

沖縄県におけるフラビウイルス媒介蚊調査

平良勝也・糸数清正・久高潤・仁平稔・大野惇・中村正治*

A Survey of Mosquitoes as Flavivirus vector in Okinawa Prefecture

Katsuya TAIRA, Kiyomasa ITOKZU, Jun KUDAKA,
Minoru NIDAIRA, Atsushi OHNO, Masaji NAKAMURA

*沖縄県中央食肉衛生検査所

要旨：2004年4月から2005年3月の間に、沖縄県内の7地点で蚊の採集を行った。その結果、2837個体が採集され6属14種に分類された。最も多く採集されたのは、ネッタイエカ *Curex pipiens fatigans* 29%、ついでオオクロヤブカ *Armigeres subalbatus* 20%、キンイロヤブカ *Aedes vexans nipponi* 19%、コガタアカイエカ群 *Curex tritaeniorhynchus* 15%、ヒトスジシマカ *Aedes albopictus* 13%、シナハマダラカ群 *Anopheles sinensis* 0.5%の順であった。これら6種類の蚊は、フラビウイルス媒介蚊として確認されており、各採集地点で少なくとも3種類以上が採集された。しかし、今回の調査では採集した蚊からフラビウイルス遺伝子は検出されなかった。

Abstract : The mosquitoes were collected at seven points in Okinawa prefecture during April, 2004 to March, 2005. As a result, 2837 mosquitoes were collected and it was classified into six genus and fourteen species. Most frequent species were *Curex pipiens fatigans* 29%, *Armigeres subalbatus* 20%, *Aedes vexans nipponi* 19%, *Curex tritaeniorhynchus* 15%, *Aedes albopictus* 13%, and *Anopheles sinensis* 0.5%. These six mosquito species had been already confirmed as a vector of Flavi virus, More than three kind of mosquito species were collected in each place that is able to transmit for Flavi virus. But, the Flavi virus gene was not detected from the mosquitoes that collected in the investigation this time.

I はじめに

ウエストナイルウイルス (West Nile virus : WNV), デングウイルス (Dengue virus : DV), 黄熱ウイルス (Yellow fever virus : YFV) 及び日本脳炎ウイルス (Japanese encephalitis virus : JEV) は、フラビウイルス科に属し、蚊によって媒介される。これらのフラビウイルスはヒトに感染すると重篤な症状を引き起こすことが知られている。しかし、これまでに JEV 以外のフラビウイルスによる国内での感染例は報告されていない。

近年、国際的な交通手段の発達によりフラビウイルスの国内への侵入が危惧されている。さらに、WNV については、ウイルスを保有した渡り鳥により国内に持ち込まれ、その鳥を刺した蚊によって蔓延するケースも危惧されていることから、ウイルス侵入に備え、身近な生活環境で発生するフラビウイルス媒介可能な蚊について、種類や地域別発生状況を把握することは重要と考える。

今回、沖縄本島及び与那国島における蚊の分布状況を調査し、採集蚊についてはフラビウイルス遺伝子検索を

行ったので報告する。

II 材料及び方法

1. 蚊の採集及び分類

蚊の採集は、那覇市小禄及び久茂地の住宅2地点、宜野湾市大謝名の住宅1地点、大里村の当研究所及び豚舎2地点、与那国町の役場及び豚舎の2地点、合計7地点で、市販の CDC ライトトラップを地面から1.2~2mの高さの位置に設置して行った。さらに蚊を誘引するCO₂ガスを発生させるため、ドライアイス約1kgを厚さ2cm程度の発砲スチロールの箱に入れ蓋をし、ひもをかけてライトトラップの近くに同じ高さで設置した。

蚊の採集期間及び時間は、平成16年4月~翌年3月まで毎週一回、昼~夕方頃設置し、約24時間後に回収した。

採集された蚊は冷凍で処理後、実体顕微鏡下で形態学的な特徴^{1) 2) 3)}により同定後、凍結保存した。

採集された蚊のうち形態学的に判別が困難であったシナハマダラカ *Anopheles sinensis* Wiedemann とオオ

ツルハマダラカ *Anopheles sinensis* Baisas and Hu の 2 種, さらにコガタアカイエカ, シロハシエカ *Culex pseudovishnui*, 及びウシシニエカ *Culex vishnui* の 3 種については, それぞれシナハマダラカ群, コガタアカイエカ群として取り扱った.

2. フラビウイルス遺伝子の検出

保存した同一種の蚊は, 最大50個体を 1 プールとし, PBSを1~10個体では200 μ l, 11~20個体では300 μ l, 30~50個体では500 μ lを加え, ホモジナイズして蚊の乳剤とした.

ウイルス RNA 抽出及び One step RT-PCR は, 林らの方法⁴⁾により行った. プライマーは, フラビウイ

ルス共通プライマー (Fla-U5004, Fla-U5457)⁵⁾, WNV 特異プライマー (WNNY514, WNNY904)⁶⁾, DV 共通プライマー (D1, D2)⁷⁾, JEV 特異プライマー (JE8K, JEER)⁸⁾を使用した. また, RNA 抽出及び One step RT-PCR 法が確実に行われたかどうかの指標として, 蚊の18SrRNA の特異プライマー (18S417,18S920c)⁹⁾を用いて増幅遺伝子 (504bp)を確認した.

III 結 果

調査期間内の各地点における蚊の種類別・月別採集状況を表1に示した. 沖縄本島の5地点では計43回, 与那国島の2地点では計30~32回行った.

月	地点	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	合計
トラップ設置回数	A~E	2	3	4	4	3	5	4	4	4	4	3	3	43
	F	1	2	5	3	2	1	5	4	1	3	2	3	32
	G	0	1	5	3	2	1	5	4	1	3	2	3	30
<i>Culex pipiens fatigans</i> ネッタイエカ	A	32	5	8	4	18 (1)	22	5	17	6	10	14	4	145 (1)
	B	5	11	14	3	2	4	6	7	8	4	1	65	
	C	2	3 (1)	3	3	1	3	3	8	2	1	1	25 (1)	
	D	126 (1)	133 (5)	5 (1)	3	1	8	7	2	1	1	1	288 (7)	
	E	42	114	1	1	2	2	2	1	1	1	1	166	
	F		10	9 (3)		1	1 (1)	1		4	9	17	52 (4)	
	G					29			(1)		27	7	2 (1)	67 (2)
合計		202 (1)	270 (6)	39 (4)	21	54 (1)	29	20 (1)	36 (1)	16	49	44	28	808 (15)
<i>Aedes albopictus</i> ヒトスジシマカ	A	7	21 (7)	25 (6)	16 (3)	28 (1)	27 (4)	15	3	4	3			149 (21)
	B				2 (1)	4	3 (1)	2	1					12 (2)
	C	(2)	2	4	17 (6)	9 (2)	15	10 (2)	10	2	2	1	1	73 (12)
	D		2		13 (1)	1	21	14	10					61 (1)
	E			1	1	3	1			1		1		8
	F		1 (2)	5 (1)	4			1			1			12 (3)
	G			5				3	7			1		16
合計		7 (2)	26 (9)	40 (7)	53 (11)	45 (3)	67 (5)	45 (2)	31	7	3	6	1	331 (39)
<i>Armigeres subalbatus</i> オオクロヤブカ	C						3 (1)							3 (1)
	D	2 (1)	38	5 (3)	26	31 (4)	46 (2)	38 (1)	14 (1)					200 (12)
	E	3	50 (4)	35 (2)	65 (1)	77 (2)	62	17	11 (1)	1				321 (10)
	F	1 (1)	2	5	1			1			1	1		12 (1)
	G			7 (1)	2	2								11 (1)
合計		6 (2)	90 (4)	52 (6)	94 (1)	110 (6)	111 (3)	56 (1)	25 (2)	1	1	1		547 (25)
<i>Aedes vexans nipponi</i> キンロヤブカ	D	1					1	1	1					4
	E		1	11	1		36	72	4			1		126
	F										1			1
	G		1	10 (1)	1	253 (74)	13	27 (1)	18 (20)		1 (3)	3		327 (99)
合計		1	2	21 (1)	2	253 (74)	50	100 (1)	23 (20)		2 (3)	4		458 (99)
<i>Culex tritaeniorhynchus</i> コガタアカイエカ群	A					1	2							4
	B							1						1
	E			11	2	3	10			1				37
	F	1												1
合計		1	3	18 (2)	13	43 (1)	252 (2)	54 (3)	6	2	1			392 (8)
<i>Aedes togoi</i> トウゴウヤブカ	E			1										1
	G				1	3			1		2	1		8
<i>Anopheles sinensis</i> シナハマダラカ群	D		1											1
	E		1	2	1		1	1						6
	F	1 (3)		1										2 (3)
	G			2										2
<i>Culex bitaeniorhynchus</i> カラツイエカ	C					1								1
<i>Culex halifaxii</i> トラフカクイカ	D	2	4	1										7
<i>Culex mimeticus</i> ミナハマダライエカ	E			3										3
<i>Culex cinctellus</i> ハラオビツノフサカ	F		1											1
<i>Culex spp</i> イエカ類	G			1	3		3	8	1	1				17
<i>Culex fuscocephala</i> オビナシエカ	G						2							2
<i>Mansonia uniformis</i> アシマダラヌマカ	E	1	1	3	1		1							7
<i>Mimomyia luznensis</i> ルソンコブハンシカ	G								1					1
合計		7 (4)	9	13 (1)	4	11	12	1	4	2	1	2	1	67
総計		224 (9)	400 (19)	195 (21)	189 (12)	520 (85)	533 (10)	287 (8)	125 (23)	29	57 (3)	57	30	2646 (191)

A:那覇市小禄 B:那覇市久茂地 C:宜野湾市大謝名 D:大里村当研究所 E:大里村豚舎 F:与那国町役場 G:与那国町豚舎, ():雄

全7地点で採集された蚊は、6属14種2837個体(雌:2646個体,雄:191個体)であった。この中で、ネッタイエカが最も多く823個体で全体の29.0%を占めた。ついで、オクロヤブカ572個体20.2%、キンイロヤブカ557個体19.6%、コガタアカイエカ群443個体15.6%、ヒトスジシマカ370個体13.0%、シナハマダラカ群14個体0.5%の順で、上位6種はフラビウイルス媒介蚊であった。以下 *Curex halifaxii* トラフカクイカ10個体, *Aedes togoi* トウゴウヤブカ9個体, *Curex bitaeniorhynchus* カラツイエカ3個体, *Curex fuscocephala* オビナシエカ2個体, *Curex mimeticus* ミナミハマダライエカ1個体, *Curex cinctellus* ハラオビツノフサカ1個体, *Mimomyia luznensis* ルソンコブハシカ1個体であった。また、イエカ類のうち個体の損傷により同定困難なものが24個体0.9%であった。

各地点の1回採集当たり蚊の平均個体数(採集個体数/採集回数)は、与那国町豚舎では31.8個体で最も多く、ついで大里村の豚舎で16.1個体、大里村当研究所13.5個体、那覇市小禄7.4個体、与那国町役場2.9個体、宜野湾市大謝名2.7個体、那覇市久茂地1.7個体の順であった。

各地点における蚊の種類別採集割合を図1に示した。いずれの地点においても、ネッタイエカ及びヒトスジシマカが採集され、特に、那覇市2地点と宜野湾市、与那国町役場では、これら2種で全体の76~98%を占めた。オオクロヤブカは、大里村の当研究所及び豚舎の2地点でそれぞれ全体の37%、48%を占めていた。キンイロヤブカとコガタアカイエカ群は、主に豚舎で採集され、大里村の豚舎ではこの2種で全体の24%、与那国町の豚舎では86%を占めた。

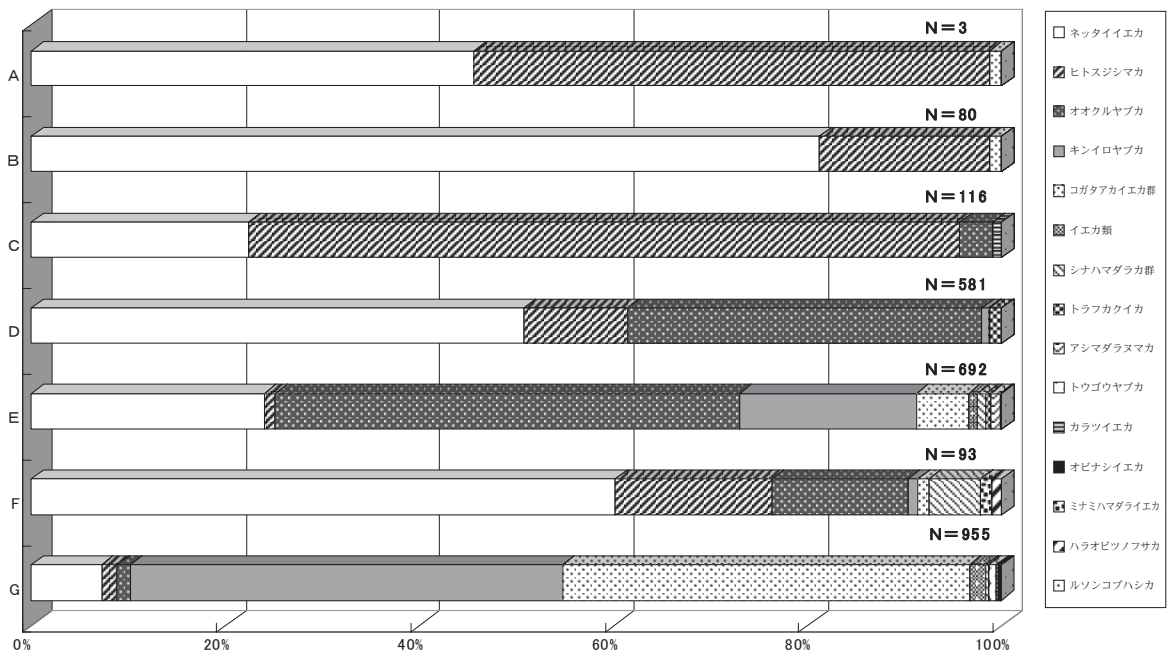


図1. 各地点における蚊の種類別採集割合
 A: 那覇市小禄 B: 那覇市久茂地 C: 宜野湾市大謝名 D: 大里村当研究所
 E: 大里村豚舎 F: 与那国町役場 G: 与那国町豚舎

各地点における主な蚊の月別採集状況を図2に示した。ネッタイエカは、那覇市小禄と大里村の2地点では4~5月に発生のピークを示し、那覇市2地点と宜野湾市及び与那国町役場の4地点では一年を通して発生がみられた。ヒトスジシマカは、那覇市小禄で5~6月と8~9月に緩やかなピークを示した。それ以外の地点では5個体以下で推移した。オオクロヤブカは、大里村の2地

点では、5月と8月に緩やかなピークを示した。キンイロヤブカは、大里村の豚舎では10月、与那国町豚舎では8月、コガタアカイエカ群は、与那国町豚舎で9月にピークを示した。

採集蚊を1プール最大50個体とし、68プールについて4組のプライマーを用いてフラビウイルスの遺伝子の検出を試みたが、遺伝子は検出されなかった。

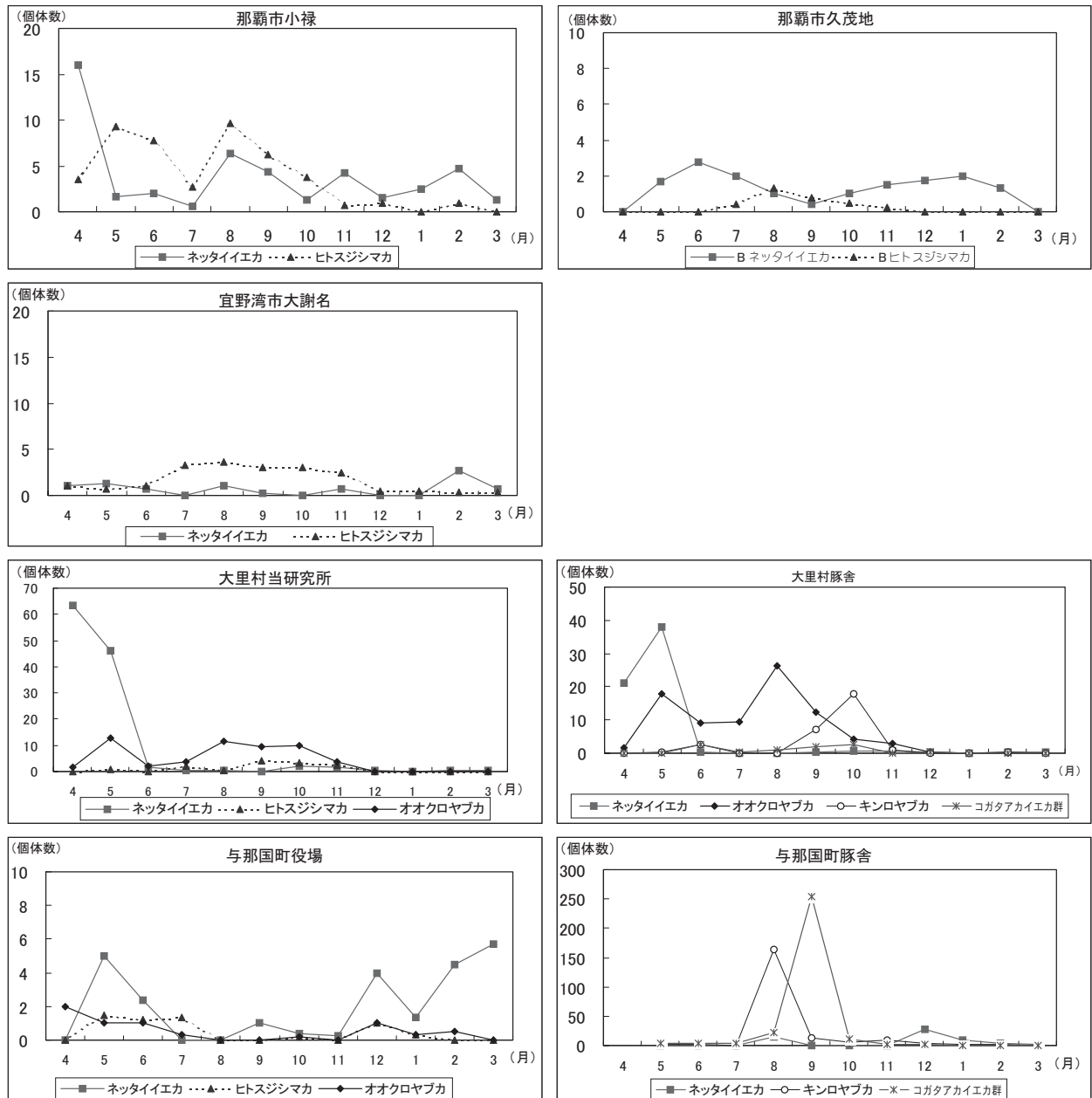


図2. 各地点における主な採集蚊の種類別・月別平均個体数

IV 考 察

7地点での蚊の採集数は、2837個体で6属14種に分類された。ネットタイエカ、オオクロヤブカ、キンイロヤブカ、コガタアカイエカ群、ヒトスジシマカ、シナハマダラカ群の上位6種類は、WNVを媒介可能で、各採集地点で少なくとも3種類以上が採集された。WNVは、約40種類以上の蚊が媒介しようと報告されている。米国などでWNV媒介可能と判定された蚊は43種で、イエカ属19種、ヤブカ属11種、ハマダラカ属5種などである¹⁰⁾¹¹⁾。国内においても媒介可能な蚊は多く生息し、媒介蚊として注意すべき蚊は11種類挙げられている³⁾。今回、採集された上位6種はこれに含まれる種類であった。

DVとYFVは、*Aedes aegypti* ネットタイシマカやヒトスジシマカが主要な媒介蚊として知られている。今回の調査では、ヒトスジシマカのみが全ての地点で採集された。ネットタイシマカはかつてわが国でも生息が確認されたが、1970年代以降採集されておらず、現時点ではわが国には分布していないとされている。

JEVの媒介蚊は、コガタアカイエカが知られ、今回は主に大里村と与那国島の豚舎で採集された。

採集地点別では、那覇市2地点、宜野湾市、与那国町役場の住宅地4地点における採集蚊の種類は、3～6種で、ネットタイエカ及びヒトスジシマカの2種が全体の76～98%を占めており、また、1回採集当たりの蚊の平

均個体数は、10個体以下と比較的少数であった。蚊の発生源としては、側溝の溜まり水や、植木鉢の鉢受け皿、空き缶やプラスチック容器などが考えられた。これらの採集地点及びその周辺では家畜やペット等の動物は飼育されていなかった。

これに対し、大里村2地点及び与那国町豚舎では、採集蚊の種類も8～9種類と多く、住宅地に比べオオクロヤブカ、キンイロヤブカ、コガタアカイエカなどの占める割合が多く、1回採集当たりの平均個体数も、13.5～31.8個体で他の地点と比べ多かった。これらの要因として、住宅地に比べ採集地点の周囲に緑地が豊富で、周囲に蚊の発生源となる水溜りや湿地帯などが存在していること、吸血源となる家畜などの動物が多数飼育されていることが考えられた。

当間らの報告¹²⁾によると、1977～1978年の間に、那覇市3地点でライトトラップ（ブラックライトを使用）により採集した蚊は、5属8種6179個体で、ネッタイエカ6,036個体97.7%とヒトスジシマカ128個体2.1%の上位2種で全体の99.8%を占め、一回採集当たりの平均個体数は13.9～59.2個体であった。今回の那覇市2地点の調査では2属3種400個体でネッタイエカ211個体52.7%とヒトスジシマカ184個体46.0%で全体の98.8%を占め、当間らの報告とはトラップの設置場所、ライトトラップの機種、ドライアイスを用いている点異なるが、ほぼ同様の結果であった。しかし、今回の調査ではヒトスジシマカの占める割合が増加したこと、一回採集当たりの平均個体数が10以下であったこと、採集蚊の種類が3種と減少していることから、那覇市における蚊の生息環境が20年以上前と比べ変化してきていることが推察された。

蚊の月別採集状況は各地点で異なるが、全体的にみると4～10月に多く採集され、11月～翌年3月は採集蚊の数は少なかった。しかし、ネッタイエカは、那覇市2地点、宜野湾市、与那国町役場の住宅地においては12～3月も採集され一年を通して採集され、当間らの報告と一致していた¹²⁾。従って、本県では、11～3月の間でも、ネッタイエカの発生があることを認識しておく必要があると考えられた。

今回の調査では、採集蚊からウイルス遺伝子は検出されなかった。しかし、我々の身近な生活環境にフラビウイルス媒介蚊が存在していることから、ウイルス侵入に備え、今後も調査を継続する必要がある。特に、各地域における蚊の分布の状況を正確に把握していくことが重要で、このことが、蚊の発生源の除去や効果的な薬剤散

布等のフラビウイルス媒介蚊対策に役立つものと考えられた。

＜謝 辞＞

今回、調査を実施するにあたり、与那国島の蚊の採集にご協力を頂いた八重山保健所与那国駐在所の小野寺至獣医師、蚊の採集方法、分類、同定にご助言及びご指導頂いた琉球大学医学部環境保健学教室助手の當間孝子博士に深謝いたします。

V ま と め

今回の調査で、フラビウイルス媒介蚊としてネッタイエカ、オオクロヤブカ、キンイロヤブカ、コガタアカイエカ群、ヒトスジシマカ、シナハマダラカ6種類が確認された。蚊は4～10月に多く採集された。各採集地点の特徴として、住宅地は、ネッタイエカとヒトスジシマカの2種が採集蚊の約76～98%を占めていた。周辺に緑地や湿地帯が多く存在する場所や、動物を飼育している場所では、発生する蚊の数や種類が多かった。これらの情報は、今後ウイルス侵入に備え媒介蚊対策を立てる上で役立つものと考えられた。

採集した蚊からフラビウイルス遺伝子は検出されなかったが、フラビウイルス媒介蚊は身近に生息していることから、引き続き調査が必要と思われた。

V 参 考 文 献

- 1) Toma T (1986) Mosquito systematics, 18(1) : 1-109.
- 2) 佐々学 (1976) : 蚊の科学. 北隆館, 312pp
- 3) ウエストナイル熱媒介蚊対策研究会 (2003) ウエストナイル熱媒介蚊対策ガイドライン. (財) 日本環境衛生センター, 161pp.
- 4) 林昭宏, 鎌倉和政, 多賀賢一郎, 森英人, 井村俊郎, 江下優樹, 内田幸憲 (2003) One step RT-PCR 法による媒介蚊からのフラビウイルス RNA の検出条件の検討. 感染症学雑誌, 77 : 822-829.
- 5) Rice CM, Lenches EM, Eddy SD, Shin SJ, Sheets RL, Strauss JH (1985) Nucleotide sequence of yellow fever virus : Implications for flavivirus gene expression and evolution. Science, 229 : 726-733.
- 6) 倉根一郎, 高崎智彦 (2004) ウエストナイルウイルス病原体検出マニュアル (第3版). 国立感染症研

- 究所, 1-20.
- 7) Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang G, Vorndan AV (1992) Rapid Detection and Typing of Dengue Viruses Clinical Samples by Using Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction. *J Clin Microbiol* 1992, 30 : 545-551.
 - 8) Sumiyoshi H, Miri C, Fuke I, Morita K, Kuhara S, Kondou J, *et al* (1987) Complete nucleotide sequence of the Japanese encephalitis virus genome RNA. *Virology*, 161 : 497-510.
 - 9) Hoffmann PR, Woodou RJ, Calimlim PS, Effler RPV, Miyamoto V, Imarie A, *et al* (2004) West Nile Virus Surveillance : A simple Method for Verifying the Integrity of RNA in Mosquito (Diptera:Culicidae) Pools. *J Med Entomol*, 41 (4) : 731-735.
 - 10) Sardelis MR, Turell MJ, Dohm DJ, O'Guinn ML (2001) Vector competence of selected North American *Culex* and *Coquillettidia* mosquitoes for West Nile Virus. *Emerg Infect Dis*, 7 : 1018-1022.
 - 11) Goddard LB, Roth AE, Reisen WK, Scott TW (2001) Vector competence of California mosquitoes for West Nile Virus. *Emerg Infect Dis*, 8 : 1385-1391.
 - 12) 当間孝子, 宮城一郎, 星野千春, 佐久本微笑 (1978) 那覇市内でのライトトラップによる蚊の採集成績. *琉大保健誌*, 1(2) : 96-100.