

鳥取県内生息蚊の日本脳炎及びウエストナイルウイルス 保有状況に関する調査研究

【保健衛生室】

木村義明

The investigation of Japanese encephalitis virus and West Nile virus
from the mosquitoes in Tottori prefecture

Yoshiaki KIMURA

Abstract

We investigated Japanese encephalitis virus(JEV) and West Nile virus(WNV) from mosquitoes in Tottori prefecture. For the study of JEV, 1212 mosquitoes in 6 species were captured from three pig farms and divided into 31 samples by each capturing points, months, and species. As a result of gene detection by the RT-PCR method, JEV was detected in one of August's samples. In the case of WNV, 533 mosquitoes in 5 species were captured from two airports and two harbors, and divided in 21 samples as the same of JEV. However, we had no detection from any samples.

1 はじめに

日本脳炎の患者数は1970年代以降著しく減少しているが、その主な要因は予防接種の普及などの予防対策や環境改善による蚊との接触機会の減少と考えられている。しかし、2002年に当県で23年ぶりに患者が発生するなど、依然として蚊によるウイルス保有が推定される状況にある。また、アメリカやロシアなど世界的に拡がりを見せているウエストナイル熱は、アメリカにおいては昨年約2500人の患者があり、その内116人が死亡するといった状況に発展しており、ウイルスに汚染された蚊が航空機等への混入を介して日本に侵入するのは時間の問題と見られている。

今回、日本脳炎ウイルスの保有状況及びウエストナイルウイルスの侵入を監視することを目的として、県内生息する蚊の実態調査を実施したので、その概要について報告する。

2 調査方法

1) 調査期間

平成17年6月～10月

2) 調査地点

日本脳炎ウイルス

ウイルスが豚の体内で増殖されることから以下の3地点を選定した。

東部、中部、西部の養豚場各周辺

ウエストナイルウイルス

港湾・空港が外国との接触が高いと考えられることから以下の4地点を選定した。

鳥取港、境港、鳥取空港、米子空港各周辺

3) 方法

蚊の捕集及び同定

蚊の捕集は1kgのドライアイスを用いたライトトラップを各地点につき1個設置し、夕刻から翌朝にかけて毎月1回実施した。

捕集した蚊は地点ごとに種類を同定し、計数を行った。

ウイルスRNAの抽出及びRT-PCR法による遺伝子検出

捕集地点・月ごとに、5匹以上捕集された種類について、50匹までを1プールとしてウイルスRNAの抽出を行った。

RT-PCR法による日本脳炎ウイルスの検出は、

1st PCRにはJE8K-SとJEER、nested PCRにはJE8K inner-SとJEER inner-Cの各プライマーを用いた。ウエストナイルウイルスの検出はWNNY514とWNNY904及びFla-U5004とFla-U5457の2組のプライマーを用いた。

シークエンサーによる遺伝子解析

検出された遺伝子について、シークエンサーによる塩基配列の解析を実施することによってウイルスの特定を行った。

3 結果

1) 捕集された蚊の種類及び数

日本脳炎ウイルス対象地点

養豚場周辺3地点での捕集結果をTable 1に示す。6種類の計1212匹の蚊が捕集されたが、その内の1161匹がコガタアカイエカであり全体の約96%を占めていた。このことは養豚場周辺に田園地帯が多いことに起因していると考えられる。また、6～8月は合計で

Table 1 日本脳炎ウイルス保有調査における蚊捕集状況

| 捕集地点 | 種類 | 捕集数 | | | | | 合計 |
|-------|----------|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| | | 6月 | 7月 | 8月 | 9月 | 10月 | |
| 東部養豚場 | コガタアカイエカ | 28 | 216 | 210 | 14 | 1 | 469 |
| | オオクロヤブカ | | | 3 | 2 | 4 | 9 |
| | シナハマダラカ | 1 | 2 | 5 | 2 | | 10 |
| 西部養豚場 | コガタアカイエカ | 64 | 36 | 38 | 1 | | 139 |
| | ヒトスジシマカ | | 2 | 1 | | | 3 |
| | シナハマダラカ | 1 | | | | | 1 |
| 中部養豚場 | コガタアカイエカ | 277 | 3 | 273 | | | 553 |
| | アカイエカ | | | 1 | | | 1 |
| | ヒトスジシマカ | 1 | | 3 | 1 | | 5 |
| | オオクロヤブカ | 1 | | 12 | 2 | | 15 |
| | シナハマダラカ | 1 | | 1 | | 1 | 3 |
| | ヤマトヤブカ | 4 | | | | | 4 |
| 種類別合計 | コガタアカイエカ | 369 | 255 | 521 | 15 | 1 | 1161 |
| | アカイエカ | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| | ヒトスジシマカ | 1 | 2 | 4 | 1 | 0 | 8 |
| | オオクロヤブカ | 1 | 0 | 15 | 4 | 4 | 24 |
| | シナハマダラカ | 3 | 2 | 6 | 2 | 1 | 14 |
| | ヤマトヤブカ | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 |
| | 合計 | | 378 | 259 | 547 | 22 | 6 |

Table 2 ウエストナイルウイルス保有状況における蚊捕集状況

| 捕集地点 | 種類 | 捕集数 | | | | | 合計 |
|-------|----------|-----|-----|----|----|-----|-----|
| | | 6月 | 7月 | 8月 | 9月 | 10月 | |
| 鳥取港 | コガタアカイエカ | 19 | 96 | 10 | 6 | | 131 |
| | アカイエカ | 7 | 213 | 2 | 5 | 17 | 244 |
| | ヒトスジシマカ | 1 | 2 | | 2 | 3 | 8 |
| | オオクロヤブカ | | | | | 1 | 1 |
| 鳥取空港 | コガタアカイエカ | 17 | 20 | 40 | 22 | | 99 |
| | アカイエカ | 3 | | 2 | 2 | | 7 |
| | ヒトスジシマカ | | 1 | 2 | 4 | 1 | 8 |
| | シナハマダラカ | | | | 1 | | 1 |
| 米子空港 | コガタアカイエカ | 7 | | | | | 7 |
| | アカイエカ | 3 | | | | | 3 |
| 境港 | アカイエカ | 11 | 6 | 1 | | 2 | 20 |
| | ヒトスジシマカ | | | 2 | 2 | | 4 |
| 種類別合計 | コガタアカイエカ | 43 | 116 | 50 | 28 | 0 | 237 |
| | アカイエカ | 24 | 219 | 5 | 7 | 19 | 274 |
| | ヒトスジシマカ | 1 | 3 | 4 | 8 | 4 | 20 |
| | オオクロヤブカ | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | シナハマダラカ | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| 合計 | | 68 | 338 | 59 | 44 | 24 | 533 |

259～547匹と、比較的安定した捕集ができたが、9月以降は捕集数が激減した。

ウエストナイルウイルス対象地点

空港・港周辺4地点の捕集結果をTable 2に示す。5種類合計533匹が捕集されたが、米子空港など一部捕集効率の悪い地点もあった。内訳はコガタアカイエカとアカイエカで全体の約96%と大半を占めた。

また、蚊の種類ごとの捕集数は月によってムラのある地点もみられ、捕集当日の気象条件などの要素がこのことに大きく影響していると考えられた。

2) RT-PCR法による遺伝子検出

RNA抽出にあたって、総じて捕集数の少なかった9・10月の捕集蚊については、二月分をまとめて計数を行った上で実施した。

日本脳炎ウイルス

検査対象とした31検体のうち、8月に東部養豚場で捕集したコガタアカイエカの1検体において遺伝子増幅が確認された (Fig. 1)。

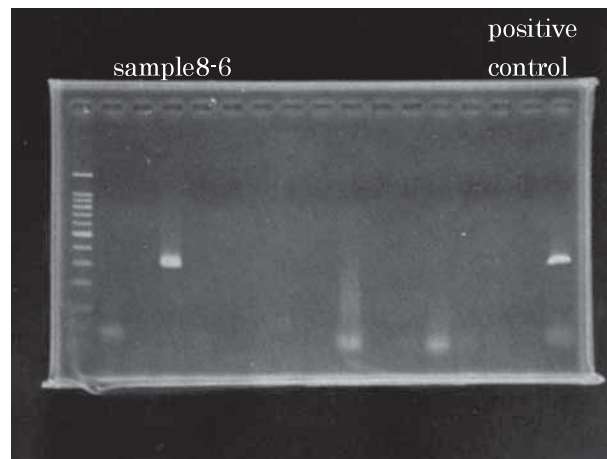


Fig.1 日本脳炎ウイルス遺伝子電気泳動写真

ウエストナイルウイルス

検査対象とした21検体すべてにおいて、遺伝子増幅は確認されなかった。

3) シークエンサーによる遺伝子解析

遺伝子の検出された日本脳炎ウイルス対象1検体について、シークエンサーによる遺伝子解析を実施し、増幅部位からプライマー部分を削除した塩基配列を決定した (Table 3)。

次に、得られた285ntの塩基配列をDNA Data Bank of Japan (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/Welcome-j.html>) の検索システムにより検索を実施したところ、最高で

100%の相同性で既知の日本脳炎ウイルスと一致し、当該検出遺伝子が日本脳炎ウイルスと特定した。

Table 3 検索に用いた塩基配列 (285nt)

```
AGCAGATCAACCATCATTGGCACAAGGC
TGGAAGCACGCTGGGTAAGCCTTCTC
AACAACTTTGAAAGGGGCTCAGAGACTA
GCAGCGCTAGGTGACACAGCCTGGGAC
TTCGGCTCCATTGGAGGGGTATTCAACT
CCATAGGGAAAGCTGTACACCAAGTATT
TGGCGGTGCATTCAGAACGCTCTTTGG
GGGAATGTCTTGGATCACACAAGGACTA
ATGGGGGCCTTACTTCTTTGGATGGGTG
TCAACGCACGAGACCGATCAATCGCCCT
GGCTTTTC
```

4 まとめ

- 1) コガタアカイエカにおいて日本脳炎ウイルスの保有がわずかながら確認された。今後も感染予防には蚊に刺されないような注意が必要と言える。
- 2) ウエストナイルウイルスは今回の調査では検出されなかったが、航空機等以外にも渡り鳥によるウイルス持ち込みの可能性も指摘されていることから、引き続き注意が必要である。

参考文献

- 1) ウエストナイル熱媒介蚊対策研究会：ウエストナイル熱媒介蚊対策ガイドライン、財団法人日本環境衛生センター（2003）
- 2) 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. 3
- 3) 国立感染症研究所：病原体検査マニュアル（日本脳炎）
- 4) 青山幾子他：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第43号、77-84（2005）