

1 1. 昆虫医科学部

部長 澤邊 京子

概 要

昆虫医科学部は、疾病媒介動物を対象とする基礎的調査および研究に加え、実際の防除対策に寄与する情報の提供、講義、技術研修等による社会への貢献に努めている。平成27年度は、前年に約70年ぶりのデング熱国内流行を経験したことから、地方自治体および関連機関に向けて、媒介蚊の基礎知識ならびに蚊対策に関する技術指導を行い、「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」および「デング熱・チクングニア熱の診療ガイドライン」を改訂し、今後の国内流行の発生に備えた。ジカウイルス感染症の流行は中南米から北米へと拡大しており、国内における輸入症例も増えてきている。ジカウイルス感染症に対する国内対応も求められるようになったことから、ブラジルの流行地を視察し、研究・技術支援および共同研究課題を検討した。また、視察訪問した各地では、現地在留邦人に向けた「健康安全講和」を行った。昨年度中に作製したセアカゴケグモ粗毒素から6千本(500U)のウマ免疫抗毒素が作製され、製剤化に向け準備が進んでいる。各室の研究・業務の概要は以下のとおりである。

第一室においては、デング熱、日本脳炎、重症熱性血小板減少症候群(SFTS)等各種ベクターの基礎的情報の収集に努めた。ヒトスジシマカ対策のためにモデル地区を複数設定し、成虫・幼虫の分布調査を定期的に行った。調査地の類型毎にリスク評価を行い、必要な蚊対策を自治体および施設管理者に助言した。住宅街においてマク虫放逐・再捕獲実験を行い、ヒトスジシマカおよびオオクロヤブカの移動距離を推定した。蚊およびマダニの全国調査を継続し、国内に生息する個体の標本およびDNAバーコーディングにより整理した。現在までに蚊約110種類のうち45種類の整理を終え学会誌等で報告した。SFTSは平成25年1月に国内で初めて死亡例が報告されたが、その後も患者数は増加している。マダニの国内分布調査を継続し、ヒトへの感染リスクを評価した。

第二室においては、国内でのアルボウイルスの活動状況を把握し、外来性病原体の国内侵入に備えるために、主に蚊およびマダニを対象として、それら節足動物から

の病原体の検出および分離技術の向上に努め、分離病原体の遺伝的解析を行った。平成26年に長崎県の定点で捕集したコガタアカイエカから日本脳炎ウイルスを、同年デング熱流行時に東京都内の公園で捕集したヒトスジシマカから複数のデングウイルスを分離した。次世代シーケンサーを用いた解析により、国内の蚊およびマダニ、フィリピンの蚊からそれぞれ新規のウイルスを複数種発見することができた。また、蚊へのウイルス感染実験から、蚊の唾液腺におけるRNA干渉経路が蚊のウイルス感受性に関与していることを明らかにした。SFTSウイルスのヒトへの感染経路を探るためにはマダニの自然生態を解明する必要があると考え、Reverse Line Blot法によるマダニからの吸血源動物の遺伝子検出系を確立した。

第三室においては、化学防除の安全性と効果に関する啓発、実用的防除法の地方自治体への技術移転、殺虫剤抵抗性の発達状況の調査等を迅速に行う体制の構築に努めた。デング熱媒介蚊であるネッタイシマカのピレスロイド系殺虫剤抵抗性に関与すると推察されるシトクロムP450 *CYP6BB2*の遺伝子をゲノム編集技術によりノックアウトし、本遺伝子の過剰発現が抵抗性を誘導していることを証明した。一方でネッタイイエカを用いてノックイン効率を検証したが、ナトリウムチャンネルを直接標的にした場合、遺伝子が破壊され処理個体が死亡する可能性が高いことが判明した。また、国内のヒトスジシマカ集団はすべて殺虫剤感受性であり殺虫剤の効力が維持されていること、沖縄県のアタマジラミの95%は抵抗性であり殺虫効果が期待できないことが明らかになった。

人事面では、当該部の定員7名に加え、任期付研究員として前川芳秀、再任用職員として小林睦生、津田良夫、AMEDリサーチレジデントとして糸川健太郎、藤田龍介、研究生として小林大介(医科歯科大院)、佐藤智美(明治大院)、実習生として益子玲於奈、角田ひかり(明治大)、臨時職員として石川久仁子、古城一美、皆川こごみ、客員研究員9名、協力研究員17名により研究・業務を推進した。また、平成27年3月をもって小川浩平研究員が任期終了で退所し、4月には第三室の葛西真治主任研究官がコーネル大学の留学から復帰した。

業 績

調査・研究

I. 衛生昆虫の分布に関する調査・研究, および媒介生態に関する研究

(1) 岡山県におけるデング熱媒介蚊の発生状況調査

岡山市内の県の施設と住宅地を対象にして, ヒトスジシマカ成虫の生息密度と主要な幼虫発生源を明らかにするために, 2015年5月から9月に生息状況調査を実施した。成虫の生息密度は5月から7月に増加し, 7月あるいは8月に最高密度3.7~6.7雌/8分に達した。県施設における幼虫の主要発生源として, 主に雨水マスを対象にした調査を実施した。成虫の分布と幼虫が発生していた雨水マスの分布を比較したところ, 幼虫発生が確認された場所は数が少なく局所的であり, 調査地全体の成虫の分布と密度を説明するためには不十分と考えられた。各調査地における主要な幼虫発生場所を特定するにはより広範囲な調査を実施する必要があると思われる。

[津田良夫, 前川芳秀, 葛西真治, 澤邊京子; 皆川恵子, 数間 亨 (日本環境衛生センター); 山内健生 (兵庫県立大)]

(2) 岡山県蒜山高原における蚊類の生息調査

岡山県真庭市にある鳥取大学農学部附属フィールドサイエンスセンター教育研究林「蒜山の森」(標高560~870m)で生息する蚊類の種類相を調査した。2015年7月と8月にドライアイス誘引源としたトラップによって, 以下の6種類が採集された。カラツイエカ, クシヒゲカ, シロカタヤブカ, ハマダライエカ, ミスジシマカ, コガタアカイエカ。また, 湿地や地表の水溜り, 樹洞を対象とした幼虫採集によって, キョウトクシヒゲカ, ヤマトハマダラカ, ブナノキヤブカが採集された。この調査地ではカラツイエカが優占種であることやミスジシマカやブナノキヤブカのように冷涼地に生息する種類が採集されるなど, 独特の蚊相であることが示唆された。

[津田良夫; 金 京純 (鳥取大)]

(3) 明治神宮における蚊類の生息調査

明治神宮の森(神宮の森)は造成されてから約100年の歴史があり, この間に植物群落の遷移が進行し, 現在は樹種豊かな森が形成され東京都内に存在する非常に貴重な森(緑地)となっている。神宮の森には蚊の発生源

となりうる種々の水域が存在しており, 吸血源となる動物も生息していることから, 明治神宮の協力の下に, 神宮の森に生息している蚊類の調査を実施した。その結果, 以下の10種類の蚊が生息していることが分かった。ヒトスジシマカ, キンパラナガハシカ, ヤマダシマカ, シロカタヤブカ, アカイエカ, ハマダラナガスネカ, トラフカクイカ, ヤマトクシヒゲカ, オオクロヤブカ, コガタアカイエカ。

[津田良夫, 前川芳秀, 葛西真治]

(4) 住宅街におけるヒトスジシマカの移動分散に関する研究 (2)

住宅街の中に5つの緑地が存在する調査地で, 胸部背面に異なる色素でマークした蚊を放逐して, 蚊の移動分散の様子を調査した。5つの緑地で採集しマークしたヒトスジシマカ合計196個体, オオクロヤブカ合計51個体を5つの緑地から放逐した。放逐後5日間再捕獲を行い, ヒトスジシマカ32.1%(63個体), オオクロヤブカ15.7%(8個体)が再捕獲された。再捕獲されたヒトスジシマカ63個体のうち放逐場所と異なる場所で捕獲されたのは3個体(4.8%)で, オオクロヤブカは2個体(25%)が放逐場所以外で捕獲された。

[津田良夫, 前川芳秀, 糸川健太郎, 葛西真治; 木村悟朗 (イカリ消毒)]

(5) 無弁翅ハエ類の分類学および分布に関する研究

日本産フンコバエ科のマルガタフンコバエ属(Genus *Eximilimosina*)について調べた。日本には2種が確認され, そのうち1種は未記載種であった。本属は日本から従来記録されていない属であり, また, 旧北区からも初めて記録される属であった。

[林 利彦]

(6) シカシラミバエ類の国内分布に関する調査

日本からシカシラミバエ類は3種が知られている。これらはいずれもシカに外部寄生するが, その分布に関しては断片的な情報のみが報告されてきた。狩猟によって得られたシカの体表に寄生していたシカシラミバエ類を採集してもらい, それらを同定した。最も普通に見られたのはヒメシカシラミバエで, ほとんど全国的に分布していた。クロシカシラミバエは本州のみで見られ, その分布は局地的であった。ニッポンシカシラミバエは現在

までに数個体が知られるだけの珍しい種であるが、本州高標高地帯で得られたシカにいくつか発見され、寄生が確認されたシカ個体には複数個体が寄生していた。本種は原記載ではニホンカモシカから採取されたとされていたが、ニホンジカが本来の宿主であることが確認できた。
[林 利彦]

(7) 日本国内における疾病媒介蚊調査と日本産蚊の DNA バーコードの整備

これまでの調査で得られた日本産蚊の標本を用いて、COI 遺伝子情報 (650bp) の整備を試み、19 種と既に登録のある 26 種の合計 45 種 240 個体の遺伝子情報を GenBank に登録した。雌成虫では形態学的な種同定が難しいとされていた分類群、特に北方系ヤブカの *punctor subgroup* とクシヒゲカ亜属の種に関しては、DNA バーコーディングより得られた情報に基づいた系統解析に加え、解析によって得られた複数の集団間での比較形態学的検討を行い、5 種類 (ヤマトハマダラカ、コガタクロウスカ、キョウトクシヒゲカ、エゾヤブカ、トワダオオカ) で遺伝的に異なる 2 つの集団の存在が示唆された。

[前川芳秀, 津田良夫, 小川浩平, 林 利彦, 澤邊京子]

(8) 九州北方におけるアジア型コガタアカイエカの生息調査

日本脳炎ウイルス (JEV) 媒介蚊の海外よりの飛来と定着を検討するために、韓国と九州との中間に位置する長崎県対馬市北部で毎月コガタアカイエカの発生調査を行い、得られた個体のミトコンドリア遺伝子を確認し、海外由来の個体の混入を確認した。その結果、少なくとも 5 月初旬には アジア型個体が混在することが判明したが、6 月以前に海外より飛来しているのか、すでにアジア型個体が定着しているのかについては結論づけるだけの情報は得られなかった。

[澤邊京子, 前川芳秀, 津田良夫; 今西 望 (長崎大院); 小林大介 (医科歯科大)]

II. 衛生昆虫類の病原体の分離と検出, および媒介生理に関する基礎的研究

(1) 2014 年に国内で捕集されたコガタアカイエカの日本脳炎ウイルス保有状況調査

国内における日本脳炎媒介蚊の日本脳炎ウイルス (JEV) 保有状況を調査するため、2014 年夏季に長崎県

内の畜舎で捕集されたコガタアカイエカ (1,000 頭, 40 プール検体) からウイルス分離を試みた。その結果、5 プールから JEV I 型が分離された。

[藤田龍介, 伊澤晴彦, 前川芳秀, 糸川健太郎, 佐々木年則, 津田良夫, 小林睦生, 澤邊京子; 高崎智彦 (ウイルス第一部); 小林大介 (医科歯科大); 江尻寛子 (防衛医大); 楯田龍星 (山口大); 今西 望 (長崎大院); 砂原俊彦, 二見恭子, 皆川 昇 (長崎大熱研); 松本文昭, 吉川 亮, 吾郷昌信 (長崎県環境保健研究センター)]

(2) 野外捕集蚊からのデングウイルス検出ならびに分離

2014 年 8 月から 9 月にかけて都内公園各所でヒトスジシマカの捕集を行い、RT-PCR によりデングウイルス (DENV) 保有状況を調査した。また、これと同時に培養細胞を用いてウイルス分離を試みた。その結果、複数検体から DENV1 遺伝子が検出され、それらのエンベロープ遺伝子の塩基配列は国内発生第一例のヒト検体由来 DENV の配列と一致した。さらにウイルス遺伝子が検出された一部検体において DENV の分離にも成功した。

[小林大介 (医科歯科大); 伊澤晴彦, 津田良夫, 前川芳秀, 佐々木年則, 小林睦生, 澤邊京子; モイメンリン, 小滝 徹, 高崎智彦 (ウイルス第一部); 江尻寛子 (防衛医大); 佐藤智美 (明治大院); 太田伸生 (医科歯科大)]

(3) 疾病媒介節足動物から分離されたウイルスの迅速同定システムの開発

疾病媒介節足動物から分離されたウイルスについて、ウイルスの大量培養や精製をすることなくウイルス核酸を選択的に回収し、これを次世代シーケンサーで解析することにより、迅速かつ網羅的に分離ウイルスゲノムの配列情報を得ることのできる解析系を構築した。未同定分離検体において本法を適用し、その有用性を検討した。

[小林大介 (医科歯科大); 伊澤晴彦, 藤田龍介, 佐々木年則, 小林睦生, 澤邊京子; 江尻寛子 (防衛医大); 水谷哲也 (農工大); 比嘉由紀子 (長崎大熱研); Bertuso A.G. (フィリピン大マニラ校); 太田伸生 (医科歯科大)]

(4) フィリピンで捕集された蚊から分離された未知ウイルスの性状解析

フィリピンのブラカン州において捕集された蚊より分離されたウイルス 2 種について純化を行い、全ゲノム配列を決定した。その結果、ニセシロハシイエカ由来検体

より分離されたウイルスは *Negev virus* であることが判明した。また、ヌマカ属蚊より分離されたウイルスは *Negevirus* グループに属すると考えられる新規の 1 本鎖 RNA ウイルスであることが判明した。ゲノム配列解析の結果、本ウイルスは約 8kb のゲノム中に 3 つの遺伝子をコードしていることが明らかとなった。

[藤田龍介, 伊澤晴彦, 澤邊京子; 楯田龍星 (山口大); 小林大介 (医科歯科大); Bertuso A.G. (フィリピン大マニラ校)]

(5) 日本国内におけるマダニ類のアルボウイルス保有状況調査と分離ウイルスの性状解析

国内に生息するマダニ類の分布と病原アルボウイルスの保有状況を明らかにし、ヒトへの感染リスクを把握することを目的として、日本各地でマダニ類を捕集しウイルス分離を試みた。これまでの結果、接種した脊椎動物細胞に対し、細胞変性効果を示すマダニ検体が多数見出されている。現在、これら分離ウイルスについて詳細な性状解析を進めている。

[藤田龍介, 伊澤晴彦, 佐々木年則, 小林睦生, 澤邊京子; 林 昌宏, 山口幸恵, 伊藤睦代, 西條政幸 (ウイルス第一部); 小林大介 (医科歯科大); 江尻寛子 (防衛医大); 楯田龍星 (山口大); 水谷哲也 (農工大)]

(6) 国内外から採取されたヒトスジシマカにおけるデングウイルス媒介能の評価

2014 年我が国でアウトブレイクしたデング熱の病原ウイルスであるデングウイルスについて、国内外の各種蚊系統を用いてウイルス媒介能の評価を行った。今回、経口感染による蚊のウイルス媒介能の評価系を確立して検討したところ、国内のヒトスジシマカ系統が高いデングウイルス媒介能を有する結果を得た。この結果から、今回のデング熱国内流行の背景と拡大要因について分析し考察した。

[佐々木年則, 伊澤晴彦, 澤邊京子; 高崎智彦 (ウイルス第一部); 比嘉由紀子, 皆川 昇 (長崎大熱研); Bertuso A.G. (フィリピン大マニラ校)]

(7) ネットアイシマカにおける日本脳炎ウイルス非感受性機構の解析

ネットアイシマカにおけるデングウイルスに対する非感受性機構として 3 つの経路が知られている。そこで、ネットアイシマカが、日本脳炎ウイルスに対して非感受性であり

そのメカニズムを明らかにすることにした。その結果、ネットアイシマカの唾液腺における RNA 干渉経路が重要であることが明らかになった。

[佐々木年則, 伊澤晴彦, 澤邊京子, 小林睦生; 楯田龍星 (山口大); 星野啓太 (農工大)]

(8) 環境の異なる 2 地点のマダニ相および動物相の関係

マダニは日本紅斑熱やライム病などの病原体を媒介することで知られているが、マダニの生態や野生動物との相互関係については詳しく分かっていない。本研究では、マダニの自然生態を解明するため、環境の異なる 2 地点においてフランネル法によるマダニ相調査を行った。さらに、マダニが自然界において実際にどのような動物から吸血しているかを明らかにするため、Reverse Line Blot 法を用いた吸血源動物種の同定を試みた。これらの結果からマダニ相および動物相の関係について考察を行った。

[佐藤智美 (明治大院); 林 利彦, 伊澤晴彦, 澤邊京子; 糸山 享 (明治大)]

III. 衛生害虫の殺虫剤抵抗性のモニタリング, 遺伝学的・分子生物学的解析

(1) ゲノム編集技術を用いたネットアイシマカの解毒抵抗性機構の解明

マイクロアレイ解析および QTL 解析の結果、ネットアイシマカ SP 系統のピレスロイド抵抗性への関与が示唆されたシトクロム P450, *CYP6BB2* の遺伝子を CRISPR/Cas9 システムによってノックアウト (KO) し、ピレスロイド代謝への関与の有無を調べた。KO された *CYP6BB2* の遺伝子頻度が約 50% となる集団を作出し、ペルメトリンの *in vivo* 代謝試験を行ったところ、KO された遺伝子をホモ接合体として有する個体の代謝率が非 KO 遺伝子ホモの集団に比べて約 7 ポイント低く、多重統計解析によって有意な差が認められた。これにより、*CYP6BB2* 遺伝子の過剰発現が SP 系統のペルメトリン代謝活性を高め、結果として抵抗性をもたらしめていることが証明された。

[葛西真治, 小川浩平, 糸川健太郎, 駒形 修, 富田隆史]

(2) デング熱媒介蚊のピレスロイド抵抗性に関わる新規突然変異遺伝子の探索

ベトナム国立衛生疫学研究所 (NIHE) を訪問し、今後 3 年間にわたる共同研究の計画・打ち合わせを行うとともに、デング熱流行地においてヒトスジシマカおよびネ

ツタイシマカ幼虫を採集した。殺虫剤感受性系統に対する LD₉₉ および LD₉₉×10 のペルメトリン薬量を中部産ネツタイシマカに処理したところ、LD₉₉ では死亡率がわずかに1%で、その10倍の薬量でも半数が生き残った。LD₉₉×10 に用いた80個体すべてについてピレスロイド剤の作用点ナトリウムチャンネル遺伝子の解析を行ったところ、生存個体から既知のアミノ酸変異がほとんど見つからなかった。これらのことから、未知の突然変異がこの国のネツタイシマカの強い殺虫剤抵抗性をもたらしている可能性が示唆された。

[葛西真治, 駒形 修, 糸川健太郎, 前川芳秀, 澤邊京子, 富田隆史; 角田 隆 (長崎大熱研)]

(3) ネツタイシマカ卵への顕微注入 (microinjection) 法の最適化

これまで我々が行っていたイエカ卵への顕微注入法では、ネツタイシマカ卵に対して顕微注入を行う上でいくつか問題が有ることが分かった。ネツタイシマカ卵では、表面構造の違いのためか産下直後の卵では両面テープの粘着面に付着せず固定ができなかった。そこで、両面テープへの固定を30分ほど遅らせ、卵が伸長し卵殻の硬化がある程度進んだ段階で行うことでこの問題がいくらか改善されることが分かった。また乾燥防止に用いる液体は水溶性のカルボキシメチルセルロース水溶液よりも、油性のハロカーボンオイルを用いるほうが卵の固定が安定することもわかった。

[糸川健太郎, 葛西真治, 駒形 修, 富田隆史]

(4) ノックイン効率の検証

ネツタイイエカの遺伝子に対して既に高効率で変異を導入することが分かっている CRISPR/Cas9 システムの gRNA を用いてノックイン効率の検証を行った。オリゴヌクレオチドを修復用鋳型として切断個所に6bpの標識配列を導入したが、鋳型による修復が行われない変異(ノックアウト)が鋳型によって修復される変異(ノックイン)を大きく上回る頻度で起きていた。したがってナトリウムチャンネルのような生存に必須の遺伝子のコード領域を直接標的にした場合、遺伝子の破壊によって第一世代で個体が死亡する恐れがあることが分かった。

[糸川健太郎, 葛西真治, 駒形 修, 富田隆史]

(5) ネツタイシマカのピレスロイド低感受性作用点変異

の分子ジェノタイプング法の開発 (2)

ネツタイシマカの電位依存性ナトリウムチャンネルの5アミノ酸座位の殺虫剤抵抗性関連変異(計7置換変異)を座位ごとに検出するための Universal QProbe 法 (PCR産物と蛍光消光 DNA プローブを用いる融解曲線解析法) について、野生型配列プローブに加え、今年度は一つの変異型配列プローブを併用することによりヘテロ接合体検出精度を上げる改良を行った。改良法を2014年台湾高雄採集に由来する蚊コロニーに適用し、台湾で初検出となる2つの変異 (S989P, V1016G) を含む合わせて4つの変異を検出できた。

[富田隆史, 駒形 修, 糸川健太郎, 葛西真治; 陳 典煌, 鄧 華真 (台湾 CDC)]

(6) 国内のヒトスジシマカ集団の殺虫剤感受性

首都圏を中心とした日本国内でヒトスジシマカを採集し、これらの集団の3種の幼虫用殺虫剤と3種の成虫用殺虫剤に対する薬剤感受性を調べた。実験に先立ち、感受性系統 HKM を用いて6種の殺虫剤に対する感受性レベルを求め、LD₉₉ (成虫) もしくは LC₉₉ (幼虫) 値を算出した。野外採集蚊に対し LD₉₉ (もしくは LC₉₉) およびその10倍の薬量を処理し、死亡率もしくは羽化率を求めた。その結果、いずれの集団もすべての殺虫剤に高い感受性を示すことが明らかになった。供試した蚊集団の中には過去10年以上にわたって幼若ホルモン様殺虫剤が使用された地域も複数含まれていたが、いずれも高い感受性を示し、依然として殺虫剤の効力が維持されていることが示された。

[葛西真治, 富田隆史, 駒形 修, 津田良夫, 前川芳秀; 矢口 昇 (池袋保健所)]

(7) ヒトスジシマカの VGSC 全コード領域配列の決定

ヒトスジシマカの約6kbの電位依存性ナトリウムチャンネルの全コード領域配列を幼虫 RNA の RNA-seq 解析に基づき初めて決定した。殺虫剤感受性系統 HKM のコード領域には、恒常的に含まれる27のエクソン配列、ならびに翻訳枠を保つことのできる2対の相互排他的エクソン(4つ)とオプシオン (cassette exon, intron retention, alternative 5'/3' splice sites) により生じる12のコード配列が含まれていた。

[富田隆史, 糸川健太郎, 駒形 修, 葛西真治]

(8) アタマジラミのピレスロイド抵抗性の全国調査

2011-5年に16都道府県で収集したアタマジラミ（コロニー数 $N=90$ ）を検体とし、ピレスロイド作用点である電位依存性ナトリウムチャンネルの殺虫剤感受性低下の原因変異であるL929IとT932Fの変異に関する遺伝子型をQProbe法で判定した。沖縄県の検体における二重変異遺伝子を保有するコロニー率は95%で、沖縄県を除く医療施設・保健所より提供された検体における4%に比べ高低相反する変異遺伝子保有率が示されたが、2006-10年に実施した同様な調査（ $N=151$ ）の結果と比較して、沖縄県内外それぞれの抵抗性コロニー率に顕著な増減はなかった。

[富田隆史, 葛西真治, 駒形 修; 石井則久 (ハンセン病研究センター)]

(9) トコジラミアセチルコリンエステラーゼ (AChE) の大腸菌による発現システムの構築

大腸菌を用いたトコジラミ AChE の発現を試みた。発現は可溶性タグである FATT タグ融合タンパクとし、コールドショックプロモータを用いて、発現させた。培養後、界面活性剤処理により抽出した後、陰イオン交換カラムで精製し、粗抽出画分とした。AChE の活性の測定は、常法である Ellman らの方法と、発光による Birman らの方法を改良して行った。大腸菌で AChE は発現したが、その収量は少なく、培養および精製条件に関しては更なる検討が必要であった。

[駒形 修, 糸川健太郎, 葛西真治, 富田隆史; 益子玲於奈, 糸山 享 (明治大)]

IV. その他

(1) 環境最適化を目指した媒介蚊対策への取り組み

デング熱が国内で流行する可能性は今後も高いとされており、平常時から媒介蚊の少ない衛生的な環境作りを目指す必要がある。そこで、岡山県下にモデル地域（学校、空港、大規模公園、複合施設、地域住宅地など）を8か所設定し、デング熱媒介蚊対策を実施するための基礎調査を計画した。蚊成虫および幼虫の密度調査は、2015年5月から10月まで、毎月1回実施した。原則として、調査地はそれぞれ25 m²あるいは50 m²の区画に分け、その区画内の少なくとも1地点で8分間人囲法により成虫を捕集した。同じ区画内で幼虫発生源の有無を確認し、柄杓による幼虫採取を行った。これらの結果を評価し、次年度の調査および媒介蚊対策を検討した。

[澤邊京子, 津田良夫, 前川芳秀, 葛西真治; 皆川恵子, 数間 享 (日本環境衛生センター); 山内健生 (兵庫県立大); 芦田顕彦, 兼信定夫 (岡山県)]

(2) 抗毒素の品質管理及び抗毒素を使用した治療法に関する研究

昨年度中に、大阪府内と西宮市近郊で捕獲されたセアカゴケグモ約1万個体から毒腺を摘出し、粗精製し1ロット化した粗毒素（タンパク量は約236 mgと算出）を化学及血清療法研究所に送付した。その後、ウマへの免疫が行われ、平成27年度中に試作品（力価500U/dose）約6,000本が製造された。その間に行われたクモ粗毒素はタンパク質量を基準とした場合、品質上均一であり、長期間毒性を保持できることが明らかになった。また、本粗毒素のマウスに対する毒性試験の結果、4週齢 ddY メスマウスに対する LD₅₀ は、タンパク質量に換算して9.16899 μgであった。一連の調査・研究の結果をもとに技術研修を行った。

[益子玲於奈, 佐藤智美 (明治大); 前川芳秀, 糸川健太郎, 伊澤晴彦, 澤邊京子; 松村隆之, 阿戸学 (免疫部); 山本明彦 (バイオセーフティ管理室); 銀永明弘 (化学及血清療法研); 一二三亨 (香川大救命救急センター)]

レファレンス業務

I. 衛生動物同定検査報告

平成27年4月から平成28年3月までの間、13件の昆虫・ダニ類の同定依頼を受けた。ヒトに寄生したマダニ類が4件、ハエ症の症例が2例あった。輸入症例では、南米からのスナノミ1件と東南アジアからのキララマダニ属の1種の2件があった。また、最近アレルギーの原因として問題になっているお好み焼き粉で大量発生するコナヒョウヒダニの例があった。

[林 利彦, 津田良夫]

II. 病原体検査報告

マダニからの重症熱性血小板減少症候群ウイルスの保有検査について1件依頼があった。報告書を作成し、結果を通知した。

[伊澤晴彦, 佐々木年則, 澤邊京子]

研修業務

- 1) 第4回蚊類調査に関わる技術研修 (H27年度). 2015年5月28-29日. 東京. [澤邊京子, 津田良夫, 前川芳秀, 小林睦生]
- 2) 平時からの媒介蚊対策について. 福島県蚊媒介感染症対策研修会. 2015年6月1日, 郡山市. [澤邊京子]
- 3) 豊岡市におけるマダニ調査の結果について. 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) 等症例検討会. 2015年7月11日, 豊岡市. [澤邊京子]
- 4) 蚊の生態・防除対策, 蚊の捕集. 節足動物媒介感染症研修会. 2015年9月7日, 東京. [澤邊京子, 津田良夫, 前川芳秀, 小林睦生]
- 5) 蚊の捕集と分類, 蚊からのデングウイルス検出法について. 平成27年度専門研修「検査技術」. 2015年9月30日, 東京. [伊澤晴彦]
- 6) アルボウイルス感染症とそのベクター. 平成27年度医師卒後臨床研修プログラム. 2015年10月26日, 東京. [伊澤晴彦]
- 7) マダニ相に関する国内調査よりー豊岡市におけるマダニ調査結果ー. ダニ媒介感染症に関する医療関係者等研修会. 2015年11月7日, 養父市. [澤邊京子]
- 8) 蚊媒介感染症に関する特定感染症予防指針に基づく感染症対策と防除ーヒトスジシマカを中心にー. 平成27年度感染症対策指導者講習会. 2015年11月20日, 東京. [澤邊京子]
- 9) 感染症媒介蚊の防除対策. 平成27年度特定建築物衛生管理講習会. 2015年11月12日, 東京. [澤邊京子]
- 10) 蚊検体からのフラビウイルス分離. 2015年11月17-18日, 東京. [伊澤晴彦, 佐々木年則, 江尻寛子, 藤田龍介, 小林大介, 澤邊京子]
- 11) 蚊媒介感染症対策の現状と課題. 第43回建築物環境衛生管理全国大会専門講座. 2016年1月21日, 東京. [澤邊京子]
- 12) 蚊およびマダニ等媒介節足動物について. 平成27年度希少感染症診断技術研修会. 2016年2月17-18日, 東京. [佐々木年則]
- 13) 衛生害虫に関する最近の話題. 第51回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会. 2016年3月8日, 川崎市. [澤邊京子]
- 14) デング熱・チクングニア熱・ジカウイルス感染症媒介蚊対策について. 「ジカウイルス感染症」に関する全国担当者会議. 2016年3月11日, 東京. [富田隆

史]

- 15) ジカウイルス感染症について. 在留邦人向け健康安全講話. 2016年3月12日, ブラジル・レンフェ市. [澤邊京子]
- 16) ジカウイルス感染症について. 在留邦人向け健康安全講話. 2016年3月12日, ブラジル・リオデジャネイロ市. [澤邊京子]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Hirabayashi, K., Takeda, M., Tsuda, Y. Two-year after effects of Tsunami on abundance of mosquitoes in suburban Sendai area in Miyagi Prefecture, Japan in 2013. *Bulletin of Entomological Research*, 31: 27-31, 2015.
- 2) Tanikawa, T., Yamauchi, M., Ishihara, S., Tomioka, Y., Kimura, G., Tanaka, K., Suzuki, S., Komagata, O., Tsuda, Y., Sawabe, K. Operation note on dengue vector control against *Aedes albopictus* in Chiba City, Japan, where an autochthonous dengue case was confirmed in September 2014. *Medical Entomology and Zoology*, 66: 31-33, 2015.
- 3) Chen, T.H., Aure, W.E., Cruz, E.I., Malbas Jr, F.F., Teng, H.J., Lu, L.C., Kim, K.S., Tsuda, Y. Shu, P.Y. Avian *Plasmodium* infection in field-collected mosquitoes during 2012-2013 in talac, Philippines. *Journal of Vector Ecology*, 40: 386-395, 2015.
- 4) Kim, K.S., Tsuda, Y. Sporogony and sporozoite rates of avian malaria parasites in wild *Culex pipiens pallens* and *C. inatomi* in Japan. *Parasites & Vectors*, 8: 633-637, 2015.
- 5) Hellgren, O., Atkinson, C.T., Bensch, S., Albayrak, T., Dimitrov, D., Ewen, J.G., Kim, K.S., Lima, M.R., Martin, L., Palinauskas, V., Ricklefs, R., Sehgal, R.N.M., Valkiūnas, G., Tsuda, Y., Marzal, A. Global phylogeography of the avian malaria pathogen *Plasmodium relictum* based on MSP1 allelic diversity. *Ecography*, 38: 842-850, 2015.
- 6) Heo, C.C., Latif, B., Kurahashi, H., Hayashi, T., Nazni, W.A., Omar, B. Coprophilic dipteran community associated with horse dung in Malaysia. *Halteres*, 6: 33-50, 2015.
- 7) Hoshino, K., Isawa, H., Kuwata, R., Tajima, S., Takasaki, T., Iwabuchi, K., Sawabe, K., Kobayashi, M., Sasaki, T.

- Establishment and characterization of two new cell lines from the mosquito *Armigeres subalbatus* (Coquillett) (Diptera: Culicidae). *In Vitro Cellular and Developmental Biology Animal*, 51: 672-679, 2015.
- 8) Sasaki, T., Higa, Y., Bertuso, A.G., Isawa, H., Takasaki, T., Minakawa, N., Sawabe, K. Susceptibility of indigenous and transplanted mosquito spp. in Japan to dengue virus. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 68: 425-427, 2015.
- 9) Gillich, N., Kuwata, R., Isawa, H., Horie, M. Persistent natural infection of a *Culex tritaeniorhynchus* cell line with a novel *Culex tritaeniorhynchus* rhabdovirus strain. *Microbiology and Immunology*, 59: 562-566, 2015.
- 10) Ejiri, H., Lim, C.K., Isawa, H., Kuwata, R., Kobayashi, D., Yamaguchi, Y., Takayama-Ito, M., Kinoshita, H., Kakiuchi, S., Horiya, M., Kotaki, A., Takasaki, T., Maeda, K., Hayashi, T., Sasaki, T., Kobayashi, M., Saijo, M., Sawabe, K. Genetic and biological characterization of Muko virus, a new distinct member of the species *Great Island virus* (genus Orbivirus, family Reoviridae), isolated from *Ixodid* ticks in Japan. *Archives of Virology*, 160: 2965-2977, 2015.
- 11) Kuwata, R., Isawa, H., Hoshino, K., Sasaki, S., Kobayashi, M., Maeda, M., Sawabe, K. Analysis of mosquito-borne flavivirus superinfection in *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae) cells persistently infected with *Culex flavivirus* (Flaviviridae). *Journal of Medical Entomology*, 52: 222-229, 2015.
- 12) Itokawa, K., Komagata, O., Kasai, S., Tomita, T. A single nucleotide change in a core promoter is involved in the progressive overexpression of the duplicated *CYP9M10* haplotype lineage in *Culex quinquefasciatus*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 66: 96-102, 2015.
- 13) Ogawa, K., Komagata, O., Hayashi, T., Itokawa, K., Morikawa, S., Sawabe, K., Tomita, T. Field and laboratory evaluations of the efficacy of DEET repellent against *Ixodes* ticks. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, Epub 2015/06/16. doi: 10.7883/yoken.JJID.2015.038, 2015.
- 14) Scott, J.G., Yoshimizu, M., Kasai, S. Pyrethroid resistance in *Culex pipiens* mosquitoes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 120: 68-76, 2015.
- 池田文明. 野外に生息するマダニ類に対する数種殺虫剤の防除効果. *衛生動物*, 66: 7-12, 2015.
- 2) 沢辺京子. 70年ぶりのデング熱国内流行と将来予測. *衛生動物*, 66: 203-205, 2015.
- 3) 沢辺京子. 衛生害虫の最新情報と動向—東京都内で実施したデング熱媒介蚊対策—. *ペストロジー*, 30: 31-33, 2015.
- 4) 沢辺京子. 2014年のデング熱対策から学ぶこと—デング熱媒介蚊ヒトスジシマカの特徴から考える—. *人と動物の共通感染症研究会ニュースレター*, 14: 12-14, 2015.
- 5) 津田良夫. 代々木公園周辺で起きたデング熱流行時の媒介蚊調査に基づくデングウイルス感染リスクの評価. *衛生動物*, 66: 211-217, 2015.
- 6) 米島万有子, 中谷友樹, 渡辺 護, 二瓶直子, 津田良夫, 小林睦生. 土地被覆データにもとづく疾病媒介蚊の生息分布域の分析—琵琶湖東沿岸地域を対象に—. *地理学評論*, 88: 138-158, 2015.
- 7) 安居院宜昭. 70年ぶりに発生したデング熱は、どんな病気で、どのように感染するのですか? *Pest Control Tokyo*, 68: 40-42, 2015.
- 8) 林 利彦. 野外活動と感染症 1. 野外活動で出会う媒介動物 1) 節足動物. *化学療法の領域*, 31: 724-730, 2015.
- 9) 葛西真治. 迫りくる「蚊の感染症」に備える. *イミダス時事オピニオン* 8月号, 2015.
- 10) 葛西真治. ハエとの距離感到悩む. *イミダス時事オピニオン* 9月号, 2015.
- 11) 栗原 毅. 我国のデング熱流行の歴史. *Pest Control Tokyo*, 68: 15-21, 2015.
- 12) 小林睦生. 今どきなせ東京にデング熱が. *Pest Control Tokyo*, 68: 8-14, 2015.
- 13) 小林睦生. 超高齢社会に適応した衛生対策—感染症を中心に. *生活と環境*, 日本環境衛生センター, 714: 4-8, 2015.
- 14) 関 なおみ. 超高齢少子化社会におけるアタマジラミ対策. *生活と環境*, 日本環境衛生センター, 714: 22-28, 2015.
- 15) 関 なおみ. デング熱, 国境を越えて広がる感染症. *臨床と微生物*, 42: 39-45, 2015.
- 16) モイメイリン, 小林睦生. ウエストナイル熱. *新興・*

2. 和文発表

- 1) 橋本知幸, 数間 亨, 武藤敦彦, 皆川恵子, 永廣香菜, 富田隆史, 駒形 修, 澤邊京子, 當山啓介, 足立雅也,

- 再興感染症－感染予防ワクチン－. *BIO Clinica*, 343: 22-26, 2015.
- 17) 沢辺京子. SFTS 対策に向けたマダニ類の全国調査. *ペストコントロール*, 169: 33-39, 2015.
- 18) 沢辺京子. こんな虫には要注意！感染症「傾向と対策」. *Special Feature 2 第3回虫刺され. ヘルシスト*, 233: 22-25, 2015.
- 19) 沢辺京子. 我が国に侵入してくる蚊媒介性感染症とそのベクター. *昆虫科学読本 虫の目で見た驚きの世界*. (日本昆虫科学連合編), pp. 138-154, 2015, 東海大学出版部, 神奈川県.
- 20) 沢辺京子. 油断は禁物 デング熱は終わっていない. *化学と工業*, 68: 793-795.
- 21) 沢辺京子. 蚊媒介性感染症の予防. 国境を越えて広がる感染症. *臨床と微生物*, 42: 17-24, 2015.
- 22) 津田良夫. ヒトスジシマカの生態と防除. *ペストコントロール*, 170: 32-36, 2015.

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Sasaki T, Kuwata R, Hoshino K, Isawa H, Sawabe K, Kobayashi M. Defense mechanism in the mosquito, *Aedes aegypti*, against Japanese encephalitis virus. The 13th ISDCI Congress, 2015年6月28日－7月3日, スペイン ムルシア市.
- 2) Kasai S, Hirata K, Komagata O, Itokawa K, Tomita T: Knockdown resistance and detoxification enzymes as mechanisms of pyrethroid resistance in dengue mosquito vector. II International Symposium on Pyrethrum, 2015年8月7日, 京都市.
- 3) Tomita T. Development of molecular genotyping for detecting pyrethroid-insensitive sodium channel of the dengue vector mosquito, *Aedes aegypti*. 第12回日本－台湾シンポジウム, 2015年9月10－11日, 東京
- 2) 沢辺京子, 前川芳秀, 小川浩平, 糸川健太郎, 駒形修, 伊澤晴彦, 富田隆史, 佐々木年則, 林利彦, 小林睦夫, 津田良夫. 2014年東京都内で実施した Dengue 熱媒介蚊対策. 第50回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 2015年5月15－16日, 京都市.
- 3) 佐々木年則, 鋤田龍星, 星野啓太, 伊澤晴彦, 澤邊京子, 小林睦生. 日本脳炎ウイルスに対するネッタイシマカの防御機構. 日本比較免疫学会第27回学術集会, 2015年8月21－23日, 小浜市
- 4) 沢辺京子. 国内における Dengue 熱媒介蚊対応について. 第15回日本パイセーフティー学会, シンポジウム「我が国における新興・再興感染症対応について」II 2. 国内における Dengue 熱発生, 2015年9月15－17日, 東京.
- 5) 藤田龍介. フィリピン捕集ヌマカ属蚊より分離された新規ウイルスの性状解析. 第75回昆虫病理研究会, 2015年9月25日, 札幌市.
- 6) Sawabe K. Strategy of Dengue Vector Control in Japan. Dengue surveillance: Information-sharing among Asian countries for a better prepared region. 9月30日－10月2日, 東京.
- 7) 渡辺護, 沢辺京子. 福井県と石川県の北潟湖における疾病媒介蚊の発生状況調査 (2015年). 第70回日本衛生動物学会西日本支部大会, 2015年10月17－18日, 大津市.
- 8) 津田良夫, 前川芳秀, 糸川健太郎, 小川浩平. 市街地におけるヒトスジシマカとオオクロヤブカの mark- release-recapture 実験. 第67回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2015年10月23日, 東京.
- 9) 沢辺京子, 津田良夫, 前川芳秀, 葛西真治, 皆川恵子, 数間 享, 山内健生, 芦田顕彦, 兼信定夫. 環境快適化を目指した媒介蚊対策への取り組み. 第67回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2015年10月23日, 東京.
- 10) 渡辺護, 沢辺京子. 石川県能登半島における疾病媒介蚊の発生状況調査, 2013～14年の成果. 第67回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2015年10月23日, 東京.
- 11) 佐々木年則, 久保田真由美, 澤邊京子, 平山幸雄, 鋤田龍星, 伊澤晴彦, 針原重義, 柴山恵吾, 小林睦生. 大阪におけるシラミ媒介性最近 *Bartonella*

- quintana* の疫学研究, 2015 年 10 月 23 日, 東京.
- 12) 倉橋 弘, 柿沼 進. 千葉県で採集されたニクバエの新属新種, 2015 年 10 月 23 日, 東京.
 - 13) 小林睦生. 感染症対策をどう展開するか. 第 67 回日本衛生動物学会東日本支部大会. シンポジウム「衛生動物防除の最前線—PCO が抱える現下の問題点」, 2015 年 10 月 23 日, 東京.
 - 14) 小林睦生. 国立試験研究機関における研究課題と若手研究者育成の問題点. 有害生物研究会. 第 26 回フォーラム「有害生物に関わる人材の育成: 現状と今後の在り方を探る」, 2015 年 11 月 7 日, 川崎市.
 - 15) Lim C.K., Ejiri H., Isawa H., Kuwata R., Kobayashi D., Yamaguchi Y., Takayama-Ito M., Kinoshita H., Kakiuchi S., Horiya M., Kotaki A., Takasaki T., Maeda K., Hayashi T., Sasaki T., Hamasaki C., Kobayashi M., Saijo M., Sawabe K. Characterization of Muko virus, a new distinct member of the species Great Island virus, isolated from ixodid ticks in Japan. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 2015 年 11 月 22–24 日, 福岡市.
 - 16) 渡辺 護. 東北被災地における蚊発生数と蚊相の変遷について. 第 31 回日本ペストロジー学会宮城大会 特別講演①, 2015 年 11 月 12–13 日, 仙台市.
 - 17) 津田良夫. わが国におけるヒトスジシマカの生態及び防除. 第 31 回日本ペストロジー学会宮城大会 特別講演②, 2015 年 11 月 12–13 日, 仙台市.
 - 18) 渡辺 護. 富山県の 1 民家における CDC トラップによるヒトスジシマカの捕集状況 (2006~2015 年). 第 31 回日本ペストロジー学会宮城大会, 2015 年 11 月 12–13 日, 仙台市.
 - 19) 元木 貢, 谷川 力, 村田 光, 月城熙城, 安居院宣昭, 春成 新. 建築物におけるねずみ・昆虫の生息状況に関するアンケート調査. 第 31 回日本ペストロジー学会宮城大会, 2015 年 11 月 12–13 日, 仙台市.
 - 20) 藤田龍介, 江尻寛子, 伊澤晴彦, 沢辺京子. NGS による吸血性節足動物保有ウイルスの探索と解析. 第 38 回日本分子生物学会・第 88 回日本生化学会合同大会, 2015 年 12 月 1–4 日, 神戸市.
 - 21) Itokawa K., Komagata O., Ogawa K., Kasai S., Tomita T. Knocking-out a detoxification enzyme gene responsible for insecticide resistance in the southern house-mosquito. 第 38 回日本分子生物学会年会, 2015 年 12 月 1–4 日, 神戸市.
 - 22) 沢辺京子. セアカゴケグモ抗毒素製造計画の進捗状況. 蚊媒介感染症最近の話題. 大阪府ペストコントロール協会創立 50 周年記念講演会 1・2, 2015 年 2 月 26 日, 大阪市.
 - 23) 沢辺京子. デング熱の国内発生以降の媒介蚊対策. 第 50 回ペストコントロールフォーラム (第 50 回ねずみ・衛生害虫駆除研究協議会) シンポジウム, 2015 年 2 月 19 日, 京都市.
 - 24) 沢辺京子. 蚊が媒介する感染症と媒介蚊の特徴. 平成 27 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会. 日本獣医公衆衛生学会—シンポジウム「蚊媒介性感染症」, 2015 年 2 月 26–28 日, 秋田市.
 - 25) 藤田龍介, 江尻寛子, 小林大介, 伊澤晴彦, 加藤大智, 三條場千寿, 山内健生, 沢辺京子. 吸血性節足動物保有ウイルス及び培養細胞持続感染ウイルスの NGS 解析. 平成 28 年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, 2016 年 3 月 17–18 日, 京都市.
 - 26) 葛西真治, 小川浩平, 糸川健太郎, 駒形 修, 富田隆史. QTL 解析とゲノム編集技術を用いたネッタイシマカのピレスロイド剤抵抗性遺伝子探索. 日本農薬学会第 41 回大会, 2016 年 3 月 17–19 日, 松江市.
 - 27) 佐藤智美, 林利彦, 伊澤晴彦, 糸山 享, 沢辺京子. 環境の異なる 2 地点のマダニ相と吸血源動物の探索. 日本昆虫学会第 76 回大会・第 60 回日本応用動物昆虫学会合同大会, 2016 年 3 月 26–29 日, 堺市.
 - 28) 小林大介, 伊澤晴彦, 藤田龍介, 江尻寛子, 水谷哲也, 比嘉由紀子, Bertuso A. G., 佐々木年則, 小林睦生, 太田伸生, 沢辺京子. 疾病媒介蚊が保有するウイルスの迅速・網羅的な同定手法の開発. 日本昆虫学会第 76 回大会・第 60 回日本応用動物昆虫学会大会合同大会, 2016 年 3 月 26–29 日, 堺市.
 - 29) 富田隆史, 駒形 修, 糸川健太郎, 小川浩平, 葛西真治, 陳 典煌, 鄧 華真. デング熱媒介蚊のピレスロイド作用点変異を対象とする簡易遺伝子型決定法の開発. 第 60 回日本応用動物昆虫学会, 2016 年 3 月 26–29 日, 堺市.
 - 30) 糸川健太郎, 駒形 修, 葛西真治, 小川浩平, 富田隆史. チカイエカにおけるピリプロキシフェン抵抗性の機構. 第 60 回日本応用動物昆虫学会, 2016 年 3 月 26–29 日, 堺市.
 - 31) 葛西真治. ヒトスジシマカにおける殺虫剤抵抗性発

達の可能性と将来の展望. 2015 年度日本衛生動物学会東日本支部例会「2014 年に流行したデング熱から, 今後の媒介蚊対策に何を学ぶか」, 2016 年 3 月 30 日, 東京.

32) 伊澤晴彦. 2014 年のヒトスジシマカからのデングウイルスの分離状況とその評価. 2015 年度日本衛生動物学会東日本支部例会「2014 年に流行したデング熱から, 今後の媒介蚊対策に何を学ぶか」, 2016 年 3 月 30 日, 東京.

33) 沢辺京子. ブラジルにおけるジカウイルス感染症の現状と媒介蚊. 2015 年度日本衛生動物学会東日本支部例会「2014 年に流行したデング熱から, 今後の媒介蚊対策に何を学ぶか」緊急報告, 2016 年 3 月 30 日, 東京.