

更に簡易抗体スクリーニングキットの併用は安全血液確保にはより確実な方法である。

提案したマニュアルに従っての抗体スクリーニングをラテンアメリカ人及びラテンアメリカ居住者を有する日本人に対しても理解を求め、実施すべきである。

#### F:健康危険管理情報

本年は名古屋在住で長期に度りブラジル各地に居住歴を持つ日本人に抗体陽性者が出たこと、ボリビア居住歴のある医療従事者からも抗体陽性者が出るなど、ラテンアメリカ人のみならずラテンアメリカ居住歴のあるものに対する注意喚起が重要である。今回9名の抗体陽性者が検出されたが、いずれも無症状で、感染の自覚は無かった。そのため健常人と変わらぬ生活を継続している。抗体陽性者(False-positive を3名含む)はすべて献血可能年齢である。シャーガス病慢性感染者の多くは健常人と見分けが自他共に判らないことが献血現場の脅威であ

る。

#### G:業績

##### 1) 関連小冊子:

しのびよるシャーガス病——中南米の知られざる感染症

慶應義塾大学出版 2009—3月

竹内勤・三浦左千夫

##### 2) 学会発表:

58回日本感染症学会東

日本学術集会; 輸入感染症: 在日ラテンアメリカ人の慢性シャーガス病キャリアーと2次感染予防

慶應義塾大学医学部・熱帯医学寄生虫学 三浦 左千夫・竹内 勤

#### 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

Web Site:

厚生労働科学研究費補助金  
医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業  
平成 22 年度研究報告書

「献血の安全性確保と安定供給のための新興感染症等に対する  
検査・スクリーニング法等の開発と献血制限に関する研究」  
(H20-医薬-一般-077)

分担研究報告書

ウエストナイル熱等の新興感染症発生時の献血対応及び  
国内献血におけるシャーガス病の感染リスクの把握

研究分担者 百瀬俊也 (日本赤十字社血液事業本部 安全管理課長)  
研究協力者 沖 学 (日本赤十字社血液管理センター 検査課長)  
白波瀬弓 (日本赤十字社血液管理センター 検査課)  
古澤秀明 (日本赤十字社血液管理センター 検査課)  
増田久美子 (日本赤十字社血液管理センター 検査課)  
高松純樹 (愛知県赤十字血液センター所長)  
鬼束惇義 (岐阜県赤十字血液センター所長)  
南澤孝夫 (静岡県赤十字血液センター所長)  
小島 精 (三重県赤十字血液センター所長)  
内田茂治 (日本赤十字社血液事業本部  
中央血液研究所 感染症解析部長)  
平 力造 (日本赤十字社血液事業本部 安全管理課)  
大塚裕司 (日本赤十字社血液事業本部 安全管理課)

研究要旨：

ウエストナイルウイルス (以下、WNV という) の献血者への対応について、迅速かつ広域的な対応を可能とするために、日本赤十字社 4 ヲ所の NAT 施設へ導入しているロシュ・ダイアグノスティックス株式会社 (以下、ロシュ社) 製 cobas@s401 システムを用いて、同社が開発した WNV-NAT 試薬 (TaqScreen® WNV assay) についての感度、特異性等について検討した。95%検出感度は 30copies /mL であった。特異性・交差反応試験 (RNA 抽出産物) は、WNV NY99 株は 0.01 pfu /mL (91copies/mL) までが陽性率 100%で、0.001 pfu /mL (9.1copies/mL) では陽性率が 50%であった。日本脳炎ウイルス (JEV-1) では交差反応性が認められたが、デングウイルス (1,2,3,4) はすべて陰性であり、スクリーニング試薬としての期待される結果は得られた。

また、シャーガス病の感染リスクのある中南米諸国の居住歴を有する 2009 年及び 2010 年 (速報値) の献血申込 (受付) 者数及び献血者数を集計・解析した。その数は、献血申込 (受付) 者数 10,456 人 (2009 年)、11,594 人 (2010 年)、献血者数 8,768 人 (2009

年)、9,805人(2010年)であり、献血申込(受付)者の84.5%が献血していた。献血申込(受付)者数及び献血者数とも2008年から年毎に増加していた。その内ブラジル居住歴を有する者が最も多く、全体の42-46%を占めた。中南米居住歴のある者の都道府県別の献血者数では、東京都、神奈川県、愛知県が1,000人を超えており、その内ブラジル居住歴のある者の都道府県別の献血者数では、愛知県(2009年604人、2010年759人)が最も多く、以下、東京都、神奈川県、静岡県の順で多かった。ブラジル居住歴を有する献血者の男女別年代別の分布では、男女比は約3:1と男性の方が多く、年代別では30代が最も多かった。全体では30代以下が約6割、40代以上が約4割であり、シャーガス病の感染リスクの比較的低いと考えられる若い世代が多く献血している状況が窺えた。2006年~2010年の献血申込(受付)者1万人当たりのブラジル居住歴を有する申込(受付)者数は、全国平均では2006年5.1人、2007年5.6人、2008年7.4人、2009年7.5人、2010年7.8人と増加傾向を示した。

中南米地域からの定住者が多い東海四県(愛知県、静岡県、岐阜県、三重県)管内における献血申込(受付)者のうち同意を得た者に対し、*Trypanosoma cruzi*抗体検査を実施した。現在(2011年2月28日)までのところ陽性者は認められていない。

#### A. 研究目的

現在、WNV国内発生に備えてWNV-NAT試薬(Procleix® WNV Assay:ノバルティスファーマ株式会社)を5000テスト分血液管理センターに備蓄している。本試薬はTMA法の試薬であり、測定機器を保有しているのは京都府福知山市の血液管理センター及び東京都江東区の東京都赤十字血液センターである。

しかしながら、迅速かつ広域的な対応を可能とするため、日本赤十字社4カ所のNAT施設へ導入されたロシュ社cobas®s401システムを用いて、同社が開発したTaqMan PCR法のWNV-NAT試薬(TaqScreen® WNV assay)の感度試験、特異性等について検討した。

また、国内献血におけるシャーガス病の感染リスクを把握することは、南米からの定住者が約34万人(平成21年末時点)である日本において、献血血液の重要な安全対策上の課題と言える。献血受付者の居住歴の問診回答内容から、国内での献血受付及び献血状況を把握し、措置を講ずる必要性のある対象の絞り込みを行い、さらにブラジル居住歴を有する献血受付者が偏在している愛知県、静岡県など東海地域において、中南米居住歴を

有する献血申込者に対して、同意を得た上で、シャーガス病に関する質問と*T. cruzi*抗体検査を実施し、選択的対策の一助とし、抗体陽性者への健康管理に繋げていく。

#### B. 研究方法

##### 1. WNV

##### 1) 感度試験

非感染性としたWNV液(WNV NATtrol®:ZeptoMetrix社10,000 copies/mL Strain:NYS2001-6263)を希釈用血漿で希釈し、300、100、30、10、3、1、0 copies/mL濃度のウイルス添加血漿を各々8本作製し、TaqScreen®WNV assay試薬を用いてcobas®s401でNATを3回実施した。各々の濃度における24重試験の結果から試薬感度を評価した。

##### 2) 特異性試験

##### 2)-1 実検体による試験

献血血液のNAT用検体を用いて作製した20本プールNAT検体で、TaqScreen®WNV assay試薬を用いてcobas®s401で行うNATを7日間実

施した。

2)-2 特異性・交差反応試験 (RNA 抽出産物)

- ① West Nile Virus(NY99 株)  
1.0E+06 pfu / mL
- ② Japanese Encephalitis Virus-1  
(Beijing-1 株) 1.0E+08 pfu / mL
- ③ -1 Dengue Virus 1 (08-60/1 株)  
1.1E+05 pfu / mL
- ③-2 Dengue Virus2(08-30/1 株)  
2.1E+05 pfu / mL
- ③-3 Dengue Virus3(08-67/1 株)  
4.1E+06 pfu / mL
- ③-4 Dengue Virus4(05-38/1 株)  
1.4E+05 pfu / mL

各 200 $\mu$ L から抽出した RNA を 100 $\mu$ L の蒸留水で再浮遊し、その 50 $\mu$ L を凍結乾燥した RNA 検体を国立感染症研究所より提供を受けた。

WNV の RNA 検体は 10,000 ~ 0.0000001pfu/mL 濃度に、Japanese Encephalitis Virus の RNA 検体は 1,000 ~ 0.0000001pfu/mL 濃度に、Dengue Virus(1,2,3,4)の RNA 検体は 1,000~10pfu/mL 濃度に注射用水で希釈し試験用検体として 2 重測定した。

2. シャーガス病の感染リスク

中南米諸国の居住歴を有する 2008 年~2010 年の献血申込 (受付) 者数及び献血者数を血液事業統一コンピュータシステムより抽出し集計・解析した。

中南米地域からの定住者が多い東海四県 (愛知県、静岡県、岐阜県、三重県) における献血申込 (受付) 者のうち中南米居住歴・渡航歴を有する献血希望者に対し、予め献血会場に用意された本調査研究の説明書及び同意書を渡し、その内容を理解し同意書に署名した者を対象とした。併せて出身地、シャーガス病に関する認知度等の質問票に回答いただいた。

別に検体を採血し、愛知県赤十字血液センターにてイムノクロマト法迅速検査を実施

した。また、三浦班員により ELISA 法による *Trypanosoma cruzi* 抗体検査を実施した。

(倫理面への配慮)

中南米居住歴を有する者のシャーガス病の感染リスク調査については、予め献血会場に用意された本調査研究の説明書及び同意書を渡し、その内容を理解し同意書に署名した満 20 歳以上の者を対象とした。*T. cruzi* 抗体検査結果を通知し、抗体陽性者に相談医療機関を紹介するなど健康管理に活かすこととしたので、調査対象者に不利益はない。本調査に関して、別途個人情報管理者を指名し個人情報を適切に管理することとした。

本調査研究は、日本赤十字社血液事業研究倫理審査委員会において承認された。

(研究倫理審査番号 2010-006)

C. 研究結果

TMA 法の WNV-NAT 試薬 (Procleix® WNV Assay) を 5,000 テスト分血液管理センターに備蓄している。これは、20 プールで検査を実施した場合、約 95,000 検体の検査が実施可能である。2010 年の都道府県別の献血者数で最も多いのは東京都の 619,979 人であり、1 ヶ月平均が約 51,700 人、1.8 ヶ月間実施可能な量である。

4 ヶ所の日赤 NAT 施設が使用している cobas®s401 で利用可能な TaqScreen® WNV assay 試薬を用いての検討結果は以下のとおりであった。

1. 感度試験

各測定濃度で 24 重測定を実施した結果、95%検出感度はロシュ社参考資料と同じく 30copies /mL であった。(表 1)

2. 特異性試験

1) 実検体による試験



560 検体中、陰性 556 本、Invalid 4 本であった。Invalid の内訳は IC の増幅阻害が 1 本、試薬の吸引/吐出エラーが 2 本、検出系のエラーが 1 件あったが、陽性及び偽陽性は検出されなかった。

2) ウイルス陽性検体の特異性・交差反応試験 (表 2)

① WNV NY99 株は 0.01 pfu/mL までが陽性率 100% で、0.001 pfu/mL で陽性率が 50% であった。これは単位換算\*すると、100% 陽性率は 0.01 pfu/mL = 91 copies/mL となり、50% 陽性率で 9.1 copies/mL となる。

\* WNV RNA 定量方法については、対象領域の (3'NC) を含む配列を組み込んだプラスミドクローンを作製し、プラスミドの RNA ポリメラーゼプライマーを用いて *in vitro* transcription を行い RNA を合成した。Agilent 社の電気泳動装置バイオアナライザーにより、純粋度と RNA の濃度を測定した。既知濃度 RNA と対象検体の RNA を同時測定して検量線より濃度を求めた。WNV NY99 株のウイルス濃度は  $9.1 \times 10^9$  copies/mL と測定された。したがって  $9.1 \times 10^3$  copies/pfu となる。

② JEV-1 では 1 pfu/mL までが陽性となり交差反応性が認められた。これは、TaqScreen® WNV assay 試薬が同じフラビウイルス属の中でも特に相同性が高い JEV-1 も検出対象にしているためである。

③ Dengue ウイルスは全て陰性であった。

シャーガス病の感染リスクのある中南米諸国の居住歴を有する 2009 年及び 2010 年 (速報値) の献血申込 (受付) 者数及び献血者数を集計した。その数は、献血申込 (受付) 者数 10,456 人 (2009 年)、11,594 人 (2010 年)、献血者数 8,768 人 (2009 年)、9,805 人 (2010 年) であった。献血申込 (受付) の 84-5% が献血していた。その内ブラジル居

住歴を有する者が最も多く、献血者数 4,002 人 (2009 年)、4,159 人 (2010 年) であり、全体の 42-46% を占めた (表 3)。中南米居住歴のある者の都道府県別の献血者数では、2009 年は東京都 1,144 人、愛知県 1,110 人、神奈川県 1,021 人、2010 年は東京都 1,503 人、神奈川県 1,375 人、愛知県 1,362 人の順で多かった (図 1)。ブラジル居住歴のある者の都道府県別の献血者数では、愛知県が最も多く 2009 年 604 人、2010 年 759 人であり、以下、東京都 (2009 年 465 人、2010 年 559 人)、神奈川県 (327 人、365 人)、静岡県 (309 人、318 人) と続いた (図 2)。ブラジル居住歴者の男女別年代別の分布では、男女比は約 3:1 と男性の方が多く、年代別では 30 代が最も多かった。全体では 30 代以下が約 6 割、40 代以上が約 4 割であり、シャーガス病の感染リスクの比較的低いと考えられる若い世代が多く献血している状況が窺えた (図 3)。

2006 年～2010 年の献血申込 (受付) 者 1 万人当たりのブラジル居住歴を有する申込 (受付) 者数は、全国平均では 2006 年 5.1 人、2007 年 5.6 人、2008 年 7.4 人、2009 年 7.5 人、2010 年 7.8 人と増加傾向を示した。頻度が高い東海四県の年毎の推移を見ると、2008 年までは 4 県とも増加傾向で、その後静岡、岐阜ではやや減少し、愛知、三重は横ばいであった (図 4)。2010 年のそれは、愛知県 20.0 人、静岡県 19.6 人、三重県 16.7 人、岐阜県 10.3 人であった。

中南米地域、特にブラジルからの定住者が多い地域に対して、選択的に対策を検討する必要があると考えられ、2009 年度に引き続き三浦班員と協同し、愛知 (名古屋、岡崎、豊田)、三重 (津)、岐阜において、血液センター職員、行政担当者、NGO 担当者 (一部地域のみ) 及びブラジルからの定住者 (一部地域のみ) にシャーガス病の研修会、説明会を実施し、知識啓発を図っ

た。

献血申込者に対する *T. cruzi* 抗体検査の結果は、平成 23 年 2 月 28 日現在、14 名ですべて陰性である。

#### D. 考察

WNV-NAT の実施体制の準備を進めるうえで、発生時に迅速に対応するためには、4 ヶ所の NAT 施設いずれでも実施可能な TaqMan PCR 法の試薬が求められる。今回ロシュ社の TaqScreen®WNV assay 試薬の検討を行ったが、限られた材料の中で、WNV スクリーニング試薬としての期待される結果は得られた。交差反応試験では JEV-1 (Beijing-1 株) が陽性となったことから、WNV を特定するための同定検査が必要となるが、スクリーニング試薬として使用できると考える。

シャーガス病はサシガメが媒介して感染する *Trypanosoma cruzi* 感染症である。日本では媒介虫が生息していないことから、感染者の献血血液の輸血のほか新たなリスクはないと見てよい。現在のところ、日本では輸血を介してシャーガス病に感染したとの事例は報告されていない。南米からの定住者が約 34 万人ともいわれる中で、シャーガス病に関する献血問診上の取り扱いは、海外渡航歴に関連して、中南米諸国の場合、「シャーガス病の既往歴のある者から採血しないこと」としている。しかし、感染者自身も無症候期には自覚していないことから、実際にはシャーガス病の既往歴を申告する者はいないと考えられる。現状においては、日本語を十分に理解していない外国人は献血に協力することは困難なことから一定のバリアとなっている可能性があり、また、中南米の一部地域はマラリア流行地と重なることなどから、献血申込者のうち約 15% は採血不可となっていた。

しかし、年毎の推移を見てみると、中南米居住歴を有する献血者数は増加傾向である。

献血者の約 2/3 は感染リスクの比較的低いと考えられる 30 代以下ではあるが、中南米地域からの定住者が多い東海四県（愛知県、静岡県、岐阜県、三重県）の調査結果を踏まえ、中南米居住地域による献血制限や定住地域偏在を考慮した選択的スクリーニング検査導入などの対策を検討することも考慮する必要がある。

#### E. 結論

WNV スクリーニング試薬として備蓄している TMA 法の WNV-NAT 試薬だけでなく、TaqMan PCR 法の試薬も期待される結果が得られ使用できることが明らかとなった。

日本における輸血を介したシャーガス病感染リスクは低いと考えられるが、中南米居住歴を有する献血者の中に、*T. cruzi* キャリアが存在する可能性は否定できない。引き続き中南米地域からの定住者が多い地域を中心とした疫学調査を継続して注視し、新たな対策導入の是非を検討する必要がある。

#### F. 健康危険管理情報

なし

#### G. 研究発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1. WNV感度試験 (TaqScreen® WNV assay, cobas® s401)

実施施設: 日本赤十字社血液管理センター

濃度 (copies/mL)	検査本数	陽性	陰性	Invalid	陽性率 (%)
300	24	24	0	0	100
100	24	23	0	1	100
30	24	23	1	0	95.8
10	24	8	15	1	34.8
3	24	8	15	1	34.8
1	24	2	22	0	8.3
0	24	0	24	0	0.0

＜参考＞ロシエ社分析感度結果

濃度 (copies/mL)	個別検査数	Reactive数	Reactive割合 (%)	95%下側 信頼範囲	95%上側 信頼範囲
50	67	67	100	100	100
40	67	66	98.5	95.6	100
30	67	65	97.0	92.9	100
20	67	62	92.5	86.2	98.8
10	67	52	77.6	67.6	87.6
0	65	0	0	0	0

表2. WNV特異性・交差反応性試験 (cobas s401)

使用号機: 1013号機

ウイルス名	pfu/mL	検査本数	陽性	陰性	Invalid	陽性率 (%)	
WNV NY99株	10000	2	2	0	0	100	
	1000	2	2	0	0	100	
	100	2	2	0	0	100	
	10	2	2	0	0	100	
	1	2	2	0	0	100	
	0.1	2	2	0	0	100	
	0.01	4	4	0	0	100	
	0.001	2	1	1	0	50	
	0.0001	2	0	2	0	0	
	0.00001	2	0	2	0	0	
	0.000001	2	0	2	0	0	
	0.0000001	2	0	2	0	0	
	JEV-1 (北京株)	1000	2	2	0	0	100
100		2	2	0	0	100	
10		4	4	0	0	100	
1		2	1	1	0	50	
0.1		2	0	2	0	0	
0.01		2	0	2	0	0	
0.001		2	0	2	0	0	
0.0001		2	0	2	0	0	
0.00001		2	0	2	0	0	
0.000001		2	0	2	0	0	
0.0000001		2	0	2	0	0	
Dengue 1		1000	2	0	2	0	0
		100	2	0	2	0	0
	10	2	0	2	0	0	
Dengue 2	1000	2	0	2	0	0	
	100	2	0	2	0	0	
	10	2	0	2	0	0	
Dengue 3	1000	2	0	2	0	0	
	100	2	0	2	0	0	
	10	2	0	2	0	0	
Dengue 4	1000	2	0	2	0	0	
	100	2	0	2	0	0	
	10	2	0	2	0	0	

表3. 中南米居住歴を有する献血申込(受付)者・献血者数(2008-10年)

国名	献血 受付者数 2008	献血者数 2008	献血 受付者数 2009	献血者数 2009	献血 受付者数 2010	献血者数 2010
ブラジル	4,572	3,752	4,769	4,002	4,940	4,159
メキシコ	1,775	1,471	2,117	1,812	2,448	2,095
ペルー	640	504	703	573	845	697
アルゼンチン	556	473	679	575	769	669
チリ	264	209	302	262	369	325
パラグアイ	251	210	299	233	361	313
ボリビア	238	185	285	232	345	285
コロンビア	218	170	210	170	217	184
エクアドル	162	118	142	116	180	146
ベネズエラ	157	128	197	163	195	160
パナマ	154	129	197	170	260	223
コスタリカ	146	115	166	128	180	153
グアテマラ	109	89	141	119	159	132
ニカラグア	88	74	100	87	133	112
エルサルバドル	48	44	73	65	99	77
ウルグアイ	42	30	56	50	70	58
ホンジュラス	5	4	3	3	1	1
ガイアナ	3	0	0	0	1	0
スリナム	3	2	1	1	4	4
ベリーズ	3	1	15	6	18	12
フオーケランド 諸島(英領)	1	1	1	1	0	0
合計	9,435	7,709	10,456	8,768	11,594	9,805

※2010年の値については速報値

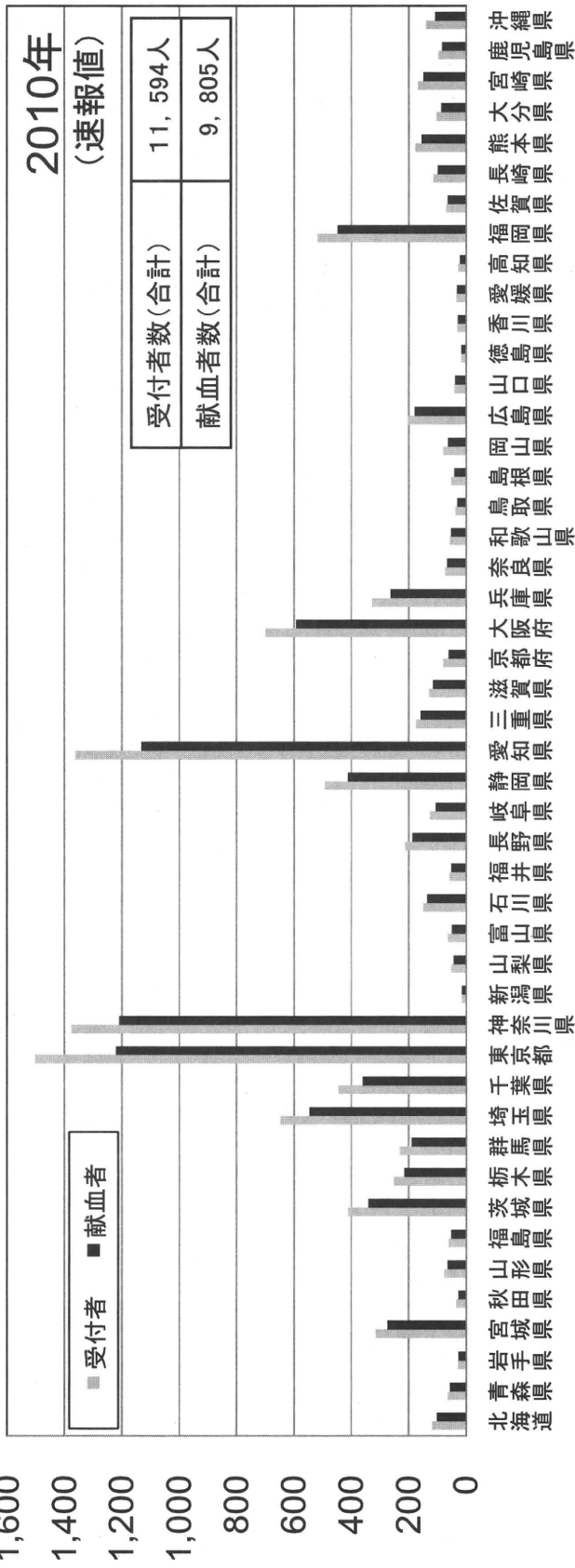
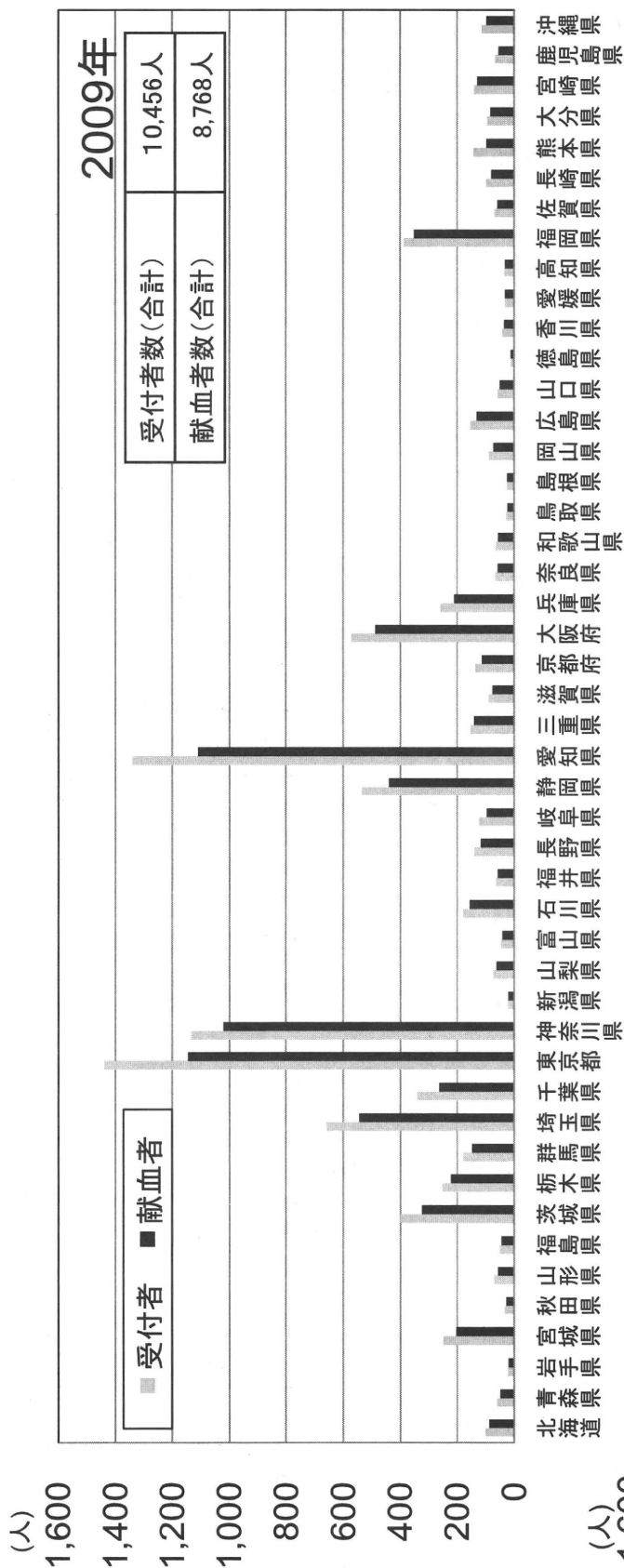


図1. 都道府県別中南米居住歴のある献血申込(受付)者・献血者数



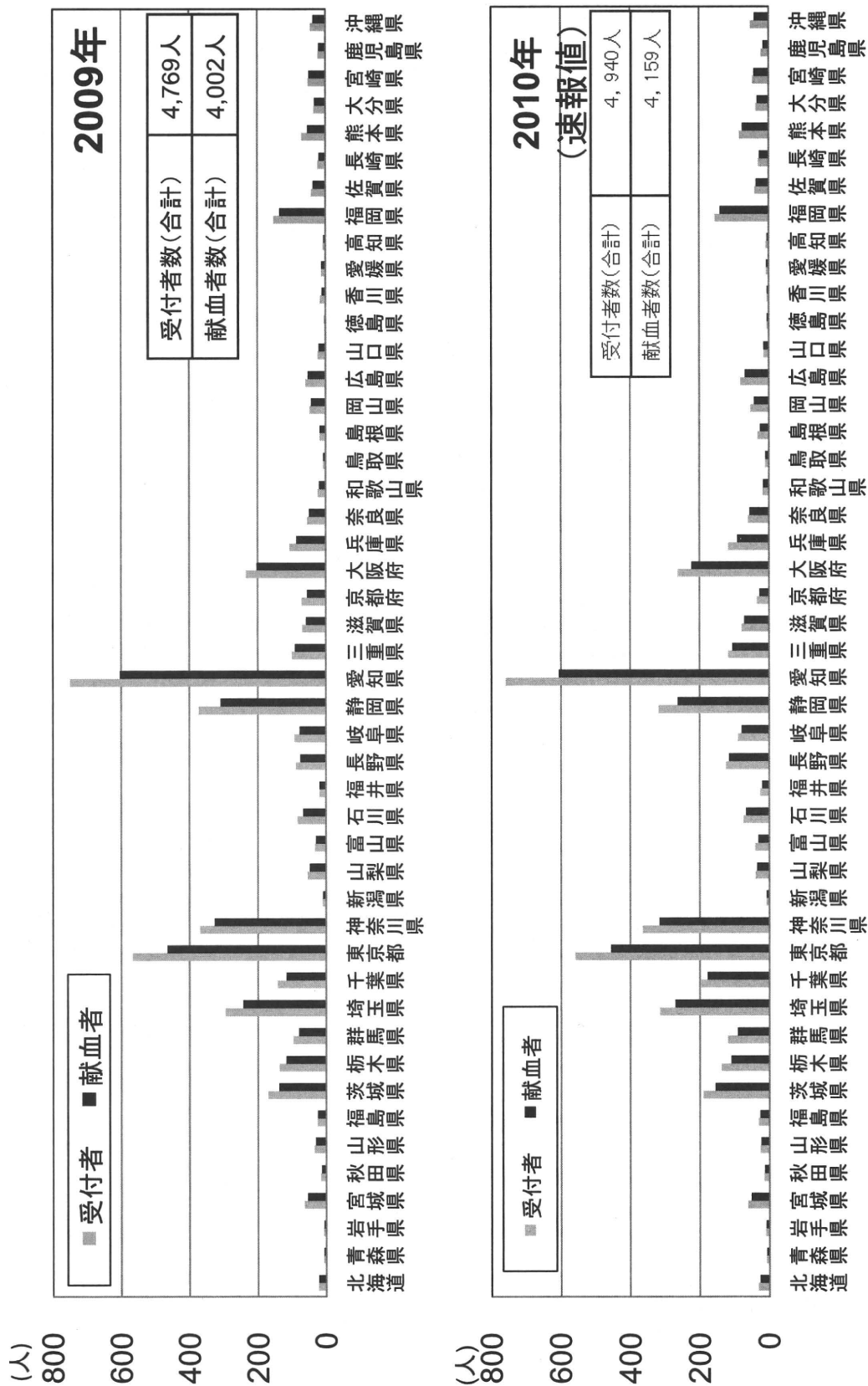


図2. 都道府県別ブラジル居住歴のある献血申込(受付)者・献血者数



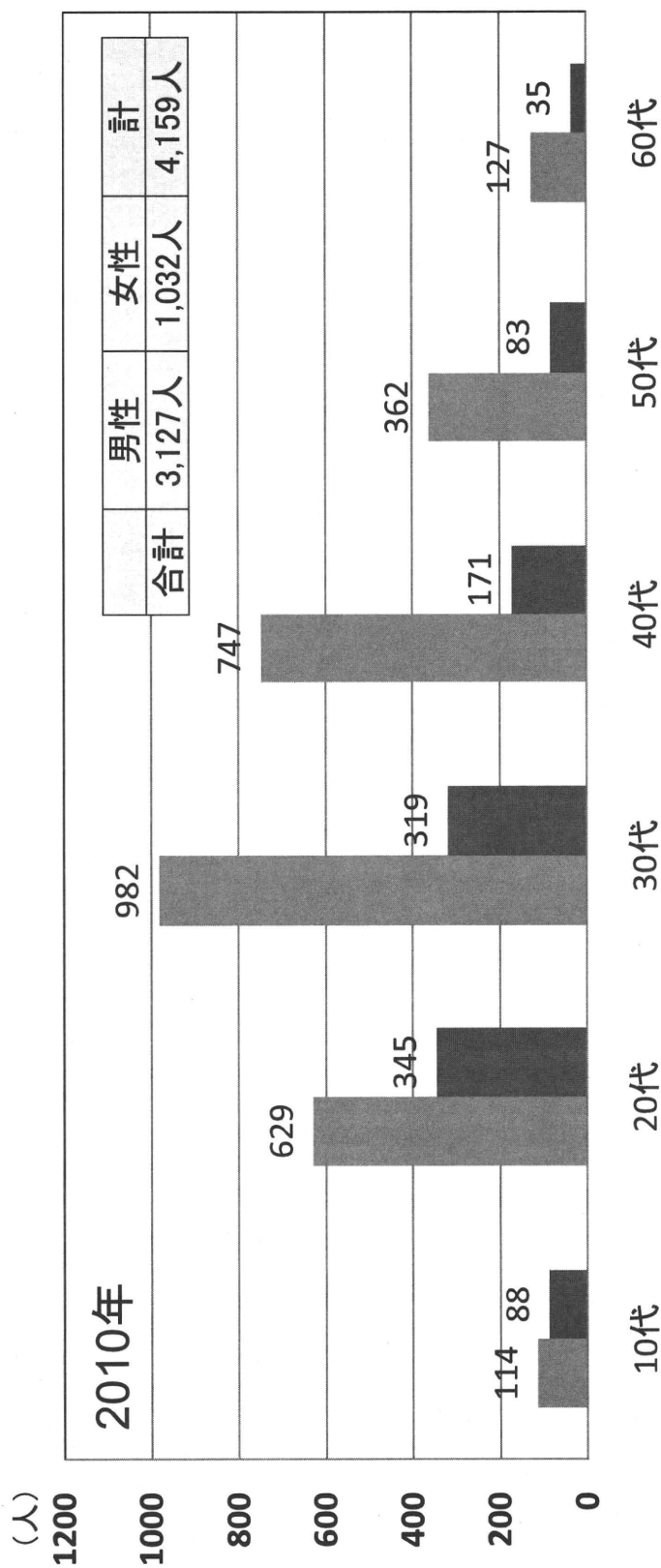
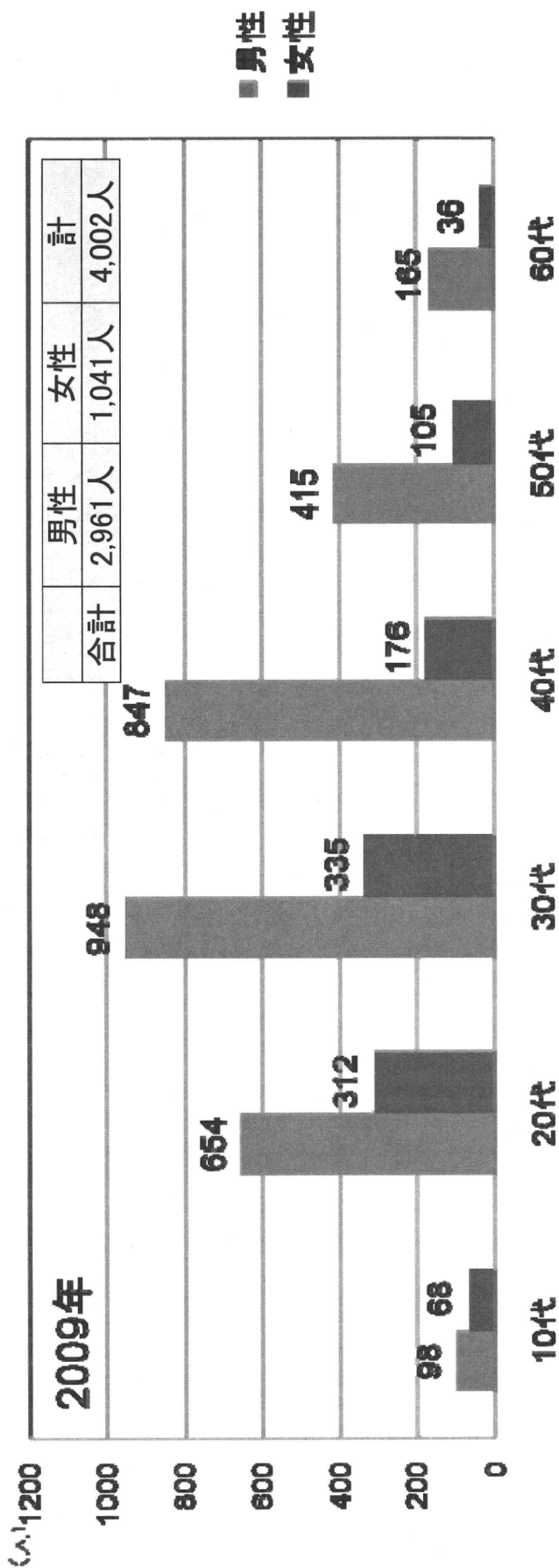


図3. ブラジル居住歴を有する年代別献血者数

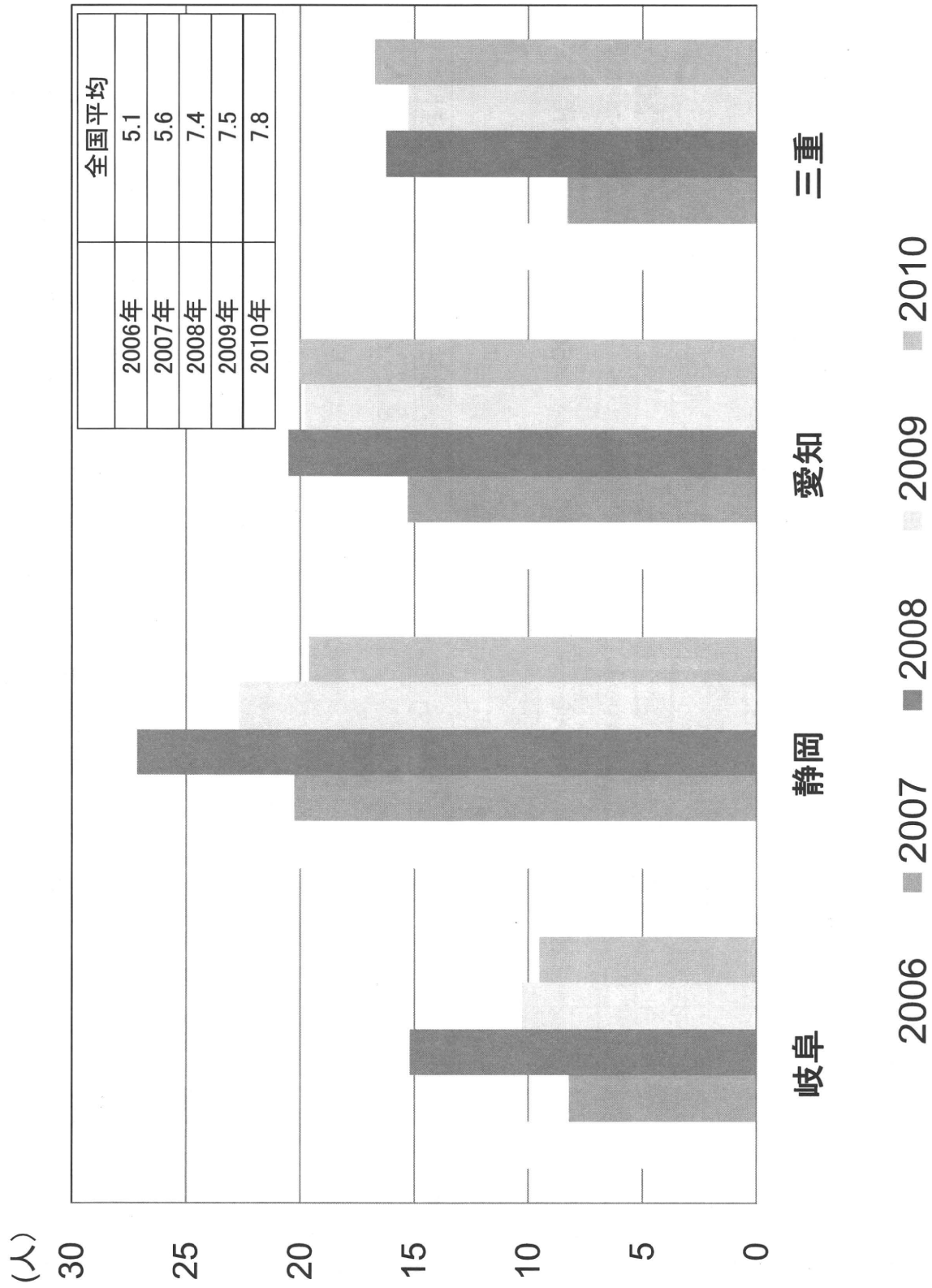


図4. 東海地域における献血申込(受付)者1万人あたりの  
ブラジル居住歴を有する申込(受付)者数

レギュラトリーサイエンス総合研究事業  
「献血の安全性確保と安定供給のための新興感染症等に対する  
検査・スクリーニング法等の開発と献血制限に関する研究」  
平成 22 年度総括・分担研究報告書

献血制限に関する昆虫媒介性感染症の問題

研究分担者 小林睦生 (国立感染症研究所・昆虫医科学)  
研究協力者 沢辺京子 (国立感染症研究所・昆虫医科学)  
佐々木年則 (国立感染症研究所・昆虫医科学)  
津田良夫 (国立感染症研究所・昆虫医科学)  
葛西真治 (国立感染症研究所・昆虫医科学)  
富田隆史 (国立感染症研究所・昆虫医科学)  
吉田政弘 (いきもの研究社)

Arlene G. Bertuso (University of the Philippines-Manila, Philippines)

ヒトスジシマカの公園内の成虫発生状況を評価し、防除効果を評価する目的で、1) 公園内の雨水マスおよび周辺半径 150m 内に存在する全て雨水マスの幼虫防除および月 1 回の公園内灌木の成虫防除を行った公園 2ヶ所、2) 全く薬剤による媒介蚊防除を行わない公園 9ヶ所を設定し、毎週 1 回 8 分間人囮法による成虫捕集数を、1) および 2) の公園内、1) の公園の中心から 150m 離れた 6ヶ所の捕集地点で行った。その結果、媒介蚊防除を行わなかった公園では 9 月以降 8 分間で平均 4 匹以上の捕集があったが、防除を行った公園内では平均 0.5-0.75 匹と成虫密度を低く抑えていた。また、公園の中心から 150m の周辺での捕集では平均で 0.9-2.8 匹と防除を行った公園より若干捕集数が多い傾向が認められた。これらの結果から、ヒトスジシマカの飛翔範囲は 150m 程度あることが推察され、デング熱、チクングニア熱の患者が発生した場合の献血制限地域は狭い範囲での設定が可能であることが示唆された。

国内外で壱塚熱の再興が危惧されることから、大阪市 N 区においてコロモジラミを、さらに、フィリピンならびに国内 32 都道府県の主に児童・学童からアタマジラミを採取し、それらシラミ類から壱塚熱 *Bartonella quintana* の遺伝子の検出を行った。大阪市 N 区の医療機関を受診した路上生活者(42 歳以上)10 名から採取したコロモジラミのうち、6 名由来のコロモジラミから *B. quintana* の遺伝子が検出され、さらに、42 歳男性の血餅からも *B. quintana* 遺伝子が検出された。一方、Los Banos 市では、貧困層の居住地域に生活する未成年者 50 名のうち 1 名から採取されたアタマジラミに *Bartonella* 属に共通な遺伝子が認められた(1/50 名、遺伝子保有率は 2.0%)。しかし、日本国内 32 自治体から得られた 579 頭のアタマジラミからは *B. quintana* 遺伝子は検出されなかった。

## A. 研究目的

ヒトスジシマカの分布域は、世界的に拡大しており、1984年に米国で初めて分布が確認され、その後テキサス州から東部へ急速に国内の分布域が拡大した。また、中南米、ニュージーランド、オーストラリア以外にヨーロッパ諸国にも分布が拡大しており、イタリアでは全国的に分布が確認されている。この分布域拡大は、古タイヤの世界的な貿易が関係しており、我が国から古タイヤによっていろいろな国へヒトスジシマカが運ばれたことが推測されている。米国、ヨーロッパのヒトスジシマカは、卵で越冬できる系統であり、我が国の系統と同じまたは近縁の系統の可能性が高い。また、分布域の気候要因に関しても、ヨーロッパおよび米国での調査で、年平均気温11℃以上の地域にほぼ限局されており、我が国の東北地方における同蚊の分布に関係する年平均気温11℃と非常によく一致している。これは、日本からの系統が温帯地域に属する多くにの国々へ広がった可能性を強く示唆している。

2007年にイタリア北東部の小さな村で発生した300人規模のチクングニアの流行では、ヒトスジシマカが媒介蚊であった。6-9月の患者派生状況の地図を見ると、いくつかのフォーカスに数人から数十人の患者が集中している分布様式を示している。これは媒介蚊の飛翔範囲と関係があると考えられるが、詳細は不明である

2010年にフランスの南部の地中海に面して地域で Dengue 熱とチクングニア熱各2症例が国内発生として報告された。我が国でもこのような突発した流行が起こる可能性は否定できない。その意味でヒトスジシマカがどの程度の距離を飛翔するか検討することは意味があると考えられる。

世界的に、大都市に住む路上生活者に

寄生するコロモジラミから 塹壕熱の病原体である *Bartonella. quinatan* の遺伝子が検出され、菌株も分離されている。塹壕熱は、第一次世界大戦や第二次世界大戦の時に、塹壕内で敵と対峙していた兵士に蔓延した。その後大きな流行は見られなかったが、1990年代になって、開発途上国の刑務所や衣服を取り替えることが困難な施設、先進国の路上生活者等で散発的に流行が見られるようになった。我が国では、2003年に厚生労働省が行った路上生活者の調査で、全国の路上生活者数は25,296人と報告されたが、2007年の同調査では、一時的な景気回復によって18,564人とされた。中高年男性がそのうちの95%を占め、平均年齢は57.5歳である。実数で減少しているようには見えるが、2007年の調査では、ネットカフェで生活していると考えられる人が推定で5,400人ほど確認されており、今後の経済の動向によっては、その数の増加が予想され、コロモジラミの寄生に関しては今後注視する必要があると考えられている。コロモジラミ *Pediculus humanus* は、主に着衣や下着などの折り目や縫い目に潜み、ヒトの体幹部から吸血する。一方、アタマジラミ *Pediculus capitis* は主にヒトの頭髪に寄生し、頭皮から吸血する。塹壕熱の病原体である *B. quintana* は国内のみならず、海外の都市部においても同様に、主に路上生活者に寄生するコロモジラミから検出されている。一方、ネパールにおいては、路上やスラム街に生活する子供たちの多くがアタマジラミ・コロモジラミの両方に寄生されており、採取されたアタマジラミの9.5%(2/21名、シラミ保有者21名中2名から採取されたシラミが *B. quintana* 遺伝子を保有、保有率は9.5%、以下同様に記載)、コロモジラミの20%(4/20名)からそれぞれ *B. quintana* 遺伝子が検出された。しかし、本症例においては、アタマジラミとコロモジラミの寄生部位

にはっきりとした境界が認められず、偶然、衣類に寄生していたコロモジラミが頭髮付近で見つかったのではないかとの指摘もあった。しかし、その後、米国サンフランシスコ市の路上生活者から採取されたアタマジラミからも*B. quintata*が検出された。これまで、コロモジラミは発疹チフス、回帰熱、塹壕熱等の病原体を媒介するが、アタマジラミはこれら病原体の媒介には直接関与しないと考えられていた。しかし、両者の遺伝的背景がほぼ同じであるならば、塹壕熱の伝搬にアタマジラミが関与する可能性も高いと考えられる。そこで、日本国内および諸外国において、コロモジラミおよびアタマジラミを対象に*B. quintana*遺伝子の検出を行った。

## B. 研究方法

兵庫県西宮市内の公園 11ヶ所で、幼虫防除および成虫防除による成虫の発生状況を評価する目的で以下の調査を行った。

1) 2公園内の雨水マスおよび周辺半径150m内に存在する全て雨水マスに IGR (昆虫発育制御剤; スミラブ発泡錠) を2週間に一度処理し、月1回の公園内灌木にエトフェンプロックス 20%・グラミン S を処理して成虫防除を行った。2) 9公園は幼虫および成虫防除を全く行わなかった。毎週1回、各公園2ヶ所において、8分間人囮法(8分間に吸血飛来成虫を全て捕集)によって、成虫密度を評価した。防除処理を行った公園2ヶ所の中心から150m離れた周辺6ヶ所で8分間人囮法によって、成虫密度を評価した。捕集された蚊は、その場で殺し、持ち帰って、種類および雌、雄の数を記録した。

コロモジラミは、大阪市N区において、2009年5月から2010年1月までに区内O医療機関を受診した路上生活者(42歳以上)10名からコロモジラミが提供された。一方、フィリピン・マニラ市近郊のLaguna州Los Banos

市内の貧困層が居住する地域において、合計9名(女子8名、男子1名)の未成年者(調査時7-18歳)の頭髮に寄生するアタマジラミをそれぞれから8-11頭採取した。国内においては、全国32自治体から得られたアタマジラミの合計579頭(579家庭から各1頭を選んだ)を検査に用いた。アタマジラミの採取に際しては、個別に専用のすき櫛を用い、シラミ寄生者間のコンタミネーションを極力防ぐことに留意した。得られたシラミ類から REDEExtract(シグマ社)を用いてゲノムDNAを抽出し、*Bartonella*属共通プライマーを用いて*gltA*遺伝子およびITS1領域をPCR法で増幅した。得られたPCR産物はダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定し、塹壕熱病原体*B. quintana*であることを確認した。また、コロモジラミ提供者に対してはインフォームドコンセントを行い承諾を得て採血した後、血餅を用いて、*Bartonella*属特異的プライマーにてPCRを行った。

## C. 研究結果

成虫防除は、公園の灌木内に潜んでいる成虫を一掃し、その後周辺から飛来してくる成虫をより正確に評価するために行われた。公園内および半径150m以内の雨水マス全てに IGR を処理した場合、公園内2ヶ所の人囮法によるヒトスジシマカの捕集数は撒布後の7月21日以降、4週間毎の平均で0.1~0.75匹と平均捕集数が1匹以下を推移し、防除効果が明らかとなった。一方、防除対策を行っていない公園では、同期間の平均捕集数は2.31~4.70匹と高い値を示し、8分間の最高捕集数は10月4日のG公園2ヶ所の合計が73匹に達した(表1)。また、幼虫および成虫防除を行った公園から150mはなれた周辺部での人囮法による6ヶ所(各2回)の平均捕集数では、0.19~2.88匹とばらつきが認められたが、平均捕集数が1匹以上が約半分の調査

期間（4週間単位）で認められ、周辺部ではより遠くの発生源からのヒトスジシマカの飛来が強く疑われた。一方、公園内および公園から150m範囲の道路、民間敷地などほぼ全ての雨水マスにIGRを処理した場合には、周辺からの新たに補充される成虫が少なく、人囮法による捕集数も激減したと考えられた。この事により、デング熱やチクングニアが発生した場合の献血制限地域の設定に基礎的な資料を提供できたと考えている。

大阪市N区の医療機関を受診した路上生活者(42歳以上)10名から採取したコロモジラムのうち、6名から採取されたコロモジラムから*B. quintana*の遺伝子が検出された。本地域におけるコロモジラムの*B. quintana*保有率は60%であり、東京都T区で得られた保有率と比べ非常に高い値であった。また、42歳男性の血餅から*B. quintana*遺伝子が検出され、今後、塹壕熱病原体遺伝子を血餅からの簡便に検出する方法の開発も必要と考えられる。

一方、Los Banos市では、貧困層の居住地域に生活する未成年者50名のうち1名から採取されたアタマジラムに*Bartonella*属共通遺伝子が認められ(1/9名、遺伝子保有率は11.1%) (表2)、ITS1領域の塩基配列を解析した結果*B. quintana*であることが確認された。同様に調査した日本国内32自治体から得られた通常の生活をしている子供達から採取された579頭のアタマジラムからは*B. quintana*遺伝子は検出されなかった。

#### D. 考察

都市部のヒトスジシマカの発生源近くに存在する戸建て住宅の庭の植生にヒトスジシマカが潜んでいることが知られている。庭に空き缶、古タイヤ、プラスチックバケツなどの幼虫発生源が存在しな

い場合、成虫は近隣の発生源から飛来し、灌木内で潜んで吸血源動物が接近するのを待っていると考えられる。どの程度の距離を飛翔して潜み場所に飛来するのかが詳細に分かっていない。そこで、西宮市の公園を利用し、公園内および周囲150m以内の幼虫発生源全てに薬剤を処理し、成虫の発生を抑えた実験区を設定し、調査を行った。公園周辺150m以内全ての幼虫防除対策を行った場合、周辺からの成虫の飛来数が著しく減少し、その結果、公園内の人囮法によるヒトスジシマカの捕集数は無処理区と比べて顕著に減少した。一方、公園からの距離150m付近で行った人囮法による蚊の捕集では、公園側の半分の発生源には薬剤が処理されているが、その反対側の発生源は無処理のため、平均捕集数は明らかに多い傾向が認められた。これら幼虫および成虫防除実験から、ヒトスジシマカは、約150m程度は飛翔することが示唆され、デング熱やチクングニア熱の患者が発生した地域における献血制限地域の設定にある種の科学的根拠を与えたと考えられる。

これまでの我々の調査から、東京都T区の路上生活者由来のコロモジラムの約10%は*B. quintana*遺伝子を保有していることが明らかになり、塹壕熱が特殊な集団において蔓延している可能性を示唆した。しかし、本調査において得られた大阪市N区における*B. quintana*遺伝子保有率は、東京都における結果に比べて異常に高い値を示しており、両地域における路上生活者の生活習慣の違いなどが要因等の関与が考えられた。今後はさらに検体数を増やし、より詳細な調査を行う必要があると考える。今までにサンフランシスコ市の路上生活者由来コロモジラムの33.3%(11/33名)から*B. quintana*遺伝子が検出され、フランス・マルセイユ市およびネパール・ポカラ市はいずれも20%、ロシアでは

12.3%のコロモジラミが*B. quintana*遺伝子を保有していた。塹壕熱を引き起こす可能性のあるコロモジラミが、世界各地で路上生活者を中心に寄生していることが示唆され、東京、大阪を含む都市域での塹壕熱再興感染も危惧されている。

一方、アタマジラミが塹壕熱やその他の病原体の媒介・伝搬に関与した報告はこれまでにない。2002年、ネパールの学童に寄生していたアタマジラミの9.5% (2/21名) から*B. quintana*遺伝子が検出され、アタマジラミが塹壕熱の伝播に関与する可能性が初めて示唆された。その後、サンフランシスコの路上生活者由来アタマジラミの25% (3/12名) に*B. quintana*遺伝子が認められ、本調査において、フィリピン・Los Banos市の女兒1名に寄生していたアタマジラミが*B. quintana*遺伝子を保有(保有率2.0%, 1/50)していたことは不思議ではない。大都市以外でもストリートチルドレンやスラム街に生活する未成年者の増加が大きな社会問題となってきた。

一方、日本国内においても幼稚園や小学校低学年層から採取したアタマジラミに関して塹壕熱の存在を明らかにすることは重要である。しかし、本調査では、*B. quintana*遺伝子はそれらアタマジラミからは全く検出されておらず、アタマジラミの寄生状況、あるいは学童の生活環境が国内外で大きく異なることが要因の一つと考えられた。しかしながら、世界的な環境変化と交通網の発達によって、*B. quintana*を取り込んだアタマジラミが国内に持ち込まれ、それらが原因となって塹壕熱の流行が起こる可能性も否定できない。*B. quintana*はシラミ類によって伝搬するが、輸血による直接的感染の可能性も示唆されている。従って、国内における塹壕熱対策を考える際には、シラミ類の駆除と患者の治療のみならず、保菌者からの輸血による感染防止も考えるべきであろう。シラミ類は主に衣類や頭皮に付着・寄生しているため、その移動範囲は人

の行動範囲とほぼ同じであり、蚊等の飛翔昆虫に比べると明らかに狭い。また、国内においては、コロモジラミを保有する路上生活者が保健所や医療機関、福祉施設等を利用する機会も多いため、その際に輸血歴等に関する情報を問診によって得ることも感染拡大の防止に役立つと思われる。

## E. 結論

公園内および半径 150m 以内の雨水マス全てに IGR を処理した場合、公園内 2ヶ所の人囀法によるヒトスジシマカの捕集数は撒布後の 7 月 21 日以降、4 週間毎の平均で 0.1~0.75 匹と平均捕集数が 1 匹以下を推移し、防除効果が明らかとなった。一方、防除対策を行っていない公園では、同期間の平均捕集数は 2.31~4.70 匹と高い値を示し、8 分間の最高捕集数は 10 月 4 日の G 公園 2ヶ所の合計が 73 匹に達した。デング熱やチクングニアが発生した場合の献血制限地域の設定に基礎的な資料を提供できたと考えている。

大阪市 N 区の医療機関を受診した路上生活者(42 歳以上)10 名から採取したコロモジラミの内 6 名由来のコロモジラミから *B. quintana* の遺伝子が検出され、42 歳男性の血餅からは *B. quintana* 遺伝子が検出された。一方、Los Banos 市では、貧困層の居住地に生活する未成年者 50 名のうち 1 名から採取されたアタマジラミに *Bartonella* 属共通遺伝子が認められた。しかし、日本国内 32 自治体から得られた 579 頭のアタマジラミからは *B. quintana* 遺伝子は検出されなかった。また、国内における塹壕熱対策を考えた場合、保菌者からの輸血による感染防止も考えるべきであろう。シラミ保有調査、ならびにそれら集団内における *B. quintana* 遺伝子保有調査は今後も継続する必要がある。



F. 健康危険情報

なし

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 関なおみ, 小林睦生. インターネットリサーチを用いたアタマジラミ症の実態調査. 病原微生物検出情報. 31(12): 350-351 (2010)
- 2) 富田隆史, 葛西真治, 駒形修, 小林睦生, 石井則久, 上里博, 平良清人, 平良勝也, 岡野祥. わが国におけるアタマジラミのピレスロイド系駆除剤抵抗性の発達状況. 病原微生物検出情報. 31(12): 352-354 (2010)
- 3) 佐々木年則, 星野啓太, 比嘉由紀子, 伊澤晴彦, 小林睦生, 沢辺京子, 川端寛樹, 佐々木次雄, 久保田眞由美, 荒川宜親, 関なおみ, 矢口昇, 平山幸雄, 吉田英樹. わが国の都市部における路上生活者より採取されたコロモジラミからの *Bartonella quintana* 検出例. 病原微生物検出情報. 31(12): 355-357 (2010)
- 4) 沢辺京子, 葛西真治, 富田隆史, 佐々木年則, 小林睦生, Arlene G Bertuso, Poudel Shree Kanta S. 日本と諸外国のアタマジラミにおける *Bartonella quintana* 遺伝子保有状況. 病原微生物検出情報. 31(12): 354-355 (2010)
- 5) 葛西真治, 関なおみ, 佐々木年則, 駒形修, 富田隆史, 小林睦生. 病原微生物検出情報. 31(12): 357-358 (2010)

2. 学会発表

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

3. その他

表1 公園内および周辺150m以内の幼虫防除が人囮法の成虫捕集数に与える影響

薬剤処理前 (6月1日～)	薬剤処理後			
	(7月21日～)	(8月17日～)	(9月13日～)	(10月12日～)
2.90 *	0.50	0.12	0.50	0.75
無処理				
2.20 **	2.61	2.31	4.68	4.70

\*9公園の72回の人囮法の平均捕集数    \*\*2公園の16回の人囮法の平均捕集数

表2 コロモジラミとアタマジラミにおける塹壕熱病原体遺伝子の検出

国	都市	塹壕熱病原体遺伝子陽性(%)		
		アタマジラミ	コロモジラミ	
日本	東京		10.0 (6/60)	Sasaki <i>et al.</i> 2004
ネパール	Pokhara <sup>1</sup>	9.5 (2/21)	20.0 (4/20)	Sasaki <i>et al.</i> 2006
日本	大阪 <sup>2</sup>		60.0 (6/10)	2009～
	32 都府県 <sup>3</sup>	0 (0/579)	-	2006～
フィリピン	Los Banos <sup>4</sup>	2.0 (1/50)	-	2010～

1:Street & Slum children, 2:Homeless people, 3:Nursery & Elementary school children (general)4:Youth (low income)