

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：新興・再興感染症を媒介する節足動物の対策に関する研究

2. 研究開発代表者： 沢辺 京子（国立感染症研究所 昆虫医科学部）

3. 研究開発の成果

本研究は、新興・再興感染症を媒介する節足動物の海外からの侵入の可能性や国内分布・生息域の変化を踏まえた効果的な防除法等、ベクターコントロールの手法を確立することを目標とする。蚊およびマダニが主要な対象となるが、同時に収集されるその他節足動物の情報も蓄積し、突発する節足動物媒介性感染症に備えるものである。

① 国内媒介節足動物標本の整備と感染症の侵入監視

- 1) 本州（45種）、北海道と九州（23種）の蚊成虫の標本を作製し、DNA バーコーディング領域の遺伝子情報を GenBank に登録した。デング熱媒介蚊ネッタイシマカは、長崎市内の屋外では1～2月を除き幼虫が発育して羽化すること、日本脳炎ウイルス（JEV）媒介蚊コガタアカイエカは、長崎県対馬市北部では少なくとも5月初旬に国内産とは異なる遺伝子型（大陸型）の個体が生息することを明らかにした。
- 2) SFTS 患者発生地周辺でマダニ相を調査し、患者発生が多い春から初夏ではフタトゲチマダニが優占することを確認した。そのマダニ相にはニホンジカの影響が強いと推察されたが、脊椎動物の共通プライマーによる PCR 法と脊椎動物種特異的プローブを用いたハイブリダイゼーション法を併用した検出系をほぼ確立できたことで、植生マダニの吸血源動物種の検出が可能になった。マダニ類の外部形態による種同定のために若虫を対象とした図説を作成した。

② ウィルス学的研究

- 1) 日本産蚊からデングウイルスはじめ複数のウイルス、植生マダニからトゴトウイルス、オルトブニヤウイルスをそれぞれ分離した。これまでに分離したオルビウイルスとフレボウイルスの性状を解析し、いずれも新規のウイルス種であることを確認した。虫体破砕物あるいは培養上清からウイルス核酸を回収し、次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析を行い、それらが保有するウイルスの網羅的探索系の条件設定を整えた。
- 2) JEV の遺伝子 I 型と III 型株の型別リアルタイム RT-PCR（TaqMan 法）系、遺伝子 V 型株用のリアルタイム RT-PCR 系をそれぞれ開発した。また、I、III、V 型の共通プライマーに V 型特異的プローブを加え、V 型ウイルス遺伝子の検出を可能にした。JEV を媒介しない蚊の体内では RNAi 経路が JEV の増殖を抑制している可能性が示唆された。

③ 効果的な防除法等、ベクターコントロールの手法の確立

- 1) 蚊の殺虫剤感受性レベルの簡易検定法（バイオアッセイ法）を考案し、東京都内4地点で採集されたヒトスジシマカ7集団に適用した結果、供試薬剤は全ての蚊集団に有効であることが確認された。本種のピレスロイド作用点（VGSC）mRNA の全コード配列を初めて決定し、抵抗性原因変異の解析に貢献した。チカイエカのピリプロキシフェン抵抗性の生理的要因に、第一染色体に存在する P450 族の解毒代謝亢進による代謝抵抗性が含まれることが判明した。
- 2) CRISPR/Cas9 系を用いたゲノム編集技術に基づき、ネッタイシマカ VGSC 遺伝子へのアミノ酸置換変異のノックイン実験を行った。まず、蚊卵への顕微注入法の最適化を行い、次いで CYP9M10 遺伝子を標的としたノックイン実験を行った。発育胚における precise knock-in 率が得られたが、多くは imprecise knock-in または knock-out であったことから、対象が VGSC の場合は、発生途上で有害または致死となるリスクが予測された。

④ モデル県における環境最適化・媒介蚊対策の実施

岡山県下に8つの類型（大規模公園、公共施設、地域住宅、小学校、観光地2カ所、空港、県庁舎）を設定し、5月より10月まで原則月1回、ヒトスジシマカ対策のための基礎調査を行った。各調査地において蚊成虫密度により蚊に刺咬されるリスクを正確に評価し、幼虫発生源の場所と密度を把握した。地域住民と自治体に幼虫対策の重要性を解説し、H28年度に実施予定の殺虫剤を用いた成虫駆除に関して打ち合わせた。