

エノタイプに関わらず高率に増殖したが、イノシシ由来の1型株 (JaNBo) の増殖能は両株に比べて低かった。蚊の体内における JEV の越冬温度・日長条件を想定し、ウイルス経口摂取後の蚊を異なる飼育条件下で最長4カ月間維持した結果、コガタアカイエカでは20℃に1ヶ月間維持した後1頭当たり50,000コ^レ数のウイルス量を得られ、さらにその3ヶ月後でも120,000コ^レ数/頭が検出された。コガタアカイエカが10℃の低温を1ヶ月経験しても、JEVは4ヶ月間蚊の体内で維持され、さらに後半の高温(28℃)条件による維持によってウイルス量が増加したことが示唆された。一方、いずれの条件下でもアカイエカにおける JEV の増殖は認められなかった。国内に分布する JEV は、海外から飛来する株と国内に定着している株とが混在すると考えられている。国内定着株の存在を考えた場合、アカイエカが関与する可能性のある地域と、コガタアカイエカが関与する地域は異なると思われるべきであろう。それぞれの蚊の生理・生態学的な特徴をさらに詳細に検討する必要がある。

A. 研究目的

地球温暖化に伴い媒介蚊の分布域の拡大、蚊個体群密度の上昇、短時間での病原体の増殖、病原体の増殖能の変化など種々の影響が考えられる。

イナトミシオカ、*Culex inatomi*、は1968年に岡山県倉敷市の干拓地で初めて採集され、当初はユーラシア大陸に分布する *Cx. modestus* の亜種として記載されたが現在は種として扱われている。イナトミシオカも実験的にはこれらウイルスに感受性であることが示唆されている。

イナトミシオカの採集記録は1968年以降30年間報告されず、1999年に関西国際空港で再発見された。その後の関西地方での調査によって大阪南港野鳥園、神戸ポートアイランドなどで生息が確認されている。さらに新興・再興感染症研究事業の一環として実施した東京湾沿岸の渡り鳥飛来地の疾病媒介蚊調査(2006年)および新潟県佐潟、青森県十三湖の疾病媒介蚊調査(2007年)によって東日本で

初めて本種の生息が確認された。海外では、韓国で1975年にソウル周辺で本種が採集され、1997年には東部海岸の湿地帯で大量発生して問題になったことがある。

東京港野鳥公園で2006年に採集されたイナトミシオカの吸血蚊3個体の未消化血液からは、人(2)とツバメ(1)のDNAが検出されている。イナトミシオカと野鳥や人との接触がどの程度起きているかを明らかにすることは、本種の媒介蚊としての重要性を評価する上で非常に重要な課題である。本研究は種々の飼育温度でイナトミシオカの幼虫の発育を調べ、有効積算温度則を適用して発育速度と飼育温度の関係を分析し、得られた結果に基づきイナトミシオカの分布北限や活動期間の予測を行った。

コガタアカイエカは、日本を含むアジア全域で、日本脳炎ウイルス(JEV)の主要な媒介蚊とされている。しかし、近年、国内においてコガタアカイエカの活動時期や生息場所以外での患者の発生も報告され、特

に冬季においてコガタアカイエカ以外の節足動物が関与する感染環の存在も指摘されている。しかし、近年の JEV 分離株に見られるウイルス遺伝子の変異、日本脳炎の流行時期や場所の変化、症例数の減少等、このような変化とコガタアカイエカ以外の蚊種ならびに蚊以外の節足動物における JEV 感受性との関係はよく分かっていない。

温帯地域に生息するイエカ類には、一種の休眠現象と考えられる吸血抑制が短日条件下で発現することが知られている。JEV が蚊体内で越冬するためには、この現象が起こる前に蚊がウイルスを取り込み越冬しなければならない。これまでの我々の研究で、長日である夏季に羽化したアカイエカが長期間生存し、実験的には越冬が可能であることが確認されている。一方、コガタアカイエカの寿命はアカイエカよりも短く、国内で越冬できる地域は限局され、その確率は非常に低いと結論された。このように、アカイエカの生理・生態的特徴はむしろ JEV の越冬に適していると考えられるが、JEV の体内での増殖を正確に評価した研究は少ない。JEV のコガタアカイエカ体内での越冬の可能性についてはこれまでに多くの議論がなされ、その可能性はほとんどないと結論された(小田ら, 1978)。つまり、短日下で羽化したコガタアカイエカ雌の吸血と産卵は抑制され、秋に JEV を取り込み越冬する雌蚊の数は極めて少ないと考えられたからである。本研究では、JEV の主要な媒介蚊であるコガタアカイエカに加え、室内感染実験から JEV 媒介能があると報告されたアカイエカおよびチカイエカ (Turell *et al.*, 2006a, b) の耐低温性と吸血抑制(以下、便宜上休眠と

称する)の特徴から、イエカ体内での JEV の越冬の可能性を検討し、コガタアカイエカおよびアカイエカに焦点を絞り、それら蚊体内において JEV の増殖を正確に評価するために実験を行った。た。

B. 研究方法

1) 異なる飼育温度(18, 20, 23, 25, 27, 29°C)を設定し、幼虫の発育温度を調査した。それぞれの設定飼育温度条件下で孵化後 24 時間以内の幼虫 50 個体を 200ml の飼育水で飼育した。飼育水の塩分濃度は 0.5%、日長条件は明:暗=12:12 として実験を行った。各温度区は 2 回の繰り返しを行い、幼虫・蛹期の生存率、羽化率、成長速度を求めた。野外での観察や他の実験結果から、日最高気温が 18°C 以上の日を活動可能日として選んだ。

2) 休眠発現の臨界日長を調べるために、孵化後 2 日目の 1 齢幼虫を 4 つの異なる飼育条件 (25°C, 16L:9D; 20°C, 11L:13D; 15°C, 11L:13D; 10°C, 10L:14D) 下で飼育し、羽化 7-10 日後の成虫飼育ケージにマウスを一晩入れ吸血を促した。吸血した雌成虫は個別に飼育し産卵率を求めた。次いで、高温・長日(25°C, 16L:9D)の条件下で羽化した成虫を上述した 4 つの異なる飼育条件下で飼育し、生存日数を調べた。東京都内の 2 箇所(新宿区および品川区)において、それぞれアカイエカおよびコガタアカイエカを毎月 sweeping 採集し、それらの脂質含量を測定した。埼玉県下で見出された越冬中のアカイエカに対しては、脂質含量に加え、脂肪酸組成を解析した(沢辺ら, 2008)。

3) ウイルスの感染実験に用いたイエカ

類は、2008年出雲市捕集のコガタアカイエカ、および同年、東京都新宿区で捕集されたアカイエカであり、いずれも捕集後は25℃長日条件の飼育室内で継代維持した集団である。

蚊への経口感染実験に用いた JEV は、2005年長崎県で捕集された蚊から分離された1型Nasgasaki37株、1959年に群馬県で捕集されたコガタアカイエカから分離され、その後培養細胞系で継代維持されてきた3型JaGAR01株、および2008年西宮市内で捕獲されたイノシシ血液から分離された1型JaNBo株の3株である。蚊への感染には人工膜吸血装置を用い、Nasgasaki37およびJaNBoは 10^6 コピ-/mlを、JaGAR01は 5×10^6 コピ-/mlをそれぞれウサギ脱繊維血液と混合し経口摂取させた。

ウイルスの定量は、定量RT-PCR法によりJEV遺伝子のコピー数を算出した。

C. 研究結果

1) イナトミシオカの生態的研究

幼虫・蛹の発育零点は雌8.75℃、雄9.51℃であった。有効積算温日度は雌が270日度、雄が208日度であった。日最高気温が18℃以上を活動可能日として活動可能期間、年間世代数を推定したところ、釧路では活動期間が76日、世代数は1.75世代であった。青森ではそれぞれ146日、3.88世代、新潟では183日、6.33世代となり、東京では208日度、7.74世代と推定された。

2) 休眠生理

20℃下での休眠を誘導する臨界日長(50%の個体の吸血あるいは産卵が阻害される日長)を調べた結果、アカイエカ

は12.5時間、コガタアカイエカは13.8時間よりも短い日長で孵化した幼虫の羽化後の雌成虫はその吸血が抑制された。一方、チカイエカは短日下でも吸血や産卵が阻害されることはなく、休眠は誘導されなかった。先に算出した臨界日長(12.5時間および13.8時間)を東京における月平均日長時間に当てはめると、前者は9月下旬、後者は8月下旬頃と推定される。これより遅い時期に孵化したアカイエカおよびコガタアカイエカの羽化成虫は、その吸血と産卵が阻害されると考えられる。羽化後の成虫を4つの条件下で飼育した結果、アカイエカは他の2種に比べ最も寿命が長く、特に15℃短日条件下では平均155.5日(最長で282日)生存した。また、5℃前後の非常に低い温度条件下では、アカイエカの50%生存率は80日を超えられるのに対し、コガタアカイエカは22日であり、アカイエカは有意に長命であった。夏季に羽化したアカイエカが越冬する可能性が高いことが示唆された。

野外捕集のアカイエカおよびコガタアカイエカの脂質含量を測定した結果、両種ともに晩秋から冬季に向かい脂肪を蓄積する傾向が認められた。脂肪酸組成の解析から、越冬中のアカイエカのパルミトオレイン酸含量は50%と顕著に高かった。

3) 日本脳炎ウイルスの感染実験

コガタアカイエカにおいては、感染22日以降の唾液腺($10,000 < \text{コピ-} / \text{組織}$)、中腸($5,000 \sim 10,000$)、その他の部位($1,000 \sim 5,000$)のいずれにおいてもJEVの強い増殖が認められた。一方、アカイエカにおい

ては JEV の増殖は認められなかった。

JEV 変異株の蚊唾液腺における増殖性を比較した。コガタアカイエカ体内での JEV の増殖はウイルス株によって異なり、Nagasaki37、JaGAR01 に対しては高い増殖性が見られたが、イノシシ由来株 (JaNBo) での増殖性は低かった。また、アカイエカでは、いずれのウイルス株の増殖も認められなかった。

次いで、蚊の体内における JEV の越冬温度・日長条件を想定し、ウイルス経口摂取後の蚊を異なる飼育条件下で最長 4 カ月間維持し、ウイルス量を定量した。ウイルス摂取後、コガタアカイエカを 28°C 長日で約 2 週間飼育し、その後 20°C 短日、10°C 短日、20°C 長日にそれぞれ 1 ヶ月、最後に 28°C で 1 ヶ月飼育した (図 3)。20°C 短日に 1 ヶ月維持した後の JEV の t₊ 数は 50,000/頭であった。さらに、その 3 ヶ月後の個体からは 120,000 コピー/頭以上のウイルス量が検出され、約 4 ヶ月間で JEV はコガタアカイエカ体内で増殖したことが示唆された。一方、アカイエカをコガタアカイエカ同様にウイルス摂取後約 4 ヶ月維持した結果、20°C 短日条件下で 1 ヶ月飼育した後、わずかに遺伝子が検出されたが (<100)、それ以外は、いずれの時期でも JEV は増殖しなかった。

アカイエカにおいては、ウイルス摂取後 28°C の飼育期間中にかなりの個体が死亡し、生存率が非常に低下した (データは省略)。そこで、ウイルス摂取直後から 20°C 短日下に維持し、JEV 量の変動を観察した。アカイエカの生存率は上昇したが、2 ヶ月後および 4 ヶ月後の感染蚊のいずれからも JEV は検出されず、アカイエカにおいてウイル

スの増殖は認められなかった。

D. 考察

1) イナトミシオカの生態的研究

イナトミシオカの活動可能期間は、釧路地方の 7 月 1 日から 9 月 25 日とかなり短期間に限られることが分かった。短期間の活動と低い生息密度の結果として、野鳥から吸血する個体は少ないことが予想される。一方、新潟や東京では活動期間がそれぞれ 183, 208 日と長く、春から晩秋まで活動できると思われ、年間 6 世代の後半ではかなり個体密度が高くなると予想される。イナトミシオカの活動可能期間に湿地帯で見られる野鳥はシギ類、チドリ類、カイツブリ、アオサギ、コアジサシ、オオヨシキリなど以外に多数の留鳥も観察されていることから、野鳥に感染・増殖するウイルスや血液原虫類との関係の解析も興味ある問題である。

2) コガタアカイエカおよびアカイエカにおける休眠誘導の臨界日長は、野外捕集蚊を用いたこれら先人の観察結果とほぼ一致しており、我々も同様に、コガタアカイエカが国内で越冬できる地域は限局され、さらに、JEV を取り込んで越冬する確率は非常に低いと考えた。一方、冬季のアカイエカは、パルミトオレイン酸 (融点が -0.5°C ~ +0.5°C と非常に低い脂肪酸) の蓄積によって、低温下でも長期間の生存が可能である。また、休眠に入る前に羽化したアカイエカ雌の低温下での生存日数は 9 か月以上を超えることを室内実験で確認し、夏季に羽化した個体が越冬する可能性は高いと推察された。このようなアカイエカの生理・生態

的特徴はむしろ JEV の越冬に適していることを支持しており、冬季のコガタアカイエカ以外の JEV の感染環に大きく関与すると思われる。

休眠の誘導と覚醒を再現した室内実験において、低温・短日を経験させたアカイエカ雌が 8 か月以上も生存し、覚醒後にその半数が吸血した。今後はこの結果をもとに、JEV 感染蚊に人工的に休眠誘導と覚醒を経験させ、蚊体内でのウイルスの増減、あるいは動態を調査し、JEV の越冬に言及したい。

3) これまでの研究で、コガタアカイエカが日本国内で越冬できる地域は限局され、JEV の越冬に関与する可能性は低いと考えられ、アカイエカの生理・生態的特徴はむしろ JEV の越冬に適していることが示唆された。特にアカイエカでは、夏季に羽化し、吸血した雌成虫が国内で越冬することが可能であり、コガタアカイエカ以外の冬季のウイルス感染環に大きく関与することが示唆された。そこで、この 2 種イエカにおける JEV の増殖性を比較・評価した。

日本を含む東南アジア全域で JEV の主要な媒介種として知られているコガタアカイエカにおいては、特に Nagasaki37 株、JaGAR 株の高い増殖が蚊唾腺で確認されたが、アカイエカにおいてはいずれのウイルス株の増殖も認められなかった。コガタアカイエカにおいては、JEV1 型、3 型のジェノタイプに関わらず高い増殖性が認められたが、イノシシ由来の 1 型株 (JaNBo) の増殖は両種に比べて低かった。本株はイノシシ由来株であり、これまでに蚊が係わる感染環と異なる増殖で維持されていた可能性があり、その結果、蚊での増殖能が低かったのでは

ないかと考えられた。今後、同じ 1 型ではあるが増殖能の異なる両株の蚊に対する親和性を様々な角度から調査する必要がある。

アカイエカの JEV 感受性は、韓国で捕集された系統を用いた経口感染実験から、コガタアカイエカほどではないものの、アカイエカにおいても JEV 感受性があることが指摘された (Turell *et al.* 2006)。また、Kumanomido *et al.* (1986) が実施した国内調査においても、アカイエカから JEV が分離されており (宮崎県 25 プール中 1 プールから分離、茨城県 72 プール中 1 プールから分離)、国内のアカイエカが JEV を媒介する可能性も示唆されている。しかし、本実験結果は、過去のいずれとも異なっており、我々が用いたアカイエカが東京都内で捕集された集団であったことから、結果の違いがもたらされたとも考えられる。今後は、他の地域で捕集される蚊集団においても同様に JEV の増殖能を評価することを検討したい。

蚊の体内における JEV の越冬温度・日長条件を想定し、ウイルス経口摂取後の蚊を異なる飼育条件下で最長 4 カ月間維持した結果、コガタアカイエカでは 20°C に 1 ヶ月間維持した後 1 頭当たり 50,000 コピー数のウイルス量が得られ、さらにその 3 ヶ月後でも 120,000 コピー数/頭が検出された。本結果から、コガタアカイエカが 10°C の低温を 1 ヶ月経験しても、合計して 4 ヶ月の間 JEV が蚊の体内で維持され、さらに 4 ヶ月後の値が高かったことが明らかになった。様々な温度・日長条件下にそれぞれ 50 頭を供試し、その生存日数を比較した実験から、すべての設定条件下でコガタアカイエカの生存日数はアカイエカには劣ったが、例えば

10℃あるいは15℃下（いずれも短日条件）で、最長170日以上生存する個体が確認されている（データは省略）。ある地域の野外集団の約2%（1/50頭）が6ヶ月弱生存可能であるとすれば、実験室で設定した温度条件を満たす地域を逆に推定することで、JEVの越冬地、あるいは次の年の流行開始地域の特定に繋がるかもしれない。

近年、国内において分離されるJEVは、海外から飛来するウイルス株と国内に定着しているウイルス株とが混在し、年によってその傾向が変わると考えられている（Nabeshima et al. 2008）。国内定着株を考えた場合、アカイエカが関与する地域とコガタアカイエカが関与する地域とを切り離して考えるべきかもしれない。それぞれの蚊の生理・生態的な特徴をさらに詳細に検討するとともに、局所的な気象データの解析も必要である。

E. 結論

1) イナトミシオカの幼虫・蛹期の発育零点は、雌8.75℃、雄9.51℃と推定された。近年、東日本で生息が確認された釧路、青森、新潟、東京での発育積算温度を計算し、その結果をもとに年間世代数は各々1.75世代、3.88世代、6.33世代、7.64世代となった。気象要因以外に、幼虫が発生する湿地の環境条件も種々検討する必要がある。

2) イエカ類の栄養生殖分離を発現する日長、および冬季の生存を耐寒性からJEVの蚊体内での越冬を検討した結果、コガタアカイエカが国内で越冬できる地域は限局され、その確率は低いと考えられるが、アカイエカの生理・生態的特徴は

むしろJEVの越冬に適していると結論された。特にアカイエカでは、夏季にウイルスを取り込んだ雌成虫がそのまま越冬する可能性が高いことが示唆され、コガタアカイエカ以外の感染環に大きく関与するものと思われる。

3) コガタアカイエカにおいて、特にNagasaki37株、JaGAR株の高い増殖能が唾液線を確認されたが、アカイエカにおいてはいずれのウイルス株の増殖も認められなかった。また、コガタアカイエカにおいては、JEV1型、3型のジェノタイプに関わらず高い増殖能が得られたが、イノシシ由来の1型株（JaNBo）の増殖は両種に比べて低かった。

蚊の体内におけるJEVの越冬温度・日長条件を想定し、ウイルス経口摂取後の蚊を異なる飼育条件下で最長4ヶ月間維持した結果、コガタアカイエカが10℃の低温を1ヶ月経験しても、JEVは4ヶ月間蚊の体内で維持され、さらに4ヶ月後の値が増加したことが明らかになった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 沢辺京子・佐々木年則・森林敦子・葛西真治・津田良夫・小林睦生. 2010. 日本脳炎ウイルスのアカイエカ体内での越冬の可能性について. 第62回日本衛生動物学会大会, 鹿児島市, 2010年4月2-4日

2) 森林敦子・澤邊京子・金京純・津田良夫・小林睦生. コガタアカイエカの休眠導入期から覚醒期における脂質含量と脂肪酸組成の変動. 第62回日本衛生動物学会大会, 鹿児島市, 2010年4月2-4日

3) 森林敦子・澤邊京子・金京純・津田良夫・小林睦生. 2009. 東京都の公園に秋に飛来したコガタアカイエカの脂質含量と脂肪酸組成. 第61回日本衛生動物学会大会, 高松市, 2009年4月2-4日

4) 澤邊京子・森林敦子・津田良夫・葛西真治・伊澤晴彦・林利彦・金京純・小林睦生. 2008. 日本産アカイエカ種群蚊の越冬に関する研究(1). 第60回日本衛生動物学会大会, 下野市, 2008年4月17-19日

5) 森林敦子・澤邊京子・津田良夫・葛西真治・小林睦生. 2008. 日本産アカイエカ種群蚊の越冬に関する研究(2). アカイエカおよびチカイエカの寿命と資質に関する室内実験. 第60回日本衛生動物学会大会, 下野市, 2008年4月17-19日

6) 佐々木年則, 澤邊京子, 鋤田龍星, 金京純, 津田良夫, 伊澤晴彦, 小林睦生. 蚊の日本脳炎ウイルス感受性, 第62回日本衛生動物学会大会, 2010年4月

3. その他
なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

厚生労働省科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

「地球温暖化に伴い変化する感染症に対する早期防御法確立に関する研究」班
分担研究報告書

アルボウイルス媒介蚊の特性と疫学ツールの開発

分担研究者	江下優樹	大分大学医学部感染予防医学講座 准教授
研究協力者	Lucky R. Runtuwene	大分大学医学部感染予防医学講座 大学院研究生
	Raweevan Srisawat	Department of Medical Entomology, Mahidol University, Scientist
	Narumon Komalamisra	Department of Medical Entomology, Mahidol University, Associate Professor
	Bouasy Hongvanthong	Center for Malariology, Parasitology and Entomology, Lao PDR, Director
	小田 力	学校法人 吉田学園 九州医学技術専門学校 副校長
	黒川憲次	長崎大学医歯薬総合研究科免疫学講座 技官
	松本 顕	順天堂大学医学部一般教育生物学研究室 准教授
	内田桂吉	順天堂大学生物学研究室 准教授
	山中敦史	神戸大学大学院医学研究科（インドネシア拠点）
	小西英二	神戸大学大学院保健学研究科 准教授
	森田公一	長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学分野 教授
	杉本千尋	北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター 教授
	高崎智彦	国立感染症研究所ウイルス1部 室長
	倉根一郎	国立感染症研究所ウイルス1部 副所長

研究要旨

ウエストナイルウイルス感受性のチカイエカ *Culex pipiens molestus* Forskal に対する季節的に変動する気温の影響を把握するために、屋外に設置された浄化槽内のチカイエカ幼虫の季節的消長を調べた。浄化槽内の水温は、外気温と同様に季節的に変化した。夏季の気温上昇による高温はチカイエカ幼虫個体群の激減の重要な要因である可能性が高い。また、温暖化による気温の上昇は、幼虫の分布北限を拡大する可能性があること、および、異常気象による冷夏・暖冬では、チカイエカ個体数の急激な増加の可能性が示唆される。

自然界の異なる水域で羽化したチカイエカ成虫の個眼数は幼虫時期の環境条件の違いが影響

していると考えられるが、日長、照度、餌、幼虫密度と温度など複数の要因が関係していると思われる。吸血したチカイエカ雌成虫の集団の中には、僅かではあるが、9個のアカイエカ型も混在していた。しかし、大多数は8個のチカイエカであった。吸血飛来したチカイエカ雌成虫は地上水域および浄化槽などの地下水域から発生した混合の個体群と考えられる。

RT-LAMP法を用いて、デングウイルス（DENV）感染蚊からのウイルスゲノム検出の条件を検討した。蛍光・目視検出試薬により、反応1時間後にウイルスゲノムの有無を確認することが出来た。デング熱流行地で採集した蚊からデングウイルス1型と2型のゲノムを迅速に検出することができた。RT-LAMP法は、よりも迅速に、感染蚊の

有無を把握出来ることから、感染蚊対策にも有用と考えられた。

A. 研究目的

1. チカイエカの特徴

チカイエカ *Culex pipiens molestus* Forskal は、形態分類学上のアカイエカ *Culex pipiens pallens* と同種で、形態的にはたがいによく似ている。しかし、生理生態学的観点からは、かなりの相違がみられる。両種とも、人獣共通感染症であるウエストナイルウイルスの媒介蚊である。チカイエカの卵塊や幼虫が、アカイエカの発生源である地上水域でも発見され、ヒトから吸血することがある。チカイエカの地上水域における活動の変化には気温が関係していることが推測されるので、浄化槽におけるチカイエカ幼虫の季節的変動を調べた。

2. チカイエカの個眼数

チカイエカとアカイエカは形態的に酷似しているが、成虫の複眼を形成している個眼の数によって区別可能とされている。幼虫期の飼育温度が個眼数に影響するが、野外に生息するチカイエカとアカイエカ雌成虫の個眼数について検討した報告はほとんどない。そこで、自然界における実態を明らかにするため、自然界から採集したチカイエカ雌成虫、および幼虫と卵塊に由来する雌の個眼数を6ヶ月間の観察を通じて比較した。

3. RT-LAMP を用いた蚊からの迅速なウイルスゲノム検出

感染症流行地でウイルス感染蚊を迅速に把握することは、感染蚊の早期に駆除のみならず、患者発生を未然に防ぐことにもなる。より迅速な診断法と推定された RT-LAMP 法は、媒介蚊に応用した例が少ないことから、実験室内および本症流行地での検討を行った。

B. 研究方法

B. 1. 調査方法

1. チカイエカの特徴

チカイエカ幼虫が発生していた総コンクリート製の浄化槽内の酸化槽から、幼虫と蛹を柄杓で採集した。実験室に持ちかえり、約 23°C で羽化させて、雌成虫には個別に産卵させる機会を与えた。また、雄成虫の外部生殖器の形態を小田ら(1975)の方法に準じて調べた。ちなみに、無吸血産卵した雌成虫をチカイエカと同一化した。採集した未成熟幼虫を70%アルコール中に保存した。双眼顕微鏡下で、幼虫の固定標本の頭幅を計測して齢期を判定した。また、酸化槽内で採集した蚊の卵塊のふ化卵数を調べた。

2. チカイエカの個眼数

建物に隣接した屋外に設置した ovitrap (ワラの煮汁を入れた水ガメ) 内の水面に蚊雌成虫が産下した卵塊を採取後、飼育羽化させ産卵するまで飼育した。産卵後の雌は、-20°C の冷凍庫に存した。アパートで吸血雌を採集し、実験室で産卵させ、孵化した幼虫 (F1) を飼育・羽化させた。これら羽化成虫 (F1) の内、無吸血で産卵した雌 (F1) の親 (P)、つまりアパートで採集した吸血蚊をチカイエカと判定した。前述の成虫頭部を、10%の KOH に浸し約3分間加熱後水洗、アルコールで脱水後グリセリンアルコール浸せき処理を行なった後、蚊の頭部をスライドグラス上に置き、複眼背側の左側第4、5、6列の個眼数を双眼顕微鏡下で数えた。

3. RT-LAMP を用いた蚊からの迅速なウイルスゲノム検出

飼育中のネッタイシマカ *Aedes aegypti* (LIV 系統) に、ウイルス血症を起こさせたマウスから吸血する機会を与えた。吸血14日間生存した雌蚊を実験に用いた。蚊から総 RNA 抽出精製した総

RNA を RT-LAMP 法に用いた。RT-LAMP の処方および蛍光・目視検出試薬（栄研・株・製）、それぞれの説明書に準じた。反応条件は、63°C1 時間で行った。ラオス国の Dengue 熱患者宅で採集したネッタイシマカ雌成虫を、ラオス保健省の実験室に持ち帰り、前述と同様の方法で RT-LAMP を実施した。

（倫理面への配慮）

なし

C. 研究結果

1. チカイエカの特性

気温、水温およびチカイエカ未成熟幼虫個体数の季節的消長調べ、水温が 30°C 近くになる 7～8 月には、幼虫数は減少した。気温の影響を浄化槽が強く受けていた。8 月下旬と 9 月中旬には 1 齢幼虫は全く採集されなかった。卵がふ化しなかった可能性が要因の一つとして考えられた。8 月に採集した多くの卵塊の卵は、胚子を保有しているにも関わらず、未ふ化のものが多かった。

2. チカイエカの個眼数

屋外条件下で飼育羽化した雌の複眼の第 4、5 および 6 列の個眼数を示したところ、屋外で羽化した雌蚊の個眼数は季節的に大きく変化していなかった。次に、個眼数の個体変異について検討したところ、チカイエカ 1 個体が産卵した卵舟に由来する成虫群であっても、10% 程の個体はいわゆるアカイエカ型と誤って判定されることがわかった。この結果は季節による変動は認められなかった。浄化槽で採集されたチカイエカの個眼数について検討したところ、浄化槽で採集したチカイエカ集団の中にはアカイエカ型が全く認められなかった。このことは、蚊の生理・生態面からみて興味深い。人家内で吸血した雌の個眼数を検討したところ、吸血したチカイエカ雌成虫の個眼

数の多くはチカイエカ型であったが、アカイエカ型も少数ではあるが認められた。この頻度分布のパターンも季節的に変化していなかった。

3. Dengue ウイルスに実験的に経口感染したネッタイシマカ 5 個体を用いて、RT-LAMP を個別に実施した。その内、4 個体の総 RNA から目視検査で陽性を得た。確認のため、1.5% アガロース電気泳動を行って、はしご状の特異的なパターン像が検出された。ラオスの Dengue 熱患者宅から採集したネッタイシマカをラオス保健省の研究室に持ち帰り、蚊種の同定、雌蚊からの総 RNA 抽出、そして RT-LAMP を実施した。精製した RNA を一部プールにした結果では、DEN1 型に 3 プール、DEN2 型に 1 プールが目視検査で陽性であった。Dengue 2 型に注目して個別毎に総 RNA 中のウイルスゲノムを検討するために、EN2 型特異的プライマーによる RT-LAMP を実施して、1 個体の成虫が陽性を示した。

D. 考察

1. 伊藤 (1971) は、ビルの地下室に設置された地下水槽（浄化槽）内のチカイエカ幼虫数の周年の消長を調査し、初夏から夏の間は少なくなることを報告した。ビル地下室に設置された地下水槽内の幼虫発生数の季節的变化は、屋外設置型の浄化槽内のそれとは明らかに異なることがわかる。今回調査に使用した浄化槽は屋外に設置されたもので、槽内の水温は外気温の影響を強く受け、水温の季節的变化は気温のそれにおおむね並行して変化していた。この槽内の幼虫数の季節的变化には、特に夏季における高温が関係していると考えられる。8 月に採集した卵塊は未ふ化卵を有するものであった。このタイプの卵塊を構成する多くの卵は胚子形成が進んでいるにも関わらず、ふ化できなかったものである。27°C 以上の温度はチカイエカに不適温度かもしれない。

夏季の気温上昇による高温はチカイエカ幼虫個体群の激減の重要な要因である可能性が高い。また、温暖化による気温の上昇は、幼虫の分布北限を拡大する可能性があること、および、異常気象による冷夏・暖冬では、チカイエカ個体数の急激な増加の可能性が示唆される。

2. 森ら (1982) は幼虫期の飼育温度が 21℃ 以上になるとチカイエカでも 9 個のアカイエカ型のものが少数ではあるが出現するので、飼育温度がチカイエカの個眼数の変異をもたらす重要な要因であると報告した。屋内で吸血したチカイエカ集団の中には、その約 5% がアカイエカ型である。室温条件で羽化した雌の結果とほぼ一致している。しかし、アパート敷地内にある浄化槽内から多くのチカイエカが飛び出していた事実、およびアカイエカの発生源が浄化槽の周囲に少なかったことを考慮すると、吸血に飛来したチカイエカ雌成虫は浄化槽と地上水域から羽化した混成の雌個体群であると考えられる。本報の結果からチカイエカ雌の個眼数によりアカイエカの雌と区別することは、集団としては可能であるが、個別に両者を判別することは困難である。その調査の際には、個眼数の変異に加えて、遺伝子診断による両者の区別を検討することも必要であろう (Kasai *et al.*, 2008)。

3. デングウイルスに実験的に感染したネッタイシマカの個々の雌成虫から、ウイルスゲノムを RT-LAMP 法で、目視で検出可能であった。ちなみに、目視による判断の場合には、蒸留水のみでも緑色呈することがあることから、キットに添付されている蒸留水を用いる事が極めて重要と思われた。RT-LAMP 法を用いることは感染蚊の有無を迅速に把握する方法として推奨されるべき方法と考えられた。さらなる、方法の簡略化および装置の小型化により、RT-LAMP 法が容易に流行地でも利用可能なように、システムを構築することは

さほど困難ではないように思われる。

E. 結論

(1) チカイエカ幼虫数の変動要因として、水温 (気温) が関係している。

(2) チカイエカ卵の孵化率は高温になるとその低下もたらし、卵内の胚子死亡および胚子発育を阻害していると考えられた。

(3) チカイエカの分布要因として、幼虫に対する水温 (気温) の影響が重要である。

(4) 温暖化による気温の上昇は、幼虫の分布北限を拡大する可能性がある。

(5) 異常気象による冷夏・暖冬では、チカイエカ個体数増加の可能性はある。

(6) 屋外に設置した水瓶で採集した卵由来の羽化雌成虫はチカイエカであったが、その中にあっても、9 個の個眼数を持つアカイエカ型が 10% 程度認められた。

(7) 浄化槽で秋に採集したチカイエカ雌の個眼数は全てチカイエカ型であった。

(8) 個眼数の変異は幼虫期の日長、照度、餌、幼虫密度、温度などの環境要因が影響していると考えられた。

(9) 温暖化による気温の上昇は、幼虫の分布北限の拡大のみならず、発生水域が一過性的に拡大する可能性がある。

(10) 実験的に経口感染したネッタイシマカを用いた RT-LAMP 法を行い、目視検査で陽性を得た。

(11) デング熱患者宅で採集した蚊を用いた RT-LAMP 法を利用して陽性蚊を検出することが出来た。

(12) RT-LAMP 法は、流行地での蚊からのウイルスゲノムを迅速に検出する方法として応用可能と考えられた。

F. 健康危険管理情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) 在津 誠、小川保徳、黒川憲次、三根真理子、吉井 勇、内田桂吉、江下優樹、小田 力 (2008) : 浄化槽における犬糸状虫伝搬蚊、チカイエカ *Culex pipiens molestus* Forskal 幼虫の季節的变化、特に夏季における高温の影響。長崎県生物学会誌、(64):4-10.

(2) Takuya Yamao, Yuki Kihara, Tomomitsu Satho, Miho Nishimura, Takeshi Miyata, Akira Sakata, Nobuhiro Kashige, Fumio Miake, Yuki Eshita, Yupha Rongsriyam, Narumon Komalamisra, Raweewan Srisawat, Shumpei Watanabe, Hiroomi Akashi, Makoto Kuroda, Tsuyoshi Sekizuka, Kouji Sakai, Shuetsu Fukushi, Mina Nakauchi, Masayuki Saijo, Ichiro Kurane, Shigeru Morikawa, Tetsuya Mizutani: Novel virus discovery from field-collected mosquito larvae using an improved system for rapid determination of viral RNA sequences (RDV ver4.0). Archives of Virology, 154(1):153-158, 2009.

(3) Wei-Feng Tang, Masao Ogawa, Yuki Eshita, Hiroshi Aono and Yoshihiro Makino (2010) : Molecular evolution of Japanese encephalitis virus isolates from swine in Oita, Japan during 1980-2009. Infect. Genet. Evol., 10(2): 329-336.

(4) Ryo Murata, Yuki Eshita, Akihiko Maeda, Junko Maeda, Saki Akita, Tomohisa Tanaka, Kentaro Yoshii, Hiroaki Kariwa, Takashi Umemura, and Ikuo Takashima (2010): Glycosylation of the West Nile Virus envelope protein increases in vivo and in vitro viral multiplication in birds. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 82(4):696-704.

(5) Raweewan SRISAWAT, Narumon KOMALAMISRA, Yuki ESHITA, Mingqi ZHENG, Katsushige ONO, Taichi Q. ITOH, Akira MATSUMOTO, Songsak PETMITR, Yupha

RONGSRIYAM (2010) Point mutations in domain II of the voltage-gated sodium channel gene in deltamethrin-resistant *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Appl. Entomol. Zool.*, 45(2): 275-282.

(6) Kenji Kurokawa, Kunihiko Iida, Mariko Mine, Manabu Yoshii, Keikichi Uchida, Yuki Eshita, and Tsutomu Oda (2010) : Variation in the number of ommatidia in valid female *Culex pipiens molestus* Forskal, a vector of *Dirofilaria immitis*, collected from an ovitrap, a septic tank, and an apartment in Nagasaki city. House and Household Insect Pest, 32(1): 1-8, July 2010

2. 学会発表

(1) 江下優樹、牧野芳大、湯 偉峰、青野裕士、高崎智彦、田島 茂、高島郁夫、小林睦生、倉根一郎 (2007) : 蚊類のアルボウイルス媒介能 (12) アカイエカ体内における日本脳炎ウイルスの増殖。第60回日本衛生動物学会大会。2008年4月17-19日、群馬県、自治医科大学、Med. Entomol. Zool., 59 (Suppl.): 61, 2008.

(2) 江下優樹、牧野芳大、湯 偉峰、青野裕士、高崎智彦、田島 茂、高島郁夫、小林睦生、倉根一郎 (2008) : アカイエカにおける日本脳炎ウイルスの増殖について。第43回日本脳炎ウイルス生態研究会、香川県、観音寺市、2008年5月30日(金) ~31日(土)。第43回日本脳炎ウイルス生態研究会 プログラム・抄録集: 34、2008.

(3) Yuki Eshita, Raweewan Srisawat, Narumon Komalamisra, Yupha Rongsriyam, Hiroshi Aono, Yoshihiro Makino, Tomohiko Takasaki and Hiroshi Ushijima (2008) : Dengue infection's dynamics of vector mosquitoes in the patient's houses, Thailand. Ordinary session on Vector-virus interaction. The Second International conference on Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever 2008, "Global Innovation for Combating Dengue Infection".

October 15-17, 2008., Phuket, Thailand. Abstract of The Second International conference on Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever 2008: 147.

(4) Eshita, Y., Srisawat, R., Komalamisra, N., Rongsriyam, Y., Takasaki, T., Aono, H., Wei-feng, T., Makino Y., Ushijima, H., Takashima, I. and Kurane, I. : Vectorial capacity of Japanese mosquitoes borne diseases in West Nile and dengue viruses (Invited lecture). RGJ-Ph.D. Congress X, Pataya, Thailand, 4-6 April, 2009, Proceedings of RGJ-Ph.D. Congress X, Invited lecture (S3A-L7):96, 2009.

(5) 江下優樹、児島奈弥、牧野芳大、湯 偉峰、青野裕士、Raweevan Srisawat、Narumon Komalamisra、Yupha Rongsriyam、成田弘成、高崎智彦、林 昌宏、倉根一郎 (2009) : チクングニアウイルスを用いた蚊の感染実験。第62回日本寄生虫学会・第59回日本衛生動物学会南日本支部合同大会、2009年11月7日(土)・8(日)、福岡大学文系センター棟、福岡県福岡市。第62回日本寄生虫学会・第59回日本衛生動物学会南日本支部合同大会プログラム講演要旨集: 23, 2009.

(6) 江下優樹, 高崎智彦, 林 昌宏, Raweevan Srisawat, Narumon Komalamisra, Yupha Rongsriyam, 湯 偉峰, 青野裕士, 牧野芳大, 成田弘成, 牛島廣治, 倉根一郎 (2010) : タイ国産ネッタイシマカのチクングニアウイルス感受性。第62回日本衛生動物学会大会、2010年4月3日(土)・4(日)、鹿児島大学郡元キャンパス、鹿児島県鹿児島市。Med. Entomol. Zool., 61 (大会特集号) :70, 2010.

(7) Yuki Eshita, Josef Sem Berth Tuda, Lucky Ronald Runtuwene, Prima Pratama, Toshiaki Katayama, Shuichi Kawashima, Kazushi Hiranuka, Tomohiko Takasaki, Raweevan Srisawat, Narumon Komalamisra, Hironari Narita, Hiroshi Ushijima, Hiroshi Aono,

Yoshihiro Makino, Miho Imada, Chihiro Sugimoto, Ryuichiro Maeda, Yutaka Suzuki, Sumio Sugano, Junichi Watanabe (2010): Biological and ecological aspects of chikungunya and malaria vector mosquitoes in Southeast Asia. Parasite pathgen genomics: Prospect for tropical disease control. International scientific meeting in line with the 51st anniversary of Faculty of Medicine Sam Ratulangi University (The Watanabe Memorial Symposium), Manado, Indonesia, 27 May 2010.

(8) Raweevan Srisawat, Narumon Komalamisra, Chamnarn Apiwathnasorn, Yupha Rongsriyam, Yuki Eshita (2010): Evidence of mutations in sodium channel domain IIS6 in field-collected permethrin-resistant *Aedes aegypti*. The Fourth ASEAN Congress of Tropical Medicine and Parasitology, SINGAPORE, 2-4 JUNE 2010.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働省科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興再興感染症研究事業)
分担研究報告書

富山県のイノシシと寄生マダニ類におけるリケッチア保有調査

分担研究者 滝澤剛則 (富山県衛生研究所)
協力研究者 小原真弓、山内健生 (富山県衛生研究所)
渡辺 護 (国立感染症研究所)

研究要旨

温暖化等によるイノシシの分布拡大に伴ってマダニ類とリケッチアの分布が拡大している可能性を検討するため、富山県内で捕獲されたイノシシの寄生マダニ類を調査するとともに、マダニ類及びイノシシからのリケッチア検出を行った。マダニ調査の結果、富山県では初の記録となるタカサゴチマダニと、野外において未確認であったタカサゴキラマダニを含む5種のマダニ類が採集された。タカサゴチマダニ及びタカサゴキラマダニは、いずれも南方系の種であり、富山県衛生研究所が1991年から実施している富山県内のマダニ調査で一度も発見されていないことから、近年のイノシシの分布拡大にともなって富山県へ分布を拡大した可能性が考えられる。イノシシ寄生マダニ類から *R. japonica* の遺伝子は検出されなかったものの、214個体中14個体(6.5%)から、病原性不明のリケッチアが検出された。ヤマトチマダニからは比較的高率にリケッチアが検出された。イノシシからリケッチアは検出されなかったが、イノシシの37.7%にリケッチア陽性マダニが寄生していた。以上のことから、イノシシに寄生したマダニ類とともにリケッチアも分布域を広げている可能性は否定できないと考えられた。

A. 研究目的

マダニ類は日本紅斑熱等の感染症を媒介する重要なベクターである。*Rickettsia japonica* によって引き起こされる日本紅斑熱は、1984年の発見以来、南西日本を中心に多発している。しかし、近年は、これまで報告のなかった地域での新たな発生や、*R. japonica* 以外の紅

斑熱群リケッチア(*R. helvetica*, *R.*

heilongjiangensis)による紅斑熱が報告されている。日本紅斑熱を含む紅斑熱群のリケッチアは、ダニからダニへの経卵感染の他に、感染動物からダニ、ダニから動物へも感染すると考えられている(小川, 感染症発生動向調査週報. 2002年25号. 11-15. 2002; Piranda et al.,

Vector Borne Zoonotic Dis. 11:29-36. 2010; Freitas et al., Exp. Appl. Acarol. 47:321-345. 2009)。

マダニ類は吸血性の外部寄生虫であるため、宿主となる大型哺乳類(ニホンイノシシなど)の分布は、マダニ類やマダニ媒介感染症の分布に強く影響する。富山県では、長い間ニホンイノシシ(以下イノシシ)が分布していなかったが、1990年頃から目撃され始め、近年急速に分布域を広げている。積雪地帯でイノシシが増加したことについては、積雪量が少なくなったことが理由のひとつと考えられている。

富山県ではこれまで日本紅斑熱を含む紅斑熱患者の報告はない。しかし、イノシシとその寄生マダニ類が隣県から本県へ分布を拡大し、その結果、病原リケッチアが本県へ侵入する可能性は否定できない。

そこで、我々は、イノシシと共に富山県内へ分布を拡大しつつあるマダニ類が存在するのか否かを確認するため、県内においてイノシシの寄生マダニ類を調査した。さらに、富山県内で捕獲したイノシシ及び寄生マダニ類からのリケッチア検出を行った。

B. 研究方法

1. 材料

富山県内で2008年1月～2009年1月に害獣として駆除されたイノシシ29頭

の毛皮から、目視にてマダニ類を採集した。採集したマダニ類を70%エタノール中に保存し、顕微鏡下で同定を行なった。これらのうち2008年1～2009年1月に駆除されたイノシシ27頭の毛皮から採集した成虫214個体をリケッチア検出に用いた。

さらに、富山県内で2008年2月～2009年12月に駆除されたイノシシ31頭から採取した、脾臓30件及び血液4件をリケッチア検出に用いた。

2. リケッチア検出

検体からDNAを抽出し、1st及び2nd PCRにより、日本紅斑熱または紅斑熱群(日本紅斑熱を含む)リケッチアの17-kDa膜蛋白質領域、もしくはgltAを対象とした遺伝子検出を行った。得られたPCR産物は、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。

(倫理面への配慮)

本研究は駆除された野生動物及び外部寄生虫を対象としており、倫理面の問題はない。

C. 研究結果

イノシシの毛皮からは5種635個体のマダニ類が採集された。個体数が最も多かったのはキチマダニ494個体で、ヤマトチマダニ118個体がこれに次いだ。残りの3種(タカサゴキララマダニ、タイワンカクマダニ、タカサゴチマダニ)につい

ては、少数の個体が採集されたのみであった。

イノシシの検体からはリケッチア遺伝子は検出されなかった。マダニ類については、14 個体からリケッチア遺伝子が検出された。全てこれまでに県内のマダニ類から検出されたリケッチアと近縁であり、病原性はないとされる Genotype I 及び III (Ishikura et al., Microbiol. Immunol. 47: 823-832. 2003; SADI 組織委員会編, ダニと新興再興感染症. 2007) に分類された。

マダニ類の種類別に陽性率をみると(表 1)、キチマダニのリケッチア陽性率は 5%前後であったのに対し、ヤマトチマダニのリケッチア陽性率は 14.0%で、マダニ種によって大きく異なった。

リケッチア陽性となったマダニ類が寄生していたイノシシは 27 頭中 10 頭 (37.7%) であった(表 2)。

D. 考察

採集された 5 種のうち、タカサゴチマダニは富山県では初の記録となる。タカサゴチマダニは、南西諸島や東南アジアなどに広く分布する南方系の種であり、現時点では富山県が本種の分布北限と推定される。なお、四国と九州で採集された本種からは日本紅斑熱リケッチア (*Rickettsia japonica*) が検出されている。

タカサゴキラマダニは富山県の野外で初めて採集された。タカサゴキラマ

ダニは、南西諸島や東南アジアなどに広く分布する南方系の種であり、富山県では本種による 1 例の人体刺咬症例が報告されていたが、野外での採集例はなかった。本種は、蜂窩織炎様感染症との関連が近年報告された *R. tamurae* (金子ら, 感染症学雑誌, 84:681-682, 2010) を高率に保有することが知られている。

両種は、富山県衛生研究所が 1991 年から実施している富山県内のマダニ調査でこれまで一度も発見されておらず、近年のイノシシの分布拡大にともなって岐阜県から富山県へ分布を拡大しつつあるのかもしれない。このことは、国内各地において、地球温暖化にともなうイノシシの分布拡大にともなってマダニ類などの感染症媒介動物も分布を拡大している可能性を示唆するものである。

オランダでイノシシの血液から *R. helvetica* が検出された報告がある (Sprong et al., Parasit. Vectors. 2:41, 2009) もの、日本国内のイノシシについてのリケッチア保有状況は調査されていない。また、イノシシ寄生マダニ類のリケッチア保有についても、海外での報告はあるものの、国内での報告はない。したがって、今回の調査結果は、日本で初めてのイノシシ寄生マダニ類からの紅斑熱群リケッチア検出例となる。

イノシシ及び寄生マダニ類からは、*R. japonica* の遺伝子は検出されず、これま

で富山県において日本紅斑熱患者が報告されていないことと合わせて、*R. japonica* の浸淫の可能性は低いと考えられた。

本研究で得られた全てのリケッチアはこれまでに県内のマダニ類から検出されたリケッチアと近縁の型であり、病原性は不明であった。しかしながら、これまで病原性不明であったリケッチア(*R. tamurae*)が患者発生に関わった報告(金子ら, 2010)があることから、今回検出されたリケッチアに病原性がないとは断定できない。

マダニの種類によってリケッチアの陽性率に差がみられ、ヤマトチマダニは比較的高率にリケッチアを保有していることが示唆された。

通常、1頭のイノシシには数百個体のマダニ類が寄生していることを考慮すると、ほとんどのイノシシにリケッチア陽性マダニ類が寄生しているものと推測される。今回調査したイノシシからリケッチアは検出されなかったことから、イノシシ寄生マダニ類から検出されたリケッチアに関しては、1)イノシシにほとんど感染しない、2)一過性に感染する、3)イノシシがリケッチアに感染して抗体を持ちその後は感染しなくなった、という3種類の可能性が考えられる。今回、イノシシの血液検体が十分得られなかったため、抗体調査は行っていないが、日本紅斑熱患者が発生している和歌山県では、イノ

シシの14.3%が日本紅斑熱に対して抗体陽性という報告(藤田, 田辺鳥獣害調査研究報告書, 27-32. 2007)があり、抗体保有率はそれほど高くないことから、リケッチアに感染して抗体を持ちその後は感染しなくなったという可能性よりも、感染しにくいが一過性である可能性の方が高いと考えられる。

今回、富山県に分布を広げている動物として、イノシシを対象にしたが、ニホンジカもそのような動物の1種である。ニホンジカも、イノシシと同様に富山県内に長い間生息していなかったが、近年徐々に確認个体数が増加している(南部, とやまと自然, 124:2-5. 2009)。日本紅斑熱が発生している島根県では、ニホンジカの分布域、*R. japonica* 陽性マダニ類の分布域、日本紅斑熱患者の発生地域が重なるという報告がある(田原ら, 厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築」平成19年度総括・分担研究報告書, 87-98. 2008)。富山県においても、今後、ニホンジカとともに病原性を有するリケッチアが侵入する可能性について考慮する必要がある。

E. 結論

富山県内で捕獲されたイノシシに、富山県新記録となるタカサゴチマダニと野外において未確認であったタカサゴキラ

ラマダニの寄生を確認した。このことから、分布を拡大したイノシシと共に、南方系のマダニ類が分布を拡大しつつあることが示唆された。

イノシシからリケッチアは検出されなかったが、寄生マダニ類からヒトへの病原性は不明のリケッチアが検出された。以上のことから、イノシシに寄生したマダニ類とともにリケッチアも分布域を広げている可能性は否定できないと考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamauchi, T., Obara, M., Watanabe, M., Ando, S., Ishikura, M., Shinagawa, Y., Hasegawa, S., Nakamura, K., Iwai, M., Kurata, T. & Takizawa, T. (2009) Survey of tick fauna possessing the ability to act as vectors of rickettsiosis in Toyama Prefecture, Japan. *Medical Entomology and Zoology*, 60(1): 23-31.
- 2) Yamauchi, T., Shimazu, Y. and Mizuta, H. (2009) A case of human tick bite by a nymphal tick, *Haemaphysalis hystricis* (Acari: Ixodidae), in Japan. *Medical Entomology and Zoology*, 60(2): 135-137.

3) Yamauchi, T., Tabara, K., Kanamori, H., Kawabata, H., Arai, S., Katayama, T., Fujita, H., Yano, Y., Takada, N. and Itagaki, A. (2009) Tick fauna associated with sika deer density in the Shimane Peninsula, Honshu, Japan. *Medical Entomology and Zoology*, 60(4): 297-304.

4) 山内健生、高野 愛、坂田明子、馬場俊一、奥島雄一、川端寛樹、安藤秀二 (2010) タカサゴキララマダニによる人体刺症の 5 例. *日本ダニ学会誌*, 19(1): 15-21.

5) 山内健生、福井米正、渡辺 護、中川彦人、上村 清 (2010) 富山県におけるマダニ人体刺症の 40 例. *衛生動物*, 61(2): 133-143.

2. 学会発表

- 1) 山内健生、岸本年郎、角坂照貴、杉浦真治、岡部貴美子、藤田博己「小笠原諸島の弟島と父島で採集されたマダニ類」第 60 回日本衛生動物学会大会 下野市、2008 年 4 月
- 2) 山内健生、小原真弓、渡辺 護、安藤秀二、品川保弘、滝澤剛則、堀元栄詞、長谷川澄代、中村一哉、倉田 毅「富山県のマダニ相と紅斑熱リケッチ

ア) 日本昆虫学会第 68 回大会 高松市、2008 年 9 月

ニ人体刺症の概観」第 44 回富山県公衆衛生学会 富山市、2010 年 2 月

3) 山内健生、小原真弓、渡辺 護、安藤秀二、品川保弘、長谷川澄代、中村一哉、滝澤剛則「富山県産哺乳類に寄生していたマダニ類」第 61 回日本衛生動物学会大会 高松市、2009 年 4 月

7) 小原真弓、山内健生、渡辺護、滝澤剛則「富山県のイノシシと寄生マダニ類からのリケッチア検出」第 65 回日本衛生動物学会西日本支部大会 倉敷市、2010 年 11 月

4) 小原真弓、山内健生、渡辺 護、長谷川澄代、滝澤剛則「富山県におけるマダニ類調査」第 17 回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー 大野市、2009 年 6 月

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

5) 小原真弓、山内健生、渡辺護、安藤秀二、石倉康宏、品川保弘、長谷川澄代、中村一哉、堀元栄詞、岩井雅恵、倉田 毅、滝澤剛則「富山県におけるマダニ類と保有リケッチア」第 16 回リケッチア研究会 新宿区、2009 年 11 月

H. 謝辞

本研究の実施には、赤座久明副主幹(富山県自然保護課)、横畑泰志准教授(富山大学)の協力を賜りました。ここに深く感謝いたします。

6) 山内健生、福井米正、渡辺 護、中川彦人、上村 清「富山県におけるマダ

表 1. イノシシ寄生マダニ類の種類別陽性率

マダニの種類		検査数	陽性数	陽性率(%)
キチマダニ	♀	19	1	5.3
	♂	128	5	3.9
ヤマトチマダニ	♂	50	7	14.0
タイワンカクマダニ	♂	13	1	7.7
タカサゴキラマダニ	♂	4	0	0.0
合計		214	14	6.5

表 2. イノシシ個体別の陽性マダニ数

No.	イノシシ捕獲月	マダニ検査数	陽性数	陽性率(%)
1	2008年1月	7	0	0.0
* 2	2008年1月	5	1	20.0
* 3	2008年1月	16	1	6.3
* 4	2008年1月	25	3	12.0
5	2008年1月	1	0	0.0
6	2008年1月	1	0	0.0
* 7	2008年1月	13	1	7.7
* 8	2008年1月	17	1	5.9
9	2008年1月	6	0	0.0
10	2008年1月	1	0	0.0
11	2008年1月	11	0	0.0
* 12	2008年1月	21	1	4.8
13	2008年2月	11	0	0.0
* 14	2008年2月	11	2	18.2
* 15	2008年2月	6	2	33.3
16	2008年2月	14	0	0.0
* 17	2008年2月	15	1	6.7
18	2008年2月	1	0	0.0
* 19	2008年2月	5	1	20.0
20	2008年3月	3	0	0.0
21	2008年3月	2	0	0.0
22	2008年12月	3	0	0.0
23	2009年1月	2	0	0.0
24	2009年1月	1	0	0.0
25	2009年1月	12	0	0.0
26	2009年1月	3	0	0.0
27	2009年1月	1	0	0.0
合計		214	14	6.5

*リケッチア陽性マダニが付着したイノシシ