

ヤブカ類の体内におけるアカバネウイルス保持と吸血生態

山下 伸夫・坂口 実*・斉藤 久孝**・千葉 伸**

(東北農業試験場・*富山県畜産試験場・**盛岡家畜保健衛生所)

The Persistence of Akabane Virus in the Bodies of
Aedine Mosquitoes and their Blood-sucking Interval

Nobuo YAMASHITA, Minoru SAKAGUCHI*, Hisataka SAITO** and Shin CHIBA**

(Tohoku National Agricultural Experiment Station・*Toyama Prefectural
Livestock Experiment Station・**Morioka Livestock Hygiene Service Center)

1 はじめに

アカバネ病は牛の流産及び新生子牛奇形を特徴とするウイルス病で吸血昆虫媒介性とされる家畜の重要疾病である。東北地域でも数年から10年周期で被害が見られ流行の度に流行地域が北進してきた¹⁾。本病の予防対策として生ワクチンが開発されているが、近年ウイルスの変異株の出現が報告され、従来のワクチン接種だけでは予防に対応できなくなる可能性もでてきており⁶⁾、ベクター対策が重要視されている。アカバネウイルスのベクターの1つとしてウシヌカカ (*Culicoides oxystoma*) である可能性が高いとされているが⁴⁾、本種が分布しない地域³⁾でも流行が見られることより、ウシヌカカ以外のベクターの存在が考えられる。そこで、我が国の多くの地域において個体数が多く、動物吸血性の高い2種のヤブカ、ヤマダシマカ (*Aedes flabopictus*) とヒトスジシマカ (*Aedes albopictus*)²⁾を対象に、体内でのウイルス保持能、吸血期間を明らかにし、それらのウイルス媒介能を検討すると共に、媒介試験用ネットケージを試作しその有用性を調べた。

2 試験方法

(1) 供試蚊

24°C恒温, 16時間明: 8時間暗の条件で10代以上累代飼育したヤマダシマカとヒトスジシマカの成熟雌を用いた。実験における飼育もこの環境条件ですべて行った。

(2) アカバネウイルス混合血と吸血法

アカバネウイルス (JaGAR-39) 液 2 ml と予めウイルス抗体陰性を確認しておいた綿羊血 9 ml を混合し、脱脂綿に含ませ、擬吸血源法⁸⁾を用いて蚊に吸血させた。

実験1 蚊体内におけるウイルス消長

ウイルス混合血を吸血させたヤマダシマカ、ヒトスジシマカを飼育かごに移し、砂糖水を与え飼育し、飼育2, 4, 6, 8, 10, 18, 28日目に5個体ずつ採取した。それぞれの個体を頭胸部と腹部に分けて1個体当たり0.5mlのMEMを加えて乳剤を作り、3000rpmで10分間遠心して得た上澄を試験管にシート培養したVero細胞に接種し、CPE(細胞変性効果)を指標としてウイルスを検出した。

実験2 蚊の吸血間隔

マウスから飽血吸血させたヤマダシマカ及びヒトスジシマカを、20cm立方のケージに入れて飼育した。その後毎日、午後4時から5時までの1時間金網で捕定したマウスをケージに入れ、吸血した個体を記録した。ヒトスジシマカでは飽血個体の他に、未飽血個体についても同様に調べた。

実験3 媒介試験用ネットケージにおける吸血率試験

4m四方の部屋の中に、2.5m四方で高さ1.6mの蚊帳様ネットケージを設置した。この中に黒毛和種の子牛を係留し、1日間水だけ与えておいたヒトスジシマカ174個体を放した。1時間後にケージ内の牛体上、床面、ネット側面に止まっていた蚊を捕集し吸血の有無を調べた。

3 試験結果及び考察

本ウイルスと吸血昆虫の親和性を検討した研究は少ないが、ヤブカ類の1種であるヒトスジシマカの株化細胞において本ウイルスが細胞変性を起こさずに接種後1, 2日後に爆発的に増殖することは明らかにされている¹⁾。このため本試験では供試昆虫としてヤブカ類を用いた。

蚊によるウイルス媒介は、蚊がウイルス感染家畜から吸血した時にウイルスを取り込んだあと、次の吸血を非感染牛から行うときにウイルスを胸部の唾液腺から唾液と共に牛体内に送り込むことで成立する。このため蚊の再吸血時に唾液腺にウイルスが存在しているか否かが、媒介能を評価するうえで重要となる。

蚊体内におけるウイルス保持能については、ヒトスジシマカの吸血後2日目の頭胸部よりウイルスが検出されたが、ヤマダシマカでは腹部のみで4日目までの個体でウイルスが検出された(表1)。この点からはウイルスが腹部でのみ検出されなかったヤマダシマカより唾液腺を含む頭胸部からウイルスが検出されたヒトスジシマカで媒介能を有する可能性は高いと考えられた。

蚊の吸血間隔実験では、飽血蚊の再吸血は、ヤマダシマカとヒトスジシマカにおいて、それぞれ個体の73%, 56%が飽血後4日目までに行われた(図1)。特に、ヒトスジシマカの未飽血個体では約80%の個体で2日以内に再吸血した(図2)。ヒトスジシマカでは再吸血が行われる2日間はウイルスは胸部で保持されることが明らかになったことから、この種の未飽血個体ではウイルスを保持したまま

表1 ヤブカ2種の体内におけるウイルス消長

ウイルス混合血吸血後の日数	吸血前	2	4	6	8	10	18	28
ヒトスジシマカ	頭胸部	0/4*	2/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	腹部	0/4	4/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
ヤマダシマカ	頭胸部	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	腹部	0/4	1/4	2/4	0/4	0/4	0/4	0/4

注. * : ウイルス検出検体数/供試検体数 (5個体をプールし4等分し1検体とする)

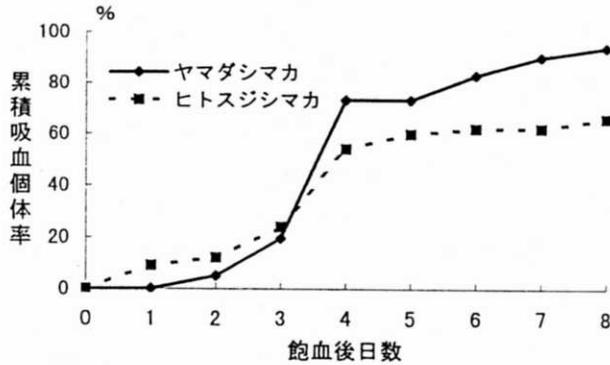


図1 飽血ヤブカ類が再吸血するまでの期間

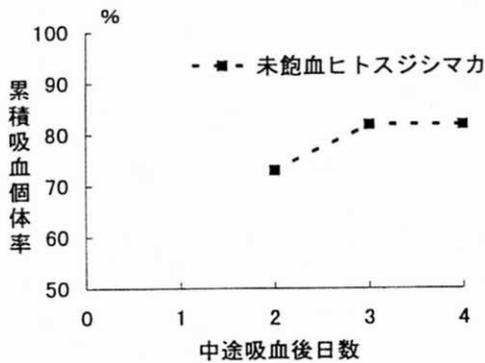


図2 未飽血ヒトスジシマカが再吸血するまでの期間

表2 試験ネットケージにおけるヒトスジシマカの吸血率

回収箇所	牛体上	床上	寒紗表面	合計	率(%)*
吸血個体数	2	56	83	141	(81.0)
非吸血個体数	3	1	6	10	(5.8)
小計	5	57	89	151	(86.8)

注. * : 放飼個体数に対する捕獲個体数の100分率

再吸血を行う可能性が示された。吸血昆虫は、家畜による頻繁な忌避行動をうけるため吸血を中断されることが多く⁵⁾、野外においても未飽血の個体が再び吸血する可能性は十分考えられる。

媒介試験用ネットケージでは、ヒトスジシマカの放飼個体の86.8%が回収でき、放飼個体のうち81.0%、回収個体のうち93%の個体が吸血していた(表2)。再吸血時にウイルスを体内に保持するだけでは媒介昆虫として特定はできず、媒介性を有する昆虫と対象動物を用いた媒介試験による実証が必要で、その際、供試蚊が供試感染家畜から高率で吸血することが不可欠である。人為的環境だと昆虫の

吸血活動が低下する可能性が考えられるが、試作したネットケージでは、回収個体の大部分が吸血した。今回試作したネットケージが、本種のウイルスを媒介能の実証試験には有用であると考えられた。

4 まとめ

アカバネウイルスのヤブカ類による媒介性を明らかにするため、ウイルス保持能及び吸血生態を明らかにするとともに、媒介試験用のネットケージを試作し、その有用性を調べた。ウイルス混合血を吸血して2日後のヒトスジシマカではその頭胸部でウイルスが検出されたが、ヤマダシマカでは腹部でのみ検出された。ヒトスジシマカの未飽血個体では吸血後2日以内に再吸血し、ウイルス保持期間内に殆どの個体が再吸血することが示唆された。蚊帳状の媒介試験用の試作ネットケージではヒトスジシマカは放飼時の81%の個体が供試子牛から吸血し、このケージが媒介試験に利用可能であると考えられた。

引用文献

- 1) Han, H. D. 1981. Propagation and persistent infection of Akabane virus in culture mosquito cells. Jpn. J. Vet. Sci. 43 : 689-697.
- 2) 上村 清. 1976. カの科学 佐々学編 第1版. 北隆館. p.150-288.
- 3) 北岡茂男. 1963. 日本産ヌカカ属 (Culicoides latreille) の分布に関する知見. 家衛試研報 46 : 45-51.
- 4) 黒木 洋. 稲葉右二, 高橋英司. 1977. アカバネウイルスによる子牛の感染試験. 家衛試研報 75 : 1-8.
- 5) 松村 雄, 早川博文, 長谷川勉. 1978. アブ類およびイエバエ類による家畜の被害(総説). 東北農試研究資料 1 : 45-53.
- 6) Miyazato, S.; Miura, Y.; Hasa, M.; Kubo, M.; Goto, Y.; Kono, Y. 1989. Encephalitis of cattle caused by Iriki Isolated, a new strain belonging to Akabane virus. Jpn. J. Vet. Sci. 5 : 128-136.
- 7) 大池裕治, 吉田欣也, 南野久晃. 1988. 1985年から1986年にかけて岩手県で多発したアカバネ病. 日獣会誌 41 : 246-250.
- 8) 山西 浩. 1982. ヤブカ類の吸血行動の一観測方法. 衛生動物 33 : 17-20.