

1976年冬季に採集されたコガタアカイエカ からの日本脳炎ウイルス分離について

疫学室 宇良宗輝、仲地国夫
衛生動物室 岸本高男、比嘉ヨシ子
下謝名和子

まえがき

沖縄本島産のブタを と畜場で採血し、日本脳炎(日脳)HI抗体保有状況を調査してみると、年によっては、新鮮感染の指標となる2ME感受性抗体が1, 3月に検出されることから、冬季における日脳ウイルス(JEV)の局地的散布が疑われてきた(宇良1972, 1973)。そこで、1973年以来、本島中部の石川市周辺で、冬季の蚊を採集しJEV分離を試みてきたが、結果はいづれの年においても陰性成績を得たことについては前報で述べた。

1976年は、コガタアカイエカの発生源、吸血源の比較的豊富な本島北部で蚊を採集し、2月中旬に2株のJEVが分離されたので報告する。

調査方法

1). 蚊の採集地点

沖縄本島北部の大宜味村田嘉里部落を選定した(図1, 2)。

2). 調査地点の景観

調査地点の南北は標高100ないし200米の岡で囲まれ、その谷間の平地を幅員5-15米の河川が流れ、流域一帯は耕地整理が進められていて、1975年は500アールの水稲田が活用されているに過ぎない。日脳媒介蚊の主要吸血源としては、約3,000頭のブタが28戸の農家で飼養されている。いわゆる山間の農村部落である。

ブタの飼育形態は、調査地点(2)では約600頭、(3)では約1,500頭、その他の農家では、昔ながら

の小規模な飼育形態がとられている。

3). 蚊の採集方法

調査地点(1)の水稲田では、原則として日没30分前から約2時間にわたって、Dry ice法で蚊を採集し、調査地点(2)および(3)では合計3基のLight trapを豚舎内の通路の床上1.5米の箇所に設置し、終夜作動して採集した。

4). 調査期間

1976年2月13日から4月28日までに旬間隔で、8回に亘って行なった。

5). ウイルス分離

蚊は7-10日間2%の砂糖水で飼育した後、分類した。乳剤作成には0.75%BSA加PBSを用い、10,000rpm30分の冷却遠心上清を2-3日令のICR系哺乳マウスの脳内に0.02mlあて接種し、14日間観察した。

6). 分離ウイルスの同定法

予研法に従って、SA抽出抗原およびマウス抗血清を作成し、標準JEV株JaGAR#1との交叉HI試験およびCE細胞を用いてのブラック減少法による中和試験で同定した。

調査成績

2月13-15日に採集された876個体のコガタアカイエカ・シロハシイエカ混合群9プールで2株のJEVが分離された。しかし、2月28日から4月21日までに採集された1,922個体、26プールからのJEV分離は陰性を示し、再び分離されるよ

Fig-1 Spot of survey on Okinawa Island.

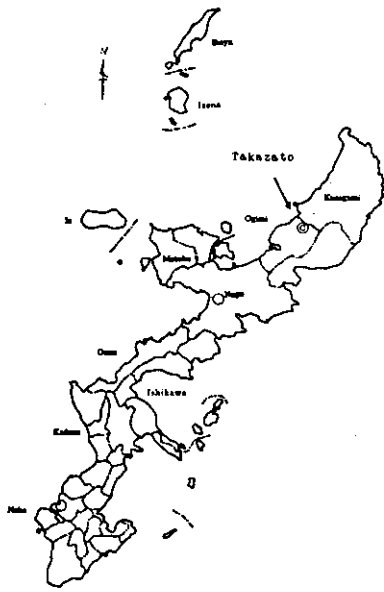


写真-1 調査地点の東から西方を望む

表-1 蚊採集地点周辺部落におけるブタ飼育頭数
(昭和51年6月末日現在)

部落名	飼育戸数	総頭数
田嘉里	28	2899
謝名城	0	0
喜如嘉	4	955
浜	15	225
合計	47	4079

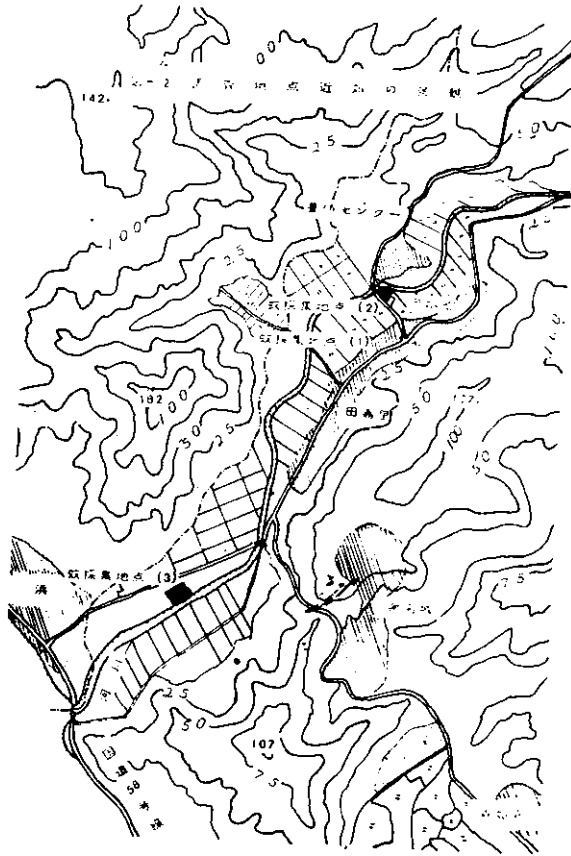


表-2 蚊採集地点周辺部落における水稲田面積
(昭和50年)

単位：アール

部落名	一期作	二期作	合計	水田率
田嘉里	500	0	500	
謝名城	0	0	0	
喜如嘉	70	0	70	
浜	0	0	0	
合計	890	320	1210	

カッコ内はイグサ栽培田

うになったのは、春半ば過ぎの4月27-28日に採集された蚊群からであった。(Tab.-3)

(1) JEV分離状況

プールNo.3では、8病日に半数の哺乳マウスに



写真-2 調査地点の西から東方を望む

表-3 JE virus isolation from *Culex tritaeniorhynchus* -*vishnui* complex caught in Okinawa island from February to April, 1976.

Date	Station	number of mosquitoes	number of pools	number of isolates
Feb. 13/15	Ogimi village	876	9	2
28/29	"	164	3	0
Mar. 10/11	"	198	3	0
17/18	"	169	4	0
27/28	"	141	3	0
Apr. 11/12	"	650	7	0
20/21	"	600	6	0
27/28	"	1,553	16	2
Total		4,351	51	4

表-4 J E V 分離状況

分離株	血清型	検出率 (%)																		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10									
JaGAR 76003	100	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
JaGAR 76007	100	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
JaGAR 76042	100	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8

表-5 分離株の至適 PH

血清型	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0	11.0	12.0	13.0	14.0	15.0	16.0	17.0	18.0	19.0	20.0	21.0	22.0	23.0	24.0	
JaGAR 76007	+	+	+	+	+	+	±	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	+	+	+	+	+	±	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	+	+	+	+	+	±	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	+	+	+	+	+	±	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	+	+	+	+	+	±	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	+	+	+	+	+	±	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	+	+	+	+	+	±	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
JaGAR 76003	+	+	+	+	+	±	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	+	+	+	+	+	±	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	+	+	+	+	+	±	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	+	+	+	+	+	±	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	+	+	+	+	+	±	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	+	+	+	+	+	±	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	+	+	+	+	+	±	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

表-6 分離株と JaGAR #01 との交叉 HI 試験および中和指数

抗血清 \ 抗原	JaGAR76003	JaGAR76007	JaGAR #01
JaGAR76003	6400	6400	12800
JaGAR76007	6400	6400	6400
JaGAR #01	6400	6400	12800
中和指数	3.977	3.777	>3.840

発症がみられ、No.7では5病日に7匹のマウスが発症した。しかし、両プールにおける残余のマウスは、2週間の観察期間中生きた(表-4)。

(2) 分離株の VAD 至適 PH

ガチョウ赤血球による分離株の至適 PH は、両株とも 6.6-6.8 であった(表-5)。

(3) CE細胞におけるブラック形成

分離株 No.3 では、マウスにおける分離初代株を No.7 ではマウス 3 代継代株を用い、二次寒天重層から 24 時間後の観察で、JaGAR #01 株同様径 1-2 mm のブラックを形成した。

(4) 中和抗体価

JaGAR #01 株を用いての 50% ブラック減少法による分離 2 株の対数抗体価は 3.9、3.7 であった。対照の JaGAR #01 では 3.8 であった。

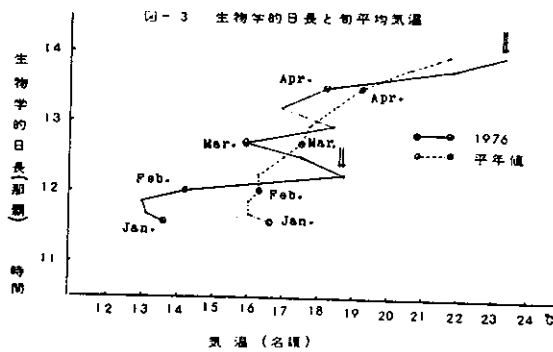
(5) 分離株と日脳標準株との交叉 HI 試験

分離株および JaGAR #01 株の HI 抗体価を homo, hetero の両系で測定し、表 6 の成績を得た。すなわち、分離株は、両系で 1:6,400、JaGAR #01 血清は homo および hetero の No.3 株では 1:12,800 を示し、hetero の No.7 株抗原では 1:6,400 を示した。

気温と生物学的日長

JEV の分離された 2 月中旬の名護市宮里における平均気温は、18.7℃ で、旬平均最高および最低気温は、それぞれ 22.2℃、15.6℃ であった。一方、那覇における 2 月 15 日の生物学的日長は、12 時間 15 分である(図-3)。

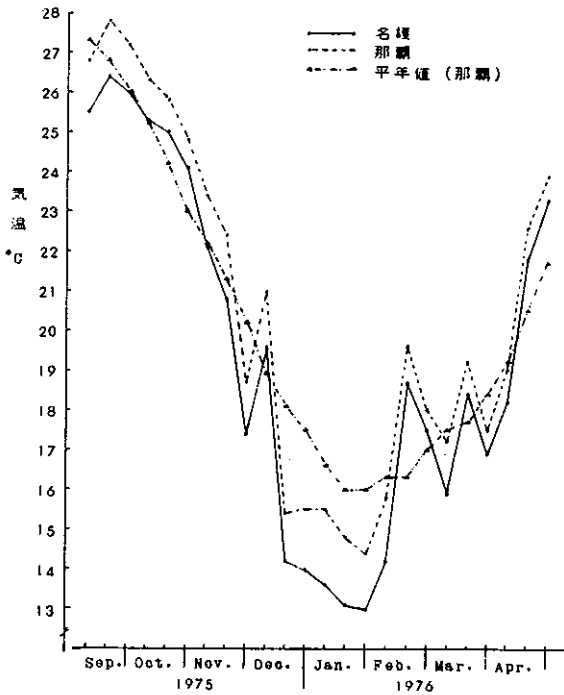
名護および那覇における 1975 年 9 月から翌年 4



注: ○印はその月の中旬における平均気温と生物学的日長を示し、↓印は J E V 分離を示す。点線は那覇における平年値。

月までの旬平均気温の比較は、図 4 に示すとおりで、名護より緯度の低い那覇の気温は常に高い値を示している。とりわけ 12 月中旬から 2 月上旬までの両地域の旬平均気温差は著しく、0.9-1.9℃ であった。この期間の気温は平年値と比較して、

図-4 名護および那覇における旬平均気温の比較



かなり低温であるが、2月中下旬では、逆に気温は高い。

考 察

沖縄本島では、冬季においても Light trap を用いて蚊を採集する場合、コガタアカイエカは殆んど吸血している。伊波(1970)によれば、沖縄産の *Culex tritaeniorhynchus summorosus* は日長の短縮にもかかわらず gonoinactive になるものは非常に少なく、主として気温の影響によって、冬期でも温度が多少高くなると吸血、産卵を繰返すと考えられている。また長崎におけるコガタアカイエカの生態実験(和田1976)では、コガタアカイエカは生物学的日長が12時間(限界日長)より短かくなると、殆んど吸血しない。長崎、沖縄、仙台産のコガタアカイエカの生態比較では、沖縄産の蚊では、11月頃から休眠にはいるのがみられるが眠りが浅く、10-14日程度で休眠から覚める。従って、冬でも吸血する蚊がみられると述べている。これらは、いずれも蚊の生態に地域差のあることを物語るものである。

これまでの調査では、冬季のと殺豚で2ME感受性抗体の検出される年もあって、越年コガタアカイエカからのJEV分離が可能と考えられてきた。しかし、1973年以来、本島中部の石川市、恩納村で蚊を採集し、ウイルス分離を試みてきたが、いずれの年においても陽性成績を得ることができなかったことについては前述のとおりである。その主な理由として、採集蚊の個体数の少ないことが挙げられるが、その他に石川市では、日脳媒介蚊の吸血源として、かなり多数のブタが飼育されているのに対し、蚊の発生源としての水稲田は、開発の進展に伴って激減していること、一方恩納村安富祖部落の採集地点では、水稲田面積の大幅な復活がみられるが、ブタの飼養頭数は漸減したため、これらの地域でのJEVの蚊→ブタ→蚊の伝播サイクルに跡切れが生じるため、中部地区においては、冬季の蚊からのJEV分離は困難と想定された。そこで、従来から中南部地区に先駆けてと殺豚血清からJEVの分離される北部の大宜味村が蚊採集地点として選定されるようになった。

JEVの分離されたのは2月中旬の温暖な日であった。これまでに2月のコガタアカイエカからのJEV分離例は、奄美大島における林ら(1973)があるのみで、極めて稀なケースである。奄美では長期にわたって、継続的に分離されているのに比べ、沖縄の場合は、2月下旬から4月中旬までの1,922個体26プールの蚊では、分離陰性を示し、再び分離されるようになったのは、4月27-28日の採集蚊からであった。

小田(1976)は越冬前に蚊は吸血しないと、ウイルス保有の機会を否定しているものと思われるが、河合(1969)は越冬に入るものは、未吸血未経産雌がその大多数を占めるが、吸血後栄養生殖分離をおこした未経産雌および産卵、吸血後に栄養生殖分離をおこした経産雌も含まれることを発表している。気温が低いときには、コガタアカイエカに摂取されたJEVの増殖は中腸に限定され、

唾液腺まで到達しない。そのため伝播能力はなくなると高橋(1976)は述べている。

調査地点は名護よりは若干緯度が高いので、気温はもっと低いと考えてよい。名護測候所の資料によると、旬平均気温は調査前年の12月中旬から急に低下し、調査年の2月上旬までは、13.0—14.2℃である。このような低い気温でのJVEの蚊への伝播は困難と考えられる。蚊の採集を始めた2月中旬前半5日間の旬平均気温および最高、最低気温は、それぞれ18.7、22.2、15.1℃で急に暖かくなっている。以上のことから2月中旬のコガタアカイエカは、越冬蚊が気温の上昇に伴って多数出現したものと考えられる。つまり、1976年は2月における気象条件がよく、また環境条件のよい場所で蚊の採集が行われたことがJEV分離につながったものと思われる。

一方、4月中旬から気温は20℃以上に達し、採集蚊の個体数に増加がみられることは、新鮮蚊の発生を意味するもので、2月中旬以降増幅されたウイルスは、やがて新鮮蚊に伝播されるようになり、4月下旬以降はJEV分離効率が上がったものと思料された。

なお、分離ウイルスは同定試験の結果、JaGAR_{#01}タイプのJEVとされた。

要 約

沖縄本島では、暖冬の年の1、3月の時期に、と殺豚血清で2ME感受性抗体が検出されることが、時折あって、冬季におけるJEVの局地的流行が従来想定されていた。

1976年は、コガタアカイエカの発生源、吸血源として、環境条件の揃った本島北部の大宜味村田嘉里部落で蚊を採集し、2月13—15日に採集されたコガタアカイエカ 876個体9プールから2株のウイルスが分離された。分離ウイルスは日脳標準株との交叉HI、中和試験等によって、JaGAR_{#01}タイプのJEVと同定された。

なお、1975年12月中旬から76年2月上旬までの旬平均気温は14℃程度で低く、JEVの蚊→増幅体→蚊の伝播は否定的であり、従って2月上旬におけるJEV分離は、気温の急激な上昇に伴って、越冬コガタアカイエカが多数出現した結果によるものと考えられる。

参 考 文 献

- 1). Hayashi, K., Mifune, K., Schichijo, A., Suzuki, H., Matsuo, S., Makino, Y., Akashi, M., Wada, Y., Oda, T., Mogi, M & Mori, A.: Ecology of Japanese encephalitis virus in Japan. III. The results of investigation in Amami island, southern part of Japan, from 1973 to 1975.
- 2). 伊波茂雄: 沖縄本島に於ける日本脳炎の疫学と関連した蚊族の吸血嗜好性並びに季節的消長に関する研究・熱帯医学 12(4): 143—168, 1971.
- 3). KAWAI senji: Studies on the Follicular Development and Feeding Activity of the Females of *Culex tritaeniorhynchus* with Special Reference to Those in Autumn. Tropical Medicine 11(3): 145-169, 1969.
- 4). 小田 力: 蚊の生理の季節的变化と疾病の伝播: 第26回日本衛生動物学会南日本支部大会 1976.
- 5). 高橋三雄: 日本脳炎媒介蚊について、第13回九州・山口地区日本脳炎研究会 1976.
- 6). 宇良宗輝: 1972年沖縄県下における豚の日本脳炎流行状況について: 沖縄県公害衛生研究所報: 8, 129—139, 1974.
- 7). 宇良宗輝: 昭和48(1973)年沖縄におけるブタの日本脳炎状況について、沖縄県公害衛生研究所報 8, 145—157, 1975.
- 8). 和田義人: コガタアカイエカの生態、第12回九州・山口地区日本脳炎研究会 1976.
- 9). 国立予防衛生研究所学友会編: ウイルス実験学・各論 1967.