

200829008A

厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

節足動物媒介感染症の効果的な防除等の対策研究
(H18-新興-一般-009)

平成20年度総括・分担研究報告書

平成21年3月

研究代表者 小林睦生
国立感染症研究所 昆虫医科学部

目 次

I. 総括研究報告書

節足動物媒介感染症の効果的な防除等の対策研究

小林睦生	1
------	---

II. 分担および協力研究報告書

1. 2008年国内捕集コガタアカイエカからの日本脳炎ウイルスの検出と遺伝子解析 澤邊京子他	27
2. 東京都の公園で観察されたコガタアカイエカの集団飛来と越冬 津田良夫他	35
3. 渡り鳥飛来地における疾病媒介蚊調査（島根県出雲平野） 津田良夫他	41
4. 捕虫網による林内の吸血蚊の採集 津田良夫他	47
5. ヤマトクシヒゲカの吸血源動物同定と鳥マラリア原虫の検出 津田良夫他	53
6. 沖縄県と鹿児島県奄美大島における日本脳炎媒介蚊とシマカ類の調査研究 當間孝子他	57
7. 横浜市および近隣都市部における蚊類成虫の生息状況調査 小曾根恵子他	65
8. ヒトスジシマカの産卵習性—家屋内での産卵— 金山彰宏他	77
9. 千葉県におけるカ類の生息実態調査と幼虫の薬剤感受性 藤曲正登他	85
10. 西宮市における蚊防除の評価 吉田政弘他	95
11. 疾病媒介蚊監視システムの構築に向けて—西宮市における蚊幼虫相の地域差と空間解析 二瓶直子他	105
12. 西宮市の公園におけるヒトスジシマカの発生密度と周辺環境の評価 小林睦生他	117
13. ジフルベンズロン製剤による雨水拮対策の検討—ライトトラップによる効果の確認（第2報）— 小菅皇夫他	127
14. 戸建民家における蚊の発生状況と簡便な発生抑止策の検討 渡辺 護他	137
15. 戦前戦後のマラリア流行地における蚊の発生状況調査 渡辺 護他	145

16.	コロモジラミの生存条件および防除に関する研究 武藤敦彦他	153
17.	食塩水のアカイエカおよびヒトスジシマカに対する殺幼虫効果および 産卵抑制効果 橋本知幸他	161
18.	アタマジラミのピレスロイド系駆除剤抵抗性 富田隆史他	169
19.	蚊のウイルス感受性、およびデング熱媒介蚊調査 江下優樹他	177
20.	デング熱患者における尿および唾液中のデングウイルス遺伝子検出 高崎智彦他	185
21.	日本脳炎ウイルスの病原性を規定する部位同定 倉根一郎他	191
22.	デングウイルス抗原により前免疫したマウスにおけるデング4価DNA ワクチンの中和抗体誘導能の増強及び交差免疫原性の考察 小西英二	197
23.	デングウイルス感染の抗体検査に関する研究—デングIgA抗体検出の 有用性 名和 優他	209
24.	ベトナムを中心とした東南アジア地域のヒトマラリア媒介蚊： ハマダラカ属 <i>Leucosphyrus</i> グループに関する分子系統学的研究 高木正洋他	213
25.	動物モデルを用いたマラリア重症化機構に関する研究 —特に重症化の指標になるバイオマーカーの探索— 松本芳嗣他	221
26.	邦人の海外渡航においてリスクの回避のために、東南アジアのマラリア 感染地域の対策と三日熱マラリアの再発・再燃に対する疫学的背景検討に 関する研究 小林 潤他	231
27.	マラリア重症患者の管理および治療体制に関する研究 狩野繁之他	237
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	243

節足動物媒介感染症の効果的な防除等の対策研究

研究代表者 小林 睦生 国立感染症研究所昆虫医科学部

研究要旨

1) 都市部での媒介蚊幼虫に関して、兵庫県西宮市で大規模かつ詳細に調査を行った。市内の10地区にある雨水枡を中心に幼虫の発生状況を調査し、下水システムとの関係に関して、分流式と合流式における発生蚊の種類の違い等を検討した。また、10地区内の各2ヶ所の公園で行ったヒトスジシマカの8分間捕集に関して、公園の環境と捕集数にある種の間接関係があること、8分間で20個体を超す数が捕集される公園が存在すること、15週の平均捕集数が2匹以上の公園が相当存在することなどが明らかとなり、チクングニヤ熱の突発した流行を考えると、平時からの幼虫防除対策が重要であることが強く示唆された。

2) 兵庫県西宮市ならびに社団法人大阪府PCO協会の全面的な協力を得て、西宮浜（人工島で総面積2.59km²）全域において事前に発生源の分布マップを作成し、薬剤散布を実施した。2007年はチャブBT錠、スミラブ発泡錠ミニ、デミリン発泡錠のIGR剤を使用し、2008年はピリプロキシフェンの粒剤と錠剤を使用した。その効果を判定するために散布後1週間よりCDC型ライトトラップを用いて効果判定をおこなった。その結果、人工島全体の幼虫発生を抑えたにも拘わらず、トラップでの媒介蚊捕集数は未処理地域と比べて減少せず、相当広範囲に人工島周辺からアカイエカ種群が飛来して来ていることが強く示唆された。

3) 横浜市において、ジフルベンズロン製剤を用いて雨水枡中の幼虫・蛹の防除を行い、ライトトラップによって成虫の動態を観察した。その結果、幼虫・蛹数と成虫の捕獲数には関連があり、雨水枡に対する薬剤処理が住宅地におけるアカイエカ種群やヒトスジシマカなどの媒介蚊対策に有効であることが確認された。

4) コガタアカイエカのJEV保有状況は非常に高い陽性率を示す地域が確認されており、約3年間にわたって同じ地域の蚊からJEVの分離に成功した。分離株は全てGenotype 1に属し、近年東南アジア地域で分離された株と遺伝的に極めて近縁である。遺伝子解析において、2007年に九州地方の複数の豚舎から分離されたJEVのアミノ酸レベルでの変異がエンベロープ領域に確認されたが、2008年には2006年の配列に戻っていた。これらの原因に関しては、今のところ全く分かっていない。

5) ウエストナイルDNAワクチンと日本脳炎DNAワクチンを用いて、低ドーズにおける中和抗体誘導能を調べた結果、市販のウエストナイル不活化ワクチンの1/10ドーズを混合することによって1回の接種でマウスに中和抗体を誘導した。この方法は日本脳炎にも応

用可能で、DNA ワクチンの低減化と低コスト化が可能となった。

6) アカイエカにウイルス力価の高い日本脳炎ウイルス液(4株)を摂食させた場合、アカイエカ体内のウイルス増殖に差は認められなかったが、力価の低いウイルス液を摂食させた場合には、ウイルスの増殖に個体間の差が見られ、ウイルス株間にも差が認められた。我が国においては、コガタアカイエカが日本脳炎の主要な媒介蚊であるが、自然界でその他の蚊がどのような役割を果たしているかが明らかとなっていない。ウエストナイルウイルスと同様に、アカイエカ体内で日本脳炎ウイルスが越冬しているのではないかとこの憶測も存在しており、より詳細な検討が必要である。

7) 日本脳炎ウイルス(JEV)の病原性に関する遺伝子の特定が試みられた。高病原性と低病原性の株間において、異なるアミノ酸配列は7ヶ所、異なる非翻訳領域内の塩基は6ヶ所認められた。どの部位が病原性に関係するか検討した結果、コア蛋白質1ヶ所、NS4A蛋白質1ヶ所のアミノ酸置換がマウスでの病原性に寄与することが明らかとなった。

8) 日本人デング患者より血清、尿および唾液を経日的に採取し、ウイルス遺伝子検出、およびIgA、IgM抗体産生を解析した。血清からウイルス遺伝子が検出できた症例は19症例で検出率は、57.6%であった。尿中からデングウイルス遺伝子を検出した上記12症例の腎機能には特に異常を認めなかった。また、尿検体からのウイルスは分離されなかったが、尿中デングウイルス遺伝子の解析にいたった症例5例のウイルス型別は、1型2例、2型1例、3型1例、4型1例であった。また、尿および唾液からIgA抗体が検出され、8症例の尿の4症例からIgA抗体が検出され、4症例の唾液の内2症例から陽性が得られた。

9) 重症マラリアの発症機序の解明および重症化の指標となるバイオマーカーの探索において、hL-FABP Tgマウスにおける尿中hL-FABP量はマラリア感染の進行に伴い増加し、接種5日目では187ng/ml、接種7日目では631ng/mlに達した。感染の進行に伴い尿中へのhL-FABPの排出が著しく亢進した。これらのバイオマーカーを重症マラリアの発症機序の解明および重症化の予測に利用する方法を今後検討することが重要である。

10) マラリア流行地域に滞在し、予防内服の「絶対的適応」に当てはまるケースを啓発することは重要である。3項目としては1) 熱帯熱マラリアの高度流行地域に滞在する。2) 旅行期間が7日以上である。3) マラリア発症時に適切な医療対応が期待できないが当てはまる。マラリアの治療に関して、国内の医療機関における治療法の標準化と啓発が必要で、ACT療法の普及は重要な課題である。また、アジア地域を中心に熱帯熱マラリアの患者数の減少が報告されており、今後、三日熱マラリアの予防、治療の問題が顕在化してくると予想される。根治療法の徹底など海外渡航者への啓発も今後の課題である。

11) アタマジラミのピレスロイド系駆除剤抵抗性に関して、ナトリウムチャンネル遺伝子のアミノ酸置換突然変異を分子的に検出することにより、アタマジラミのピレスロイド抵抗性遺伝子型を推定できる方法を確立した。2007年度には抵抗性遺伝子の保有率は6.2%であったのが、2008年には11.2%に達し、駆除剤が全く効かないアタマジラミが広がっている地域の存在が示された。未だ全国規模での調査とは言い難い状況で、今後、より検体数(コロニー数)を増やして、我が国におけるアタマジラミの駆除剤に対する抵抗性の現

状を明らかにする必要がある。

研究分担者

當間孝子	琉球大学 教授
澤邊京子	国立感染症研究所 室長
江下優樹	大分大学 准教授
狩野繁之	国立国際医療センター 研究所 部長
松本芳嗣	東京大学大学院 准教授
高木正洋	長崎大学熱帯医学研究所 教授
小林 潤	国立国際医療センター 研究所 厚生労働技官
高崎智彦	国立感染症研究所 室長
小西英二	神戸大学 准教授
倉根一郎	国立感染症研究所 部長
名和 優	埼玉医科大学 講師
富田隆史	国立感染症研究所 室長

A: 研究目的

デング熱、チクングニヤ熱、ウエストナイル熱、黄熱、マラリアなど節足動物媒介性感染症は現在も世界的に猛威をふるっており、チクングニヤ熱は2005年以降、インド洋島嶼国、インド、スリランカ、東南アジア諸国で大きな再興が認められている。効果的なワクチンが未だ開発されていないデング熱は毎年のように世界規模で流行し、2008年の輸入症例は104例と過去の最高数を記録した。一方、我が国の日本脳炎(JE)患者数は過去10年ほど顕著に減少が見られるが、豚の抗体保有調査が示すように、ウイルスの活動は東京以西では毎年100%近くの豚に新たな感染が認められている。媒介蚊であるコガタアカイエカの JEV 保

有状況は地域によって非常に高い陽性率を示すことが確認されており、約4年間にわたって同じ地域の蚊から JEV の分離に成功した。分離株は全て1型に属し、近年東南アジア地域で分離された株と遺伝的に極めて近縁であることが明らかとなった。日本脳炎(JE)は西日本を中心にウイルスの活動が活発に起こっているが、患者数は1960年代と比べると激減している。これはワクチン接種および蚊に刺されにくい家屋構造、媒介蚊の地域全体での発生数の減少が患者発生を抑えていると考えられている。しかし、地方または地域によっては、小児へのワクチン接種が必要であり、新しい細胞培養によるワクチンの普及が強く望まれるところである。

2005年から2006年にかけてインド洋島嶼国、インド、スリランカ等で流行したチクングニヤ熱は、2004年のケニアでの大干ばつが原因であったことが示唆されているが、多くの流行国でヒトスジシマカが重要な媒介蚊であった。2005-2006年の流行では、全体で170万人以上の患者が発生し、2008年もスリランカ、マレーシア、タイ、シンガポール等を中心に流行が拡大している。これらの状況を踏まえて、我が国における媒介蚊の発生状況調査、媒介蚊の生態学的、生理学的解析、限定された地域における防除対策および防除に関する効果および費用の試算を試みた。

一方、マラリアはアフリカ大陸のサハラ砂漠以南の諸国で猛威をふるっており、インド、中近東、東南アジア、中国でも多数の患者が発生しており、毎年、80-100万人

ほどの乳幼児の死亡の原因となっている。デング熱は中南米、カリブ海諸国、西太平洋諸国、インド、東南アジア等で数年おきに世界規模の流行が起こっており、熱帯・亜熱帯地域で重要な蚊媒介性感染症である。両疾患は現在、輸入症例として50・100名ほどが報告されている。

ウエストナイルウイルス(WNV)が我が国に侵入した場合には、ウイルスの増幅動物としての多種類の野鳥やウイルスを伝播する能力のあるアカイエカ種群の蚊が都市部を中心に多数生息していることを考えると、相当広範囲にWNVが広がる可能性が予想される。現在、媒介蚊の発生状況調査を行っている地方自治体は一部の府県に限られており、最近までの調査目的は日本脳炎の流行予測に関連する蚊の捕集で、郊外の水田地帯にある牛舎や豚舎での成虫捕集調査が中心であった。しかし、WNVの我が国への侵入を想定した場合、人口密度が高い都市部の媒介蚊の発生状況調査が必要である。1999年にニューヨークで突然流行が起こったウエストナイル熱は、7年間でほぼ全米にウイルスの活動域が広がり、2007年までに23,707人の患者が発生し、928人が死亡している。渡り鳥、飛行機等による米国からの感染蚊の移入およびユーラシア大陸の極東地域からの感染した渡り鳥によるウイルスの持ち込みなどにより、我が国でいつウエストナイル熱が流行するか予断を許さない状況である。

日本各地で採集されたコガタアカイエカからJEVの分離を積極的に行い、得られたウイルス分離株における遺伝子解析を行うことにより、地域間に見られるウイルスの遺伝的関係を明らかにし、ウイルスの我が

国での越冬生態の解明を試みた。また、我が国の都市部に分布する数種の蚊に関してJEVに対する感受性を再検討し、都市部で捕集される数種蚊のJEV感受性を評価した。また、東南アジアにおいて、デング熱患者が発生している地域において、ネッタイシマカを採集し、ウイルスの保有状況を解析し、住宅周辺における成虫防除の重要性を解析した。

DNAワクチンの開発では従来の投与量の1/10～1/100程度の量で中和抗体を誘導する方法を詳細に検討した。デング熱の診断法は、急性期の血液からのウイルスの分離、遺伝子の検出が困難なため、抗体による血清診断が必要となる。また、出血傾向にある患者からの採血は困難が伴い、唾液、尿からの抗体または遺伝子の検出は有用性が高いと考えられ、基礎的な検査データを収集することが重要である。

1993年から韓国の非武装地帯を中心に三日熱マラリアが流行し始め、その後、軍人のみならず民間人にも5,000名を超す患者が全国的に発生した。また、輸入感染症として我が国に発生するマラリアに関しては、医療関係者のマラリアに関する知識、理解が不足しており、適切な治療が行われているか疑問視する意見も散見される。

重症マラリアの治療、海外でのマラリア対策に関する問題点を解決する目的で、「マラリア予防ガイドライン」の評価研究を行い、同ガイドラインの改定を行った。また、またATV(Artemisinin combination therapy)の臨床評価をマヒドン大学および国立国際医療センターで行った。東南アジアでは、熱帯熱マラリアの患者数が減少している反面、三日熱マラリアの重要性が高まってお

り、再発を防止するための根治療法の問題を含めて疫学的解析を行った。

重症マラリアのバイオマーカーの検索が今後の疾病管理に貢献する可能性が示唆された。

このように、我が国を取り巻く節足動物媒介性感染症の流行状況は常にある種のリスクを伴っており、ウイルスの病原性に関する分子機構、アルボウイルスに関する新しいワクチンの開発、新たな診断法の確立、マラリアの予防対策の啓発は重要である。開発途上国におけるマラリア対策の問題点、我が国の、特に都市部における媒介蚊の調査および防除対策に関する地方自治体の準備状況の問題点、緊急時の対応等の問題点も明らかになってきた。ヒトスジシマカは刺されて単に痒い蚊との認識を改め、重要なウイルス感染症（チクングニヤ熱）の媒介蚊であるとの視点を持つべきである。流行が起こっていない平時からの媒介蚊対策が最も重要で効果的であると考えられる。

B: 研究方法

1) 国内捕集コガタアカイエカからの日本脳炎ウイルスの検出と遺伝子解析

東京、千葉、静岡、富山、新潟、島根、長崎、熊本、鹿児島等の1都11県の養豚場を含む畜舎で捕集されたコガタアカイエカ成虫20匹を1プールとし、ウイルスの検出および分離を試みた。

2) 東京都の公園でのコガタアカイエカの集団飛来と越冬

2007年9月から12月にかけて多数のコガタアカイエカを東京都立林試の森公園で捕獲した。この公園は品川区と目黒区の境

にある面積12haの公園で、周囲15km以内に水田などの幼虫発生源は存在しない。9月末と10月初旬の夜間のヒト囹法で、吸血に飛来する個体の確認を行った。また、捕獲された個体の卵巣発育状態を調べ、産卵経験の有無を検討した。

3) 渡り鳥飛来地における疾病媒介蚊の調査および林内の吸血蚊の採集およびトリマリア原虫の検出

島根県宍道湖西岸の出雲平野と丘陵地を対象に、2008年5月から10月まで疾病媒介蚊の調査を行った。CDC型のライトトラップによる捕集、島根県平田市のサギ山および千葉県立野鳥の森ではスウィーピング法による吸血蚊の捕集を試みた。吸血蚊が採集された環境に関して、どのような場所が潜み場所として重要か検討した。都内で採集されたヤマトクシヒゲカの吸血蚊の吸血源動物の分子同定を行った。また、鳥マラリアの寄生の有無をPCR法で検討し、検出された鳥マラリアの系統樹解析を行った。

4) 沖縄県および鹿児島県奄美大島における疾病媒介蚊の調査

沖縄本島6地域、伊平屋島、西表島、奄美大島で日本脳炎媒介蚊およびヤブ蚊類の調査を行った。デング熱の媒介蚊として重要なシマカ類に関して、住宅が存在する地域と自然豊かな林内の調査を行った。また、沖縄本島、西表島でのネットアイシマカの定着が見られるか、オビトラップを用いて検討した。

5) 首都圏における媒介蚊の生息調査とヒトスジシマカの産卵習性

横浜市の都市部において、CDC ライトトラップを用いて成虫の捕集を行った。また、捕集されたアカイエカ種群の分類を、個眼の数によって行い、アカイエカとチカイエカの比率を算出した。ヒトスジシマカの産卵習性を検討するため、放飼した吸血ヒトスジシマカが戸建て住宅の室内に置かれた小容器等にどの程度産卵するか検討した。

千葉、成田、東金市において、ライトトラップを用いて蚊の捕集を行い、形態的に種の分類を行った。コガタアカイエカの発生消長を検討するために、捕集数を 2006 年から 2008 年にかけてまとめた。

6) 西宮市西宮浜における幼虫防除の効果判定

西宮浜は総面積 2.59km²の人工島で、工場、高層住宅、一般住宅が存在している。この島全体に約 7,000 ヶ所以上の雨水マスにおいて、初夏のアカイエカ種群の発生ピークを抑える意味で、5～7月の各月の初旬に全ての雨水枡に幼虫発育制御剤(IGR)であるピリプロキシフェン 0.5%含有の発泡錠剤または発泡粒剤を処理した。その後、毎週 1 回、人工島内および周辺地区で CDC 型ライトトラップを用いて成虫の捕集を行い、防除効果の判定を行った。また、一部の処理雨水マスから滞留水を採取し、薬剤の残留効果を薬剤に暴露していない幼虫を用いて評価した。

7) 媒介蚊幼虫相の地域差の解析における地理情報システムの応用

デジタルマップとして、MapInfo で作動する西宮市土木管理課が作成管理している西宮市国土基本図（地形図、1/2500DMデ

ータ）およびデジタルマッピングデータファイル（平成 11 年作成、改定同 17 年）を、ArcView で作動させ、紙地図として、西宮市土木局土木管理課が販売している A0 サイズの縮尺 1:2,500 西宮市地形図を用いた。これに西宮市環境衛生課が調査した道路雨水枡の位置を記入してスキャンした後、デジタル化して Tif ファイルで解析に供した。

また、下水道台帳の一般利用されている下水道合流・分流区域図を、西宮市のホームページからダウンロードして用いた。

8) 西宮市の公園におけるヒトスジシマカ発生密度と周辺環境の評価

市内の 10 地区より各 2 公園を無作為抽出し、各公園でヒトスジシマカが捕集される可能性のある地点 2 ヶ所を選んで、毎週 1 回、捕虫網を用いた 8 分間捕集による密度評価を行った。捕集された成虫は、全て持ち帰り、雌雄の判別を行い記録した。公園内の植生に関しては、3m 以上の樹木を全て数え、地図上に記録した。公園内の雨水マスおよび公園周辺道路の雨水マスは、地点を地図上に記録し、滞留水の有無を記録した。また、幼虫が発生している雨水マスでは、柄杓による 3 回掬い取り法で幼虫密度を記録した。また、捕集地点から幼虫発生雨水枡までの距離を測定した。捕虫地点周辺の植生およびその他の環境を把握するために、種々の角度からデジタルカメラで撮影し、捕集場所毎に情報を保存した。

9) ジフルベンズロン製剤による雨水枡対策の検討

横浜市保土ヶ谷区内に薬剤処理区と対照区（未処理区）を設定し、雨水枡の幼虫調

査およびライトトラップによる成虫の捕集数を継続的に調査した。成虫および幼虫、蛹は、羽化した個体の同定を形態学的に行った。

10) 富山県内の戸建て住宅内における蚊の発生防止策の検討

農村部の戸建て住宅の庭に3リットルの水を入れたバケツ4個を1組として、3組用意し、1)ヒメダカ1対、2)蚊取り線香3cm、3)蒸散型防虫用品(小型)処理、4)無処理の4処理区を設定し、5ヶ月間の幼虫発生状況の調査を行い、発生防止対策の有効性に関して検討を行った。

11) 戦前・戦後のマラリア流行地における蚊の発生状況調査

マラリア媒介蚊であるハマダラカの現在の分布に関しては、詳細な検討が行われておらず、当時どの種類が媒介に関与していたのか不明な点が多い。滋賀県琵琶湖の湖東地区と石川県河北潟において、8月上旬から10月中旬まで3週間おきに2晩連続で8回CDC型ライトトラップによる蚊の捕集を行った。トラップの設置は、3ヶ所の牛舎および12ヶ所の周辺環境で誘引源は1kgのドライアイスを用いた。捕集された蚊は形態的な分類を行ったが、ハマダラカの一部は確認のために分子分類を行った。

12) コロモジラミの生存条件および防除に関する研究

シラミ類が水中でどの程度生存出来るかなどの系統的な仕事がほとんどなされていない。25℃、20℃、15℃の水道水に一定時間コロモジラミを浸漬し、生存率を算出し

た。また、洗濯用洗剤中での浸漬を行い、洗剤が生存に与える影響を検討した。

13) アカイエカおよびヒトスジシマカの食塩水に対する殺虫および産卵抑制効果

幼虫浸漬試験を行い、1日後および3日後のIC₅₀を算出した。産卵抑制に関しては、飼育ケージ内に脱塩素水と種々の濃度の食塩水を併置し、産卵させた。

14) アタマジラミのピレスロイド系駆除剤抵抗性の調査

ピレスロイド系殺虫剤抵抗性アタマジラミには、ナトリウムチャンネル遺伝子の4重アミノ酸置換が共通に見いだされる。そこで、全国規模で収集したアタマジラミの407コロニーに関して、SNaPshot法による標的遺伝子のジェノタイピングを行った。シラミ検体は北海道、沖縄を含む29都道府県から送られてきた。

15) 蚊のウイルス感受性、およびデング熱媒介蚊調査

アカイエカは日本脳炎の第二の媒介蚊と考えられているが、詳細なウイルス感受性に関する検討がされていない。そこで、JEウイルスの4株を用いて、ウイルス力価としては、10⁵⁻⁶CFU/female mosquito または10⁴CFU/female mosquito になるようにウイルスが調整された。また、アカイエカ、チカイエカ、ヤマトヤブカにウイルスを胸部接種し、ウイルス感受性を比較した。

2008年7月のタイでのデング熱患者宅でネッタイシマカの調査を行い、二次患者発生阻止に関して戦略を検討した。

16) デング熱患者の尿および唾液中のデングウイルス遺伝子およびIgA抗体の検出

デング熱患者からの唾液や尿を用いた遺伝子診断は、採血が困難な患者の場合には有用であり、遺伝子の解析で血清型の検討も可能となる。そこで、輸入患者の61症例に関して、尿および唾液からデング熱ウイルス遺伝子の検出をPCR法で試みた。また、尿および唾液からIgA抗体の検出を試みた。

17) 日本脳炎ウイルスの病原性を規定する部位の同定

2002年以降国立感染症研究所ウイルス1部において分離した5株のウイルス株について、マウス病原性解析を行い、株間での病原性の違いを検討した。高病原性と低病原性の株の全塩基配列を決定し、異なるアミノ酸配列部分を明らかにした。その後、構築済みの感染性分子クローンを用いて2株との組換えキメラウイルスおよび点変異ウイルスを作製し、それらの病原性を解析した。

18) デングウイルス抗原全免疫マウスにおけるデング熱4価ワクチンの中和抗体誘導能の増強と交差免疫原性

蛋白ワクチンの混合投与によるDNAワクチンのドース低減が可能となるメカニズムを検討した。デング2型ウイルスで前免疫した後にデング4価ワクチンを接種したマウスに誘導される中和抗体価の測定を行った。また、この現象が異種ウイルスの血清型の免疫原に関しても認められるか検討した。

19) 東南アジア地域のハマダラカ属 *Leucosphyrus* グループに関する分子系統学的研究

ベトナム、インドネシアで採集されたマラリア媒介蚊の分類に関して、形態的分類が困難なグループが存在する。その内、*Leucosphyrus* グループに関して遺伝子による分類を試み、分子系統樹を作成した。

20) マラリア重症化の指標となるバイオマーカーの探索

マラリア重症化のバイオマーカーとして尿中肝臓型脂肪酸結合タンパク質(L-FABP)に着目し、ヒト型L-FABP(hL-FABP)遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを用いて、尿中のhL-FABPの消長を調べた。

21) マラリア重症患者の管理と東南アジアの三日熱マラリアの再発に対する疫学的検討

平成20年度はガイドライン改訂を、「マラリア予防専門家会議」を再編成し、実用面で予防内服の「実施基準」の項目に大幅な改訂を加え、ACT (Coartem[®] Novartis : artemether と lumefantrine の合剤) の有効性を評価した。東南アジアの貧困僻地でのマラリア対策の現状を調査し、三日熱マラリアの再発の問題に関して、現地での問題点を整理した。

C: 研究結果

①国内捕集コガタアカイエカからの日本脳炎ウイルスの検出と遺伝子解析

静岡、長崎、鹿児島県で捕集されたコガタアカイエカからは高率にJEVが分離された。プール陽性率は6.3~16.7%であった。

エンヴェローブ領域の遺伝子配列の解析から、これまで分離されたウイルスは全て1型に属し、近年、東アジア地域で分離された株と遺伝的に極めて近縁であった。また、3' 非翻訳領域の可変領域にいくつかの特徴的な配列欠損が認められた。2007年分離株はアミノ酸レベルで新たな変異が認められたが、2008年の分離株は2007年よりむしろ2006年以前の分離株に近縁である可能性が示唆された。

②東京都の公園でのコガタアカイエカの集団飛来と越冬

東京都立林試の森公園で捕獲されたコガタアカイエカの捕獲総数は雌 14,000、雄 2,800 個体であった。この公園は品川区と目黒区の境にある面積 12ha の公園で、周囲 15km 以内に水田などの幼虫発生源は存在しない。9月末と10月初旬の夜間のヒト罠法では、吸血に飛来する個体は全く観察されなかった。産卵を経験した経産雌率は4.4%で、140個体の卵母細胞の発育段階を調べた結果、86.4%は生殖休眠の状態であった。これらの結果から、捕獲された個体のほとんどは越冬世代であることが示された。2008年の1-4月にスウィーピング法とCDC型ライトトラップによる採集において、越冬から覚めたと思われるコガタアカイエカ10個体が捕獲された。しかし、公園内のどの場所で越冬しているか不明である。

③渡り鳥飛来地における疾病媒介蚊の調査および林内の吸血蚊の採集およびトリマリア原虫の検出

2008年5月から10月までに疾病媒介蚊の調査を行った結果、合計16種 4,941個

体が捕獲され、優占種はコガタアカイエカ(77%)であった。丘陵地帯で希少種のコガタキンイロヤブカ *Aedes bekkui* が2個体採集された。島根県平田市のサギ山および千葉県立野鳥の森での調査において、サギ山では17種類 287個体が捕集され、吸血蚊は10種 45個体であった。アカイエカ種群 20、フタクロホシチビカ 7、ヒトスジシマカ 4、ヤマダシマカ 3、アカツノフサカ 1、カツライエカ 3、ヤマトヤブカ 2、シナハマダラカ 1、ハマダライエカ 1、キンイロヤブカ 1個体であった。千葉県での吸血蚊はコガタクロウスカ 14、フタオビツノフサカ 7個体の2種類のみであった。吸血蚊が採集された環境は、樹木によって覆われ直射日光が差し込まない場所で、斜面に生息する樹木の根本の土が崩れてできた窪みや斜面にできた段差が崩れて形成された窪みの天井付近であった。

都内で採集されたヤマトクシヒゲカの吸血蚊の吸血源動物の分子同定では、87%が野鳥で、吸血原の種類としては、シジュウカラ、シラハラ、ハシブトガラス、スズメ、ヤブサメの5種であった。鳥マラリアはシジュウカラ、シラハラ、ハシブトガラスを吸血していた3個体から検出された。鳥マラリアの系統樹解析は、1系統は今までに報告されていないものであった。

④沖縄県および鹿児島県奄美大島における疾病媒介蚊の調査

沖縄本島6地域、伊平屋島、西表島、奄美大島で日本脳炎媒介蚊およびヤブ蚊類の調査を行った。奄美大島、伊平屋島では蚊の生息水域の81.8、70%に *Culex vishnui* subg.の蚊が生息していたが、*Cx. vishnui* の

生息は確認されなかった。西表島での *Cx. vishnui* の生息状況は、これまでの調査結果と同様に高頻度に生息していた。シマカの調査では、ヒトが生活している環境ではヒトスジシマカが、林内ではリバースシマカとダウンズシマカが採集されたが、ネッタシマカはいずれの地域でも採集されなかった。

⑤首都圏における媒介蚊の生息調査とヒトスジシマカの産卵習性

横浜市の都市部において、CDC ライトトラップを用いて成虫の捕集を行った。6ヶ所の調査で、6属10種（アカイエカ種群、コガタアカイエカ、トラフカクイカ、ヤマトクシヒゲカ、シナハマダラカ、キンバラナガハシカ、フタクロホシチビカ）が捕集された。アカイエカ種群の分類では、中区ではチカイエカが78.4%を占めたが、その他の地域ではアカイエカが優占であった。ヒトスジシマカの産卵習性の検討では、放飼した吸血個体が戸建て住宅の室内に置かれた小容器等に産卵することが確認された。

千葉、成田、東金市に設置したライトトラップによる蚊の捕集では、コガタアカイエカの発生消長が2006年には夏期にピークが、2007年には秋期にピークがあったが、2008年には全定点で夏秋の2ピークが現れる2峰性を示した。

⑥西宮市西宮浜における幼虫防除の効果判定

西宮浜は総面積2.59km²の人工島で、工場、高層住宅、一般住宅が存在している。この島全体に約7,000ヶ所以上の雨水マスが存在することが前年の調査で明らかにな

っている。昨年は、6月から9月にかけて3種類の昆虫発育制御剤(IGR)を4回全ての雨水マスに処理したが、その後の人工島でのトラップでの成虫捕集結果は、薬剤の効果があまり見られなかった。2008年は初夏のアカイエカ種群の発生ピークを抑える意味で、5~7月の各月の初旬に全ての雨水枡に昆虫発育制御剤(IGR)であるピリプロキシフェン0.5%含有の発泡錠剤または発泡粒剤を処理し、その後、毎週1回、人工島内および周辺地区でCDC型ライトトラップを用いて成虫の捕集を行い、防除効果の判定を行った。また、一部の処理雨水マスから滞留水を採取し、薬剤の残留効果を薬剤に暴露していない幼虫を用いて評価した。その結果、人工島内でのトラップでのアカイエカ種群の捕集数は、未処理の周辺地域より明らかに多い結果となった。また、採取された滞留水は、ある程度幼虫の発育を阻害しており、相当成虫の発生を抑えていることが予想された。これらの結果から、アカイエカ種群は、今までに考えられていた1~2km程度の飛翔範囲ではなく、相当広範囲に飛翔することが強く示唆され、ウエストナイル熱などの病原体が野鳥、蚊などから検出された場合、媒介蚊の防除範囲を相当広範囲に設定する必要があることが明らかになった。

⑦媒介蚊幼虫相の地域差の解析における地理情報システムの応用

2007年の西宮市の10地区における幼虫発生状況調査から、道路雨水枡の蚊幼虫相に地域差が認められていた。この違いが下水道の雨水・汚水の分流・合流形式による違いか検討したところ、幼虫が発生してい

る雨水枡の水質の影響が関係する可能性が示唆された。

⑧西宮市の公園におけるヒトスジシマカ発生密度と周辺環境の評価

市内の10地区より選ばれた20公園に関して、5月から10月の毎週1回各2ヶ所でヒトスジシマカの8分間スウィーピング法による成虫密度の評価を行った。公園によって、ほとんど蚊が捕集されない公園が見られた。また、同一公園によっても捕集地点の違いによって捕集数に相当の差が認められた。今回は6月～9月の4ヶ月間(15回)の捕集結果を基に、公園内の樹木数、公園面積、幼虫発生源からの距離、地表面の植生、灌木の存在、壁や塀などの遮蔽物の有無と平均捕集数との関係を解析した。樹木密度、公園の総面積、幼虫発生源からの距離とに相関が認められなかったが、遮蔽物の多少に若干の相関が認められた。これは、風通しが悪い場所に成虫が多く潜んでいることを示している。成虫が多く捕集される環境として、樹木による日陰が存在する、灌木が近くに存在する、遮蔽物が存在するなどが重要と考えられた。平均捕集数と最高捕集数とに相関が認められたが、8分間の最高捕集数が20個体を越える公園が2ヶ所存在し、平均捕集数も7～8個体と多かった。また、最高捕集数が10個体以上を示す公園も7公園存在し、平常時から媒介蚊の防除対策が強く望まれる。

⑨ジフルベンズロン製剤による雨水枡対策の検討

横浜市保土ヶ谷区内に薬剤処理区と対照区(未処理区)を設定し、雨水枡の幼虫調

査およびライトトラップによる成虫の捕集数を継続的に調査した。その結果、雨水枡中の幼虫・蛹平均個体数および成虫捕集数について、処理区と対照区とに差が認められ、薬剤処理の効果が確認された。

⑩富山県内の戸建て住宅内における蚊の発生防止策の検討

農村部の戸建て住宅の庭に水を入れたバケツ4個を1組として用意し1)ヒメダカ1対、2)蚊取り線香3cm、3)蒸散型防虫用品(小型)処理、4)無処理の4処理区を設定し、5ヶ月間の幼虫発生状況の調査を行い、発生防止対策の有効性に関して検討を行った。その結果、ヒメダカが入った容器には全く幼虫の発生は認められなかったが、蚊取り線香の容器ではヒトスジシマカが1回、防虫用品の容器ではアカイエカとヒトスジシマカが各1回の発生が認められた。未処理の容器では5ヶ月間にアカイエカ、ヤマトヤブカ、ヒトスジシマカなどが多数発生した。

⑪戦前・戦後のマラリア流行地における蚊の発生状況調査

我が国におけるハマダラカの現在の分布に関して、詳細な検討が行われていない。明治、大正年間のマラリア流行地として有名な県である滋賀県の琵琶湖の湖東地区において、トラップによる蚊の捕集を試みた。その結果、3ヶ所の牛舎では233,604個体の蚊が捕集され、93.7%がコガタアカイエカ、6.2%がシナハマダラカであった。CDC型ライトトラップでの捕集では7,888個体が捕集され、92.9%がコガタアカイエカ、1.6%がシナハマダラカであった。形態学的に

オオツルハマダラカと同定された個体に関して、分子分類を行った結果、全てがシナハマダラカと同定された。琵琶湖周辺には、未だに当時の環境が保たれていると考えられる内湖が存在し、アシが茂っている。当時のマラリア媒介蚊がどの種かは明らかではないが、今回の結果および過去の調査結果から判断して、当時の琵琶湖周辺でのマラリア媒介蚊はシナハマダラカの可能性が示唆された。

⑫コロモジラミの生存条件および防除に関する研究

シラミ類が水中でどの程度生存出来るかなどの系統的な仕事がほとんどなされていない。各温度の水道水や洗濯洗剤中に一定時間コロモジラミを浸漬し、生存率を算出した。その結果、25℃の水道水で20時間浸漬するとほぼ100%の致死率を示したが、20℃では若干、15℃では全てが生存した。洗濯洗剤水中では20時間でほぼ100%が死亡したが、6時間ではほとんど死ななかった。浸漬後の回収時点では、水道水および洗濯洗剤水でもシラミに全く活動が認められないが、数分から数時間内に歩行が回復するのが観察された。

⑬アカイエカおよびヒトスジシマカの食塩水に対する殺虫および産卵抑制効果

幼虫が食塩水中でどの程度生存出来るか検討し、浸漬後1日後および3日後のIC₅₀を算出した。その結果、両種ともIC₅₀は1.25%(W/V)で、3日後は1.0%であった。0.75%の食塩水では幼虫に対する致死効果が認められなかった。

⑭アタマジラミのピレスロイド系駆除剤抵抗性の調査

ピレスロイド系殺虫剤抵抗性アタマジラミには、ナトリウムチャンネル遺伝子の4重アミノ酸置換が共通に見いだされる。そこで、全国規模で収集したアタマジラミの407コロニーに関して、SNaPshot法による標的遺伝子のジェノタイプングを行った。その結果、2006年の抵抗性遺伝子の保有頻度は4.8%(n=42)、2007年は6.2%(n=178)、2008年は11.2%(n=187)で、抵抗性遺伝子を保有していたアタマジラミのコロニーが明らかに増加傾向を示した。抵抗性遺伝子を保有していたアタマジラミの5ケースに関して、保護者へ駆除の経過を聴取したところ、いずれも使用書通りに駆除剤が使われていることが明らかとなった。

⑮蚊のウイルス感受性、およびデング熱媒介蚊調査

アカイエカの日本脳炎ウイルス感受性に関する検討を行った。JEウイルスの4株を用いて、ウイルス力価としては、 10^{5-6} CFU/female mosquito または 10^4 CFU/female mosquito になるようにウイルスが調整された。また、アカイエカ、チカイエカ、ヤマトヤブカにウイルスを胸部接種し、ウイルス感受性を比較した。その結果、ウイルス4株は同程度のウイルス増殖性を示したが、力価の低いウイルス液を経口摂食させた場合には、蚊の個体間、ウイルスの株間で増殖に差が認められた。胸部注射では、アカイエカでのウイルスの増殖能が高く、チカイエカ、ヤマトヤブカの順で親和性の低下が認められた。

2006~2008年タイのデング熱患者宅での

ネットイシマカの調査において、患者宅内および周辺家屋内での感染ネットイシマカの存在が確認され、二次患者発生阻止に関して、早期の感染蚊の検出と防除対策が重要であることが強く示唆された。

⑯ Dengue 熱患者の尿および唾液中の Dengue ウイルス遺伝子および IgA 抗体の検出

Dengue 熱の輸入患者の 61 症例に関して、尿および唾液から Dengue 熱ウイルス遺伝子の検出を PCR 法で試みた。その結果、27 症例の尿、5 症例の唾液から Dengue 熱ウイルスの遺伝子を検出し、8 症例に関して遺伝子解析にも成功した。尿からの遺伝子検出は、抗体が上昇し、ウイルスが血中が消失した後も検出できることが確認された。ウイルス型別の特定が可能であることから実験室診断上有用であることが示された。また、尿・唾液からの IgA 抗体の検出に関して、尿および唾液から Dengue 熱ウイルス特異的な IgA 抗体が検出されることが明らかとなった。今後、症例数を増やして検出感度等の問題の検討が必要である。

⑰ 日本脳炎ウイルスの病原性を規定する部位の同定

日本脳炎ウイルス 5 株について、マウス病原性解析を行い、株間での病原性の違いを検討した。高病原性と低病原性の株間の異なるアミノ酸配列部分を明らかにし、感染性分子クローンをを用いて 2 株との組換えキメラウイルスおよび点変異ウイルスを作製し、それらの病原性を解析した。その結果、両株間において、異なるアミノ酸配列は 7 ヶ所、異なる非翻訳領域内の塩基が 6 ヶ所認められた。どの部位が病原性に関係

するか検討した結果、コア蛋白質 1 ヶ所、NS4A 蛋白質 1 ヶ所のアミノ酸置換がマウスでの病原性に寄与することが明らかとなった。

⑱ Dengue ウイルス抗原全免疫マウスにおける Dengue 熱 4 価ワクチンの中和抗体誘導能の増強と交差免疫原性

蛋白ワクチンの混合投与による DNA ワクチンのドース低減が可能となるメカニズムを検討した。Dengue 2 型ウイルスで前免疫した後に Dengue 4 価ワクチンを接種したマウスに誘導される中和抗体価の測定を行った。

Dengue 2 型抗原で前免疫した後に 4 価 DNA ワクチンを接種したマウスに誘導される中和抗体価は前免疫しない場合より高く、その現象は同種のみならず異種のウイルス型 (1, 3, 4 型) の免疫原に対しても認められた。この上昇は中和試験の交差反応のレベルを有意に超えており、交差免疫原生と考えられた。交差免疫原生は 4 価 DNA ワクチン投与の後に、あるいは同時に Dengue 2 型抗原で免疫した場合にも認められた。頻繁に自然暴露を受ける流行地では、Dengue 4 価ワクチンはより効果的になるため、さらなるドース低減が可能と考えられる。

⑲ 東南アジア地域のハマダラカ属 *Leucosphyrus* グループに関する分子系統学的研究

ベトナム、インドネシアで採集されたマラリア媒介蚊の分類に関して、形態的分類が困難なグループが存在し、マラリア対策の主要な媒介蚊の特定が困難な場合が存在

する。その内、*Leucosphyrus* グループに関して遺伝子による分類を試み、分子系統樹を作成した。その結果、2つの新種の存在が示唆された。1種はインドシナ各国の森林域の主要媒介蚊である *Dirus* 種群に酷似しており、もう1種はインドネシアからフィリピンにかけての主要媒介蚊に類似していた。

②マラリア重症化の指標となるバイオマーカーの探索

マラリア重症化のバイオマーカーとして尿中肝臓型脂肪酸結合タンパク質(L-FABP)に着目し、ヒト型 L-FABP(hL-FABP)遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを用いて、尿中の hL-FABP の消長を調べた。hL-FABP 遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを用い、マラリア感染の進行に伴い尿中 hL-FABP 量が増加することを示し、回復に伴い尿中 hL-FABP 量が減少することを示した。これらの結果から新たな重症マラリアの治療法の開発、治療の判定および患者管理に貢献することが期待される。

②1 マラリア重症患者の管理と東南アジアの三日熱マラリアの再発に対する疫学的検討

平成 20 年度はガイドライン改訂を、「マラリア予防専門家会議」を再編成し、実用面で予防内服の「実施基準」の項目に大幅な改訂を加えた。ACT (Coartem[®] Novartis : artemether と lumefantrine の合剤)の有効性に関する臨床研究を行った。輸入マラリア患者の臨床管理に関する研究を行った。東南アジアのマラリア対策に関して、貧困僻地でのマラリア対策の現状を調査し、三日熱マラリアの再発の問題に関して、現

地での問題点を整理した。現地での医療機関や国内の医療機関での治療体制を整備する必要性が示唆された。

D: 考察

マラリア、フィラリア症、デング熱、発疹チフスなど節足動物が媒介する感染症の流行は戦後の急激な復興に伴う衛生状態の改善、有効な殺虫剤の普及、経済成長に伴う家屋構造の変化など種々の要因で患者発生数は激減し、上記の感染症は国内感染が認められなくなった。しかし、日本脳炎(JE)は現在でも西日本を中心にウイルスが活発に活動しており、ブタの抗体が高率に検出されている。1990年代から日本脳炎の患者数が減少しており、ワクチン接種、コガタアカイエカの個体数の減少、養豚場の郊外への移転、蚊に刺されにくい家屋構造など、種々の要因が関係していると考えられている。一方、マラリアは依然としてアフリカ大陸、インド、中近東、東南アジア、中国で多数の患者が発生しており、毎年、80-100万人ほどの乳幼児の死亡の原因となっている。しかし、東南アジアでは熱帯熱マラリアの患者数が減少しており、今後の問題としては、三日熱マラリアにシフトする可能性がある。デング熱は数年おきに世界規模で大きな流行が起こっており、熱帯・亜熱帯地域で重要な蚊媒介性感染症である。2008年の輸入症例は戦後始めて100症例を超した。また、2005~2006年にかけて、インド洋島嶼国(モーリシャス、レユニオン、セーシェル、マヨット、コモロ)、インド、スリランカ等で主にヒトスジシマカが媒介するチクングニヤ熱の大きな流行が起こった。2007年には、北東イタリアの小さな村

でチクングニヤ熱の 300 人規模の流行が起こり、温帯地域での初めての流行となった。イタリアでの媒介蚊は米国から輸入されたヒトスジシマカである。

1999 年に米国のニューヨークで突然流行したウエストナイル熱は、毎年 3・4 千人の患者が発生している。ウエストナイルウイルス(WNV)が万が一我が国に侵入した場合には、ウイルスの増幅動物としての多種類の野鳥やウイルスを伝播する能力のあるアカイエカ種群の蚊が都市部を中心に多数生息することを考えると、相当広範囲に流行が起こる可能性が予想される。兵庫県西宮市における媒介蚊の発生状況調査では、公園、公共施設、道路、一戸建住宅、集合住宅等の敷地内に存在する雨水枡が媒介蚊の重要な発生源となっていることが明らかとなった。一方、西宮市の人工島である西宮浜において、雨水枡 7 千ヶ所以上に昆虫発育制御剤(IGR)を処理し、防除効果をトラップで評価した。2 年間ほぼ同様の調査を行ったが、人工島内でのトラップのアカイエカ捕集数に顕著な減少が認められず、島の周辺から相当広範にアカイエカが飛来してくることが強く示唆された。防除対象地域の選定を行う上で重要な情報が得られたと考えている。

日本各地で採集されたコガタアカイエカから JEV の分離を積極的に行い、分離されたウイルス分離株における遺伝子解析を行っている。長崎県では 3 年間連続して同じ豚舎周辺での捕集蚊から JEV が分離され、その遺伝子構造解析を進めている。2007 年には分離株間のアミノ酸レベルの違いが認められていたが、2008 年には 2006 年に分離されたウイルスと類似した配列が認めら

れ、毎年新たなウイルスがどこからか侵入してくるのか、どこかに定着しているウイルスが各年の流行に一部関わるのか不明である。今後の詳細な解析を待ちたい。基本的に今までに分離された株の遺伝子型は全て Genotype 1 に属するもので、東南アジアでの分離株と類似性が高い。しかし、我が国で何らかの野生動物体内でウイルスが越冬している可能性も否定できないのが現状である。

DNA ワクチンの開発で中和抗体の誘導を積極的に促す接種法とドースの低減化が求められている。より安価なワクチン開発を目指すために、DNA ワクチンに従来のタンパク質ワクチンを混合して接種する方法の検討を行い、従来の DNA ワクチン投与量の 1/10~1/100 程度の量で中和抗体を誘導できることが明らかとなった。デング 2 型抗原で前免疫した後に 4 価 DNA ワクチンを接種したマウスに誘導される中和抗体価は前免疫しない場合より高く、その現象は同種のみならず異種のウイルス型(1, 3, 4 型)の免疫原に対しても認められた。この上昇は中和試験の交差反応のレベルを有意に超えており、交差免疫原生と考えられた。デング熱の診断法は、急性期の血液からのウイルスの分離、遺伝子の検出が困難なことが多く、抗体による血清診断によることが多い。そこで、患者の尿および唾液からの特異的抗体やウイルス遺伝子の検出ができれば、患者に苦痛を与えずに診断が可能となる。輸入デング熱患者の検体を入手して検討を行った結果、患者の一部の唾液および尿からウイルス遺伝子の検出に成功し、一部遺伝子解析が可能であった。また、尿から IgA 抗体を検出することに成功

し、発症後早期に IgA 抗体が検出される症例も認められた。

重症マラリアの治療に関する問題点を解決する目的で、「マラリア予防ガイドライン」の評価研究を行い、同ガイドラインの改定を行った。ATV (Artemisin combination therapy)の臨床評価をマヒドン大学および国立国際医療センターで行い、有効な治療結果が得られている。脳性マラリア等重症マラリアの発症機序の解明および重症化の指標となるバイオマーカーの探索を L-FABP の尿中への排出に着目して行っており、重症化の予測に臨床応用することを目指している。

2006年度に10都道府県で収集した54のアタマジラミコロニーのうち4コロニー(7%)から、四重アミノ酸置換変異をもつSC抵抗性遺伝子を保有していたことが確認された。その後、抵抗性遺伝子を保有するアタマジラミが増加しており、2008年には11%を超すコロニーから検出された。この結果から、抵抗性をもたらすナトリウムチャンネル遺伝子は全都道府県に広がっている可能性が想像される。四重アミノ酸置換変異をもつ抵抗性遺伝子は、日本のみならず、米国と英国でも共通に見出されている。これら4つの変異が独立に生じる可能性はほぼないと考えてよい。また、米国と英国においては日本以上にピレスロイド抵抗性の拡がり深刻である。これらを考えあわせると、海外で生じた抵抗性遺伝子が遅れて我が国に移入されて来たと考えられ、わが国では、幸いにも低い抵抗性の出現率に留まっているとみなされる。

地球規模での温暖化傾向が今後進んだ場合、我が国でも節足動物媒介性感染症の突

発的な流行の可能性は否定できない。我が国の媒介蚊の調査および防除対策は平時から行うことが重要と考えられる。また、デング熱、チクングニヤ熱、マラリアなどの輸入感染症の症例が増加した場合、臨床医および研究機関による迅速な診断が強く望まれる。本研究事業において、媒介蚊、ウイルス、マラリアの研究が多角的に進行し、媒介蚊の調査、防除、患者の診断、治療が円滑に行われることが強く望まれる。

E: 結論

1) 都市部での媒介蚊幼虫に関して、兵庫県西宮市で大規模かつ詳細に調査を行った。市内の10地区にある雨水枡を中心に幼虫の発生状況を調査し、下水システムとの関係に関して、分流式と合流式における発生蚊の種類の違い等を検討した。また、10地区内の各2ヶ所の公園で行ったヒトスジシマカの8分間捕集に関して、公園の環境と捕集数にある種との関係があること、8分間で20個体を超す数が捕集される公園が存在すること、15週の平均捕集数が2匹以上の公園が相当存在することなどが明らかとなり、チクングニヤ熱の突発した流行を考えると、平時からの幼虫防除対策が重要であることが強く示唆された。

2) コガタアカイエカのJEV保有状況は非常に高い陽性率を示す地域が確認されており、約3年間にわたって同じ地域の蚊からJEVの分離に成功した。分離株は全て1型に属し、近年東南アジア地域で分離された株と遺伝的に極めて近縁である。遺伝子解析において、2007年に九州地方の複数の豚舎から分離されたJEVのアミノ酸レベル

での変位がエンベロープ領域に確認されたが、翌年には 2006 年の配列に戻っていた。これらの原因に関しては、今のところ全く分かっていない。

3) ウエストナイル DNA ワクチンと日本脳炎 DNA ワクチンを用いて、低ドーズにおける中和抗体誘導能を調べた結果、市販のウエストナイル不活化ワクチンの 1/10 ドーズを混合することによって 1 回の接種でマウスに中和抗体を誘導した。この方法は日本脳炎にも応用可能で、DNA ワクチンの低減化と低コスト化が可能となった。

4) アカイエカにウイルス力価の高い日本脳炎ウイルス液 (4 株) を摂食した場合、アカイエカ体内のウイルス増殖に差は認められなかったが、力価の低いウイルス液を摂食した場合には、ウイルスの増殖に個体間の差が見られ、株間にも差が認められた。我が国においては、コガタアカイエカが日本脳炎の主要な媒介蚊であるが、自然界でその他の蚊がどのような役割を果たしているかが明らかとなっていない。ウエストナイルウイルスと同様に、アカイエカ体内で日本脳炎ウイルスが越冬しているのではないかとこの憶測も存在しており、より詳細な検討が必要である。

5) 日本脳炎ウイルス(JEV)の病原性に関する遺伝子の特定が試みられた。高病原性と低病原性の株間において、異なるアミノ酸配列は 7ヶ所、異なる非翻訳領域内の塩基は 6ヶ所認められた。どの部位が病原性に関係するか検討した結果、コア蛋白質 1ヶ所、NS4A 蛋白質 1ヶ所のアミノ酸置換がマウスでの病原性に寄与することが明らかとなった。

6) 日本人デング患者より血清、尿および唾液を経日的に採取し、ウイルス遺伝子検出、および IgA, IgM 抗体産生を解析した。血清からウイルス遺伝子が検出できた症例は 19 症例で検出率は、57.6%であった。

尿中からデングウイルス遺伝子を検出した上記 12 症例の腎機能には特に異常を認めなかった。また、尿検体からのウイルスは分離されなかったが、尿中デングウイルス遺伝子の解析にいたった症例 5 例のウイルス型別は、1 型 2 例、2 型 1 例、3 型 1 例、4 型 1 例であった。また、尿および唾液から IgA 抗体の検出され、8 症例の尿の 4 症例から IgA 抗体が検出され、4 症例の唾液の内 2 症例から陽性が得られた。

7) 重症マラリアの発症機序の解明および重症化の指標となるバイオマーカーの探索において、hL-FABP Tg マウスにおける尿中 hL-FABP 量は感染の進行に伴い増加し、接種 5 日目で 187ng/ml、接種 7 日目では 631ng/ml に達した。感染の進行に伴い尿中への hL-FABP の排出が著しく亢進した。これらのバイオマーカーを重症マラリアの発症機序の解明および重症化の予測に利用する方法を今後検討することが重要である。

8) マラリア流行地域に滞在し、予防内服の「絶対的適応」に当てはまるケースを啓発することは重要である。3 項目としては 1) 熱帯熱マラリアの高度流行地域に滞在する。2) 旅行期間が 7 日以上である。3) マラリア発症時に適切な医療対応が期待できないが当てはまる。マラリアの治療に関して、国内の医療機関における治療法の標