

大阪府におけるウエストナイルウイルスに対するサーベイランス調査 (2009年度)

青山幾子^{*1} 弓指孝博^{*1} 加藤友子^{*2} 佐藤良江^{*3} 倉持 隆^{*4}
西村平和^{*4} 中島康勝^{*4} 加瀬哲男^{*1} 高橋和郎^{*5}

大阪府ではウエストナイルウイルス(WNV)の侵入を監視する目的で、2003年度より媒介蚊のサーベイランス事業を実施している。また、死亡原因の不明な鳥死骸が2羽以上同地点で見られた場合、その鳥についてもWNV検査を実施している。

2009年度は6月末から9月末にかけて府内20カ所で蚊の捕集を行い、得られた雌の蚊についてWNV遺伝子の検出を試みた。捕集された蚊は6種4682匹で、そのうちアカイエカ群(61.5%)とヒトスジシマカ(36.8%)が大部分を占め、他にコガタアカイエカ(1.7%)、シナハマダラカ(0.02%)、トウゴウヤブカ(0.02%)、トラフカクイカ(0.02%)が捕集された。定点及び種類別の蚊348プールについてWNV遺伝子検査を実施したが、すべての検体において検出されなかった。また、2009年度当所に搬入された死亡カラス(2頭)の脳を対象にWNV遺伝子検査を行ったが、WNVの遺伝子は検出されなかった。

キーワード:ウエストナイルウイルス、媒介蚊、サーベイランス、RT-PCR、カラス

key words : West Nile virus, vector mosquitoes, surveillance, RT-PCR, crow

ウエストナイル熱は蚊によって媒介されるウイルス性の熱性疾患である。その病原体であるウエストナイルウイルス(WNV)は1937年にウガンダで発熱患者から分離され、アフリカ、ヨーロッパ、西アジア、中東を中心に散発的に流行がみられていた¹⁾。1999年には西半球(米国)で初めて患者が報告された。米国ではそ

の後毎年ウエストナイル熱の流行が発生し、2009年までの患者数は29,000人以上、死亡例は1,100人以上を数えた²⁾。また、カナダやメキシコでも患者が発生し、WNVの活動地域は北中米のほぼ全域から南米アルゼンチンに至るまで拡大している³⁻⁵⁾。さらに、イタリアなどヨーロッパでも、最近の流行が報告されている⁶⁾。わが国でも2005年に米国渡航者によるウエストナイル熱の輸入症例が初めて確認された⁷⁾。現在のところ、国内における感染報告事例はない。

WNVは自然界において蚊と鳥類の間で感染サイクルが維持されている。このような感染症が、我が国にいつどのように侵入してくるかは予測できないが、ウイルスの持ち込まれるルートとして、航空機や船舶に紛れ込んだウイルス保有蚊や、WNVに感染した渡り鳥によるものなどが考えられている。WNVの侵入・蔓延を防止するためにはWNVに対する継続的な監視を行い、早期発見、防疫対策を行うことが必要と考えられる。

大阪府ではベクターとなりうる蚊の種類や、蚊のウ

^{*1}大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 ウイルス課

^{*2}大阪府健康医療部 保健医療室 地域保健感染症課

^{*3}大阪府健康医療部 保健医療室 地域保健感染症課
(現 寝屋川保健所企画調整課)

^{*4}大阪府健康医療部 環境衛生課

^{*5}大阪府立公衆衛生研究所 感染症部

West Nile Virus Surveillance in Osaka Prefecture

(Fiscal 2009 Report)

by Ikuko AOYAMA, Takahiro YUMISASHI, Tomoko KATO, Yoshie SATO, Takashi KURAMOCHI, Hirakazu NISHIMURA, Yasumasa NAKAJIMA, Tetsuo KASE, and Kazuo TAKAHASHI

ウイルス保有について調べるため、2003年度より蚊のサーベイランス調査を実施している⁸⁻¹⁴⁾。また、カラス属のトリは WNV に対する感受性が高く、血中ウイルス量が多いこと、WNV 感染により死亡しやすいことなどから、米国で WNV の活動地域を調べる指標として用いられている^{2, 15)}。日本でも、厚生労働省より死亡カラス情報の収集に関する通知が出されており¹⁶⁾、大阪府においても、死亡原因の不明なカラスの死骸が同地点で 2 羽以上見られた場合、その鳥について WNV 検査を実施している。ここでは 2009 年度の調査結果について報告する。

調査方法

1. 捕集地点および調査実施期間

図 1 に示したように大阪府管内、東大阪市及び高槻市に計 20 カ所の定点を設定し、2009 年 6 月第 4 週から 9 月第 4 週（東大阪市及び高槻市は 9 月第 2 週）までの期間、隔週の火曜日から水曜日にかけてトラップを設置し、蚊の捕集調査を実施した。

2. 蚊の捕集方法

蚊の捕集には CDC ミニライトトラップ(John W.Hock

Company)を使用し、蚊の誘引のためドライアイス(1～2kg)を併用した。トラップは調査実施日の夕刻 16～17 時から翌朝 9～10 時までの約 17 時間設置した。

3. 蚊の同定

捕集した蚊は、各保健所において種類を同定し、種類ごとに別容器に入れて当日中に公衆衛生研究所に搬入した¹⁷⁾。同定が困難な蚊等については公衆衛生研究所で再度チェックした。アカイエカとチカイエカは外見上の区別が困難であることから、すべてアカイエカ群として分別した。

4. 蚊からのウイルス検出

各定点で捕集された蚊のうち雌を検査の対象とし、定点毎、種類毎に乳剤を作成し、ウイルス検査に用いた。1 定点 1 種類あたりの検体数が 50 匹を超える場合は、複数のプールに分割した。乳剤の作成は 2mL のマイクロチューブに捕集蚊とステンレス製クラッシャーを入れ、0.2%ウシ血清アルブミン(BSA)加ハンクス液を 250 μ L 加えた後、多検体細胞破碎装置（シェイクマスター Ver1.2 システム、バイオメディカルサイエンス）で約 1 分振とうして作成した。破碎後のマイクロチューブを軽く遠心してからクラッシャーを除去し、

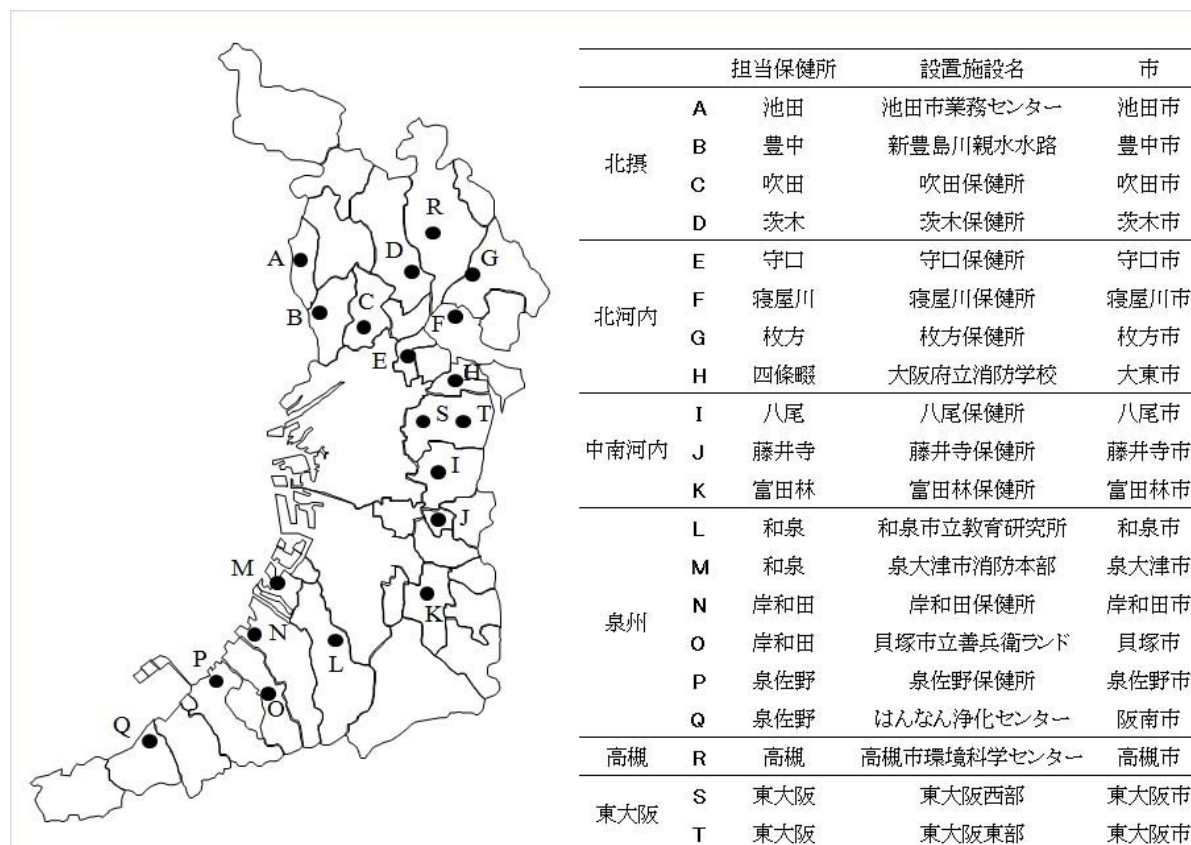


図 1 蚊の捕集地点

0.2%BSA 加ハンクス液を 500 μ L 追加して攪拌した。それを 4 $^{\circ}$ C 10,000rpm で 20 分間遠心し、その上清を 0.45 μ m Millex フィルター(ミリポア)で濾過したものを検査材料とした。なお、1 プール中の蚊の数の多寡により加えるハンクス液を適宜調節した。検査材料のうち 150 μ L は E.Z.N.A. Viral RNA Kit (OMEGA bio-tek) を使用して RNA を抽出し、残りの材料を細胞培養(C6/36 細胞)によるウイルス培養に用いた。RT-PCR は、フラビウイルス共通プライマー(Fla-U5004/5457,YF-1/3)、および WNV 特異的検出プライマー (WNNY 514/904) を用いた^{18, 19)}。WNV 特異的検出プライマーの検出感度は NY 株を用いた場合約 1 PFU/tube である。

また、近年同じ蚊媒介性感染症であるチクングニヤ熱の輸入症例の報告数が増加していることから、その媒介蚊となるヒトスジシマカについてチクングニヤウ

イルス(CHIKV)特異的検出プライマー(chik10294s/10573c)を用いて、CHIKV の遺伝子検出を試みた²⁰⁾。

5. カラスからのウイルス検出

回収されたカラスは大阪府南部家畜保健衛生所病性鑑定室(現 大阪府家畜保健衛生所)にて解剖された後、脳のみ当所にて検査を実施した。カラス毎に 10%乳剤を作成し、蚊と同様に RNA 抽出後遺伝子検査を実施した。

結 果

1. 蚊の捕集結果について

捕集された雌の蚊は 6 種 4682 匹であった。その構成はアカイエカ群とヒトスジシマカで 98%を占めた(図 2)。その他の蚊として、コガタアカイエカ、トウゴウヤブカ、シナハマダラカ、トラフカクイカが捕集された。昨年との比較では、アカイエカ群とヒトスジシマカが大半を占めることは同じであるが、昨年度はアカイエカ群とヒトスジシマカの占める割合がほぼ等しかったのに比べ、今年度はアカイエカ群の割合がヒトスジシマカの 1.7 倍となった。

調査期間を通じた捕集数の推移では、アカイエカ群はサーベイランス開始時より捕集数が多く、6 月初めにピークを示したが、その後急減し、そのまま推移した(図 3)。また、ヒトスジシマカは 7 月後半から 8 月にかけて捕集数が増加したものの、大きなピークはみられなかった。これらの傾向は 2006、2007 年の 2 峰性

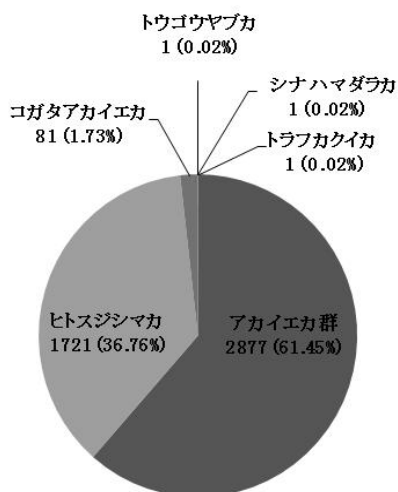


図2 捕集された蚊の種類と数及び構成比

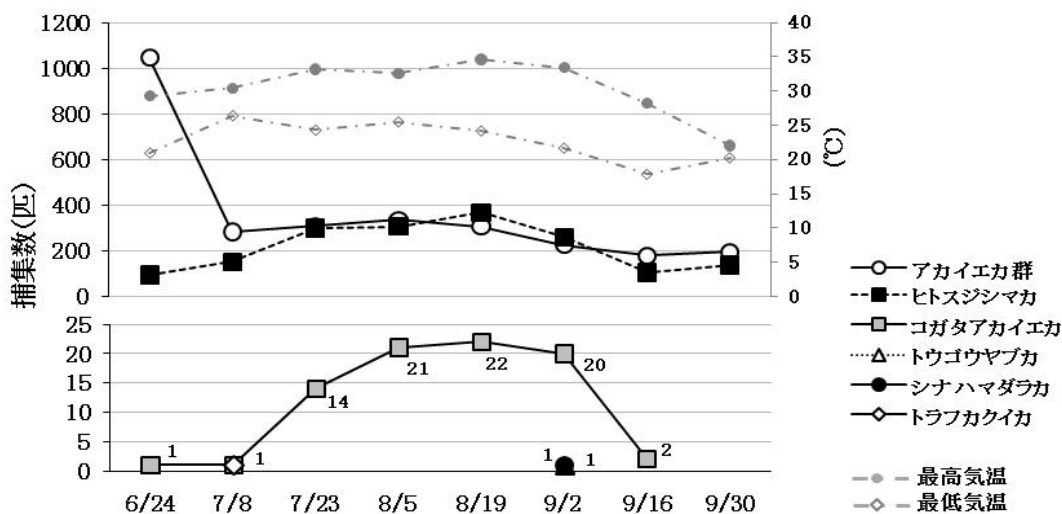


図3 蚊の捕集数の推移

で増減の激しかった捕集結果とは異なり、2003年の大阪府における住宅地域で行った調査や2004年の調査と傾向が同じであった。コガタアカイエカは、過去の調査と同様に7月後半から9月前半に捕集され、9月末には捕集がみられなかった。トウゴウヤブカ、シナハマダラカ、トラフカクイカについては、捕集数が少なく、捕集場所も限られていた。そのなかでも、トラフカクイカは2003年度からの本調査において、初めて捕集された。

定点別の捕集数では、各地点により捕集数の大きな差はあるが、アカイエカ群とヒトスジシマカはすべての地点で捕集された。コガタアカイエカは12カ所で捕集され、昨年度捕集された11カ所とほぼ同じであった(図4)。シナハマダラカは貝塚、トウゴウヤブカは東

大阪西部、トラフカクイカは豊中のそれぞれ1カ所のみで捕集された。

2. 捕集蚊からのウイルス遺伝子検査結果

各定点で捕集された蚊を種類別に分け348プールの乳剤を作成してRT-PCR法による遺伝子検査を実施したが、すべての検体においてWNVの遺伝子は検出されなかった。またヒトスジシマカの遺伝子検査においてCHIKVの遺伝子は検出されなかった。

3. 死亡カラスの回収数とウイルス遺伝子検査結果

今年度回収されたカラス2頭から、WNVの遺伝子は検出されなかった。

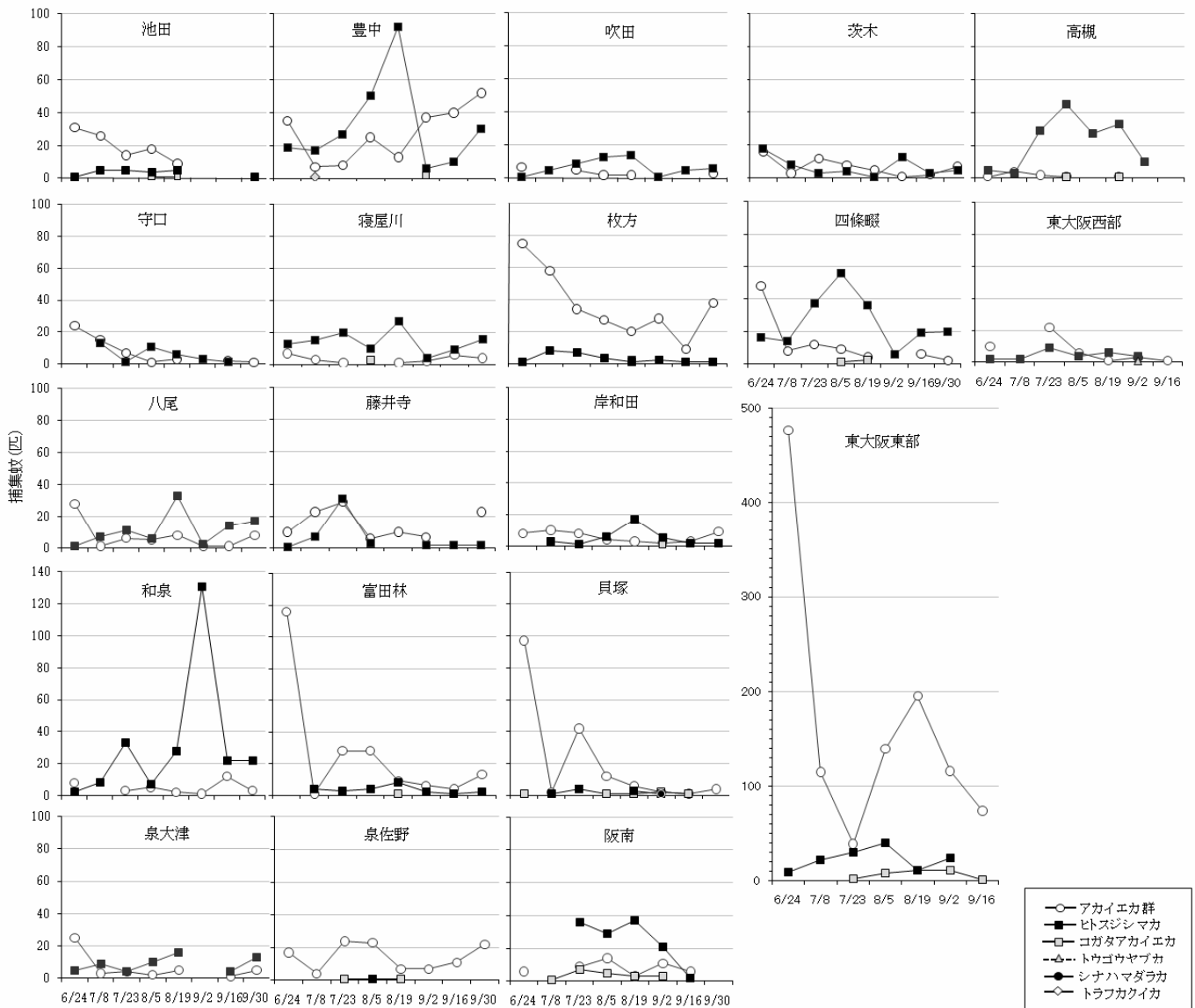


図4 定点別にみた蚊の捕集数の推移

考 察

今回の調査で捕集された蚊の種類は、アカイエカ群とヒトスジシマカが大半を占めた。次いで捕集されたのはコガタアカイエカで、これらは過去の結果とほぼ同じで、大阪府において WNV 媒介蚊対策を行う際にはこれら3種の蚊をターゲットとすればいいことが確認できた。また、昨年度はアカイエカ群とヒトスジシマカの占める割合がほぼ等しかったのに比べ、今回はアカイエカ群の捕集数の増加が見られた。アカイエカ群の捕集数が多かった地点はいずれも住宅街の中にあり、周囲の民家でもアカイエカの発生が多いことが予想された。

各調査地点で捕集される蚊の種類や数の変動には、気温、降水量などの気候変動と、調査実施日の天候、気温、風速などが大きく影響すると考えられる。今夏は台風や大雨が少なく、激しい気候変動はみられなかった。今年度の蚊の捕集数の推移に大きな増減がみられなかったのは、これらの安定した気象条件が一因だと考えられる。また、各調査地点における優占種は、毎年ほぼ同じで、住宅街の中にある調査地点はアカイエカ群、近隣に竹藪や公園がある調査地点はヒトスジシマカが優占種であったことから、この種の生息域に変化が見られていないことが考えられた。

WNV については、多くの自治体で蚊の調査が実施さ

れている。現在のところ国内で蚊や鳥から WNV が検出されたという報告はなく、北米からの帰国者におけるウエストナイル熱輸入症例が報告されているのみである⁷⁾。トリの抗体保有率の上昇や、蚊の駆除活動、ヒトや馬などの抗体保有率の上昇、地域や個人の対策に関する教育効果などから、米国における患者数は減少する可能性が予想されており、現に2008、2009年度は患者数が減少傾向にあった²⁾。しかしウイルスの活動地域が拡大している南米やロシアが今後どのような状況になるかを予想することは困難である。

また、近年 WNV と同じく蚊が媒介するデング熱やチクングニヤ熱の大きな流行が相次いで起こっており、わが国でも輸入症例の報告数が増加している。今回、全地点で捕集されたヒトスジシマカはデング熱やチクングニヤ熱のベクターとしても重要な蚊である。特にチクングニヤ熱はヒト血中でのウイルス量が多く、ヒト→蚊→ヒトの感染が起こりやすいと考えられており、警戒すべき感染症である。2009年には、WNV 対策と同じく、チクングニヤ熱媒介蚊対策に関するガイドラインが国立感染症研究所により策定されている²⁰⁾。本調査で捕集したヒトスジシマカについて、本ガイドラインに従い CHIKV について遺伝子検出を試みたところ、すべての検体において CHIKV の遺伝子は検出されなかった。

他に蚊が媒介する感染症として、日本脳炎がある。

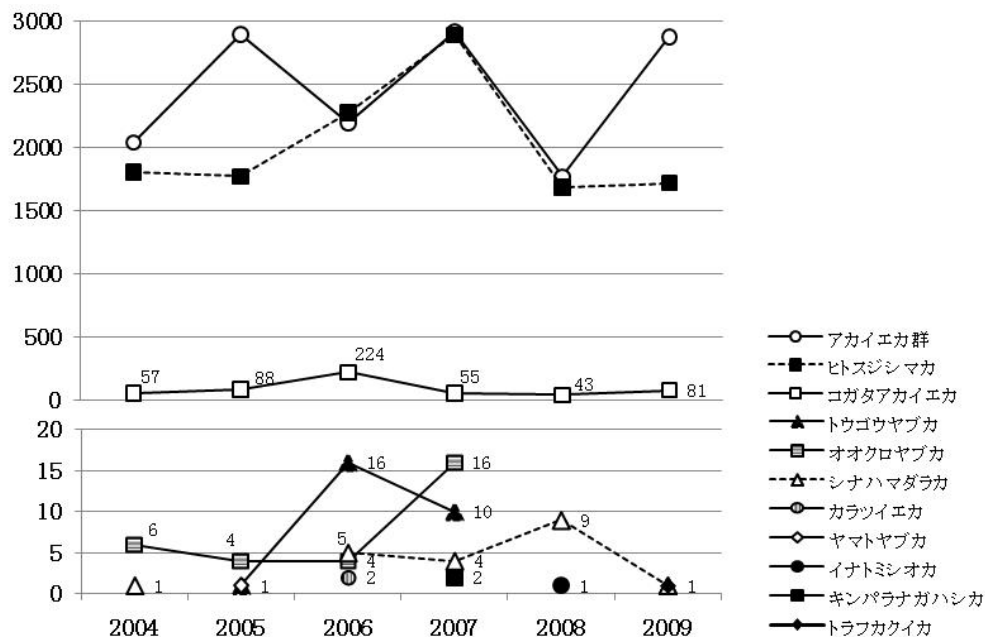


図5 蚊捕集数の6年間の推移

池田、門真・守口、阪南、東大阪西部、高槻は捕集場所の変更あり
2004、2005は門真のアカイエカ群データを除く

2009年度は大阪府内でも患者が発生した。感染したと推定される時期に滋賀県への旅行歴もあるが、いずれにしても近畿地方で感染し、発症したと考えられる。本調査でも、日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカは毎年捕集されている(図5)。

以上のような蚊媒介性感染症は、今後とも注意が必要であり、本調査のようなサーベイランスを継続することは、実際の発生時に防疫に従事すると考えられる環境衛生監視員等における意識と技術の向上や維持、衛生研究所との連携活動につながり、危機管理対策の一つとして重要である。ウエストナイル熱やチングニヤ熱は、未だヒト用のワクチンは実用化されておらず、対策は蚊に刺されないことしかない。このような状況では、現在わが国に患者の発生がないからといって、ウエストナイル熱やチングニヤ熱のわが国への侵入に対する警戒を緩めてはならないと思われる。

本調査は、大阪府立公衆衛生研究所、大阪府健康医療部環境衛生課および各保健所の協力のもとに大阪府健康医療部保健医療室地域保健感染症課の事業として実施されたものであり、調査に関係した多くの方々に深謝致します。また、データをご提供頂いた東大阪市保健所、高槻市保健所の関係者の方々に深くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 高崎智彦：ウエストナイル熱・脳炎，ウイルス，**57**，199-206 (2007)
- 2) CDC: West Nile Virus Statistics, Surveillance, and Control, <http://www.nih.gov/vir1/NVL/WNVhomepage/WN.html>
- 3) Public Health Agency of Canada: West Nile Virus Monitor
<http://www.phac-aspc.gc.ca/wnv-vwn/index-eng.php>
- 4) West Nile virus -Mexico (Sonora) ProMed-mail, 20040905.2486 (2004)
- 5) Morales, M.A., Barrandeguy, M., Fabbri, C., Garcia, G.B., et al.: West Nile virus isolation from equines in Argentina, 2006. *Emerg Infect Dis.*, **12**: 1559-1561. (2007)
- 6) West Nile virus - Italy, ProMed-mail, 20100520.1670 (2010)
- 7) 小泉加奈子, 中島由紀子, 松崎真和ら：本邦で初めて確認されたウエストナイル熱の輸入症例, *感染症誌*, **80**, 56-57 (2006)
- 8) 瀧幾子, 弓指孝博, 吉田永祥ら：大阪府の住宅地域における蚊の分布調査, *大阪府立公衛研所報*, **42**, 65-70 (2004)
- 9) 弓指孝博, 瀧幾子, 齋藤浩一ら：大阪府におけるウエストナイル熱に関する蚊のサーベイランス, *大阪府立公衛研所報*, **42**, 57-63 (2004)
- 10) 青山幾子, 弓指孝博, 齋藤浩一ら：大阪府におけるウエストナイル熱に関する蚊のサーベイランス調査 (平成 16 年度報告), *大阪府立公衛研所報*, **43**, 77-84 (2005)
- 11) 青山幾子, 弓指孝博, 齋藤浩一ら：大阪府におけるウエストナイルウイルスに関する蚊のサーベイランス調査 (2005 年度報告), *大阪府立公衛研所報*, **44**, 1-8 (2006)
- 12) 川淵貴子, 弓指孝博, 青山幾子ら：大阪府におけるウエストナイルウイルスに関する蚊のサーベイランス調査 (2006 年度報告), *大阪府立公衛研所報*, **45**, 1-5 (2007)
- 13) 弓指孝博, 廣井聡, 青山幾子ら：大阪府におけるウエストナイルウイルスに対する蚊のサーベイランス調査 (2007 年度), *大阪府立公衛研所報*, **46**, 9-15 (2008)
- 14) 青山幾子, 弓指孝博, 中田恵子ら：大阪府におけるウエストナイルウイルスに対するサーベイランス調査 (2008 年度), *大阪府立公衛研所報*, **47**, 1-8 (2009)
- 15) Steele, K.E., Linn, M.J., Schoepp, R.J., et al.: Pathology of fatal West Nile virus infections in native and exotic birds during the 1999 outbreak in New York City, New York. *Vet Pathol.*, **37**, 208-224 (2000)
- 16) 厚生労働省健康局結核感染症課長通知：ウエストナイル熱の流行予測のための死亡カラス情報の収集等について(2003.12.13)
- 17) 弓指孝博, 青山幾子：ウエストナイル熱 (脳炎), *大阪府立公衆衛生研究所感染症プロジェクト委員会編 感染症検査マニュアル第Ⅲ集*, 1-13 (2004)
- 18) 国立感染症研究所 ウエストナイルウイルス病原体検査マニュアル Ver.4 (2006)

<http://www.nih.go.jp/vir1/NVL/WNVhomepage/WN.html>

- 19) 森田公一, 田中真理子, 五十嵐章 : PCR 法を用いた
フラビウイルスの迅速診断法の開発に関する基礎
的研究, 臨床とウイルス, 18, 322-325 (1990)
- 20) 水野泰孝, 加藤康幸, 工藤宏一郎ら : 遷延する関

節痛より確定診断に至ったチクングニヤ熱の本邦
初症例, 感染症誌, 81, 600-601 (2007)

- 21) 小林睦生ら : チクングニヤ熱媒介蚊対策に関するガ
イドライン(2009)
- <http://www.nih.go.jp/niid/entomology/chikungunya/guideline.pdf>