

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 19 日現在

機関番号：33303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25350063

研究課題名(和文)生活圏内での感染症媒介昆虫(蚊)とヒトの接触頻度と患者数の関係

研究課題名(英文) Relationship between infection-mosquito and human contact frequency and number of patients within living area.

研究代表者

村上 学 (MURAKAMI, Manabu)

金沢医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00288309

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：国内の日本脳炎患者発生は年間5名程度であるが世界的には年間3万人程患者が発生している。我々は石川県内の日本脳炎ウイルス(JEV)媒介昆虫(コガタアカイエカ)の発生状況とJEV媒介状況を調査した。2013-2016年度に採集した27,422頭でJEV検出試験を行い、陽性サンプル15検体(580検体中)が確認された。これは国内でコガタアカイエカがJEVを媒介しており、患者発生がいつ起きても不思議ではないことを示している。今後もJEV動向をモニタリングしていくことが重要である。また、2015年度陽性サンプル1検体よりJEV分離に成功した。このJEVは遺伝子型1型であり、増殖能や毒性は調査中である。

研究成果の概要(英文)：Japanese encephalitis virus (JEV) is a flavivirus and is responsible for over 30,000 annual cases of encephalitis worldwide, with a mortality rate of approximately 30%. Therefore, it is important to check the distribution of JEV in fields, although recently, the number of Japanese encephalitis (JE) cases has been approximately five per year in Japan. We report the seasonal dynamics of mosquitoes between 2013 and 2016 in Ishikawa Prefecture, Japan. We collected 27,422 female adult mosquitoes, 98% of which were classified as *Culex tritaeniorhynchus* Giles. We identified JEV genomic RNA belonging to genotype 1 among the homogenate of *Cx. tritaeniorhynchus* collected during our study using reverse transcription-polymerase chain reaction and nucleotide sequencing methods. Our results indicated that mosquito vectors for JEV are distributed not only in areas in Ishikawa but also throughout Japan and suggest that we must be careful regarding JEV outbreaks in Japan in the future.

研究分野：衛生昆虫学

キーワード：日本脳炎 日本脳炎ウイルス 感染症 コガタアカイエカ

## 1. 研究開始当初の背景

蚊が媒介する感染症は主に日本脳炎、ウエストナイル熱、デング熱、チクングニアやマラリアなどがある。近年、日本脳炎以外は国内での感染は報告されておらず、他感染症は海外で感染し輸入される輸入感染症である。よって、国内で蚊媒介感染症モニタリングを行う場合、JEV を主に監視するのが最も有効と考えられる。

また、2007 年には国内で発生した日本脳炎患者 9 名中 2 名が石川県での事例であった。

日本脳炎患者は発生に地域差があり、温暖な地域で大部分が発生している。雪国、石川県での患者発生は注目すべき事案である。さらに、近隣の富山や福井での発生事例がないことも興味深い現象である。

私達は 1998-2012 年にかけて、野外蚊を捕獲し、さらに JEV 媒介蚊 (コガタアカイエカ) より JEV の分離を行ってきた。今までに判明している結果を下記に示す。

(1) 感染症媒介蚊の捕獲状況: 6 - 10 月に CDC ライトトラップ 512 型 + ドライアイス 1kg を石川県内の水田 + 豚舎周辺 6 ヶ所に毎週 1 回、夕方設置翌朝回収で蚊を捕獲した(文献 1-3)。

(2) 媒介蚊の JEV 保有状況: 1994 年に石川株 (遺伝子型 1) を豚単核球より分離、野外蚊からは 1998 年に石川-U1 と U2 株 (遺伝子型 3)、2005 年に石川-K05 株 (遺伝子型 1)、計 4 種の JEV 分離に成功し、E 蛋白遺伝子解析を行い、それぞれが異なるアミノ酸配列をもつことを確認している(文献 1-3)。

これら(1)(2)の結果から、上記、感染症 5 種を媒介する蚊は全て石川県内での生息が確認され、感染源が国内に侵入すれば国内感染者が発生、増加する可能性がある。また、国内で感染環が確立している JEV は当然、自然界に生息している。これまで患

者数が少なかったのはワクチン接種の徹底と生活環境向上による蚊との接触機会の減少が考えられる。しかし、ワクチン接種による免疫力が経時減少している高齢者の増加や気象変動による媒介蚊増加などが重なると、今後、日本脳炎患者 (特に高齢者) の増加が危惧される。さらに、今まで発生していない感染症 (新興感染症) の流行も懸念される。本研究データは日本脳炎患者増加や新興感染症の流行が起こった場合の対策として行われる媒介生物の駆除に対する基礎データとなる。

## 引用文献

(1) 村上 学、及川陽三郎、第 41 回 JEV 生態学研究会「石川県における野外蚊からの JEV 分離」2006 年、長崎

(2) 村上 学、及川陽三郎、第 43 回 JEV 生態学研究会「石川県での分離 JEV の生物活性」2008 年、香川

(3) 村上 学、及川陽三郎、第 63 回日本衛生動物学会大会「石川県内の水田近辺で行ったドライアイストラップによる蚊の採集と日本脳炎ウイルス分離の結果」2011 年、東京

## 2. 研究の目的

2005-2011 年、国内での日本脳炎患者 42 名中 23 名が 60 歳以上と 55% を占めている。ワクチン接種による免疫力が経時低下した世代が発症していると考えられ、今後、高齢化社会の進行に伴い患者増加、温暖化による蚊生息域変化により北部地域での患者発生が懸念される。さらに、東日本大震災後に被災地では蚊、ハエ等の衛生害虫が大発生し、被災者の衛生環境悪化が問題となった。本研究の目的は主に衛生害虫 (蚊) を監視し、自然災害や患者数増加時にヒト生活圏での媒介動物の挙動を知るための基礎データとすべく蚊媒介感染症で国内感染環が確立している日本脳炎ウイル

ス (JEV) をモニタリング、媒介蚊の分布と発生時期の変化を明らかにし、ヒトが日常生活をおくる生活圏での感染症リスクを予見する基礎データとする。

### 3. 研究の方法

- (1) 蚊捕獲トラップ設置を行い蚊捕獲サンプルとデータを蓄積
- (2) 蚊捕獲データや気象データを基に生息分布域の変化、気候変動による発生時期と発生数の変化を調査
- (3) 捕獲蚊サンプルより JEV-RNA 検出 (RT-PCR 法) を行い、陽性サンプルはウイルス分離
- (4) 分離に成功したウイルスは遺伝的変異による毒性や増殖速度等を測定

上記、結果よりヒト生活圏での感染症媒介蚊の種類 (外来種への警戒)、発生時期と発生数 (ヒトとの接触頻度増加への警戒)、JEV-RNA 検出 (ヒトへの感染確率上昇への懸念)、分離ウイルスの毒性や増殖性 (感染者の発病率や重症化への懸念) を定期的なモニタリングで観察、警戒する。感染リスクに関する知見が得られれば感染症対策の啓蒙活動などを行う。

### 4. 研究成果

本調査で捕獲した蚊の総数は 6 地点 12 トラップ、4 年間で 5 種、52,314 頭であった。北部採集ポイント 3 地点の主な蚊の捕獲数はコガタアカイエカ (*CULEX TRIAENIORHYNCHUS*) が 27,422 頭 (52.4%) を占め、次いでアカイエカ群 (*CULEX PIFIENS COMPLEX*) 320 頭で全体の 0.6%、ヒトスジシマカ (*Aedes albopictus*) 10 頭 (0.02%) の順であった。南部採集ポイント 3 地点での主な蚊の捕獲数はコガタアカイエカ (*CULEX TRIAENIORHYNCHUS*) が 18,616 頭 (35.6%) を占め、次いでアカイエカ群 (*CULEX PIFIENS COMPLEX*) 5,587 頭で

全体の 10.7%、ヒトスジシマカ (*Aedes albopictus*) 329 頭 (0.6%) の順であった。石川県内北部、南部共にコガタアカイエカが最優占種であること、アカイエカおよびヒトスジシマカは北部よりも南部で採集数が多いことが判明した。各年採集ポイントごとのコガタアカイエカ採集数、RT-PCR 陽性サンプル数とウイルス分離数を表 1 に記した。

表 1. CDC トラップでのコガタアカイエカ採集数とウイルス分離

| 年    | コガタアカイエカ<br>採集数 |       |       | RT-PCR<br>陽性数 | ウイ<br>ルス<br>分離 |
|------|-----------------|-------|-------|---------------|----------------|
|      | 北部              | 南部    | 計     |               |                |
| 2013 | 10401           | 1970  | 12371 | 0/200         | 0              |
| 2014 | 3306            | 1909  | 5215  | 0/77          | 0              |
| 2015 | 3958            | 2956  | 6914  | 1/92          | 1              |
| 2016 | 9757            | 11781 | 21538 | 14/211        | 0              |
| 計    | 27422           | 18616 | 46038 | 15/580        | 1              |

蚊採集では予備調査を毎年、週番号 W18, W20 (5 月), W45 や W47 (10 月後半-11 月前半) に行ったが蚊は採集されなかった。

JEV-RNA 検出試験 (RT-PCR 法) では 2013 と 2014 年はすべてのサンプルが陰性であったが 2015 (1/92 : 1.1%) と 2016 年 (14/211 : 6.6%) には陽性サンプルが検出された。これは、コガタアカイエカが JEV を媒介している結果であり患者発生リスクは常にあることを示している。また、2015 年にはウイルス分離に成功している。分離された JEV は E 蛋白遺伝子解析の結果、遺伝子型 1 型であることが判明している。ウイルス増殖能や毒性は現在、調査中である。

### 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 3 件)

Manabu Murakami, Kiyoe Hori, Yoko Kitagawa, Yosaburo Oikawa, Kiyoshi Kamimura and Tsutomu Takagemi, An ecological survey of mosquitoes and the distribution of Japanese encephalitis virus in Ishikawa Prefecture, Japan between 2010 and 2014., Japanese Journal of Infectious Diseases., 2017, in press, 査読有

Manabu Murakami, Takafumi Tasaki, Souichi Nukuzuma, Hiroshi Minato, Takayuki Nojima, Japanese Encephalitis Virus Replication and Inhibitory Effect of shRNA in Mice., Advances in Microbiology, 6, 462-470, 2016, 査読有

Tsutomu Takegami, Takafumi Tasaki, Manabu Murakami, Yasuhito Ishigaki, Makoto Taniguchi, Takayuki Nojima and Souichi Nukuzuma., Japanese Encephalitis., Japanese Encephalitis Virus Infection and Replication: Biological Roles of Nonstructural Protein NS4a and The 3'-Untranslated Region in Persistent Infection. SMGroup (USA), 2015, www.smgebooks.com, 査読有

〔学会発表〕(計 5 件)

村上 学、及川陽三郎、上村 清・石川県内豚舎周辺での蚊発生状況調査と日本脳炎ウイルス分布(2010-2016 年度)・第 69 回日本衛生動物学会大会、2017 年 4 月 14 - 16 日、長崎大学医学部キャンパス(長崎県長崎市)

村上 学、及川陽三郎、上村 清・石川県内豚舎周辺での蚊発生状況調査と日本脳炎ウイルス分布(2010-2015 年度)・第 68 回日本衛生動物学会大会、2016 年 4 月 15 - 17 日、栃木県総合文化センター(栃木県宇都宮市)

村上 学、及川陽三郎、上村 清・石川県内豚舎周辺での蚊発生状況調査と日本脳炎ウイルス分布(2009-2014 年度)・第 67 回日本衛生動物学会大会、2015 年 3 月 27 - 29 日、金沢大学宝町キャンパス(石川県金沢市)

村上 学、及川陽三郎、上村 清、竹上勉・石川県内豚舎周辺での蚊発生状況調査と日本脳炎ウイルス分布(2009-2013 年度)・第 66 回日本衛生動物学会大会、2014 年 3 月 21 - 23 日、岐阜大学全学共通教育多目的ホール(岐阜県岐阜市)

村上 学、及川陽三郎、上村 清、竹上勉・石川県内豚舎周辺での蚊発生状況調査と日本脳炎ウイルス分布(2009-2012 年度)・第 65 回日本衛生動物学会大会、2013 年 4 月 5-7 日、酪農学園大学 C5 号館(北海道江別市)

〔その他〕

ホームページ等  
なし

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

村上 学 (MURAKAMI, Manabu)  
金沢医科大学・医学部・准教授  
研究者番号 : 00288309

### (2)研究分担者

### (3)連携研究者

及川 陽三郎 (OIKAWA, Yosaburo)  
金沢医科大学・医学部・講師  
研究者番号 : 10139785

### (4)研究協力者

堀 貴代江 (HORI, Kiyoe)