



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Ecological and Molecular Epidemiological Studies of Japanese Encephalitis Virus and Culex Flavivirus in Toyama Prefecture [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	名古屋, 真弓
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	乙第6890号
Issue Date	2013-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/53941
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Mayumi_Nagoya_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：名古屋 真弓

学位論文題名

Ecological and Molecular Epidemiological Studies of Japanese Encephalitis Virus and
Culex Flavivirus in Toyama Prefecture
(富山県における日本脳炎ウイルスと *Culex flavivirus* の
生態学的及び分子疫学的研究)

日本脳炎ウイルス（JEV）はフラビウイルス科フラビウイルス属に属し、I～V の 5 つの遺伝子型に分けられる。通常、蚊（主にコガタアカイエカ）と増幅動物であるブタの間で JEV の感染サイクルが形成されている。ヒトが JEV を保有した蚊に吸血で感染すると、高熱を発して重篤な脳炎を発症する場合がある。JEV の感染による脳炎を日本脳炎と呼び、東アジアから東南アジア、南アジアまでアジア地域を中心に広範な地域で流行し、世界で年間数万人の患者発生がある。日本脳炎の致死率は 30%にも及ぶ上回復後も後遺症が残る場合が多いため、公衆衛生上の大きな問題となっている。日本では、1960 年代には年間数千人の患者が報告されていたが、近年の患者数は 10 人未満に抑えられている。患者数の減少の要因として、ワクチン接種の勧奨、ブタの飼育農場が住宅地から離れたところに設置されるようになったことなどが推測されるものの、その原因は十分には明らかにされていない。また、1990 年代に、日本における主要な JEV の流行型が遺伝子型の III 型から I 型へ変化したことが知られているが、同一地点における JEV の詳細な年次変化については、世界的にもほとんど研究されていない。

JEV の増幅動物であるブタも飼育されていることから、JEV の感染サイクルが維持されやすい環境に富んでいると考えられる。また、感染症流行予測調査により、JEV に対する抗体を持ったブタがほぼ毎年確認されていることから、現在でも JEV が流行していることが示唆される。そこで、富山県で環境の変化が JEV の季節消長、流行状況に与えた影響を推測するとともに、遺伝子解析により、JEV の年次変化について解析を試みた。

近年、蚊が保有するフラビウイルス属のウイルスとして、*Culex flavivirus*（CxFV）が発見された。本ウイルスは昆虫の細胞でしか増殖せず、人や動物の病気とは関連性がないことが知られている。これまでに CxFV はアカイエカ、ネッタイイエカなどの *Culex* 属蚊から分離されているものの、生態学的にも不明な点が多いウイルス

である。本研究では、富山県における CxFV の分布、感染様式やウイルスの遺伝子性状などについて解明を試みた。

第一章では、JEV の自然界での維持と進化について明らかにするため、蚊とブタから JEV を分離し、解析を行った。蚊は 51,265 個体 (2,740 プール)、ブタは 1,451 個体の血清を用いた。雌のコガタアカイエカから 77 株、ブタから 10 株、合計 87 株の JEV が分離された。他にアカイエカ群 (アカイエカ、チカイエカを含む)、ヒトスジシマカ等からもウイルス分離を行ったが、コガタアカイエカ以外の種類の蚊からは JEV は分離されなかった。

JEV の季節消長をウイルス感染率 (蚊 1000 匹当たりの最小感染率 ; minimum infection rate = MIR) の増減からみたところ、2005~2009 年の富山県においては、雌のコガタアカイエカの発生ピークは 8~9 月頃であったのに対し、JEV の流行は、9~10 月頃で、両者のピークにはずれがあった。また、1966~1972 年における富山県の JEV の流行は 7 月下旬から 9 月上旬であったため、近年では流行時期が遅くなっていると考えられる。

分離された JEV のエンベロープ (E) 領域全長 1500 塩基と カプシド/プレメンブレン (C/prM) 領域 240 塩基について遺伝子解析したところ、87 株の分離株は全て遺伝子型 I に属した。これらの株は、2005~2009 年にわたり継続して分離された主要なタイプと、2007 年にだけ分離された稀なタイプに分けられた。主要なタイプは、年々少しずつ変化しており、2008 年と 2009 年には 3' 側非翻訳領域 (3' UTR) において 7 塩基の新たな欠損がみられた。

第二章では、CxFV の宿主の特異性や伝播方法、季節性、地域分布を調べるため、2004~2009 年にコガタアカイエカとアカイエカ群から CxFV を分離した。その結果、94 株の CxFV 分離株が得られた。うち 3 株は JEV と同時に分離された。コガタアカイエカの MIR は 0.3 だったのに対し、アカイエカ群の MIR は 17.9 であり、両者には有意な差がみられた。4~11 月の蚊から分離されたが、7 月が最も多かった。

株) についてウイルス遺伝子の全塩基配列を決定したところ、全長は 10,835-10,837 塩基であった。これらをこれまで報告された日本や他の国由来の CxFV 5 株の全長配列と比較したところ、塩基で 95.2~99.2%、アミノ酸で 98.1~99.8% と非常に高い一致率を示した。しかし、既報のメキシコ由来株 CxFV-Mex07 とは 90.7~90.9%、アミノ酸で 96.8~97.1% とやや低い一致率を示した。

今回の CxFV 分離株 11 株は系統樹解析により 4 つのクラスターに分けられた。同じ地点のコガタアカイエカとアカイエカ群から分離された 5 株で構成されたクラスターでは、配列がほとんど一致 (塩基、アミノ酸とも 100% 一致) していた。台湾からの飛行機の中で捕獲されたアカイエカ群から分離された株は、他の分離株とは異なる独自のクラスターを形成しており、この結果は今回得られた 94 株を NS5 領域の 210 塩基について比較した場合でも同様であった。従って、この株は海外から蚊とともに持ちこまれた可能性が示唆された。

Culex 属蚊の中で蚊の種類特異的というよりも地域特異的に維持されていると考えられた。

本研究によって、近年の JEV の動向や年変化の詳細が明らかとなった。今後の流行予測や、他の地域での JEV の動向を推察する際のモデルとして役立つものと考えられる。また、不明な点の多い CxFV についても、7 月に最も多く分離されること、地域特異的に維持されていることなどが判明した。JEV と同時に分離された蚊のプールがあったことから、コガタアカイエカでは JEV と CxFV が同時に感染しうると考えられ、自然界における JEV と CxFV の分布や蚊体内における両ウイルスの相互関係などについて、本研究成果を基礎として、今後、さらに詳細が明らかにされることが期待される。