

Nucleotide Sequence Homology Data of JEV isolated from mosquitoes in Kawasaki city

1st Nucleotide Sequence

File Name : Kawasaki蚊8ks.txt
 Sequence Size : 314

2nd Nucleotide Sequence

File Name : JaOArfull.txt
 Sequence Size : 10976

[95.860%/314 bp] INT/OPT.Score : < 1178/ 1178 >

```

1'   GAGGGG AGACAAGCAG ATTAACCACC
2101" GAGGGG AGACAAGCAG ATCAACCACC

27'   ATTGGTACAA GGCTGGAAGC ACGCTGGGCA AAGCCTTTTC AACGACTTTG AAGGGAGCTC
2161" ATTGGCACAA AGCTGGAAGC ACGCTAGGCA AGGCCTTTTC AACAACTTTG AAGGGAGCTC

87'   AAAGACTGGC AGCGTTGGGC GACACAGCCT GGGACTTTGG CTCTATTGGA GGGGTCTTCA
2221" AAAGACTGGC AGCGTTGGGC GACACAGCCT GGGACTTTGG CTCCATTGGA GGGGTCTTCA

147'  ACTCCATAGG GAAAGCTGTT CACCAAGTGT TTGGTGGTGC CTTCAGAACA CTCTTTGGGG
2281" ACTCCATAGG AAAAGCCGTT CACCAAGTGT TTGGTGGTGC CTTCAGAACA CTCTTTGGGG

207'  GAATGTCTTG GATCACACAA GGGCTAATGG GGGCCCTACT ACTTTGGATG GGCATCAACG
2341" GAATGTCTTG GATCACACAA GGGCTAATGG GTGCCCTACT ACTCTGGATG GCGTCAACG

267'  CACGAGACCG ATCAATTGCT TTGGCCTTCT TAGCCACGGG AGGTGTGC
2401" CACGAGACCG ATCAATTGCT TTGGCCTTCT TAGCCACAGG AGGTGTGC

```

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

分担研究報告書

トリインフルエンザ流行地の昆虫学的調査（2004年）

分担研究者 津田良夫 国立感染症研究所 室長
研究協力者 林 利彦 国立感染症研究所 主任研究官
倉橋 弘 国立感染症研究所 客員研究員

研究要旨 2004年2～3月にトリインフルエンザの大発生が起こった京都府船井郡丹波町の浅田農産船井農場の周辺を視察し、ハエ類を中心とした昆虫学的調査を実施した。養鶏場から500～1,000mに位置する7ヶ所、2,000～2,500mに位置する2ヶ所で、持参した魚肉に飛来したハエ類を採集した。2日間の調査でオオクロバエを主とするハエ類約900頭を捕獲した。これらハエ類が径口的にトリインフルエンザウイルスを取り込み、他の場所に運搬することによって感染が拡大する可能性があるかどうかを検討中である。WNVのような新たな昆虫媒介性疾患が我が国に侵入した場合を想定して、今回の調査経験から調査方法、調査・防除対策実施上の注意事項や問題点などについてまとめた。

A. 目的： 2004年2月に京都府船井郡丹波町で発生したトリインフルエンザは、養鶏場の規模が大きく周囲の養鶏場への二次感染や野生のカラスへの感染も確認された。感染経路としては渡り鳥やアヒル、野鳥の重要性が指摘されたが、これら野生動物と鶏の接触が実際にどの程度起こっていたかははっきりしていない。カラスへの感染が確認されたことは、トリインフルエンザウイルスに感染・死亡した鶏の死体が放置され、野生動物が死体を食べることができる状況にあったことを示唆している。このような状況では、カラス以外にも多くの野生動物が死体の分解に関わっていたはずであり、特に、

死体が新鮮な時期に飛来するハエ類は、鶏の糞のみでなく死体からも摂食によってウイルスを消化管内に取り込む可能性が高い。餌と共に取り込まれたウイルスは、ハエの体内（細胞）に侵入することはないと思われるが、消化されずに活性を保ったまま糞と共にまとめて排出される可能性もある。したがって、トリインフルエンザウイルスの運び屋として、ハエ類が感染拡大に関与している可能性を、完全に否定することはできない。トリインフルエンザが発生した2～3月はオオクロバエの繁殖開始時期に相当しており、本種は大型で寿命が長く、飛翔能力が大きいなどの特徴を持っていることから、

冬季のトリインフルエンザウイルスの運び屋としてもっとも疑わしい種類のひとつである。

トリインフルエンザの流行地で、どのような種類のハエ類がどの程度の密度で発生しているのか、ウイルスを体内に保持しているのか、糞と共に排出されたウイルスは活性を保っているのか、これらの疑問を明らかにするために現地調査ならびにウイルス分離のためのサンプル採取を行った。

B. 方法 2004年3月9～12日に京都府船井郡丹波町の浅田農産船井農場の周辺で調査を行った。魚肉ベイト（いわし）に誘引される個体を、捕虫網で捕獲するベイト採集を行った。トリインフルエンザの発生した地域は、起伏のゆるやかな丘に囲まれた沢の上流部に位置し、養鶏場から沢の下流部まで長さ約4km、幅数十～数百mの広がりがある（図1～11）。養鶏場に最も近い採集場所Aと養鶏場との距離は約600m、最も遠い採集場所Cまでの距離は約2,250mであった。養鶏場の上流にある峠では、3ヶ所（D、E、F）で採集を行った。峠の採集場所は、いずれも養鶏場から500～1,000mの範囲内に位置していた。養鶏場の東にある小さな谷（採集場所G）でも採集を行ったが、天候が不適でわずかに2頭のオオクロバエが捕獲されたのみであった。そのため、採集場所Gの採集結果は今回の報告から除外した。

捕獲されたハエは、ウイルスの有無を確認するため、1匹ずつチューブ（容量1.5ml）に保存し、低温でハエの活動性を低くして持ち帰った。ハエ類の同定、ウイルス検出はまだ実施されていないので、捕獲個体数のみを場所毎にカウントした。

今後の参考とするために、付表1に今回の調査で携行した品物のリストを示した。また、サンプル採取の手順を付表2に示した。

C. 結果：

約19時間半の総採集時間で、926頭のハエ類を捕獲した（表1）。種類同定が済んでいないため種類構成については結果を示すことができないが、採集中にオオクロバエ、ケブカクロバエ、オオイエバエなどが確認されており、このうちオオクロバエが主体であった。もっとも総捕獲数が多かったのは採集場所Aで、3時間で403頭（134頭／時間）のハエ類が捕獲された。次に総捕獲数が多かったのは、採集場所Bで、5時間半の採集時間で144頭であった。主として気象条件が原因で、採集時間が場所によって異なっているため、捕獲総数を採集時間数で除して時間当たりハエ密度を求め、採集場所間の捕獲個体数の比較を行った。時間当たりハエ密度がもっとも高かったのは、採集場所Aで134頭／時間、これに対して最も低かったのは、採集場所Eで17頭／時間であった。時間当たりハエ密度と養鶏場所から各採集場所までの距離の関係を図2に示した。

採集場所Cの山脚部の林内でカラスの死体が見つかったので（図5、6、7）、死体に飛来していたハエ類を捕獲した。カラスの死体はビニール袋に密封して、丹波町農林課に届けウイルス検出を依頼したが、死体が古すぎたためウイルス検出はできなかった。

D. 考察：

養鶏場に最も近い採集場所で1時間当たり134頭という非常に高いハエ密度が観察

された。時間当たりハエ密度は養鶏場からの距離に反比例する傾向が見られた。これらの結果は、明らかに養鶏場がハエ類の主要な発生源であり、ハエ類がかなり高密度で発生していたことを示唆している。

養鶏場から排出される鶏糞や鶏の死体は、自然界の食物連鎖の中では、いわゆる分解者によって分解される。分解者の中には、カラスのように新鮮な死体を摂食する動物が含まれており、このような動物はトリインフルエンザウイルスに感染・死亡した鶏からウイルスを摂取する可能性がきわめて高い。ハエ類の中には鶏糞を摂食するだけでなく、新鮮な死体からも摂食する種類が知られている。これらのハエ類の場合にも、糞や死体に含まれるトリインフルエンザウイルスを消化管内に取り込む可能性は高い。ハエに取り込まれたウイルスが消化されず、高い活性を保つことができれば、移動・摂食を繰り返すハエによって糞と共に排泄されて感染を拡大する可能性がある。しかもオオクロバエのように、早春に繁殖する種類も存在することから、ウイルスの運び屋としてのハエ類の重要性に関して、できるだけ早く実験室における検討を行うことが必要である。

トリインフルエンザは、ベトナムやタイでは人への感染が報告されていることから、その感染経路を正確に確定することが望まれる。現時点では感染環の要素として鶏と野鳥だけが取り上げられているが、感染経路の確定には、自然界に存在する食物連鎖を基盤として感染環が成立していることを十分考慮する必要があるだろう。丹波町の養鶏場の近くには小川が流れているが、水鳥が多数飛来するほどの大きさではない。

養鶏場の北北東、山を挟んで反対側にため池があり、今回の調査で水鳥が確認された(図 12、13)。しかし、このため池に飛来した野鳥と養鶏場の鶏とが直接接触する可能性は低いだろう。オオクロバエの飛翔力や飛翔行動を考慮すると、ため池に生息する野鳥と養鶏場との間をハエが行き来している可能性は十分考えられる。

もしハエ類がウイルスの運び屋として感染を拡大しているとする、規制区域の設定やトリインフルエンザウイルス発源地の防除対策は根本的に変更しなければならず、社会に対して与える影響も非常に大きい。このような理由から、今回の調査がハエ類を目的としているということが不必要に広まることのないよう、採集場所の選定や規制区域への立ち入りにあたってできるだけ目立たないように行動した。サンプルの運搬にはレンタカーと宅急便を利用したが、できれば公共機関を利用することなく、専用の車両によって移動し、サンプルの運搬ができることが望ましいと思われる。

トリインフルエンザが鶏の感染症であるため、今回の防除作業は農林水産省が中心となって行われている。しかしながら、感染源の一つと考えられる野鳥の調査は、環境庁が行い、また防除作業に従事した職員の健康管理のために厚生労働省から医師が派遣されるなど、複数の省庁が協力して事態の収拾にあたっている。ウエストナイル熱のように人やウマが感染するだけでなく、蚊や野鳥など野生動物が重要な役割を持つ感染症が我が国に侵入した場合にも、防除対策の実施に当たっては、厚生労働省だけでなく農林水産省や環境庁などの協力が不可欠である。このような意味で、今回のト

リインフルエンザの流行には教訓とすべき点が多々含まれている。

E. 結論：

トリインフルエンザが発生した養鶏場周辺には、オオクロバエやケブカクロバエ、オオイエバエなどのハエ類が多数生息していた。これらハエ類の体内にトリインフルエンザウイルスが取り込まれているかどうか、ウイルスの活性が高く保たれているか

どうかなど、今後の研究によって明らかにする必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

付表1 携行品のリスト

マスク、ゴム手袋、チューブ (1.5ml)、アルコール・スプレー、アルコールティッシュ、クーラーボックス、ビニール袋、氷、塩
いわし、捕虫網、
デジタルカメラ、ビデオカメラ、
1/25,000 地形図、道路地図
着替え

付表2 採集の手順

ゴム手袋、マスクを着用する。

ベイトに飛来するハエ類を捕獲する。

捕獲したハエを1匹ずつチューブに保存する。

ハエの入ったチューブは塩をまぶした氷で冷やして、低温で保存する。

採集が終了したら、ゴム手袋、マスクをはずし、アルコール・スプレーで衣服や靴を消毒する。

サンプルをひとまとめにして、冷凍宅急便で研究所へ送る。

すべての採集が済んだら、採集に使用した捕虫網、衣類をビニール袋に入れて密封し、宅急便で研究所へ送ってオートクレーブにかける。

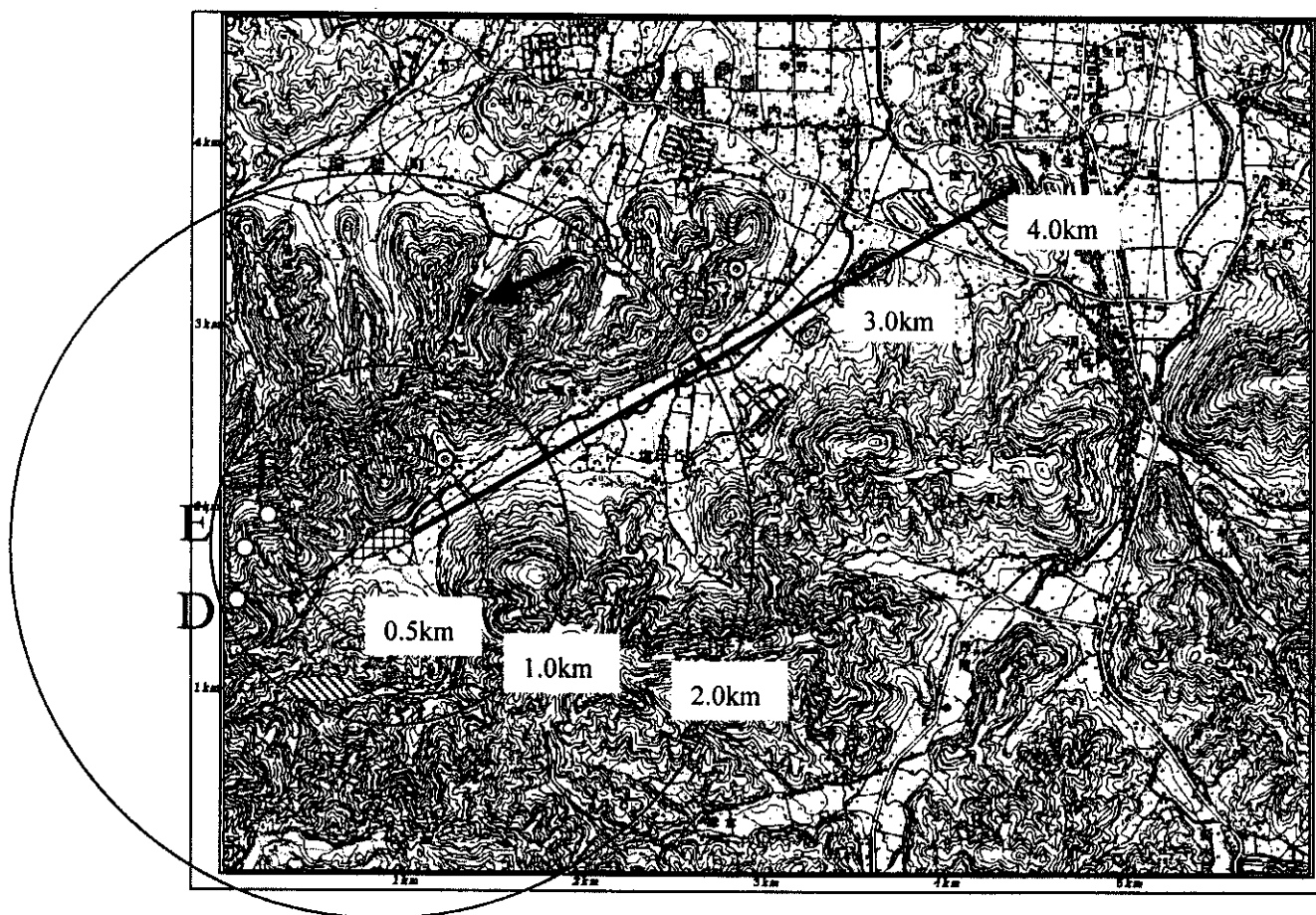


図1 京都府船井郡丹波町でトリインフルエンザが発生した養鶏場
とハエ類の採集を行った場所(A-G)の位置関係



図2 浅田農産船井農場

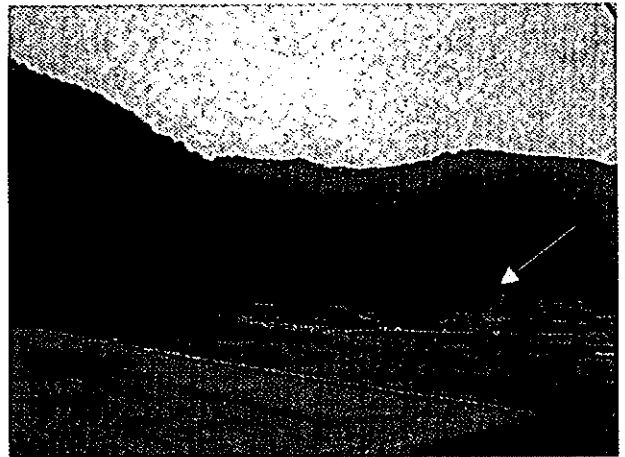


図3 採集地点A

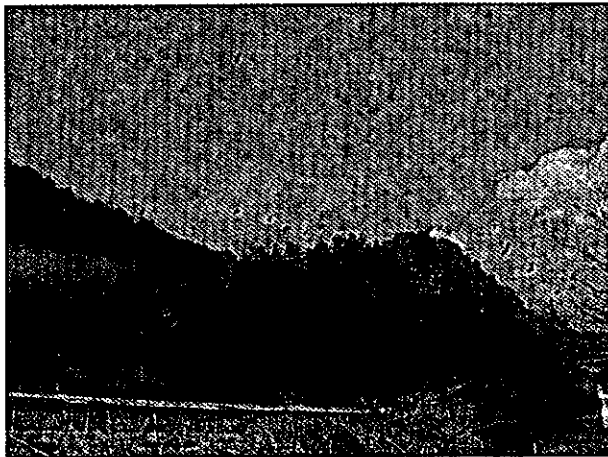


図4 採集地点B



図5 採集地点C



図6 採集地点C山側（カラスの死体）



図7 採集地点Cで見つかったカラスの死体

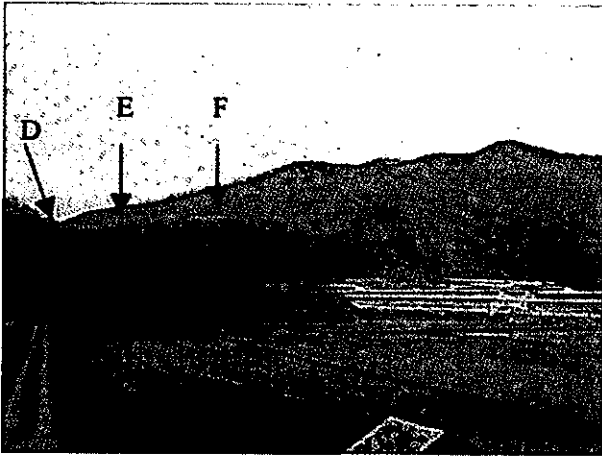


図8 船井農場と峠の採集地点D、E、Fの位置関係



図9 採集地点D、Eの位置関係

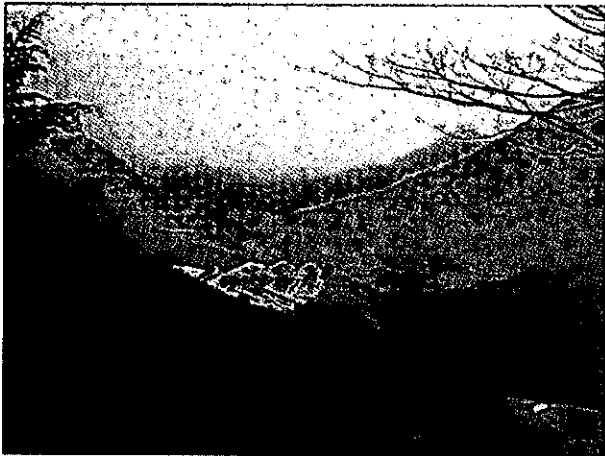


図10 採集地点Dから見た船井農場



図11 採集地点G

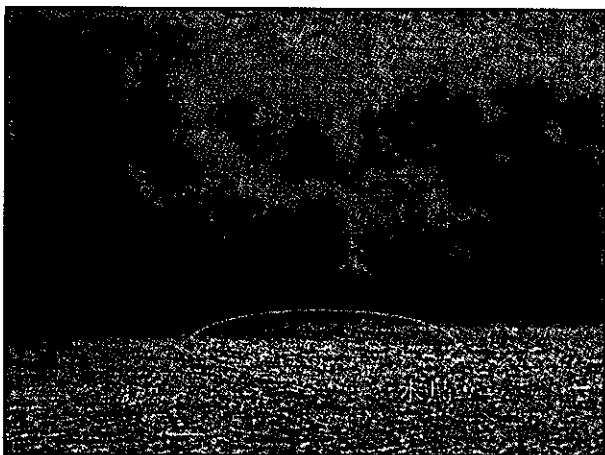


図12 山の反対側にある溜池
(水鳥が十数羽浮かんでいた)



図13 山の反対側にある溜池
(この方角に船井農場がある)

表1 魚肉ベイトによる採集結果 (2004年3月10、11日)

採集地点	採集個体数	採集時間	時間当たり密度	鶏舎からの距離
A	403	3	134	600
B	144	5.5	26	2,050
C	79	4	20	2,250
D	125	2.33	54	900
E	39	2.33	17	800
F	136	2.33	58	700
合計	926	19.49	48	

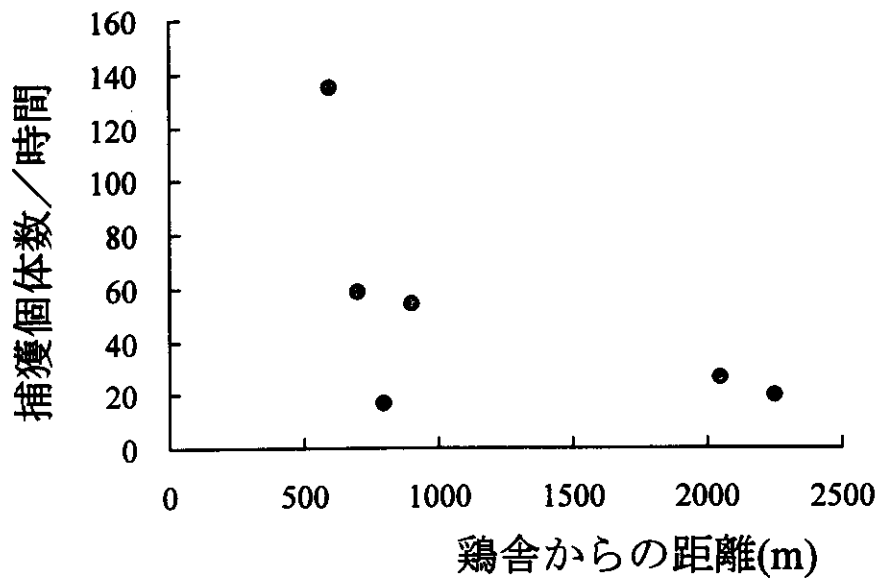


図14 時間当たりハエ密度と鶏舎からの距離の関係

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Eshita, Y., Takasaki, T., Yamada, K. and Kurane, I	VI. Arthropod Borne Disease Isolation of Arboviruses from Field-collected Mosquitoes	Jonathan, Y	Anthology of Biosafety	American Biological Safety Association	Richmond	2003	63-71
小林睦生	衛生害虫	三橋 淳	昆虫学大事典	朝倉書店	東京	2003	920-933

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Nihei, N., Yoshida, M., Kobayashi, M., Kaneta, H., Shimamura, R. and Agui, N.	Geographic information systems (GIS) analysis of the distribution of the redback spider <i>Latrodectus hasseltii</i> (Araneae: Theridiidae) in Osaka, Japan	Medical Entomology and Zoology	54	177-188	2003
Nihei, N., Yoshida, M., Kaneta, H., Shimamura, R. and Kobayashi, M.	Analysis on the dispersal pattern of newly introduced redback spider <i>Latrodectus hasseltii</i> in Japan by spider diagram	Journal of Medical Entomology	41	in press	2004
Kobayashi, M., Nihei, N. and Kurihara, T.	Analysis of northern distribution of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) in Japan by geographical information system	Journal of Medical Entomology	39	4-11	2002
Tsuda, Y., Yotoprano, S., Bendryman, S. S., Rosmanida, Dachlan, Y.P., and Takagi, M	Seasonal changes in variation of dorsal scale pattern of <i>Aedes aegypti</i> (L.) (Diptera: Culicidae) in Surabaya, Indonesia	Medical Entomology and Zoology	54	73-80	2003

Dieng, H., Boots, M., Tuno, N., Tsuda, Y. and Takagi, M	Life history effects of prey choice by copepods: implications for biocontrol of vector mosquitoes	Journal of American Mosquito Control Association	19	67-73	2003
Satho, T., Tsuda, Y., Somboon, P., Kawada, H. and Takagi, M.	Difference in the larval susceptibility to pyriproxyfen in nine colonies of six vector mosquito species	Medical Entomology and Zoology	54	155-160	2003
Dieng, H., Boots, M., Mwandawiro, C., Satho, T., Hasegawa, M., Nyambura, G. J., Saita, S., Kawada, H. Tsuda, Y. and Takagi, M..	Effects of a copepod predator on the survivorship and development of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae)	Medical Entomology and Zoology	54	187-192	2003
Tsuda, Y., Maekawa, Y., Saita, S., Hasegawa, M. and Takagi, M..	Dry ice-trap collection of mosquitoes flying near a tree canopy in Nagasaki, Japan with special reference to <i>Aedes albopictus</i> (Skuse) and <i>Culex pipiens pallens</i> Coquillett (Diptera: Culicidae)	Medical Entomology and Zoology	54	325-330	2003
Hu, X.-M., Tsuda, Y. and Takagi, M.	Survival and development of larvae of three tropical malaria vectors (Diptera: Culicidae) under a seasonally changing temperature condition in Nagasaki, Japan	Medical Entomology and Zoology	54	371-379	2003
Nagao, Y., Dachlan, Y. P., Soedarto, Hidajati, S., Yotopranoto, S., Kusmartisnawati, Sri Subekti, Ideham, B., Tsuda, Y. and Takagi, M.	Distribution of two species of malaria, <i>Plasmodium falciparum</i> and <i>Plasmodium vivax</i> , on Lombok Island, Indonesia	Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health	34	495-500	2003
Tuno, N., Tsuda, Y., Takagi, M. and Suwonkerd, W	Pre-and postprandial mosquito resting behavior around cattle hosts	Journal of American Mosquito Control Association	19	211-219	2003

Toma, T. and Miyagi, I	<i>Armigeres (Armigeres) laoensis</i> sp. nov. (Diptera: Culicidae) from Khammouane Province, Lao PDR	Medical Entomology and Zoology	54	169-172	2003
Higa, Y., Toma, T., Saita, S., Takei, A. and Miyagi, I	Laboratory rearing method of <i>Anopheles minimus</i> (Diptera: Culicidae) from Ishigaki Island, the Ryukyu Archipelago, Japan	Medical Entomology and Zoology	54	257-266	2003
Toma, T., Miyagi, I., Murakami, H., Nerome, H., Yonamine, M., Higa, Y. and Tokuyama, Y.	Distribution and seasonal prevalence of <i>Anopheles minimus</i> Theobald (Diptera: Culicidae) in the Yaeyama Island group (except Ishigaki Island), Ryukyu Archipelago, Japan, 1999-2000	Medical Entomology and Zoology	54	267-274	2003
Miyagi, I., Toma T. and Higa, Y	A new species of <i>Mimomyia (Ingramia)</i> from Indonesia (Diptera: Culicidae)	Medical Entomology and Zoology	55	in press	2004
Tomita, T., Yaguchi, N., Mihara, M., Takahashi, M., Agui, N. and Kasai, S	Molecular analysis of a <i>para</i> sodium channel gene from pyrethroid-resistant head lice, <i>Pediculus humanus capitis</i> (Anoplura: Pediculidae)	Journal of Medical Entomology	40	468-474	2003
Kasai, S. and Tomita, T.	Male specific expression of a cytochrome P450 (<i>Cyp312a1</i>) in <i>Drosophila melanogaster</i>	Biochemical and Biophysical Research Communications	300	894-900	2003
Nabeshima, T., Kozaki, T., Tomita, T. and Kono, Y	An amino acid substitution on the second acetylcholinesterase in the pirimicarb resistant strains of the peach potato aphid, <i>Myzus persicae</i> .	Biochemical and Biophysical Research Communications	307	12-22	2003
Anazawa, Y., Tomita, T., Aiki, Y., Kozaki, T. and Kono, Y.	Sequence of a cDNA encoding acetylcholinesterase from susceptible and resistant two-spotted spider mite, <i>Tetranychis urticae</i>	Insect Biochemistry and Molecular Biology	33	509-514	2003
Kasai, S., Mihara, M., Takahashi, M., Agui, N. and Tomita, T	Rapid evaluation of human lice susceptibility to phenothrin	Medical Entomology and Zoology	54	31-36	2003

Ni, X-Y., Tomita, T., Kasai, S. and Kono, Y	cDNA and deduced protein sequence of acetylcholinesterase from the diamondback moth, <i>Plutella xylostella</i> (L.) (Lepidoptera: Plutellidae)	Applied Entomology and Zoology	38	49-56	2003
Nabeshima, T., Mori, A., Kozaki, T., Iwata, Y., Hidoh, O., Harada, S., Kasai, S., Severson, D. W., Kono, Y. and Tomita, T.	An amino acid substitution attributable to insecticide-insensitivity of acetylcholinesterase in a Japanese encephalitis vector mosquito, <i>Culex tritaeniorhynchus</i>	Biochemical and Biophysical Research Communications	313	794-801	2004
Takasaki, T., Yabe, S., Nerome, R., Ito, M., Yamada, K. and Kurane, I	Partial protective effect of inactivated Japanese encephalitis vaccine on lethal West Nile virus infection in mice	Vaccine	21	4514-4518	2003
Mizutani, T., Kobayashi, M., Eshita, Y., Shirato, K., Kimura, T., Aki, Y., Miyoshi, H., Takasaki, T., Kurane, I., Kariwa, H., Umemura, T. and Takashima, I	Involvement of the JNK-like protein of the <i>Aedes albopictus</i> mosquito cell line, C6/36, in phagocytosis, endocytosis and infection of West Nile virus	Insect Molecular Biology	12	491-499	2003
小林陸生	疫学調査の重要性	生活と環境	48 (6)	11	2003
小林陸生	「ウエストナイル熱媒介対策に関するガイドライン」解説	生活と環境	48 (7)	40-43	2003
小林陸生	Seminar: [蚊が媒介する感染症] ウエストナイル熱-米国での流行から何を学ぶか-	感染症	33 (4)	33-39	2003
小林陸生, 二瓶直子, 栗原 毅	わが国のデング熱媒介蚊であるヒトスジシマカの分布拡大について	病原微生物検出情報	25 (2)	10-11	2004
小林陸生	海外旅行と感染症-虫よけ	治療学	38 (3)	42-44	2004

吉田永祥, 吉田政弘, 岩上泰雄, 瀧 幾子, 菌輝久, 内野清子, 田中智之	セアカゴケグモ <i>Latrodectus hasseltii</i> (Araneae: Theridiidae) 除去後の個体群動態	Medical Entomology and Zoology	54	361-366	2003
吉田政弘	日本における毒グモ咬症の今後の動向	日本医事新報	4155	25-28	2003
當間孝子	地球温暖化と蚊媒介性感染症 Dengue 熱, 西ナイル熱とマラリア	公衆衛生	67 (4)	296-300	2003
葛西真治, 富田隆史	cDNA アレイ法によるチトクロム P450 発現の解析: 殺虫剤新規作用点の探索と抵抗性機構の解明にむけて	日本農薬学会誌	28	473-478	2003
伊藤美佳子, 高崎智彦	新興輸血感染症「ウエストナイル熱・ウエストナイル脳炎」	血液フロンティア	13 (5)	613-617	2003
高崎智彦, 伊藤美佳子	ウイルス性脳炎～ウエストナイル脳炎～	化学療法の領域	19 (5)	797-801	2003
高崎智彦	感染症診療・投薬ガイド 第Ⅱ部 疾患各論 ウエストナイル熱	総合臨床	52	351-355	2003
高崎智彦	ウエストナイル熱 (West Nile Fever)	CURRENT CONCEPTS IN INFECTIOUS DISEASES	22 (3)	18-19	2003
高崎智彦	ウエストナイルウイルス感染症	畜産技術	581 (10)	28-31	2003
高崎智彦	ウエストナイル熱	臨床医	29 (10)	1779-1782	2003
高崎智彦	フラビウイルス感染症およびその流行における鳥類の役割	鶏病研究会報	39 増刊号	1-6	2003
高崎智彦	ウエストナイルウイルス感染症の動向	Medicament News	1759 号	4-6	2003
高崎智彦 根路銘令子 倉根一郎	2002 年日本におけるブタから分離された日本脳炎ウイルスの解析	病原微生物検出情報	24 (7)	153	2003
桑山 勝, 高尾信一, 福田伸治, 島津幸枝, 宮崎佳都夫, 倉根一郎, 高崎智彦他 11 名	2002 年に発生した日本脳炎 3 事例についての詳報—広島県	病原微生物検出情報	24 (7)	152-153	2003