

201420016B

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24年～26年度総合研究報告書

平成27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

## 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. 東日本大震災津波被災地における疾病媒介蚊の発生状況に関する研究

津田良夫・・ 25

2. 岩手県における東日本大震災被災瓦礫集積場におけるハエ類発生調査（2012年）

林 利彦・・ 31

3. 海外からのデング熱媒介蚊の侵入ならびにデング熱流行時の媒介蚊対策に関する研究

津田良夫・・ 38

4. 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・富田隆史・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 42

5. 長野県内における感染症媒介蚊の分布調査と発生動態

（2012～2014の3年間の調査結果のまとめ）

平林公男・・ 44

6. 岩手県におけるヒトスジシマカ分布調査（2012～2014年）

佐藤 卓・澤邊京子・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 52

7. 日本国内における疾病媒介蚊調査

津田良夫・・ 59

8. アカイエカ種群の九州での集団遺伝的解析

大塚 靖・・ 67

9. 鳥類吸血性蚊の生態と病原体媒介能力に関する研究

津田良夫・・ 74

10. 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・・ 78

11. 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・・ 86

|   |            |
|---|------------|
| 12. 六甲山系で採取されたマダニにおけるウイルス保有調査<br>林 昌弘 . . . . .                               | 96         |
| 13. シラミ媒介性細菌 <i>Bartonella quintana</i> などによる感染症の疫学研究<br>佐々木年則・澤邊京子 . . . . . | 103        |
| 14. トコジラミの殺虫剤抵抗性に関する全国調査<br>富田隆史 . . . . .                                    | 106        |
| 15. ネットイシマカのピレスロイド代謝抵抗性に関する量的形質座位解析<br>富田隆史 . . . . .                         | 115        |
| 16. 鳥取県，島根県，広島県におけるマダニ類の生息調査（2013～2014 年度）<br>山内健生 . . . . .                  | 119        |
| 17. マダニ相に関する全国調査の試み<br>澤邊京子 . . . . .   | 122        |
| <b>III. 研究成果の刊行に関する一覧表 . . . . .</b>  | <b>128</b> |

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）

**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が拡大し，発生数も増大することで，アルボウイルス感染症の発生リスクが高まっている．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．本研究課題では，国内において外来性の感染症および媒介節足動物の国内侵入を監視するとともに，国内に生息する媒介者を介した国内流行に備え，その感染リスクを調査することを目的とし，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．

**I. 疾病媒介節足動物の分布に関する国内調査，ならびにそれら媒介者に関する基礎的研究**

東日本大震災被災地において，復興が進むことによってハエ類の大発生は収束し，蚊相は4年間でほぼ安定したと結論した．2014年のデング熱国内発生対応において，これまでに構築したヒトスジシマカの科学的基盤と情報基盤をもとに媒介蚊対策を実施した．自治体および関連機関への研修・技術講習を通して具体的に助言・指導し，特定感染症予防指針の策定に協力した．SFTS対応のマダニ全国調査を2013年秋と2014年春に実施し，定点調査地からは詳細な季節消長を収集した．富山県・新潟県のコガタアカイエカの季節消長と各種気象データから本種の国内外での長距離移動と分散を解析した．アセチルコリンエステラーゼ（AChE）領域およびマイクロサテライト領域の解析により，南九州のアカイエカにはネッタ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を明らかにした．

**II. 媒介節足動物からの病原体の分離と検出，ならびに検出法の開発に関する研究**

野外捕集蚊およびマダニから新規オルビウイルスをそれぞれ分離発見し，乳のみマウスを用いた病原性の検討を行った．長崎県の定点で捕集されたコガタアカイエカからは，毎年1型日本脳炎ウイルス（JEV）が分離され，I型JEVに対する現行ワクチン（III型から作成）の有効性も確認された．V型JEVは強い病原性を維持している可能性があり，現行ワクチンの中和効果はI型やIII型JEVに比べて弱いと推察された．コロモジラミから塹壕熱バルトネラ菌遺伝子が検出され，患者のIgG抗体保有率も明らかになった．路上生活者の間で着実に塹壕熱が広まっている可能性が示唆された．

**III. 蚊およびトコジラミの殺虫剤抵抗性に関する量的形質剤の解析と全国調査**

量的形質遺伝子座（QTL）解析により，プレスロイド系殺虫剤に抵抗性のネッタシマカのペルメトリン抵抗性に関与する原因遺伝子を解析し，第1染色体上にあるCYP6AA5v2がペルメトリンの代謝量増大に関連する遺伝子として最有力の候補であることを確認した．トコジラミのプレスロイド低感受性をもたらず変異型遺伝子の検出法を開発し，抵抗性遺伝子の国内分布を調査した．次いでAChE阻害剤抵抗性個体のAChEの殺虫剤感受性低下と構造変異を解析し，感受性低下に関連するアミノ酸置換変異を標的とする分子ジェノタイプピング法を考案した．本法による全国調査の結果，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．

|       |      |                          |
|-------|------|--------------------------|
| 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)   |
|       | 林 利彦 | (国立感染症研究所昆虫医科学部・第一室長)    |
|       | 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)    |
|       | 津田良夫 | (国立感染症研究所昆虫医科学部・主任研究官)   |
|       | 平林公男 | (信州大学・繊維学部・教授)           |
|       | 山内健生 | (兵庫県立大学・自然環境科学研究所・准教授)   |
|       | 大塚 靖 | (鹿児島大学・国際島嶼教育研究センター・准教授) |

## A. 研究目的

2011年3月11日に発生した東日本大震災では、巨大地震とそれによって引き起こされた巨大津波によって、東北地方の太平洋沿岸を中心として甚大な人的被害と環境破壊をもたらされた。環境の劇的な変化がそこに生息する蚊に対して大きな影響を与えたことは想像できるが、このような過去に例を見ない著しい環境変化の中で、疾病媒介蚊の分布と発生量がどのように変化していくかを詳細に調査し、科学的な記録を残すことは非常に重要な課題であると考え、主として宮城県南部水田地帯と福島県南相馬の水田地帯を対象として2011年から2014年まで調査を実施した。

近年、チクングニア熱やデング熱の輸入症例は増加し、媒介蚊が航空機等により国内に侵入した事例も頻発している。特に、デング熱は、アジア諸国で流行が続き、わが国でも約70年ぶりの国内流行を経験した。急遽、媒介蚊対策が実施されることになったが、媒介蚊の分布や成虫密度などに関する基礎的情報は不足しており、外来性感染症流行への対応は十分とは言えない。特に自治体担当者を対象とした技術研修の必要性が指摘された。国内における媒介蚊対策を立案するために、媒介蚊のウイルス感受性や成虫・幼虫の詳細な発生密度調査を実施し、それら基礎的な情報をもとに「デング熱国内感染事例発生時の対応・対策の手引き 地方公共団体向け」(第1版)を作

成したが、2014年のデング熱国内発生時に実施した媒介蚊対策の経験を参考に、実際に即した手引きへの更新が望まれている。ウエストナイルウイルスは極東ロシアや中国での活動が確認され、国内侵入の可能性も高まったことから、国内に生息する潜在的媒介蚊であるアカイエカ種群を鑑別同定し、モニタリング体制を維持することが必要である。一方、国内感染が毎年報告されている日本脳炎に関しては、日本脳炎ウイルス(JEV)を保有した媒介蚊が国内のどこで越冬するのか、あるいは海外からどのようなルートで長距離移動をしてくるのか、などの基本的な問題は未だ解決されていない。ウイルスの疫学的解析、コガタアカイエカを始めとする媒介蚊の生態・越冬生理、長距離移動に関する調査研究を推進する必要がある。

2013年1月、国内で初めて重症熱性血小板減少症候群(SFTS; severe fever with thrombocytopenia syndrome)の患者が発生し、2015年3月までに110名の患者(うち32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いなかった。そこで我々は、1地点あたり1人30分間のフランネル法を基本として全国調査を行い、捕集数と種構成を評価することを計画した。これまでに国内外の蚊およびマダニから複数の新規ウイルスを分離してきたが、蚊やマダニが保有するウイルス種の探索を継続し、それら媒介動物が保有するウイルス叢全体を把握し、媒介節足動物における病原体の遺伝子診断をより簡素化し、必要な技術開発と標準化を行うことも重要な課題である。

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、デング熱の発生は世界規模へと拡大しており、現在では全世界の40%の人々がデング熱のリスクにさらされていることなどから、世界保健機関(WHO)は「世界保健デー2014」のテーマとして【節足動物が媒介する感染症】に焦点をあてている。シンガポールで採集されたネッタイシマカのピレスロイド抵抗性系統(SP系統)の代謝抵抗性に関与する原因遺伝子の解明を試みた。トコジラミは2000年頃より米国・EU・オーストラリアで顕著に再増加してきたといわれているが、その最大の要因は殺虫剤抵抗性の発達、もしくは有効な殺虫剤が利用不能となっていたことにあると指摘されている(Boase, 2008)。国内では、1960年台以降、トコジラミの発生が問題視されることはなかったが、2005年からの8年間で東京都における被害相談件数は約13倍に増大している(東京都福祉保健局, 2014)。そこで、ピレスロイド作用点にピレスロイド低感受性をもたらす変異型の電位依存性ナトリウムチャンネル(VSSC)遺伝子の検出法を開発し、抵抗性遺伝子の国内分布を

調査した。また、日本で唯一確認されているアセチルコリンエステラーゼ(AChE)阻害剤抵抗性コロニー(防府コロニー; HOF)におけるAChEの殺虫剤感受性低下と構造変異を解析した。次いで、殺虫剤感受性低下に関連するアミノ酸置換変異を標的とする分子ジェノタイプング法を考案し、AChE阻害剤抵抗性作用点遺伝子の保有状況を調査した。

## B. 研究方法

本研究は、主任研究者：澤邊京子、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)によって遂行された。総括研究報告として、以下の17課題について解説する(方法の詳細は各分担者の項を参照)。

1. 東日本大震災津波被災地における疾病媒介蚊の発生状況に関する研究(津田良夫)
2. 岩手県における東日本大震災被災瓦礫集積場におけるハエ類発生調査(2012年)(林利彦)
3. 海外からのデング熱媒介蚊の侵入ならびにデング熱流行時の媒介蚊対策に関する研究(津田良夫)
4. 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・富田隆史)
5. 長野県内における感染症媒介蚊の分布調査と発生動態(2012-2014の3年間の調査結果のまとめ)(平林公男)
6. 岩手県におけるヒトスジシマカ分布調査(2012~2014年)(佐藤卓・澤邊京子)
7. 日本国内における疾病媒介蚊調査(津田良夫)
8. アカイエカ種群の九州での集団遺伝的解析(大塚靖)
9. 鳥類吸血性蚊の生態と病原体媒介能力

に関する研究 (津田良夫)

10. 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)
11. 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)
12. 六甲山系で採取されたマダニにおけるウイルス保有調査 (林 昌弘)
13. シラミ媒介性細菌 *Bartonella quintana* などによる感染症の疫学研究 (佐々木年則・澤邊京子)
14. トコジラミの殺虫剤抵抗性に関する全国調査 (富田隆史)
15. ネットアイシマカのピレスロイド代謝抵抗性に関する量的形質座位解析 ネットアイシマカのピレスロイド代謝抵抗性に関する量的形質座位解析 (富田隆史)
16. 鳥取県, 島根県, 広島県におけるマダニ類の生息調査 (2013~2014 年度) (山内健生)
17. マダニ相に関する全国調査の試み (澤邊京子)

研究はこれらの各分担者が独立して実施するだけでなく, 各研究者が有機的に連携して行えるよう代表研究者が責任を持って進めた。また, 確立した技術や情報の共有を積極的に行うよう努めた。

## C. 結果

### 1. 東日本大震災津波被災地における疾病媒介蚊の発生状況に関する研究

宮城県南部水田地帯と福島県南相馬市の沿岸部水田地帯を対象として, 東日本大震災で津波被害を受けたエリアと被害を受けなかったエリアの蚊の発生状況を調べた。宮城県南部の津波被災地では, 2011 年からの 4 シーズンで, 10 種類 15,050 個体, 非被災地では 11 種類 1,966 個体の成虫が捕獲された。津波被災地では, 2011 年にアカイエ

カ群とコガタアカイエカ, イナトミシオカの大発生が認められたが, アカイエカ群とイナトミシオカは年々減少し, 4 年目には非被災地との差がほとんどなくなった。

福島県南相馬の津波被災地では, 2012 年からの 3 シーズンで 12 種 20,202 個体, 非被災地では 15 種 1,233 個体の成虫が捕獲された。津波被災地では, アカイエカとコガタアカイエカは年々増加したが, イナトミシオカは 3 年間ほぼ同じレベルを保持していた。この地域の蚊の発生には今後も注意が必要であると考えられる。

### 2. 岩手県における東日本大震災被災瓦礫集積場におけるハエ類発生調査 (2012 年)

2011 年 3 月 11 日に発生した東日本大震災および津波被災地では, その後ハエ類の大量発生によって周辺住民や避難所で暮らす人々に多大な被害を与える結果となった。翌 2012 年に岩手県の 2 カ所の瓦礫集積所でハエ類の発生調査を行った結果, 両瓦礫集積場ともに採取された個体数は最高でも 10 数個体であった。複数の種類のハエが採取されたが, 特定の種類が多く発生しているという事実は確認されなかった。2012 年には津波被害に起因するハエ類の大量発生は観察されなかったと結論された。大規模災害によりハエ類大量発生の問題が引き起こされたとしても, 翌年にその問題が持ち越されることはないことが示唆された。

### 3. 海外からの Dengue 熱媒介蚊の侵入ならびに Dengue 熱流行時の媒介蚊対策に関する研究

成田国際空港では 3 年連続してネットアイシマカの発生が確認され, 本種の侵入リスクが高まっていることから, 国際空港でのベクターサーベイランスの重要性が再確認された。ネットアイシマカの幼虫発育と気温の関係を分析し 1 令幼虫の発育限界温度は 10.6°C, 4 令幼虫は 11.6°C 付近と推定された。国際空港のターミナルビルは常に温度管理

が行われているため、屋外では冬季に生存できない寒冷な地域であっても、屋内に侵入したネッタイシマカが越冬できる可能性は高いと思われる。

2014年8月～10月に代々木公園とその周辺で起きたデング熱の流行で、公園など5ヶ所で媒介蚊の生息密度を調査した。推定感染場所とされた2つの公園で生息密度を調査した結果、ヒトスジシマカの平均密度は、8分間当たり $10.2 \pm 16.5$ と $11.4 \pm 8.8$ であった。この生息密度を一つの目安と考え、デング熱流行の予防対策として、平時から適切な幼虫対策を実施して成虫密度を8分間あたり平均10個体より低く保つことが必要であると推測した。

#### 4. 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

ヒトスジシマカの異なる環境での発生期間を把握する目的で、神奈川県中郡大磯町および長野県上田市の2地点において、人囮法により飛来消長調査を行った。

2010年～2014年の5年間の調査で、大磯町では5月9日～23日、上田市では6月5日～18日の間に飛来が始まり、大磯町では7月上旬～10月上・中旬、上田市では7月中旬～9月下旬にかけて飛来の多い状態が続き、飛来の終息確認日は、大磯町で11月9日～30日、上田市で10月5日～15日であることが明らかになった。飛来開始日や終息日の地点間の違いは、気温の違いによると考えられた。

#### 5. 長野県内における感染症媒介蚊の分布調査と発生動態

2012年から2014年にかけて、ヒトスジシマカの長野県内における水平分布と垂直分布を調査した。成虫は、合計72地点（のべ82回；北緯35度30分21.24秒～36度55分28.23秒、標高317m～1,534m）でCO<sub>2</sub>トラップにより捕集した。幼虫は、合計54地点（128ヶ所）の神社、仏閣を中心とし、

墓石の花立てや石盤、線香立てなどに溜まった小水域から採集した。ヒトスジシマカ成虫は合計139個体捕集された（23.4%、平均捕獲数1.7個体/トラップ/日）。ヒトスジシマカは全県にわたって分布することが明らかになった（飯山市から飯田市まで）。調査地最北端の木島平村や飯田市、上田市では捕集されたが、軽井沢町、上高地、菅平高原、上田市真田地区など、標高が800mを超える地域では、成虫も幼虫も確認できなかった。極めて成虫の捕集数が少なかった地域においては、今後もモニタリングが必要であると思われる。

#### 6. 岩手県におけるヒトスジシマカ分布調査（2012～2014年）

岩手県における節足動物媒介性ウイルス疾患の予防対策に資するため、2009年から岩手県におけるヒトスジシマカの生息分布調査を行ってきた。2014年までの調査で、岩手県内陸の平野部における北限地域にある盛岡市の市街地ではヒトスジシマカはすでに定着しており、また、着実に生息範囲を拡大していることが明らかになった。さらに、2014年には北上高地に位置する花巻市東和町において、初めてヒトスジシマカの生息が確認された。今後もヒトスジシマカの生息分布や生息条件等についてさらに監視が必要である。

#### 7. 日本国内における疾病媒介蚊調査

国内1道7県を対象として、2014年4月から9月まで蚊相調査を実施した。調査地域内で成虫採集用のドライアイストラップを設置し、その周辺で幼虫採集を行った。合計で10属44種4,677個体以上が採集された。熊本県と和歌山県では20種類以上の蚊が採集され、北海道と福島県、岐阜県は寒冷地や高地であるにも関わらず16種類の蚊が採集された。採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を示唆している。日本は



寒冷地から温帯気候と亜熱帯気候にまで及ぶことを考慮すると、1回の調査によって生息蚊の全種類を明らかにすることは難しいと思われるため、今後も繰り返し調査する必要がある。DNA バーコーディングは、これまで21種の解析が終了したが、今後もサンプル数を増やし、日本産蚊のDNA バーコード整備を進めていく予定である。

## 8. アカイエカ種群の九州での集団遺伝的解析

アカイエカ種群は日本においてはアカイエカ (*Culex pipiens pallens*)、チカイエカ (*Culex pipiens form molestus*)、ネッタイエカ (*Culex quinquefasciatus*) が存在する。これら3種は形態だけでなく遺伝的にも近似しており、それらの地理分布をDNAレベルで検討することが難しかったが、今回、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およびマイクロサテライトマーカを用いて九州のアカイエカ種群の集団間の変異を調査した結果、日本産アカイエカにはネッタイエカのハプロタイプが含まれていることが判明した。九州一帯のアカイエカは一定の割合のネッタイエカと同じタイプが存在することが示唆された。アカイエカとネッタイエカの違いを明らかにするためには、遺伝的な変異だけでなく形態的・生態的特徴と合わせて検討する必要があると結論された。

## 9. 鳥類吸血性蚊の生態と病原体媒介能力に関する研究

鳥類吸血性蚊の生態と鳥マラリア原虫の媒介能力の検討のために、野外調査と野外捕集蚊の分析を行った。鳥取県内4ヶ所で合計10種類3,298個体の成虫が採集された。この地域の優占種としてアカイエカ群など5種類が確認され、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。

東京都と新潟県の調査地より採集されたアカイエカ群とイナトミシオカの鳥マラリ

ア原虫の媒介能力について検討した結果、アカイエカ群では3系統の鳥マラリア原虫 (CXPIP09, SGS1 と GRW4) に対して媒介能力があると判定された。イナトミシオカにおいては, CXINA01, CXINA02, CXQUI01 の3系統の媒介が可能であると推察された。

## 10. 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

国内における日本脳炎の主要な媒介蚊であるコガタアカイエカのJEV保有状況の把握とウイルス遺伝子解析を主な目的として、国内各地で捕集された蚊からのJEVの検出と分離、ならびにウイルス遺伝子の分子系統解析を2005年以降継続して行ってきた。

2011年は石川県七尾市、熊本県合志市、2012年は長崎県諫早市、群馬県前橋市、2013年は長崎県諫早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結果、2012年および2013年の長崎県諫早市捕集蚊のそれぞれ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。今後も国内における媒介蚊のJEV保有状況を調査し、分離株の遺伝子解析を継続することで、JEV媒介蚊からの感染リスクを把握しておくことは予防対策上重要であると考えられる。

## 11. 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」

近年国内外で分離されたJEV株の性状解析およびこれらの株に対する現行ワクチンの効果を調査した。具体的に1)高病原性型と考えられるNS4A 3-Ile型株の分離株中の割合は約20%であること。また3-Ile型でも

高病原性を示さない株が存在することを明らかにした。2) 遺伝子型 III 型ベースで生産されている現行ワクチンは I 型株・III 型株のいずれにも中和効果があることを明らかにした。3) 一方、遺伝子型 V 型に対する現行ワクチンの中和効果は I 型・III 型株に比べ低く、V 型 Muar 株のマウス病原性は比較的強いことが明らかになった。

現在の主要型である遺伝子型 I 型に対してはこれまでの対応で特に問題ないことを示す一方で、V 型 JEV が国内に侵入した場合は、ワクチン接種をしても不安が残ることが示唆された。ワクチン接種したヒト血清を用いた解析、蚊での媒介能力など、更なるウイルス性状解析が必要である。

## 12. 六甲山系で採取されたマダニにおけるウイルス保有調査

マダニ類はウイルス、細菌、リケッチア等の病原体を媒介することが知られているが、その他のダニによって媒介されるウイルスの分布状況は明らかにされていない。兵庫県六甲山系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マダニのウイルス保有状況を調査した結果、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 に属するウイルスおよびブニヤウイルス科フレボウイルス属に分類される Uukuniemi 様 virus が分離された。これらのウイルスを乳のみマウスの脳内接種により継代したところ、乳のみマウスに病原性を示す株がそれぞれ分離された。

## 13. シラミ媒介性細菌 *Bartonella quintana* などによる感染症の疫学研究

感染症を媒介する節足動物による感染リスクを把握する目的で、東京都済生会中央病院と共同で、シラミ媒介性細菌 *Bartonella quintana* に対する疫学研究を行った。2013

年～2014 年に合計 29 名のコロモジラミを保有する患者から血液およびシラミの提供があり、臨床情報とともに解析した。シラミ 26 個体からの *B. quintana* 遺伝子検出結果は、全て陽性であった。シラミ保有者の血液は、*B. quintana* に対する IgG 抗体保有率は 52%、*B. quintana* に対する IgM 抗体保有率は 76%であった。シラミからは *B. quintana* 遺伝子が検出され、なおかつ血清抗体価が上がっている患者を認め、*B. quintana* の感染を疑わせる症例として 24 名中 20 名 (83.3%) が確認された。

## 14. トコジラミの殺虫剤抵抗性に関する全国調査

過去 3 年間に北海道から沖縄県にかけて採集された 80 コロニー分の日本産トコジラミを収集し、QProbe 法によりピレスロイド作用点の電位依存性ナトリウムチャンネル (VGSC) の 2 座位に関する遺伝子型を解析した。その結果、野生型ハプロタイプのみ検出されたコロニーは 11%に過ぎず、ピレスロイド系殺虫剤のトコジラミ駆除への有効性が日本の大多数のコロニーで失われていることが明らかになった。

日本では現在、トコジラミ防除薬剤として、アセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害剤と総称される有機リン系・カーバメイト系殺虫剤の利用が普及しつつある。数種の AChE 阻害剤に抵抗性であるトコジラミ (防府コロニー, HOF) の粗酵素液を用いた酵素阻害試験を行った結果、 $10^3$  倍レベルのフェニトロオクソン IC<sub>50</sub> 値低下で示される AChE の感受性低下が示された。AChE 遺伝子 (*p-Ace*) の活性ゴルジ内のアシル結合部位 F348 (331) Y アミノ酸置換変異を標的とする分子ジェノタイプピング法を Cycling Probe 法に基づき設計し、全国規模の調査を行った。その結果、HOF も含めた 4 コロニーに Y348 (331) 変異を保有する個体が検出されたが、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。

#### 15. ネットアイシマカのピレスロイド代謝抵抗性に関する量的形質座位解析

ネットアイシマカ抵抗性系統（SP 系統；シンガポールで採集）のペルメトリン抵抗性に関与する原因遺伝子を解明するために、量的形質遺伝子座（QTL）解析を行った。QTL 解析のために、殺虫剤感受性 SMK 系統と SP 系統の識別が可能なマイクロサテライト、SNPs、および DNA 配列挿入／欠失を利用した 33 座位の分子マーカーを開発した。SMK♂×SP♀の交配に基づく F2 雌成虫 96 個体に対して <sup>14</sup>C 標識されたペルメトリンの局所施用を行い、個体毎に排泄されたペルメトリン量を測定するとともに、33 座位の遺伝子型を決定した。F2 の排泄量とマーカー型を基にした QTL 解析の結果、第 1 および第 3 染色体に排泄量増大に関与する QTL の存在が明らかになった。第 1 染色体上の QTL 近傍には、少なくとも 8 つの P450 遺伝子が存在することがわかったが、これらの中で CYP6AA5v2 が代謝抵抗性要因の最有力候補と考えられた。

#### 16. 鳥取県、島根県、広島県におけるマダニ類の生息調査（2013～2014 年度）

中国地方では、マダニ媒介感染症である重症熱性血小板減少症候群（SFTS）や日本紅斑熱の患者が各地で発生している。しかし、中国地方におけるマダニ類の分布及び季節消長については知見が少なく、不明な点が多い。そこで、中国地方の鳥取県、島根県、広島県においてマダニ類の調査を実施した。鳥取県西部と島根県東部（2013 年 5 月～10 月と 2014 年 4 月～11 月）および広島県広島市安佐北区（2013 年 4 月～2014 年 1 月と 2014 年 4～12 月）でマダニ類の採集を試みた。各県の 1 定点では、マダニ類の季節消長を調べるため、フランネル法を用いて植生上のマダニ類を定期的に採集した。

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、広島県では 7 種のマダニ類がそれぞれ採集された。島根県の定点調査では、全調査期間を通してキチマダニが採集されたが、6 月下旬～8 月上旬はヤマアラシチマダニが多く採集された。広島県の定点調査では 9 月中旬～10 月上旬に優占種がフタトゲチマダニからオオトゲチマダニに劇的に変化した。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いえる。

#### 17. マダニ相に関する全国調査の試み

SFTS ウイルスの感染環を解明するために、2013 年・2014 年に全国規模でのマダニ調査を行った。2013 年は 10 月～11 月に国内 24 都道府県下の 54 地点で、それぞれマダニと人との接触が予想される環境を調査地点とした。北海道ではヤマトマダニのみが採集され、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捕集されることがわかった。また、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明らかになった。2014 年は 4 月下旬から 5 月上旬にかけて、昨年秋とほぼ同じ地点とさらに 3 府県 28 地点を追加し、合計 27 都道府県下の 82 地点で調査を行った。その結果、全国的に昨年秋よりも本年春の捕集数は多く、フタトゲチマダニの捕集数が多調査地点で多いことが示唆された。

### D. 考察

#### I. 疾病媒介節足動物の分布に関する国内調査、ならびにそれら媒介者に関する基礎的研究

2011 年 3 月 11 日に発生した東日本大震災から 4 年が経過した。巨大地震とそれが引き起こした巨大津波によって、東北地方の

太平洋沿岸を中心に甚大な人的被害と環境破壊がもたらされた。このような環境の劇的な変化がそこに生息する蚊や感染症の発生に影響を与えるであろうことは容易に想像できるが、実際に、著しい環境変化の中で、疾病媒介蚊の分布と発生量がどのように変化していくかを科学的に調査し、記録を残すことができたことは大きな意義がある。全体的には津波による環境変化はほぼ復元され、蚊類の発生状況も津波被災前の状態に戻ったということができる。しかし、復旧作業が遅れた地域では、幼虫発生源は依然として残り、蚊相は未だ安定していないと思われた。復興が進めば、かなり早い期間で蚊相は安定すると推察された。懸念された津波被災地での感染症の流行が起らなかったことは幸いであった。

2014年春のマダニ調査は、前年秋の調査地(24都道府県54地点)に28地点を加え、合計27都道府県下の82地点で行った。秋と春の2回の調査、ならびに数か所の定点調査地から得られる季節消長等の情報から、近距離に位置する調査地であってもマダニの捕集数や種構成に大きな差異が見られることが明らかになり、季節が異なると種構成が大きく異なることも判明した。この結果は、マダニのSFTS伝搬を考察するためには、できるだけ患者発生地周辺で、時期も考慮してマダニ調査を行う必要があることを強く示唆するものである。しかし、現時点では、地域や行政の協力が得られる場所はかなり限られており、できるだけ多くの地域からマダニの基礎的情報を収集・蓄積し、情報を公開していくことが、今、我々にできることのひとつであると考えている。SFTS対策を考える上で、SFTS流行地と非流行地で異なる要因を探ることが重要であり、それら基礎情報に加え、野生動物の分布や植生等の環境要因も考慮し、SFTSウイルスのヒトへの感染リスクを評価したいと考えている。

2014年夏に日本は約70年ぶりのデング

熱国内発生事例を経験した。各自治体を中心に行われた媒介蚊対策に感染症研究所は協力し、具体的な技術指導も行った。しかし、本来配属されていなければならないはずの害虫対策の専門家は不足し、媒介蚊対策にあたる関係者の知識と技術は十分ではなかった。人材不足に関しては、社会全体で長期的に取り組むべき問題である。また、調査・対策を行う上での情報共有がなされなかったことは現場の混乱を招く大きな要因となり、今後改善されるべきことである。殺虫剤の散布方法や薬剤選定に関しては、経験不足が露呈したが、一方で、適切に媒介蚊対策を施せば、成虫密度は下がることが確認されたことは高く評価されるであろう。種々輸入感染症例が増加する日本にあり、今夏も蚊の発生はもとより、デング熱やチクングニア熱等の蚊媒介性感染症の国内発生の可能性は高い。昨年の経験を活かし、今後の国内発生事例に備えたい。

岩手県・神奈川県・長野県で継続されたヒトスジシマカの生息調査の結果は、今般のデング熱媒介蚊対策を立案する上で貴重な基礎的情報となった。これらの科学的基盤および情報基盤をもとに、厚生労働省が発出予定の「蚊媒介感染症に関する特定感染症予防指針」の策定に協力した。予防指針は3月までに策定が終了し、4月中旬には発出・適用される見込みである。アカイエカ種群の鑑別やコガタアカイエカの国内外の長距離移動に関しては、前者がウエストナイル熱、後者が日本脳炎の流行に媒介者として密接に関係するため、基礎的情報の蓄積が必要であり、今後も調査・研究を継続することが必要である。

## II. 媒介節足動物からの病原体の分離と検出、ならびに検出法の開発に関する研究

我々の調査地点は長崎県諫早市内のJEVの増幅動物であるブタが肥育されている畜舎で、周辺にはコガタアカイエカの発生源となる水田が点在している環境で

あり、ヒトの生活環境も近い。同地域で過去に行った調査でも、ほぼ同じ時期に採集された蚊から高率にウイルスが分離されていることから、毎年 JEV の活動が活発な地域であることが伺える。このように 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。また、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高いと考えられる。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。今後も国内における媒介蚊の JEV 保有状況とウイルス遺伝子の変化と推移を把握しておくことは疫学上重要であり、分離株の増殖性や病原性を詳細に解明し、予防対策につなげていくことが望まれる。

日本国内に蔓延している JEV の主要型は現在 I 型と考えられるが、実際に使用されている日本脳炎ワクチンは III 型から製造されたものである。幸いにも現行のワクチンは I 型にも III 型と同等の効果があることが示されたが、近年、中国および韓国で立て続けに新たな遺伝子型 V 型のウイルスが分離同定され、現行ワクチンが V 型ウイルスにも効果があるのかが懸念されている。V 型 JEV は 1952 年に初めて分離されたが (Muar 株)、この一度きりでその後約 60 年間報告がなかった。そのため V 型株に関する知見は遺伝子配列情報以外皆無であった。Muar 株に対する現行ワクチンの中和能およびウイルスの病原性を調べたところ、ワクチン効果が低い傾向がみられ、病原性も高い可能性が示唆された。現行ワクチンの汎用性に対し問題提起できたことは高く評価される。

野外捕集蚊から、これまでに国内では報告のないウイルス (蚊媒介性オルビウイルス種 *Umatilla virus* に近縁なウイルス) が分

離された。一方、マダニからもオルビウイルス属のウイルス (ダニ由来 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ウイルス (Uukuniemi virus に近縁) がそれぞれ分離された。これらの多くの新規ウイルスは、現時点ではヒトや他の哺乳動物に対する感染性や病原性の有無については不明であるが、今後新興するかもしれない人獣共通アルボウイルス感染症に対して備える意味からも詳細な実態解明が望まれる。本研究で得られた結果は、新興・再興アルボ感染症の対策として、平時より媒介節足動物の病原体保有状況を把握することの重要性を改めて示すものであり、継続する必要がある。

### III. 蚊およびトコジラミの殺虫剤抵抗性に関する量的形質剤の解析と全国調査

ハエ科を除く昆虫種は二種の AChE 遺伝子 (*p-Ace* と *o-Ace*) を保有しているが、*p-Ace* のみが薬剤低感受性に関連づけられる変異として知られている。国内の 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。この結果から、現在のほとんどの国内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は有効である可能性が示された。本研究で考案された AChE 変異遺伝子の分子ジェノタイピ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。

2013 年 9 月に日本を旅行したドイツ人が Dengue 熱を発症し、日本国内での感染が強く疑われた。さらに、2014 年には都内の公園が感染地と推定される合計 162 名の Dengue 熱国内感染患者が確認された。国内ではヒトスジシマカが主要な媒介蚊であるが、近年、外来種であるネッタイシマカの国内

侵入例も頻発している。これまでに、シンガポールのデング熱流行地で採集されたネッタイシマカのピレスロイド抵抗性系統のペルメトリン抵抗性に関与する原因遺伝子を解明するために解析法を開発し、SP系統の代謝抵抗性要因の最有力候補を絞ることができた。2014年のデング熱国内発生時には、殺虫剤が多用された公園や地域もあると思われることから、このような状況が続く限り、国内でのヒトスジシマカにも早晚抵抗性を示す集団が出現する可能性も危惧される。本検出法を開発したことにより、ヒトスジシマカの抵抗性遺伝子の解析が可能になることが期待できる。

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「蚊類調査に係る技術研修」(第2回: 2013年5月30日~31日, 第3回: 2014年6月12日~13日)を開催した。2014年は、国民、地方自治体へのデング熱への啓発として、国内に分布するヒトスジシマカ対策を念頭に置き「デング熱国内感染事例発生時の対応・対策の手引き 地方公共団体向け(案)」を作成し、関係機関に配布した。また、8月末のデング熱国内発生を受け、「感染症媒介蚊対策に関する実技検討会」を愛知県衛生研究所・岡山県衛生会館(2014年10月22日~10月23日)、福岡県保健環境研究所(2014年10月29日~10月30日)、東京都港区保健所(平成27年2月3日)をはじめ、各地で開催し、前出の手引きを第1版に更新した。

## E. 結論

1) 東日本大震災から4年が経過し宮城県南部水田地帯では震災と津波被害からの復旧

がほぼ完了して、2011年に大発生していたアカイエカ群やイナトミシオカの生息密度は低下し蚊相も安定してきた。これに対して、福島県南相馬の水田地帯の復旧作業は進展が遅れており、そのため農耕地には降雨によってできた水たまりが出現して幼虫発生源となっている。コガタアカイエカとアカイエカ群の生息密度は過去3年間の調査で増加を続けているため、今後の密度変化に十分注意する必要がある。

2) 2011年3月11日に発生した東日本大震災および津波被災地では、その年にハエ類の大量発生が起これ社会問題化した。翌2012年岩手県の2カ所の瓦礫集積所ではいずれもハエ類の大量発生は確認されなかった。2012年には他の被災地でもハエ類が大量に発生し、問題となったとの報告や報道は皆無であった。以上のことから、大規模災害でハエ類が大量に発生し、住民に対し被害が生じた場合、行政が当該年度にしっかりとした対策を行う事が重要であり、それによって次年度以降にハエ問題が継続することは無いであろうという結論された。

3) 成田国際空港では3年連続してネッタイシマカの発生が確認され、本種の侵入リスクが高まっていることから、国際空港でのベクターサーベイランスの重要性が再確認された。ネッタイシマカ1令幼虫の発育限界温度は10.6°C、4令幼虫は11.6°C付近であると推定された。国際空港のターミナルビルは常に温度管理が行われ、ネッタイシマカの幼虫発育に必要な温度条件が満たされているため、屋外では冬季に生存できない寒冷な地域であっても、屋内に侵入すればネッタイシマカが越冬できる可能性は高い。そのため、夏季だけでなく冬季にも、空港ターミナルビル内で媒介蚊のモニタリングや発生源調査を行うことが必要である。

デング熱の推定感染場所とされた2つの公園で実施した生息密度調査の結果、ヒト

スジシマカの生息密度は、8 分間当たり  $10.2 \pm 16.5$  と  $11.4 \pm 8.8$  であった。この生息密度を一つの目安と考え、デング熱流行の予防対策として、平時から適切な幼虫対策を実施して成虫密度を8分あたり10個体の密度よりも低く保つことが必要と推測した。

4) ヒトスジシマカ成虫の各地での発生期間を把握し、防除態勢の構築期間などの基礎資料を得る目的で、2010～2014年に8分間（大磯）または6分間（上田）の人囀法による調査を行った。その結果、飛来数が多い期間は、大磯町、上田市ともに6月下旬～7月上旬以降、大磯町では10月上旬・中旬まで、上田市では9月中・下旬であり、この期間が成虫対策における防除重点期間と判断された。飛来期間や、飛来消長は地域によってかなり異なると考えられ、今後とも日本各地での同様な調査の継続的な実施によるデータの蓄積や解析が必要と判断された。

5) 長野県内の72地点にCO<sub>2</sub>トラップを設置しヒトスジシマカ成虫の生息調査を行った。ヒトスジシマカ幼虫については、全54地点128ポイントで調査した。合計139個体の成虫がCO<sub>2</sub>トラップで捕獲された（23.4%）。ヒトスジシマカの平均捕獲数は、1.7個体/トラップ/日であった。特に飯田市、上田市は平均捕獲数が多かった。軽井沢町、上高地、菅平高原、上田市真田地区など、標高が800mを超える地域では、幼虫も成虫も捕獲されなかった。白馬村、大町市、東御市、諏訪市、岡谷市では、極めて成虫の捕獲数が少なかった。これらの地域においては、今後モニタリング調査が必要であると思われる。

6) 2012～2014年に実施した岩手県におけるヒトスジシマカの生息分布調査の結果、盛岡市市街地では、その生息分布が着実に拡大していることがわかった。2009年に初めて採集され2010年に拡散と定着が推定さ

れた仙北町、下ノ橋町では引き続きヒトスジシマカが採集されており、また、2013年に初めて確認された下ノ橋町より北西に位置する天昌寺町でも、2014年に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。

7) 国内1道7県で行った蚊相調査で、合計10属44種4,780個体を採集した。成虫はアカイエカが最も多く、幼虫はヤマトヤブカが最も多く採集された。熊本県と和歌山県では20種以上の蚊が採集され、豊富な蚊相を有することがわかった。北海道、福島県、岐阜県は高地や寒冷地であるにも関わらず16種類の蚊が採集された。九州地方では、樹洞や竹の切り株などの小さな水域で発生する種類の蚊（ワタセヤブカ、シロカタヤブカ、フタクロホシチビカなど）が多く採取された。日本は寒冷地から温帯気候と亜熱帯気候にまで及ぶことを考慮すると、1回の調査によって生息蚊の全種類を明らかにすることは難しいと思われるため、今後とも繰り返し調査する必要がある。DNAバーコーディングは、これまでに21種の解析が終了した。未解析の試料は順次解析を進めており、同一個体の脱皮殻（幼虫と蛹）と乾燥標本、DNAバーコード一式の整備を行う予定である。それと並行して、古いサンプルからのDNA抽出方法も検討し、過去に採集された貴重な標本のDNAバーコード整備も検討している。

今後とも日本全土で採集調査を繰り返し、蚊相の把握、日本脳炎など蚊媒介性疾患の流行状況の監視を行うとともに、その地域

に生息する蚊の標本の整備を行う事が重要である。

8) 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、九州のアカイエカにはネッタ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考えられる。アカイエカとネッタイエカの違いを明らかにするためには、奄美から大隅諸島などのアカイエカとネッタイエカの境界地域で遺伝的な変異だけでなく形態的・生態的特徴と合わせて検討する必要がある。

9) 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、この地域の優占種であることがわかった。また、本研究で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。サギの営巣コロニーでは、アカイエカ群の採集個体数が最も多く、吸血蚊も多数採集されたことから、この周辺で生活するアカイエカ群の吸血源動物調査に適した場所であることがわかった。

10) 2011年に石川・熊本、2012年に長崎・群馬、2013年に長崎の各県下の豚舎を含む畜舎で採集されたコガタアカイエカからウイルス分離を行なった。2012年および2013年の長崎県捕集蚊のそれぞれ1プールからJEVが分離された(2012年:プール陽性率; 2.4%, MIR; 1.06, 2013年:プール陽性率; 2.2%, MIR; 0.89)。E領域の配列解析から、それらは、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明らかとなった。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。

11) JEVのNS4A遺伝子領域に焦点を当て、近年の野外分離株の遺伝子解析を行った。約20%が高病原性型である3-Ile型株であった。3-Ile型の分離株計5株の*in vitro*での増殖性を調べた。哺乳動物由来株化細胞において差異は認められなかったが、蚊由来細胞C6/36細胞において数倍の差異が観察された。上記の株についてマウスに対する病原性を比較したところ、1株が他の3-Ile株に比べ有意に低い病原性を示した。

現在国内に蔓延しているI型JEVに対してもIII型から製造された日本脳炎現行ワクチンは有効であると考えられた。一方、V型JEVに対する現行の日本脳炎ワクチンの中和効果は、I型・III型JEVに比べて弱い可能性が示唆された。V型ウイルスは強い病原性を維持している可能性も示唆され、今後も注意深く監視を続けることが重要である。

12) 急速な都市化と森林部への人口拡張により今後もアルボウイルス感染症が問題となることが予想される。また我が国および周辺国においてもSFTSV、ダニ媒介性脳炎ウイルス、クリミア・コンゴ出血熱ウイルス等の重篤な疾患の原因となるダニ媒介性のウイルスが常在することが明らかとなり、ダニによって媒介されるウイルスの詳細な調査が求められている。我々はこれまで日本においてその存在が知られていなかったオルビウイルス属ウイルスおよびフレボウイルス属ウイルスをマダニより分離した。今後さらなる詳細を解析するとともに、今



後もダニにおけるウイルス保有調査を引き続き行っていく必要性が示唆された

13) *B. quintana* の遺伝子は、検出されているものの、分離には至っていない。 *B. quintana* に対する IgG は 52%, *B. quintana* に対する IgM は 76%と遺伝子検出率からすれば低い。 2 年間の疫学研究のため、さらに継続的な疫学研究を行い、サンプル数を増やして *B. quintana* の感染状況を把握する必要がある。

14) トコジラミ VGSC の L925I 置換変異は、一部の例外を除き、国内のピレスロイド抵抗性に強く関連している。 トコジラミ VGSC の V419L と L925I 変異を対象とした QProbe 法に基づく分子検出法を確立した。

トコジラミ VGSC の L925I 置換変異は 89%の国内のトコジラミコロニーに保有されていた。 トコジラミを完全に駆除するために用いる殺虫剤の第一選択肢としては、ピレスロイド系殺虫剤を推奨できないと結論された。

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。 国内でトコジラミ *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。

15) QTL 解析によって、ピレスロイド抵抗性系統 (SP 系統) におけるペルメトリンの代謝量増大に関連する遺伝子は、第 1 染色体上にあることが示された。 候補となるシトクロム P450 遺伝子は 8 個存在しており、その内 *CYP6AA5v2* は SP 系統でのみ発現しており、最有力候補として挙げられる。

16) 島根県の定点調査では、キチマダニがほぼ全調査期間を通して採集されたが、6

月下旬から 8 月上旬にかけては、ヤマアラシチマダニがキチマダニよりも多く採集された。 この結果から、日本紅斑熱の媒介者であると推測されているヤマアラシチマダニは、夏季に注意すべき種であることが示された。 広島県の定点調査では 9 月中旬から 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した。 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いえる。

17) 2013 年 10 月~11 月、および 2014 年 5 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捕集されたマダニの捕集数と種構成を比較した。 調査実施者の技術の優劣は、本法にはほとんど影響しないことが確認された。 距離的に近い調査地であっても採集数や種構成が異なり、季節によって種構成や捕集数が異なる地点が多かった。 これら基礎情報に加え、野生動物の分布や植生等の環境要因も考慮し、SFTS ウイルスのヒトへの感染リスクを評価することが必要である。

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

### 論文発表

Moi M.L, Ami Y., Shirai K., Lim C.K., Suzaki Y., Saito Y., Kitaura K., Saijo M., Suzuki R., Kurane I., Takasaki T. Formation of infectious dengue virus-antibody immune complex in vivo in Marmosets (*Callithrix jacchus*) after passive transfer of antidengue virus monoclonal

- antibodies and infection with dengue virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* (In press)
- Kuwata R., Isawa H., Hoshino K., Sasaki T., Kobayashi M., Maeda K., Sawabe K. Analysis of mosquito-borne flavivirus superinfection in *Culex tritaeniorhynchus* cells persistently infected with *Culex* flavivirus. *J. Med. Entomol.* (In press).
- Hirabayashi K., Takeda M., Tsuda Y. Tow-year aftereffects of Tsunami on abundance of mosquitoes in suburban Sendai Area in Miyagi Prefecture, Japan in 2013. *Entomological Research Bulletin.* 30(2) (In print).
- Arima Y., Matsui T., Shimada T., Ishikane M., Kawabata K., Sunagawa T., Kinoshita H., Takasaki T., Tsuda Y., Sawabe K., Oishi K. 2014. Ongoing local transmission of dengue in Japan, August to September 2014. *WPSAR*, 5(4). doi:10.5365/wpsar.2014.5.3.007
- Hirabayashi K., Takeda M., Nihei N., Kobayashi M., Tuda Y., Sawabe K. 2014. Distribution of *Aedes albopictus* mosquitoes in an inland climate mountain area, Nagano Prefecture, Japan. *Proceedings of the 8th International Conference on Urban Pests*, Gabi Muller, Reiner Pospischil and William H Robinson (Edits.) Printed by OOK-Press Kft., H8200 Veszrem, Papai u.37/A, Hungary. 125-129.
- Kobayashi M., Komagata O., Yonejima M., Maekawa Y., Hirabayashi K., Hayashi T., Nihei N., Yoshida M., Tsuda Y., Sawabe K. 2014. Retrospective search of dengue vector mosquito, *Aedes albopictus* in area visited by a German traveler that has contracted dengue Disease. *Int. J. Infect. Dis.*, 26: 135-137.
- Tsuda Y., Hayashi T. 2014. Results of mosquito surveillance using dry-ice traps from 2003 to 2013 at the National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan. *Med. Entomol. Zool.*, 65: 131-137.
- Ejiri H., Kuwata R., Tsuda Y., Sasaki T., Kobayashi M., Sato Y., Sawabe K., Isawa H. 2014. First isolation and characterization of a mosquito-borne orbivirus belonging to the species *Umatilla virus* in East Asia. *Arch. Virol.*, 159: 2675-2685.
- Takehita N, Lim CK, Mizuno Y, Shimbo T, Kotaki A, Ujiie M, Hayakawa K, Kato Y, Kanagawa S, Kaku M, Takasaki T. 2014. Immunogenicity of single-dose Vero cell-derived Japanese encephalitis vaccine in Japanese adults. *J. Infect. Chemother.*, 20(4): 238-242.
- Takayama-Ito M., Nakamichi K., Kinoshita H., Kakiuchi S., Kurane I., Saijo M., Lim C.K. 2014. A sensitive in vitro assay for the detection of residual viable rabies virus in inactivated rabies vaccines. *Biologicals*, 42(1): 42-47.
- Nakamichi K., Lim C.K., Saijo M. 2014. Stability of JC virus DNA in cerebrospinal fluid specimens preserved with guanidine lysis buffer for quantitative PCR testing. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 67(4): 307-310.
- Nakamichi K., Tajima S., Lim C.K., Saijo M. 2014. High-resolution melting analysis for mutation scanning in the non-coding control region of JC polyomavirus from patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Arch. Virol.*, 159(7): 1687-1696.
- Hirata K., Komagata O., Itokawa K., Yamamoto A., Tomita T., Kasai S. 2014. A single crossing-over event in voltage-sensitive Na<sup>+</sup> channel genes may cause critical failure of dengue mosquito control by insecticides. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8, e3085.
- Matsuoka M., Sasaki T., Seki N., Kobayashi M., Sawabe K., Sasaki Y., Shibayama K., Sasaki T., Arakawa Y. 2013. Hemin-binding proteins as potent markers for serological diagnosis of infections with *Bartonella quintana*. *Clin.*

Vaccine Immunol., 20: 620- 626.

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. 2013. Characterization of Dak Nong virus, an insect nidovirus isolated from *Culex* mosquitoes in Vietnam. Arch. Virol., 58: 2273-2284.

Kuwata R., Nga P.T., Yen N.T., Hoshino K., Isawa H., Higa Y., Hoang N.V., Ttang B.M., Loan D.P., Phong T.V., Sasaki T., Tsuda Y., Kobayashi M., Sawabe K., Takagi M. 2013. Surveillance of Japanese encephalitis virus infection in mosquitoes in Vietnam from 2006 to 2008. Am. J. of Trop. Med. Hyg., 88: 681-688.

Obara-Nagoya M., Yamauchi T., Watanabe M., Hasegawa S., Iwai-Itamochi M., Horimoto E., Takizawa T., Takashima I., Kariwa H. 2013. Ecological and genetic analyses of the complete genomes of *Culex flavivirus* strains isolated from *Culex tritaeniorhynchus* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) group mosquitoes. J. Med. Entomol., 50: 300-309.

Yamaguchi Y., Nukui Y., Kotaki A., Sawabe K., Saijyo M., Watanabe H., Kurane I., Takasaki T., Tajima S. 2013. Characterization of a serine-to-asparagine substitution at position 123 in the Japanese encephalitis virus E protein. J. Gen. Virol., 94: 90-96, 2013.

Wong K.T., Ng K.Y., Ong K.C., Ng W.F., Shankar S.K., Mahadevan A., Radotra B., Su I.J., Lau G., Ling A.E., Chan K.P., Macorelles P., Vallet S., Cardosa M.J., Desai A., Ravi V., Nagata N., Shimizu H., Takasaki T. 2012. Enterovirus 71 encephalomyelitis and Japanese encephalitis can be distinguished by topographic distribution of inflammation and specific intraneuronal detection of viral antigen and RNA. Neuropath. Appl. Neurobiol., 38: 443-453.

Kuwata R., Hoshino K., Isawa H., Tsuda Y., Tajima S., Sasaki T., Takasaki T., Kobayashi M., Sawabe K. 2012. Establishment and characterization of a cell line from the mosquito *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). In Vitro Cellular & Developmental Biology, 486: 369-376.

小林陸生. 2015. ヒトスジシマカとデング熱—2014年の騒動より学ぶこと. ペストコントロール, 169: 18-25.

沢辺京子. 2015. SFTS 対策に向けたマダニ類の全国調査. ペストコントロール, 169: 33-39.

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. 2014. CLEAN LIFE, 2014 年号: 19-26.

佐々木年則, 関なおみ. 2014. 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 (2): 106-113.

沢辺京子. 2014. 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.

沢辺京子. 2014. わが国におけるマダニ類の分布状況について. マダニを取り巻く環境と SFTS, 生活と環境, 699: 18-22.

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. 2013. 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.

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. 2013. 小児内科, 予防接種 Q&A 改訂第 3 版, 第 45 巻増刊号 432-437.

高崎智彦. 2013. 感染症ワクチン：最近の話題, 課題「日本脳炎」. *BIO Clinica*, 28: 332-336.

白鳥 (田島) 茂, 高崎智彦. 2012. 「日本脳炎ワクチンの品質管理」臨床とウイルス, 40: 297-305.

## 学会発表

### 1. 国際学会

Hirabayashi K., Takeda M., Tsuda Y. 2014. After-effects of Tsunami on distribution of mosquitoes in the suburbs of Sendai City in Miyagi Prefecture, Japan in 2013. The 2nd Symposium of Benthological Society of Asia. June 5-7, Busan, Korea.

Hirabayashi K., Takeda M., Nihei N., Kobayashi M., Tuda Y., Sawabe K. 2014. Distribution of *Aedes albopictus* mosquitoes in an inland climate mountain area, Nagano Prefecture, Japan. The 8th International Conference on Urban Pests. July 20-23, Zurich, Switzerland.

Lim C.K., Moi M.L., Kotaki A., Saijo M., Kurane I., Takasaki, T. 2012. Molecular diagnosis and analysis of imported chikungunya virus strains, Japan, 2006-2011. The 9th Japan-China International Conference of Virology. June 12-13, Sapporo, Japan.

Komagata O., Kasai S., Itokawa K., Tomita T. 2012. Proliferation of pyrethroid-resistant bed bugs in Japan, 24th International Conference of Entomology. August 19- 25, Daegu, Korea.

Kobayashi M., Komagata O., Nihei N. 2012. Future prospect of northern expansion of *Aedes albopictus* in Japan. Symposium S1303 Impact of climate change and natural disaster in arthropod vector, XXIV International Congress of Entomology. August 19-25, Daegu, Korea.

Kasai S., Tabaru Y., Kobayashi M. 2012. Outbreak of medically important pest insect in

Tsunami affected areas in Tohoku District, Japan. Symposium S1303 Impact of climate change and natural disaster in arthropod vector, XXIV International Congress of Entomology. August 19-25, Daegu, Korea.

Itokawa K., Komagata O., Kawada H., Tomita T. 2012. Spread of overexpressing *CYP9M10* (cytochrome P450) haplotypes in southern house mosquito and its possible implication for vector control. Symposium S1306 Insecticide Resistance in Medically Important Insects, XXIV International Congress of Entomology. August 19-25, Daegu, Korea.

Komagata O., Kasai S., Itokawa K., Tomita T. 2012. Proliferation of pyrethroid-resistant bed bugs in Japan. Symposium S1306 Insecticide Resistance in Medically Important Insects, XXIV International Congress of Entomology. August 19-25, Daegu, Korea.

Bertuso A.G., Kobayashi M., Sawabe K. 2012. Molecular evidence of *Bartonella quintana* in *Pediculus humanus capitis* (Pediculidae: Anoplura) infesting young people in selected villages in Laguna province, Philippines. S1307 Bartonella in arthropod vectors, XXIV International Congress of Entomology. August 19-25, Daegu, Korea.

Imanishi N., Takai K., Kim K.S., Tsuda Y., Kobayashi M., Itoyama K., Sawabe K. 2012. Morphological and molecular phylogenetic studies on a novel anopheline species collected in Kushiro wetland, northern Japan. XXIV International Congress of Entomology. August 19-25, Daegu, Korea.

Lim C.K., Kotaki A., Omatu T., Moi M.L., Kurane I., Saijo M., Takasaki T. 2012. A Rapid Non-nested Reverse Transcriptase- PCR Assay for Vertebrate Flavivirus Subgroups Using a Novel Universal Single Primer Pair Based on a Conserved Region of NS5 Gene Sequences. The XVIII International Congress for Tropical Medicine and Malaria (ICTMM). September