

平成 30 年 5 月 25 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07781

研究課題名(和文)吸血性昆虫を利用した野生動物由来の人獣共通フィラリア症の検索

研究課題名(英文) Discovery of zoonotic filariases derived from wild animals with the use of blood-sucking insects as vectors

研究代表者

福田 昌子 (FUKUDA, Masako)

大分大学・医学部・助教

研究者番号：00156788

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：日本の人獣共通オンコセルカ(フィラリア)症起因種イノシシ寄生性 *Onchocerca dewittei japonica* (O. d. j.) の媒介者を決定するために、イノシシ罠法により採集されたブユ成虫の吸血源動物の遺伝子分析を行った。その結果、媒介者である可能性が高いとされていたヒト吸血性キアシツメトゲブユがイノシシを吸血することがわかった。本種が媒介者であることが確定し、O. d. j. の伝播サイクルが完全解明された。また、日本各地で吸血性昆虫ブユの調査を行い、昆虫採集による人獣共通フィラリア症の探索が有用であることを示した。

研究成果の概要(英文)：To determine the vector of *Onchocerca dewittei japonica* (the causative agent of zoonotic onchocercosis in Japan) from wild boar, blood source animals of black flies attracted to wild boar baits were investigated by molecular analysis. As a result, anthropophilic *Simulium bidentatum*, a possible natural vector of this zoonosis in Japan, was confirmed to bite wild boars and to be the vector species. Moreover, to predict and prevent zoonotic filarial infections, the fauna of black flies and their natural infections with filarial larvae were investigated in several places in Japan. This study indicates that the collection of blood-sucking insects is a useful tool for searching for zoonotic filariasis.

研究分野：衛生動物学、医昆虫学

キーワード：野生動物 人獣共通感染症 吸血性昆虫 ブユ フィラリア オンコセルカ

1. 研究開始当初の背景

動物寄生性オンコセルカは糸状虫(フィラリア)に属する線虫で、家畜や野生動物に皮膚疾患や腫瘍・嚢包形成などの症状を引き起こす。近年、この寄生虫の人体感染が相次ぎ、新興人獣共通寄生虫症として注目されている。動物寄生性オンコセルカは、ミクロフィラリア(仔虫)が吸血性昆虫(媒介者)に取り込まれ、幼虫期をその体内で過ごし、感染幼虫となって、昆虫がヒトを吸血する際に感染すると考えられる。しかし、人獣共通感染症の観点から、寄生虫(起因種)、宿主動物および媒介者を調査した研究はほとんどない。

われわれは日本で初めて大分県の人体感染例を報告して以来、その背景を調査してきた。その過程で、多くの動物寄生性オンコセルカ種を見だし、日本の人獣共通オンコセルカ症の起因種がイノシシに寄生する *Onchocerca dewittei japonica*(以下 *O. d. j.* という)であること、大分県の媒介者がヒト吸血性キアシツメトゲブユ *Simulium bidentatum* である可能性が高いことを明らかにした。

当初は大分県に限られていた症例が他県でも発生するようになったこと、大分県以外の県でもイノシシが高率に *O. d. j.* に感染していることを考慮すると、イノシシ、ブユ、ヒトの3者が近接している環境においては、人体感染がいつどこで起きてもおおくない状況である。イノシシ以外の野生動物のオンコセルカやフィラリアが起因種になる可能性もある。

人獣共通フィラリア症の診断と感染予防には、生息域が拡大している野生動物に寄生するオンコセルカおよび他のフィラリアの生活史の解明が必須である。採集の容易な吸血性昆虫(媒介者)を調査すれば、捕獲困難な野生動物(宿主動物)由来の病原体の伝播サイクルの解明と新たな人獣共通フィラリア症発生の可能性の予測が可能であると考えた。

2. 研究の目的

(1) 日本(大分県)の人獣共通オンコセルカ症の媒介者である可能性が高いヒト吸血性キアシツメトゲブユが、実際にイノシシを吸血するかは不明である。イノシシ囮法で採集したブユ成虫の吸血源動物を調べることで媒介ブユ種を決定し、起因種 *O. d. j.* の伝播サイクルを完全解明する。

(2) 吸血性昆虫をフィラリア検索の道具として利用することで、日本各地で野生動物に寄生するフィラリアと媒介者の調査を行い、*O. d. j.* を起因種とする人獣共通オンコセルカ症および新たな人獣共通フィラリア症の発生の可能性を探る。

3. 研究の方法

(1) イノシシ囮法で採集されたブユ成虫の吸血源動物の検索

大分県でイノシシ囮法によりブユ成虫を採集し、飽血している個体の種を同定後、吸血源動物のDNAを抽出した。ミトコンドリアDNAのコントロール領域と核DNAの Glucosephosphate isomerase-processed pseudogene (*GPIP* 遺伝子)をPCR増幅し、得られた断片の塩基配列の解析を行った。

(2) 人獣共通オンコセルカ症発生県におけるブユ成虫のフィラリア幼虫の自然感染の調査

人獣共通オンコセルカ症が発生した広島県と島根県において、人または車の排気ガスに誘引されたブユ成虫について、種を同定後、個別に解剖して、フィラリア幼虫の自然感染の調査を行った。

(3) 人獣共通オンコセルカ症未発生県におけるブユ採集とそのフィラリア幼虫の自然感染の調査

2016年の1~12月の月に一度、日の出から日没まで、ブユの吸血被害が知られている鹿児島県奄美大島の湯湾岳近くの名音川沿いにおいて(標高220m)、人囮法(自動車アイドリングも行う)で成虫を採集した。また、成虫採集を行った近くの名音川約200mにわたってブユ幼虫を採集した。採集した成虫と幼虫は80%アルコールに入れ研究室に持ち帰り、顕微鏡下で種の同定を行った。

イノシシの *O. d. j.* の感染率が高い栃木県、兵庫県、福井県、和歌山県と、以前の調査でブユからフィラリアが検出された岩手県において、人または車の排気ガスに誘引されたブユ成虫の採集を行った。ブユ種を同定後、一部の個体を個別に解剖して、フィラリア幼虫の自然感染を調べた。

4. 研究成果

(1) イノシシ囮法により飽血キアシツメトゲブユ成虫を採集した(図1)。吸血源動物の遺伝子解析の結果、ミトコンドリアDNAのハプロタイプはJ15、*GPIP* 遺伝子型は *GPIP*1/GPIP*3* 型であった。いずれもニホンイノシシに特徴的な型であった。これまで、感染実験とフィラリア幼虫の自然感染の調



図1 イノシシ囮法で採集したキアシツメトゲブユ *Simulium bidentatum*

査で、ブユ成虫から *O. d. j.* の感染幼虫（第3期幼虫）を見いだすことにより媒介者の検索を行ってきたが、自然界で実際にブユがイノシシを吸血するかは不明であった。今回、ブユがイノシシを吸血することを直接的に証明することができた。これにより、起因種 *O. d. j.* の伝播サイクルを完全に解明することができた。

(2) 人体感染の報告がある広島県と島根県で採集されたブユ成虫のフィラリア幼虫の自然感染を調べた結果、広島県のキアシツメトゲブユから *O. d. j.* のミクロフィラリアが見いだされた（表1, 2）。感染幼虫を見いだすことはできなかったが、広島県においても、最初に症例が発生した大分県と同様に、人獣共通オンコセルカ症の媒介者が、ヒト吸血性キアシツメトゲブユである可能性があることが分かった。

表1 2014年5,6月に広島県府中市(5地点)で採集されたブユ成虫と解剖結果

種名	採集数	解剖数	フィラリアを検出したブユ数
キアシツメトゲブユ <i>Simulium bidentatum</i>	249	249	1 ^{*)}
ゴスジシラキブユ <i>S. quinquestratum</i>	9	9	0
アシマダラブユ <i>S. japonicum</i> または カワムラアシマダラブユ <i>S. kawamurae</i> ^{*)}	7	7	0
ヒメアシマダラブユ <i>S. arakawae</i>	2	2	0
ウチダツノマユブユ <i>S. uchidai</i>	2	2	0
計	269	269	1 ^{*)}

^{*)}胸部で *Onchocerca dewitii japonica* のミクロフィラリア (感染幼虫 (第3期幼虫) ではない) の断片を検出した形態では2種を区別不能

表2 2014年6月に島根県出雲市(4地点)で採集されたブユ成虫と解剖結果

種名	採集数	解剖数	フィラリアを検出したブユ数
キアシツメトゲブユ <i>Simulium bidentatum</i>	445	282	0
ゴスジシラキブユ <i>S. quinquestratum</i>	117	117	0
アシマダラブユ <i>S. japonicum</i> または カワムラアシマダラブユ <i>S. kawamurae</i> ^{*)}	23	23	0
オオイタツメトゲブユ <i>S. oitanum</i>	4	4	0
ヒメアシマダラブユ <i>S. arakawae</i>	3	3	0
計	592	429	0

^{*)}形態では2種を区別不能

(3) 鹿児島県奄美大島でブユ相を調査した。一年間で採集された成虫は、アシマダラブユ (*S. japonicum*) が 817 個体、ミエツノマユブユ (*S. mie*) が 10 個体であった (図2, 3)。最も多く採集した月は2月で237個体、ついで5月の236個体であった。最も採集数の少なかったのは10月で0個体、ついで11月の1個体であった。一日の中での活動に関しては (図4) 採集数が多かった2月と5月では朝と夕方近くの二峰性を示した。しかし、必ずしも毎回二峰性を示したわけではなく、6月は午後、8月は夕方にのみピークがある一峰性であった。2015年の予備調査では日の入り前の約3時間の採集で、7月に136個体、10月に18個体のアシマダラブユを採集している。このことから、年よっての採集数の変動がかなり大きいと思われる。日中活動のパターンが一定しないのも、当日の天候など他の要因が強く関係していると考えられる。

また、採集したブユ終齢幼虫は、スズキアシマダラブユ (*S. suzuki*) 1,107 個体、アシマダラブユ 129 個体、オキナワナンヨウブユ (*S. okinawense*) 3 個体であった (図5, 6)。スズキアシマダラブユは2月に最も多く採集され (333 個体)、アシマダラブユは5月に最も多く採集された (47 個体)。両種とも8~10月にかけてが、個体数が少ない月であった。



アシマダラブユ
Simulium japonicum

ミエツノマユブユ
Simulium mie

図2 鹿児島県奄美大島で採集されたブユ成虫種

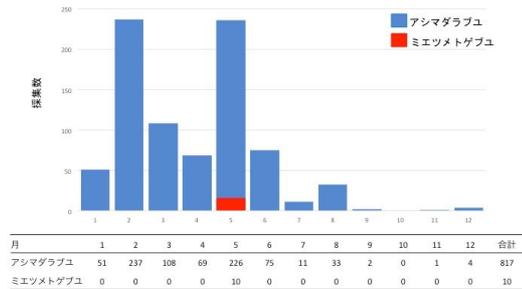


図3 月別ブユ成虫採集数 (2016年鹿児島県奄美大島)

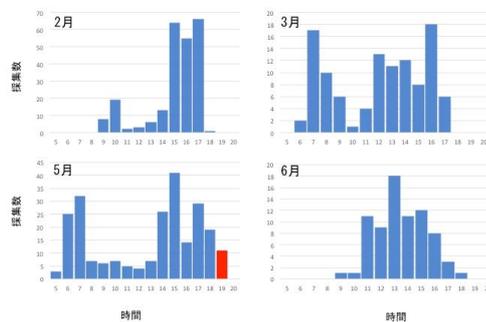


図4 時間別採集数 (2016年鹿児島県奄美大島)



図5 鹿児島県奄美大島で採集されたブユ幼虫種

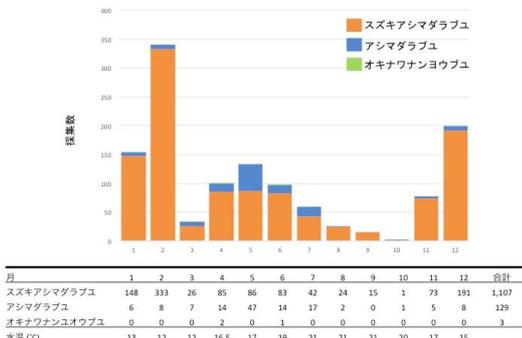


図6 月別ブユ終齢幼虫採集数 (2016年鹿児島県奄美大島)

奄美大島で人囮法によりブユ成虫採集を行うと、採集されるのは主にアシマダラブユである。地元の人々の聞き取りでは春（5月ごろ）にブユによく刺されるということであり、今回のアシマダラブユの終齢幼虫発生のピークと一致していた。

ブユ対策としては、環境負荷がある薬剤散布は難しいことから、個々人での対策となる。一般的な対策ではあるが、特に春から夏にかけては、山間部は入るときは肌の露出を減らし、露出部には忌避剤を使用することが重要となる。また、今回の調査が示すように、春から夏以外の季節でもアシマダラブユは発生しているため、これまでブユ刺症で強い腫れを経験している人は、春夏と同様の対策が望ましい。

(4) 人獣共通オンコセルカ症未発生県の栃木県3地点、兵庫県2地点、福井県2地点、和歌山県5地点および岩手県7地点でブユ成虫の調査を行った(表3)。その結果、採集数の多かった栃木県、和歌山県、岩手県で、いずれも大分県の人獣共通オンコセルカ症の媒介者であるキアシツメトゲブユが優占種であった。栃木県と和歌山県で採集したブユの一部(合計136個体)を解剖したが、まだフィラリアの幼虫は見いだされていない。今後はさらにブユを解剖し、フィラリア幼虫の自然感染を調査し、人獣共通フィラリア症発生の可能性を探る予定である。

表3 5県で採集されたブユ数

種名	栃木県 2016年4月	兵庫県 2016年6月	福井県 2017年9月	和歌山県 2017年5月	岩手県 2017年8月
キアシツメトゲブユ <i>Simulium bidentatum</i>	856	3	1	277	51
ゴスジシラキブユ <i>S. quinquestriatum</i>	1	0	1	0	0
オオイタツメトゲブユ <i>S. oitanum</i>	4	1	0	0	26
アシマダラブユ <i>S. japonicum</i> または カワムラアシマダラブユ <i>S. kawamurae</i> ¹⁾	0	0	0	1	2
オオアシマダラブユ <i>S. nikkoense</i>	0	0	0	0	11
アカクラアシマダラブユ <i>S. rufibasis</i>	2	0	0	1	0
ツメトゲブユ <i>S. iwatense</i>	0	0	0	0	1
計	863	4	2	279	91

¹⁾形態では2種を区別不能

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計4件)

Uni S, Fukuda M, Ogawa K, Lim YA, Agatsuma T, Bunchom N, Saijuntha W, Otsuka Y, Bhassu S, Mat Udin AS, Zainuri NA, Omar H, Nakatani J, Matsubayashi M, Maruyama H, Ramli R, Azirun MS, Takaoka H. Zoonotic infection with *Onchocerca dewittei japonica* in an 11-year-old boy in Kansai Region, Western Honshu, Japan. *Parasitology International*, 査読有, 66, 2017, 593-595

DOI 10.1016/j.parint.2017.06.006

Uni S, Mat Udin AS, Agatsuma T, Saijuntha W, Junker K, Ramli R, Omar H, Lim YA, Sivanandam S, Lefoulon E, Martin C, Belabut DM, Kasim S, Abdullah Halim MR, Zainuri NA, Bhassu S, Fukuda M, Matsubayashi M, Harada M, Low VL, Chen

CD, Suganuma N, Hashim R, Takaoka H, Azirun MS. Morphological and molecular characteristics of *Malayfilaria sofiani* Uni, Mat Udin & Takaoka n. g., n. sp. (Nematoda: Filarioidea) from the common tree shrew *Tupaia glis* Diard & Duvaucel (Mammalia: Scandentia) in Peninsular Malaysia. *Parasites & Vectors*, 査読有, 10, 2017

DOI 10.1186/s13071-017-2105-9

Uni S, Fukuda M, Agatsuma T, Bain O, Otsuka Y, Nakatani J, Matsubayashi M, Harada M, Omar H, Ramli R, Hashim R, Azirun MS, Takaoka H. *Onchocerca takaokai* n. sp. (Nematoda: Filarioidea) in Japanese wild boars (*Sus scrofa leucomystax*): Description and molecular identification of intradermal females. *Parasitology International*, 査読有, 64, 2015, 493-502

DOI 10.1016/j.parint.2015.07.001

Fukuda M, Uni S, Otsuka Y, Eshita Y, Nakatani J, Ihara K, Yoshikawa Y, Goto M, Fujiwara S, Ramli R, Azirun MS, Takaoka H. A new case of zoonotic onchocercosis in northern Kyushu, Japan. *Parasitology International*, 査読有, 64, 2015, 519-521

DOI 10.1016/j.parint.2015.07.006

[学会発表](計9件)

大塚 靖、福田昌子、高岡宏行、奄美大島におけるブユ幼虫の季節消長、第70回日本衛生動物学会大会、2018年

福田昌子、宇仁茂彦、猪狩貴弘、内海康文、大塚 靖、長谷川英男、高岡宏行、福島県で見いだされた *Onchocerca dewittei japonica* による人獣共通感染症、第70回日本衛生動物学会大会、2018年

宇仁茂彦、Ahmad Syihan Mat Udin、吾妻健、Weerachai Saijuntha、Naruemon Bunchom、Yvonne Ai-Lian Lim、福田昌子、Rosli Ramli、宇賀昭二、高岡宏行、Mohd Sofian Azirun、マレー半島のツパイ (*Tupaia glis*) より見いだした新属新種のフィラリア *Malayfilaria sofiani* の形態および分子系統学的特徴、第87回日本寄生虫学会大会、2018年

福田昌子、石沢久遠、加藤 秀、大塚 靖、堤 寛、高岡宏行、広島県におけるブユ成虫のフィラリア自然感染の調査、第70回日本寄生虫学会南日本支部大会・第67回日本衛生動物学会南日本支部大会合同大会、2017年

大塚 靖、福田昌子、高岡宏行、奄美大島におけるブユの季節消長と日中活動の人囮法による調査、第69回日本衛生動物学会大会、2017年

福田昌子、大塚 靖、高岡宏行、大分県におけるイノシシ罔法を用いたブユ成虫の採集、第 69 回日本衛生動物学会大会、2017 年

福田昌子、大塚 靖、高岡宏行、大分県でイノシシ罔法により採集されたブユ成虫の吸血源動物の同定、第 69 回日本寄生虫学会南日本支部大会・第 66 回日本衛生動物学会南日本支部大会合同大会、2016 年

福田昌子、大塚 靖、高岡宏行、大分県でイノシシ罔法により採集されたキアシツメトゲブユ成虫の吸血源動物の同定、第 68 回日本衛生動物学会大会、2016 年

福田昌子、大塚 靖、高岡宏行、大分県の野外で採集したキアシツメトゲブユ成虫に見いだされたオンコセルカ幼虫の分子同定、第 68 回日本寄生虫学会南日本支部大会・第 65 回日本衛生動物学会南日本支部大会合同大会、2015 年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福田 昌子 (FUKUDA, Masako)
大分大学・医学部・助教
研究者番号：00156788

(2) 研究分担者

大塚 靖 (OTSUKA, Yasushi)
鹿児島大学・国際島嶼教育研究センター・
准教授
研究者番号：00244161

(3) 研究協力者

高岡 宏行 (TAKAOKA, Hiroyuki)
宇仁 茂彦 (UNI, Shigehiko)
SAEUNG, Atiporn