

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 14 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580442

研究課題名(和文) 我が国における犬のマダニ媒介性感染性疾患の疫学に関する研究

研究課題名(英文) Epidemiological survey for canine tick-borne diseases in Japan

研究代表者

遠藤 泰之 (Endo, Yasuyuki)

鹿児島大学・獣医学部・教授

研究者番号：90332600

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：犬の臨床の現場においてしばしば問題となるマダニ媒介性疾患のバベシア症とヘパトゾーン症に着目し、犬におけるこれらの病原体の蔓延状況を調査した。バベシア(*Babesia gibsoni*)感染犬は主に西日本で確認されたが、秋田県でも陽性例が見られ、この犬のバベシアは、シカ等を宿主とする*B. odocoilei*に近縁であることが示唆された。*B. odocoilei*は犬から検出されたことはないため、重要な知見であろう。また*Hepatozoon canis*は、今回の調査により東北、関東、北陸、中国、四国、九州地方に広く分布していることが明らかとなった。日本産ヤマネコでは*H. felis*が蔓延していた。

研究成果の概要(英文)：Babesiosis and hepatozoonosis are tick-borne diseases and are recognized as an important infectious disease in canine practice. Molecular epidemiological survey for these pathogens was conducted. *Babesia gibsoni*-infected dogs were mainly found in dogs from western area of Japan. However, one dog from Akita prefecture was also positive for *Babesia* infection. Molecular analysis revealed that *Babesia* in this dog is closely related to a ruminant *Babesia*, *B. odocoilei*. This will be an important finding in this study. *Hepatozoon canis*-infected dogs were found in dogs from Iwate, Ibaraki, Ishikawa, Fukui, Shizuoka, Shiga, Wakayama, Shimane, Hiroshima, Yamaguchi, Kagawa, Nagasaki and Kumamoto prefectures. It was revealed that *H. canis* is widely distributing in Japan including Tohoku, Kanto, Hokuriku, Chugoku, Shikoku and Kyushu areas. In addition, it was revealed that most of Japanese wildcats were infected with *H. felis*.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・臨床獣医学

キーワード：マダニ 病原体 疫学

### 1. 研究開始当初の背景

小動物臨床の現場ではしばしば節足動物媒介性の感染性疾患、とくに犬においてはマダニに媒介されるバベシア症やヘパトゾーン症といった原虫性疾患に遭遇することがある。犬のバベシア症は、バベシア属の住血原虫の感染により起こる。我が国における犬のバベシア症は、*Babesia gibsoni* (*B. gibsoni*) と *B. canis* の2種のバベシア原虫の感染により引き起こされることが知られている。これらに感染した犬ではバベシア原虫の赤血球内寄生にともなう溶血による貧血が認められ、その程度は軽度のものから致死的なものまで様々である。さらに重症例では急性腎不全や播種性血管内凝固などの合併症を引き起こして予後不良となることもあるため、小動物臨床においては極めて重要な原虫性疾患である。さらに本疾患に対しては有効な治療法が確立されていないことも大きな問題となっている。

一方、犬のヘパトゾーン症は、アピコンプレックス門ヘパトゾーン科原虫によって引き起こされる。犬に感染するヘパトゾーンとして *Hepatozoon canis* (*H. canis*) と *H. americanum* の2種類が知られているが、我が国では *H. canis* が認められる。*H. canis* 感染犬では発症に至ると、発熱、沈鬱、体重減少、貧血等が認められる。その他に筋炎や骨膜反応から疼痛や運動を嫌うといった症状も見られることがあるため、こちらも発症例の認められる地域では注意が必要な疾患である。本疾患に対しても有効な治療法は確立されていない。

上記の犬に感染する原虫の我が国における分布については、これまで *B. gibsoni* は西日本を中心に、また *B. canis* は沖縄地方に分布していると考えられてきたが、近年その分布が東日本にも広がっている可能性が指摘されている。ヘパトゾーンについては、西日本における発症例の報告は存在するものの、我が国における明確な分布状況についての情報は未だ得られていないのが現状である。

### 2. 研究の目的

本研究計画では、犬の臨床の現場において問題となる原虫性疾患のバベシア症とヘパトゾーン症に着目し、日本全国における宿主である犬と、ベクターであるマダニにおけるこれらの病原体の分布・蔓延状況を調査することによって、今後の予防対策を講じるための基礎的データを得ることを目的として研究を遂行した。また、動物種は異なるが絶滅危惧種に指定されている日本産ヤマネコ（イリオモテヤマネコおよびツシマヤマネコ）に関しても同様の検討を行うことで、各種マダニ媒介性疾患の蔓延状況を明らかにすることとした。

### 3. 研究の方法

日本全国各地の動物病院の協力を得て、病院に来院する犬より採血を行い被検材料を確保するとともに、マダニ寄生例ではマダニを確保し、さらに疫学調査の要となる犬の臨床的データも収集する。まずはじめにマダニによって媒介されるバベシア症とヘパトゾーン症に着目し、血中とマダニ内の原虫由来DNAと血中抗体の検出を行うことで蔓延状況を確認する。バベシア症については近年治療に用いられているアトバコン (ATV) に対する薬剤耐性を獲得した株の存在が示されていることから、これについても分子生物学的に解析を行う。さらに本研究計画では非常に大きな母集団をなす被検材料が得られることから、他のマダニ媒介性疾患、感染性血液疾患ならびに循環器疾患に関する疫学調査も実施する。

また日本産ヤマネコに関しても同様に、生態調査の際に採取された血液材料ならびにマダニからDNAを抽出し、各種病原体の保有状況を調査した。

### 4. 研究成果

(1) 犬の臨床の現場においてしばしば問題となるマダニ媒介性疾患のバベシア症とヘパトゾーン症に着目し、犬におけるこれらの病原体の蔓延状況を調査した。バベシア (*Babesia gibsoni*) 感染犬は主に西日本で確認されたが、秋田県でも陽性例が見られ、この犬のバベシアは、シカ等を宿主とする *B. odocoilei* に近縁であることが示唆された (図1)。*B. odocoilei* は犬から検出されたことはないため、重要な知見であろう。

また *Hepatozoon canis* は、今回の調査により東北、関東、北陸、中国、四国、九州地方に広く分布していることが明らかとなった (図2)。

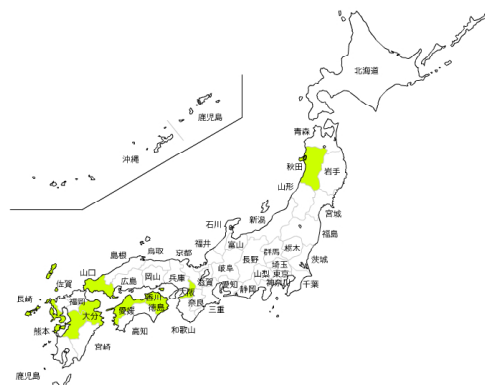


図1 *B. gibsoni* 感染犬が認められた地域。

(2) *B. gibsoni* 感染症と診断された92症例の犬の血液材料を収集し、*B. gibsoni cytb* 遺伝子の塩基配列をダイレクトシーケンス法にて解析した。解析の結果、多数の遺伝子多型が認められたが、アミノ酸置換をとともなう変異としてはM43V (1.1%)、M43I (1.1%)、A108T (2.2%)、M121I (3.3%)、I136V (1.1%)、A216T (1.1%)、V220I (6.5%)、I226V (12.0%)、A276V (1.1%)、A290V (1.1%)、

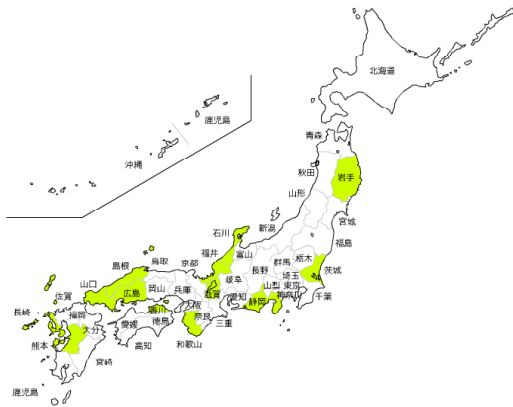


図2 *H. canis* 感染犬が認められた地域。

I303V (8.7%)、および P310S (16.3%) が検出された。ATV 耐性との関連が示されている M121I を有する *B. gibsoni* 株の分布には地域性は認められなかったが、V220I あるいは I303V を有する株は主に関西地方で検出された (図3)。

本研究により、潜在的な ATV 耐性 *B. gibsoni* 株の出現頻度は比較的 low だったものの、野外に存在していることが示された。ATV を用いた治療は、薬剤耐性株保有、あるいは出現の可能性を考慮して行われるべきであり、また ATV 耐性株出現時の対処法と耐性株の迅速な検出法の確立、ならびに大規模な疫学調査の実施が必要であると考えられた。

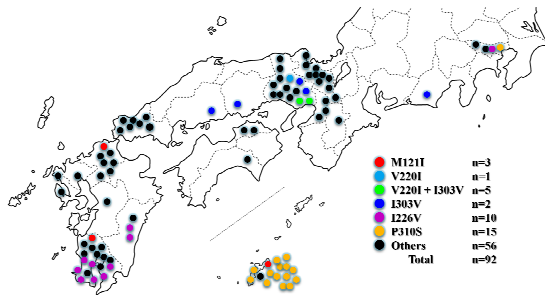


図3 ATV 耐性株が検出された地域と被験頭数。

(3) イリオモテヤマネコ (IC) とツシマヤマネコ (TLC) は、日本に生息する希少野生ネコ科動物であるが、その生息を脅かす要因として交通事故や感染症が問題となっている。ヤマネコ捕獲時にはしばしば外部寄生虫が検出されることから、本研究では、両ヤマネコにおけるバルトネラ、エールリヒア/アナプラズマ、ヘパトゾーン、バベシア/タイレリアといった節足動物媒介性疾患の感染状況を分子生物学的に調査・検討した。

2002年から2011年に実施された生態調査で捕獲された個体、または傷病個体より採取された血液検体 (IC, 43頭からのべ62検体; TLC, 15頭からのべ29検体) を材料とし、PCR法によりそれぞれの病原体由来遺伝子を増幅した。増幅された遺伝子断片の塩基配列を決定し、BLAST解析あるいは系統樹解析を行うことにより種の同定を試みた。

*Bartonella henselae* は IC、また *B. clarridgeiae* は TLC の検体から検出され、保有率はそれぞれ 6.1% と 7.7% であった。*Ehrlichia canis* は両種のヤマネコ (IC, 12.1%; TLC, 7.7%) で、また *Anaplasma bovis* が2頭の TLC で検出された。バベシアとタイレリアは検出されなかったが、*Hepatozoon felis* は一部の幼獣等を除き、成獣ではほぼ全例で検出された (IC, 69.8%; TLC, 100%)。

日本のヤマネコにおける節足動物媒介性疾患の調査を行った結果、*B. henselae*、*B. clarridgeiae*、*E. canis*、*A. bovis* の遺伝子が検出されたことから、希少種のヤマネコ保全のためには、各病原体のヤマネコへの感染経路、病原性ならびに他の感染症も含め継続的な調査が必要であると思われた。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 4 件)

① Tateno, M., Nishio, T., Matsuo, T., Sakuma, M., Nakanishi, N., Izawa, M., Asari, Y., Okamura, M., Shimokawa Miyama, T., Setoguchi, A. and Endo, Y. Epidemiological survey of tick-borne protozoal infection in Iriomote cats and Tsushima leopard cats in Japan. *J Vet Med Sci*, 75:985-989 (2013) [査読有].

② Tateno, M., Nishio, T., Sakuma, M., Nakanishi, N., Izawa, M., Asari, Y., Okamura, M., Maruyama, S., Shimokawa Miyama, T., Setoguchi, A. and Endo, Y. Molecular epidemiological survey of *Bartonella*, *Ehrlichia* and *Anaplasma* infections in Japanese Iriomote and Tsushima leopard cats. *J Wildl Dis*, 49:646-652 (2013) [査読有].

③ Sakuma, M., Fukuda, K., Takayama, K., Kobatashi, Y., Shimokawa Miyama, T., Setoguchi, A. and Endo, Y. Molecular epidemiological survey of the *Babesia gibsoni* cytochrome *b* gene in western Japan. *J Vet Med Sci*, 74:1341-1344 (2012) [査読有].

④ Hirata, M., Tateno, M., Sakuma, M., Nakanishi, N., Izawa, M., Asari, Y., Okamura, M., Shimokawa Miyama, T., Setoguchi, A. and Endo, Y. An epidemiological survey of hemoplasma infection in Iriomote cats (*Prionailurus bengalensis iriomotensis*). *J Vet Med Sci*, 74:1531-1537 (2012) [査読有].

[学会発表] (計 2 件)

① Tateno, M., Sunahara, A., Nishio, T., Hirata, M., Sakuma, M., Matsuo, T., Nakanishi, N., Izawa, M., Asari, Y., Okamura, M., Shimokawa Miyama, T., Setoguchi, A. and Endo, Y. A molecular epidemiological survey of infectious diseases in Japanese wildcats. The 3rd

Asian Veterinary Internal Medicine Meeting. Bogor, Indonesia, 2013.

②西尾拓真、立野守洋、佐久間暢人、伊澤雅子、中西希、浅利祐美子、岡村麻生、丸山総一、下川孝子、瀬戸口明日香、遠藤泰之。日本産ヤマネコにおける節足動物媒介性疾患の分子疫学調査。日本獣医学会学術集会。岩手，2012。

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

遠藤 泰之 (ENDO, Yasuyuki)

鹿児島大学・共同獣医学部・教授

研究者番号：90332600