

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590803

研究課題名(和文) チクングニア熱の国内二次患者発生を阻止する、迅速な感染蚊検出システムの確立

研究課題名(英文) Establishment of quick detection system of chikungunya-infected mosquitoes for preventing from an outbreak of the secondary-infected patients

研究代表者

江下 優樹 (Eshita, Yuki)

大分大学・医学部・准教授

研究者番号：10082223

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円、(間接経費) 1,110,000円

研究成果の概要(和文)：日本の蚊のチクングニアウイルス感受性とリスク評価、およびRT-LAMP法の導入を検討した。ヒトスジシマカ、ヤマダシマカ、リバーズシマカの3種は本ウイルスに対して媒介能を持つことが明らかとなった。また、RT-LAMP法はRT-PCR法よりも迅速な病原体検出法として優れていた。ヒトスジシマカは、病原体伝播のリスクが最も高い蚊と評価された。一連の成果は、二次患者の阻止に有用な知見である。

研究成果の概要(英文)：The susceptibility and risk evaluation of Japanese mosquitoes to chikungunya virus, and introduction of RT-LAMP method were evaluated in experimental conditions. It was revealed that the three mosquito species, *Aedes albopictus*, *Ae. flavopictus*, and *Aedes riversi* had transmission ability for the virus. In addition, the RT-LAMP method was superior to the RT-PCR method as the quick pathogen detection system. *Aedes albopictus* was estimated as the mosquito, which was the highest in a risk of the pathogen spread in Japan. Pathogen detection system including these results may contribute to prevent from an outbreak of the secondary-infected patients.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・公衆衛生学・健康科学

キーワード：媒介蚊対策 迅速遺伝子診断 チクングニア熱 蚊 RT-LAMP チクングニアウイルス 感受性 リスク評価

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 蚊媒介性ウイルス疾患であるチクングニア熱によって多数の死者がレユニオン島で発生後、東南アジア諸国に拡大している。

(2) 我が国における移入患者は 2006 年に報告された。本症に対するワクチンが無い。国内における二次患者発生を阻止する唯一の方法は、効果的な媒介蚊対策である。我が国に生息するヒトスジシマカおよび近縁蚊種のウイルス感受性は解明されていない。

## 2. 研究の目的

(1) ヒトスジシマカを含む近縁蚊のチクングニアウイルス感受性を明らかにして、国内における媒介蚊の生息環境を加味してリスク評価を行う。

(2) 国内でのチクングニア熱患者勃発を想定して、迅速なウイルスゲノム検出法の改良を含む分子疫学的システムを構築する。

## 3. 研究の方法

(1) レユニオン島由来の新規チクングニアウイルスに対する日本産のヒトスジシマカ、ヤマダシマカ、リバーズシマカの感受性を調べるために、BSL3 施設内で経口感染実験を行った。

(2) ウイルスゲノムの早期検出と迅速な診断を確立するために RT-LAMP 法を検討した。

## 4. 研究成果

(1) チクングニアウイルスを経口感染後、14 日間飼育した日本産ヒトスジシマカ、ヤマダシマカ、リバーズシマカ体内から、ウイルスゲノムを検出した。また、蚊の脚部からも同様な結果を得たことから、3 種蚊は、本ウイルスに対して感受性があり、媒介能を有することが示唆された。

(2) RT-PCR 法よりも迅速なゲノム診断法として、RT-LAMP 法を検討した結果、63°C で 45 分の反応で陽性蚊を検出できた。さらに、電気のない場所であっても、未精製の蚊乳剤からも陽性蚊を検出する事の出来る一連のシステムを構築できた。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

### <2014 年>

1. Lucky Ronald Runtuwene, Kaori Noguchi, Akinori Tokunaga, Takashi Kobayashi, Kenta Nakai and Yuki Eshita (2014): Vector competence of *Aedes aegypti* to dengue virus. *Urban Pest Management* 4(1), 印刷中。査読有

2. Lucky Ronald Runtuwene, Eiji Konishi, Atsushi Yamanaka, Yoshihiro Makino, Yutaka Suzuki, Tomohiko Takasaki, Ichiro Kurane, Takashi Kobayashi and Yuki Eshita (2014): Dengue transmission model by means of viremic adult immuno-competent mouse *Parasites & Vectors*, 7:143. doi:10.1186/1756-3305-7-143. 査読有

### <2012 年>

3. Tomomitsu Satho, Yuki Nagano, Yuki Eshita, Yujin Hisatomi, Akira Sakata, Takeshi Miyata, Nobuhiro Kashige, Fumio Miake, Lucky R Runtuwene, Shuetsu Fukushima, Masayuki Saijyo, Ichiro Kurane, Shigeru Morikawa and Tetsuya Mizutani (2012): Inhibitory effects of JNK on *Aedes albopictus* early larval development. *Urban pest management*, 2(1): 7-13. 査読有

4. Raweewan Srisawat, Narumon Komalamisra, Chamnarn Apiwathnasorn, Pungasem Paeporn, Sittiruk Roytrakul, Yupha Rongsriyam, Yuki Eshita (2012): Field-collected permethrin-resistant *Aedes aegypti* from central Thailand contain point mutations in the domain IIS6 of the sodium channel gene (KDR). *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 43(6): 1380-1386. 査読有

### <2011 年>

5. Yusuke Sayama, Yuki Eshita, Takuya Yamao, Miho Nishimura, Tomomitsu Satho, Raweewan Srisawat, Narumon Komalamisra, Yupha Rongsriyam, Kouji Sakai, Shuetsu Fukushima, Masayuki Saijo, Hitoshi Oshitani, Ichiro Kurane, Shigeru Morikawa and Tetsuya Mizutani (2011): Prevalence of Phasi Charoen virus in female mosquitoes. *Journal of Parasitology and Vector Biology*, 3(1):19-21. 査読有

6. Raweewan Srisawat, Narumon Komalamisra, Theerawit Phanphoowong, Tomohiko Takasaki, Lucky Ronald Runtuwene, Ichiro Kurane, Hironari Narita, Yuki Eshita (2011): Present status of the insecticide susceptibility of *Aedes* mosquitoes in

Thailand. Journal of Japanese Red Cross Toyota College of Nursing, 6(1):31-37. 査読有

〔学会発表〕(計 11 件)

<2014 年>

1. 江下優樹, 福田昌子, Lucky Runtuwene, 大塚 靖, 野口香緒里, 川上絵理, 徳永暁憲, 小林隆志, 服部正策, Raweevan Srisawat, Narumon Komalamisra, 牛島廣治, 倉根一郎, 高崎智彦 (2014): 本邦産 *Aedes (Stegomyia) scutellaris* グループ蚊 2 種のチクングニアウイルス感受性(2)。第 66 回日本衛生動物学会大会、2014 年 3 月 21 日(金)・22(土)・23(日)、岐阜大学地域科学部、岐阜県岐阜市。Med. Entomol. Zool., 65 (大会特集号):45, 2014.

<2013 年>

2. 江下優樹, 松原祥恵, Lucky R. Runtuwene, 野口香緒里, 川上絵理, 大塚 靖, 福田昌子, 小林隆志, 高崎智彦, Raweevan Srisawat, Narumon Komalamisra, Bouasy Hongvanthong, 成田弘成, 牛島廣治, Arthur E. Mongan, 今田美穂子, 前田龍一郎, 森田公一, 杉本千尋, 倉根一郎 (2013): 節足動物媒介性ウイルスの迅速検出への RT-LAMP 法の改良。日本家屋害虫学会 第 34 回大会・総会、2013 年 6 月 22(土)・23(日)、日本大学生物資源科学部、神奈川県藤沢市。

3. Yuki Eshita, Lucky R. Runtuwene, Sachie Matsubara, Kaori Noguchi, Eri Kawakami, Masako Fukuda, Yasushi Otsuka, Akinori Tokunaga, Takashi Kobayashi, Raweevan Srisawat, Narumon Komalamisra, Yupha Rongsriyam, Bouasy Hongvanthong, Arthur E. Mongan, Josef Tuda, Mihoko Imada, Shuichi Kawashima, Junya Yamagishi, Yutaka Suzuki, Sumio Sugano, Kenta Nakai, Ryuichiro Maeda, Chihiro Sugimoto, Hironari Narita, Hiroshi Ushijima, Koichi Morita, Tomohiko Takasaki, Ichiro Kurane (2013): INOVATIVE TECHNOLOGY FOR USE IN VECTOR CONTROL. “The 1<sup>st</sup> conference on asian pediatric infectious diseases (第 1 回アジア小児感染症会議)”、2013 年 8 月 24(土)・26(月)、東京大学医学部 3 号館 N101 室、東京都文京区。

4. 江下優樹, 福田昌子, Lucky Runtuwene, 大塚 靖, 野口香緒里, 川上絵理, 徳永暁憲, 小林隆志, 服部正策, Raweevan Srisawat, Narumon Komalamisra, 牛島廣治, 倉根一郎, 高崎智彦 (2013): 本邦産 *Aedes (Stegomyia) scutellaris* グループ蚊 2 種のチクングニア

ウイルス感受性。第 66 回日本寄生虫学会南日本支部大会・第 63 回日本衛生動物学会南日本支部大会 合同大会、2013 年 11 月 2 日(土)・3(日)、大分県由布市、大分大学医学部臨床講義棟 1F 臨床中講義室。第 66 回日本寄生虫学会・第 63 回日本衛生動物学会南日本支部合同大会プログラム講演要旨:9, 2013. Med. Entomol. Zool., 64(2), 2013.

<2012 年>

5. 江下優樹, Lucky R. Runtuwene, 高崎智, Raweevan Srisawat, Narumon Komalamisra, Yupha Rongsriyam, Bouasy Hongvanthong, 牧野芳大, 成田弘成, 牛島廣治, Arthur E. Mongan, 今田美穂子, 前田龍一郎, 森田公一, 杉本千尋, 倉根一郎 (2012): RT-LAMP 法を用いた蚊からのアルボウイルスゲノムの迅速検出。第 64 回日本衛生動物学会大会、2012 年 3 月 30 日(金)・31(土)、信州大学、長野県上田市。Med. Entomol. Zool., 63 (大会特集号):64, 2012

6. 江下優樹, Lucky R. Runtuwene, 大塚 靖, 松原祥恵, 小林隆志, 川島 秀一, 服部正策, 倉石 武, 甲斐智恵子, Raweevan Srisawat, Narumon Komalamisra, Yupha Rongsriyam, Arthur E. Mongan, 前田龍一郎, 杉本千尋, 牛島廣治, 高崎智彦, 倉根一郎 (2012): リバースシマカの系統確立および奄美大島・鹿児島県佐多岬でのその生息環境。第 65 回日本寄生虫学会南日本支部大会・第 62 回日本衛生動物学会南日本支部大会 合同大会、2012 年 11 月 10 日(土)・11(日)、長崎県長崎市、長崎大学医学部ポンペ会館。第 65 回日本寄生虫学会・第 62 回日本衛生動物学会南日本支部合同大会プログラム講演要旨, 2012. Med. Entomol. Zool., 64(2), 2013.

7. 野柳俊明, 江下優樹 (2012): デング熱の 1 例。西日本皮膚科 74(6):655, 2012.

8. Yuki Eshita, Lucky R. Runtuwene, Raweevan Srisawat, Narumon Komalamisra, Yupha Rongsriyam, Shuichi Kawashima, Junya Yamagishi, Yutaka Suzuki, Sumio Sugano, Kenta Nakai, Ryuichiro Maeda, Chihiro Sugimoto, Tomohiko Takasaki, Ichiro Kurane (2012): New emerging technology for use in vector control. Joint International Tropical Medicine Meeting 2012 (JITMM 2012) and The 7th Seminar on Food- and Water-Borne Parasitic Zoonoses (FBPZ7). 12-14 December, 2012. Centara Grand & Bangkok Convention Centre At Central World, Bangkok, Thailand. Symposium session on S34 Entomological approaches for the study

of arboviruses. Abstract of Joint International Tropical Medicine Meeting 2012 (JITMM 2012)

<2011年>

9. 鳥羽聡史、甲斐直子、阿南栄一朗、岡 宏亮、横山 敦、大谷哲史、石井 寛、岸 建志、白井 亮、時松一成、平松和史、山田健太郎、アハメド・カムルディン、江下優樹、西園 晃、門田淳一 (2011) : 当科で経験したデング熱の一症例。大分感染症研究会 第48回例会。2011年3月24日。大分東洋ホテル, 大分市。大分感染症研究会 第48回例会プログラム

10. Lucky R. Runtuwene, Atsushi Yamanaka, Eiji Konishi, Yoshihiro Makino, Yutaka Suzuki, Tomohiko Takasaki, Ichiro Kurane and Yuki Eshita (2011) : Novel method using mice to infect *Aedes aegypti* with dengue virus type 2. 第63回日本衛生動物学会大会、2011年4月14日(木)・16(土)、国立感染症研究所、一橋記念講堂 東京都。Med. Entomol. Zool., 62 (大会特集号) :74, 2011.

11. 江下優樹, Lucky R. Runtuwene, 高崎智彦, Raweewan Srisawat, Narumon Komalamisra, Yupha Rongsriyam, Bouasy Hongvanthong, Boualy Kheokhamphavanh, Bounpone Sidavong, Kham Thong, Silivanh Chanthavong, Khambang Silavong, Kalounna Keokenechanh, Hongkham Keomanila, 牧野芳大, 成田弘成, 牛島廣治, Arthur E. Mongan, 前田龍一郎, 森田公一, 杉本千尋, 倉根一郎 (2011) : RT-LAMP法を用いた蚊からのデングウイルスゲノムの迅速検出。第63回日本衛生動物学会大会、2011年4月14日(木)・16(土)、国立感染症研究所、一橋記念講堂 東京都。Med. Entomol. Zool., 62(大会特集号):75, 2011.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

江下優樹 (ESHITA, Yuki)  
大分大学・医学部・准教授  
研究者番号：10082223

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：