

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 (2013 年度)

弓指孝博*¹ 青山幾子 *¹ 小川有理*¹ 松本治子*² 福村和美*² 松井陽子*³
中西顕一郎*⁴ 平田武志*⁵ 辻野悦次*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 に対する検査を実施している。

2013 年度は 6 月末から 10 月初めにかけて府内 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 8 種 5702 匹で、そのうちアカイエカ群(45.1%)とヒトスジシマカ(48.8%)が大部分を占め、次いでコガタアカイエカ(5.8%)が多く採集された。その他にはシナハマダラカ、トウゴウヤブカ、キンパラナガハシカ、ヤマトヤブカ、オオクロヤブカが捕集された。定点別、種類別に 384 プールの蚊について WNV の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、2013 年度中に当所へ搬入された死亡カラス 12 頭の脳について WNV の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、日本脳炎ウイルスやデングウイルスなどとともにフラビウイルス科フラビウイルス属に属し、主に蚊の媒介によってヒト

に感染する。発症した場合、多くは熱性疾患(ウエストナイル熱)にとどまるが、高齢者などではしばしば脳炎(ウエストナイル脳炎)を引き起こして、死亡あるいは重い後遺症の原因となる。ウエストナイル熱(脳炎)は、アフリカ、ヨーロッパ、西アジア、中東などで散発的に流行してきた感染症であるが¹⁾、1999 年にそれまで流行のなかった米国で初めて患者が発生し、それ以後北米での流行が毎年続いている。わが国では 2005 年に米国に渡航した邦人がウエストナイル熱に罹患した症例が初めて確認された²⁾。

ウエストナイルウイルスを媒介し得る蚊はわが国にも普通に分布しているため、国内への侵入、流行を監視する必要があり、国のガイドラインにおいても地方自治体における媒介蚊の調査体制が強く求められている³⁾。

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^{4,5)}。

*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(現医療対策課)

*³大阪府健康医療部保健医療室地域保健感染症課
(現大阪府茨木保健所検査課)

*⁴元大阪府健康医療部保健医療室地域保健感染症課

*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

West Nile Virus Surveillance in Osaka Prefecture

(Fiscal 2013 Report)

by Takahiro YUMISASHI, Ikuko AOYAMA, Yuri OGAWA, Haruko MATSUMOTO, Kazumi FUKUMURA, Yoko MATSUI, Kenichiro NAKANISHI, Takeshi HIRATA, Etsuji TSUJINO, Tetsuo KASE, and Kazuo TAKAHASHI

また、2004年にウエストナイル熱の対応指針が策定され、WNV侵入前の調査や、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⁶⁾、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。本稿では2013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

大阪府管内、東大阪市、高槻市及び豊中市の市街地域に、図1に示した計20カ所の定点を設定し、2013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ライトトラップを設置し、蚊の捕集調査を実施した。なお、地点Lは昨年度まで和泉市立教育研究所であったが、同施設の閉鎖に伴い、信太山青少年野外活動センターに変更した。

2. 蚊の捕集方法

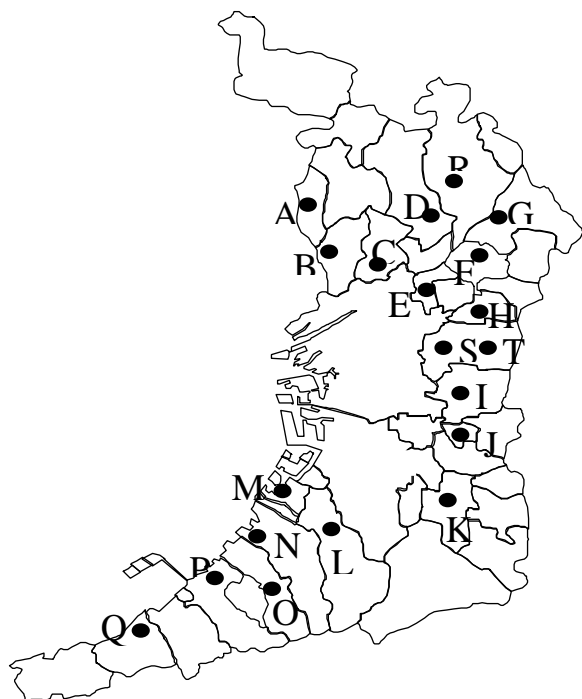
蚊の捕集にはCDCミニライトトラップ（John W.Hock Company）を使用し、蚊の誘引のためドライアイス（1～2kg）を併用した。ライトトラップは調査実施日の夕刻16～17時から翌朝9～10時までの約17時間設置した。

3. 蚊の同定

捕集した蚊は、各保健所で種類を同定した後、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ため、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、雌のみを検査の対象とし、定点毎、種類毎に乳剤を作成して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ュャーを入れ、0.2%ウシ血清アルブミン（BSA）加



	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	信太山青少年野外活動センター	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 高槻市	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 豊中市	新豊高川親水水路	豊中市

図1 蚊の捕集地点定点

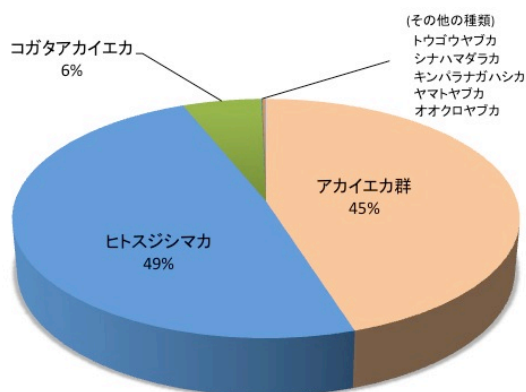


図2 捕集された蚊の比率

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社)で1分間振とうして作製した。破碎後のマイクロチューブは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 500 μ L 追加して攪拌した。それを 4 $^{\circ}$ C、12,000rpm で 15 分間遠心し、その上清を 0.45 μ m Millex フィルター(ミリポア社)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、サンプルに加えるハンクス液量を適宜増減させて調節した。検査材料のうち 150 μ L について E.Z.N.A. Viral RNA Kit (OMEGA bio-tek 社)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⁷⁻⁹⁾。

また、2005 年以降インド洋周辺から東南アジアにかけて流行が継続、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¹⁰⁾。

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は解剖して採脳し、その脳乳剤についてウイルス検査を実施した。カラスごとに 0.2%BSA 加ハンクス液を用いて 10%乳剤を作製し、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

捕集された蚊は 8 種 5702 匹で、そのうちアカイエカ群(45.1%)とヒトスジシマカ(48.8%)が大部分を占め、次いでコガタアカイエカ(5.8%)が多く採集された(図 2)。その他にはシナハマダラカ、トウゴウヤブカ、キンパ

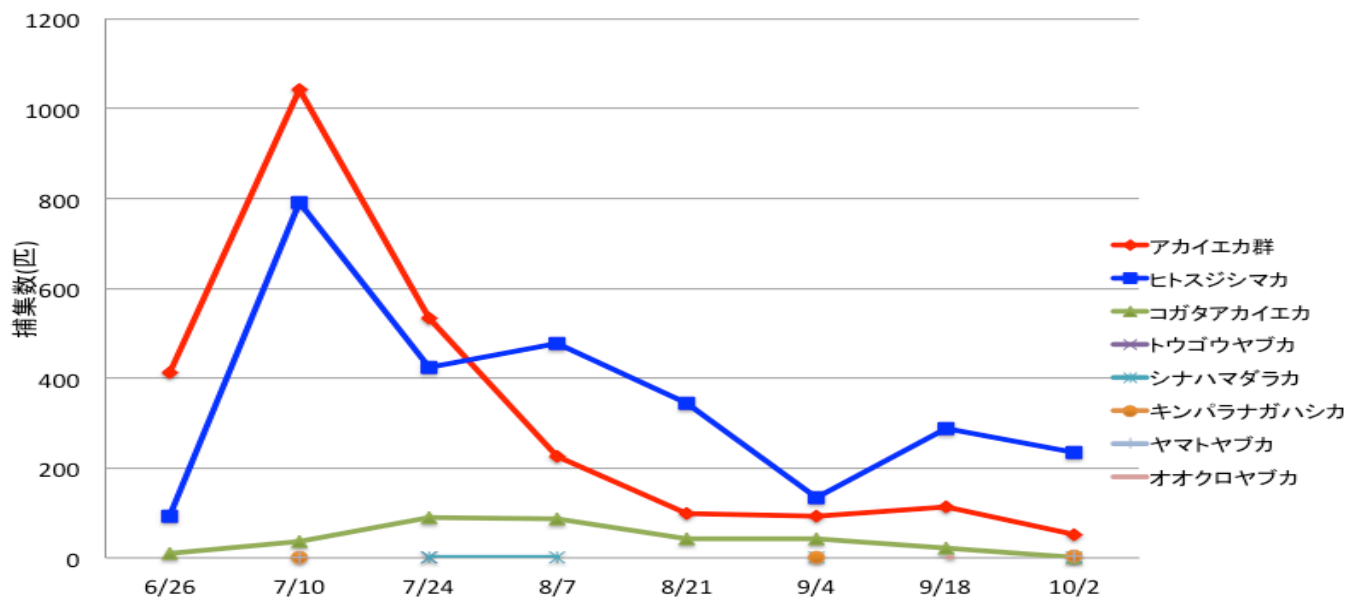


図3 蚊の捕集数の推移

ラナガハシカ、ヤマトヤブカ、オオクロヤブカが捕集された。

調査期間を通じた捕集数の推移を見ると(図3、4)、最も多く捕集されたアカイエカ群とヒトスジシマカは調査期間中、常に捕集され、ともに7月初旬にピークに達した。アカイエカ群は、7月10日に東大阪東部(定点T)において752匹が捕集され、全体の40%を占めた。また、ヒトスジシマカでは、7月10日に和泉保健所管内(定点L)と高槻市(定点R)において、それぞれ311匹と250匹が捕集され、両者を合わせると全体の30%を占めた。アカイエカ群はその後8月下旬にかけて減少する1峰性のピークを示したが、ヒトスジシマカではその減少傾向が緩やかで、9月には再び増加傾向が見られた。コガタアカイエカも調査期間中毎回捕集されたが、7月下旬から8月上旬にかけて最も多く捕集された。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にかなりの差が見られたが、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15カ所で捕集され、東大阪東部(定点T)で最も多く捕集された。シナハマダラカは和泉保健所管内(定点L)、岸和田保健所管内(定点O)、泉佐野保健所管内(定点P)の各定点で、トウゴウヤブカは和泉保健所管内(定点L)及び東大阪西部(定点S)で捕集された。また、キンバラナガハシカは和泉保健所管内(定点L)で、ヤマトヤブカは和泉保健所管内(定点L)及び岸和田保健所管内(定点O)で、オオクロヤブカは高槻(定点R)で捕集された(図4)。

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、計384プールの乳剤を作製して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及び他のフラビウイルスの遺伝子は検出されなかった。またチクングニヤ熱の媒介種となるヒトスジシマカについて実施したCHIKVの遺伝子検査についても陽性例はなかった。

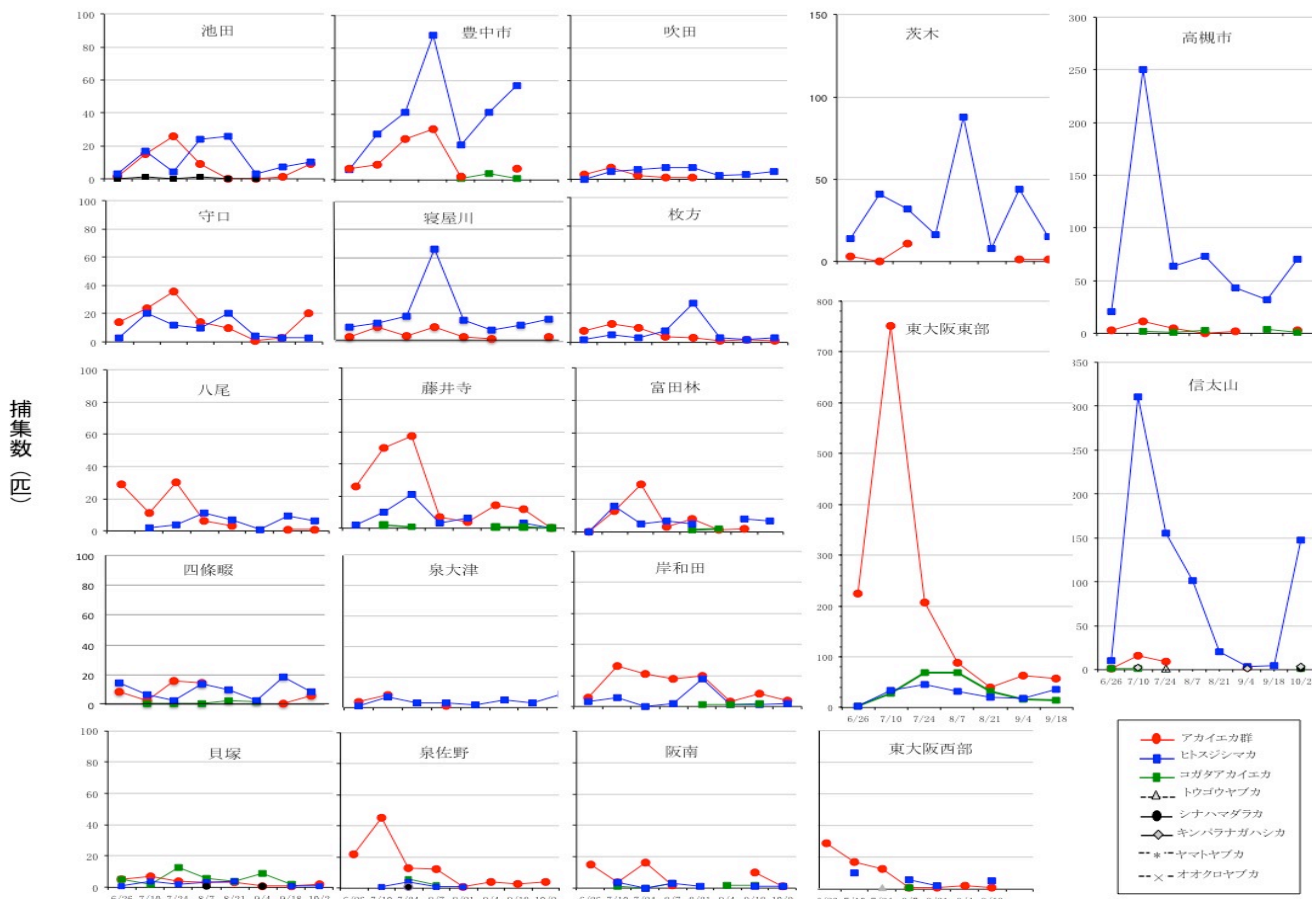


図4 定点別にみた蚊の捕集数の推移

3. 死亡カラスの回収数とウイルス遺伝子検査結果

今年度は、岸和田保健所管内から8頭、和泉保健所管内から2頭、八尾保健所管内から2頭、茨木保健所管内から1頭(2頭のうち1頭は回収不能で未回収)の計13頭のカラスが搬入され、それぞれのカラスについて検査を実施したが、WNV及び他のフラビウイルスの遺伝子は検出されなかった。

考 察

WNVは野外では蚊と鳥類との間に感染環を形成しており、ウエストナイル熱が流行している米国では非常に多種類の蚊によって保持、媒介されていることが明らかにされている¹¹⁾。府内で捕集された蚊のほとんどを占めたアカイエカ及びヒトスジシマカはWNVに対して高い感受性を持つことが確かめられており、また、他に捕集されたコガタアカイエカ、ヤマトヤブカ、シナハマダラカ、オオクロヤブカも注意すべき種類とされている³⁾。その他にもキンイロヤブカなどのWNV媒介蚊が大阪府内に分布している可能性が考えられるが、現状では本サーベイランスで捕集される蚊のWNV保有状況をチェックすることでWNVの侵入に対応できると考えられる。

米国では1999年にWNVの侵入が確認されて以降、ウエストナイル熱の大きな流行が起こり、2003年には9862人の患者(死者264人)が記録された。その後、流行は徐々に収まり2011年には712人の患者数にまで減少した。しかし、2012年になって再び大きな流行となり、5674人の患者が発生して死者の数は286名にのぼった¹²⁾。このような米国での患者発生数の推移は、ウエストナイル熱のような蚊媒介性の感染症がいったん侵入してしまうと、有効なワクチンが実用化されていない現在、その根絶が困難になってしまうことを示唆している。

近年、ウエストナイル熱の他にも蚊が媒介する感染症が再興感染症として報告されることが多くなっており、チクングニヤ熱はアフリカからインド、東南アジアにかけて大きな流行が続いている。また、フランス領ポリネシアではジカ熱が流行し、オーストラリアで

はロスリバー熱が流行して、それぞれ邦人の感染帰国症例が報告されている¹³⁾¹⁴⁾。今後はこれらの感染症及び媒介蚊についても、情報収集などを行って注意していく必要があると思われる。

一方、蚊が媒介する感染症では、デング熱やマラリアがその患者数の多さから世界的な問題となっている。2012年の夏には、成田空港の敷地内において、東南アジアなどでデング熱の主な媒介種となっているネッタイシマカの幼虫及び蛹の生息が確認された¹⁵⁾。また、2013年には、我が国を訪れたドイツ人旅行者が日本国内でデング熱に感染したと考えられる症例が報告された¹⁶⁾。現在のところ、ネッタイシマカやデングウイルスの国内での定着は確認されていないが、今後のサーベイランス活動では、ウエストナイル熱にとどまらず、多様な蚊媒介性感染症について対応していく必要があると考えられる。

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(現医療対策課)の事業として実施されたものであり、調査に関与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: ウエストナイル熱・脳炎, ウイルス, 57(2), 199-206 (2007)
- 2) 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)
- 3) 厚生労働省健康局結核感染症課: ウエストナイル熱媒介蚊対策に関するガイドライン(2003)
- 4) 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サーベイランス(平成15年度報告), 大阪府立公衛研所報, 42, 65-70 (2004)

- 5) 青山幾子,弓指孝博,上林大起ら：大阪府におけるウエストナイル熱に対するサーベイランス調査(2012年度),大阪府立公衛研所報,51,1-6(2013)
- 6) 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)
- 7) 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)
- 8) 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 2014-6-8)
- 9) 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)
- 10) 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 2014-6-8)
- 11) CDC West Nile Virus:
<http://www.cdc.gov/westnile/resources/pdfs/Mosquito%20Species%201999-2012.pdf>, (参照 2014-6-8)
- 12) CDC West Nile Virus:
<http://www.cdc.gov/westnile/statsMaps/index.html>, (参照 2014-6-8)
- 13) Kutsuna S., et al: Two cases of zika fever imported from French Polynesia to Japan, December 2013 to January 2014, Eurosurveillance, 19(6), 20697 (2014)
- 14) 石原ら：関西空港検疫所で経験したロスリバー熱の相談事例,病原微生物検出情報(IASR),34,378-380(2013)
- 15) 助廣ら：成田国際空港におけるネッタイシマカの侵入事例について,衛生動物,64,34(2013)
- 16) Schmidt-Chanasit J., et.al: Autochthonous dengue virus infection in Japan imported into Germany, September 2013, EuroSurveillance. 19(3), 20681 (2014)