

沖縄県におけるフラビウイルス媒介蚊に関する調査

平良勝也, 岡野祥, 仁平 稔, 糸数清正, 大野 惇, 久高 潤, 森河隆史¹⁾

沖縄県衛生環境研究所 1) 沖縄県八重山福祉保健所与那国駐在

要旨: 2006年4月から2007年3月の間に、沖縄本島と与那国島で蚊を採集し分類同定を行った。蚊の採集地点は、沖縄本島では豚舎、公園、渡り鳥が飛来する池の3地点、与那国島では役場、畜舎、渡り鳥が飛来する湿地帯の3地点、合計6地点で調査した。その結果、全体では2351個体(雌:2287個体, 雄:64個体)が採集され6属12種に分類された。採集された主な蚊は、コガタアカイエカ群1093個体48.7%、ネッタイエカ779個体34.7%、ヒトスジシマカ354個体15.8%の3種であった。蚊の種類が最も多かったのは与那国島水田地帯で7種類であった。各採集地点では少なくとも3種類以上の蚊が採集され、採集した蚊の数、種類、月別発生状況はそれぞれ地点で特徴がみられた。今回の調査で採集した蚊から、フラビウイルス遺伝子は検出されなかった。

I はじめに

フラビウイルス属に含まれるウイルスは、約70種が知られている。このうち約40種のウイルスは病原性を有し、これらのウイルスは、蚊やダニなどの節足動物によって媒介される。

その中でも、蚊が媒介する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)を原因とした患者は毎年多く発生しており、世界各地で問題になっている。特に、WNVは、1999年にニューヨークで突然患者が発生し¹⁾、2002年には患者が4000人を超え、4年間でほぼ全米にウイルスが広がりをみせ注目をあつめるようになった²⁾。また、2002年には与那国島から約110kmに位置にある台湾では、DVの感染により15,000人を超える患者が発生した³⁾。

現在のところ、わが国にはWNV、DV、YFVは侵入していない。しかし、近年、国際的な交通手段の発達によりこれらのウイルスの侵入が危惧されている。また、WNVは鳥類が宿主となることから、ウイルスを保有した渡り鳥により国内にウイルスが持ち込まれ、その鳥を刺した蚊によって蔓延する可能性も考えられている。

わが国におけるフラビウイルス保有蚊の侵入対策の一つとして、空港や港における蚊の病原体サーベイランスが検疫所で実施されている。しかし、沖縄県には検疫の手が及ばない広大な米軍基地が存在しており、海外から飛来する輸送機とともにウイルスを保有した蚊が侵入する可能性も考えられる。また、県内では春季や秋季には渡り鳥の飛来も多く、これら監視も必要である。さらに、デング熱の発生がある台湾と近距離の与那国島での監視は特に重要と考えている。

本調査研究では、空港や港以外の場所での蚊の発生状

況、まだ生息の報告がない蚊の侵入・定着状況及び採集された蚊の病原体サーベイランスを行い、これらの情報を県民に提供し感染予防に資することを目的としている。著者らは、平成16年度および17年度に、沖縄本島及び与那国島を中心に調査を行い報告した⁴⁾⁵⁾。今回、平成18年度も同地域において継続して調査したので報告する。

II 材料及び方法

1. 蚊の採集及び分類

蚊の採集は、沖縄本島では、豊見城市与根の三角池、那覇市の公園、大宜味村の豚舎の3地点、与那国島では、町役場、豚舎(比川)、水田地帯(満田原)の3地点、合計6地点を調査地点とした。

蚊の採集方法は、市販のCDCライトトラップを地面から1.2~1.6mの高さに設置して行った。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18年4月~翌年3月まで月に2~4回(大宜味村の豚舎では6月と7月に1回ずつ計2回実施)、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、シロハシイエカ *Culex pseudovishnui*、及びウイシニイエカ *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1~20個体では500μl、21~50個体では1,000μlを加え、ホモジナイズして蚊の乳剤とした。

ウイルスRNA抽出は、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)を用い、添付のプロトコルに従って行った。One step RT-PCRは、林らの方法⁴⁾で行った。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、増幅遺伝子は、

フラビ共通遺伝子 (454bp), WNV (391bp), DV (511bp), JEV (326bp) を確認した。また、RNA抽出及び One step RT-PCR法による遺伝子の増幅の成否を確認する指標として、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

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。

表1. 各地点における蚊の種類別・月別採集状況

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	3	2	3	2	4	2	2	2		2	3	2	27
	B	3	2	3	3	4	2	2	2	1	2	3	2	29
	C			1	1									2
	D・F	3	2	2	2	4	3	3	1	2	3	3	2	30
	E	3	2	2	2	3	3	3	1	2	3	3	2	29
<i>Curex pipiens fatigans</i> ネツタイエカ	A	81	40	50	4	7	7	2	2		3	19	27	242
	B	15	10	19	17	15	6	3	5	1	3	16	13	123
	D	85	90 (1)	14	17	37 (1)	22 (2)	8		12	15	4	7	311 (4)
	E	3	1			2				1	3	6 (2)	3	19 (2)
	F		1		1	2	3			1	11	31	28	78
	合計	184	142 (1)	83	39	63 (1)	38 (2)	13	7	15	35	76 (2)	78	773 (6)
<i>Aedes albopictus</i> ヒトスジシマカ	A	1	4	7	1	4	6	1	1					25
	B	7	5	10 (2)	8 (1)	14 (17)	18 (5)	1 (2)	1					64 (27)
	C				2									2
	D	2	1	1	2		6	2		2		1		17
	E	2	4	9	3	47	57	52	8	13 (1)		6 (1)	5 (1)	206 (3)
	F					4	3	1	1	1				10
合計	12	14	27 (2)	16 (1)	69 (17)	90 (5)	57 (2)	11	16 (1)	0	7 (1)	5 (1)	324 (30)	
<i>Armigeres subalbatus</i> オオクロヤブカ	A			1									1	2
	D					1								1
	E	2 (1)	1							1				4 (1)
合計	2 (1)	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	7 (1)	
<i>Aedes vexans nipponi</i> キンイロヤブカ	A	3	1											4
	C			1										1
	E	1					1	1	1	14				18
合計	4	1	1	0	0	1	1	1	14	0	0	0	23	
<i>Curex tritaeniorhynchus</i> コガタアカイエカ群	A	13	2	13	5	2	3							39
	B		4				3							7
	C			87	193									280
	E	22	15	145 (2)	22	171	50 (2)	134 (1)	3	16	14			592 (5)
	F	3	5	7 (17)	2	53	64 (4)	4	7	1	2	1		149 (21)
	合計	38	26	252 (19)	222	226	120 (6)	138 (1)	10	17	16	1	1	1067 (26)
<i>Anopheles sinensis</i> シナハマダラカ	A	2												2
	E	5								2				7
	F	3					1							4
	合計	10	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	13
<i>Aedes lineatopennis</i> ナンヨウヤブカ	F					1 (1)	52							53 (1)
	合計													
<i>Curex bitaeniorhynchus</i> カラツイエカ	A	1	2											3
	合計													
<i>Curex halifaxii</i> トラフカクイカ	A	1		5	2									8
	合計													
<i>Curex spp</i> イエカ類	E									2				2
	F								1					1
<i>Mansonia uniformis</i> アシマダラスマカ	A							1						1
	合計													
<i>Coquillettidia crassipes</i> ムラサキヌマカ	F			3				1						4
	合計													
<i>Tripteroides bambusa</i> キンバラナガハシカ	F												1	1
	合計													
不明	A							1						1
	B		1											1
	C			1										1
	E	2												2
	F			1			1							2
合計	4	3	10	2	1 (1)	53	3	1	2	0	0	1	80 (1)	
総計	254 (1)	187 (1)	374 (21)	279 (1)	360 (19)	303 (13)	212 (3)	30	65 (1)	53	84 (3)	86 (1)	2287 (64)	

A: 豊見城市(三角池) B: 那覇市(公園) C: 大宜味村(豚舎) D: 与那国町(役場) E: 与那国町(豚舎) F: 与那国町(水田地帯) (): 雄

※設置回数は、トラップの故障や設置不備により、捕獲数が0だったものを除いた

沖縄本島における蚊の採集は、豊見城市三角池では計

27回、那覇市の公園では計29回、大宜味村の豚舎で計2回実施した。与那国島では役場と豚舎で計30回、湿地帯で計29回行った。

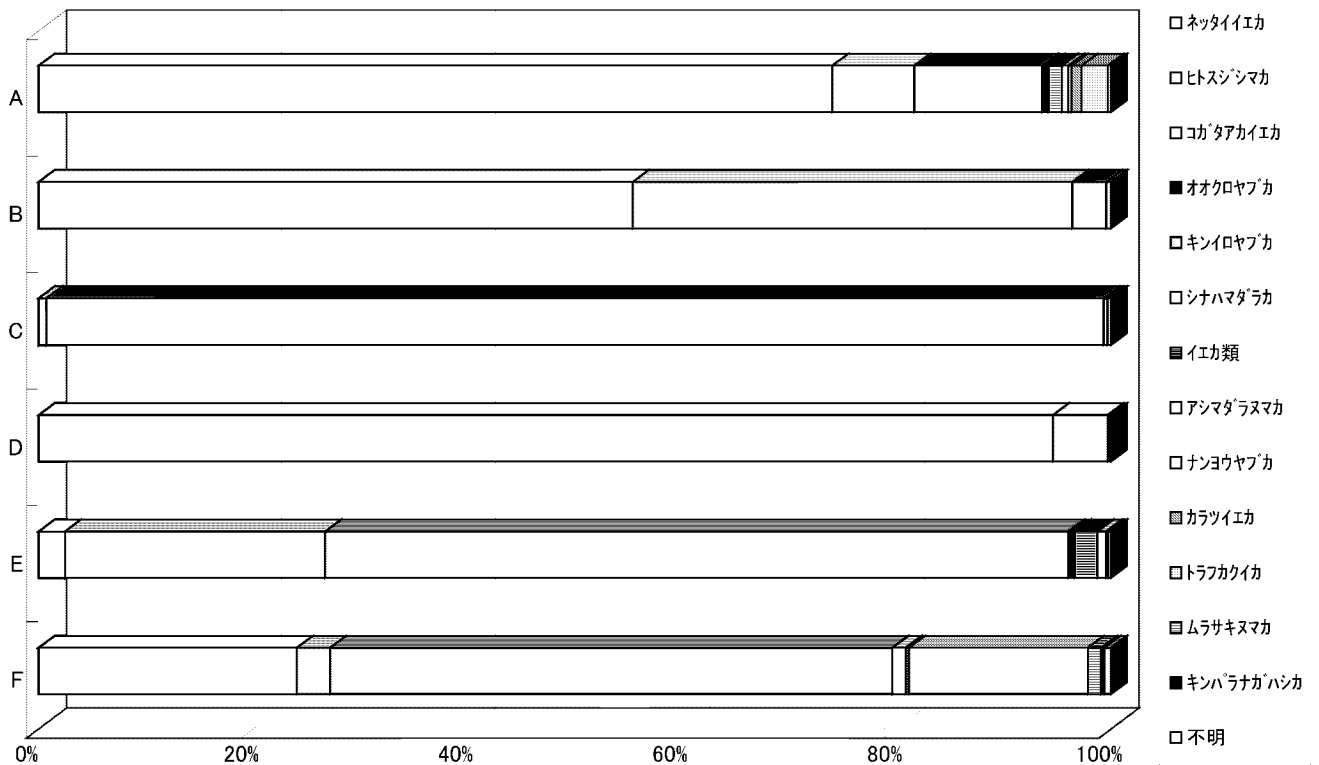
全6地点で採集された蚊は、2351個体(雌:2287個体、雄:64個体)であった。

この中で、コガタアカイエカ群が最も多く1093個体で全体の48.7%を占めた。ついで、ネッタイエカ *Curex pipiens fatigans* 779個体34.7%、ヒトスジシマカ 354個体15.8%、ナンヨウヤブカ *Aedes lineatopennis* 54個体2.4%、キンイロヤブカ 23個体1.3%の順であった。以下、シナハマダラカ群 *Anopheles sinensis* 13個体、オクロヤブカ 8個体、トラフカクイカ *Curex halifaxii* 8個体、ムラサキヌマカ *Coquillettia crassipes* 4個体、

カラツイエカ *Curex bitaeniorhynchus* 3個体、イエカ類 3個体、アシマダラヌマカ *Mansonia uniformis* 1個体、キンバラナガハシカ *Tripteroides bambusa* 1個体であった。

各地点の1回採集当たり蚊の平均個体数(採集個体総数/採集回数)は、与那国町豚舎29.7個体、豊見城市三角池では12.1個体、与那国町水田地帯10.8個体、与那国島役場11.1個体、那覇市公園7.6個体個体の順であった。6月と7月の計2回に実施した大宜味村豚舎では142.0個体では55個体であった。

各地点における蚊の種類別採取割合を図1に示した。



A:豊見城市(三角池) B:那覇市(公園) C:大宜味村(豚舎) D:与那国町(役場) E:与那国町(豚舎) F:与那国町(水田地帯)

図1. 各地点における蚊の種類別採取割合

豊見城市三角池と与那国町役場では、ネッタイエカがそれぞれ74.0%、94.6%を占めた。大宜味村の豚舎では、コガタアカイエカが98.6%を占めた。与那国島の豚舎ではコガタアカイエカが69.3%を占め、次いでヒトスジシマカ24.3%、ネッタイエカ2.4%の順であった。与那国島の水田地帯ではコガタアカイエカが52.5%を占め、次いでネッタイエカ24.1%、ナンヨウヤブカ

16.7%の順であった。

各調査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、豊見城市三角池と与那国町役場の2地点で、それぞれ4月と5月に発生のピークが観察された。ヒトスジシマカは、那覇市公園で発生のピークが観察された。コガタアカイエカ群は、与那国島の豚舎及び水田地帯で6~8月に多く採集され増減を繰り返

した。豚舎では6月、水田地帯では9月にピークが観察された。ナンヨウヤブカは、与那国島水田地帯で9月にピークが観察された。

採集蚊を1プール最大50個体とし、50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。

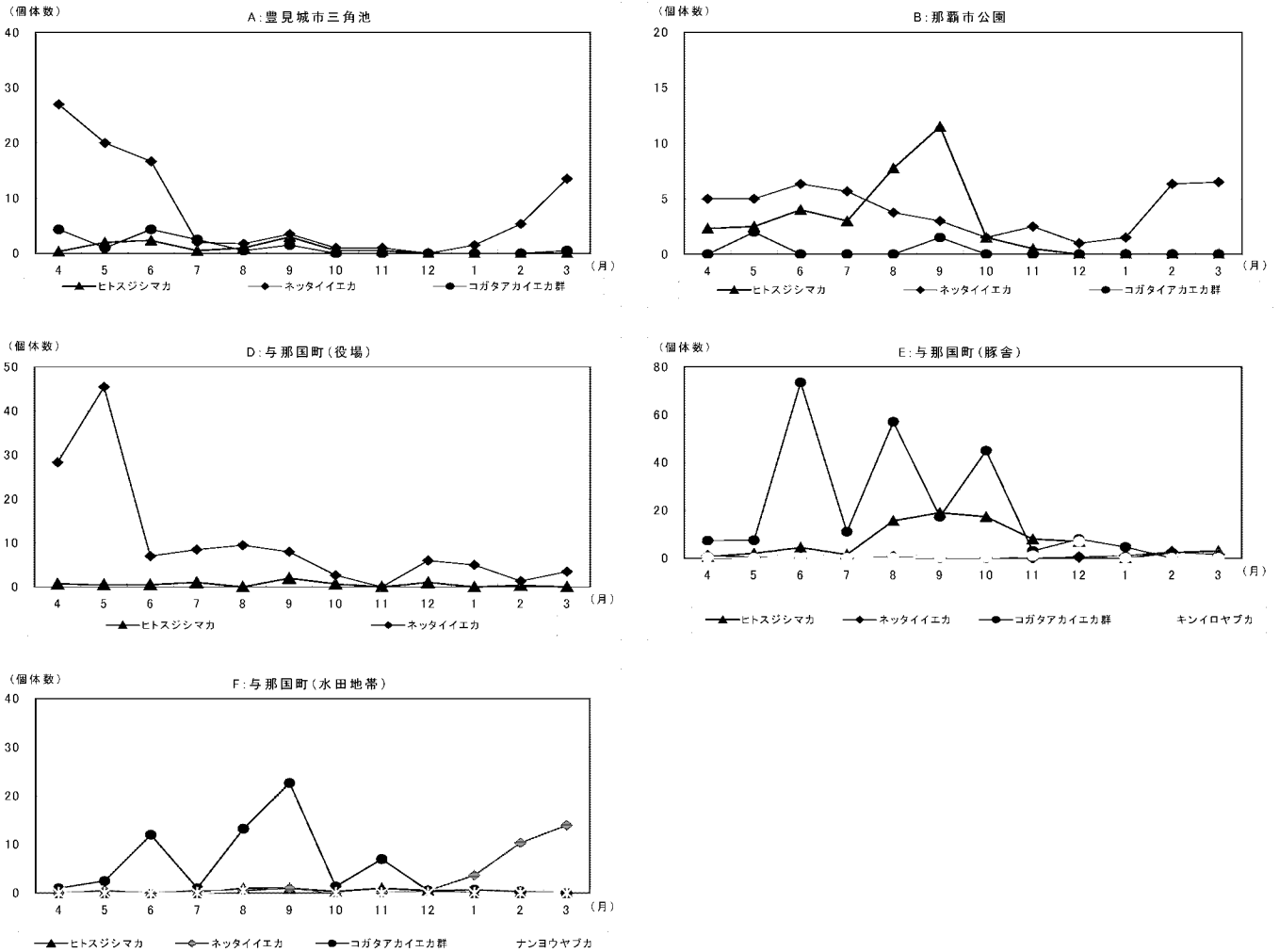


図2. 各地点における主な採集蚊の種類別・月別平均個体数

IV 考察

採集地点全体での採集蚊の数は、2351個体で6属12種に分類された。各採集地点で3~7種類の蚊が採集・同定された。蚊の種類が最も多かったのは、与那国島の水田地帯であった。この結果は昨年と同様であることから、水田は蚊の発生源として重要な場所であると考えられた。

与那国島に生息する蚊は、これまで9属26種が報告されている¹²⁾。しかし、昨年度の調査でタテンハマダラカ *Anopheles tessellatus* とムラサキヌマカ *Coquillettidia crassipes* の2種が生息することが新たに確認された¹⁸⁾。今回の調査ではムラサキヌマカは6月と10月に採取されたが、タテンハマダラカは採取されな

った。このことから、ムラサキヌマカは与那国島に定着していることが示唆された。タテンハマダラカは、与那国島以外ではこれまで沖縄本島、石垣島、西表島で成虫のみが記録されており、個体数が少なくその生態は不明とされている¹³⁾。この種に関しては、フラビウイルスあるいはマラリアなどの病原体を媒介可能かどうか不明であることから、今後も注意して監視する必要があると思われる。

各調査地点では、これまでの調査結果と同様に WNV, DV, JEV などのフラビウイルスを媒介可能とされる蚊が確認された。

WNV は、約40種類以上の蚊が媒介し得ると報告されている。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、採集された蚊のうち WNV 媒介蚊として確認されたのは、コガタアカイエカ、ネッタイエカ、ヒトスジシマカ、オオクロヤブカ、キンイロヤブカ、シナハマダラカの 6 種類で、各採集地点で 3~6 種類が確認された。特に、渡り鳥が飛来する豊見城市三角池と与那国島の水田地帯では、コガタアカイエカ、ネッタイエカ、ヒトスジシマカの 3 種で採集蚊の約 8~9 割を占めており、WNV を保有している渡り鳥が飛来した場合、これらの蚊が主要な媒介蚊となる可能性が考えられた。また、ネッタイエカの発生が増加する 2~3 月は、渡り鳥が飛来する時期と一致することから蚊の病原体サーベイランスの対象種としては重要と思われた。

DV は、ネッタイシマカ *Aedes aegypti* やヒトスジシマカが主要な媒介蚊として知られている。1838~1955 年の間に、本県で大小合わせて十数回にわたる流行があった記録も残っているが、現在、国内には DV は常在せず、国内での感染例はない。しかし、感染症発生動向調査では、輸入感染症例は毎年数例~数十例報告されている¹⁴⁾。今回の調査では、ヒトスジシマカが採集されており、与那国島の豚舎や那覇市公園で 8~9 月に発生のピークが観察された。ヒトスジシマカは、これまでの調査でも 7~10 月に発生個体の増加が確認されており^{17),18)}、万が一 DV 或いは YFV が侵入した場合、この時期は特に注意が必要と思われた。

ネッタイシマカは、今回の調査でも確認されなかった。本種は、かつてわが国でも生息が確認されていた記録があるが、1970 年代以降採集されておらず、現時点では分布していないとされている。台湾南部では、ネッタイシマカが生息し、毎年患者が発生しており 2002 年には DV 患者が 5000 人を超える大流行があった。本県には、台湾からの観光客も多く、飛行機や船によりウイルス感染蚊が持ち込まれる可能性も十分に考えられることから、DV 侵入に備え今後も監視を継続する必要があると思われる。

JEV は、コガタアカイエカが主要な媒介蚊として知られている。最近のわが国での患者発生は 1992 年以降 10 人未満を維持しており^{15),16)}、県内では 1998 年 1 名の発生があるのみで、これ以降現在まで発生報告はない。しかし、例年県内と畜場搬入豚の血清中の JEV に対する HI 抗体は、例年 6 月頃から陽転し、血清から JEV も分離されている。これまでの調査でコガタアカイエカは、

豚舎や水田などで多く採集されている^{17),18)}。今回の調査でも大宜味村の豚舎では採集蚊の 98.6%、与那国島豚舎では 69.3%、与那国島水田地帯では 52.3% をコガタアカイエカが占めた。また、コガタアカイエカは、場所によって異なるが 6~9 月に発生のピークが観察されることから、この時期にキャンプ等の野外活動を行う際には注意を要すると考えられた。

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を媒介し得る蚊が存在していることは明らかである。このためフラビウイルスの侵入に備え、蚊のサーベイランス体制を整えておくことは重要であり、今後も調査を継続していく必要がある。また、多くの地域で蚊の分布状況を把握しておくことは、蚊の発生源の除去や効果的な薬剤散布等を行う際に役立つと考えられた。

<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森川隆史獣医師、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保健学科国際環境保健分野教授の當間孝子博士に深謝いたします。

IV 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, Vorndam AV (1992) Rapid Detection and Typing of Dengue Viruses Clinical Samples by Using Reverse Transcriptase-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, I Marie 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, Scoot TW (2001) Vector competence of California mosquitoes for West Nile Virus. *Emerg Infect Dis*, 8 : 1385-1391.
- 12) 宮城一郎, 当間孝子, 伊波茂雄 (1983) 八重山群島の蚊科に関する研究, *衛生動物*, 34(1) : 1-6
- 13) 当間孝子 (2002) 琉球列島のハマダラカ *Anopheles* 属の蚊に関する研究, *Med. Entomol. zool*, 53(1) : 7-19
- 14) 国立感染症情報センター (2004) <特集> デング熱・デング出血熱 1999.4~2003.12, 病原微生物検出情報, 25(2) : 1-2.
- 15) 矢部貞雄, 松永泰子 (1998) 第4回日本脳炎. 厚生省保健医療局結核感染症課・国立感染症情報センター編, 平成8年度厚生省伝染病流行予測調査報告書, 50-80
- 16) 国立感染症情報センター (2003) <特集> 日本脳炎 1999~2002, 病原微生物検出情報, 24(7) : 1-2.
- 17) 平良勝也, 糸数清正, 久高潤, 中村正治 (2005) 沖縄県におけるフラビウイルス媒介蚊に関する調査, *沖縄県衛生環境研究所報*, 39 : 39-44.
- 18) 平良勝也, 糸数清正, 久高潤, 仁平稔, 大野惇 (2006) 沖縄県におけるフラビウイルス媒介蚊に関する調査, *沖縄県衛生環境研究所報*, 40 : 47-52.