

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 (2012年度)

青山幾子^{*1} 弓指孝博^{*1} 上林大起^{*1} 熊井優子^{*2} 松井陽子^{*3}
中西顕一郎^{*3} 上澤行成^{*4} 平田武志^{*5} 加瀬哲男^{*1} 高橋和郎^{*6}

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、死亡原因の不明なカラス死骸が2頭以上同一地点で見られた場合、それについてもWNV検査を実施している。

2012年度は6月末から10月にかけて府内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7種4471匹で、そのうちアカイエカ群(41.3%)とヒトスジシマカ(55.6%)が大部分を占め、他にコガタアカイエカ、シナハマダラカ、トウゴウヤブカ、キンパラナガハシカ、カラツイエカが捕集された。定点及び種類別の蚊337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、2012年度当所に搬入された死亡カラス2頭の脳について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

ウエストナイルウイルス(WNV)は、フラビウイルス科フラビウイルス属に属し、主に蚊を介してヒトに感染し、発熱疾患(ウエストナイル熱)や脳炎(ウエストナイル脳炎)を引き起こす原因となる。

ウエストナイル熱(脳炎)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な流行がみられた感染症である¹⁾。しかし、1999年に米国で初めて

発生して以来、北米での流行は毎年持続し、中南米へも拡大している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。

わが国では、このウイルスが国内に侵入し、本感染症が国内で流行した場合に備え、検査体制の整備が必要とされている。ウイルスの侵入経路として、航空機や船舶に紛れ込んだWNV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。

大阪府では2003年度より蚊のサーベイランス調査を開始し、WNVに対する継続的な監視を実施している^{7,8)}。また、2004年にウエストナイル熱対応指針を策定し、WNV侵入前のサーベイランス調査や、侵入後の対応が速やかに行える体制を整えている。また、蚊の調査以外にも、厚生労働省の通知に従い⁹⁾、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2012年度の調査結果について報告する。

^{*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
(現 大阪府健康医療部食の安全推進課)

^{*3}大阪府健康医療部保健医療室地域保健感染症課

^{*4}大阪府健康医療部環境衛生課(現 大阪府四条畷保健所衛生課)

^{*5}大阪府健康医療部環境衛生課

^{*6}大阪府立公衆衛生研究所感染症部

West Nile Virus Surveillance in Osaka Prefecture
(Fiscal 2012 Report)

by Ikuko AOYAMA, Takahiro YUMISASHI, Daiki KANBAYASHI,
Yuko KUMAI, Yoko MATSUI, Kenichiro NAKANISHI, Yukinari U
EZAWA, Takeshi HIRATA, Tetsuo KASE, and Kazuo TAKAHASHI

調 査 方 法

1. 捕集定点および調査実施期間

大阪府管内、東大阪市及び高槻市に、図1に示した計20カ所の定点を設定し、2012年6月第4週から10月第1週（東大阪市、高槻市及び豊中市は9月第3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。

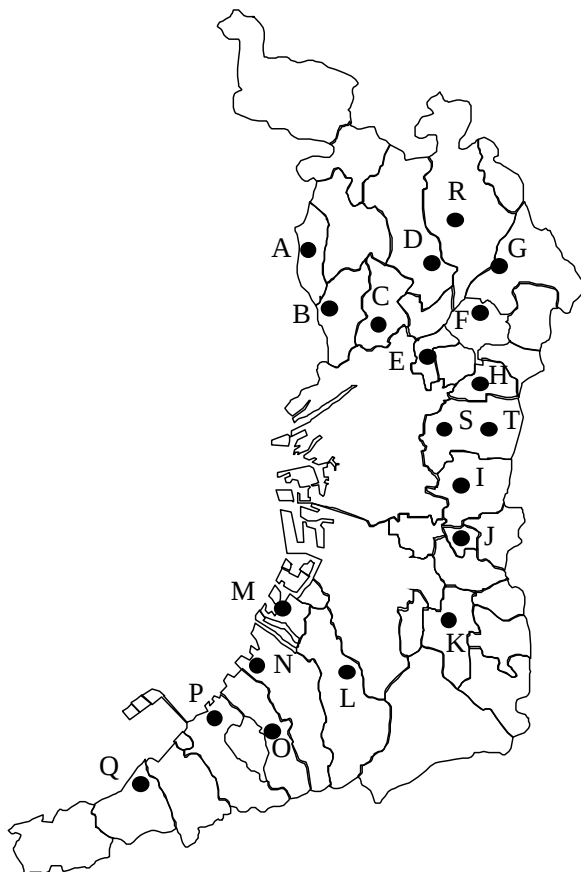
3. 蚊の同定

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。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）加ハンクス液を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加ハンクス液を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プール中の蚊の数の多寡により、加えるハンクス液を



	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
	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	は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
豊中	B 豊中	新豊島川親水水路	豊中市

図1 蚊の捕集地点定点

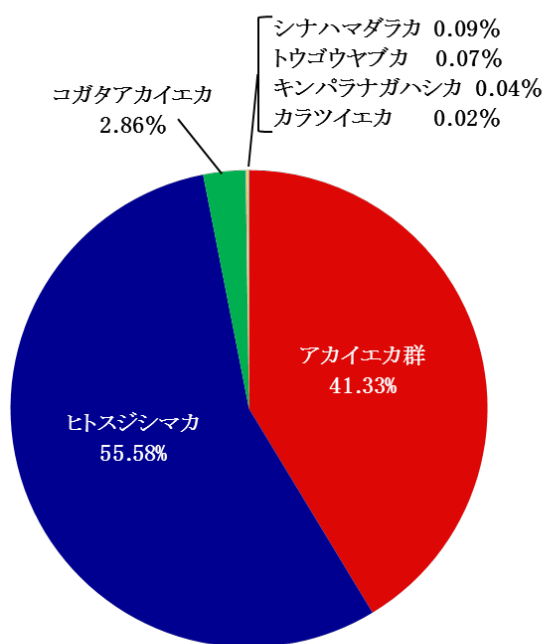


図2 捕集された蚊の比率

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 (WNNY 514/904) を用いた¹⁰⁻¹²⁾。

また、2005 年以降アジア地域で流行が拡大しているチクングニア熱についても侵入が警戒されているため、病原体のチクングニアウイルス (CHIKV) の媒介蚊となるヒトスジシマカについて、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¹³⁾。

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 加ハシックス液を用いて 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 7 種 4471 匹であった。その構成はアカイエカ群 (41.3%) とヒトスジシマカ (55.6%) 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 (2.9%)、シナハマダラカ (0.09%)、トウゴウヤブカ (0.07%)、キンバラナガハシカ (0.04%)、カラツイエカ (0.02%) が捕集された。

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く、7 月前半にピークに達した後減少した。ヒトスジシマカは 6 月から 8 月前半にかけて増加し、2 峰性のピークを示した。コガタアカイエカは、7 月から 9 月まで捕集された。その他の蚊は捕集数が少なく、捕集場所も限られていた (図 3)。

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 10 カ所で捕集され、東大阪東部で多く捕集された。シナハマダラカは富田林、泉佐野、トウゴウヤブカは岸和田、東大

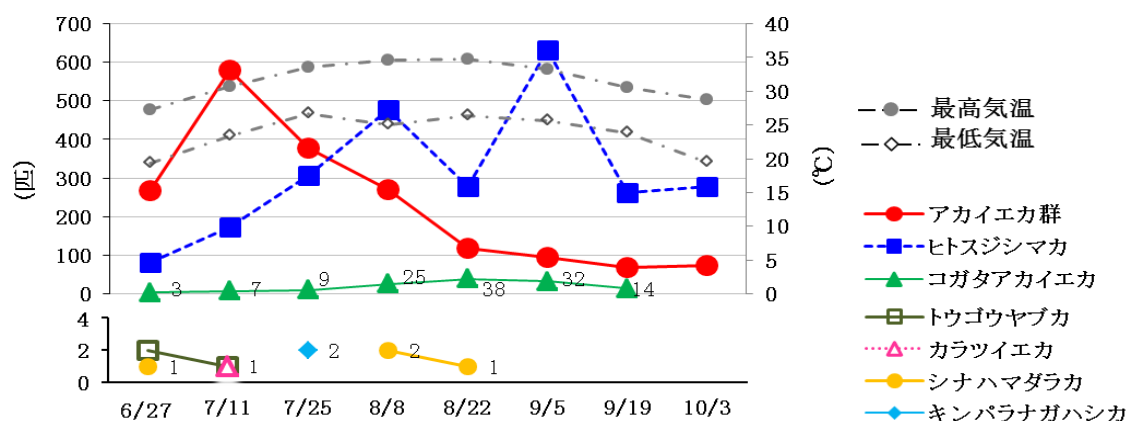


図3 蚊の捕集数の推移

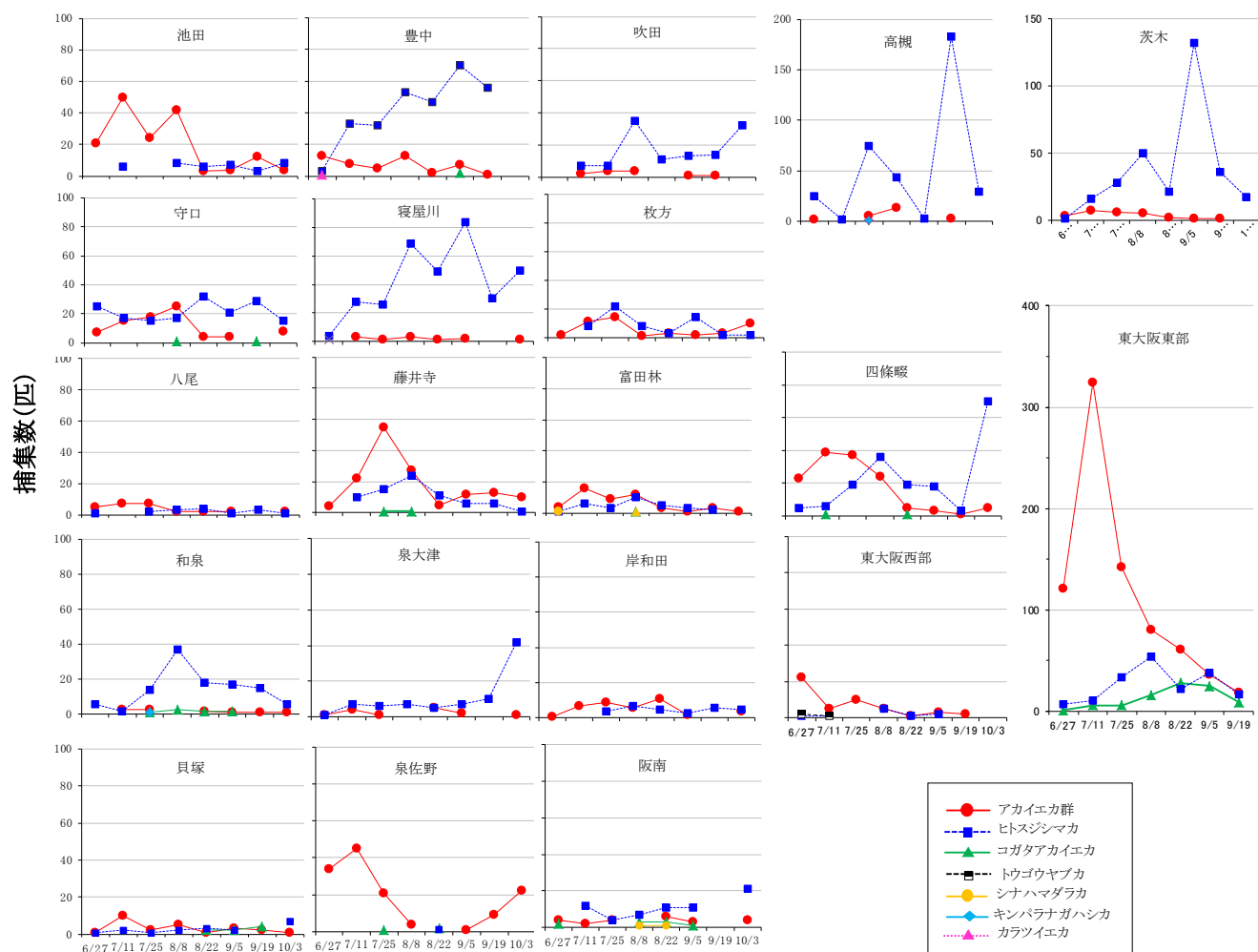


図4 定点別にみた蚊の捕集数の推移

阪西部、キンバラナガハシカは高槻、和泉、カラツイエカは豊中の各地点で捕集された（図4）。

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。

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 337 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

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

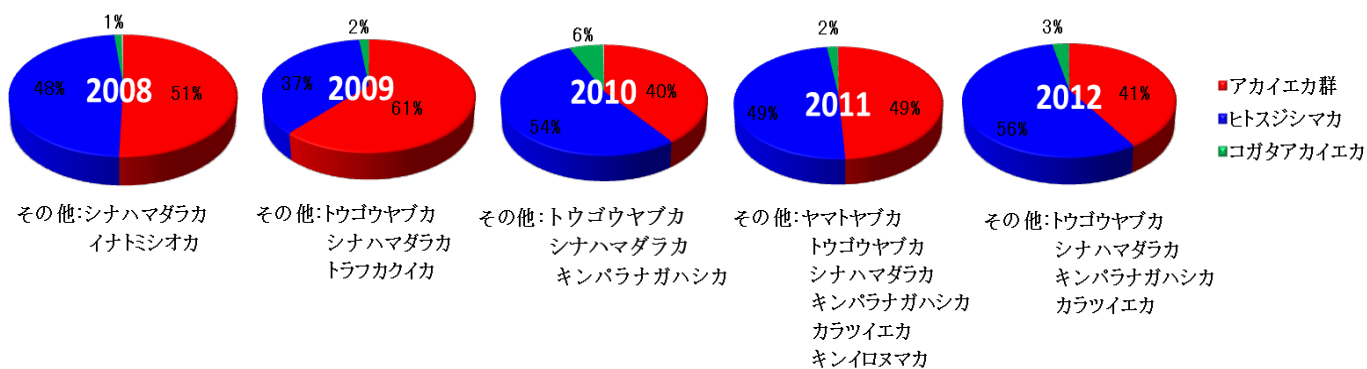


図5 捕集した蚊の種類構成

は検出されなかった。

考 察

日本国内では、アカイエカ、チカイエカ、コガタアカイエカ、ヒトスジシマカ、ヤマトヤブカ、シナハマダラカなど複数の蚊が WNV 媒介蚊として注意すべき種類に挙げられており¹⁴⁾、今回の調査で捕集された蚊は、ほぼ WNV 媒介蚊として注意すべき蚊であった。また、捕集された蚊の種類では、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 99.8%を占めた。年度によりアカイエカ群とヒトスジシマカの占有割合は異なるが、毎年この 3 種で約 99%を占めていることが確認され、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、問題となる蚊の大半を網羅できると考えられた (図 5)。

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。現在のところ国内に生息する蚊や鳥から WNV が検出されたという報告はない。米国での患者発生数は 2003 年に 9862 人 (死者 264 人) が報告されたあと次第に減少し、2008 年頃から 2011 年までは 700 ～1400 人程度で推移していたが、2012 年は患者発生数が急増し、5674 人 (死者 286 人) となった (図 6)²⁾。また近年ヨーロッパ、アフリカでも感染者が報告され、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状況である¹⁵⁾。

また、WNV は輸血や臓器移植でも感染することが知られている。米国における輸血のスクリーニング検査では 2008 年以降毎年 100～200 弱の WNV 陽性ドナー血液が報告されていたが、2012 年は 703 例が報告され、患者発生数の増加に伴い、陽性ドナー数も急増した²⁾。今後、国内で WNV の流行が確認された場合は、これらについても警戒を行い、検査体制を整えなくてはならない。

また、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¹⁶⁾。これらのウイルスは WNV と異なり、ヒトー蚊ーヒトで感染サイクルが成立する。国内で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。これらの蚊媒介性

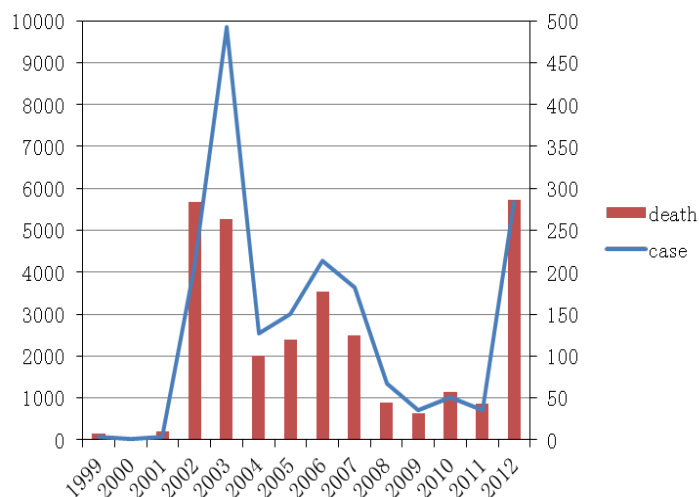


図6 米国におけるウエストナイル熱患者発生数

感染症の予防としてはワクチンの使用が有効であると考えられるが、実用化されているヒト用ワクチンは日本脳炎ウイルスに対するもののみである。その他のウイルスを予防するには蚊に刺されないようにするしかない。このような感染症に対し、少しでも感染リスクを低下させるために行政が実施できることは、ウイルスの侵入を早期発見し、感染症や媒介蚊の正確な情報、個人レベルでの対策法を伝えるとともに、ウイルス保有蚊の存在する地点などの特定に努め、随時情報発信することである。本サーベイランスは、保健所と行政、自治体との連携で実施されている。緊急時に直ちに対応するためには、このような連携は不可欠であり、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¹⁷⁾。

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、豊中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: ウェストナイル熱・脳炎, ウイルス, 57(2), 199-206 (2007)

- 2) CDC:West Nile Virus
<http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/index.htm>,
 (参照 2013-6-22)
- 3) Public Health Agency of Canada: West Nile Virus Monitor
<http://www.phac-aspc.gc.ca/wnv-vwn/index-eng.php>,
 (参照 2013-6-22)
- 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) 青山幾子, 弓指孝博ら：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
<http://www.iph.pref.osaka.jp/report/report.html#syoho>,
 (参照 2013-6-22)
- 9) 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)
- 10)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)
- 11)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://www0.nih.go.jp/vir1/NVL/WNVhomepage/Labotest.htm>, (参照 2013-6-22)
- 12)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)
- 13)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/images/lab-manual/CHIKV.pdf>, (参照 2013-6-22)
- 14)日本環境生活衛生センター：ウエストナイル熱媒介蚊対策ガイドライン（2003）
- 15)West Nile Virus - Europe and North Africa, ProMed-mail, 20121025.1364837 (2012)
- 16)水野泰孝：国際的な感染症～ウイルス感染を中心として～Ⅳ.デング熱・チクングニヤ熱,アレルギー・免疫,15(11),40-44 (2008)
- 17)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)