

マニラにおけるデング熱媒介蚊の生息分布と共生細菌ボルバキアの検出

愛媛大学大学院 学生会員 犬飼達也

愛媛大学大学院 非会員 Maria Angenica F. Regilme, Thaddeus M. Carvajal

De La Salle University 非会員 Divina Amalin

University of the East Ramon Magsaysay Memorial Medical Center 非会員 Katherine M. Viacrusis

愛媛大学大学院 正会員 渡辺幸三

1. はじめに

フィリピンのマニラでは、ネッタイシマカ(*Aedes aegypti*)などの蚊によって引き起こるデング熱被害が相次いでいる。感染症を減らす方法として近年注目を集めているのが、ボルバキアという昆虫共生細菌である。ボルバキアは蚊の母から子へと母系感染し、感染した個体には雄個体の特異的致死現象や雌化、単為生殖といった現象が見られることで知られている(Werren et al. 2008)。また、マラリアやデング熱を引き起こす感染症を制御する役割を持っている。具体的には、ボルバキアを媒介している蚊がデングウイルスに感染した場合、ウイルスは蚊の体内で増殖せず唾液腺までウイルスが拡がらないため、ヒトを吸血した際にも感染しない(Moreira et al.2009)。これらの性質を利用した、ボルバキアを人工的に感染させたネッタイシマカの放出によるデング熱抑制がオーストラリア等で行われている(Yixin et al.2015)。

マレーシア (Teo et al.2015)においてネッタイシマカ幼虫からボルバキアを検出した事例が報告されているが、未だに蚊の母から子へのボルバキアの母系感染率は推定されていない。ボルバキアの母系感染率を推定できれば、ボルバキア感染蚊の放出を行う際の結果予測に繋がる。母系感染率が高いと伝播規模は大きくなり、低いと伝播規模は小さくなる。サンプリングの際に GPS 情報、採取された個体数、過去のデング熱被害の有無などを調査し分析することで、ネッタイシマカの生息分布状況を把握できる。そこから、ネッタイシマカの好む生息場所特性の理解に繋がり、ボルバキアに感染した蚊を放出する際に最適な放出地点を検討できる。生息分布を把握することで、蚊が多く生息する地点とそうでない地点を判断できる。そして、蚊が多く生息している地点でボルバキア感染蚊の放出を行うことで、効果がより顕著に見られると考えられる。

以上の背景より、本研究では、1)ネッタイシマカからボルバキアを検出すること。2)ネッタイシマカの母から子へのボルバキアの母系感染率を推定すること。3)ネッタイシマカの生息分布状況を把握することを目的とする。

2. 方法

サンプリングは 2017 年 6 月～2017 年 9 月にかけてマニラ (フィリピン) の聖トマス大学周辺地域で行い、成虫は 98 世帯から 125 個体、幼虫は 17 世帯から 480 個体を採取した。成虫は、モスキートトラップを各世帯に設置し、2 日間稼働させたのちに回収することで採取した。幼虫は、水たまりからスポイトを用いて採取した。採取したサンプルは、phenol-Chloroform DNA extraction を用いて DNA 抽出を行った。抽出した DNA から Wolbachia surface protein(wsp)general primers(wsp81F と wsp691R)を使用し、ボルバキア特異の遺伝子領域の増幅を試みた。その後、増幅が見られた個体シーケンス解析および BLAST 検索を行い、増幅された遺伝子領域がボルバキアであったかどうかを判定した。

3. 結果

成虫 125 個体中 3 個体(2.4%)からボルバキアを検出することに成功した。幼虫からはボルバキアを検出することができなかった。塩基配列は 3 個体が 100%の整合性を示した。それぞれの世帯間距離は NH56 – SH70 間 1163(m)、NH56 – SH83 間 877(m)、SH70 – SH83 間 286(m)であった。

また、幼虫が採取できた世帯と採取できなかった世帯での成虫の採取確率を比較した結果、幼虫が採取できなかった世帯での成虫の採取確率は 41.4%なのに対し、幼虫が採取できた世帯での成虫の採取確率は 78.6%となった。そのクロス集計表を表 1 として示す。屋内と屋外での成虫の個体数、世帯住民のデング熱感染履歴の有無と成虫の個体数について平均値の差の検定を行ったが、どちらも有意な差は見られなかった。

表 1. 幼虫と成虫の採取世帯数

	幼虫(+)	幼虫(-)	計
成虫(+)	11	172	183
成虫(-)	3	242	245
計	14	414	428

(+)と(-)はそれぞれ採取された世帯数、採取されなかった世帯数を表している。

100%の相動性を有したことは、ボルバキア株の多様性が低かったことを示している。

ネッタシマカの幼虫からはボルバキアは検出されなかったため、母系感染率は推定できなかった。検出されなかった原因として、幼虫採取が 17 地点のみで行われたこと、採取地点周辺に生息しているネッタシマカ成虫のボルバキア感染率が 2.4% (3/125 個体) と低かったことが考えられる。ボルバキアの感染方法は母から子への母系感染を主としていることから、同フィールドにおけるネッタシマカ成虫のボルバキア感染率は幼虫のボルバキア感染率に大きく影響するからである。

幼虫が採取された世帯とされなかった世帯の成虫が採取された世帯数の比較から、幼虫が採取された世帯で成虫も採取されやすい傾向にあることが分かった。この原因として、成虫もまた水たまり環境付近に生息していること、もしくは産卵場所からあまり動かないことが考えられる。本研究では屋内と屋外の個体数差に有意差は見られなかった。蚊はヒトが生活する屋内に多く生息していると予想していたが、必ずしも人が生活する屋内を主として生息するとは限らないことが分かった。世帯住民のデング熱感染履歴の有無での個体数の平均値も有意差は見られなかった。デング熱患者が発生した世帯付近では、感染者が発生したときにネッタシマカが多く生息していた可能性が高い。しかし、本調査を行った時点での個体数はデング発生履歴のある世帯で高くなる傾向が見られなかった。ネッタシマカの生息場所は過去から現在にかけて変化した可能性も考えられる。

5. おわりに

ネッタシマカの成虫 125 個体中 3 個体からボルバキアは検出され、世界で 3 例目となるネッタシマカ成虫からのボルバキア検出に成功した。しかし、幼虫からボルバキアを検出することができなかったため、本研究の目的の一つであるボルバキアの母系感染率の推定は行えなかった。サンプリングデータからネッタシマカは屋内外問わず生息していることが分かった。また、成虫個体も水たまり付近で生息すること、ネッタシマカの生息場所は 1 点に留まらないことが予想された。

参考文献

1. Werren et al. (2008) Nat Rev Microbiol 6: 741-751
2. Moreira et al. (2009) Nature 476 (7361). 450-U101
3. Yixin et al. (2008) Plos Neglected Tropical Diseases 9 (6), e0003894
4. Teo et al (2018) Tropical Biomedicine 34(3): 583-597



図 1 ネットイシマカが採取された世帯 ☆がボルバキア感染蚊の採取地点、△が幼虫採取地点、○が成虫採取地点を表している。

4. 考察

マニラで採取されたネッタシマカ成虫 125 個体中 3 個体から検出された。検出されたボルバキアの塩基配列が