

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：アジアにおける節足動物媒介新興感染症制御手法構築のための総合研究
2. 研究開発代表者：前田 健（山口大学共同獣医学部）
3. 相手国研究代表者：Hideki Ebihara (NIAID Division of Intramural Research, Laboratory of Virology (U.S.A.)), Srihadi Agungpriyono (Bogor Agricultural University, Faculty of Veterinary Medicine (Indonesia)), Worawut Rerkamnuaychoke (Kasetsart University, Faculty of Veterinary Technology (Thailand)), Emmanuel T. Baltazar (Central Mindanao University, College of Veterinary Medicine (Philippines))

4. 研究開発の成果

マダニの捕集・同定

インドネシア、タイ、フィリピンに赴きマダニの捕集および同定方法をマニュアル化した。日本、フィリピン、インドネシア、タイにてマダニを捕集し、遺伝子解析による種の同定を行った。海外で捕集されたマダニはオウシマダニ *Rhipicephalus microplus* がほとんどで、まれに *Haemaphysalis wellington* が捕集された。一方、国内からは、旗振り法により数多くのマダニ種が捕集された。国内の和歌山県および山口県で毎月マダニを捕集し、地域毎および月ごとの捕集数の比較を行った。

マダニからのウイルス検出

マダニからのウイルス検出に関しては、タイとインドネシアのオウシマダニからフレボウイルスとフラビウイルスの検出を試みた。その結果、タイの牛に咬着していたオウシマダニから Langat ウイルスが検出された。その遺伝子は、これまで報告されている Langat ウイルスとほぼ同様であった。国内のマダニからは新規フラビウイルス (Yamaguchi ウイルス)、5 種類の新規フレボウイルス、重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルス、新規トーゴトウイルス (OZ ウイルス)、新規フレボウイルス (KAM ウイルス)、新規ラプトウイルス (NMR ウイルス) の遺伝子の検出に成功した。

蚊の捕集と同定

インドネシア、タイ、フィリピンで蚊の捕集および同定方法をマニュアル化した。日本、フィリピン、タイで遺伝子解析による種の同定を行った。日本脳炎を媒介する *Culex tritaeniorhynchus*、デングウイルスやジカウイルス、チクングニヤウイルスを媒介する可能性のある *Aedes albopictus* なども捕集された。国内では山口県の牛舎で毎週蚊の捕集を行い、多くのカ種を捕集した。特に、日本脳炎媒介蚊である *C. tritaeniorhynchus* の春先の吸血行動が確認されたことは興味深い現象である。また、蚊の CO1 遺伝子の配列を決定し、各国における蚊の遺伝子分類にも努めている。

動物における節足動物媒介ウイルス感染

動物における SFTS ウイルス、日本脳炎 (JE) ウイルス、ダニ媒介性脳炎 (TBE) ウイルス、OZ ウイルス、KAM ウイルス、NMR ウイルスに対する血清診断法は確立しており、タイのバンコクで回収されたイヌの血清を用いて ELISA を実施した。JEV が 20.4% と高い陽性率であったが、TBEV と SFTSV に対しても陽性個体が認められた。ネコの血清には、JEV と TBEV に対する抗体が存在したが陽性率は低かった。

フレボウイルス感染状況の調査

現在、世界中から報告されているフレボウイルスの検出系の作出を試みている。手法としては、SFTS ウイルスを含む 11 種類のフレボウイルスのエンベロープ蛋白および N 蛋白の発現プラスミドを作製中である。また、ウイルスを保有している SFTS ウイルスおよび KAM ウイルスに関しては、血清診断系を作出し、国内のイノシシ、シカ、野生動物、狩猟者からの抗体検出を試みた。SFTS ウイルスは、西日本を中心に蔓延していること、KAM ウイルスは日本全国に蔓延していることが判明した。

ウイルス分離

蚊からのウイルス分離のためにデングウイルスとジカウイルスの媒介蚊である *Aedes aegypti* の細胞 YU-AeAe-1265 細胞を山口大学農学部的小林淳博士より分与いただき、DEN ウイルス 4 種と JE ウイルスの増殖性を比較した。*Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, *Culex tritaeniorhynchus* 由来の 3 種類の細胞を用いた蚊由来の培養細胞を用いたウイルス分離のための準備は整った。

Kick-off ミーティングと情報交換

本年度末の 3 月 25 日に、日本を含む 5 か国、6 施設より関係者が山口大学に集まり、本研究課題の目的、方法、今後について話し合う、Kick-off ミーティングの開催を行った。マダニ、蚊、動物の血清の採集方法の統一などを話し合っ、今後 3 年間の計画を確認した。