

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¹⁾，仁平稔¹⁾，糸数清正¹⁾，大野 惇¹⁾，久高 潤¹⁾，森河隆史²⁾

1) 沖縄県衛生環境研究所 2) 沖縄県八重山福祉保健所与那国駐在

要旨：2005年4月から2006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2ヶ所、牛舎、水田、渡り鳥が飛来する池の5地点、与那国島では、役場、畜舎、渡り鳥が飛来する水田3地点、合計8地点で実施した。その結果、全体では3,539個体が採集され6属14種に分類された。採集された主な蚊は、ネツタイエカ*Culex pipiens fatigans* 34.3%、コガタアカイエカ群*Culex tritaeniorhynchus* 28.2%、キンイロヤブカ*Aedes vexans nipponi* 21.8%であった。各採集地点では3～11種類の蚊が採集され、採集した蚊の数、種類、採集割合は、各地点で異なり特徴がみられた。最も蚊の種類が多かった与那国島の水田地帯では11種類であった。各地点において、フラビウイルス媒介可能とされている蚊は、3～6種類であった。また、沖縄本島でキンイロヌマカ、与那国島でタテンハマダラカ及びムラサキヌマカが新たに生息することが確認された。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は、約70種のウイルスが含まれており、約40種のウイルスは病原性を有する。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。蚊に媒介されるウイルスのうち、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) は、ヒトに重篤な感染症をおこし、世界各地で問題となっている。特に、WNVは、1999年にニューヨークで突然患者が発生し、4年間でほぼ全米にウイルスが広がり、2002年には患者が4000人を超え注目をあつめるようになった。

わが国には、フラビウイルスのうちJEVは常在しているが、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はいつ侵入してもおかしくない状況といえる。本県には、広大な米軍基地が存在することから、海外から飛来する輸送機とともにウイルス感染蚊が侵入する可能性は十分に考えられる。また、WNVは、ウイルスを保有した渡り鳥により国内に持ち込まれ、その鳥を刺した蚊によって蔓延するケースも危惧されている。さらに、本県の与那国島から約110kmの距離にある台湾は、DVの流行地であることから、往来する飛行機や船舶からの感染蚊の侵入には注意しなければならない。

空港や港では、検疫所により蚊のサーベイランス体制が敷かれているが、身近な生活環境である住宅地公園、畜舎、渡り鳥の飛来地、与那国島などでは実施されていない。本研究は、このような場所で蚊の発生状況やウイルス保有状況を明らかにし、正しい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年度に沖縄本島 (住宅地3ヶ所、当研究所、豚舎) 及び与那国島 (役場、豚舎) の計7地点で蚊の採集を行い、WNV、DV、JEV等の媒介蚊の発生状況を明らかにし報告した¹⁾。平成17年度は、昨年同様沖縄本島と与那国島で調査を行った。豚舎や役場については継続調査し、牛舎、水田、渡り鳥の飛来する池などを新たに加え、計8地点について調査した。

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、大里村の豚舎及び牛舎、金武町の水田、大宜味村の豚舎の5地点、与那国島では、役場、豚舎、湿地帯の3地点、合計8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の高さの位置に設置して行った。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17年4月～翌年3月まで月に2～4回（大宜味村の豚舎及び金武町の水田の2地点では5月と6月のみ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，シロハシエカ*Culex pseudovishnui*，及びウィシニエカ*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1～10個体で200 μl，11～20個体で300 μl，30～50個体で500 μlを加え，ホモジナイズし後剤割とした。

ウイルスRNA抽出及び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⁾を使用した。また，RNA抽出及びOne step RT-PCR法が確実に行われたか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

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
トランプ設置回数	A-C	3	3	2	3	3	4	3	2	2	2	3	3	33
	DE		1	1										2
	F		3	5	2	4	4	2	3	2	2	4	3	34
	HG	3	3	5	2	4	4	2	3	2	2	4	3	37
<i>Culex pipiens fatigans</i> ネツタイエカ	A	416	48	7	9	11	19	10	9	7	13	71	298 (1)	918 (1)
	B	6	6		2								2	16
	C	1	10	2	4				1					18
	D		2	3										5
	E													0
	F		35 (4)	3 (1)			8	5	9	1		33	97	191 (5)
	G	3 (1)	1				2				13	23	3	45 (1)
	H	1	(1)		1						5	3	3	13 (1)
合計	427 (1)	102 (5)	15 (1)	15	12	29	15	19	8	31	130	403 (1)	1206 (8)	
<i>Aedes albopictus</i> ヒトスジシマカ	A	1	1			2	13	3					2	22
	B			1		3	1	1						6
	C			1		1	1							3
	D			1		1	1							0
	E													0
	F		3			3	1	1	1					9
	G		5			15	30	7	7				6	72
	H	3	1	1	1	1	1					1	1	9
合計	4	10	3	0	25	47	12	8	0	0	3	9	121	
<i>Armigeres subalbatus</i> オオウロヤブカ	B		2	9	23	13	11	19	5	2			1	85
	C	1 (2)	1	1	2	9	6	9	1 (1)					30 (3)
	D		1											1
	E			1										1
	F		2			3								7
	G	3	3	1				1	1					8
	H	1												1
	合計	5 (2)	9	12	25	25	17	29	7 (1)	2	0	0	2	133 (3)
<i>Aedes vexans nipponi</i> キンロヤブカ	A		2	1				1					1	5
	B	3	4	31									1	39
	C	4	4	2			2	1						13
	D			3										3
	E		5	5										10
	F						1							1
	G					10	513 (157)		5		2			530 (157)
	H	1	2			5	5 (1)							13 (1)
合計	8	17	42	0	15	521 (158)	2	5	0	2	0	2	614 (158)	
<i>Culex tritaeniorhynchus</i> コガタアカイエカ群	A	1	9	12	14		25	2	2				6	71
	B		2	7	2 (1)	3	3	2						19 (1)
	C		2	2	7	5	7	6						29
	D		36	63										99
	E		1	267										268
	G		(1)		1	183 (1)	34	6	6		2	3	3	240 (2)
	H	1		3		94 (2)	130 (4)	3	4	13 (8)	8			256 (14)
	合計	1	51 (1)	356	24 (1)	285 (3)	199 (4)	19	12	13 (8)	10	3	9	982 (17)
<i>Anopheles sinensis</i> シナハマダラカ群	A		1											1
	B		2			4		1					1	8
	C			2									1	3
	D		1											1
	F		1											1
	G	1	1 (2)	1	3	3	4							13 (2)
	H		1			1	2			41 (28)				45 (28)
	合計	1	7 (2)	3	3	8	6	1	0	41 (28)	0	0	2	72 (30)
<i>Aedes togoi</i> トウゴウヤブカ	C	1												1
<i>Aedes lineatopennis</i> オンヨウヤブカ	G						1 (16)							1 (16)
<i>Anopheles taeniorhynchus</i> タエンハマダラカ	G					3			2					6
<i>Culex bitaeniorhynchus</i> カラツイエカ	B	1												1
F		1												1
H										2		1	4	
<i>Culex halifaxii</i> トランプカウイカ	A	1											1	2
<i>Culex sep</i> イエカ類	A									1		1		2
	B			2 (1)										2 (1)
	C							1						1
	F							1						1
	G		1					3				1		5
	H					1				2				4
<i>Mensonina uniformis</i> アンマダラヌマカ	A	4	1	5	4	2	2	1	4					23
	B					4	1	1						6
	D		1											1
	H													1
<i>Coquillettidia ochracea</i> キンイロヌマカ	A													2
<i>Coquillettidia crassipes</i> ムラサキヌマカ	H						5		3	1			1	10
合計	7	4	7 (1)	4	10	108 (28)	6	11	5	1	3	3	169 (26)	
総計	453 (3)	200 (8)	438 (2)	71 (1)	380 (3)	927 (187)	84	62 (1)	69 (36)	44	139	430 (1)	3297 (242)	

A:豊見城市(三角池) B:大里村(豚舎) C:大里村(牛舎) D:金武町(水田) E:大宜味村(豚舎) F:与那国町(役場) G:与那国町(豚舎) H:与那国町(湿地帯)

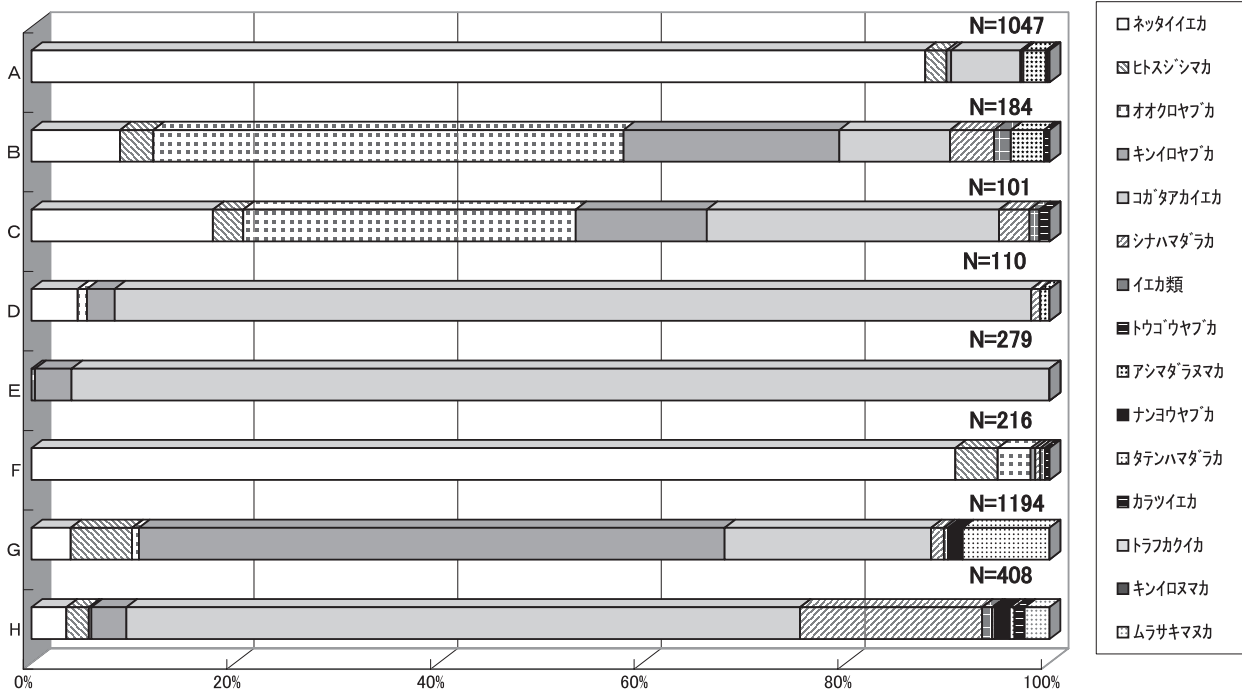
した。沖縄本島では、豊見城市三角池、大里村の豚舎及び牛舎の3地点で計33回、金武町の水田及び大宜味村の豚舎で計2回実施した。与那国島では役場、豚舎、湿地帯の3地点で計30～32回行った。

全8地点で採集された蚊は、6属14種3539個体（雌：3297個体、雄：242個体）であった。この中で、ネッタイエカが最も多く1214個体で全体の34.3%を占めた。ついで、コガタアカイエカ群999個体28.2%、キンイロヤブカ772個体21.8%、オクロヤブカ136個体3.8%、ヒトスジシマカ121個体3.4%、タテンハマダラカ104個体2.9%、シナハマダラカ群*Anopheles sinensis* 102個体2.8%の順であった。以下アシマダラヌマカ*Mansonia uniformis* 31個体、ナンヨウヤブカ*Aedes lineatopeniss* 23個体、ムラサキヌマカ*Coquillettidia crassipes* 10個体、キンイロヌマカ*Coquillettidia ochracea* 2個体、カラツイエカ*Curex bitaeniorhynchus* 6個体、トラフカクイカ*Curex halifaxii* 2個体、トウゴウヤブカ*Aedes togoi* 1個体であった。また、イエカ類のうち個体の損傷により同定困難なものが16個体0.5%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32.2個体、豊見城市三角池では31.7個体、与那国町水田地帯11.0個体、与那国島役場6.3個体、大里村豚舎では5.5個体、大里村牛舎3.0個体の順であった。5月と6月に実施した大宜味村豚舎では139.5個体、金武町水田では55個体であった。

各地点における蚊の種類別採集割合を図1に示した。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87.7%、90.7%を占めた。大里村の豚舎及び牛舎の採集蚊の種類はほとんど同じで、種類別採集割合は、豚舎ではオオクロヤブカ46.2%、キンイロヤブカ21.2%、コガタアカイエカ10.9%、ネッタイエカ8.7%、牛舎ではオオクロヤブカ36.8%、コガタアカイエカ28.7%、ネッタイエカ17.8%、キンイロヤブカ12.9%の順であった。大宜味村の豚舎と金武町の水田では、コガタアカイエカが90%以上を占めた。与那国島の豚舎ではキンイロヤブカが57.4%を占め、次いでコガタアカイエカ20.3%、タテンハマダラカ8.5%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66.2%、シナハマダラカが17.9%を占めた。



A: 豊見城市(三角池) B: 大里村(豚舎) C: 大里村(牛舎) D: 金武町(水田) E: 大宜味村(豚舎) F: 与那国町(役場) G: 与那国町(豚舎) H: 与那国町(水田地帯)

図1. 各地点における蚊の種類別採集割合

各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、3～4月に発生のピークを示した。オオクロヤブカ

は、主に大里村の豚舎及び牛舎の2地点で採集され、4～5月から発生がみられ12月～1月にかけて終息した。キンイロヤブカは、大里村の豚舎では6月、与那国島豚舎では

9月に発生のピークを示した。コガタアカイエカ群は、与那国島の豚舎及び水田地帯で8月に最も多く採集された。

タテンハマダラカは与那国島豚舎で9月、シナハマダラカは与那国島水田地帯で12月に多く発生した。

採集蚊を1プール最大50個体とし、60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。

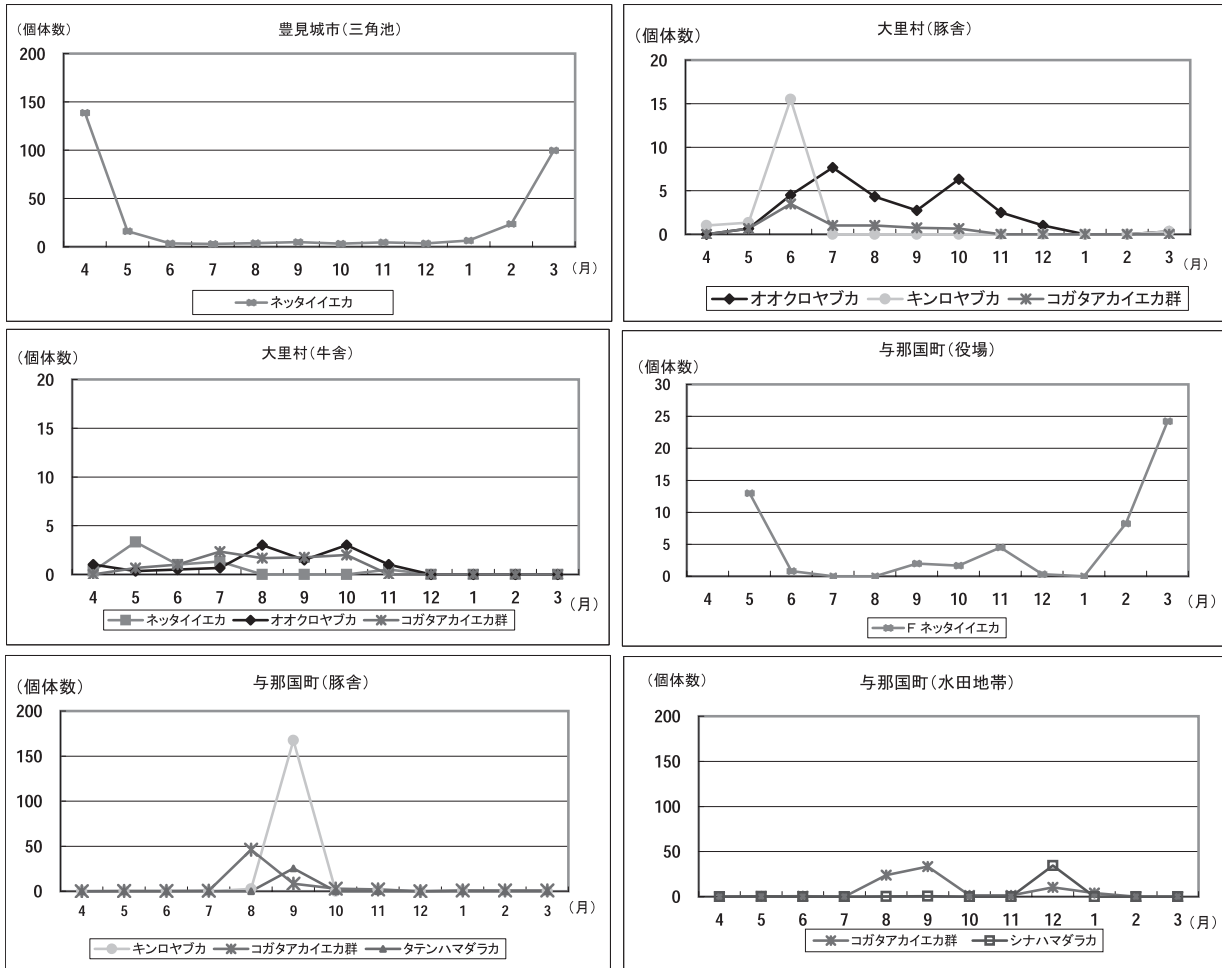


図2. 各地点における主な採集蚊の種類別・月別平均個体数

IV 考察

採集地点全体での採集蚊の数は、3539個体で6属14種に分類された。各採集地点で3~11種類の蚊が採集された。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。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が¹³⁾、これらの外にタテンハマダラカとムラサキヌマカの2種が生息することが新たに確認された。また、豊見城市三角池でもこれまで沖縄本島では生息が確認されていないキンイロヌマカが新たに確認された。両採集地点は、渡り鳥の飛来地でありWNVの侵入の可能性が考えられる場所であるが、これら3種類の蚊がWNVを媒介可能かどうかは現在のところ明らかでない。特にタテンハマダラカは、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

の生態も不明とされている。また、1977年~1981年の宮城ら¹³⁾および2004年、著者ら¹⁴⁾の調査でも、与那国島では本種は採集されていない。しかし、今回本種が多数採集できたことは、興味ある知見であり島外から侵入してきた可能性も否定できないことから、今後注意して監視する必要がある。

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、ネットアイエカ、オオクロヤブカ、キンイロヤブカ、コガタアカイエカ、ヒトスジシマカ、シナハ

マダラカの6種類で、各採集地点で少なくとも3種類以上が確認された。特に、豊見城市三角池のネッタイエカの採集数は、全地点で採集された蚊の26%を占めており、一年を通して採集された。ここは、多くの渡り鳥も常時観察できることから、WNVの蚊のサーベイランス定点に適した場所であると考えられた。

DVとYFV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が残っているが、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¹⁵⁾。今回の調査では、ヒトスジシマカが、大宜味村豚舎及び金武町水田以外の6地点で採集された。しかし、他の種類の蚊と比べ採集された個体数が少なく、発生源となる空き缶やプラスチック容器など人工容器が採集地点の周辺で少なかったのが要因の1つとして考えられた。

ネッタイシマカは、今回の調査では確認されなかった。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ており、毎年デング熱患者が発生している。2002年には患者が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、飛行機や船舶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た。

JEVは、コガタアカイエカが重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年以降年間10人未満を維持しており¹⁶⁾¹⁷⁾、県内では1998年1名の報告があるのみで、これ以降の現在まで発生報告はない。しかし、例年県内におけると畜場搬入豚の血清検査では、JEVに対するHI抗体が、例年6月頃から陽転し、血清からJEVも分離されている。また、今回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ことから、特にキャンプ等、野外での活動時には注意を要すると考えられた。

採集地点別では、採集した蚊の種類や数が異なり特徴がみられた。豊見城市三角池と与那国町役場はネッタイエカが採集蚊の8～9割以上を占めた。発生源としては、豊見城市では渡り鳥が飛来する池、与那国町役場では鯉を飼育している池や周囲の側溝の水溜りが考えられた。

大里村の豚舎及び牛舎では、他の地点と比べオオクロヤブカの占める割合が高く、昨年の豚舎の調査結果と同

様であった。両地点は約400m離れているが、周囲の環境は類似しており、採集される蚊の種類も同様であった。このことから、同じ環境下であれば牛と豚とでは畜舎に飛来する吸血蚊の種類に大きな違いはないことが推察された。

本島及び与那国島の水田では、他の地点に比べコガタアカイエカが占める割合が高く、豚舎や牛舎ではコガタアカイエカとキンイロヤブカの両種で占める割合が高かった。豚舎と水田が隣接している場合、JEVが存在すれば豚と蚊の間で容易に感染サイクルを形成することが推察された。

蚊の月別採集状況は、蚊の種類によって、発生のピークの時期が異なっていた。ネッタイエカは、豊見城市三角池と与那国町役場で1月から増加し始め3月～4月にピークとなり5月～6月には減少した。それ以外の月では、採集個体数は少ないが年間を通して採集された。県内におけるネッタイエカの発生のピーク時期は、当間らによる報告¹²⁾と一致していた。

キンイロヤブカは、大里村の豚舎では6月、与那国島の豚舎では9月にピークを示し、昨年の調査結果（大里村豚舎で10月、与那国島の豚舎では8月）¹⁸⁾とは異なっていた。このようにピーク時期が年によって異なるのは、気温、雨量、台風など、その年の気象条件が影響しているかもしれない。

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媒介可能な蚊が多数存在していることは明らかである。ウイルス侵入に備え、危機管理体制を整えておくことが重要であり、今後も調査を継続していく必要がある。特に、いろいろな場所で蚊の分布の状況を正確に把握していくことが、蚊の発生源の除去や効果的な薬剤散布等のフラビウイルス媒介蚊対策に役立つものと考えられた。

<謝 辞>

今回、調査を実施するにあたり、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。

V 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, Vorndan AV (1992) Rapid Detection and Typing of Dengue Viruses Clinical Samples by Using Reverse Transcription-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 Coquillettia 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) 当間孝子, 宮城一郎, 星野千春, 佐久本微笑 (1978) 那覇市内でのライトトラップによる蚊の採集成績. 琉大保健誌, 1(2) : 96-100.
- 13) 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
- 14) 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
- 15) 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.
- 16) 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
- 17) 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.
- 18) 平良勝也, 糸数清正, 久高潤, 中村正治 (2004) 平成16年度新興再興感染症報告書 沖縄県におけるフラビウイルス媒介蚊に関する調査, 13-21.