

201318029A (DVD 1枚有)

厚生労働科学研究費補助金

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

感染症を媒介する節足動物の分布・生息域の変化,
感染リスクの把握に関する研究

(H24—新興—一般—007)

平成25年度総括・分担研究報告書

平成26年3月

研究代表者 澤邊 京子

国立感染症研究所 昆虫医科学部

- ・デング熱の予防対策-蚊に刺されないためのビデオ-
- ・デング熱国内発生時の対応・対策の手引き

SONY

DVD-R
for DATA 4.7GB

目 次

I. 総括研究報告

- 感染症を媒介する節足動物の分布・生息域の変化、感染リスクの把握に関する研究
主任研究者：澤邊 京子（国立感染症研究所 昆虫医科学部 部長）・・・1

II. 分担研究報告

1. 東日本大震災の津波被災地における疾病媒介蚊発生状況調査：宮城県南部水田地帯と福島県南相馬市における被災3年目の状況
津田良夫・・・20
2. 東日本大震災被災地における2013年の疾病媒介蚊の発生状況
渡辺 護・・・26
3. 鳥取県における媒介蚊の発生状況調査
津田良夫・・・38
4. 日本国内における疾病媒介蚊調査
津田良夫・・・43
5. 能登半島輪島市三蛇山北斜面における疾病媒介蚊の発生調査
渡辺 護・・・49
6. 神奈川県および長野県におけるヒトスジシマカ成虫の飛来消長に関する研究
武藤敦彦・・・58
7. 長野県中部地域における感染症媒介蚊の分布調査
平林公男・・・68
8. 岩手県におけるヒトスジシマカ分布調査（2013年）
西井和弘・・・76
9. 富山県の市街地におけるマダニ類の生息調査
山内健生・・・82
10. 鳥取県、島根県、広島県におけるマダニ類の生息調査
山内健生・・・87
11. マダニ相に関する全国調査の試み
林 利彦・・・92

12. 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 伊澤晴彦	98
13. 日本脳炎ウイルスの病原性に関する研究と遺伝子型別検出法開発：日本脳炎 ウイルス国内分離株のゲノムと病原性の監視 高崎智彦	106
14. 感染症を媒介する節足動物の分布・生息域の変化、感染リスクの把握に関する研究 シラミ媒介性細菌 <i>Bartonella quintana</i> などの疫学研究 佐々木年則	114
15. 六甲山系で採取されたダニにおけるウイルス保有調査 林 昌宏	118
16. 成田国際空港におけるネッタイシマカの越冬可能性に関する実験的研究 津田良夫	123
17. 気象解析に基づく日本脳炎ウイルス媒介蚊コガタアカイエカの移動と分散に 関する研究 田中 淳	132
18. アカイエカ種群の九州地域の集団遺伝的解析 大塚 靖	142
19. トコジラミの有機リン剤抵抗性に関する全国調査 富田隆史	148
20. フタトゲチマダニ若虫に対する各種殺虫剤の効力評価に関する基礎研究 武藤敦彦	156
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	170

感染症を媒介する節足動物の分布・生息域の変化、感染リスクの把握に関する研究

研究代表者 澤邊京子（国立感染症研究所・昆虫医科学部・部長）

研究要旨

近年の地球温暖化の進行や、大規模自然災害による環境変化により、疾病媒介蚊の生息域拡大や発生数増大し、アルボウイルス感染症の発生リスクが高まっている。事実、チクングニア熱やデング熱の輸入症例は年々増加し、2013年は Zika 熱やロスリバー熱等の新たな蚊媒介性感染症の輸入症例も加わった。また、デング熱の国内感染疑い例が報道され、媒介蚊であるヒトスジシマカの国内分布調査や外来性蚊（ネッタイシマカ）の侵入監視の重要性が指摘された。既存の感染症対策に留意するとともに、新たな侵入感染症と媒介者への対策が求められている。そこで、国内において感染症を媒介する節足動物の分布・生息域の変化、ならびにそれらが保有する病原体のヒトへの感染リスクを把握することを目的とし、調査・研究を遂行した。これらの成果により、感染症媒介節足動物に対する総合的な厚生労働行政施策を策定するための科学的基盤および情報基盤の構築に貢献する。

1. 東北被災地およびその他国内各地における疾病媒介節足動物（蚊・マダニ）の分布調査：東北津波被災地における蚊の発生は減少傾向にあるものの、未だ被災前の状態には戻っていない。今後も監視が必要である。盛岡市内の調査地でヒトスジシマカの定着が5年連続で確認され、さらに北西への分布域拡大も示唆された。国内数カ所でヒトスジシマカの季節消長ならびに生息状況等の調査を進め、今夏危惧されるデング熱の国内発生への対策に向けた基礎的情報を蓄積している。また、主に SFTS 対策を目指したマダニ相の調査においては、一人30分間のフランネル法により、国内各地の市街地、河川敷や山脚部で捕集したマダニ類の季節消長および捕集数を比較することができた。

2. 媒介節足動物（蚊・マダニ・コロモジラミ）からの病原微生物（JEV、SFTSV、壱塚熱病原細菌バルトネラ菌）の分離・検出と検出法の開発：長崎県の定点で捕集されたコガタアカイエカから1型日本脳炎ウイルス（JEV）が分離されたが、現在アジア地域で蔓延している1型JEVに対する現行ワクチンの有効性も確認された。コロモジラミから壱塚熱バルトネラ菌遺伝子が検出され、患者のIgG抗体保有率も判明した。路上生活者の間で着実に壱塚熱が広まっている可能性が示唆された。一方、Great Island virus group に属するウイルス、および Uukuniemi 様 virus が国内のマダニから初めて分離され、マダニのウイルス保有状況調査を引き続き行う必要性が示唆された。

3. 媒介蚊に関する基礎的研究およびトコジラミの殺虫剤抵抗性に関する全国調査と殺虫試験：成田空港の屋外では、ネッタイシマカは冬季の低温によって死滅することが証明された。しかし、ビル内においては越冬監視が重要であると思われた。富山県、新潟県のコガタアカイエカの発生消長、NOAAの気象データ、気象庁の観測データ等から、本種蚊の国内外での長距離移動と分散を解析した。マイクロサテライト解析により、北部九州のアカイエカは一定の割合でネッタイシマカと同じハプロタイプを持っていることが示唆され、両種の遺伝的違いを明白にするためには、さらに広域での調査が必要であるとした。国内のトコジラミからアセチルコリンエステラーゼ（AChE）阻害剤に抵抗性の Y348(331)変異を有する個体を多数検出したが、現時点での拡散は軽微であると推測された。現在市販されている各種防疫用殺虫剤は、フタトゲチマダニ若虫に対して高い殺虫効力（致死率100%）を示すことが、野外での準実地試験法で確認された。

分担研究者： 高崎智彦 (国立感染症研究所ウイルス第一部・第二室長)
林 昌宏 (国立感染症研究所ウイルス第一部・第三室長)
津田良夫 (国立感染症研究所昆虫医科学部・第一室長)
林 利彦 (国立感染症研究所昆虫医科学部・主任研究官)
伊澤晴彦 (国立感染症研究所昆虫医科学部・第二室長)
富田隆史 (国立感染症研究所昆虫医科学部・第三室長)
山内健生 (富山県衛生研究所ウイルス部・主任研究員)
平林公男 (信州大学・繊維学部・教授)
大塚 靖 (大分大学・医学部・助教)

A. 研究目的

2011年3月の東日本大震災後の津波被災によって、冷凍倉庫から流出した魚介類から大量のクロバエ類が、瓦礫集積場ではイエバエが大発生した。また、津波被災地には多数の浄化槽や水溜まりが点在し、コガタアカイエカ・アカイエカ・トウゴウヤブカなどが多数発生した。この大震災がもたらす環境変化によって、日本脳炎 (JE) をはじめとするアルボウイルス感染症のリスク地域の拡大、ならびに消化器感染症の機械的伝播に關与するイエバエ・ネズミ等の病害動物の発生が危惧されてきた。本年は、津波被災地における3年目の現状把握を目標とした。

チクングニア熱やデング熱の輸入症例は年々増加し、2013年は Zika 熱やロスリバー熱等の新たな蚊媒介性感染症の輸入症例も加わった。媒介蚊の国内分布や成虫密度などに関する基礎的情報の蓄積が望まれているものの、全国規模の調査は行われておらず、突発して起こるかもしれない外来性感染症流行への対応は十分ではない。事実、昨年夏に日本国内を旅行したドイツ人旅行者が、帰国後にデング熱を発症した事例が報告され、今後同様の事例が発生した際には、迅速な媒介蚊対策の実施が求められる状況となった。我々のこれまでの調査で、国内でのヒトスジシマカ成虫密度は高く、その分布域

は徐々に北へ拡大していることを明らかにしたが、年平均気温が 11℃以下の地域が多い長野県でも定着が確認されている地点もあり、温暖化に伴って拡大すると予測されている。

一方、コガタアカイエカからの日本脳炎ウイルス (JEV) の分離と分離株の遺伝子解析、ならびに媒介蚊の生態・越冬生理など、国内に常在する JEV に対して種々の角度から解析を進めたが、コガタアカイエカが国内のどこで越冬するのか、長距離移動がどのようなルートで行われているのかなどの基本的な問題は未だ解決されていない。気象データと関連させて、コガタアカイエカの海外よりの飛来を考察する必要がある。

2013年1月に国内で初めて重症熱性血小板減少症候群 (severe fever with thrombocytopenia syndrome, SFTS) の患者が発生し、2013年だけで40名の患者 (うち13名が死亡) が報告された。これまでの調査で、複数種のマダニからウイルス遺伝子が検出され、遺伝子陽性マダニは全国に分布すること、ウイルス抗体価の高い野生動物が存在することなどが明らかになったが、SFTSウイルス (SFTSV) の感染環は依然として不明である。国内において、マダニ媒介性感染症は日本紅斑熱やライム病がよく知られており、流行地にあつては、マダニの捕集調査は熱心

に行われてきたが、主に病原体の検出を目標とした調査のため、統一された方法で評価されてはいない。本研究では、国内各地で統一した方法でマダニを捕集し、捕集数と種構成全国レベルで比較しようと考えた。また、植生マダニおよびイノシシ寄生マダニ類からは SFTSV を始めとするアルボウイルスの分離を試みた。また、現在市販されている各種防疫用殺虫剤の効力評価もマダニ対策として重要な課題である。

衛生害虫の殺虫剤抵抗性の発達状況は継続して調査する必要がある、特に津波被災地でのイエバエ、不快害虫としてのシラミやトコジラミの抵抗性の発達に関する調査・研究も重要な課題である。近年、成田国際空港に外来性の蚊（ネッタイシマカおよびネッタイエカ）の国際空港への侵入事例が頻発しており、これら侵入害虫の国内越冬の可能性を検討するとともに、侵入個体の鑑別や殺虫剤抵抗性遺伝子を簡便に鑑別する方法の開発が望まれている。また、国内外で被害が顕在化しているトコジラミに対しては、殺虫剤抵抗性機構の解明につながる全国調査を行い、媒介蚊に関する生物学的基礎的研究が重要である。

本研究事業は、国内の蚊の分布状況・病原体保有状況を調査し、外来性感染症の国内侵入を監視することで本邦産蚊による国内流行への備えと感染リスクを把握することを目指すものである。具体的には、1. 東北被災地およびその他国内各地における疾病媒介節足動物（蚊・マダニ）の分布調査、2. 媒介節足動物（蚊・マダニ・コロモジラミ）からの病原微生物（日本脳炎、SFTS、塹壕熱病原細菌バルトネラ菌）の分離・検出と検出法の開発、3. 媒介蚊に関する基礎的研究およびトコジラミの殺虫剤抵抗性に関する全国

調査と殺虫試験の3つの項目を策定した。

B. 研究方法

本研究は、代表研究者 澤邊、分担研究者 9 名（高崎智彦、林昌宏、津田良夫、林利彦、伊澤晴彦、富田隆史、山内健生、平林公男、大塚靖）が遂行した。本年度は当初の研究計画の中から、以下の 20 課題について報告する。

1. 東北被災地およびその他国内各地における疾病媒介節足動物（蚊・マダニ）の分布調査

(1) 蚊の調査：

東日本大震災津波被災地（岩手県、宮城県、福島県）および鳥取県における蚊の調査は、主に水田地帯と市街地を対象に、1 kg のドライアイス誘引源とする CDC 型ドライアイストラップによる成虫捕集と、柄杓法による幼虫採取により行った。同時に、捕虫網による吸血蚊の捕集も行った。長野県および神奈川県においては、ヒトに誘引されるヒトスジシマカを捕虫網で一定時間捕集する方法（人囿法）、ならびに CDC 型ドライアイストラップにより成虫を捕集した。また、市街地の小水域（寺院の花立てや線香立て、石の蹲、古タイヤに溜まった水など）を対象に、一定時間（約 5 分）内に幼虫を採取した。

(2) マダニの調査：

富山県下の市街地公園および河川敷において、フランネル法（90×150 cm 程度の白いネル布を用いて下草や地表を撫でながら歩く）によりマダニを捕集した。1 地点において、1 人が 30 分間のフランネル調査を行なった。ネル布に付着したマダニ類をピンセットにより全て回収し、実体顕微鏡及び光学顕微鏡下で分類・計

数した。広島県および島根県での調査では、マダニ類の季節消長を調べるため、少なくとも月に1回程度の定期的な調査をフランネル法により行なった。さらに、狩猟で得られたニホンジカや飼育されていたイヌ、ならびに子供の体表に寄生していたマダニ類を目視で採取した。

上述したフランネル法による全国調査においては、24都道府県の、それぞれマダニと人との接触が予想される環境を想定し、合計55地点を選定した。調査地の温度・湿度を測定し、野生動物の存在等も含めた周辺環境の情報をできるだけ多く入手することを心がけた。

2. 媒介節足動物（蚊・マダニ・コロモジラミ）からの病原微生物の分離・検出と検出法の開発

(1) 蚊からのウイルス分離：

コガタアカイエカは、捕虫網、吸虫管、CDC型ドライアイストラップ等により捕集した。捕集蚊は捕集地および捕集日ごとに最高25個体までを1プールとし、2%牛胎児血清および0.2 mM 非必須アミノ酸液を添加したイーグル最少培地中で破碎した。遠心上清をヒトスジシマカ由来 C6/36細胞に接種し、細胞変性効果（CPE）の出現の有無を確認しながら7日間培養した。その後少なくとも2代盲継代を繰り返した後、培養上清から核酸を抽出し、JEV、コガタアカイエカラブドウイルス（CTRV）を始め、既知のウイルスゲノムの検出を逆転写(RT)-PCR法により試みた。得られたゲノム断片を用いて遺伝子解析を行った。

(2) マダニからのウイルス分離：

国内で捕獲されたイノシシの被毛から採取されたマダニ類、およびイノシシ生息域周辺でフランネル法により捕集されたマダニ類よりウイルス分離を行った。

マダニは1~52頭を1プールとし、合計630プールを作製した。概ね蚊からのウイルス分離方法に準じてマダニ乳剤を作製し、哺乳類由来細胞 Vero 細胞および BHK-21 細胞に接種した。盲継代後の培養上清より核酸を抽出し、RT-PCR法によりフラビウイルス属およびブニヤウイルス属ウイルスを検索した。CPEを呈した培養上清からは核酸を抽出し、次世代シーケンサーによる大量解析を行った。

(3) コロモジラミおよび塹壕熱バルトネラ菌の疫学調査：

東京都済生会中央病院との共同で、初診時にシラミが見つかった住所不定者、あるいは生活保護受給者を対象に、コロモジラミを採取した。患者カルテからは患者の基本情報および臨床情報を入手した。シラミ陽性患者からは、血液検体およびシラミを回収し、シラミはヨード・エタノールで滅菌後に2分割し、一方を *Bartonella* 属、あるいは *B. quintana* 特異的 PCR を行った。残りは羊血液寒天培地に塗布し1ヶ月から3ヶ月間培養した。血液に対して ELISA 検査を行い、分離株の薬剤感受性検査も同時に行った。コロモジラミの採取、採血、アンケートへの回答は、患者本人への説明後、同意を得て提供された。

(4) JEV 分離株の現行 JEV ワクチン株に対する感受性評価：

ワクチン接種用のマウスは、国家検定にも使用されている ddY 系統（4週齢、メス、SPF）、接種ワクチンは中山株および北京株より製造された日本脳炎ワクチンを使用した。これらのワクチンをマウス1匹あたり 500 μ l ずつ10匹に接種した。1週間後に同量を追加接種、その1週間後に全採血し、中和反応に使用するプール

血清を得た。中和反応の攻撃用ウイルスとして、中山株と北京株、遺伝子型 3 型野外株 (11 株)、合計 16 株を使用した。中和解析は Vero 細胞を用いてプラーク減少法で行った。各条件における減少率を算出しウイルス間で比較した。攻撃ウイルスの抗原量は抗 JEV E 蛋白抗体を用いたウエスタンブロット法により確認した。

3. 媒介蚊に関する基礎的研究およびトコジラミの殺虫剤抵抗性に関する全国調査と殺虫試験

(1) ネットアイシマカの越冬に関する研究：

2012 年、2013 年にネットアイシマカの侵入が確認された成田国際空港では、ターミナルビル屋内のプランターや観賞用植物設置場所を実験場所として選び、2012 年 12 月 14 日から 2013 年 3 月 21 日の間、濾紙に産卵させた室内維持系統ネットアイシマカの卵塊あるいは孵化幼虫を外気条件下に曝露して生存率を調査した。調査期間中は温度と相対湿度を 1 時間おきに記録した。

(2) コガタアカイエカの国内分散に関する研究：

2010 年～2013 年に新潟県 (新潟市保健衛生部が実施) および富山県 (富山県衛生研究所が実施) の定点で CDC 型ドライアイストラップによりコガタアカイエカを捕集した。捕集日の気象庁の指定気圧面観測データおよび NOAA (アメリカ海洋大気庁) の気象データ (解析モデル：Hybrid Single Particle Lagrangian Integrated Trajectory Model) により、高層観測等と高度 100 m から 3,000 m の後方・前方流跡線の気象解析を行った。定点の発消長との関係性を評価し、本種蚊の国内外からの移動と分散を考察した。

(3) アカイエカ種群の集団遺伝的解析：

九州3県 (福岡県、長崎県、大分県) の合計17所で、Ovitrapまたは雨水マス等で幼虫・蛹を採集した。実験室で羽化させた成虫からDNAを抽出し、Kasai et al.

(2008) によりアカイエカ、チカイエカ、ネッタイエカに鑑別した。その後、これまで使用した5領域 (CxqGT4、CxqGT6b、CxpGT4、Cxp GT12、CxpGT51) によるマイクロサテライト鑑別を行った。さらに ligation- mediated suppression PCR (Lian et al., 2001) を利用して新規のマイクロサテライト領域を検索した。

(4) トコジラミの有機リン剤抵抗性に関する全国調査：

トコジラミは、2010 年～2013 年に全国から収集した個体、および殺虫剤感受性の帝京大系統 (TKD)、AChE 阻害剤抵抗性の防府コロニー (HOF) を用いた。酵素阻害実験においては、Ellman ら (1961) による「AChE 活性の比色検出法」の原法をマイクロプレートリーダーによる測定に適合するように改変した方法により AChE 活性を測定した。

(5) マダニに対する殺虫剤の効力評価：

フタトゲチマダニ若虫 (住化テクノサービス株式会社より分譲) に対する殺虫剤 17 剤の効力を、準実地試験により評価した。内径 8.5 cm、深さ 5.5 cm のガラス製腰高シャーレの底面にろ紙を敷き、各 8～10 頭のマダニを入れた。炭酸ガス製剤の場合は、地表面から 10 cm 高に配置した。乳剤、水性乳剤、フロアブル剤およびマイクロカプセル剤の場合は、用量通りに全自動噴霧機を用いて試験区に均一に噴霧処理した。炭酸ガス製剤の場合は、地上から約 50 cm の高さから試験区に向けて扇状に噴射処理した。処理 30 分後にマダニを

容器から回収し、苦悶状況を観察した。その後、1、3、7、10、14日後に回収し、致死、瀕死および苦悶状況を観察、14日後以降は致死するまで観察を継続した。

C. 結果

1. 東北被災地およびその他国内各地における疾病媒介節足動物の分布調査

1) 2013年6月から9月に宮城県南部（岩沼市）と福島県南相馬市の水田地帯を対象として、疾病媒介蚊の発生状況を調査した。宮城県南部では合計9種類、5,405個体、福島県南相馬市では合計10種類6,297個体の成虫が採集された。採集された種類は過去2年間の調査とほぼ同様であったが、種構成には大きな変化が認められた。両県とも2012年に比べてコガタアカイエカの発生量は著しく増加し、過去3年間で最も多く採集された。イナトミシオカの捕集数は、宮城県南部および南相馬市において、2011年よりも明らかに減少していた。ヒトスジシマカは、2011年、2012年と同様に、津波被害を受けなかった地域の方が密度は高かったが、その差は小さくなっていた。地表にできた水域ではイナトミシオカ、コガタアカイエカ、ハマダラカ類などの発生が続いており、アカイエカやイナトミシオカ幼虫の発生率が年々高くなっている集落跡地も残存した。

2) 岩手県陸前高田市、宮城県気仙沼市、石巻市において、5月から10月まで6回の発生調査を行った。成虫調査では、アカイエカ、イナトミシオカ、コガタアカイエカ、シナハマダラカ、トウゴウヤブカが捕集されたが、2012年に比べ、アカイエカは明らかに減少し、他方イナトミシオカなど他の種は横這いか増加した。幼虫は津波で被災した様々な溜水環境か

ら昨年に引き続き採集されたが、前年に比べ減少傾向がみられた。アカイエカとトウゴウヤブカは露出した便槽・浄化槽の撤去に伴い明らかに減少した。イナトミシオカは被災耕作放棄水田などからの発生が引き続き多くみられた。撤去が遅れている便槽・浄化槽などからアカイエカが多数採集された。2013年は全般的には2012年に比べ、蚊の発生は減少したと思われ、その原因は被災地の更地化に伴う溜水環境の減少が大きいと推察された。

3) 2013年5月、7月、8月にCDC型ドライイストラップによって、鳥取県の4ヶ所で合計10種類3,298個体の成虫が採集された。この中でアカイエカ群、コガタアカイエカ、ヒトスジシマカ、カラツイエカ、オオクロヤブカの5種類の捕獲数が多く、この地域の優占種であることがわかった。また、キンイロヌマカが鳥取県に生息することがはじめて確認された。調査地の一つである鳥取大学構内のトラップには、6種類の蚊が採集され、この地方に生息する代表的な蚊が採集できる場所であると思われた。サギの営巣コロニーが作られている湖山神社では、捕虫網による採集で多数の蚊が捕集され、特にアカイエカ群の捕獲数が多かった。

4) 2013年10月7日から11日までに宮城県南部における蚊相調査により、19種437個体が捕集された。多く捕集された成虫はシロハシイエカであり、次いでヤマトクシヒゲカであった。リヴァースシマカやアシマダラヌマカなど熱帯地方に多い種も捕集され、豊富な蚊相を有することがわかった。捕集地点周辺の多様な環境が種々な発生源を創出し、豊富な蚊相を支えていることが示唆された。

5) 渡り鳥や迷鳥の飛来が知られている能登半島において CDC トラップ 12 台を 5 月から 9 月まで、毎月下旬に 5 回設置して発生調査を行った。12 種 455 個体の蚊が捕集され、そのうちコガタアカイエカが最も多く、次いでトウゴウヤブカ、ヒトスジシマカ、オオクロヤブカが捕集され、ヤブカ類が多い傾向が見られた。トウゴウヤブカが海岸に近い定点で相当数が捕集され、東日本大震災被災地に比べても多い。海岸の磯地帯に幼虫の生息に適した海水混じりの溜りの多いことが関与していると推察された。

6) 神奈川県大磯町では 5 月 12 日、長野県上田市では 6 月 12 日にヒトスジシマカの飛来が確認され、大磯町では 7 月中旬～10 月中旬、上田市では 7 月中旬～9 月中旬にかけて飛来が多い状態が続き、終息確認日は大磯町で 11 月 9 日、上田市で 10 月 12 日であった。両地点間の飛来開始日と終息日の違いは、気温の違いによると考えられた。上田市の調査地別の飛来開始日と終息日は、4 年間の調査で 6～13 日の差があったが、開始日、終息日はほぼ一定していた。一方、大磯町では、2013 年の飛来開始および終息日は、いずれも 4 年間で最も早かった。

7) 長野県松本市においては、合計 127 頭が捕集されたが、ヒトスジシマカが全体の 65% を占め、次いでアカイエカ群 (14%)、コガタアカイエカ (9%) であった。一方、諏訪湖周辺域では 89 頭中、コガタアカイエカ (46%)、アカイエカ群 (34%)、ヒトスジシマカ (3%) の順に捕集された。両地点ともにヒトスジシマカの定着が確認されたが、捕集数には顕著な差が認められた。標高 (年平均気温) の違い、侵入年代の違いが反映されていると考えられ

た。一方、先行研究で確認されたキンイロヤブカ、ヤマトヤブカ、ミスジハボシカ、トラフカクイカ、ミツホシイエカなどは今回採集できなかった。

8) 2010 年～2012 年において盛岡市で確認されたヒトスジシマカの分布地域及びその周辺地域で、ヒトスジシマカの生息状況を調査した結果、2009 年に初めて捕集され、2010 年には拡散と定着が推定された調査地で本年もヒトスジシマカが捕集され、盛岡市での定着が 5 年連続で確認された。また、それより北西に位置する地点でもヒトスジシマカが確認された。東北地方の主要幹線道路が貫通し県庁所在地でもある盛岡市では、生息地からのヒトスジシマカの移入も頻繁で、温暖化や、ヒトスジシマカの生態的適応や社会・経済的環境の変化に伴い分布の北上・定着を繰り返しつつ、徐々に北上を続けていると推察された。

9) 2013 年 4 月から 10 月まで、富山市内の公園 (3 地点) と河川敷 (6 地点) で、フランネル法により植生上と地表のマダニ類を捕集した。公園ではキチマダニとフタトゲチマダニが捕集されたが、捕集数は少なかった。河川敷ではイスカチマダニ、キチマダニ、フタトゲチマダニ、およびキジチマダニが捕集された。河川敷では 5 月にフタトゲチマダニ若虫が、8 月末から 9 月初旬にかけてキジチマダニ若虫が多く採集された。イスカチマダニとキジチマダニは北陸地方で初めて採集された。本調査結果から、市街地の公園と河川敷にもマダニ類は広く分布すると推測された。

10) 鳥取県西部と島根県東部では、2013 年鳥取県西部と島根県東部では、2 種の鳥

取県新記録種を含む 11 種のマダニ類が採集された。広島県では 7 種のマダニ類が採集された。広島市安佐北区のニホンジカ生息地では、9 月下旬から 10 月上旬にかけて、優占種がフタトゲチマダニからオオトゲチマダニへ劇的に変化することが示された。ニホンジカ生息地では春から秋にかけてフタトゲチマダニの密度が非常に高くなることから、この時期にニホンジカ生息地を訪れる際にはフタトゲチマダニによる刺症に注意することが望ましいと結論された。

11) 2013 年 10 月～11 月に、調査地 1 か所につき、一人 30 分間のフランネル法を統一した捕集方法とし、全国規模の一斉調査を行った。その結果、北海道ではヤマトニのみが採集された。本州と九州地方ではキチマダニが優先種であったが、それ以外に、本州ではオオトゲチマダニ、九州ではタカサゴチマダニが多く採集された。また、隣接した調査地であっても、構成が大きく異なる地域があることも明らかになった。

2. 媒介節足動物からの病原微生物の分離・検出と検出法の開発

12) 2011 年は石川県七尾市および熊本県合志市、2012 年は長崎県諫早市および群馬県前橋市の畜舎とその周辺においてコガタアカイエカを捕集した。捕集蚊は最高 25 個体までを 1 プールとして乳剤を調製し、C6/36 細胞を用いてウイルス分離を試みた。その結果、長崎県諫早市捕集蚊の 1 プールから JEV が分離された。分離株のゲノム中のエンベロープ (E) 領域の遺伝子配列を解析した結果、ウイルスの遺伝子型は 1 型であり、近年日本を含む東アジア地域で報告されている株と遺伝的に極めて近縁であることが確認された。

13) 現行の日本脳炎ワクチンで免疫したマウスの血清を使用し、1960 年代から 2000 年代に国内で分離された JEV 野外株を用いた中和能解析を行った。ワクチン株に対する中和能が最も高かったものの、野外株間では特に顕著な差異は認められなかった。また、遺伝子型間 (1 型および 3 型) においても、株によっては 3 型よりもむしろ 1 型の JEV のほうがワクチンに対する感受性が高い傾向がみられることもあったが、顕著な差異とは言いがたいレベルであった。

14) 東京都済生会中央病院には、東京都内から多数の路上生活者が運び込まれ、現在までに、16 名のコロモジラミを持つ患者から、血液およびシラミの提供や臨床情報の提供を得ることができた。血液、血餅、シラミから *B. quintana* 遺伝子を検出したところ、血液 3 サンプルは全て陰性であったが、血餅 9 サンプルは全て陽性、シラミ 6 サンプルも全て陽性であった。*B. quintana* に対する抗体保有率は 10% であった。血液から *B. quintana* は分離されなかったが、*Acinetobacter baumannii* が分離された。シラミや血餅から *B. quintana* が検出されているが血清抗体価が上がっていない患者が少なからず存在しており、今後 *B. quintana* の遺伝子、分離、抗体保有率等を整理していく必要があることが示唆された。

15) 国内で捕獲されたイノシシおよびイノシシの生息域周辺から採取されたダニにおけるウイルス保有状況の調査を行った。その結果細胞培養を用いたウイルス分離においてこれまで日本においてその存在が知られていなかった Great Island virus group に属するウイルスおよび Uukuniemi 様 virus をダニサンプルより

分離した。またこれらのウイルスは乳飲みマウスに対してそれぞれ毒性を呈した。よって今後これらサンプルについて詳細な検討を行う必要性が示された。

3. 媒介蚊に関する基礎的研究およびトコジラミの殺虫剤抵抗性に関する全国調査と殺虫試験

16) 成田空港ビル内の4ヶ所と屋外の2ヶ所に、温湿度記録計とともにネッタイシマカの卵および幼虫を設置した。卵の孵化率は61~77%と予想外に高かったが、孵化幼虫の死亡率は非常に高く、屋外条件下では孵化幼虫はすべて死亡した。他の実験場所の孵化幼虫の死亡率は、屋内で0.863~0.994% (成虫まで育った個体は0.4~8%)、屋外では、幼虫、孵化幼虫のいずれもすべて1週間以内に死亡した。孵化幼虫の発育と平均温度の関係から幼虫の発育が停止する平均気温を推定したところ10.6°Cであった。1週間の曝露期間中に蛹または成虫まで発育した4日令幼虫の割合から、幼虫発育が起こらず蛹まで発育した割合がゼロになる平均気温は11.6°Cと推定された。国内7つの主要国際空港のうち那覇空港は一年を通じてネッタイシマカの発育が可能な温度条件が満たされていることが明らかになった。

17) 2010年~2013年に新潟市内の定点である豚舎で行った捕集結果と、富山県衛生研究所が定点の畜舎で行った本種蚊の捕集結果から、捕集ピークが同じ日、あるいは富山県が1日早いという傾向が認められ、捕集ピークの約1ヶ月前に若干の捕集数の増加があることが分かった。2010年より新潟県と富山県の捕集ピーク時のNOAA (アメリカ海洋大気庁) による上空約1,000 m (900 hPa 付近) の後方流跡線と気象庁の指定気圧面観測データ

の解析から、同じ気流で飛翔又は移動してきた可能性があるかと推察された。近年のウイルス分離株とコガタアカイエカの遺伝子解析から、そのどちらも海外から侵入している可能性が強く示唆された。

18) マイクロサテライトマーカーを用いて九州地方北部(福岡県、長崎県、大分県)のアカイエカ種群の集団間の変異を調べた。8領域について検討した結果、日本産アカイエカにはネッタイエカのハプロタイプとする領域が0.6~20.3%含まれていた。アセチルコリンエステラーゼ領域の種特異的プライマーセットでこれら集団を調べたところ、日本産アカイエカにはネッタイエカのハプロタイプが20.3%含まれることが分かった。これらを合わせた9領域の遺伝子頻度の違いから、福岡のアカイエカ集団ではネッタイエカのハプロタイプの割合がやや少なかったが、有意な差は認められなかった。これらの結果は、北部九州のアカイエカは一定の割合でネッタイエカと同じハプロタイプを持っていることを示しており、アカイエカとネッタイエカの遺伝的違いを明らかにするために、さらなる広域での調査が必要であることが示唆された。

19) 国内で唯一、数種AChE阻害剤に抵抗性であるトコジラミ飼育コロニー(防府コロニー:HOF)に対して、粗酵素液を用いた酵素阻害試験を行った。その結果、 10^3 倍レベルのフェニトロオクソン IC_{50} 値低下で示されるAChEの感受性低下が示された。次いでAChE遺伝子(*p-Ace*)のコード配列を感受性系統と比較した結果、一つだけ、活性ゴルジ内のアシル結合部位にF348(331)Yアミノ酸置換変異が存在した。この点突然変異を標的とする分子ジェノタイプング法を設計し、27都道府

県より 2010 年以降に採集された 98 コロニー分のトコジラミ試料を解析した結果、HOF も含め 4 コロニーに Y348(331)変異を保有する個体が同定された。現時点では、AChE 阻害剤に対する作用点変異に基づく抵抗性コロニーの拡散は軽微であると推測された。

20) ゴキブリおよび/またはイエダニに対する効能が承認されている医薬品および医薬部外品防疫用殺虫剤のフタトゲチマダニ若虫に対する殺虫効力を、野外での準実地試験法により評価した。その結果、殺虫剤によって致死にかかる日数などに差は見られるものの、全ての試験区において最終的な致死率は 100%となり、現在市販されている各種防疫用殺虫剤のフタトゲチマダニ若虫に対する高い殺虫効力が確認された。

D. 考察

1. 東北被災地およびその他国内各地における疾病媒介節足動物の分布調査

東北被災地では、津波によってできた塩性湿地を発生源とするイナトミシオカの発生が年々減少し、アカイエカ群の発生量も 2011 年よりも減少していることが分かった。しかし、その傾向には地域差があり、幼虫の発生源である農耕地の復旧の進み具合が影響していると推察された。これらの蚊の防除は、住居周辺の環境整備を早急に進めることが有効である。一方で、2013 年のコガタアカイエカの発生密度が非常に高かった原因は不明である。本種は JEV の重要な媒介蚊であるため、今後も継続的な調査研究によって密度の推移を注意深く監視し、密度変動の原因を明らかにすることが重要である。

2013 年夏にはデング熱の国内感染疑い例が報道され、媒介蚊であるヒトスジシ

マカの国内分布調査や外来性蚊（ネッタイシマカ）の侵入監視の重要性が指摘された。国内各地でヒトスジシマカの分布調査を実施しているが、特に東北地方の調査において、2012 年の北限であった盛岡市内の調査地が 2013 年には定着が確認された地点となり、さらに北西に拡大傾向にあると推察された。ヒトスジシマカは、地球温暖化などによる気温の上昇に伴う分布域の拡大が予想される一方、北限地域においては各年の気温の変化の影響を受けて、分布が縮小・拡大しつつ、定着域を拡大していくと考えられている。本種蚊の寒冷地適応による分布拡大の可能性も否定できない。生物学的適応性も考慮に入れ、また、GIS を利用した気温データとの関連も検討し、今後も長期的に監視を継続することが重要である。

SFTS 対策の一環として、マダニ相の調査が全国規模で望まれているが、本調査で、環境によってマダニ相が大きく異なることが示された。これは環境によって吸血源となりうる動物の種構成や密度が異なることが大きな要因であると推測されるが、宿主以外の要因（例えば、植生、日照など）が関係していることも考えられる。また、ウシやシカが生息しない市街地の公園や河川敷でもマダニ類は生息していることが示された。フタトゲチマダニは人体刺症の原因となり、日本紅斑熱や重症熱性血小板減少症候群を媒介する可能性も指摘されていることから、山林へ行かずともマダニ刺症被害が発生することに留意しなければならない。

2. 媒介節足動物からの病原微生物の分離・検出と検出法の開発

長崎県の調査地では、過去にも同時期の捕集蚊から高率に JEV が分離されており、本地域は毎年 JEV の活動が活発な地

域であると言えよう。現在では、ワクチンの普及や生活環境の変化により、ブタの感染状況と患者発生は必ずしも一致しないが、JEV が蔓延していると推測される地域では、JEV に対する免疫が低い周辺住民への感染リスクは依然として高いと推定される。現行の JE ワクチンは 3 型株から製造されたものであるが、日本国内に蔓延している JEV のほとんどは 1 型と考えられており、一部海外からの指摘で、3 型由来のワクチンは 1 型に対する効果が低いとの報告があった。しかし、本研究で、株間や遺伝子型間でワクチン効力に有意差はなく、現在蔓延している JEV に対しても現行ワクチンの効果は維持されると結論されたことは重要な知見である。このように、国内においてはワクチンの定期接種により効果的な感染阻止が図られているが、ワクチン接種が行われていない国や地域からの渡航者が日本国内で日本脳炎に感染するリスクはより高くなると考えられる。このため、今後急速に増加が見込まれる海外からの渡航者に向けた日本脳炎の感染リスクの周知と防蚊対策の啓発も重要である。

国内捕集のマダニ類から、レオウイルス科オルビウイルス属 (Great Island virus group に属するウイルス) とブニヤウイルス科フレボウイルス属 (Uukuniemi virus に近縁) のそれぞれ新規のウイルスが分離されたが、これらの分離ウイルスからそれぞれ乳飲みマウスに対して毒性を示すウイルスも得ることができた。マダニ媒介性の Great Island virus group のウイルスのうち、Kemerovo ウイルス (KEMV)、Tribec ウイルス (TRBV)、Lipovnik ウイルス (LIPV) はヒトに感染し、特に KEMV はヒトに稀に脳炎を起こすことが知られ、TRBV および LIPV は実験的にアカゲザルに髄膜炎を起こすとされている。一方、

Uukuniemi virus に近縁の Bhanja ウイルス (BHAV) はダニによって媒介される神経系ウイルスであり、ヒトに稀に熱性疾患および脳炎を起こすこともあることから、今後は、これら分離株のウイルスの性状解析あるいは成マウスに対する毒性解析を進める必要があると考えている。

コロモジラミおよび塹壕熱バルトネラ菌の疫学調査は、東京都済生会中央病院との共同で、当院に運び込まれる救急患者を対象に調査を進めている。患者からのコロモジラミの採取、患者の基本情報・臨床情報の入手、血液採取、等の各項目がスムーズに進められており、調査開始初年度にもかかわらず、現在までに 16 名のコロモジラミを持つ患者から、血液およびシラミの提供や臨床情報の提供を得ることができた。今後はさらに検体数を増やし、*B. quintana* の遺伝子、分離、抗体保有率等を整理していく予定である。

3. 媒介蚊に関する基礎的研究およびトコジラミの殺虫剤抵抗性に関する全国調査と殺虫試験

近年、国内への侵入事例が多発しているネッタイシマカの幼虫の低温耐性に関する実験を行った。既存の報告と成田国際空港が位置する地域の冬季の平均気温を考慮すると、成田国際空港周辺の冬の平均気温 (10℃以下) では、ネッタイシマカは死滅すると推測された。一方で、ビル屋内は冬季でも平均 13.9℃~19.4℃に保たれていることから、冬季の屋内では幼虫が蛹・成虫まで発育できることも確認された。従って、空港ターミナルビルの内部は一年を通じてネッタイシマカが生息可能な場所と考えて、発生源となりうる人工容器に対する監視を行うことが重要と思われる。国内の主要 7 国際空港のうち、那覇空港では一年を通じてネ

ツタイシマカの発育が可能な温度条件が満たされており、本種の侵入・定着に対する注意深い監視が望まれる。

近年、トコジラミの被害は世界中で急増しており、国内の公共施設や一般家庭からも吸血被害の苦情が多くよせられるようになってきた。トコジラミは直接は感染症を媒介しないとされているが、早期に適切に対応することが必要である。そこで、国内 98 コロニーより採取されたトコジラミの殺虫剤抵抗性に関連する *p-Ace* の変異遺伝子の保有を調べた結果、4%のコロニーから変異遺伝子が検出された。現在の国内のほとんどのコロニーに対してトコジラミ適用のある有機リン系・カーバメイト系の殺虫剤が有効である可能性が示唆された。本研究で考案された AChE 変異遺伝子の分子ジェノタイプング法など簡易な試験法に基づき、今後もトコジラミ集団の AChE 阻害剤の有効性につき監視を続ける必要がある。

マダニ対策の一環として、各種防疫用殺虫剤を野外に散布する場合を想定し、フタトゲチマダニ若虫に対する殺虫効力を検討した。標準的な処理量を散布したすべての殺虫剤に関して、処理 3 日後までの瀕死を含む致死率はすべて 100% であり、その後の経過観察でも蘇生が見られず致死していたことから、供試したすべての殺虫剤を残留噴霧の用量で処理した場合、野外に生息するフタトゲチマダニに対して十分な効果を発揮することが示唆された。また、速効性に関しても実用性に問題はないものと考えられた。今後は、実際マダニ類が多数発生している場所で殺虫剤を使用し、その効果の持続性を検討するこおを計画している。

コガタアカイエアおよびアカイエカ種群の海外からの侵入と定着に関する研究では、各種蚊の国内の発生調査はもとよ

り、詳細な気象解析をもとに移動経路を推定室置。また、マイクロサテライト解析等による、アカイエカ種群の鑑別法を開発するなど、基礎的データの蓄積に努めている。今後も継続調査・研究を続ける予定である。

本研究の成果として、「マダニ対策、今できること」と題した一般向けリーフレットを感染症研究所ホームページ上に掲載した (<http://www.nih.go.jp/niid/ja/sfts/2287-ent/3964-madanitaisaku.html>)。また、地方自治体担当者を対象にした技術研修会「第 2 回蚊類調査に係る技術研修」を 2013 年 5 月 30 日～31 日に実施した。デング熱国内感染疑い例が発生したことによる国民、地方自治体への啓発として、国内に分布するヒトスジシマカ対策を念頭に置き、「デング熱媒介蚊対策ガイドライン」を作成し、関係機関に配布した。

今年度もほぼ計画通りに研究を進めることができた。次年度も同様の主任研究者および分担研究者で研究を遂行する予定である。

E. 結論

1) 2013 年の調査で捕集された蚊の種類は過去 2 年間の調査とほぼ同様であったが、種類構成にはかなり大きな変化が認められた。特にコガタアカイエカの発生量は著しく増加し、イナトミシオカは減少傾向にあった。ヒトスジシマカは津波被害を受けなかった地域の方が密度は高いものの、被災地との差は小さくなった。地表にできた水域では依然としてイナトミシオカ、コガタアカイエカ、ハマダラカ類などの発生が続いている。

2) 蚊成虫調査から、被災地はまだ蚊の発生は多い状況にあることが示唆された。

一方、アカイエカとトウゴウヤブカの幼虫は明らかに減少したが、イナトミシオカは被災耕作放棄水田などからの発生が引き続き多くみられた。撤去が遅れている便槽・浄化槽などからは依然として多数のアカイエカが採取された。2013年の蚊の発生は、2012年より減少したと思われるが、被災地の更地化に伴う溜水環境の減少が大きいと推察された。しかし、未だ被災前の状態には戻っていないことから、今後も監視が必要である。

3) 鳥取県の4ヶ所で合計10種類3,298個体の成虫が採集された。この中でアカイエカ群、コガタアカイエカ、ヒトスジシマカ、カラツイエカ、オオクロヤブカの5種類の捕獲個体数が多く、これらの蚊がこの地域の優占種であることがわかった。また、キンイロヌマカが鳥取県にも生息することがはじめて確認された。鳥取大学構内の古墳跡は、この地方に生息する代表的な蚊が採集できる場所であると思われた。サギの営巣コロニーが作られている湖山神社は、この周辺で生活するアカイエカ群の吸血源動物を調査するのに適した場所であることがわかった。

4) 宮崎県南部で行った蚊相調査では、合計19種437個体を捕集した。最も捕集数が多かった種はシロハシイエカであった。串間・日南市周辺では18種類の蚊が捕集され、豊富な蚊相を有することがわかった。調査地が温帯気候と亜熱帯気候の境界に位置することから、今後の継続した調査により、生息蚊の全種類を明らかにすることが望まれる。11種64個体を乾燥標本とDNAバーコーディング試料として採取した。

5) 渡り鳥や迷鳥の飛来が知られる能登半島において12種455個体の蚊が捕集されたが、その67%がコガタアカイエカ、15%がトウゴウヤブカ、7%がヒトスジシマカであった。トウゴウヤブカが海岸に近い定点で相当数捕集され、東日本大震災被災地に比べても多い状況であった。トウゴウヤブカ幼虫の生息に適した海水混じりの溜りが海岸の磯地帯に多いことが関与していると思われる。ヒトスジシマカが3番目に多く捕集されたことは注目に値する。

6) ヒトスジシマカのヒトに対する吸血飛来期間は、神奈川県大磯町で5月中旬、長野県上田市では6月中旬、終息は前者が11月上旬、後者が10月中旬であった。飛来が多い期間は、前者が7月中旬から10月中旬、後者が7月中旬から9月中旬であった。これらの地域では、上記の感染症発生時には、7月～10月または9月を防除実施の重点期間と考えればよいと推察された。年次変動が予想されるため、日本各地で同様な調査によりデータの蓄積が必要と考える。

7) 松本市周辺地域においては、ヒトスジシマカの定着が確認された。諏訪市、岡谷市においても、松本市周辺地域と比較して相対的に捕獲数は少ないが、ヒトスジシマカの定着が確認された。両地域におけるヒトスジシマカの捕獲数の違いは、標高(年平均気温)の違いが示唆され、各地域に侵入したヒトスジシマカの年代の違いが反映されている可能性が考えられた。

8) 盛岡市でのヒトスジシマカの定着が5年連続で確認された。また、それよりさらに北西に位置する地点でもヒトスジシマカが採取されており、分布域のさらなる

る拡大が示唆された。東北地方の主要幹線道路が貫通し県庁所在地でもある盛岡市では、生息地からのヒトスジシマカの移入も頻繁で、温暖化や、ヒトスジシマカの生態的適応や社会・経済的環境の変化に伴い分布の北上・定着を繰り返しつつ、徐々に北上を続けていると考えられる。特に盛岡市の中心部への定着も懸念されることから、今後とも生息状況を確認することは、防除対策上重要である。

9) 富山市内の公園（3地点）と河川敷（6地点）において、フランネル法により植生上のマダニ類を採集した。公園ではキチマダニとフタトゲチマダニが採集されたが個体数は少なく、一方、河川敷ではイスカチマダニ、キチマダニ、フタトゲチマダニ、及びキジチマダニが採集され、5月にフタトゲチマダニ若虫が、8月末から9月初旬にかけてキジチマダニ若虫が多かく採集された。本調査結果から、市街地の公園と河川敷にもマダニ類は広く生息するものと推測された。

10) 鳥取県西部と島根県東部では、2種の鳥取県新記録種を含む11種のマダニ類が採集された。広島県では7種のマダニ類が採集された。一方、広島市安佐北区のニホンジカ生息地では、9月下旬から10月上旬にかけて、優占種がフタトゲチマダニからオオトゲチマダニへ劇的に変化することが示された。春から秋のフタトゲチマダニの密度が非常に高くなる時期にニホンジカ生息地を訪れる際には、フタトゲチマダニによる刺症に注意する必要がある。

11) 2013年10月～11月に、調査地1か所につき、一人30分間のフランネル法により採集されたマダニの捕集数と種構成を

比較した。北海道ではヤマトマダニのみが採集された。本州と九州地方ではキチマダニが優先種であったが、それ以外に、本州ではオオトゲチマダニ、九州ではタカサゴチマダニが多い傾向があった。隣接した調査地であっても、採集数や種構成が大きく異なる地域があることも判明した。また、本法により、国内のマダニ種構成と捕集数を比較・検討できると考えられたため、2014年5月にも同様の調査を実施し、同様にマダニ相を評価する。

12) 2012年長崎捕集蚊の1プールからJEVが分離された（プール陽性率は2.4%、MIRは1.1）。E領域の配列解析の結果、本ウイルス株は、近年日本を含めた東アジア地域で多く検出されている1型のウイルスと遺伝的に極めて近縁であることが判明した。豚舎を含む畜舎周辺で採集されたコガタアカイエカはJEVを高率で保有する可能性があり、ブタと蚊の感染状況からJEVが蔓延していると推測される地域では、ヒトへの感染リスクが高くなっていると考えられる。

13) 現在国内に蔓延しているJEVはほとんどが1型であるが、これらに対しても3型から製造された日本脳炎ワクチンは有効であると考えられた。

14) コロモジラミから塹壕熱病原細菌 *B. quintana* の遺伝子は検出されたが、分離には至らなかった。*B. quintana* に対するIgGは10%と遺伝子検出率と比較すると低いものの、患者の保有率が分かった。今後も継続的な疫学研究を行い、*B. quintana* の感染状況を把握する予定である。

15) 近年、我が国においてもSFTSVが存在することが明らかとなり、マダニ媒介

性ウイルスの詳細な調査が求められている。本研究において、これまで国内でその存在が知られていなかった Great Island virus group に属するウイルスおよび Uukuniemi 様 virus をマダニサンプルより分離した。今後もさらなる詳細を解析するとともに、マダニにおけるウイルス保有調査が必要である。

16) 成田空港の冬季屋外（1月・2月の日平均気温は5°C以下の日が多い）に設置されたネッタイシマカ幼虫は、1週間の曝露期間中にすべて死亡した。同じ場所に1月から3月まで63日間設置された卵からは6%の幼虫が孵化したが、成虫まで発育しなかった。これらの結果から、成田国際空港の屋外の水域に発生したネッタイシマカは冬季の低温条件によって死滅することが明らかになったが、空港ビル内での越冬を監視する必要があることが示唆された。

17) 新潟県においては、2007年に新潟市佐潟で捕集されたコガタアカイエカから JEV が分離され、ブタの HI 抗体価も年によっては上昇している。ブタおよび蚊体内での JEV の活動は依然として活発であり、全国的に日本脳炎の流行が危惧される状況にあると言える。近年のウイルス分離株とコガタアカイエカの遺伝子解析から、そのどちらも海外から侵入しているであろうことが強く示唆されているが、詳細に解析するためには、国内での本種蚊の捕集調査が必要不可欠である。

18) アセチルコリンエステラーゼ領域の PCR やマイクロサテライト領域の解析で、北部九州のアカイエカにはネッタイイエカのハプロタイプが一定の割合で含まれていることが分かった。ここで示した解

析方法はアカイエカの集団遺伝的解析を行うのに有効であるとともに、今後各地のアカイエカ遺伝情報を集めることによって、ネッタイイエカを PCR やマイクロサテライト法などの分子的手法での同定を確実にすることができると示唆された。

19) トコジラミの AChE 阻害剤抵抗性機構には AChE の殺虫剤感受低下が含まれる。トコジラミ AChE の殺虫剤感受性低下は *p-Ace* のアシル結合部位に生じた F348(331)Y 変異によりもたらされている可能性が非常に高い。日本国内の *p-Ace* F348(331)変異を保有するコロニーの率は非常に低く、現在は AChE 阻害殺虫剤の有効性はほぼ保たれていると推定される。

20) ゴキブリおよび/またはイエダニに対する効能が承認されている医薬品および医薬部外品防疫用殺虫剤を残留噴霧の用量でフタトゲチマダニ若虫に処理した場合、致死にかかる日数は異なるが、3日後の瀕死虫を含んだ致死率はすべての製剤において100%であり、高い致死効果が得られると判断された。

以上の研究により、感染症媒介節足動物に対する総合的な厚生労働行政施策を策定するための科学的基盤および情報基盤の構築に貢献する。

F. 健康危険管理情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Takayama-Ito M., Nakamichi K., Kinoshita H., Kakiuchi S., Kurane I., Saijo M., Lim CK. A sensitive in vitro assay for the detection of residual viable rabies virus in inactivated rabies vaccines. *Biologicals*, **42**: 42-47, 2014

Matsuoka M., Sasaki T., Seki N., Kobayashi M., Sawabe K., Sasaki Y., Shibayama K., Sasaki T. and Arakawa Y. Hemin-binding proteins as potent markers for serological diagnosis of infections with *Bartonella quintana*. *Clin. Vaccine Immunol.*, **20**: 620-626, 2013

Kuwata R., Satho T., Isawa H., Yen NT., Phong TV., Nga PT., Kurashige T., Hiramatsu Y., Fukumitsu Y., Hoshino K., Sasaki T., Kobayashi M., Mizutani T., Sawabe K. Characterization of Dak Nong virus, an insect nidovirus isolated from *Culex* mosquitoes in Vietnam. *Arch. Virol.*, **58**: 2273-2284, 2013

渡辺護. 公衆衛生学的視点からみた三陸海岸被災地におけるハエとカの大発生・CLEAN LIFE, 2014 年号, pp.19-26, 2014

佐々木年則, 関なおみ. シラミ媒介性感染症, 特に塹壕熱の現状と今後の課題. 化学療法の領域, **30**: 106-113, 2014

沢辺京子. 日本脳炎ウイルスの国内越冬と海外飛来. 化学療法の領域, **30**: 39-49, 2014

津田良夫, 助廣那由, 梅澤昌弘, 稲垣俊一, 村上隆行, 木田中, 土屋英俊, 丸山浩, 沢辺京子. 成田国際空港におけるネッタイ

シマカの越冬可能性に関する実験的研究. 衛生動物, **65**: 209-214, 2013

白鳥(田島)茂, 高崎智彦. わが国と世界の日本脳炎の現状と問題点. 小児内科, 予防接種 Q&A 改訂第3版, 第45巻増刊号 432-437, 2013

2. 学会発表

渡辺護, 渡辺はるな, 沢辺京子. 東日本大震災被災地における2年目の蚊の発生状況. 第64回日本衛生動物学会大会, 2013年4月, 江別市

平林公男, 武田昌昭, 二瓶直子, 小林睦生, 沢辺京子. 中央高地型気候地域におけるヒトスジシマカの分布とその要因. 第65回日本衛生動物学会大会, 2013年4月, 江別市

佐々木年則, 久保田眞由美, 澤邊京子, 平山幸雄, 鋤田龍星, 伊澤晴彦, 針原重義, 柴山恵吾, 小林睦生. 最近のシラミ媒介性細菌 *Bartonella quintana* 疫学研究. 第65回日本衛生動物学会大会, 2013年4月, 江別市

沢辺京子, Arlene G. Bertuso, 佐々木年則, 葛西真治, 富田隆史, 小林睦生. アタマジラミにおける塹壕熱病原菌 *Bartonella quintana* 遺伝子保有調査. 第65回日本衛生動物学会大会, 2013年4月, 江別市

沢辺京子, 今西望, 鋤田龍星, 伊澤晴彦, 佐々木年則, 新井智, 小林睦生, Nga PT., Phong TV., Yen NT. アジアにおける日本脳炎媒介蚊 *Culex vishnui* subgroup の季節消長とウイルス保有について. 第48回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 2013年5月, 熱海市