

氏名(本(国)籍)	福井 祐一(大阪府)		
主指導教員氏名	帯広畜産大学 准教授 松本 高太郎		
学位の種類	博士(獣医学)		
学位記番号	獣医博甲第565号		
学位授与年月日	令和2年3月13日		
学位授与の要件	学位規則第4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	茨城県の犬に感染する <i>Anaplasma phagocytophilum</i> の 分子疫学研究		
審査委員	主査	帯広畜産大学 教授	横山 直明
	副査	帯広畜産大学 准教授	松本 高太郎
	副査	岩手大学 教授	佐藤 れえ子
	副査	東京農工大学 教授	白井 淳資
	副査	岐阜大学 教授	鬼頭 克也
	副査	東京大学 教授	猪熊 壽

学位論文の内容の要旨

Anaplasma phagocytophilum は、マダニによって媒介され、欧米においてヒトや反芻動物、馬、犬に人獣共通の感染症を引き起こすことが知られている。日本国内でも、これまでに野生動物と牛から *A. phagocytophilum* の遺伝子が検出されてきたが、発症個体からの検出報告はなかった。申請者は2014年に茨城県内の犬において初めて発症例を報告したが、本感染症の臨床学的特徴、本菌の分子生物学的性状、犬の感染状況、ベクターとなるマダニ種、保菌動物種については不明のままであった。そこで本論文では、茨城県の犬の *A. phagocytophilum* 感染症の臨床像と疫学的特徴の解明を目的として研究を行った。

まず第1章では、犬の *A. phagocytophilum* 感染症の臨床学的特徴並びに本菌の分子生物学的性状を解析した。茨城県内で本感染症と診断した6例の犬を対象とした。全ての症例が元気消失、発熱及び血小板減少を呈し、抗菌剤治療により回復した。また、6例すべての末梢血からPCRにより本菌の遺伝子が検出された。また、3症例から得られた *A. phagocytophilum* の16S rRNA, *gltA*, 及び *groEL* の遺伝子配列を決定し、欧米のヒトや犬に感染していた *A. phagocytophilum* の配列と比較した結果、それぞれ99.3~99.7%, 97.7~98.0%, 及び98.8~98.9%と高い相同性を示した。本調査で明らかとなった発症犬の臨床症状、臨床病理学的所見及び予後は、欧米での報告と類似しており、かつ解析した3遺伝子の配列も欧米株と高い相同性を示したことから、茨城県の犬に感染していた *A. phagocytophilum* は、欧米のヒトや犬に感染する菌株と類似することが示唆された。

次に第2章では、茨城県における犬の *A. phagocytophilum* 不顕性感染状況を調査した。

茨城県内の6つの動物病院に来院した無症状の犬計332頭の血液に対して、IFAによる抗*Anaplasma*属抗体の検出と、*Anaplasma*科細菌特異的なスクリーニングPCR並びに*A. phagocytophilum*特異的PCRによる遺伝子の診断解析を行った。IFAでは328例中7例(2.1%)が陽性を示した。一方のスクリーニングPCRでは331例中8例が陽性を示し、このうち1例が*A. phagocytophilum*特異的PCRにて陽性を示した。陽性例の*gltA*遺伝子の配列を決定したところ、第1章の発症犬由来の遺伝子配列と高い相同性(97.1%)を示した。これらの結果から、過去の全国調査の結果(0.2%)と比較して茨城県での抗体陽性率は高く、*A. phagocytophilum*に不顕性感染している犬が存在していることが明らかとなった。

第3章では、茨城県内で採取したマダニの*A. phagocytophilum*の保有状況を、分子生物学的手法を用いて調査した。つくば市と守谷市にて旗振り法にて採取されたマダニを対象とした。つくば市で採取されたマダニ計325匹は全て陰性であったが、守谷市で採取した計759匹のうちフタトゲチマダニの幼ダニ3サンプルから本菌の16S rRNA遺伝子が検出され、その配列は第1章で得られた配列と高い相同性を示した(99.6~100%)。この結果から、茨城県内で流行している犬の*A. phagocytophilum*感染症のベクターが、フタトゲチマダニである可能性が示された。

第4章では、野生の小型哺乳動物の感染状況を、分子生物学的手法を用いて調査した。茨城県と千葉県で捕獲されたネズミやモグラ計11個体の脾臓を対象とした。このうち、土浦市のアカネズミ1個体から*A. phagocytophilum*の16S rRNA遺伝子が検出され、その配列は第1章で得られた配列と99.8%の高い相同性を示した。この結果から、茨城県においてアカネズミが*A. phagocytophilum*の保菌動物となっている可能性が示唆された。

以上の結果から、茨城県における犬の*A. phagocytophilum*感染症の臨床学的特徴が明らかとなった。また、その原因菌の遺伝子配列が欧米のヒト及び犬由来のものと類似していることも示された。さらに、茨城県では全国に比べて犬の抗*Anaplasma*属抗体陽性率が高く、*A. phagocytophilum*に不顕性感染を示す犬が存在することも明らかとなった。さらに、茨城県における本感染症のベクターがフタトゲチマダニである可能性並びにアカネズミが保菌動物である可能性が示された。

審 査 結 果 の 要 旨

*Anaplasma phagocytophilum*はマダニ媒介性の人獣共通感染症を引き起こす。本邦の犬における*A. phagocytophilum*感染症は2014年に茨城県で初めて報告されたが、症例が1例のみであったため、臨床像や疫学的状況は不明のままであった。そこで本研究では、*A. phagocytophilum*感染症の臨床像と疫学的状況を明らかにするために、症状及び臨床病理学的所見、原因菌遺伝子の塩基配列の解析、犬の感染状況、ベクターとなるマダニ種、及び保菌動物の調査を行った。

まず第1章では、犬の*A. phagocytophilum*感染症の臨床学的特徴並びに原因菌の分子生物学的性状を解析した。6例の発症犬はいずれも元気消失、発熱及び血小板減少を呈し、その特徴は欧米での報告に極めて類似していた。また、3例から得られた*A.*

phagocytophilum の 16S rRNA, *gltA* 及び *groEL* の塩基配列は、欧米のヒトや犬に感染していた *A. phagocytophilum* に高い相同性を示し、茨城県の犬に感染した *A. phagocytophilum* は欧米の株と類似することが明らかとなった。

次に第 2 章では、茨城県における犬の *A. phagocytophilum* 感染状況を、PCR 及び IFA を用いて調査した。Anaplasma 科及び *A. phagocytophilum* 特異的 PCR による調査では 331 頭中 1 頭 (0.3%) が、一方の IFA では 328 頭中 7 頭 (2.1%) が陽性であった。以前の全国調査 (0.2%) と比較して茨城県では抗体陽性率が高く、*A. phagocytophilum* に不顕性感染している犬がより多く存在することが明らかとなった。

第 3 章では、茨城県内のマダニの *A. phagocytophilum* 保有状況を、分子生物学的手法を用いて調査した。つくば市の計 325 匹のマダニは全て陰性であったが、守谷市で採取した計 759 匹のうちフタトゲチマダニの 3 サンプルから本菌が検出され、フタトゲチマダニが本菌のベクターである可能性が示された。

第 4 章では、茨城県と千葉県野生小型哺乳類の *A. phagocytophilum* 保有状況を、分子生物学的手法を用いて調査した。その結果、土浦市のアカネズミ 1 匹から *A. phagocytophilum* の遺伝子が検出され、アカネズミが保菌動物である可能性が示唆された。

以上の研究成果は、我が国の流行地である茨城県において、犬の *A. phagocytophilum* 感染症の臨床像と疫学的状況を明らかにしたものであり、獣医臨床学的並びに公衆衛生学的に有用な学術情報を提供している。

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な価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : First molecular detection and phylogenetic analysis of *Anaplasma phagocytophilum* from a clinical case of canine granulocytic anaplasmosis in Japan
著 者 名 : Fukui, Y., Ohkawa, S. and Inokuma, H.
学術雑誌名 : Japanese Journal of Infectious Diseases
巻・号・頁・発行年 : 71 (4) : 302-305, 2018
- 2) 題 目 : Subclinical infections of *Anaplasma phagocytophilum* and *Anaplasma bovis* in dogs from Ibaraki, Japan
著 者 名 : Fukui, Y. and Inokuma, H.
学術雑誌名 : Japanese Journal of Infectious Diseases
巻・号・頁・発行年 : 72 (3) : 168-172, 2019
- 3) 題 目 : Detection of morulae in peripheral blood neutrophils from two dogs with *Anaplasma phagocytophilum* infection in Japan
著 者 名 : Fukui, Y., Ohkawa, S. and Inokuma, H.
学術雑誌名 : The Japanese Journal of Veterinary Research
巻・号・頁・発行年 : 67 (3) : 241-246, 2019

4) 題 目 : Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* from larvae of
Haemaphysalis longicornis in Ibaraki, Japan
著 者 名 : Fukui, Y. and Inokuma, H.
学術雑誌名 : Japanese Journal of Infectious Diseases
卷・号・頁・発行年 : 72 (6) : 423-425, 2019