

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)
H23～H25 総合研究報告書

台湾および日本の蚊相の違いと蚊によって媒介される病原体の遺伝的關係
蚊相ならびに採集蚊からの鳥マラリア原虫の検出結果

研究分担者	津田良夫	国立感染症研究所
研究協力者	金 京純	鳥取大学農学部
	鄧 華眞	台湾 CDC
	陳 典煌	台湾 CDC

蚊媒介性病原体の自然の侵入経路のひとつとして、渡り鳥による持ち込み（侵入）・定着に関する検討を行った。野鳥由来の蚊媒介性病原体である鳥マラリア原虫に着目して、台湾と石垣島の調査地で蚊を採集し、蚊からの鳥マラリア原虫の検出を行った。台湾の調査地では2011年～2013年に、20種類13,373個体、石垣島では24種類7,499個体の蚊成虫を採集した。これらの蚊サンプルから、チトクロームb遺伝子をターゲットとしたPCR法によって鳥マラリア原虫の検出を行った。その結果、台湾で採集された20種の蚊のうち、9種類の蚊から鳥マラリア原虫が検出された。検出された鳥マラリア原虫は、チトクロームb遺伝子の塩基配列の相同性によって9つの遺伝的系統に分類された。このうち3つの系統は3年連続して原虫が検出されており、調査地に生息するクシヒゲカ的一种と*Cx. murrelli*などの蚊によって感染サイクルが維持されていると推測された。これに対して、これら3系統以外の系統は、いずれも3年間の調査で1回しか検出されておらず、感染した渡り鳥によって偶然に持ち込まれ、飛来時期に生息していた蚊の吸血を通じて一時的に取り込まれた系統であると推測された。本研究の調査結果は、渡り鳥による病原体の持ち込みが実際に行われていることを示唆している。

A. 研究目的

蚊が媒介する病原体がある地域に侵入する経路には、大きく2つを区別することができる。ひとつは、病原体に感染した人（患者）やペット、家畜、あるいは感染した蚊が人為的な手段によって移動することによる侵入である。このような経路は、ある程度コントロールすることが可能であり、検疫によって侵入が阻止されている。もうひとつの侵入経路として、自然の経路が考えられる。これは、感染した蚊が強風によって長距離を移動したり、感染した野生動物、例えば渡り鳥が飛来することによって病原体が持ち込まれる経路である。この自然の経路による蚊媒介性病原体の侵入が、実際にどの程度頻繁に起きているのかはよくわかっていない。

日本列島と台湾はユーラシア大陸の東沿岸に位置し、千島列島、フィリピン、ボルネオ島、インドネシア、オーストラリア大陸とともに、渡り鳥の重要な渡りルートを形成している。そのため、渡り鳥による病原体の侵入に関する調査研究に適した位置にあるということが出来る。蚊によって媒介される病原体の場合、ある地域に病原体に感染した人や動

物が移動してきても、そこに媒介可能な蚊が生息していなければ病気の伝播は起こらない。したがって、蚊媒介性病原体の侵入や伝播の実態は、その地域に生息している蚊から病原体の検出を行うことによって明らかにすることが可能である。

本研究は、蚊媒介性病原体である鳥マラリア原虫を対象として、台湾と石垣島の調査地で媒介蚊の現地調査を行い、蚊相と蚊から検出される鳥マラリア原虫の種類を比較考察することによって、渡り鳥による蚊媒介性病原体の侵入・定着の実態を明らかにすることを目的に行われた。

B. 研究方法

台湾における現地調査：台湾北東部宜蘭県の渡り鳥飛来地（蘇澳、無尾港水鳥保護区）を調査地として2011年から2013年の3シーズンに疾病媒介蚊の現地調査を行った。調査は渡り鳥が飛来する5月と9月または10月に各1回ずつ実施した。成虫調査は1kgのドライアイス誘引源とするトラップ10台を設置して、連続した2日間採集を行った。捕獲された成虫は毎日回収し、台湾CDCの実験室

に持ち帰って種類同定を行った。サンプルはその後の分析のために冷凍で保存した。

石垣島における現地調査：台湾北東部の蚊相と比較するために石垣島南部の水田地帯で、2011年6月、8月、2012年3月と9月の計4回の現地調査を実施した。成虫調査はドライアイストラップ15台を用いて、連続した3日間行った。

蚊からの病原体の検出：台湾の調査で捕獲されたコガタアカイエカ成虫サンプルは、台湾CDCで日本脳炎ウイルスの分離を試みた。それ以外の成虫サンプルを用いて、鳥マラリア原虫の検出を行った。石垣島のサンプルと台湾の2011年および2012年のサンプルからの鳥マラリア原虫の検出は国立感染症研究所昆虫医科学部で行い、2013年の台湾のサンプルは台湾CDCで分析した。蚊からの鳥マラリア原虫の検出は、チトクロームb遺伝子をターゲットとしたPCR法によって行い、陽性サンプルは遺伝子の塩基配列を決定して種類を同定した。

吸血蚊の吸血源動物の同定：トラップ採集及び捕虫網採集によって採集された吸血蚊からは、DNAを抽出して、吸血源動物の同定と鳥マラリア原虫の検出を行った。

蚊サンプルからの鳥マラリア原虫の検出は台湾のサンプルについてはほぼ終了したが、石垣島の2012年のサンプルはまだ分析が済んでいない。そのため、分析が済んだ台湾のサンプルの結果を中心に報告する。

C. 研究結果

台湾と石垣島の現地調査によって採集された蚊の種類とその個体数を表1にまとめて示した。台湾では合計20種類、13,373個体、石垣島では合計24種類、7,499個体の成虫が採集された。このうち台湾と石垣島の両方の調査地で採集されたのは、12種類であった。これら12種類のほとんどは捕獲個体数が多く、いわゆるふつうに採集される種類であった。石垣島の調査地で採集されていない種類の中には、キンパラナガハシカやアカツノフサカ、サキジロカクイカ、ミナミハマダライエカのように、生息しているのだが発生量が少ないために本調査では採集されなかった種類が含まれていた。

台湾で採集されたコガタアカイエカのサンプルからは日本脳炎ウイルスの検出を試みたが、検出できなかった。

台湾の調査地で採集されたコガタアカイエカ以外の蚊サンプルからの鳥マラリア原虫の

検出結果を表2~4に示した。分析を行った16種について、鳥マラリア原虫の感染率を表2に示した。鳥マラリア原虫は9種類の蚊から検出され、プール単位で求めた感染率は2.4%から50%であった。1つの陽性プールに感染個体が1個体だけ含まれていたと仮定して、感染率を分析した総個体数に対する1000分率(MIR)で表現すると、2.8から200であった。分析個体数が10以上の種類に限ると、クシヒゲカの種類とカラツイエカの感染率がMIR=43.8、25.5とかなり高い感染率を示した。これら2種の蚊は我国にも生息しており、我国で採集されたサンプルからも鳥マラリア原虫が検出されている。石垣島で採集された蚊の中で、これまでに鳥マラリア原虫が検出されているのは、ネツタイエカとムラサキヌマカの2種類である。我国のサンプルで鳥マラリア原虫が検出されておらず、台湾のサンプルでのみ陽性個体が見つかる蚊の種類は、ヨツホシエカと*Cx. murrelli*、アシマダラヌマカの3種類であった。

台湾産の蚊から検出された原虫の遺伝的系統と陽性プール数を表3に示した。合計10系統が検出され、そのうち4つはこれまで全く報告のない新規の系統であった(Yilan01, Yilan02, Yilan03, Yilan04)。陽性サンプルの総数が5以上の系統は3つあり、いずれも3年続けて陽性個体が見つかる。このうち*P. rouxi*と*P. elongatum*は全北区、東洋区、エチオピア区と広範囲に分布している系統で、*P. rouxi*は石垣島のサンプルからも検出されている。*P. tacyi*は埼玉県のルリビタキで最初に報告された系統で、地理的分布の詳細は不明である。これら3系統以外の7系統は、いずれも1回の調査でしか検出されていないが、*P. juxtannucleare*は広範囲に分布する種類で石垣島や新潟県で採集された蚊からも検出されている。また、*P. gallinaceum*は本州のいくつかの地域で蚊から検出されている種類である。

本研究で検出された鳥マラリア原虫の系統ごとに、検出された蚊の種類を整理して表4に示した。毎年検出されている3つの系統について見てみると、*P. elongatum*は合計5つの陽性サンプルはすべてクシヒゲカの種類から得られている。*P. rouxi*は8個の陽性サンプルのうち4個が*Cx. murrelli*から毎年検出されており、カラツイエカとサキジロカクイカからそれぞれ1回だけ見つかる。*P. tacyi*は3年つづけて検出されているが、検出され

た蚊の種類は調査によって異なり、合計 7 種類の蚊からそれぞれ 1 回検出されている（カラツイエカからは 2 回）。

D. 考察

台湾北東部と石垣島の地理的な位置関係から予想されるように、両地域の蚊相、鳥マラリア原虫感染蚊の種類および蚊から検出された鳥マラリア原虫の系統には、少数だが共通するものが含まれていた。それぞれの地域に飛来する渡り鳥の種類とその個体数には違いがあるはずであり、したがって感染した渡り鳥によって持ち込まれる鳥マラリア原虫の系統にも地域による明らかな違いがあると推測される。さらに、飛来した感染野鳥から吸血して鳥マラリア原虫を受け取る蚊の種類にも、地域による違いがあるので、これらの違いを反映してそれぞれの地域に固有の鳥マラリア原虫の感染サイクルが形成されているように思われる。

本研究で台湾の調査地に感染サイクルが成立していると推測されるのは、毎年継続的に検出されている *Pelongatum*, *Prouxi* さらに *Ptacy7* の 3 系統である。前者の 2 系統は主要な媒介蚊種も決まっており、*Pelongatum* はクシヒゲカ的一种、*Prouxi* は *Cx. murrelli* によって伝播されている可能性が高い。これに対して、*Ptacy7* は毎年検出されているのだが、検出される蚊の種類はばらばらで、7 種類もの蚊から検出されている。このように、多数の媒介蚊種が鳥マラリア原虫の感染サイクルに関与している事例はこれまで報告がないことから、非常に興味深い。

3 年間 6 回の調査で 1 回しか検出されていない系統も、別の意味で重要である。それぞれの系統が 5 月と 9-10 月のどちらで検出されているかを調べてみると、5 月に検出されているものが 4 系統、9-10 月に検出されているものが 3 系統とほぼ半々に分かれている。これら 2 組の系統は、恐らく 5 月に飛来する鳥を宿主とする系統と 9-10 月に飛来する鳥を宿主とする系統を意味していると考えられる。つまり、これらの系統はそれに感染した渡り鳥によって偶然に持ち込まれ、飛来時期に生

息していた蚊の吸血を通じて一時的に取り込まれた系統であると推測される。このような系統が蚊から検出されるという本研究の調査結果は、渡り鳥による病原体の持ち込みが実際に行われていることを示唆しており、病原体の渡り鳥による拡散を支持する重要な結果であるといえる。

E. 結論

台湾と北部の調査地で 2011 年～2013 年に、20 種類 13,373 個体、石垣島南部で 24 種類 7,499 個体の蚊成虫を採集した。これらの蚊サンプルから、チトクローム b 遺伝子をターゲットとした PCR 法によって鳥マラリア原虫の検出を行った。台湾で採集された 20 種の蚊のうち、9 種類から鳥マラリア原虫が検出された。検出された鳥マラリア原虫は、チトクローム b 遺伝子の塩基配列の相同性によって 9 つの遺伝的系統に分類された。このうち 3 つの系統は 3 年連続して採集蚊から鳥マラリア原虫が検出されており、調査地に生息するクシヒゲカ的一种と *Cx. murrelli* などの蚊によって感染サイクルが維持されていると推測された。これに対して、これら 3 系統以外の系統は、3 年間の調査で 1 回しか検出されておらず、感染した渡り鳥によって偶然に持ち込まれ、飛来時期に生息していた蚊によって一時的に取り込まれた系統であると推測された。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
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
なし

表 1. 台湾北東部宜蘭県および石垣島の渡り鳥飛来地における疾病媒介蚊調査結果 (2011 年 ~ 2013 年のまとめ)

Species	Taiwan			Ishigakijima	
	2011	2012	2013	2011	2012
<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	565	5223	2755	1081	884
<i>Cx. murrelli</i>	151	325	351		
<i>Ma. uniformis</i>	38	305	26	246	278
<i>Ae. albopictus</i>	217	49	269	332	71
<i>Ar. subalbatus</i>	23	210	171	32	18
<i>Cx. bitaeniorhynchus</i>	90	129	95	27	359
<i>Cq. crassipes</i>	27	182	144	150	204
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	161	27	31	239	327
<i>Cx. sasai/kyotoensis</i>	28	100	49		
<i>Cx. sitiens</i>	69	38	874	474	563
<i>Cx. vishnui</i> gr	1	13	557	1016	202
<i>Cx. pseudovishnui</i>	2	10		747	132
<i>Cx. nigropunctatus</i>		9	8	11	5
<i>Cx. malayi</i>			23		
<i>Lt. fuscans</i>	5		3		
<i>Cx. rubithoracis</i>		5	6		
<i>Cx. sinensis</i>		3			
<i>Tr. bambusa</i>		2			
<i>Culex</i> sp	2				
<i>Ur. novobscura</i>	1	1			1
<i>Cx. cinctellus</i>					50
<i>Ae. riversi</i>				13	7
<i>Or. anopheloides</i>				5	2
<i>An. yaeyamaensis</i>				6	
<i>Ve. iriomoptensis</i>				6	
<i>Ae. vexans nipponii</i>				3	2
<i>An. sinensis</i>				1	
<i>Ur yaeyamana</i>				1	
<i>An lesteri</i>					1
<i>Cx. fuscocephala</i>					1
<i>Aedes</i> sp				1	
<i>Uranotaenia</i> sp					1
Total collected	1380	6631	5362	4391	3108
Total number of species	15	17	15	19	19

表2 台湾北東部宜蘭県の渡り鳥飛来地で採集された蚊の
鳥マラリア原虫の感染率

Species	No. examined	No. pool	positives	%	MIR/1000
<i>Cx. sitiens</i>	952	96	8	8.3	8.4
<i>Cx. murrelli</i>	839	86	7	8.1	8.3
<i>Ae. albopictus</i>	442	47	0	0	0
<i>Ma. uniformis</i>	368	41	1	2.4	2.7
<i>Ar. subalbatus</i>	354	39	1	2.6	2.8
<i>Cq. crassipes</i>	342	36	2	5.6	5.8
<i>Cx. bitaeniorhynchus</i>	314	33	8	24.22	25.5
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	221	24	1	4.2	4.5
<i>Cx. sasai/kyotoensis</i>	137	17	6	35.3	43.8
<i>Cx. malayi</i>	23	3	0	0	0
<i>Ur. novobscura</i>	2	2	0	0	0
<i>Cx. rubithoracis</i>	11	2	0	0	0
<i>Lt. fuscans</i>	5	2	1	50.0	200
<i>Cx. nigropunctatus</i>	8	2	0	0	0
<i>Tr. bambusa</i>	1	1	0	0	0
<i>Cx. pseudovishnui</i>	4	1	0	0	0
Total	4023	432	35	8.1	8.7

表3 台湾北東部宜蘭県の渡り鳥飛来地における2011年～2013年の調査で採集された蚊からの
鳥マラリア原虫の検出結果

<i>Plasmodium</i> lineage	2011		2012		2013		Total
	May	Sep	May	Oct	May	Oct	
<i>P. tacy7</i>		1	1	1		8	11
<i>Plasmodium rouxi</i>		2	5		1		8
<i>Plasmodium elongatum</i>	1		2		2		5
<i>Plasmodium juxtannucleare</i>						3	3
Yilan02	3						3
<i>Plasmodium gallinaceum</i>					2		2
Yilan01		1					1
Yilan03			1				1
Yilan04				1			1
<i>Plasmodium lutzi</i>					1		1
Total	4	4	9	2	6	11	36

Yilan01 = GQ141560 と DQ241525 と 97% 一致

Yilan02 = GWR06 と 99%一致

Yilan03 = EF380158 と 98%一致

Yilan04=DONANA02 と 99%一致

表 4 台湾北東部宜蘭県の渡り鳥飛来地の蚊から検出された鳥マラリア原虫と蚊の種類の関係：2011年～2013年のまとめ

<i>Plasmodium</i> lineage	Mosquitoes	2011		2012		2013		Total
		May	Sep	May	Oct	May	Oct	
GRW6- <i>P. elongatum</i>	<i>Cx. sasai/kyotoensis</i>	1		2		2		5
<i>P. gallinaceum</i>	<i>Cq. crassipes</i>					2		2
<i>P. juxtannucleare</i>	<i>Culex sitiens</i>						2	2
	<i>Lt. fuscans</i>						1	1
<i>P. lutzi</i>	<i>Cx. murrelli</i>					1		1
<i>P. rouxi</i>	<i>Cx. bitaeniorhynchus</i>			3				3
	<i>Cx. murrelli</i>		1	2		1		4
	<i>Lt. fuscans</i>		1					1
<i>P. tacyi</i>	<i>Ar. subalbatus</i>						1	1
	<i>Cx. bitaeniorhynchus</i>			1			1	2
	<i>Cx. murrelli</i>						1	1
	<i>Cx. quinquefasciatus</i>				1			1
	<i>Cx. sitiens</i>						4	4
	<i>Cx. sasai/kyotoensis</i>						1	1
Yilan01	<i>Cx. sitiens</i>		1					1
Yilan02	<i>Cx. bitaeniorhynchus</i>	3						3
Yilan03	<i>Cx. murrelli</i>			1				1
Yilan04	<i>Ma. uniformis</i>				1			1
Total		4	4	9	2	6	11	36

Yilan01 = GQ141560 と DQ241525 と 97% 一致

Yilan02 = GWR06 と 99%一致

Yilan03 = EF380158 と 98%一致

Yilan04= DONANA02 と 99%一致