaffeensis* の保菌動物となっていることが知られており、日本においてもアライグマがこれら病原体の保菌動物となる可能性が懸念されている。しかし、マダニ媒介性リケッチア感染症の保菌動物やベクター等については不明な点が多い。そこで本研究は、マダニ媒介性リケッチア感染症におけるアライグマの疫学的役割解明を目的に実施した。

第1章では、北海道で捕獲されたアライグマの末梢血 699 検体を対象に、分子生物学的手法を用いて SFG リケッチアの検索を行った。*gltA* 遺伝子を標的とした *Rickettsia* 属特異的 nested PCR では、699 検体中 13 検体（1.9%）が陽性を示した。PCR 産物の遺伝子解析では、1 検体が *R. japonica* および *R. heilongjiangensis* と、他の 1 検体は *R. felis* と 100%の相同性を示した。また、残り 11 検体のうち 10 検体が *R. helvetica* と 100%の相同性を示した。なお、*Rickettsia* 属特異的 nested PCR で陽性を示した 13 検体のうち、1

検体は塩基配列が決定できず解析不能であった。本研究により、アライグマ末梢血から SFG リケッチア DNA が初めて検出され、アライグマが SFG リケッチアの保菌動物となる可能性が示唆された。また今回、北海道ではこれまで未検出であった *R. japonica* および *R. heilongjiangensis*, *R. felis* の DNA 断片が検出されたことから、国内における SFG リケッチアの分布の広がりが見られた。

第2章では、第1章と同様の材料を用いてアナプラズマ科病原体の検索を行った。アナプラズマ科特異的スクリーニング PCR の結果、699 検体中 38 検体 (5.4%) が陽性を示した。これら 38 検体について、ヒトおよび獣医学領域において重要な *A. phagocytophilum*, *A. bovis*, *E. chaffeensis* および *E. canis* 特異的 nested PCR を行った結果、38 検体中 36 検体が *A. bovis* 特異的 nested PCR において陽性を示した。一方、*A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis* および *E. canis* 特異的 nested PCR は、38 検体全て陰性であった。本研究より、アライグマ末梢血から *A. bovis* DNA が初めて検出されたことから、アライグマが *A. bovis* の保菌動物となる可能性が示唆され、自然界における *A. bovis* 感染サイクルの維持に重要な役割を果たしている可能性が考えられた。

第3章では、*A. bovis* のベクターを解明するために、アライグマに寄生するマダニの調査を行った。その結果、アライグマ 124 頭から 672 個体のマダニが採取され、内訳は 91 頭 (73.4%) から *I. ovatus* が 341 個体、50 頭 (40.3%) から *I. persulcatus* が 145 個体、15 頭 (12.1%) から *Haemaphysalis* spp. が 186 個体であった。また、採取された *Haemaphysalis* spp. の 95.2% は、厚真町で捕獲されたアライグマに寄生していた。アライグマの *A. bovis* 陽性率と *Haemaphysalis* spp. 寄生の関連性を明らかにするために、マダニ寄生個体とマダニ未寄生個体の *A. bovis* 陽性率をマダニの種別に比較した。その結果、*Haemaphysalis* spp. が寄生していたアライグマの *A. bovis* 陽性率は 46.7% (7/15) であり、*Haemaphysalis* spp. 未寄生のアライグマにおける *A. bovis* 陽性率 3.7% (4/109) と比較すると有意に高い値を示した ( $p < 0.001$ )。一方、*I. ovatus* あるいは *I. persulcatus* が寄生していたアライグマと未寄生のアライグマにおける *A. bovis* 陽性率に有意差は認められなかった。さらに、*A. bovis* 陽性を示したアライグマ 7 頭に寄生していた *Haemaphysalis* spp. について、*A. bovis* 特異的 nested PCR を行った結果、4 個体のアライグマから採取されたダニ 5 サンプルが陽性を示した (雄成ダニ 2/4, 若ダニ 2/18, 幼ダニプール 1/7)。以上の結果より、アライグマの *A. bovis* 感染と *Haemaphysalis* spp. 寄生には関係性があることが示唆され、*A. bovis* の感染サイクルには、保菌動物としてアライグマが、そしてベクターとして *Haemaphysalis* spp. が重要な役割を果たしている可能性が考えられた。

以上、本研究よりアライグマは紅斑熱群リケッチアとして *R. heilongjiangensis* または *R. japonica*, *R. felis*, *R. helvetica*, および *A. bovis* の保菌動物となっている可能性が示唆された。特に、*A. bovis* 陽性アライグマとチマダニ属マダニ寄生には強い関係性が確認されたことから、北海道の *A. bovis* 感染サイクルには、アライグマが重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、北米から日本に輸入後に放逐や逃亡により各地で野生化し、農作物被害や生態系への影響など様々な問題を引き起こしているアライグマに注目し、北海道のマダニ媒介性リケッチア感染におけるアライグマの疫学的役割を解明することを目的として行われたものである。

まず第1章では、北海道のアライグマ末梢血 699 検体を対象に、紅斑熱群 (SFG) リケッチア感染状況を PCR により検索したところ 13 検体 (1.9%) が陽性を示した。陽性検体の遺伝子解析で 1 検体が *Rickettsia japonica* および *Rickettsia heilongjiangensis* と、他の 1 検体が

*Rickettsia felis* と 100%の相同性を示した。また、残り 11 検体のうち 10 検体は *Rickettsia helvetica* と 100%の相同性を示した。アライグマ末梢血から SFG リケッチアが検出されたのは初めてであり、北海道のアライグマが SFG リケッチアの保菌動物となる可能性が示唆された。

第 2 章ではアナプラズマ科病原体の検索を行った。アナプラズマ科特異的 PCR の結果、699 検体中 38 検体 (5.4%) が陽性を示した。これら 38 検体中 36 検体が *A. bovis* 種特異的 PCR 陽性を示した。アライグマ末梢血から *A. bovis* 遺伝子が検出されたのは初めてであり、アライグマが *A. bovis* の保菌動物となる可能性が示唆され、自然界における *A. bovis* 感染サイクルの維持にアライグマが重要な役割を果たしている可能性が考えられた。

第 3 章では、北海道における *A. bovis* のベクターを解明するために、アライグマ寄生マダニの調査を行ったところ、アライグマ 124 頭からマダニが採取され、内訳は 91 頭 (73.4%) からヤマトマダニ 341 個体、50 頭 (40.3%) からシュルツェマダニ 145 個体、15 頭 (12.1%) からチマダニ属マダニ 186 個体であった。チマダニ属マダニが寄生していたアライグマの *A. bovis* 陽性率は 46.7% (7/15) で、チマダニ属マダニ未寄生アライグマの陽性率 3.7% (4/109) より有意に高い値を示した ( $p < 0.001$ )。一方、ヤマトマダニあるいはシュルツェマダニが寄生していたアライグマと未寄生のアライグマにおける *A. bovis* 陽性率に有意差は認められなかった。以上の結果より、アライグマの *A. bovis* 感染とチマダニ属マダニ寄生には強い関係性があることが確認され、北海道における *A. bovis* の感染サイクルには、保菌動物としてアライグマが、そしてベクターとしてチマダニ属マダニが重要な役割を果たしていることが示唆された。

以上、本研究で得られた結果を総括すると、北海道の野生アライグマは *R. heilongjiangensis* または *R. japonica*, *R. felis*, *R. helvetica*, および *A. bovis* の保菌動物となっている可能性が示唆された。

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。

#### 基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Molecular survey of rickettsial agents in feral raccoons (*Procyon lotor*) in Hokkaido, Japan  
著 者 名 : Sashika, M., Abe, G., Matsumoto, K. and Inokuma, H.  
学術雑誌名 : Japanese Journal of Infectious Diseases  
巻・号・頁・発行年 : 63(5):353-354, 2010
- 2) 題 目 : Molecular survey of *Anaplasma* and *Ehrlichia* infections of feral raccoons (*Procyon lotor*) in Hokkaido, Japan  
著 者 名 : Sashika, M., Abe, G., Matsumoto, K. and Inokuma, H.  
学術雑誌名 : Vector-Borne and Zoonotic Diseases  
巻・号・頁・発行年 : In press

#### 既発表学術論文

- 1) 題 目 : 野生アライグマ *Procyon lotor* にみられた疥癬の 1 例  
著 者 名 : 佐鹿万里子, 森田達志, 的場洋平, 岡本 実, 谷山弘行, 猪熊 壽, 浅川満彦  
学術雑誌名 : 日本野生動物医学会誌  
巻・号・頁・発行年 : 14(2): 125-128, 2009
- 2) 題 目 : Detection of antibodies against Japanese encephalitis virus in raccoons, raccoon dogs and wild boars in Japan  
著 者 名 : Ohno, Y., Sato, H., Suzuki, K., Yokoyama, M., Uni, S., Shibasaki, T., Sashika, M., Inokuma, H., Kai, K. and Maeda, K.  
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science  
巻・号・頁・発行年 : 71(8):1035-1039, 2009