

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 (2014 年度)

弓指孝博^{*1} 青山幾子^{*1} 小川有理^{*2} 松本治子^{*3} 福村和美^{*4} 大船己穂^{*5}
田邊雅章^{*3} 平田武志^{*6} 辻野悦次^{*7} 加瀬哲男^{*8} 高橋和郎^{*9}

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。

2014 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、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 9 種 5831 匹で、そのうちヒトスジシマカ(52.2%)とアカイエカ群(43.9%)が大部分を占め、次いでコガタアカイエカ(3.2%)が多く採集された。その他にはシナハマダラカ、カラツイエカ、トウゴウヤブカ、キンパラナガハシカ、トラフカクイカ、オオクロヤブカが捕集された。定点別、種類別に 393 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、2014 年度中に当所へ搬入され、検査可能であった死亡カラスはなかった。

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、日本脳炎ウイルスやデングウイルスなどと近縁なウイルスである。このウイルスは、自然界では鳥類と蚊の間で感染環が保たれているが、人がウイルスを持った蚊に刺されて発症した場合、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。

WNV は 1937 年にウガンダのウエストナイル地方で人から最初に分離されたウイルスであるが¹⁾、その後アフリカ、ヨーロッパ、西アジア、中東などでウエストナイル熱あるいはウエストナイル脳炎の散発的な流行の原因となってきた²⁾。1999 年には、それまで流行のなかった米国で患者の発生が相次ぎ、それ以後北米全体に流行が広がって現在まで患者の発生が続いてい

(現大阪府政策企画部危機管理室災害対策課)

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所感染症部ウイルス課

^{*2} 大阪府立公衆衛生研究所感染症部ウイルス課
(現大阪府茨木保健所環境衛生課)

^{*3} 大阪府健康医療部医療対策課

^{*4} 大阪府健康医療部医療対策課
(現大阪府池田保健所地域保健課)

^{*5} 大阪府健康医療部医療対策課
(現大阪府藤井寺保健所検査課)

^{*6} 大阪府健康医療部環境衛生課

^{*7} 大阪府健康医療部環境衛生課

^{*8} 大阪府立公衆衛生研究所感染症部ウイルス課
(現大阪府立公衆衛生研究所感染症部)

^{*9} 大阪府立公衆衛生研究所感染症部
(現国際医療福祉大学病院検査部)

West Nile Virus Surveillance in Osaka Prefecture
(Fiscal 2014 Report)

by Takahiro YUMISASHI, Ikuko AOYAMA, Yuri OGAWA, Haruko MATSUMOTO, Kazumi FUKUMURA, Miho OFUNE, Masaaki TANABE, Takeshi HIRATA, Etsuji TSUJINO, Tetsuo KASE, and Kazuo TAKAHASHI

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³⁾。

WNV を媒介することのできる蚊の種類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地方自治体における媒介蚊の調査体制が求められている⁴⁾。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^{5,6)}。また、厚生労働省の通知に従い⁷⁾、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、それらについても WNV 検査を実施している。本稿では 2014 年度の調査結果について報告する。

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、高槻市、豊中市及び枚方市の市街地域に、図 1 に示した計 20 カ所の定点を設定し、2014 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て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。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同定を行った。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同定した。

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

	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
	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	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
枚方	G 枚方	枚方保健所	枚方市

図1 蚊の捕集地点定点

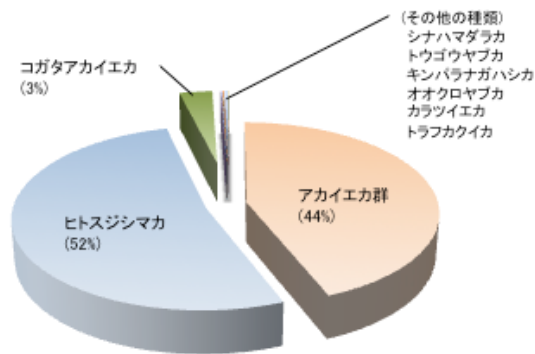


図2 捕集された蚊の比率

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anks 液を 500~750 μ L 追加して攪拌した。それを 4°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。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⁸⁻⁹⁾。

また、2005 年以降インド洋周辺から東南アジアにかけ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) を媒介でき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た後、カラスごとに 0.2%BSA 加ハanks 液を用いて 10%乳剤を作製し、蚊と同様に RNA 抽出後、WNV 遺伝子検査を実施するが、今年度は対象となるカラスの検体がなかった。

結 果

1. 蚊の捕集結果について

捕集された蚊は 9 種 5831 匹であったが、そのうちヒトスジシマカが 3046 匹(52.2%)、アカイエカ群が 2561 匹(43.9%)と大部分を占め、次いでコガタアカイエカが 189 匹(3.2%)捕集された (図 2)。その他に捕集された蚊の種類はシナハマダラカが 8 匹、トウゴウヤブカが 7 匹、キンバラナガハシカが 13 匹、カラツイエカが 1 匹、トラフカクイカが 1 匹、オオクロヤブカが 5 匹であった。

調査期間を通じた捕集数の推移を見ると(図 3)、アカイエカ群は 6 月下旬に既にピークに達しているかピー

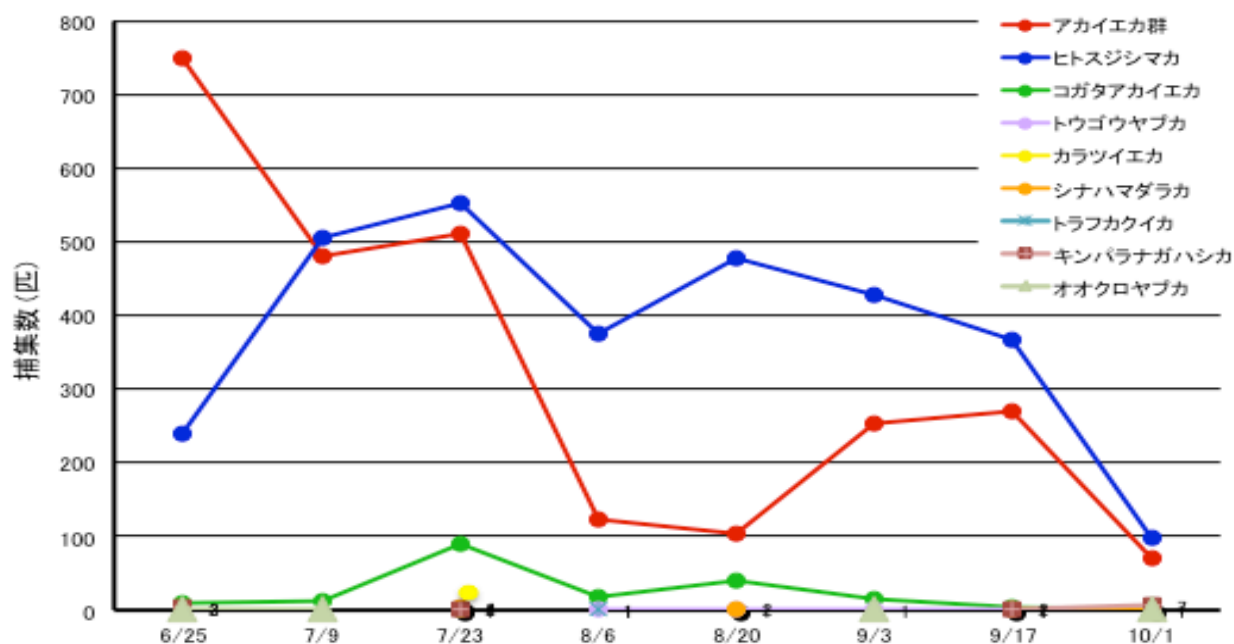


図3 蚊の捕集数の推移

クを過ぎており、その後捕集数は減少していったが、9月にやや増加傾向を示した。また、ヒトスジシマカ、コガタアカイエカでは7月下旬にピークを迎えた後に減少したが、8月下旬に再び増加し二峰性のピークを示した。

定点別の捕集数では、各定点によって捕集数にかなりの差が見られたが、ヒトスジシマカとアカイエカ群はすべての地点で捕集された。ヒトスジシマカは、高槻市(定点 R)、東大阪東部(定点 T)、和泉保健所管内(定点 L)で多く、それぞれ 730 匹、519 匹、476 匹が捕集された。また、アカイエカ群は、東大阪東部(定点 T)だけで 1318 匹が捕集され、アカイエカ群全体の 51% を占めた。コガタアカイエカは 11 カ所で捕集されたが、東大阪東部(定点 T)では毎回捕集され、コガタアカイエカ全体の 84%がこの定点で捕集された。シナハマダラ

カは岸和田保健所管内(定点 O)、泉佐野保健所管内(定点 Q)の各定点で、トウゴウヤブカは守口保健所管内(定点 E)、岸和田保健所管内(定点 N)、和泉保健所管内(定点 L)及び東大阪東部(定点 T)で捕集された。また、キンパラナガハシカは和泉保健所管内(定点 L) 及び高槻(定点 R)で、カラツイエカ、トラフカクイカは和泉保健所管内(定点 L)で、オオクロヤブカは岸和田保健所管内(定点 O)及び四條畷保健所管内(定点 H)でそれぞれ捕集された(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 393 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

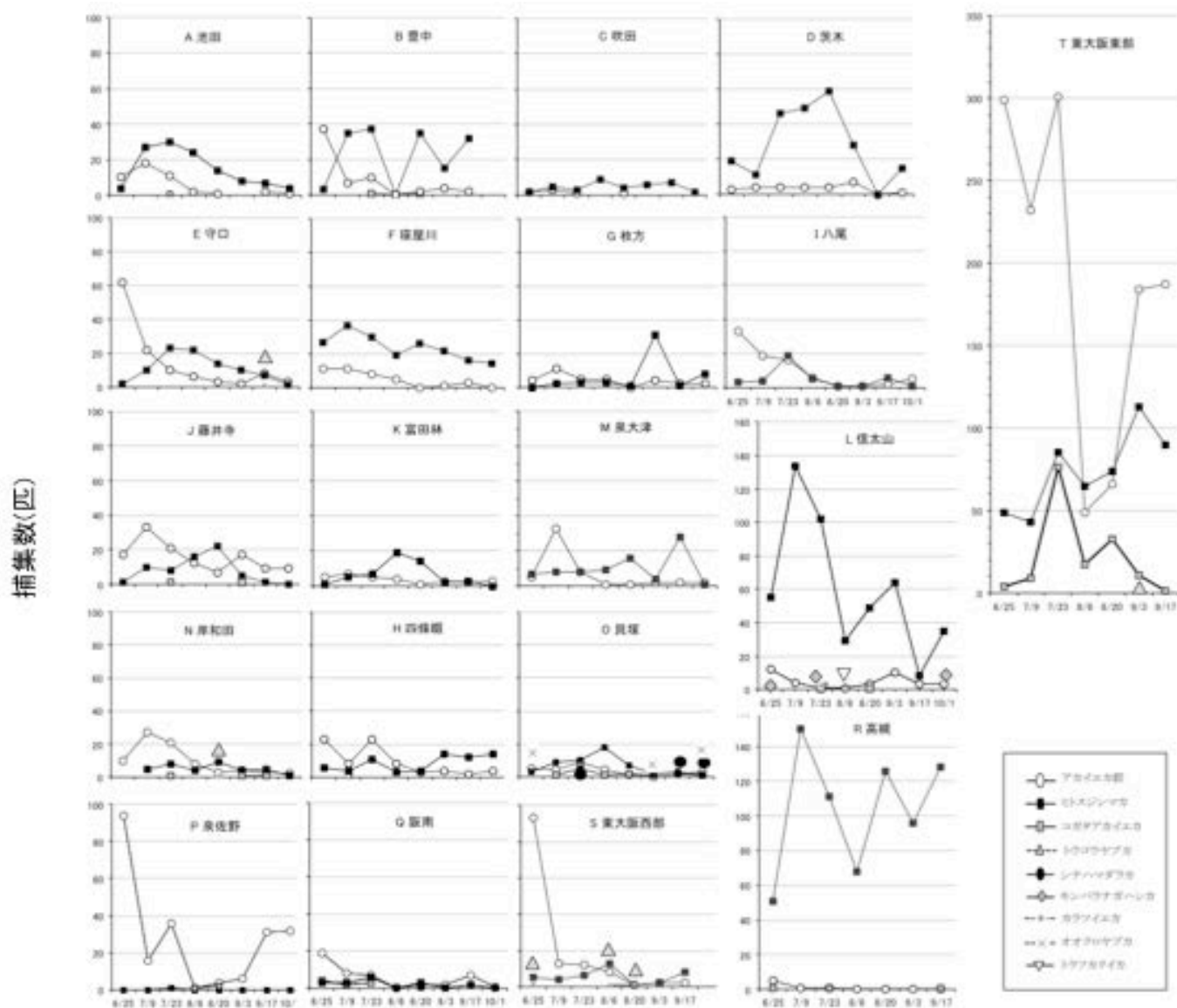


図4 定点別にみた蚊の捕集数の推移

グニア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。

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、藤井寺保健所管内から 2 頭のカラスが搬入されたが破損、腐食等が激しく、検査対象とならなかった。

考 察

WNV は蚊と鳥類の間で感染環を形成し、人や馬などは終末宿主である。従って WNV の拡散を考える場合、WNV を保持する鳥の種類と媒介する蚊の種類が重要になるが、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鳥類と蚊によって保持、媒介されていることが明らかにされている¹¹⁾。府内の定点で捕集された蚊はほとんどがアカイエカ群とヒトスジシマカであったがこれらの種類は 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、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¹¹⁾。これまでの調査ではこれらの蚊から WNV は検出されていないが、市街地に生息して鳥類や人を吸血する可能性のある蚊の種類に対して調査を継続することは監視をする上で必要不可欠であると考えられる。

1999 年に、ニューヨークで始まった米国でのウエストナイル熱の流行は、その後全米に広がって 2002 年には 284 人の死者を出し、2003 年の患者数は 9862 人に達した。その後、流行は徐々に収まり 2011 年の患者数は 712 人にまで減少したが、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も 286 名にのぼった¹²⁾。北米での WNV の拡散規模や有効なワクチンが実用化されていない現状を考えると、我が国においてもウエストナイル熱に対する警戒は必要であると思われる。

また、近年になってウエストナイル熱以外にもチクングニア熱、ジカ熱、ロスリバー熱、デング熱などの蚊媒介性感染症の増加が問題になっている。チクングニア熱は主にアフリカから東南アジアにかけて流行しているが、カリブ海諸国でも発生するようになってお

り、北米から南米にかけて 1 万人を超える患者が確定されている¹³⁾。ジカ熱はミクロネシア、ポリネシアから東南アジアにかけて流行しており、ロスリバー熱はオーストラリアで流行が続いている。それに伴ってジカ熱、ロスリバー熱に感染して帰国した邦人の症例も報告されている¹⁴⁾¹⁵⁾。デング熱に関しては、ここ 5 年間、毎年 100～250 人ほどの海外からの輸入症例が報告されていたが、2013 年には日本国内でデング熱に感染したと考えられるドイツ人旅行者の症例が報告された¹⁶⁾。さらに 2014 年の夏の終わりには、東京都内の公園を中心にして 70 年ぶりにデング熱の国内流行が起こり、ヒトスジシマカを介して 162 人の患者が発生した¹⁷⁾¹⁸⁾。

現在実施している本サーベイランス調査では、チクングニアウイルスの検出や WNV 以外のフラビウイルスのスクリーニング的検出を同時に試みているが、今後はデングウイルスに特異的な遺伝子検査法を導入するなどして、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、高槻市、豊中市及び枚方市の関係者の方々に深くお礼申し上げます。

文 献

- 1) Smithburn KC., et al. : A neurotropic virus isolated from the blood of nature of Uganda, Am. J. Trop. Med, 20, 471-492 (1940)
- 2) 高崎智彦: ウエストナイル熱・脳炎, ウイルス, 57(2), 199-206 (2007)
- 3) 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)

- 4) 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)
- 5) 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)
- 6) 弓指孝博, 青山幾子, 小川有理ら：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(2013年度), 大阪府立公衛研所報, 52, 1-6 (2014)
- 7) 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)
- 8) 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)
- 9) 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 2015-6-22)
- 10) 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)
- 11) 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.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou18/pdf/05-08> (参照 2015-6-22)
- 12) CDC : West Nile virus disease cases and deaths reported to CDC by year and clinical presentation,
http://www.cdc.gov/westnile/resources/pdfs/data/1-wnv-disease-cases-by-year_1999-2014_06042015.pdf, (参照 2015-6-22)
- 13) WHO/PAHO : Number of reported cases of Chikungunya fever in the Americas, by country or territory 2015(to week noted), cumulative cases, epidemiological week/EW 23(update 12 June 2015),
<http://www.paho.org/hq/index.php?itemid=40931> (参照 2015-6-22)
- 14) 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)
- 15) 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)
- 16) Schmidt-Chanasit J., et.al: Autochthonous dengue virus infection in Japan imported into Germany, September 2013, EuroSurveillance. 19(3), 20681 (2014)
- 17) 厚生労働省：デングの国内感染事例の発生状況について,
http://www.mhlw.go.jp/bunya/kekkaku-kansenshou19/dengue_fever_jirei.html (参照 2015-6-22)
- 16) Kutsuna S., et al. : Autochthonous dengue fever, Tokyo, Japan, 2014, Emerging Infectious Disease, 21(3), 517-520 (2015)