

している。

E:結論

1) 横手、新庄、気仙沼、湯沢、盛岡、花巻、北上、釜石等でヒトスジシマカの分布調査を行った。新庄では13/14コロニー(93%)がヒトスジシマカで、市内の広範に分布していたが、横手では5/50(10.0%)であり、分布は市内の一部に限局しており、2年前と大きな変化が見られなかった。盛岡市では、ヒトスジシマカが初めて確認された。同蚊の分布要因解析に関して、年平均気温のメッシュ気候図、過去7年間の年平均気温、都市部の人口密集等を検討した。その結果、1 km²あたり1,000人以上の密度を示すメッシュ数が多い都市にヒトスジシマカの分布拡大が認められ、また、1998年から1999年の年平均気温の急激な上昇が、分布域の拡大に関わっている可能性が示唆された。

2) ネットアイシマカとヒトスジシマカの寄生原虫である *Ascogregarina* spp. オーストからの効率の良い DNA 抽出法を確立した。この方法により *As. culicis* 2株、*As. taiwanensis* 2株より DNA を抽出し、rDNA の小サブユニット領域を PCR 法にて増幅し、その塩基配列の解析を行った。その結果 *Ascogregarina* と他のアピコンプレックス原虫類との間の、分子レベルでの類縁関係が初めて明らかになった。さらに本領域内に *As. culicis* および *As. taiwanensis* 両種を明確に区別し得る塩基配列が見出された。現在、これらの原虫に外来遺伝子を導入するための準備として、*As. culicis* の HSP70 遺伝子のクローニングに着手し、部分的なシーケンスを得て

いる。

F:健康危機管理情報

ヒトスジシマカが新たに侵入・定着した東北地方の都市においては、住民がどのような蚊に刺されているか理解できておらず、ヤブカの刺咬に関する個人的対処がなされていない。今後の蚊媒介性感染症の予防対策を含めて、各自治体でヤブカに関する啓発が必要と思われる。

G: 研究発表

1. 発表論文

1) Nihei, N., Yoshida, M., Kobayashi, M., Kaneta, H., Shimamura, R. and Agui, N.: Geographic information systems (GIS) analysis of the distribution of the redback spider *Latrodectus hasseltii* (Araneae: Theridiidae) in Osaka, Japan. *Med. Entomol. Zool.*, 54: 177-188, 2003.

2) Nihei, N., Yoshida, M., Kaneta, H., Shimamura, R. and Kobayashi, M.: Analysis on the dispersal pattern of newly introduced redback spider *Latrodectus hasseltii* in Japan by spider diagram. *J. Med. Entomol.*, 41 (in press), 2004.

3) Kobayashi, M., Nihei, N. & Kurihara, T. Analysis of northern distribution of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Japan by geographical information system. *Journal of Medical Entomology*, 39(1): 4-11, 2002. (参考論文)

4) 小林睦生: 衛生害虫. 昆虫学大事典(総編集 三橋 淳, 1200 pp.), pp. 920-933,

2003, 朝倉書店.

5) 小林睦生：疫学調査の重要性. 生活と環境, 48(6): 11, 2003.

6) 小林睦生：「ウエストナイル熱媒介対策に関するガイドライン」解説. 生活と環境, 48(7): 40-43, 2003.

7) 小林睦生：Seminar: [蚊が媒介する感染症] ウエストナイル熱—米国での流行から何を学ぶか—. 感染症, 33(4): 33-39, 2003.

8) 小林睦生, 二瓶直子, 栗原 毅：わが国のデング熱媒介蚊であるヒトスジシマカの分布拡大について. 病原微生物検出情報, 25(2): 10-11, 2004.

9) 小林睦生：海外旅行と感染症—虫よけ. 治療学, 38(3): 42-44, 2004.

II. 学会発表

1) Sudipta Roychoudhury, 小林睦生：Extraction method of *Ascogregarina* sporozoite, a potential tool of gene vector approach. 第55回日本衛生動物学会大会, 15年3月31日-4月2日. 大分医科大学.

2) 二瓶直子, 吉田政弘, 小林睦生, 金田弘幸, 嶋村竜太：GISによる地理的分布パターンから推測されるセアカゴケグモの拡散について. 第55回日本衛生動物学会大会, 15年3月31日-4月2日. 大分医科大学.

3) 二瓶直子, 橋田良彦, 川端真人, 小林睦生, Bacotee, B., Leafasla, J., 石井 明：ソロモン諸島国におけるマラリアリスクマップ作成に向けて. 第55回日本衛生動物学会大会, 15年3月31日-4月2日. 大分医科大学.

4) 小林睦生, 二瓶直子, 栗原 毅：東北地方におけるヒトスジシマカの分布調査：山形市の事例を中心に. 第55回日本衛生動物

学会大会, 15年3月31日-4月2日. 大分医科大学.

5) 佐々木年則, 澤邊京子, 江下優樹, 伊藤美佳子, 高崎智彦, 倉根一郎, 小林睦生：VecTestによる蚊からのウエストナイルウイルスの検出. 第55回日本衛生動物学会大会, 15年3月31日-4月2日. 大分医科大学.

6) 小林睦生：我が国におけるウエストナイルウイルス媒介蚊の分布、生態およびその対策. 第38回日本脳炎ウイルス生態学研究会シンポジウム, 「ウエストナイル熱の疫学と予防対策」, 15年5月15-16日, 小樽市.

7) 佐々木年則, 澤邊京子, 伊澤晴彦, 江下優樹, 伊藤美佳子, 高崎智彦, 倉根一郎, 小林睦生：イムノクロマトグラフィーによる蚊からのウエストナイルウイルスの検出. 第38回日本脳炎ウイルス生態学研究会,, 15年5月15-16日, 小樽市.

8) 小林睦生：ウエストナイル熱とその予防—ウエストナイル熱の媒介蚊とその対策. 北多摩北部地域保健医療圏感染症予防講演会, 15年7月10日, 小金井市.

9) 小林睦生, 津田良夫, 澤邊京子, 佐々木年則, 伊澤晴彦, 二瓶直子, 栗原 毅：北海道、能取湖においてドライアイストラップと人囮法で採集されたアカエゾヤブカについて. 第55回日本衛生動物学会東日本支部大会, 15年10月3日, 横浜市.

10) 澤邊京子, 佐々木年則, 伊澤晴彦, Sudipta Roychoudhury, 小林睦生：野外採集蚊からのウエストナイルウイルスの検出—2003年度前期報告—. 第55回日本衛生動物学会東日本支部大会, 15年10月3日, 横浜市.

11) 齊藤康秀, 服部順子, 芽根士郎, 二瓶直子, 津田良夫, **小林睦生**: 酵母を用いた生物発酵に寄り産生された炭酸ガスを利用した蚊の捕集について. 第 55 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 15 年 10 月 3 日, 横浜市.

12) **小林睦生**: ウエストナイル熱媒介蚊防除における問題点. 第 47 回全国環境衛生大会, 15 年 10 月 15-16 日, 岐阜市.

13) 小原豊美, 吉田政弘, 平良常弘, 芝生幸夫, **小林睦生**: 都市域における蚊の発生源について. 第 58 回日本衛生動物学会西日本支部大会, 15 年 10 月 31-11 月 2 日, 金沢市.

14) 伊藤美佳子, 高崎智彦, 新井 智, **小林睦生**, 倉根一郎: 地球温暖化と節足動物媒介性ウイルス感染症. シンポジウム「気候変化と健康」, 気候影響・利用研究会・バイオクリマ研究会. 15 年 11 月 8 日, 東京都.

15) 澤邊京子, 伊澤晴彦, 佐々木年則, 津田良夫, **小林睦生**: チトクローム b 遺伝子解析によるアカイエカ類とヒトスジシマカの吸血源動物種の同定. 日米医学協力研究会寄生虫疾患専門部会国内研究会議, 16 年 1 月 24 日, 東京都.

16) 二瓶直子, 橋田良彦, 金田弘幸, **小林睦生**, 川端眞人, 太田伸生, Bakote'e, B., Leafasia, J., 石井 明: GIS によるソロモン諸島国マラリアリスクの推定. 日米医学協力研究会寄生虫疾患専門部会国内研究会議, 16 年 1 月 24 日, 東京都.

17) **小林睦生**: ウエストナイル熱媒介蚊対策－昆虫学的研究の最前線－. 第 38 回ねずみ・衛生害虫駆除研究協議会, 16 年 2 月 26-27 日, 名古屋市

表 1

2003年9月17-18日 新庄市におけるヒトスジシマカの調査

番号	採集地	採集年月日	容器の種類	蚊の種類
1	接院寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Ae. albopictus</i> ♂1
2	接院寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Ochlerotatus japonicus</i> ♂1
3	接院寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Ae. albo.</i> ♀1
4	接院寺	2003/9/17-18	線香台	<i>Ae. albo.</i> ♀1
5	接院寺	2003/9/17-18	手水鉢	<i>Ae. albo.</i> ♀1, ♂2
6	接院寺	2003/9/17-18	線香台	<i>Ae. albo.</i> ♀2, ♂1
7	長泉寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Ae. albo.</i> ♀2, ♂1
8	長泉寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Ae. albo.</i> ♀2, ♂1
9	長泉寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Ae. albo.</i> ♀1, ♂1
10	長泉寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Ae. albo.</i> ♀1
11	観音寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Ae. albo.</i> ♀2
12	浄光寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Ae. albo.</i> ♀1, ♂2
13	勝因寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Ae. albo.</i> ♀2
14	勝因寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Ae. albo.</i> ♀1,

ヒトスジシマカ率 13 / 14 92.9%

ヤマトヤブカ率 1 / 14 7.1%

2003年8月31日 北上市におけるヒトスジシマカの調査

番号	採集地	採集年月日	容器の種類	蚊の種類
1	諏訪神社	2003/8/31	手水鉢	<i>Ochlerotatus japonicus</i> ♀2
2	諏訪神社	2003/8/31	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀1, ♂3
3	染黒寺	2003/8/31	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀4
4	染黒寺	2003/8/31	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1, ♂1
5	染黒寺	2003/8/31	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1, ♂1
6	染黒寺	2003/8/31	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2, ♂1
7	染黒寺	2003/8/31	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
8	染黒寺	2003/8/31	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀9, ♂1
9	正蔵寺	2003/8/31	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
10	正蔵寺	2003/8/31	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀4, ♂1
11	正蔵寺	2003/8/31	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2
12	正蔵寺	2003/8/31	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
13	正蔵寺	2003/8/31	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀4, ♂1
14	正蔵寺	2003/8/31	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀4

ヒトスジシマカ率 0 / 14 0%

ヤマトヤブカ率 14 / 14 100%

表 2—1

2003年9月17-18日 横手市におけるヒトスジシマカの調査

番号	採集地	採集年月日	容器の種類	蚊の種類
1	正平寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀4
2	正平寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
3	正平寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀5,♂1
4	正平寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. jap.</i> ♀6,♂2, <i>Ae. albo.</i> ♀1
5	正平寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
6	正平寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀5
7	正平寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
8	正平寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀4
9	正平寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1,♂1
10	明神社	2003/9/17-18	手水鉢(丸形)	<i>Oc. japonicus</i> ♀6
11	明神社	2003/9/17-18	手水鉢(大型)	<i>Oc. japonicus</i> ♀4
12	明神社	2003/9/17-18	竹の切り株	<i>Ae. albopictus</i> ♀3,♂1
13	九昌寺	2003/9/17-18	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀5,♂2
14	龍昌寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3,♂2
15	天仙寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1,♂1
16	天仙寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
17	天仙寺	2003/9/17-18	線香台	<i>Oc. japonicus</i> ♀2
18	春光寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀5,♂2
19	春光寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
20	春光寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
21	春光寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
22	春光寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2
23	春光寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀6
24	春光寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀4
25	春光寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
26	春光寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1,♂1
27	正法寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
28	正法寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Ae. albopictus</i> ♀2
29	西誓寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2
30	西誓寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2
31	西誓寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
32	西誓寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀5
33	西誓寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
34	西誓寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Ae. albopictus</i> ♀2
35	西誓寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀4,♂2
36	西誓寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀5
37	妙晴寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1,♂1
38	妙晴寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
39	妙晴寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2,♂1
40	妙晴寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
41	妙晴寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3

表 2 - 2

2003年9月17-18日 横手市におけるヒトスジシマカの調査

42	妙晴寺	2003/9/17-18	竹の切り株	<i>Ae. albopictus</i> ♀1
43	白幡稻荷神社	2003/9/17-18	発泡スチロール箱	<i>Cx. pipiens</i> ♀2, <i>Oc. jap.</i> ♀1
44	白幡稻荷神社	2003/9/17-18	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
45	法泉寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀4
46	法泉寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀4
47	法泉寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3, ♂2
48	龍昌寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. jap.</i> ♀2, ♂2, <i>Ae. flab.</i> ♀1
49	龍昌寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀4, ♂2

ヒトスジシマカ率 5 / 49 10.2 %
 ヤマトヤブカ率 45 / 49 91.8 %

表 3 - 1

2003年9月8-10日 盛岡市におけるヒトスジシマカの調査

番号	採集地	採集年月日	容器の種類	蚊の種類
1	大慈寺	2003/9/8-10	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀3, ♂1
2	大慈寺	2003/9/8-10	線香台(原 敬)	<i>Oc. japonicus</i> ♀2
3	大慈寺	2003/9/8-10	線香台	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
4	大慈寺	2003/9/8-10	桶(プラス)	<i>Oc. japonicus</i> ♀2, <i>Cx. pipi.</i> ♂2
5	円光寺	2003/9/8-10	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♂2
6	円光寺	2003/9/8-10	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
7	祇陀寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀5
8	祇陀寺	2003/9/8-10	線香台	<i>Oc. japonicus</i> ♀3, ♂1
9	祇陀寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2, ♂1
10	祇陀寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2, ♂1
11	長松寺	2003/9/8-10	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
12	長松寺	2003/9/8-10	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀5, ♂2
13	長松寺	2003/9/8-10	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀1, ♂1
14	長松寺	2003/9/8-10	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀2, ♂3
15	永泉寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♂2
16	永泉寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
17	永泉寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
18	久昌寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♂1
19	久昌寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
20	久昌寺	2003/9/8-10	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀1, ♂1
21	久昌寺	2003/9/8-10	バケツ(金属)	<i>Oc. japonicus</i> ♀2, ♂1
22	三明院(廃)	2003/9/8-10	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀1, ♂1
23	東顕寺	2003/9/8-10	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
24	東顕寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
25	東顕寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Ae. albopictus</i> ♀6
26	東顕寺	2003/9/8-10	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀7, ♂1
27	東顕寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. ja.</i> ♀1, <i>Ae. al.</i> ♀1, <i>Cx.p.</i> ♀2
28	大泉寺	2003/9/8-10	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
29	大泉寺	2003/9/8-10	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
30	大泉寺	2003/9/8-10	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀6, ♂1
31	大泉寺	2003/9/8-10	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀4, ♂1
32	本誓寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀4, ♂1
33	本誓寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1, ♂2
34	本誓寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1, ♂1
35	本誓寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
36	本誓寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
37	本誓寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2, ♂1
38	本誓寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀5, ♂2
39	本誓寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
40	本誓寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2
41	本誓寺	2003/9/8-10	手水鉢(大型)	<i>Oc. japonicus</i> ♀2

表 3 - 2

2003年9月8-10日 盛岡市におけるヒトスジシマカの調査

42	光台寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
43	光台寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2
44	光台寺	2003/9/8-10	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
45	光台寺	2003/9/8-10	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀4
46	光台寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀8
47	光台寺	2003/9/8-10	線香台	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
48	光台寺	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
49	永祥院	2003/9/8-10	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀2, ♂3
50	永祥院	2003/9/8-10		<i>Oc. japonicus</i> ♀1
51	永祥院	2003/9/8-10	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1, ♂2

ヒトスジシマカ率 2 / 51 3.9 %

ヤマトヤブカ率 50 / 51 98%

表 4 2003年9月17-18日 湯沢市におけるヒトスジシマカの調査

番号	採集地	採集年月日	容器の種類	蚊の種類
1	湯仙寺	2003/9/17-18	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀5,♂1
2	湯仙寺	2003/9/17-18	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀1,♂1
3	湯仙寺	2003/9/17-18	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
4	湯仙寺	2003/9/17-18	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
5	湯仙寺	2003/9/17-18	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀3,♂1
6	湯仙寺	2003/9/17-18	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀2,♂2
7	湯仙寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀4,♂1
8	行円寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2
9	行円寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
10	浄土寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
11	浄土寺	2003/9/17-18	線香台	<i>Oc. japonicus</i> ♀4
12	浄土寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀5
13	浄土寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
14	浄土寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2,♂1
15	浄土寺	2003/9/17-18	線香台	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
16	東山寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀4
17	東山寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2
18	東山寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
19	東山寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
20	東山寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3,♂2
21	東山寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
22	東山寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2,♂1
23	東山寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
24	日善寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
25	日善寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2
26	日善寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
27	日善寺	2003/9/17-18	バケツ(プラスチック)	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
28	日善寺	2003/9/17-18	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀4
29	日善寺	2003/9/17-18	バケツ(プラスチック)	<i>Oc. japonicus</i> ♀2,♂2

ヒトスジシマカ率 0 / 29 0 %

ヤマトヤブカ率 29 / 29 100 %

表 5

2003年8月31日 花巻市におけるヒトスジシマカの調査

番号	採集地	採集年月日	容器の種類	蚊の種類
1	円城寺	2003/8/31	花立て	<i>Ochlerotatus japonicus</i> ♂1
2	雄山寺	2003/8/31	花立て	<i>Uranotaenia</i> sp. ♀4, ♂2
3	雄山寺	2003/8/31	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2, ♂2
4	雄山寺	2003/8/31	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2
5	雄山寺	2003/8/31	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀1, ♂5
6	妙円寺	2003/8/31	線香台	<i>Oc. japonicus</i> ♀4
7	順覚寺	2003/8/31	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀4

ヒトスジシマカ率 0 / 7 0%

ヤマトヤブカ率 6 / 7 85.7%

2003年9月1日 大船渡市におけるヒトスジシマカの調査

番号	採集地	採集年月日	容器の種類	蚊の種類
1	西光寺	2003/9/1	手水鉢	<i>Ochlerotatus japonicus</i> ♀2
2	成願寺	2003/9/1	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀2
3	港(ゼネ石油横)	2003/9/1	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2, ♂1
4	佐野(Dunlop)	2003/9/1	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀3, ♂3
5	佐野(Dunlop)	2003/9/1	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀4
6	佐野(Dunlop)	2003/9/1	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀2

ヒトスジシマカ率 0 / 6 0%

ヤマトヤブカ率 6 / 6 100%

2003年9月1日 釜石市におけるヒトスジシマカの調査

番号	採集地	採集年月日	容器の種類	蚊の種類
1	石応寺	2003/9/1	花立て	<i>Ochlerotatus japonicus</i> ♀5, ♂1
2	石応寺	2003/9/1	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀1, ♂4
3	石応寺	2003/9/1	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀4, ♂2
4	石応寺	2003/9/1		<i>Oc. japonicus</i> ♂1
5	石応寺	2003/9/1	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀5, ♂1
6	石応寺	2003/9/1	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♀4
7	石応寺	2003/9/1	花立て	<i>Oc. japonicus</i> ♂2
8	観音寺	2003/9/1	手水鉢	<i>Oc. japonicus</i> ♀2, ♂1
9	市民病院近く	2003/9/1	古タイヤ	<i>Oc. japonicus</i> ♀1
10	市民病院近く	2003/9/1	古タイヤ	<i>Oc. japonicus</i> ♀2, ♂1
11	漁港倉庫	2003/9/1	古タイヤ	<i>Oc. japonicus</i> ♀2
12	漁港倉庫	2003/9/1	プラスチック箱	<i>Oc. japonicus</i> ♂1
13	漁港倉庫	2003/9/1	古タイヤ	<i>Oc. japonicus</i> ♀3
14	漁港倉庫	2003/9/1	コンクリート穴	<i>Oc. japonicus</i> ♀2
15	漁港倉庫	2003/9/1	古タイヤ(下段)	<i>Oc. japonicus</i> ♀1, ♂1
16	漁港倉庫	2003/9/1	古タイヤ	<i>Oc. japonicus</i> ♀7, ♂4
17	明法幼稚園	2003/9/1	ポリバケツ	<i>Oc. japonicus</i> ♀2, ♂1

ヒトスジシマカ率 0 / 17 0%

ヤマトヤブカ率 17 / 17 100%

表6 東北地方の各都市におけるヒトスジシマカの分布状態

都市名	現在の状態	2003	2002	2001	2000	1999	1998以前
青森市	C	-C	-C	-C			
深浦市	C	-C					
弘前市	C						
横手市	B	+B					-C
秋田市	A			+A	+B	?	-C
能代市	A			+A	+B	?	
湯沢市	C	-C					-C
新庄市	A	+A		+A	?		-C
釜石市	C	-C			-C		-C
大船渡市	C	-C			-C		-C
気仙沼市	B			+B			-C
盛岡市	B	+B		-C	-C		-C
北上市	C	-C		-C			-C
水沢市	A			+A	?		-C
天童市	C			-C	-C		
山形市	A		+A		+B	?	-C
一関市	A				+B		-C

A: 市内の広範囲に分布 (Oc. japonicusが減少) B: 市内の一部に分布 (Oc. japonicusが優占種) C: 分布していない (全てがOc. japonicus)

図1 東北地方の各都市における
1000人/km²以上のメッシュ数
(面積)

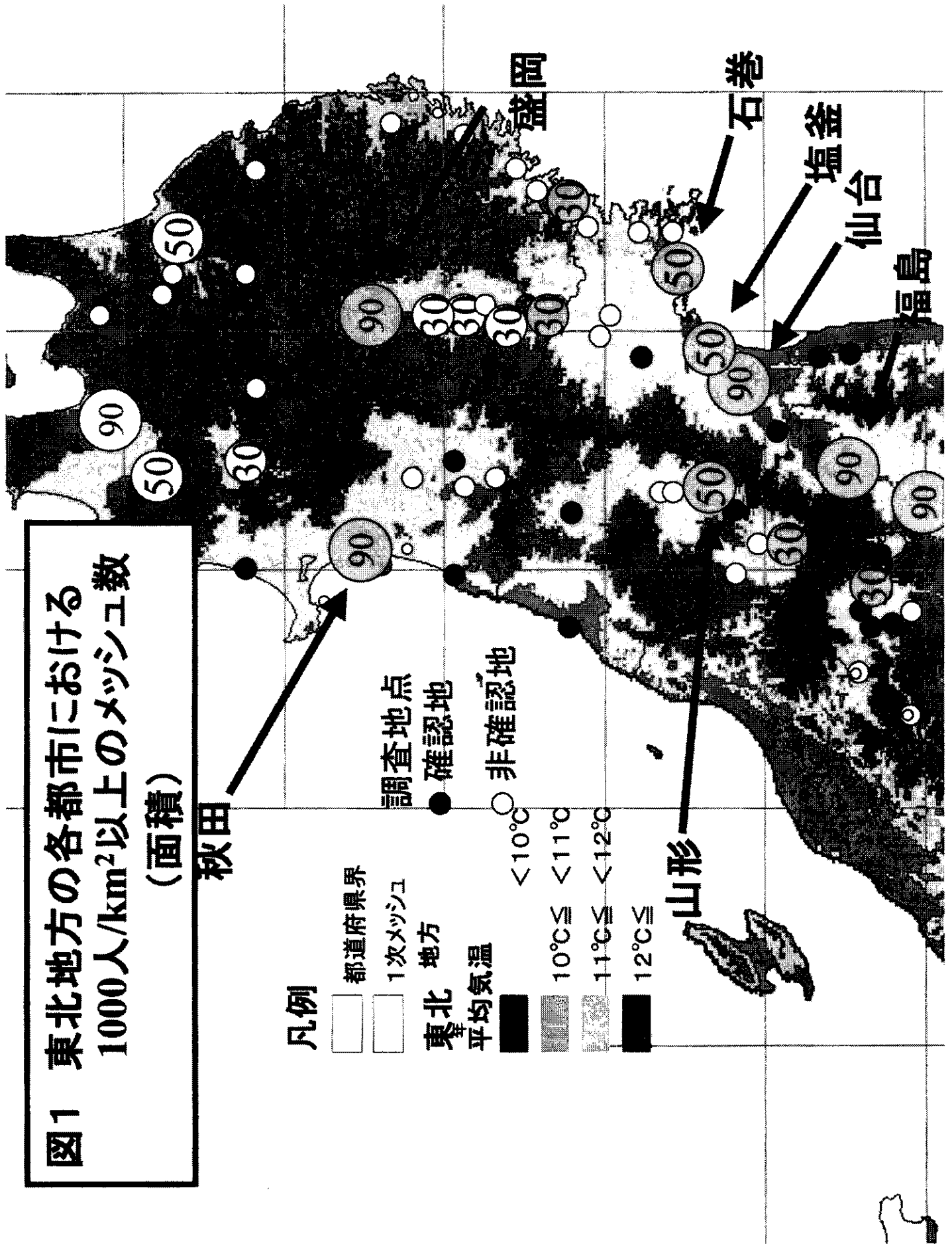


図2 *Ascogregarina* spp. オーシストからのDNA抽出法

NaClO によるオーシスト外壁の除去



N-lauroylsarcosine / Proteinase K / EDTA による

オーシスト内壁・スポロゾイト膜の溶解



CTABによる多糖類の選択的除去



フェノール/クロロホルム抽出



エタノール沈澱



図3 2種 *Ascogregarina* rDNA の全塩基配列

A.culicis/Thailand	1	CGAATCAACCTGGTTGATCCTGCCAGTAGTCATATGCTTGTC	100
A.culicis/Vietnam	1	100
A.taiwanensis/India	1	100
A.taiwanensis/Japan	1	100
A.culicis/Thailand	101	GGCTCATTACAACAGTATAAATTCOCGTGAATATAATTACTACACGGATAACCGTGGTAAATTCGGAGCTAATACGTGCATAACGCTGGACCTCACGGAA	200
A.culicis/Vietnam	101	200
A.taiwanensis/India	101A.....	200
A.taiwanensis/Japan	101A.....T.....	200
A.culicis/Thailand	201	AAGCGGCACTTATTAGATTGAGAAGTAACCCATGCTTGCATGGTGTGGATGATCCATAAAGTTGGTGAATGCATGGCTACGGCTGGCGATAGTTC	300
A.culicis/Vietnam	201	300
A.taiwanensis/India	201G.....	300
A.taiwanensis/Japan	201	G.....	300
A.culicis/Thailand	301	ACTTAAGTTTCTGACCTATCAGCTTTCGACGGTAGGGTATTGGCTACCGTGGCATTGACGGGTAACGGGGAAATAGGGTTTGATCCGGAGAGGGAGCC	400
A.culicis/Vietnam	301	400
A.taiwanensis/India	301	400
A.taiwanensis/Japan	301	400
A.culicis/Thailand	401	TGAGAAACGGCTACCACATCTAAGGAAGGCAGCAGCGCGCAAATACCCAATACGAAACGAAACGAGGAGTAGTGCATGAAATCAATGCAGAACTAT	500
A.culicis/Vietnam	401	500
A.taiwanensis/India	401	500
A.taiwanensis/Japan	401	500
A.culicis/Thailand	501	TTGTTTTCGAATGGAAATGAGTAAATCTAAACCCCTTAACAAGTATCAATGGAGGGCAAGTCTGGTCCAGCAGCCGGTAAATCCAGCTCCAATAG	600
A.culicis/Vietnam	501	600
A.taiwanensis/India	501	600
A.taiwanensis/Japan	501	600
A.culicis/Thailand	601	CGTATATAAAGTTGTGTCAGTTAAAACGCTCGTAGTTGAATTTTGTGTACGAAACTCGGCTTGACTCAGCTTTGTTCTCTGTTTCTGACAACATG	700
A.culicis/Vietnam	601	700
A.taiwanensis/India	601TCG.....	700
A.taiwanensis/Japan	601TCG.....	700
A.culicis/Thailand	701	TCTGATCTGTTATCACTTAACCTGCTAATGGTATCAGAGAGCTTACTTTGAATAAAGTAGAGTGTTCGAAGCAGGATTACGGCTTGAATACTCCAG	800
A.culicis/Vietnam	701G.....G.....G.....	800
A.taiwanensis/India	701C.....G.....G.....G.....	800
A.taiwanensis/Japan	701T.....G.....G.....G.....	800
A.culicis/Thailand	801	CATGAATAACAAATGAGAAGTACAGGTTCTTCTGTTGGTTCAAGAGCCAGATTAATGATTAATAGGACAGTTGGGGCATTCTGATTTGGTAGCTAGA	900
A.culicis/Vietnam	801	900
A.taiwanensis/India	801G.....	900
A.taiwanensis/Japan	801	900
A.culicis/Thailand	901	GGTGAATTCCTAGATTGCCAAGACGAACTACTGCGAAGCATCTGCCAGGAATGTTTTCATTAAATCAAGAACGAAAGTAGGGGATCGAAGACGATC	1000
A.culicis/Vietnam	901	1000
A.taiwanensis/India	901	1000
A.taiwanensis/Japan	901	1000
A.culicis/Thailand	1001	AGATACCGTCGTAGTCTTAACCATAAACGATGCCACTAGAGATTGGAAGTTGTCACATATATGCCTCTTTCAGCACCTTATGAGAAATCAAAGTCTTTG	1100
A.culicis/Vietnam	1001A.....	1100
A.taiwanensis/India	1001	1100
A.taiwanensis/Japan	1001	1100
A.culicis/Thailand	1101	EGTCTGGGGGAGTATGGTCGCAAGTCTGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGG	1200
A.culicis/Vietnam	1101	1200
A.taiwanensis/India	1101	1200
A.taiwanensis/Japan	1101	1200
A.culicis/Thailand	1201	AAACTCACCAGGTCAGACATGGGAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTCTTGTATTCTATGGGTGGTGGTCAATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGA	1300
A.culicis/Vietnam	1201	1300
A.taiwanensis/India	1201	1300
A.taiwanensis/Japan	1201	1300
A.culicis/Thailand	1301	TTTGCTGGTTAATTCOCGTTAACGAACGAGACTTTAACCTGCTAAATAGACACCAAAGCTACGGCTTTGGCTGCGCTTCTTAGAGGGACTTTACGTGTTT	1400
A.culicis/Vietnam	1301	1400
A.taiwanensis/India	1301	1400
A.taiwanensis/Japan	1301	1400
A.culicis/Thailand	1401	AACGTAAGGAAGTTAAGGCAATACAGGCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGACGCGGCTACACTGATGCATTCACAAAGTATTTCCTGATC	1500
A.culicis/Vietnam	1401	1500
A.taiwanensis/India	1401	1500
A.taiwanensis/Japan	1401	1500
A.culicis/Thailand	1501	TGGCAGGTTGGGTAATCTTTGAGTATGCATCGTGTGGGATAGATGATGTAATTATTCATCTTGAACGAGGAAATTCCTAGTAAGCGCAAGTCATTA	1600
A.culicis/Vietnam	1501	1600
A.taiwanensis/India	1501	1600
A.taiwanensis/Japan	1501	1600
A.culicis/Thailand	1601	GCTTGTGCTGATTATGTCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCCGTTCAATCGACTGGATGATCCGGTGAATGACTCGGACTGACGAAGAGGTGGAAC	1700
A.culicis/Vietnam	1601G.....	1700
A.taiwanensis/India	1601A.....	1700
A.taiwanensis/Japan	1601A.....	1700
A.culicis/Thailand	1701	ATCTCTTTGTTGGAAGTTTGTGAACCAATCATCTGAAGAATGAAAAGTCGTAACACCGTATCCGTAGGTGAACCTGCAGAAGGATCAGGATCCGG	1799
A.culicis/Vietnam	1701	1799
A.taiwanensis/India	1701	1799
A.taiwanensis/Japan	1701T.....	1799

図4 *Ascogregarina* spp. SSU rDNAの塩基配列の解析および種間に認められる塩基配列の差(矢印)

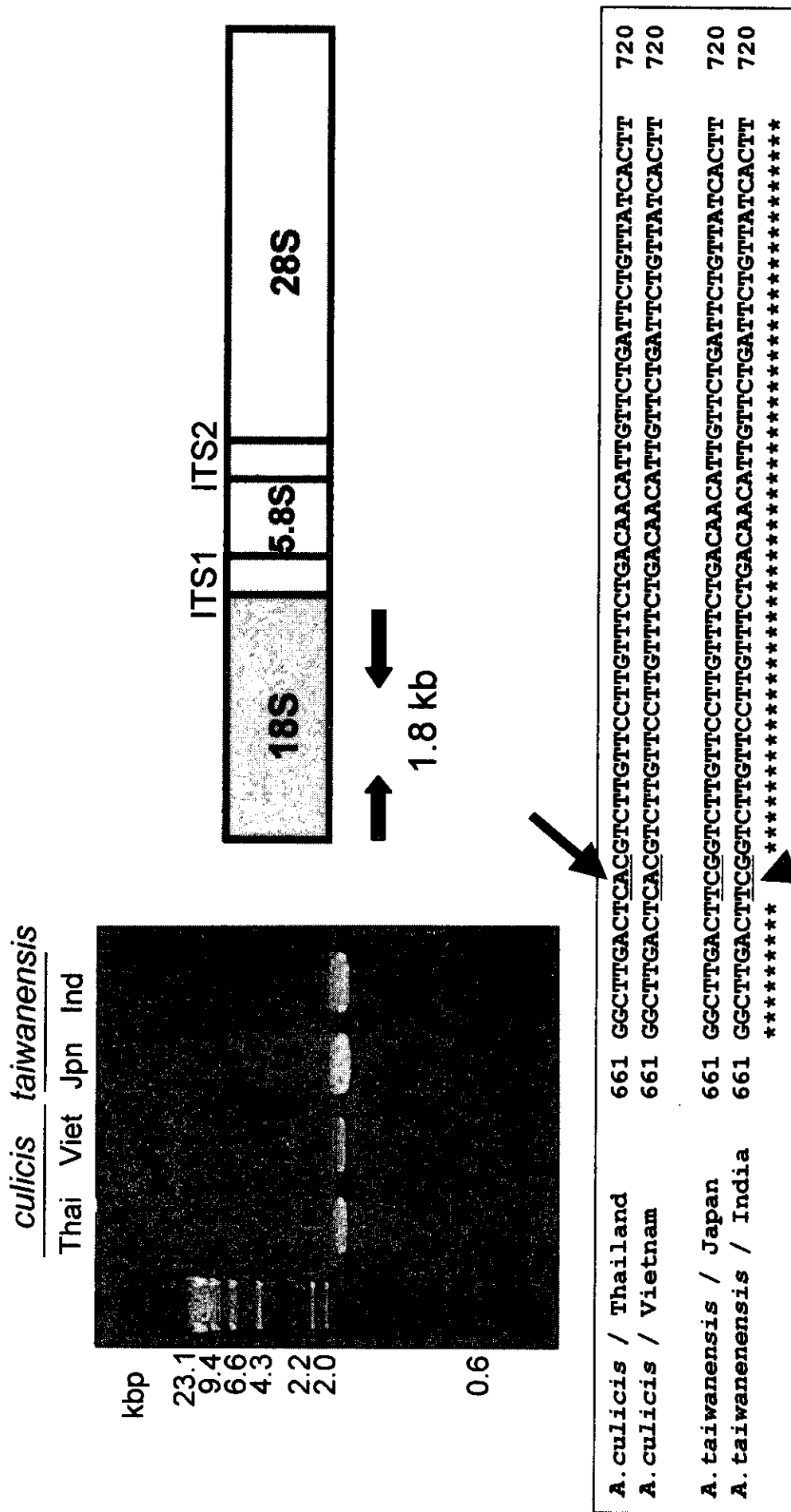
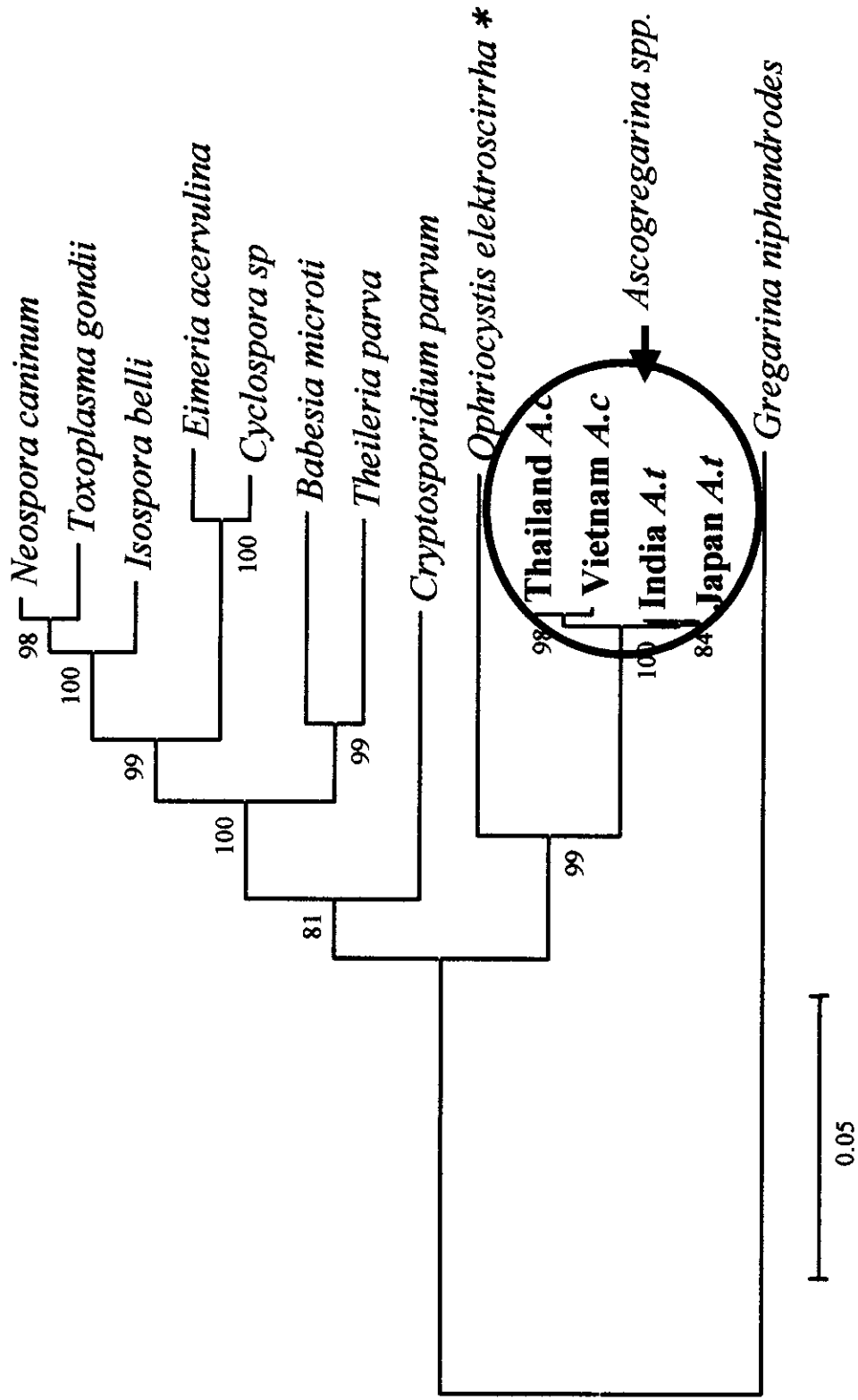


図5 Apicomplexa NJ 系統樹 (SSU rDNA塩基配列より推定)



* 鱗翅目昆虫寄生の*Gregarina*原虫

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

（分担） 研究報告書

日本産蚊類のアルボウイルス媒介能ならびに感受性

分担研究者 江下優樹（大分大学医学部）
協力研究者 安西三郎、Srisawat Raweewan、多森直樹（大分大学医学部）
高崎智彦、倉根一郎（国立感染症研究所）
内田幸憲（神戸検疫所）
高島郁夫（北海道大学大学院獣医学研究科）

研究要旨： わが国でのアルボウイルス感染症の勃発時における蚊防除対策の一環として、日本に生息する蚊のウエストナイルウイルス(WNV)媒介と、デングウイルス(DEN)感受性試験を行った。WNV 感染アカイエカ *Culex pipiens pallens* の刺咬後に発症したマウスの尾静脈血から WNV ゲノムが検出された。また、感染蚊 1 個体の刺咬によってマウスが発症した。琉球列島産ミヤラシマカ *Aedes flavopictus miyarai* の DEN2 型感受性を調べた。経口感染による感染率は約 30%であった。ミヤラシマカの感染率は日本産ヒトスジシマカ *Ae. albopictus* のそれと大差なかったことから同様なウイルス感受性を持つと推察される。

A. 研究目的

ウエストナイル熱は、アフリカ、アジア、ヨーロッパに常在するウエストナイルウイルス(WNV)感染蚊の人刺咬・吸血によって起こるアルボウイルス性疾患である。近年、北アメリカでの本症勃発以来、わが国への侵入が危惧されている。わが国における WNV の主要媒介蚊と目されるアカイエカ群 (*Culex pipiens complex*) のうち、チカイエカ *Cx. p. molestus* とネッタイエカ *Cx. p. quiquefasciatus* の本ウイルス感受性ならびに媒介能についての検討例はある。しかし、我国に生息するアカイエカ *Cx. p. pallens* の検討はな

れていなかった。我々は、本州を用いて既に、WNV 感受性であることを観察した。日本国内に生息するアカイエカが WNV に感受性であることから、WNV 感染アカイエカが刺した実験動物体内でウイルスが増殖するかどうかを検討した。

デング出血熱は、熱帯亜熱帯地域の国々で特に小児の出血性ならびにショックを伴った重篤な症状を示す疾患である。1940 年代には我が国でも流行した疾患である。日本に生息する媒介能をもつ蚊種として、ヒトスジシマカ *Aedes albopictus*、ヤマダシマカ *Ae. flavopictus flavopictus*、リバーズシマカ *Ae. riversi*、そしてセスジヤブカ

Ochlerotatus dorsalis の4種類が報告されている。前3種はシマカ亜属に属しており、これら以外にも数種類の同亜属の蚊が日本に生息している。沖縄に生息するミヤラシマカ *Ae. flavopictus miyarai* と北海道に生息する *Ae. galloisi* のデングウイルス感受性を検討した。

B. 研究方法

B. 1. アカイエカに対するウエストナイルウイルスの伝播試験 (実験1)

ウイルス: 国立感染症研究所から分与されたウガンダ産ウエストナイルウイルス (2-3 x 10⁷ pfu/ml) を用いた。分与されたウイルスに感染した C6/36 蚊培養細胞の上澄液からストックウイルスを準備して、実験に供した。

供試蚊: 感染実験に用いたアカイエカは、大阪市内の道路側溝で採集された後、キンチョウ研究所で継代中のものの分与を受けて、実験に供した。

供試マウス: 媒介試験には、麻酔した BALB/c マウスの雌を使用した。なお、本実験を行うに際して、大分大学医学部実験動物委員会の承認を得ている。

蚊の飼育: 25°C、日長 14 時間の飼育室内で蚊の飼育を行った。幼虫の餌として、エビオスと粉碎したマウス固形飼料を等量ずつ混合したものを乳ばち内で水を加えて液状にして幼虫に与えた。幼虫の密度は 7 平方 cm あたり幼虫 1 個体と低密度にして、ホーロー製容器を使って飼育した。羽化成虫には 4% の砂糖水を与えて飼育を行い、羽化 5 日〜6 日後に実験に供した。

ウイルス感染蚊の作製: 蚊胸部接種感染では、約 0.2ul (4-6 x 10³ pfu/0.2ul) のウエス

トナイルウイルス液を、羽化 5-6 日後のアカイエカ雌成虫の胸部側板内に接種した。感染蚊は、3 重の飼育容器内に密封して 28°C で 14 日間飼育を行った。ウイルス媒介試験に供試蚊を用いた後、-20°C で飼育容器を 30 分程保管して蚊を生殺した。後日、ウイルスゲノムの有無を RT-PCR 法で確認するまで -80°C に保存した。

ウイルス媒介試験の手順: WNV 感染後 14 日経過した雌蚊の入った飼育容器のメッシュカバーを介して麻酔したマウスから吸血の機会を約 1 時間蚊に与えた。その間、吸血した蚊の数をマウス毎に記録した。マウスは 2 週間観察を行い、異常な症状の認められたマウスはその尾静脈から 20ul 採血して、ウイルスゲノムの有無を確認するまで -80°C に保管した。

マウスの血液および蚊からの WNV ゲノム RNA の精製: 感染蚊から総 RNA を抽出するために、Isogen-LS (日本ジーン社製) を使用した。抽出の手順は日本ジーン社の説明書に従った。抽出した総 RNA ペレットは 10ul の RNase を含まない蒸留水に溶解した後、実験に使用するまで -80°C に保存した。

感染蚊の総 RNA の再精製: RT-PCR の特異性と感度を高めるために、Isogen-LS で抽出/精製した総 RNA を、さらにカラム精製 (RNeasy Mini Kit, QIAGEN 社製, Cat. #74103) した。精製手順は QIAGEN 社の説明書に従った。その最終段階では、50 ul の RNase free の蒸留水をカラムに加えて溶出した後、実験に使用するまで -80°C に保存した。

RT-PCR 法: RT-PCR 法の手法を簡便化するために、one step RT-PCR 法 (One Step RT-PCR system with Patinum Taq DNA polymerase,

Invitrogen company)を用いて、マウス血液あるいは蚊からの WNV ゲノムの検出を行った。ちなみに、ウエストナイルウイルスに特異的プライマー、WN-S3 : 5' CACAGCGGGCTTTACTATCT 3' および、WN-C3 : 5' CATTTCAGCAGCTAGGACC 3' (Castle *et al.*, 1985 ; Wengler *et al.*, 1985) を用いて、229bp の PCR 産物の有無を調べた。RT-PCR の反応条件として、RT 反応 : 53°C 30 分、PCR 反応 : (1 回) 94°C 1 分, (35 回) 94°C 30 秒、53°C 30 秒、68°C 1 分、(1 回) 68°C 2 分 を設定して、MJ Research 社の PCR 増幅装置を使用した。さらに、PCR 産物の有無は 2% アガロース Q ルで泳動して特異的な PCR 産物の大きさを確認した。その後、その PCR 産物の塩基配列を調べて、WNV ウイルスの塩基配列と比較した。

塩基配列の解析 : PCR 産物の塩基配列解析には、ABI 310 (アプライドバイオシステムジャパン社) を使った。鋳型 DNA の調整などは、アプライドバイオシステムズ社の手引きに準じて試料を作成した。

B. 2. ミヤラシマカに対するデングウイルスの感受性試験 (実験 2)

ウイルス : タイ国産デングウイルス (108 pfu/ml) を用いた。ウイルスに感染した C6/36 蚊培養細胞の上澄液からストックウイルスを準備して、実験に供した。

供試蚊 : 感染実験に用いたミヤラシマカは、佐賀大学医学部の茂木博士が沖縄県石垣島で採集後に継代飼育された後、大分大学に分与されたものを実験に供した。なお、比較のために、福岡県久留米市産 (旭町) のヒトスジシマカ、タイ国産のネッタシマカを使用した。

蚊の飼育 : 5°C、日長 14 時間の飼育室内で蚊の飼育を行った。幼虫の餌として、エビオスと粉碎したマウス固形飼料を等量ずつ混合したものを乳ばち内で水を加えて液状にして幼虫に与えた。幼虫の密度は 7 平方 cm あたり幼虫 1 個体と低密度にして、ホーロー製容器を使って飼育した。羽化成虫に 4% の砂糖水を与えて飼育を行い、羽化 5 日〜6 日後に実験に供した。

ウイルス感染蚊の作製 : ミヤラシマカの蚊胸部接種感染では、約 0.2ul (4-6 x 10³ pfu/0.2ul) のデングウイルス液を、羽化 5-6 日後の雌成虫の胸部側板内に接種した。また、経口感染では、PBS で 3 回洗ったヒト赤血球 (遠心後、上澄を除いた packed red blood cell) にほぼ等量のウイルス液を加え、最終濃度 4% の蔗糖を加えた。ちなみに充分量のウイルス液を 2ul とすると、取込んだウイルス量は 4-6 x 10⁴ pfu/2ul となる。感染蚊は、3 重の飼育容器内に密封して 15〜28°C で 14 日間飼育を行った。その後、-20°C で飼育容器を 30 分程保管して蚊を生殺した。後日、実験に用いるまで -80°C に保存した。

感染蚊の総 RNA の再精製 : RT-PCR の特異性と感度を高めるために、Iosgen-LS で抽出/精製した総 RNA を、さらにカラム精製 (RNeasy Mini Kit, QIAGEN 社製, Cat. #74103) した。精製手順は QIAGEN 社の説明書に従った。その最終段階では、50 ul の RNase free の蒸留水をカラムに加えて溶出した後、実験に使用するまで -80°C に保存した。

RT-PCR 法 : RT-PCR 法の手法を簡便化するために、one step RT-PCR 法 (One Step RT-PCR system with Patinum Taq DNA polymerase, Invitrogen company) を用いて、蚊からの DEN ゲ