

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 (2010年度)

青山幾子^{*1} 弓指孝博^{*1} 熊井優子^{*2} 梯和代^{*2} 加藤友子^{*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。

2010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4146匹で、そのうちアカイエカ群(40.2%)とヒトスジシマカ(53.4%)が大部分を占め、他にコガタアカイエカ(6.1%)、シナハマダラカ(0.22%)、トウゴウヤブカ(0.02%)、キンパラナガハシカ(0.02%)が捕集された。定点及び種類別の蚊340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WNVは検出されなかった。また、2010年度当所に搬入された死亡カラス(7頭)の脳を対象にWNV遺伝子検査を行ったが、WNV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。その病原体はフラビウイルス科フラビウイルス属のウエストナイルウイルス(WNV)で、このウイルス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。ウエストナイル熱は、従来、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⁾。しかし、1999年に米国で初めて患者が報告されて以来、WNVの活動地域は北米から中南米まで拡大している²⁻⁵⁾。わが国では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⁶⁾。現在のところ、国内における感染報告事例はない。

WNVが、いつどの経路で国内に侵入してくるかは予測できないが、侵入経路として、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ルート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である。

大阪府ではベクターとなりうる蚊の種類や、蚊の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⁷⁻¹⁴⁾。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)}。大阪府においても、厚生労働省の通知に従い¹⁶⁾、死亡原因の不明なカラスの死骸が同

^{*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 大阪府四條畷保健所生活衛生室検査課)

^{*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 2010 Report)

by Ikuko AOYAMA, Takahiro YUMISASHI, Yuko KUMAI, Kazuyo KAKEHASHI, Tomoko KATO, Takashi KURAMOCHI, Hirakazu NISHIMURA, Yasumasa NAKAJIMA, Tetsuo KASE, and Kazuo TAKAHASHI

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2010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、2010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。

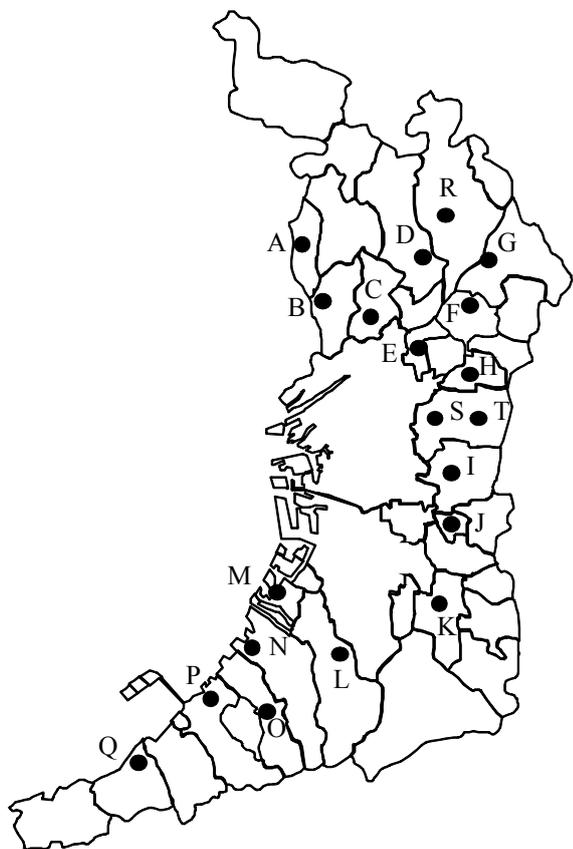
3. 蚊の同定

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、ヒトを吸血する雌のみを検査の対象とし、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。乳剤は2mLのマイクロチューブに捕集蚊と滅菌した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anks液を250μL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、0.2%BSA加ハanks液を500μL追加して攪拌した。それを4℃ 12,000rpmで15分間遠心し、その上清を0.45μm 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



	担当保健所	設置施設名	市	
北摂	A	池田	池田市業務センター	池田市
	B	豊中	新豊島川親水水路	豊中市
	C	吹田	吹田保健所	吹田市
	D	茨木	茨木保健所	茨木市
北河内	E	守口	守口保健所	守口市
	F	寝屋川	寝屋川保健所	寝屋川市
	G	枚方	枚方保健所	枚方市
	H	四條畷	大阪府立消防学校	大東市
中南河内	I	八尾	八尾保健所	八尾市
	J	藤井寺	藤井寺保健所	藤井寺市
	K	富田林	富田林保健所	富田林市
泉州	L	和泉	和泉市立教育研究所	和泉市
	M	和泉	泉大津市消防本部	泉大津市
	N	岸和田	岸和田保健所	岸和田市
	O	岸和田	貝塚市立善兵衛ランド	貝塚市
	P	泉佐野	泉佐野保健所	泉佐野市
Q	泉佐野	ほんなん浄化センター	阪南市	
高槻	R	高槻	高槻市環境科学センター	高槻市
東大阪	S	東大阪	東大阪西部	東大阪市
	T	東大阪	東大阪東部	東大阪市

図1 蚊の捕集地点

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 について E.Z.N.A. Viral RNA Kit (OMEGA bio-tek) を使用して RNA を抽出した。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 (WN NY 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、2011 年 2 月 1 日付で同じく蚊媒介性感染症であるチクングニア熱が感染症法上に 4 類感染症として規定された²⁰⁾。チクングニア熱の媒介蚊となるヒトスジシマカについては、チクングニアウイルス (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²¹⁾。

5. カラスからのウイルス検出

当所に搬入された死亡カラスを解剖し、脳についてウイルス検査を実施した。カラス毎に 0.2%BSA 加ハンクス液を用いて 10%乳剤を作成し、蚊と同様に RNA 抽出後、WNV 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 4146 匹であった。その構成はヒトスジシマカ (53.4%) とアカイエカ群

(40.2%) が大半を占めた (図 2)。その他の蚊として、コガタアカイエカ、シナハマダラカ、キンバラナガハシカ、トウゴウヤブカが捕集された。昨年との比較では、昨年度はアカイエカ群の割合がヒトスジシマカの 1.7 倍であったが、今年度はヒトスジシマカがアカイエカ群の 1.3 倍となり、ヒトスジシマカの割合が多かった。また、コガタアカイエカは昨年度の約 3 倍捕集された。

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かったが、その後大きなピークはみられず 8 月中旬までほぼ一定に推移した (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、2 峰性を示した。コ

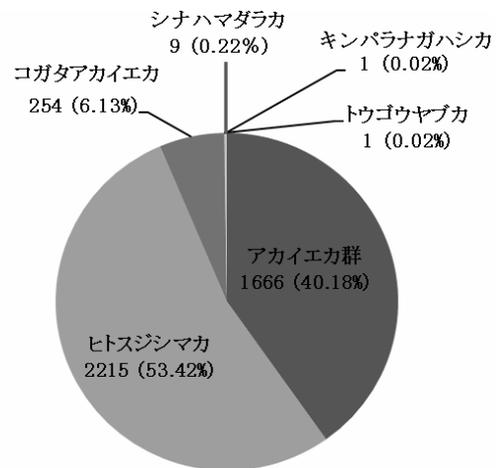


図2 捕集された蚊の種類と数及び構成比

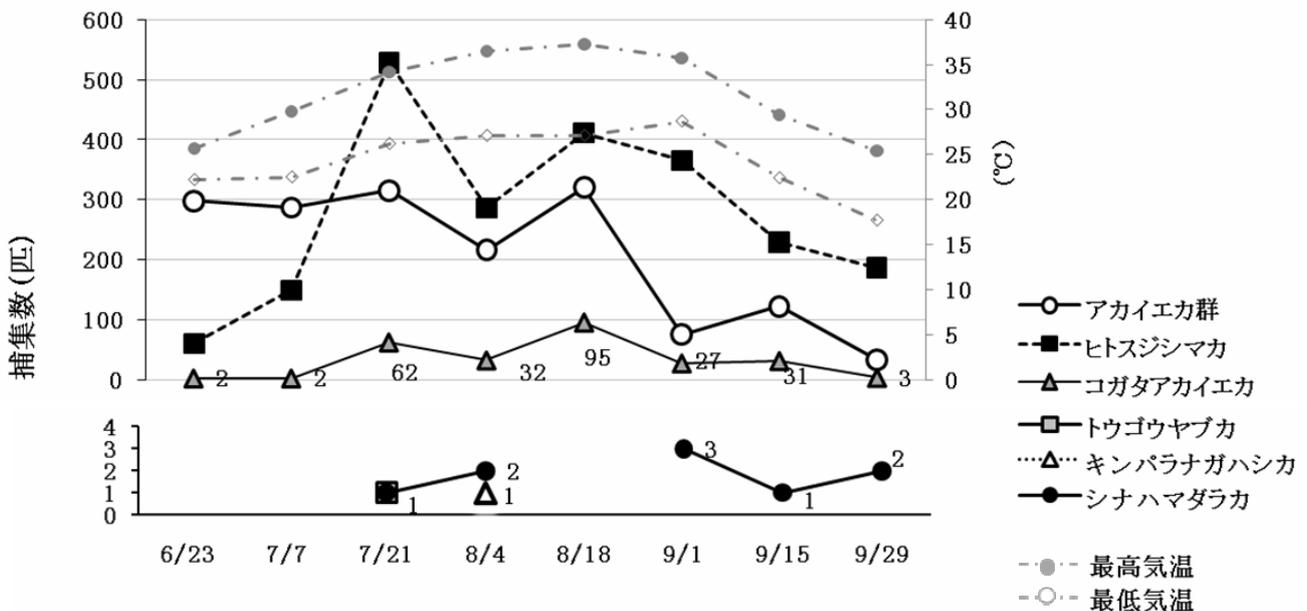


図3 蚊の捕集数の推移

ガタアカイエカは、過去の調査では7月後半から9月前半に捕集されていたが、今回は調査開始時から終了時まで継続して捕集された。その他の蚊は捕集数が少なく、捕集場所も限られていた。

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（図4）。コガタアカイエカは10カ所で捕集され、昨年度の12カ所よりも捕集されたところは少なかったが、阪南と高槻で多く捕集され、全体として捕集数が昨年度を上回った（図5）。シナハマダラカは和泉と阪南、トウゴウヤブカは東大阪東部、キンバラナガハシカは和泉で捕集された。

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 340 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から 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7頭から、WNV の遺伝子は検出されなかった。

考 察

今回の調査で捕集された蚊の種類は、ヒトスジシマカ、アカイエカ群、コガタアカイエカの3種類を合わせて 99.7% を占め、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良

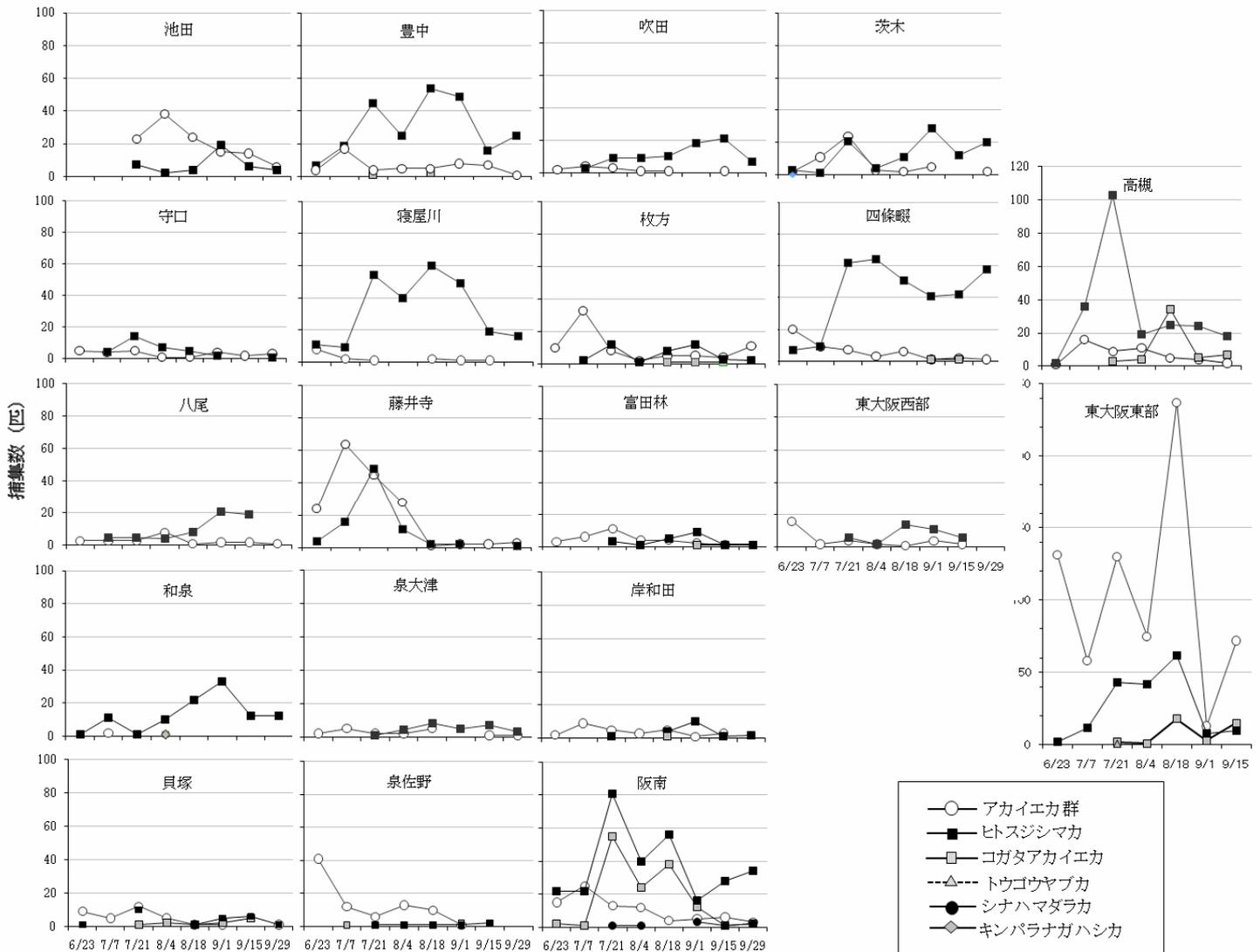


図4 定点別にみた蚊の捕集数の推移

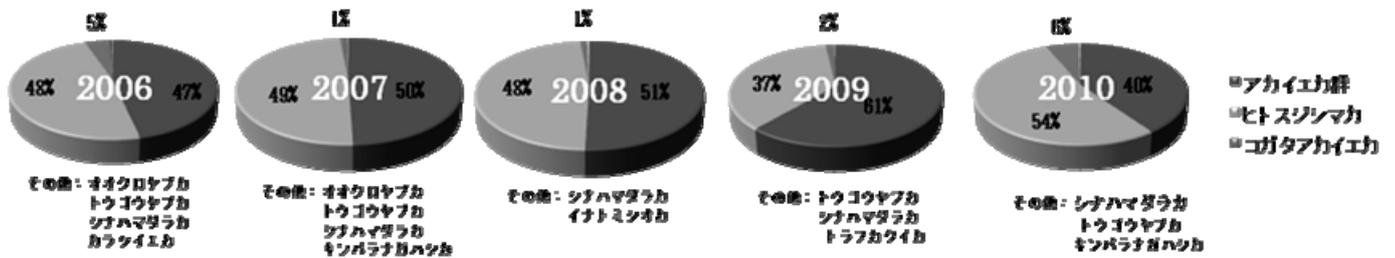


図5 捕集した蚊の種類構成

いことが再度確認できた。また、昨年度はアカイエカ群の捕集割合が高かったが、今回はヒトスジシマカの増加が見られた。ヒトスジシマカの捕集数が多い地点はこれまでの調査とほぼ同じであるが、阪南や高槻の捕集数は昨年度よりもかなり多く、これらの周囲の民家でもヒトスジシマ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。今夏は猛暑で、最高気温は調査開始時から終了時まで25℃以上であった。また、7月末から9月初旬にかけては最低気温も25℃以上が続き、夏日や真夏日が続いた。猛暑のため雨水枡などの蚊の発生源が乾き、夏場の蚊の発生が抑えられる可能性も考えられたが、そのような傾向は、明確にはみられなかった。

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米国からの輸入症例が1例報告されているのみである⁷⁾。米国ではWNV蔓延後、2008年から2010年度は患者数が減少傾向にあったが、依然として患者報告数は多い²⁾。ヨーロッパでも、イタリア、ギリシャ、ルーマニアなどで感染者が報告され、どの国から我が国へWNVが持ち込まれるかは予測できない²²⁻²⁴⁾

また、近年WNVと同じく蚊が媒介するウイルス性感染症のデング熱やチクングニア熱の大きな流行が相次いで起こっている。我が国でも輸入症例の報告数が増加し、2011年2月1日付でチクングニア熱が感染症法並びに検疫法に記載された。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ア熱のベクターとしても重要な蚊である。これらのウイルスはWNVと異なり、ヒト-蚊-ヒトで感染サイクルが成立する。ウエストナイル熱だけでなく、デング熱やチク

ングニア熱も、蚊のウイルス保有が確認された場合、流行が起きる可能性があり、早期に対応が必要となると考えられる。

他に蚊が媒介する感染症として日本脳炎がある。大阪府内でも2009年度に患者が発生した。本調査では、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)。また、大阪府の動物由来感染症サーベイランス結果報告では、府内の豚で毎年日本脳炎抗体が検出されており、大阪府においても日本脳炎に感染する可能性があると考えられる²⁵⁾。

ウエストナイル熱やデング熱、チクングニア熱は、未だヒト用のワクチンは実用化されておらず、予防対策は蚊に刺されないことしかない。このような蚊媒介性感染症は、現在国内で患者が発生していなくても、今後とも侵入に対する警戒や対策は必要である²⁶⁾。また、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環境衛生監視員等保健所職員のウエストナイル熱や蚊の捕集・同定に関する知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っている。防疫に対応する職員が予め経験を積むことで緊急時に即対応ができることから、本サーベイランスは危機管理対策の一つとして非常に重要だと考えられる。

謝 辞

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(2), 199-206 (2007)
- 2) CDC: West Nile Virus Statistics, Surveillance, and Control Archive, <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/surv&control.htm>
- 3) Public Health Agency of Canada: West Nile Virus Monitor
<http://www.phac-aspc.gc.ca/wnv-vwn/index-eng.php>
- 4) Elizondo D, Davis CT, Fernandez I., et al: West Nile virus isolation in human and mosquitoes, Mexico, Emerg Infect Dis., 11: 1449-52. (2005)
- 5) West Nile Virus Update 2006 - Western Hemisphere (23): Argentina: 1st case, ProMed-mail, 20061228.3642 (2006)
- 6) 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(1), 56-57 (2006)
- 7) 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)
- 8) 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)
- 9) 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)
- 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)
- 11) 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)
- 12) 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)
- 13) 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)
- 14) 青山幾子, 弓指孝博, 加藤友子ら: 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 (2009 年度), 大阪府立公衛研所報, 48, 1-7 (2010)
- 15) Steele KE, Linn MJ, Schoepp RJ, 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 (3), 208-24 (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(3), 322-325. (1990)
- 20) 厚生労働省: 感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律および検疫法の一部を改正する法律 (厚生労働省令第 6 号)、官報第 5457 号 (2011)
- 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/document/chikungunya.pdf>
- 22) West Nile Virus urasia (11): Italy (Veneto), ProMed-mail, 20101022.3840(2010)
- 23) Papa A., Danis K., Baka A., et al: Ongoing outbreak of West Nile virus infections in humans in Greece, July-August 2010, Euro Surveill., 15(34) (2010)
- 24) West Nile virus - Eurasia: Romania ProMed-mail, 20110115. 0180 (2011)
- 25) 大阪府: 平成 22 年度動物由来感染症サーベランス結果報告 <http://www.pref.osaka.jp/attach/2769/00006805/dobutsuyurai22.pdf>
- 26) 弓指孝博, 瀧幾子, 大竹徹ら: 地方におけるウエストナイル熱対策, 臨床とウイルス, 33(1), 33-40 (2005)