学会賞受賞特別寄稿

日本の節足動物媒介感染症対応に関する一連の研究 —高病原性鳥インフルエンザとデング熱の国内流行に注目して—

澤 遼 京 子*

国立感染症研究所昆虫医科学部（〒162-8640 東京都新宿区戸山1丁目23番1号）

（受領：2019年12月26日；登載決定：2020年1月29日）

A series of the studies on countermeasure for arthropod-borne infectious diseases in Japan —Focus on highly pathogenic avian influenza and dengue outbreaks in Japan—

Kyoko SAWABE*

* Corresponding author: sawabe@niid.go.jp

Department of Medical Entomology, National Institute of Infectious Diseases,
Toyama 1-23-1, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan

（Received: 26 December 2019; Accepted: 29 January 2020）

Abstract: We have faced a number of outbreaks of arthropod-borne infectious diseases in Japan and aimed to address each case appropriately. Here, I introduce two arthropod-borne infectious diseases caused by flies and mosquitoes, respectively. In 2004, the highly pathogenic avian influenza occurred in Kyoto. The H5N1 influenza A virus was isolated from the blow fly, *Calliphora nigribarbis*, collected around a poultry farm. Exposure experiments showed that the H5N1 virus survived in *C. nigribarbis* for at least 24 h. *C. nigribarbis* was suggested to possibly transport the H5N1 virus over a distance of 2 km, which they can access within 24 h. While in 2014, 162 autochthonous dengue cases were reported. Dengue virus was isolated from *Aedes albopictus* collected in the suspected locations of dengue virus infection in Tokyo. Phylogenetic analysis and virus infection experiments revealed that *Ae. albopictus* was a major dengue vector in Tokyo in 2014. In both cases, we first collected vector arthropods at each outbreak location to understand their biological characteristics and ecological dynamics. We then detected pathogens from the collected arthropods and conducted infection experiments in the laboratory. We can understand that obtaining data from both the field and the laboratory is necessary to confront arthropod-borne infectious diseases.

Key words: arthropod-borne diseases, *Calliphora nigribarbis*, *Aedes albopictus*, highly pathogenic avian influenza, H5N1/A influenza virus, autochthonous dengue outbreaks

はじめに

近年の地球温暖化や交通網のグローバル化は、節足動物が媒介する新興・再興感染症の流行に大きな影響を与え、世界各地で深刻な被害をもたらしている。国内においては、海外より新たな病原体やその媒介者（ベクター）が侵入してくる脅威は増す一方である。例えば、1999年米国ニューヨーク市で突如として流行したウエストナイル熱はその後北米大陸全域に拡大し、米国では毎年2,000名前後の患者が発生している。国内にはアカイエカ *Culex pipiens pallens* Coquillett やヒトスジシマカ *Aedes albopictus* Skuse をはじめとして、ウイルスを媒介し得る蚊が複数種生息すると考えられており、ウエストナイルウイルスが国内に侵入した場合は大きな脅威となることが予想されている。また、2014年には合計で162名のデング熱の国内感染例が発生したことは記憶に新しい（Arima et al., 2014, Kobayashi and Murota et al., 2018）。翌2015年にはジカウイルス感染症の流行がブラジルを中心に南北ア

メリカ大陸に拡大し、ヒトスジシマカが主要な媒介種となるウイルス感染症の輸入例の増加と、国内流行の可能性が危惧されるようになった。一方、ハエも公衆衛生上重要な昆虫であり、消化器系病原細菌、原虫、蠕虫など130種類以上の病原体を機械的に運ぶことが知られるが（Khamesipour et al., 2018）、2004年にオオクロバエ *Calliphora nigribarbis* Vollenhoven がH5N1亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの伝播に関与したと推察された事例が発生した（Sawabe et al., 2006, 2009, 2011）。中国では2014年以降、H5N1以外にもH5N6亜型高病原性鳥インフルエンザの流行は家禽にとどまらず、ヒトへの感染例も16例（うち死亡10例）が報告され、国内でも2016年にH5N6亜型ウイルス陽性の鳥が発見された。いずれも中国をはじめとする近隣諸国での流行が国内流行に密接に関わった事例である。

一方で、従来から国内に分布、生息している在来の病原体あるいはベクターによる被害の拡大も懸念される場所である。例えば、ダニ媒介脳炎は、国内では1993年に北海

道で初めて感染例が報告された。直後の疫学調査でマダニからウイルスが分離され、野鼠とイヌに抗体陽性の個体がいることも確認された (Takashima et al., 1997)。2016年7月には23年ぶりに国内2例目となる患者が北海道から報告され、その後も毎年患者発生がある。2013年には重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) の患者が国内で初めて報告されたが (Takahashi et al., 2014)、それ以降も西日本を中心に患者が発生し、約20%の高い致死率を示すことで高い関心を呼んでいる。ベクターであるダニの移動は宿主動物となる野生動物の移動に影響を受けるため、SFTSの流行域が西日本から東に拡大傾向にあることに野生動物の生息域拡大が大きく関わっていると考えられている。また、ヒトジラミ *Pediculus humanus* Linnaeus が媒介する蜃壕熱も再興感染症として近年注目されている。蜃壕熱は、第一次世界大戦や第二次世界大戦の際に、蜃壕内で戦った多くの兵士が感染した。その後は大きな流行は見られなかったが、1990年代に入り途上国の非衛生的な施設等で、さらに先進国でも社会問題になってきた路上生活者の増加に伴い、都市部を中心にコロモジラミの散発的な流行が見られるようになった。我が国でも路上生活者の数は年々増加し、さらにネットカフェや簡易宿泊施設等でのコロモジラミの被害が報告されるようになった。東京、大阪等の都市部のコロモジラミから蜃壕熱の原因菌である *Bartonella quintana* 遺伝子が検出され、静かに都市域に広がっていることが指摘された (佐々木ら, 2010; 沢辺ら, 2010)。

このように、近年、わが国における節足動物が媒介する新興・再興感染症は頻発している。我々はこれまでにいくつもの節足動物媒介感染症の流行に直面し、その都度適切な対策を実施するよう努めてきた。ここでは、衛生動物学分野で重要なベクターであるハエと蚊に注目し、それらが直接・間接的に感染症の流行に関わった2つの事例、2004年の高病原性鳥インフルエンザの流行拡大 (Sawabe et al., 2006, 2009, 2011) と2014年のデング熱の国内流行 (Tanikawa et al., 2015; Tsuda et al., 2016; Kobayashi and Murota et al., 2018) に対応した一連の調査・研究の成果を紹介する。

1. ハエがもたらす感染症：腸管出血性大腸菌感染症と鳥インフルエンザ

ハエは公衆衛生上重要な昆虫であり、消化器系病原細菌、原虫、蠕虫など130種類以上とも言われる病原体を機械的に運ぶことが知られている (Khamesipour et al., 2018)。その伝播方法は蚊やマダニなどの吸血昆虫に多く見られる生物学的伝播ではなく、取り込んだ病原体を運ぶ機械的伝播である。トイレが普及していない開発途上国などでは、糞食性であるイエバエ *Musca domestica* Linnaeus から赤痢菌が検出されることも少なくない (Qureshi et al., 2014, George et al., 2015)。わが国でも1996年に腸管出血性大腸菌 *Escherichia coli* O157 (以下O157と記す) による集団食中毒が全国規模で発生した。その後行われた全国調査で、採集されたイエバエからO157が検出・分離され、イエバエの関与が強く示唆された (安居院, 1998; Iwasa et al., 1999; Kobayashi et al., 1999; Sasaki et al., 2000)。

2003年12月山口県阿東町の養鶏場での発生を契機に、国内では79年ぶりとなる高病原性鳥インフルエンザの流行が始まった (岡部, 2004)。翌2004年3月までに大分県九重町では少数のチャボが、京都府丹波町ではニワトリが大量に死

Fig. 1. The avian influenza outbreaks caused by H5N1 subtype occurred in Japan since 2003 reported by prefecture. This map shows prefectures and years when avian influenza outbreaks occurred.

亡し、畜産業界ならびに消費社会に大きな波紋を呼んだ。いずれもH5N1亜型ウイルスの感染による流行であった (Mase et al., 2005)。Fig. 1に示すように、その後もH5N1亜型インフルエンザウイルスの家禽や水禽での感染事例が相次ぎ、続く2005年と2006年の夏には、茨城・埼玉両県下の養鶏場で弱毒タイプのH5N2亜型ウイルスが流行し、2007年1月には、宮崎県と岡山県で再びH5N1亜型ウイルスによる高病原性鳥インフルエンザが再燃した (Sawabe et al., 2011)。このH5N1亜型インフルエンザウイルスはアジア諸国において水禽および家禽類の間でしばしば流行し、甚大な経済的損失をもたらしている。ほとんどの鳥インフルエンザウイルスは人には感染しないが、H5N1亜型ウイルスのように、一部の亜型のウイルスは人に直接感染し、致命的な症状を引き起こすことが1997年香港での感染症例 (6人死亡) で降知られるようになった (Subbarao et al., 1998; Yuen et al., 1998)。

これらの事例を経験したことで、2011年3月に起きた東日本大震災被災地でのハエ類の大量発生に伴う感染症の流行が危惧された (林・澤辺, 2016)。

高病原性鳥インフルエンザ発生地におけるハエ類の調査

2004年2-3月、高病原性鳥インフルエンザが発生した京都府丹波町周辺では、ウイルスの確認が行われた直後から野鳥類に対するウイルス汚染調査が行われ、発生農場Aから半径30kmの移動制限区域内で防疫措置期間中にカラスの死亡個体が多数発見された。このうち京都府の7羽、大阪府の2羽からH5N1亜型ウイルスが検出されたが、その他の野生動物からは検出されなかった (Mase et al., 2005)。国内では約79年ぶりに発生したこの鳥インフルエンザの流行は、2003年12月から3月まで続いたことから、冬季に活動性が高まるハエ類、特にオオクロバエとケバクロバエ *Aldrichina grahami* (Aldrich) の関与が強く疑われた。両クロバエは、夏季に鶏舎周辺で行われた調査 (2005年6月茨城県小川町でH5N2亜型鳥インフルエンザが流行した際に実施) で多く採集さ

Fig. 2. Localities in Tamba Town from which flies used in this study were obtained. This figure was modified from Sawabe et al. (2006).

れたヒロズキンバエ *Phaenicia sericata* Meigen, オオイエバエ *Muscina stabulans* (Fallen'), イエバエ等, 主に夏に活動するハエ類 (倉橋ら, 未発表) とは異なる冬季活動性の種類のハエである。

著者らは, 国内2例目となった大分県九重町で2004年2月24–25日, 続く3例目となった京都府丹波町で同年3月9–12日に, 鳥インフルエンザが発生した農場Aから600–2,250 mに位置する6地点 (Fig. 2, 地点1–6) で魚肉 (鯛) ペイトを用いてハエ類の採集を行った。京都府丹波町では, 約19時間半の総採集時間で合計926頭のハエが採集され, 最も採集数の多かった地点1 (養鶏場より東方向に600 mの南側斜面に位置する場所) では, 3時間で403頭が採集された (1時間当たり134個体)。6地点の平均採集数は48頭/時間であった。ここでは結果は省略したが, 農場Aから距離が離れるにつれハエ類の採集数が減少したことは, 農場Aがハエ類の主要な生息場所であったことを示唆していた。

地点1で採集された403頭のハエ類のうち181頭のハエの種同定を行った結果, オオクロバエ (72頭, 39.8%) とケブカクロバエ (73頭, 40.3%) で全体の約80%を占め, これにオオイエバエ (29頭, 16%) を加えると96%にも達することが判明した (Table 1)。チャボでの感染が確認された大分県九重町で行った調査でも, オオクロバエとケブカクロバエの比率は, 本結果とほぼ同様であったことから, この2種類が冬季の代表的なハエであることが示唆された。

捕集したハエ類からのウイルス検出

農場A周辺の6地点で採集したクロバエから消化器官 (そ嚢と腸管) を摘出し, 各種20頭から個体別に摘出した消化器官をまとめて1プールとし, ハエ乳剤を作製した。ハエ乳剤から抽出したRNAを用いてRT-PCRおよびsemi nested-PCRを行い, インフルエンザウイルスの型 (A型, B型, C型) と亜型 (H1–H15亜型) を特定するためのマトリックスタンパク (M) とヘマグルチニン (HA) の両タンパク遺伝子の検出を試みた。農場Aから約600 m東の南側斜面に位置する地点1 (Fig. 2) で採集されたオオクロバエとケブカクロバエ

Table 1. Species composition of flies collected at site 1 of Tamba Town.

Species	No. collected	Proportion (%)
<i>Aldrichina grahami</i> (Aldrich)	73	40.3
<i>Calliphora nigribarbis</i> Vollenhoven	72	39.8
<i>Muscina stabulans</i> (Fallen')	29	16.0
<i>Triceratopyga calliphoroides</i> Rohdendorf	2	1.1
<i>Muscina angustifrons</i> (Loew)	2	1.1
<i>Muscina pascuorum</i> (Fallen')	1	0.6
<i>Lucilia porphyria</i> (Walker)	1	0.6
<i>Phaenicia sericata</i> Meigen	1	0.5
Total	181	100

This table was from Sawabe et al. (2006).

Table 2. Detection of H5 influenza A virus from blow flies collected at Tamba Town in 2004.

Site*	Species	n	Crop	Gut	No. positive flies (%)†
1	<i>C. nigribarbis</i>	10	1	2	2 (20)
1	<i>A. grahami</i>	10	0	2	2 (20)
6	<i>C. nigribarbis</i>	10	2	3	3 (30)
6	<i>A. grahami</i>	10	0	0	0
2	<i>C. nigribarbis</i>	10	1	0	1 (10)
	<i>A. grahami</i>	10	0	0	0

* See Figure 2 for site 1, 2, and 6 details.

† Virus gene-positive flies were detected by RT-PCR results from crop and gut specimens. This table was from Sawabe et al. (2006).

の各2プールのすべてからMおよびHA遺伝子断片が検出された。しかし, 同地点で採集されたオオイエバエとモモグロオオイエバエ *Muscina angustifrons* (Loew) からは, いずれの遺伝子も検出されなかった。そのHA遺伝子のアミノ酸配列には, 病原性の強さに関わるとされる開裂部位が認められ, 本ウイルスが強毒タイプであると推察された。

次いで, 農場Aから600–700 m付近に位置する地点1と地点6 (Fig. 2) および約2 km離れた地点2 (Fig. 2) で採集されたオオクロバエとケブカクロバエの各10頭からそ嚢と腸管をそれぞれ摘出し, 個体別にRT-PCRおよびsemi nested-PCRによりMおよびHA遺伝子断片の検出を試みた。その結果, オオクロバエのウイルス遺伝子保有率は10–30%と高率で, 地点1と地点6で20–30%, 約2 km離れた地点2でもオオクロバエの約10%が本ウイルスの遺伝子を保有していたことが明らかになった。また, ケブカクロバエにおいても, 地点1で採集された個体の20%がウイルス遺伝子を保有していたことが明らかになった (Table 2)。ここでインフルエンザウイルス遺伝子陽性と判定されたオオクロバエの消化器官の乳剤を個別に発育鶏卵に接種し, ウイルス分離を試みたところ, ウイルス遺伝子陽性であった10頭のうち2頭のハエ乳剤からインフルエンザウイルスが分離された。分離株のHA, ノイラミニダーゼ (NA) およびM遺伝子の全塩基配列を解析した結果, 本ウイルスがH5N1亜型高病原性A型インフルエンザウイルスであることが明らかになった。また, 本ウイルスは農場Aで死亡した鶏から分離されたH5N1亜型ウイルス株と

の間に99%以上の高い塩基相同性を示したことから、両者が同一ウイルスであると判定された。丹波町において鳥インフルエンザが発生した当時、発生農場周辺では感染性のあるウイルスを体内に保有したクロバエが多数飛翔しており、計算上はオオクロバエの約5%が保有していたと推定された、このウイルスが次の発生農場への感染源となった可能性が強く示唆された (Sawabe et al., 2006)。

オオクロバエとケブカクロバエ

丹波町でインフルエンザウイルスを保有していたオオクロバエとケブカクロバエは、いずれも日本、韓国、中国、台湾などの東アジア地域に分布し、国内では、積雪量が多くない関東以西では秋から春にかけて平野部の山脚部や都市の住宅地などで普通に見られる、いわゆる冬に繁殖期を迎えるハエである。わが国におけるオオクロバエの生活史 (倉橋・末永, 1997) によると、成虫は秋から春にかけて温暖な地方で動物の死体や家畜等の排泄物などを活発に摂食し産卵活動を行い、鶏舎や畜舎にも侵入する。初春に現れる新成虫は初夏には高地など冷涼地へ移動しそこで夏を越す。そのため、低地からは一旦姿を消すが、秋に再び低地に現れて繁殖を開始する。丹波町で鳥インフルエンザの流行が起こった12月から3月にかけての冬季はオオクロバエの繁殖期に相当していたと考えられる。また、オオクロバエの国内での移動と分散を調査したmark-release-recapture実験から、このハエは1日に少なくとも2-3kmの飛翔は容易であることが示唆されている (Tsuda et al., 2009)。鳥インフルエンザが流行した丹波町の2軒の養鶏場はわずかに4kmしか離れておらず、実際に両鶏舎のほぼ中間地点である2kmを過ぎた場所 (地点3, Fig. 2) でもウイルス遺伝子陽性のオオクロバエが採集された。

この2種類のクロバエは、ハエ類の中では大型種に区分され、いずれも動物の死体や排泄物を好んで摂食する習性がある。インフルエンザに感染したニワトリの糞中にはウイルスが大量に排泄され、次の感染源となることから、丹波町の発生養鶏場周辺のクロバエ類がニワトリの糞と一緒にウイルスを取り込んだ可能性は高い。Table 2で示されたように、オオクロバエのウイルス遺伝子陽性率はケブカクロバエよりも高かった。これは体のサイズ (オオクロバエの体長: 11-15mm, ケブカクロバエ8-13mm, オオイエバエ: 7-9.5mm)、つまり、その腸や腸管などに摂取されるウイルス量の差によってもたらされたと考えられる。食餌をより多く摂食できる種類のハエは、排泄物や汚物に含まれるウイルスをも多く取り込むことができるからである。また、オオクロバエの寿命は長く、繁殖能力にも優れている。成虫の活動する長い期間に何度でも摂食することができると考えられる。

ハエ体内でのインフルエンザウイルスの生存期間

オオクロバエにH5N1インフルエンザウイルスを摂食させ、ハエ体内での生存期間を推定した (Table 3)。オオクロバエの雌成虫に、ケージ (20×20×20 cm) 内で約3時間、脱脂綿に浸み込ませた 10^8 EID₅₀/mLのH5N1亜型ウイルス液 (A/duck/Hyogo/35/01, 神戸市環境保健研究所, 秋吉京子氏より分与) を摂食させ、その後3-72時間までは継時的に、および14日後にそれぞれ3頭ずつハエを解剖し、①そ嚢, ②消化器官を摘出し、③糞と吐出物, ④ウイルスを浸み込ませた脱脂綿からそれぞれウイルス乳剤を調整した。その乳剤を发育

鶏卵接種によりウイルス分離を試みると同時に、MDCK細胞 (犬の腎臓由来細胞) 培養系を用いてウイルス力価 (感染増殖能のあるウイルス粒子の数) を測定した。また、RT-PCRにより①-④の各検体からウイルス遺伝子の検出も行った。その結果、ウイルス液を摂食したオオクロバエは、その実験期間である14日間はほぼすべての検体からウイルス遺伝子は検出されたが、力価のあるウイルスは摂食後24時間まではハエ体内で維持されることが明らかになった (Table 3)。MDCK細胞培養系においてもほぼ同様の結果であったが、糞や吐出物の中には3頭中1頭ではあったが、48時間後もウイルス力価が測定できたことから、48時間ウイルスがクロバエの体内で保持される可能性があることも示唆された。これらの結果から、オオクロバエ体内でインフルエンザウイルスは増殖せず、その力価は低下する傾向にあったが、少なくとも24-48時間はその感染性は維持されており、その間は次の鶏への感染源となる得る可能性があると考えられた (Sawabe et al., 2009)。

インフルエンザウイルスの運搬者としてのオオクロバエ

上述したように、オオクロバエの生物学的特徴を考慮すると、本種がインフルエンザウイルスを伝播する可能性は高いと考えられた。オオクロバエの特徴は以下のようまとめられる。

①オオクロバエは冬季に活動するハエであり、国内での高病原性鳥インフルエンザが流行する時期と概ね一致する。②成虫は動物の糞便や死体などを好んで食べるため、鳥インフルエンザで死亡したニワトリの死体や排泄物に集まったと思われる。③オオクロバエは大型のハエであるため、その食餌がウイルスに汚染されていれば、汚染された排泄物等と同時にウイルスも大量に取り込む可能性は高い。④オオクロバエの成虫の寿命は長く、その間の食餌量も多く、ウイルスを取り込む量も回数も多いと考えられる。⑤移動能力に優れ、24時間内で少なくとも半径2-3kmに存在する近隣の鶏舎間を移動することは容易である。このようなクロバエ類の生物学的特徴、実際にインフルエンザウイルスがこれらクロバエ類から検出された事実、ならびに実験室内でのオオクロバエへの摂食実験の結果を総合すると、クロバエ類がカモや渡り鳥の飛来地から養鶏場へ、あるいは近隣の鶏舎間を飛び回り、インフルエンザウイルスを機械的に伝播する可能性は高いと考えられる。

鳥インフルエンザウイルス流行の疫学

京都府丹波町の鳥インフルエンザ発生農場の死亡鶏から分離されたH5N1亜型ウイルスの起源は、1996年中国広東省のガチョウ農場で検出されたウイルスにまで遡る (Mase et al., 2005)。このウイルスが2003年に中国山東省、同年12月に韓国で大流行を引き起こし、その後日本へ侵入したと考えられており、本ウイルスが海外から侵入してきたことは事実である。ウイルスに感染したカモ類などの渡り鳥が海外よりウイルスを持ち込んだ可能性が高いが、海外より飛来する動物は渡り鳥だけではなく、晩秋に大陸から長距離飛翔してくるクロバエ類の存在も示唆されている (倉橋・末永, 1997)。

オオクロバエの国内での繁殖期に当たる秋から春にかけて北部九州の渡り鳥の飛来地周辺において調査したところ、2006年11月下旬に佐賀県で採集されたオオクロバエから水

Table 3. Diagnostic results of H5N1 influenza A viruses from crop, intestine and feces and vomit matters of a blow fly after experimental exposure to the virus solution.

Postexposure	Replicate	Crop			Intestine			Feces and vomit matters			Virus-exposed cotton			
		VI	TCID ₅₀	PCRs	VI	TCID ₅₀	PCRs	VI	TCID ₅₀	PCRs	VI	TCID ₅₀ ^a	PCRs	
20°C	3 h	1	+	3.50	+	+	3.50	+				NT	5.00	+
		2	+	3.33	+	+	4.00	+						
		3	+	1.83	+	+	0.50	+						
		4	+	4.60	+	+	3.50	+						
		5	+	2.60	+	+	3.00	+						
		6	+	1.67	+	+	1.67	+						
		7	+	<0.50	+	+	<0.50	+						
		8	+	4.63	+	+	3.50	+						
		9	+	3.00	+	+	3.63	+						
		10	+	<0.50	+	+	<0.50	+						
	6 h	1	+	<0.50	+	+	3.50	+	—	NT	+	NT	4.50	+
		2	+	<0.50	+	+	1.50	+	—	NT	+			
		3	—	<0.50	+	—	<0.50	+	—	NT	+			
	9 h	1	+	1.00	+	+	1.00	+	—	NT	+	NT	5.60	+
		2	+	<0.50	+	+	<0.50	+	—	NT	+			
		3	—	<0.50	+	—	<0.50	+	—	NT	+			
	24 h	1	—	<0.50	+	—	<0.50	+	—	NT	+	NT	4.67	+
		2	—	<0.50	+	—	<0.50	+	—	NT	+			
		3	+	1.67	+	+	<0.50	+	—	NT	+			
	48 h	1	—	NT	+	—	NT	+	+	<0.50	+	NT	4.83	+
		2	—	NT	+	—	NT	+	—	NT	+			
		3	—	NT	+	—	NT	+	—	NT	+			
	14 d	1	—	NT	+	—	NT	+	—	NT	+	NT	<0.50	+
		2	—	NT	+	—	NT	+	—	NT	+			
3		—	NT	+	—	NT	+	—	NT	+				
10°C	14 d	1	—	NT	+	—	NT	+	—	NT	+	NT	<0.50	+
		2	—	NT	+	—	NT	+	—	NT	+			
		3	—	NT	+	—	NT	+	—	NT	+			

VI: virus isolation using embryonated chicken eggs, TCID₅₀: virus titers (log₁₀ TCID₅₀/0.05 mL) were calculated by the inoculation onto MDCK cells, PCRs: RT-PCR performed with specific primers for the HA and M genes and followed by a nested PCR with primers for the HA gene, NT: not tested.

^a The average of two times of the virus titration.

This table was modified from Sawabe et al. (2009).

禽類由来のH5亜型以外のA型インフルエンザウイルスが検出された (Sawabe et al., 2011). オオクロバエが水禽類と接触し、その排泄物からウイルスを摂取したであろうことを示唆している。その渡り鳥の飛来地から鳥インフルエンザ発生農場へは、ウイルスはどのようにして運ばれたのだろうか? カモ以外の野鳥やネズミが養鶏場にウイルスを持ち込む可能性があることと推察されたが、発生農場の多くは防鳥ネットを使用しており閉鎖型の鶏舎も増えてきたことから、これらの動物が鶏と接触する可能性は極めて低いと思われる。一方、養鶏場に飛来したオオクロバエが防鳥ネットをかいくぐって鶏舎内部に侵入することは容易であることは言うまでもない。また、ニワトリは近くを飛び回るハエを容易に捕まえて、生きたままでも食べる習性があるため、もしそのハエが感染力のあるウイルスを保有していた場合、ニワトリがウイルスに感染する可能性は高いと思われる。

国内においては、冬季に活動するクロバエ類の鳥インフルエンザ伝播への関与が危惧されるが、アジア諸国では、いく

つかの亜型のインフルエンザウイルスが鳥と人の両者に公衆衛生上深刻な問題をもたらすことが知られている。これらの国々の多くは亜熱帯から熱帯に位置し、一年を通して様々な種類のハエ類が絶えず活動しているため、常に鳥インフルエンザが発生する可能性が高いと推察される。事実、トルコにおいては、イエバエにH9N2インフルエンザウイルスを摂食させ、ハエの体表で24時間、体内で96時間維持されることが実証され (Salamatian et al., 2019)、養鶏場内での拡散に警鐘を鳴らすことになった。

高病原性鳥インフルエンザ発生の防止対策

2004年の鳥インフルエンザ流行に際しては、残念ながらハエ類を意識した対策は取られなかった。なぜなら、その感染経路や感染方法などが十分に解明できなかったからである。当時の農林水産省のホームページには、ウイルスの侵入経路について以下のような記載があった。①ウイルスに感染している鶏を海外より導入した。②ウイルスに汚染された器

材・車両・卵ケースなどを使用した。③人の衣服・手・長靴などを介してウイルスが持ち込まれた。④野鳥が出入りできる鶏舎や屋外養鶏場では、感染した野鳥がウイルスを持ち込んだ可能性がある。これに則り、各自治体はペストコントロール協会と協力して、出入りする車輛に消石灰を散布し、作業員や従業員の防護服や長靴等を消毒した。各養鶏場では防鳥ネット等の強化で野鳥やネズミの侵入阻止に務めるとともに、飼料タンク周辺や鶏舎内の清潔に留意し、鶏糞の処理を徹底した。現在もほぼ同様の対応がなされていると聞く。しかし、様々な病原体の運搬者であるハエ類が、深刻な感染症にも関与する可能性があることを考えると、鳥インフルエンザの対策にハエ類の駆除も加えることが望ましい。しかし、実際には、環境整備だけでは対処できない場合も多く、殺虫剤を使う防除が主な手段となることが多い。例えば、鶏糞に昆虫成長制御剤（IGR）を散布し幼虫対策を行う。鶏舎によってはこれに加え成虫対策として、ベイト（食毒）剤の設置、またはハエがよく止まる壁面に処理し殺虫効果に残効性のある殺虫剤残留処理（ペイント剤の残留噴霧）を併用するなど効果的であるとしている（富田・小林，2007）。

国内において、イエバエの各種殺虫剤に対する抵抗性の発達が深刻な問題となっており、オオクロバエにおいては、フェニトロチオンやペルメトリン等のピレスロイド剤に対して依然として高い感受性を示すことが報告されている（Komagata et al., 2007）。事実、その後に発生した東日本大震災の被災地におけるクロバエ類の駆除に、ピレスロイド系殺虫剤の散布が効果を発揮している。2011年3月に東北地方の湾岸地域を襲った激甚津波は水産加工場の冷凍庫を破壊し、散乱し放置された腐敗魚類や打ち上げられた漁網や瓦礫等が発生源となり、主にクロバエ科のハエが大量に発生した。同時に発生していたイエバエにおけるフェニトロチオン乳剤ならびにエトフェンプロックス乳剤散布の効果はクロバエよりも低かったものの、散布24時間後のクロバエの生息密度は80–90%減少したことが明らかになった（田原ら，2012）。

2. 蚊がもたらす感染症

蚊は世界中に約3,000種、日本国内にはそのうち約110種が記録されているが、病原体の媒介に関与する種類はその一部である。1897年にマラリア原虫が蚊によってヒトに媒介されることが実証されて以降、蚊が多くの感染症の伝播に関わり、特に多くの節足動物媒介性ウイルス（アルボウイルス）を媒介することが明らかになった。例えば、1906年にデング熱が蚊媒介性であることが証明され、1935年に日本脳炎ウイルスが分離された。次いで1937年にウエストナイルウイルスが発見され、ジカウイルスが1947年、チクングニアウイルスが1953年、それぞれアフリカ大陸からの発見が相次いだ。その中でもデング熱の流行地域と患者数は、ここ数十年間で劇的に増加し、再興感染症の中でもマラリアと共に世界的にもっとも重要な疾患の一つとして世界保健機構（WHO）が監視している感染症である。年間約4億人がデング熱を、約25万人がデング出血熱を発症し、そのうちの約1割（約2万人）が死亡している（WHO, 2019）。

国内では、1942年の夏に東南アジアから帰国した船員によってデング熱が持ち込まれ、ヒトスジシマカを媒介蚊としてその後の3年間で20万人以上ともいわれる大流行が記録されている。それ以降はすべて輸入症例であったが、2010年

以降の症例数は増加傾向にある。249例の輸入症例が報告された2013年には、8月中旬から下旬にかけて日本国内を旅行したドイツ人が、成田空港から直行便で帰国後の9月3日に発熱し、その後デング熱と診断され（Schmidt-Chanasit et al., 2014）、国内で感染したことが強く疑われた事例として報告された。翌2014年8月27日には、約70年ぶりのデング熱国内感染が発生した。東京都内を中心に合計で162名の患者が報告された年である（Kutsuna et al., 2014; Arima et al., 2014）。幸い、翌2015年に国内感染例は発生しなかったが、輸入症例数はさらに増加し、2019年は過去最高の患者数461名が報告された。同年9–10月には、国内感染したと疑われる症例が沖縄県、京都府と奈良県から相次いで報告された。日本はすでにデング熱が毎年流行しても不思議ではない国になっていると考えざるを得ない。事実、WHOは、日本はもとより、同じ温帯地域にあるヨーロッパ諸国でもデング熱が流行する可能性があるとしている（WHO, 2019）。

ヒトスジシマカ

ヒトスジシマカは、世界の熱帯から温帯地域に広く分布し、日本では、北海道を除く国内のほとんどの地域の都市部によく見られる。背中（中胸背板）にある一本の白い筋が大きな特徴である。成虫は、民家の庭、公園、墓地などの茂みに潜み、待ち伏せして吸血する。主に屋外で活動し、朝方から夕方まで激しく吸血する。

ヒトスジシマカの卵は乾燥に強く、数ヶ月の乾燥に遭遇しても、いったん水に浸ると孵化してくる。1984年に米国ヒューストンで初めてヒトスジシマカの定着が確認された際、日本から輸出された古タイヤの内側に乾燥卵が付着していたことが後で明らかになった（Springer and Wuthiranyagool, 1986）。その後、米国から輸出された古タイヤを介してヒトスジシマカがイタリアに侵入し、チクングニア熱の流行に関与したと考えられている（Dalla et al., 1994）。ヒトスジシマカの幼虫は比較的小さな容器、住宅地では雨水マス、植木鉢やプランターの水受け皿、庭先に置き忘れたバケツや壺、コンビニ弁当などのプラスチック容器、古タイヤなどによく発生するため、個人的な対策は取りやすいが、幼虫対策だけでは成虫の数は劇的には減らないのが現実である。幼虫の生息地は、年平均気温が11℃以上の地域とよく一致しており、温暖化の影響等により、その分布域は徐々に北上している（Kobayashi et al., 2014）。その後の調査で、2015年に本州北端の青森市に侵入し、翌2016年に定着が確認された（沢辺ら，2017）。

デング熱国内感染推定感染地における媒介蚊調査

2014年8月27日、約70年ぶりにデング熱の国内感染例が発生した（Arima et al., 2014; Kutsuna et al., 2015）。国内外から多くの観光客が集まる代々木公園の渋谷門周辺でダンスの練習中に蚊に刺されたらしいことが後に報道された。最終的に東京都内の公園で感染したと推測される症例147名を中心に、合計162名の国内感染例が報告されたことが10月31日付けの厚生労働省の発表で明らかになった。患者からの申告で、都内のいくつかの公園や住宅地で蚊に刺されたことが明らかになったため、著者らは、その推定感染地とされた都内の公園の、それぞれ複数か所を選定し媒介蚊調査を行った（Tsuda et al., 2016）（Fig. 3）。8月28日に東京都が殺虫剤

Fig. 3. Map of the vicinity of Tokyo Metropolis showing locations where dengue virus (DENV) transmission was suspected during dengue outbreak in 2014. At the six locations (closed circles) among these, mosquito collections were carried out in this study. Open circles describe locations where DENV transmission was suspected but mosquito survey was not performed. Shinjuku Gyoen National Garden (SGNG)* was not a suspected location of DENV transmission, but mosquito collection was carried out. Abbreviation of the collection sites is described in the text. This figure was from Kobayashi and Murota et al. (2018).

散布による成虫駆除の実施を決定した代々木公園（YP）では、8分間人囃法により合計で雌36頭と雄19頭が捕集され、翌29日は雌15頭（Table 4）と雄3頭（Table 5）がそれぞれ

捕集された。代々木公園では続く9月4日にも捕集調査を行い、雌412頭と雄85頭がそれぞれ捕集された（Table 4, Table 5）。その日から10月下旬まで公園の一部が閉鎖されることになった。同様に、新宿中央公園（SCP）、明治神宮（MJ）、国立オリンピック記念青少年総合センター（NYC）および外濠公園（SP）においても8月下旬から9月中旬にかけて蚊の捕集を行った（Table 4, Table 5）。一方、新宿御苑（SGNG）では患者発生の報告はなく、推定感染地とはみなされていないが、代々木公園と地理的に近いことから、9月7日から10月17日まで環境庁が独自に閉園を決定した。その間9月12日より10月23日まで1週間毎に、園内の10か所でCO₂トラップ（CDC型ドライアイストラップ）による蚊の捕集が行われた（Table 4, Table 5）。

ヒトスジシマカは卵のステージで越冬することが知られている。また、デングウイルスの経卵伝搬も知られていることから、翌春に越冬から覚醒した幼虫や成虫にウイルスが受け継がれる可能性を検討するために、新宿中央公園および新宿御苑においては翌2015年4月20日に幼虫の捕集を行った。得られた幼虫は飼育室で羽化させた成虫で種を同定し、すべての個体をウイルス検出に供した。新宿中央公園からは幼虫135頭（羽化後に雌66頭、雄69頭と同定）、新宿御苑からは幼虫1頭（雌1頭）のみがそれぞれ採取された（Table 4, Table 5）。

捕集したヒトスジシマカからのウイルス検出と系統解析

東京都内の公園6か所から得られた雌2,298頭および雄956

Table 4. Result of detection and isolation of DENV from female *Aedes albopictus* mosquitoes collected in Tokyo Metropolis in 2014 and 2015.

Mosquito collection sites	Collection date		No. mosquitoes tested	No. pools tested	No. DENV-positive pools	
					Virus-gene detected (MIR [†])	Virus isolated
Yoyogi Park (YP)	August 28	2014	36	2	0	0
	August 29	2014	15	1	1 (66.7)	NT [‡]
	September 4	2014	412	21	13 (31.6)	9
Shinjuku Central Park (SCP)	September 5	2014	422	21	6 (14.2)	1
	September 8	2014	32	2	0	0
	September 19	2014	89	4	1 (11.2)	1
	April 20*	2015	66	6	0	0
Meiji Jingu (MJ)	September 5	2014	241	12	6 (24.9)	4
	September 8	2014	11	1	0	0
National Olympics Memorial Youth Center (NYC)	August 29	2014	46	2	1 (21.7)	NT
	September 4	2014	78	4	1 (12.8)	1
Sotobori Park (SP)	September 9	2014	71	4	0	0
Shinjuku Gyoen National Garden (SGNG)	September 12	2014	296	15	10 (33.8)	NT
	September 19	2014	424	15	9 (21.2)	NT
	September 26	2014	37	7	1 (27.0)	NT
	October 3	2014	7	2	0	NT
	October 8	2014	14	4	0	0
	April 20*	2015	1	1	0	0
Total			2,298	124	49	16

* Larvae collected were maintained in the laboratory and emerged adults were tested.

[†] MIR is defined as (number of DENV-positive pools/number of mosquitoes tested)×1,000.

[‡] NT is not tested.

This table was modified from Kobayashi and Murota et al. (2018).

Table 5. Result of detection and isolation of DENV from male *Aedes albopictus* mosquitoes collected in Tokyo Metropolis in 2014 and 2015.

Mosquito collection sites	Collection date		No. mosquitoes tested	No. pools tested	No. DENV-positive pools	
					Virus-gene detected (MIR [†])	Virus isolated
Yoyogi Park (YP)	August 28	2014	19	1	0	0
	August 29	2014	3	1	0	0
	September 4	2014	85	3	0	0
Shinjuku Central Park (SCP)	September 5	2014	568	19	0	0
	September 8	2014	23	1	0	0
	April 20*	2015	69	5	0	0
Meiji Jingu (MJ)	September 5	2014	34	1	0	0
	September 8	2014	1	1	0	0
National Olympics Memorial Youth Center (NYC)	August 29	2014	1	1	0	0
	September 4	2014	4	1	0	0
Sotobori Park (SP)	September 9	2014	34	1	0	0
Shinjuku Gyoen National Garden (SGNG)	September 12	2014	56	NT [‡]	—	—
	September 19	2014	55	NT [‡]	—	—
	September 26	2014	2	NT [‡]	—	—
	October 3	2014	1	NT [‡]	—	—
	October 8	2014	1	1	0	0
	April 20*	2015	0	0	—	—
Total			956	35	0	—

* Larvae collected were maintained in the laboratory and emerged adults were tested.

[†] MIR is defined as (number of DENV-positive pools/number of mosquitoes tested)×1,000.

[‡] NT is not tested.

This table was modified from Kobayashi and Murota et al. (2018).

頭をそれぞれ124プールと35プールに集約し、それぞれの蚊乳剤から抽出した全RNAに対してデングウイルス特異的RT-PCRおよびTaqMan assayを行った。また、同時に蚊乳剤をC6/36細胞およびVero細胞に接種することでウイルス分離を試みた(Kobayashi and Murota et al., 2018)。その結果、雌49プールがデングウイルス遺伝子陽性(血清型1型)と判定された。陽性蚊が検出された推定感染地の最低陽性蚊数(Minimum infection rate, MIR: 1プール中に最低でも1頭の陽性蚊がいると仮定した場合の1,000頭中の陽性蚊数)は11.2–66.7と算出され、ヒトスジシマカのデングウイルス保有率は極めて高いことが確認された(Table 4)。また、外濠公園以外の調査地の6地点中5地点で、9月中旬から下旬までウイルス保有蚊が存在していたことも明らかになった。さらに、陽性と判定されたプールのうち16プールからデングウイルスの分離に成功した。一方、2015年4月に捕集された幼虫(羽化成虫を検査に用いた)からはウイルスは検出されなかった(Table 4, Table 5)。2015年4月の都内の公園からは、限られた数の幼虫しか採取できなかったが、ウイルスの垂直伝播も越冬の可能性も著しく低いと考えてよいと思われた。

都内の4つの公園(YP, SCP, MJ, NYC)の捕集蚊からはウイルス分離株が得られ、そのエンベロープ(E)遺伝子(約1,500塩基)の塩基配列を解析した結果、国内感染第一例目(GenBank Accession No. LC002828)を含む、都内で感染した患者由来のデングウイルス1型の遺伝子配列と99%以上の塩基配列同一性が認められた(結果は省略)。E領域の系統樹解析から、2014年国内流行株はデング1型の遺伝子型1型ウ

イルスであり、由来の異なる2つのウイルス(おそらく東南アジア由来と台湾由来)が国内で流行し、少なくとも東京都内では、同一のデングウイルスが流行していたと推察された(Fig. 4)。さらに、次世代シーケンサー(NGS)による配列解析を行い、11株のコード領域全長の配列(約10,000塩基)を決定した。それらの塩基配列を上述した国内感染者由来デングウイルスの配列と比較したところ、塩基置換が認められた株が5株、うちアミノ酸置換が生じたものが2株得られた。本結果から蚊体内でウイルス遺伝子に何らかの変異が起きている可能性が示唆された(Kobayashi and Murota et al., 2018)。

ヒトスジシマカのデングウイルス増殖能

ヒトスジシマカのデングウイルス媒介能を評価するために、デングウイルスを蚊に経口的に感染させた。ヒトスジシマカは、IKT系統(2010年川崎市生田地区で捕集)、EBN系統(2011年神奈川県海老名市で捕集)およびHCM系統(2012年ベトナム・ホーチミン市で捕集)を感染実験に用いた。ネッタイシマカ *Ae. aegypti* (L.) LBN系統は、2010年フィリピン・ロスバニョス市で捕集された雌成虫から採卵し、その後実験室内で維持された系統である。デングウイルス1型(DENV1)は、タイ・バンコク市からの帰国者の血清から分離された株(D1 11-120)、デングウイルス2型(DENV2)は、インドネシア・バリ島からの帰国者血清から分離された株(D2 11-122/1)である(いずれも国立感染症研究所ウイルス第1部から分与)。脱繊維血と混合した10⁵コピー/mLの力価

Fig. 4. Phylogenetic analysis of dengue virus (DENV1) sequences derived from *Ae. albopictus* collected in Tokyo Metropolis Japan, in 2014, among previously described strain/isolates of DENV1 based on the E gene sequences. Phylogenetic analysis was performed by maximum likelihood method based on the E gene of selected DENV1 strains including genotype I–V. The percentages of 1,000 bootstrap replication were indicated at the nodes. The DENV1 strains derived from *Ae. albopictus* in this study are indicated with closed circles. Moreover, six in Tokyo and one in Chiba from the patients of autochthonous dengue outbreak in Japan in 2014 are indicated with open circles. This figure was from Kobayashi and Murota et al. (2018).

Table 6. Susceptibility of foreign and domestic *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* to dengue virus infection. (data from Sasaki et al., 2015).

Species and strain	Dengue virus	Tissue		
		Salivary gland	Midgut	Carcass
<i>Aedes aegypti</i> LBN strain	Type 1	6	6	6
	Type 2	1	1	2
<i>Aedes albopictus</i> IKT strain	Type 1	6	6	6
	Type 2	2	6	6
EBN strain	Type 1	6	6	6
	Type 2	5	6	6
HCM strain	Type 1	6	6	6
	Type 2	4	6	6

6 >10,000 5 5,000–10,000 4 1,000–5,000 3 500–1,000 2 10–500 1 <10 (copies/tissue)

This table was modified from Sasaki et al. (2015).

のウイルス液を人工膜吸血法により経口的に蚊に摂取させ、その後、感染蚊をインキュベーター内で約20日間維持した。感染21–25日後にそれぞれ解剖し、SYBR Green法（Callahan JD et al. 変法）でデングウイルスRNAを検出し、免疫蛍光抗体法によりウイルスの局在を観察した（Sasaki et al., 2015）。

本邦産ヒトスジシマカ IKT 系統では、DENV1 の感染 21–25 日後の唾液腺、中腸、その他の組織から 10,000 コピー／組織（以下、組織当たりのコピー数として省略）以上が検出された（Table 6）。一方、DENV2 は唾液腺では 500 コピー以下しか検出されなかったが、中腸およびその他の組織においては 10,000 コピー以上が検出された。EBN 系統では、DENV1 は唾液腺、中腸、その他の組織において 10,000 コピー以上が検出され、DENV2 でも 5,000–10,000 コピーが唾液腺から検出された。ホーチミン HCM 系統は、DENV1 の感染 21 日から 23

日後に唾液腺、中腸、その他の組織において 10,000 コピー以上が検出されたが、DENV2 は、唾液腺において 1,000–5,000 コピー、中腸およびその他の組織においては 10,000 コピー以上が検出された。フィリピンで捕集されたネッタシマカ LBN 系統においても、DENV1 は唾液腺、中腸、その他の組織から 10,000 コピー以上が検出された。一方、DENV2 は、ネッタシマカ LBN 系統のいずれの組織においても 500 コピー以下しか検出されず、増殖しなかったと判定された。

本研究に用いた国内および外国産ヒトスジシマカでは DENV1 の高い増殖性が認められたが、一方で、DENV2 は、DENV1 に比べて増殖性が低く、特に LBN 系統ネッタシマカではその増殖は非常に低いレベルであった。ヒトスジシマカのデングウイルス感受性は系統によって感受性が異なることが示唆されたが、本研究に供した本邦産ヒトスジシマカに

Table 7. Mammalian hosts for *Aedes albopictus* and *Culex pipiens* group collected from the residential areas during the mosquito seasons of 2003–2007.

Mammalian species	<i>Ae. albopictus</i> ^b	<i>Cx. p. pallens</i>	<i>Cx. p. form molestus</i>
	No. (%)	No. (%)	No. (%)
Human (<i>Homo sapiens</i>)	75 (68.8)	29 (43.9)	19 (82.6)
Cat (<i>Felis catus</i>)	9 (8.3)	12 (18.2)	1 (4.3)
Dog (<i>Canis familiaris</i>)	0	15 (15.2)	1 (4.3)
House mouse (<i>Mus musculus</i>)	16 (14.7)	4 (6.1)	4 (6.0)
Brown rat (<i>Rattus norvegicus</i>)	0	1 (1.5)	1 (1.5)
Cow (<i>Bos taurus</i>)	9 (8.3)	1 (1.5)	1 (1.5)
Pig (<i>Sus scrofa</i>) ^a	0	1 (1.5)	1 (1.5)
Unidentifiable	0	8 (12.1)	2 (8.7)
Total mammalian	109 (100)	66 (100)	23 (100)

^a Pig includes wild boar; they were not identified from the sequence information available in the GenBank database.

^b Includes seven specimens which fed on two different mammalian and other species (2 fed on human and house mouse, 2 fed on human and cattle, 1 fed on house mouse and cattle, 1 fed on cat and house mouse and 1 fed on human and reptile).

Table 8. Avian hosts for *Aedes albopictus* and *Culex pipiens* group collected from the residential areas during the mosquito seasons of 2003–2007.

Avian species	<i>Ae. Albopictus</i>	<i>Cx. p. pallens</i>	<i>Cx. p. form molestus</i>
	No. (%)	No. (%)	No. (%)
Tree sparrow (<i>Passer montanus</i>) ^a	0	43 (51.8)	7 (30.4)
Ducks (<i>Anas spp.</i>) ^b	10 (76.9)	28 (33.7)	12 (52.2)
Great tit (<i>Parus major</i>)	0	2 (2.4)	1 (4.3)
Jungle crow (<i>Corvus macrorhynchos</i>)	0	2 ^c (2.4)	0
White-cheeked starling (<i>Sturnus cineraceus</i>)	0	1 (1.2)	0
Oriental greenfinch (<i>Carduelis sinica</i>)	0	1 (1.2)	0
Japanese white-eye (<i>Zosterops japonicus</i>)	0	1 (1.2)	0
Chinese little bittern (<i>Ixobrychus sinensis</i>)	0	1 (1.2)	0 (4.3)
Domestic canary (<i>Serinus canaria</i>)	0	1 (1.2)	0
Shrikes (<i>Lanius sp.</i>)	0	1 ^d (1.2)	0
Brown-eared bulbul (<i>Hypsipetes amaurotis</i>)	2 (15.4)	0	0
Unidentifiable	1 (7.7)	2 (2.4)	2 (8.7)
Total avian	13 (100)	83 (100)	23 (100)

^a Tree sparrow includes Russet sparrow (*P. rutilans*)

^b Ducks include spot-billed duck (*A. poecilorhynchos*), mallard (*A. platyrhynchos*) and domestic duck (*A. platyrhynchos* var. *domesticus*); they were not identified from the sequence information available in the GenBank database.

^c Jungle crow includes one specimen having 85% sequence identity.

^d One specimen of *Cx. p. pallens* showed 93% sequence identity to bull-headed shrike (*L. bucephalus*).

おいては、ある程度の増殖性が認められたと言える。さらに多くの系統を評価する必要があるが、少なくとも DENV1 に対しては、本邦産ヒトスジシマカの多くの集団は感受性であると推察された。本結果より、国内にデング熱が侵入した場合には、国内に分布するヒトスジシマカが媒介する小規模なアウトブレイクが起こる可能性は十分あることが示唆された。

ヒトスジシマカの吸血嗜好性と吸血源動物

2003 年から 2007 年にかけて、国内の主に住宅地で捕獲されたヒトスジシマカ 114 頭、アカイエカ種群 177 頭の吸血蚊を材料として吸血源動物の同定を行った。吸血蚊の体内に残っている動物由来血液の DNA を哺乳類検出用、鳥類検出用のそれぞれ特異的プライマー、および哺乳類・鳥類共通プライマーを用いて PCR を行い、ダイレクトシーケンスにより配列を決定した (Sawabe et al., 2010)。その結果、ヒトス

ジシマカはヒト *Homo sapiens* (Linnaeus)、ネコ *Felis silvestris catus* Linnaeus, 1758、ネズミ *Mus musculus molossinus* または *Rattus norvegicus* (Berkenhout)、カモ類 *Anas spp.* に加えてアカガエル属 *Rana sp.* やヒキガエル属 *Bufo sp.* から吸血していたことが明らかになった (Table 7, Table 8)。ヒトスジシマカは待ち伏せ型の吸血行動を示し、昼夜を問わず近づいて来た動物をえり好みせずに吸血源としているため、地上を徘徊する多様な動物が吸血源となっていると思われる。なお、首都圏で捕集されたヒトスジシマカは、検出された哺乳動物の血液の中でも特にヒトを吸血した割合が明らかに高かった (Table 7)。他方、アカイエカ群 *Culex pipiens* group は Kasai et al. (2008) のマルチプレックス PCR により、アカイエカ 134 頭、チカイエカ 41 頭、両者の交雑個体と思われる 2 頭に判別された。アカイエカとチカイエカはともに、哺乳類と鳥類をほぼ同数吸血しており、その嗜好性に有意な差は認められなかった (χ^2 test, $P>0.4$) (Fig. 5)。また、アカイエカは 17 種

Fig. 5. Blood-feeding patterns of a total of 706 mosquitoes of 23 species from eight genera. Mosquitoes blood-fed on avian blood (black bar), mammalian blood (gray bar) and others contains amphibians and reptiles (left hatched bar). The number in parentheses indicates the number of mosquitoes tested.

類の動物を利用したのに対し、チカイエカは11種類であったのは、活動範囲の広さによる差と思われる (Table 7, Table 8). 両種の主要な吸血源動物種は、鳥類ではスズメ *Passer montanus* Linnaeus とカモ類 (Table 7), ほ乳類ではヒト, ネコ, イヌ *Canis lupus familiaris* (Linnaeus, 1758) であり (Table 8), 両者の吸血嗜好に大きな差異はなかった.

上述したヒトスジシマカおよびアカイエカ種群を含む8属23種, 合計706頭の吸血嗜好性を比較した (Fig. 5). この中で鳥類を吸血していた蚊は、イエカ属の5種, ヒトスジシマカおよびシロオビカニアナチビカ *Uranotaenia ohamai* Tanaka, Mizusawa and Saugstat であった. 特にアカイエカ種群の3種 (アカイエカ, チカイエカ, ネットアイエカ *Cx. quinquefasciatus* Say) とイナトミシオカ *Cx. inatomi* Kamimura and Wada の鳥類嗜好性は高く, 哺乳類とほぼ同数に近かった. 調査した個体数は少なかったが, カラツイエカ *Cx. bitaeniorhynchus* Giles やシロオビカニアナチビカが両生・爬虫類を吸血しており, 上述したように, 低い割合ではあったがヒトスジシマカやセスジヤブカ *Ae. dorsalis* (Meigen), キンイロヤブカ *Ae. vexans nipponii* (Meigen), ネットアイエカにもその傾向が見られた.

これらの結果から, ヒトスジシマカはヒト吸血嗜好性が高いものの, その他多くの種類の動物も日和見的に吸血することから, デング熱等の感染症の流行は大規模にはなり難いと推察される. 一方でアカイエカ種群は鳥類と哺乳類 (主にヒト) を同程度に吸血し得ることから, ウエストナイルウイルスに代表される鳥類由来のウイルスを哺乳類に橋渡しするブリッジベクターとして貢献することが予想される.

媒介蚊の対策

著者らは, ウエストナイル熱の国内流行が懸念された2003年から全国的な蚊相調査を開始し, アカイエカ種群とヒトスジシマカをはじめ, 国内におけるウエストナイルウイルスの潜在的媒介蚊を約10種類選別し, それらを対象と

した媒介蚊対策ガイドラインを作成した (国立感染症研究所, 2003). さらに, チクングニア熱の世界的な大流行を受けて, 2009年11月にヒトスジシマカを対象を絞った対策ガイドラインを作成したが (国立感染症研究所, 2009), これまで, 国内の野外で殺虫剤を使用する事例はほとんどなかったことから, 具体的には幼虫発生源の撤去や成虫の潜み場所の清掃等の物理的対応に留めた. 2014年8月に約70年ぶりのデング熱国内感染例を経験することになったが, 推定感染地とされた場所のほとんどで殺虫剤が散布され (関ら, 2015; Tanikawa et al., 2015), 化学的防除が推奨される場面があることが自治体や国民の間で徐々に認識されるようになった. 事実, 2019年の沖縄県と京都府・奈良県で発生したデング熱の国内感染例 (沖縄県の症例は疑い例とされた) では, 各自治体によって推定感染地となった公園や民家周辺で殺虫剤による成虫駆除が実施された.

著者らは, 2014年4月に「デング熱媒介蚊対策に関するガイドライン(案)」を作成し, デング熱の国内流行をある程度予測して準備していたとは言え, 実際には, 推定感染地での媒介蚊対策に混乱が生じた現場があったことは経験不足の一言に尽きる. 推定感染地の多くでは主にエトフェンプロックスあるいはフェノトリンが散布され, 茂みの中に潜む成虫に対しては, 炭酸ガス製剤が使用されたが (関ら, 2015; Tanikawa et al., 2015), 散布後の効果判定で, 効果が低かった場所があったことが確認された. 著者らはそれ以降, 特に, 薬剤の種類と剤型, 薬剤の散布方法, 効果判定の方法に関して, 現在までに複数回の野外実地試験を実施し, 新たな情報を蓄積することに努めた. 試験した殺虫剤はすべて, 屋内で使用する上では十分な殺虫効果があると判断されるものであるが, 野外で使用する場合は, 散布場所の植生や地形, 風向や風速, 気温等の様々な環境条件を考慮して, 薬剤の種類と剤型を選び, かつ適切な機材と方法で散布することが不可欠であると結論した (Minagawa et al., in preparation). これらの結果と2014年の媒介蚊対策で得られた知見を加え, 2019年4

月に「デング熱・チクングニア熱・ジカウイルス感染症等の媒介蚊対策＜緊急時の対応マニュアル＞」（国立感染症研究所, 2019）を作成した。本マニュアルは、2015年に平常時の対応を中心にした「デング熱・チクングニア熱等蚊媒介感染症の対応・対策の手引き地方公共団体向け」（国立感染症研究所, 2015）の内容から、緊急時の媒介蚊対策に焦点を当てて解説し、さらに、近年、繰り返し国内に侵入しているネッタイシマカにも言及したものである。

おわりに

近年、節足動物が媒介する新興・再興感染症は世界各地で流行し、我が国においても、本稿で紹介したハエと蚊が媒介する感染症のみならず、様々な種類の感染症が発生している状況にある。このように、著者らはこれまでにいくつもの節足動物媒介感染症の流行に直面し、その都度適切な対策を実施するよう努めてきた。本稿で鳥インフルエンザとデング熱の国内感染例への対応を例に紹介したが、それ以外の節足動物媒介感染症への対応においても、まず感染症の流行地でベクターと思われる節足動物を採材することから始め、それから病原体を検出すると同時に、ベクター自身の生物学的特徴や野外での生態学的動態を調査し、理解することが効果的な対策に繋がると考えている。日本がすでにデング熱が毎年流行しても不思議ではない国と世界中が認識している現状を理解し、さらに今後も起きるであろう様々な節足動物感染症の国内発生に備えなければならない。

謝 辞

幸いにも私は、これら一連の研究が一貫して行える研究機関に所属し、身近にいる専門家の方々と協力して研究に携わる幸運に恵まれました。国立感染症研究所昆虫医科学部の方々と、実験の補助をしていただいた大学院生および学部学生諸君、関連の自治体担当者の方々と、ならびに所外の協力研究者の方々とご支援とご協力のおかげで、多少なりとも節足動物媒介感染症対策に貢献することができました。また、野外調査や野外実地試験を行うにあたり、国内外の協力研究者の方々と、公園・施設管理者ならびに自治体担当者の方々とご理解とご協力をいただいたことにも深く感謝いたします。個人のお名前は省略させていただきますが、ご協力いただいた関係者すべての方々にこの場をお借りして深くお礼申し上げます。最後に、これらの研究成果が、今後の節足動物媒介感染症対策の一助になれば大変うれしく思います。

文 献

安居院宣昭. 1998. 腸管出血性大腸菌O157保有ハエ類に関する全国調査. 病原体検出情報IASR, 19(6). [accessed December 26, 2019]. <http://idsc.nih.go.jp/iasr/19/220/dj2202.html>

Arima, Y., Matsui, T., Shimada, T., Ishikane, M., Kawabata, K., Sunagawa, T., Kinoshita, H., Takasaki, T., Tsuda, Y., Sawabe, K. and Oishi, K. 2014. Ongoing local transmission of dengue in Japan, August to September 2014. *Western Pac. Surveill. Response J.*, 5: 27–29.

Dalla Pozza, G. L., Romi, R. and Severini, C. 1994. Source and spread of *Aedes albopictus* in the Veneto region of Italy. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 10: 589–592.

George, C. M., Ahmed, S., Talukder, K. A., Azmi, I. J., Perin, J., Sack, R. B., Sack, D. A., Stine, O. C., Oldja, L., Shahnaïj, M.,

Chakraborty, S., Parvin, T., Bhuyian, S. I., Bouwer, E., Zhang, X., Hasan, T. N., Luna, S. J., Akter, F. and Faruque, A. S. 2015. *Shigella* Infections in household contacts of pediatric shigellosis patients in rural Bangladesh. *Emerg. Infect. Dis.*, 21: 2006–2013.

林 利彦, 澤辺京子. 2016. 岩手県における東日本大震災被災瓦礫集積場におけるハエ類発生調査 (2012年). 衛生動物, 67: 101–104.

Iwasa, M., Makino, S., Asakura, H., Kobori, H. and Morimoto, Y. 1999. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 from *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) at a cattle farm in Japan. *J. Med. Entomol.*, 36: 108–112.

Khamesipour, F., Lankarani, K. B., Honarvar, B. and Kwent, T. E. 2018. A systematic review of human pathogens carried by the housefly (*Musca domestica* L.). *BMC Public Health*, 18: 1049.

Kasai, S., Komagata, O., Tomita, T., Sawabe, K., Tsuda, Y., Kurahashi, H., Ishikawa, T., Motoki, M., Takahashi, T., Tanikawa, T., Yoshida, M., Shinjo, G., Hashimoto, T., Higa, Y. and Kobayashi, M. 2008. PCR-based identification of *Culex pipiens* complex collected in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 61: 184–191.

Kobayashi, M., Sasaki, T., Saito, N., Tamura, K., Suzuki, K., Watanabe, H. and Agui, N. 1999. Houseflies: not simple mechanical vectors of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 61: 625–629.

Kobayashi, D., Murota, K., Fujita, R., Itokawa, K., Kotaki, A., Moi, M. L., Ejiri, H., Maekawa, Y., Ogawa, K., Tsuda, Y., Sasaki, T., Kobayashi, M., Takasaki, T., Isawa, H. and Sawabe, K. 2018. Dengue virus infection in *Aedes albopictus* during the 2014 autochthonous dengue outbreak in Tokyo Metropolis, Japan. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 98: 1460–1468.

Kobayashi, M., Komagata, O., Yonejima, M., Maekawa, Y., Hirabayashi, K., Hayashi, T., Nihei, N., Yoshida, M., Tsuda, Y. and Sawabe, K. 2014. Retrospective search for dengue vector mosquito *Aedes albopictus* in areas visited by a German traveler who contracted dengue in Japan. *Int. J. Infect. Dis.*, 26: 135–137.

Komagata, O., Kasai, S., Kobayashi, M. and Tomita, T. 2007. Insecticide susceptibility of the blowfly, *Calliphora nigribarbis* Vollenhoven, collected in Yamaguchi Prefecture, Japan. *Med. Entomol. Zool.*, 57: 205–209.

倉橋 弘, 末永 敏. 1997. オオクロバエが秋期に大陸から日本へ飛来し、繁殖することを推測させる長崎での一観察. 衛生動物, 48: 55–58.

Kutsuna, S., Kato, Y., Moi, M. L., Kotaki, A., Ota, M., Shinohara, K., Kobayashi, T., Yamamoto, K., Fujiya, Y., Mawatari, M., Sato, T., Kunimatsu, J., Takeshita, N., Hayakawa, K., Kanagawa, S., Takasaki, T. and Ohmagari, N. 2015. Autochthonous dengue fever, Tokyo, Japan, 2014. *Emerg. Infect. Dis.*, 21: 517–520.

国立感染症研究所, 2003. ウエストナイル熱媒介蚊対策に関するガイドライン. [accessed January 6, 2020]. Available from: <https://www.niid.go.jp/niid/ja/wnv/1797-ent/2550-entwnv.html>

国立感染症研究所, 2009. チクングニア熱媒介蚊対策に関するガイドライン. [accessed January 6, 2020]. Available from: <https://www.niid.go.jp/niid/ja/chikungunya-m/1835-ent/2470-entguideline.html>

国立感染症研究所, 2015. デング熱・チクングニア熱等蚊媒介感染症の対応・対策の手引き地方公共団体向け. [accessed January 6, 2020]. Available from: <http://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouhappyou-10906000-Kenkoukyoku-Kekkakukansenshouka/270428.pdf>

国立感染症研究所, 2019. デング熱・チクングニア熱・ジカウイルス感染症等の媒介蚊対策＜急時の対応マニュアル＞. [accessed January 6, 2020]. Available from: <https://www.niid.go.jp/niid/ja/lab/478-ent/8757-2019-04-23-09-18-40.html>

Mase, M., Tsukamoto, K., Imada, T., Imai, K., Tanimura, N., Nakamura, K., Yamamoto, Y., Hitomi, T., Kira, T., Nakai, T., Kiso, M., Horimoto, T., Kawaoka, Y. and Yamaguchi, S. 2005. Characterization of H5N1 influenza A viruses isolated during the 2003–2004 influenza outbreaks in Japan. *Virology*, 332: 167–176.

- 岡部信彦. 2004. 鳥インフルエンザの流行, 2004年. 病原体検出情報IASR, 25(11). [accessed January 22, 2019]. <http://idsc.nih.go.jp/iasr/25/297/dj2976.html>
- Qureshi, T., Saeed, A. and Usmanghani, K. 2014. Report: prevalence of shigellosis in three different areas of Karachi. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 27: 381–388.
- Salamatian, I., Moshaverinia, A., Razmyar, J. and Ghaemi, M. 2019. *In vitro* Acquisition and Retention of Low-Pathogenic Avian Influenza H9N2 by *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *J. Med. Entomol.*, tjj175.
- Sasaki, T., Kobayashi, M. and Agui, N. 2000. Epidemiological potential of excretion and regurgitation by *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in the dissemination of *Escherichia coli* O157: H7 to food. *J. Med. Entomol.*, 37: 945–949.
- Sasaki, T., Higa, Y., Bertuso, A. G., Isawa, H., Takasaki, T., Minakawa, N. and Sawabe, K. 2015. Susceptibility of indigenous and transplanted mosquito spp. to dengue virus in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 68: 425–427.
- 佐々木年則, 星野啓太, 比嘉由紀子, 伊澤晴彦, 小林睦生, 沢辺京子. 2010. わが国の都市部における路上生活者より採取されたコロモジリミからの *Bartonella quintana* 検出. 病原体検出情報IASR, 31: 354–355.
- Sawabe, K., Isawa, H., Hoshino, K., Sasaki, T., Roychoudhury, S., Higa, Y., Kasai, S., Tsuda, Y., Nishiumi, I., Hisai, N., Hamao, S. and Kobayashi, M. 2010. Host-feeding habits of *Culex pipiens* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) collected at the urban and suburban residential areas of Japan. *J. Med. Entomol.*, 47: 442–450.
- Sawabe, K., Hoshino, K., Isawa, H., Sasaki, T., Hayashi, T., Tsuda, Y., Kurahashi, H., Tanabayashi, K., Hotta, A., Saito, T., Yamada, A. and Kobayashi, M. 2006. Detection and isolation of highly pathogenic H5N1 avian influenza A viruses from blow flies collected in the vicinity of an infected poultry farm in Kyoto, Japan, 2004. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 75: 327–332.
- Sawabe, K., Tanabayashi, K., Hotta, A., Isawa, H., Sasaki, T., Yamada, A., Kurahashi, H., Shudo, C. and Kobayashi, M. 2009. Survival of avian H5N1 influenza A viruses in *Calliphora nigrivarbis* (Diptera: Calliphoridae). *J. Med. Entomol.*, 46: 852–855.
- Sawabe, K., Hoshino, K., Isawa, H., Sasaki, T., Kim, K. S., Hayashi, T., Tsuda, Y., Kurahashi, H. and Kobayashi, M. 2011. Blow flies were likely candidates for transmission of highly pathogenic H5N1 avian influenza virus during the 2004 outbreaks in Japan. *Influenza Res. Treat.*, 2011: 652652.
- 沢辺京子, 前川芳秀, 小林睦生, 山内 繁, 長島 渡, 奥山弘幸. 2018. 2017年青森県および北海道南部で実施したヒトスジシマカ生息調査. 衛生動物, 69, Supplement: 45.
- 沢辺京子, 葛西真治, 富田隆史, 佐々木年則, 小林睦生. 2010. 日本と諸外国のアタマジラミにおける *Bartonella quintana* 遺伝子保有状況. 病原体検出情報IASR, 31: 355–357.
- Schmidt-Chanasit, J., Emmerich, P., Tappe, D., Gunther, S., Schmidt, S., Wolff, D., Hentschel, K., Sagebiel, D., Schoneberg, I., Stark, K. and Frank, C. 2014. Autochthonous dengue virus infection in Japan imported into Germany. September 2013. *Euro Surveill.*, 19: 20681.
- 関 なおみ, 岩下裕子, 本 涼子, 神谷信行, 栗田雅行, 田原なるみ, 長谷川道弥, 新開敬行, 林 志直, 貞升健志, 甲斐明美, 中島由紀子, 渡瀬博俊, 上田 隆, 前田秀雄, 小林一司, 石崎泰江, 広松恭子. 2015. 東京都におけるデング熱国内感染事例の発生について. 日本公衛誌, 62: 238–249.
- Subbarao, K., Klimov, A., Katz, J., Regnery, H., Lim, W., Hall, H., Perdue, M., Swayne, D., Bender, C., Huang, J., Hemphill, M., Rowe, T., Shaw, M., Xu, X., Fukuda, K. and Cox, N. 1998. Characterization of an avian influenza A (H5N1) virus isolated from a child with a fatal respiratory illness. *Science*, 279: 393–396.
- Springer, D. and Wuithiranyagool, T. 1986. The discovery and distribution of *Aedes albopictus* in Harris County, Texas. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 2: 217–219.
- 田原雄一郎, 菅野格朗, 川端健人, 石川善大, 田中康次郎, 平尾素一, 公文堅一, 渡辺 護. 2012. 東北被災地におけるハエ類の大発生とその防除. 衛生動物, 63: 71–83.
- Takahashi, T., Maeda, K., Suzuki, T., Ishido, A., Shigeoka, T., Tominaga, T., Kamei, T., Honda, M., Ninomiya, D., Sakai, T., Senba, T., Kaneyuki, S., Sakaguchi, S., Satoh, A., Hosokawa, T., Kawabe, Y., Kurihara, S., Izumikawa, K., Kohno, S., Azuma, T., Suemori, K., Yasukawa, M., Mizutani, T., Omatsu, T., Katayama, Y., Miyahara, M., Ijuin, M., Doi, K., Okuda, M., Umeki, K., Saito, T., Fukushima, K., Nakajima, K., Yoshikawa, T., Tani, H., Fukushi, S., Fukuma, A., Ogata, M., Shimojima, M., Nakajima, N., Nagata, N., Katano, H., Fukumoto, H., Sato, Y., Hasegawa, H., Yamagishi, T., Oishi, K., Kurane, I., Morikawa, S. and Saijo, M. 2014. The first identification and retrospective study of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome in Japan. *J. Infect. Dis.*, 209: 816–827.
- Takashima, I., Morita, K., Chiba, M., Hayasaka, D., Sato, T., Takezawa, C., Igarashi, A., Kariwa, H., Yoshimatsu, K., Arikawa, J. and Hashimoto, N. 1997. A case of tick-borne encephalitis in Japan and isolation of the virus. *J. Clin. Microbiol.*, 35: 1943–1947.
- Tanaka, K., Mizusawa, K. and Saugstad, E. S. 1979. A revision of the adult and larval mosquitoes of Japan (including the Ryukyu Archipelago and the Ogasawara Islands) and Korea (Diptera: Culicidae). *Contrib. Am. Entomol. Inst.*, 16: 1–97.
- Tanikawa, T., Yamauchi, M., Ishihara, S., Tomioka, Y., Kimura, G., Tanaka, K., Suzuki, S., Komagata, O., Tsuda, Y. and Sawabe, K. 2015. Operation note on dengue vector control against *Aedes albopictus* in Chiba City, Japan, where an autochthonous dengue case was confirmed in September 2014. *Med. Entomol. Zool.*, 61: 31–33.
- Tsuda, Y., Hayashi, T., Higa, Y., Hoshino, K., Kasai, S., Tomita, T., Kurahashi, H. and Kobayashi, M. 2009. Dispersal of a blow fly, *Calliphora nigrivarbis*, in relation to the dissemination of highly pathogenic avian influenza virus. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 62: 294–297.
- Tsuda, Y., Maekawa, Y., Ogawa, K., Itokawa, K., Komagata, O., Sasaki, T., Isawa, H., Tomita, T. and Sawabe, K. 2016. Biting density and distribution of *Aedes albopictus* during the September 2014 outbreak of dengue fever in Yoyogi Park and the vicinity in Tokyo Metropolis, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 69: 1–5.
- 富田隆史, 小林睦生. 2007. 高病原性鳥インフルエンザとクロバエとの関わり③ 鶏の研究, 木香書房, 967: 36–39.
- World Health Organization. 2019. Fact sheet, Dengue and severe dengue [accessed November 4, 2019]. Available from: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
- Yuen, K. Y., Chan, P. K., Peiris, M., Tsang, D. N., Que, T. L., Shortridge, K. F., Cheung, P. T., To, W. K., Ho, E. T., Sung, R. and Cheng, A. F. 1998. Clinical features and rapid viral diagnosis of human disease associated with avian influenza A H5N1 virus. *Lancet*, 351: 467–471.