

20030533

厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

感染症媒介ベクターの実態、生息防止対策に関する研究

平成15年度総括・分担研究報告書

平成16年3月

主任研究者 小林睦生
国立感染症研究所 昆虫医科学部

目 次

I. 総括研究報告書

感染症媒介ベクターの実態、生息防止対策に関する研究

小林睦生	1
------	---

II. 分担研究報告書

1. 北海道能取湖におけるドライアイストラップによる蚊の捕集

小林睦生	21
------	----

2. 北関東における野生蚊の季節消長

松岡裕之	29
------	----

3. 千葉県における感染症媒介力の生息実態調査

藤曲正登他	33
-------	----

4. 東京都の公園における疾病媒介蚊の発生状況

津田良夫他	45
-------	----

5. 都市域における疾病媒介蚊相の調査

津田良夫他	57
-------	----

6. 横浜市における媒介蚊発生調査

金山彰宏他	69
-------	----

7. 京浜工業地帯近隣および郊外緑地地帯の住宅地における蚊発生調査とその対策について

新庄五朗他	81
-------	----

8. 富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査

渡辺 護他	105
-------	-----

9. 大阪府における感染症媒介蚊の発生調査

吉田政弘他	121
-------	-----

10. 沖縄県における疾病媒介蚊に関する調査研究

當間孝子	141
------	-----

11. ウエストナイルウイルス媒介蚊の殺虫剤感受性調査および 抵抗性簡易検出法の確立 富田隆史他	149
12. 蚊の吸血嗜好性と本邦産蚊におけるウエストナイル(WN)ウイルス 感受性 澤邊京子他	167
13. 蚊からの日本脳炎ウイルスの検出 高崎智彦他	179
14. トリインフルエンザ流行地の昆虫学的調査 (2004 年) 津田良夫他	185
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	193

感染症ベクターの実態、生息防止対策に関する研究

主任研究者 小林 睦生 国立感染症研究所昆虫医科学部

研究要旨

1) 成虫および幼虫調査

東京、埼玉、千葉、神奈川、富山、大阪等でドライイストラップを設置して、5月から10月にかけて成虫の捕集をおこなった。捕集蚊は、アカイエカ、ヒトスジシマカが主であるが、地方ではコガタアカイエカ、ハマダライエカ、カツライエカ、オオクロヤブカ、キンイロヤブカ等が捕集された。全体に捕集蚊の数は各トラップで大きく異なり、周辺環境と設置場所が関係したと思われる。都市部の捕集蚊はアカイエカとヒトスジシマカがほとんどで、これらの蚊は WNV の媒介蚊であることから、平時からの発生源対策の必要性が示された。幼虫の発生状況調査は、東京、川崎、横浜、大阪を中心に行われた。公園や道路の側溝にある雨水マスがアカイエカとヒトスジシマカの発生源となっていることが明らかとなった。東京都内の公園にある雨水マスの有水率は 32.6-42.0%で、幼虫発生が確認されたマスの割合は 6.6-21.5%、神奈川県での有水マスの割合は 11-89%と大きく異なり、幼虫発生が見られた雨水マスの率は 11-14%であった。大阪府では夏季に 140ヶ所の雨水マスが調査され、有水マスの割合は 47-92%と高く、有水マスにはほとんどアカイエカとヒトスジシマカの幼虫が発生していた。

2) 野外捕集蚊からのウイルスの検出

ドライイストラップで捕集された蚊からのウイルスの検出を試みた。捕集された蚊 7,281 匹から 320 プールを作成し、C6/36 の細胞に接種し、ウイルス分離を行った。36%のプールが PCR 法でフラビウイルスの陽性反応を示し、野外捕集蚊において、相当高率にある種のウイルスの感染が確認された。WNV 特異的な PCR 法は全て陰性で、現在のところ我が国では WNV の侵入は起こっていないと考えられる。一方、アカイエカ 7 プールおよびヒトスジシマカ 4 プールから日本脳炎 (JE) ウイルスゲノムが検出された。我が国の都市部で捕集された蚊から JE ウイルス遺伝子が検出された事実は、JE ウイルスの疫学に新しい問題を投げかけた。

3) 吸血源動物の同定について

トラップで捕集された腹部（中腸）に血液を持っている蚊に関してミトコンドリア DNA チトクローム b 領域の部分塩基配列の解析から種の同定をおこなった。アカイエカ 69 匹の解析では、73%が鳥類のみ、12%がほ乳類のみ、14%が両方から吸血していることが明らかとなった。鳥類の内訳は、62%がカモ類、23%がスズメ類を吸血しており、その他カワラヒ

ワ、ムクドリ、シジュウカラ、モズ、カラスがそれぞれ1個体ずつであった。また、哺乳動物では人が94%と圧倒的に多かった。この結果は、我が国のアカイエカ(*Culex pipiens pallens*)は野鳥の吸血嗜好性が高く、また、人に対しても高い吸血嗜好性があることを示しており、WNVの橋渡し役になる可能性が高いことが明らかとなった。

4) 殺虫剤感受性試験の結果

都市部の市街地で採集したヒトスジシマカ10コロニー、アカイエカおよびチカイエカ(アカイエカ種群)の15コロニーについて、有機りん系、ピレスロイド系、昆虫成長制御剤を用い、幼虫の殺虫剤感受性試験を行った。アカイエカ種群では、エトフェプロックスで、相当高い抵抗性を示すコロニーが見つかった。同薬剤の作用点であるナトリウムチャンネルの遺伝子解析の結果、膜貫通セグメント6にアミノ酸置換が認められ、典型的なノックダウン抵抗性型遺伝子配列が確認された。また、都内の品川区で採集されたアカイエカのコロニーから、同部位に異なるアミノ酸置換を持つ、kdr様遺伝子が日本産アカイエカ種群で初めて確認された。

分担研究者

津田良夫	国立感染症研究所室長
澤邊京子	国立感染症研究所室長
富田隆史	国立感染症研究所室長
高崎智彦	国立感染症研究所室長
松岡裕之	自治医科大学 助教授
新庄五朗	日本環境衛生センター部長
藤曲正登	千葉県衛生研究所室長
當間孝子	琉球大学医学部助手

A. 研究目的

1999年にニューヨークで突然発生したウエストナイル脳炎は西半球では初めての流行である。本来、ウエストナイルウイルス(WNV)は野鳥と蚊との間でサイクルが回っており、アフリカでの患者発生の報告はあまり見られない。米国では、1999-2001年にかけては、WNVの活動範囲は広がったものの、患者数は20-60名ほどを推移する程度で、死亡者も15名ほどであった。し

かし、2002年に患者数が急激に増加し、ミシシッピ川周辺の諸州で多数の患者が発生し、米国全体で4,000名を越す患者が発生し、240名が死亡した。2003年も同様に全米的に患者の発生が見られ、特にコロラド州では2,000人以上の患者が発生し、全体では9,000名を越す患者が発生し、200名以上が死亡した。米国における蚊媒介性ウイルス感染症の流行の中で、最大の患者数と死者を記録する結果となっている。

米国でのウエストナイル熱の流行は、先進諸国でおこった蚊媒介性感染症であり、その対策の実態を把握することは、将来、WNVが我が国へ侵入した場合を考えると有益である。その他、ベクターが関係する感染症として、デング熱、マラリア等の重要な疾患がある。デング熱に関しては数年おきに世界的流行が起り、2002年には台湾南部の高雄市を中心に5,000人を越す流行が起り、デング出血熱患者も240名ほど報告され、21名が死亡している。高雄市での媒

介蚊は主に住宅密集地域に発生していたネッタイシマカであったが、徹底的な媒介蚊対策を行っており、現在、媒介蚊の密度は相当低い状態に保たれている。マラリア（熱帯熱マラリア）はアフリカのサハラ砂漠以南の諸国で猛威を振るっており、乳幼児の主要な死亡原因となっている。また、タイ、ミャンマー、カンボジア、中国南部の山間部および平野部においても、熱帯熱マラリアと三日熱マラリアの患者が多数発生しており、依然、我が国の驚異となっている。また、韓国では1993年から非武装地帯を中心に三日熱マラリアが流行し、軍人のみならず民間人にも2,000名を越す患者が発生した。このように、我が国を取り巻く節足動物媒介性感染症の流行状況は常にある種のリスクを伴っており、我が国の媒介昆虫が関係する感染症に関しては平時からの対策が重要と考えられる。

我が国での媒介蚊が関係する感染症としては、1942年のデング熱の17,000名規模の流行、戦後マラリアの一時的な流行、1960年代の日本脳炎の流行が知られているが、1990年代以降は蚊が媒介する感染症の大きな流行がなく、媒介蚊対策は重要性を軽視する傾向が各自治体で見られている。WNVが万が一我が国に侵入した場合には、ウイルスの増幅動物としての野鳥や伝播可能な媒介蚊の存在を考えると、相当広範囲にWNVが広がる可能性が危惧される。現在、地方自治体で媒介蚊の発生状況調査を行っている機関は一部の府県に限られており、調査目的としては日本脳炎ウイルスの流行予測に関連する蚊の捕集で、郊外の水田地帯にある牛舎や豚舎での調査である。しかし、WNVの我が国への侵入を想定し

た場合、人口密度が高い都市部の媒介蚊の発生状況調査が必要で、現在、ほとんどの自治体では行われていない。これらの問題点を踏まえ、本厚生労働科学研究事業においては、都市部での蚊の発生状況を、幼虫調査、成虫のトラップによる捕集を中心にを行い、どのような種がどの程度発生しているかを明らかにする。また、野外の蚊における殺虫剤感受性がどの程度かを、全国規模で幼虫を採集し、生物検定、分子生物学的解析を行い、どのタイプの殺虫剤が効率の良い防除に使用できるかを明らかにする。WNVは野鳥と人を吸血する蚊によって伝播されるが、我が国の都市部に普通に存在するアカイエカ、ヒトスジシマカ等の吸血源動物がどのような種類か明らかにされていない。そこで、我が国の媒介蚊の吸血嗜好性を明らかにし、WNVを野鳥と人との間で橋渡しする蚊(Bridge vector)を明らかにする。本研究事業において、各地で捕集された蚊からWNVの検出を試み、現時点でのWNVの活動をモニターする。これらの事業を行うことによって、我が国の媒介蚊の発生状況、殺虫剤抵抗性の発達状況、捕集蚊のWNV保有状況、媒介蚊としての能力が明らかとなり、平時からの媒介蚊対策の重要性、防除対象とすべき蚊の種類、都市部における蚊の防除方針等が明らかになると考えられる。

B. 研究方法

1) 成虫の発生状況調査

東京都、埼玉県、千葉県、神奈川県、富山県、大阪府、沖縄県、北海道で蚊の成虫および幼虫の調査をおこなった。成虫に関しては、ドライアイストラップ(猪口鉄工)、

ライトトラップ、人囿法、モスキートマグネット(蚊成虫捕集装置)を用いて行った。ドライアイストラップは電池でファンが回るタイプで、電源がない場所での捕集に適している。発泡スチロールに1kgのドライアイスを入れ、トラップとほぼ同じ高さに設置した。夏季の高温時においても、約24時間はドライアイスが残っていた。トラップの設置は原則として、5月から10月まで週1回行ったが、一部は周年継続した。設置場所の違いが捕集数に与える影響も、同地点に複数設置することによって明らかにした。トラップで捕集された蚊はドライアイスで殺し、種の同定を行って、日付ごとに冷凍庫に保存し、その後のWNV検出に供した。人囿法は両足の膝下を露出して、10-30分間吸虫管で捕集した。また、北海道での人囿法では、ズボンの上に吸血のために飛来した蚊を吸虫管で捕集した。

2) 幼虫の発生状況調査

蚊の幼虫は、公園、道路側溝にある雨水マスを中心に行った。各地の調査地区を地図上で設定し、現地で側溝の雨水マスの場所、水の有無を記録し、水が溜まっている雨水マスは、柄杓で500-700mlの水を掬い取り、そこに含まれている幼虫の数をガイドラインの判定方法にそって記録した。また、幼虫を各研究室に持ち帰り、種の同定を行い、必要に応じて成虫まで育て、より詳細な分類を行った。また、一部の幼虫は、殺虫剤に対する抵抗性発達状況を調査するために、1世代飼育し、生物学的検定に供した。

3) 野外捕集蚊からのウイルスの検出

フラビウイルスの検出法は種々知られているが、北海道、関東地区、富山、大阪等で捕集された蚊成虫20種類、7,281匹から320プールを作成し、MEM培地で磨砕後、ヒトスジシマカ由来の細胞株であるC6/36に接種し、7日間培養した。培養上清を再度新しい培地に接種し、細胞変性(CPE)を確認した。継代培養上清からウイルスRNAを抽出し、フラビウイルス特異的な塩基配列をプローブにしてRT-PCRを行った。また、PCRの陽性産物はダイレクトシークエンスで塩基配列を解読した。一部の培養上清は、日本脳炎ウイルス(JEV)の検出のために、ウイルスI部でリアルタイムPCR用に開発された反応系でJEVの検出を試みた。

4) 吸血源動物の同定

トラップの成虫捕集では、腹部(中腸)に血液をもった雌蚊が含まれている。ライトトラップではその捕集数が多いが、ドライアイストラップでは全体の捕集数の1%未満である。これらの蚊の頭部を取り除いた後、虫体からフェノール・クロロホルム法およびPUREGENE DNA Purification kitを用いてDNAの抽出を行った。ミトコンドリアDNAのチトクロームb領域をPCR法により増幅し、ダイレクトシークエンスにより塩基配列をABI PRISM 310 Genetic Analyzer, PE Biosystemsで解析した。野鳥と哺乳動物が吸血源と予想されたため、それぞれに関してプライマーを作成した。得られた配列はBLAST検索によりGenBankに登録されている配列情報と比較し、種の同定をおこなった。一部は完全な種の同定が不可能な検体があり、その

場合には相同性のパーセントを種類名の前に付記した。なお、アカイエカ、ヒトスジシマカおよびコガタアカイエカの3種類を中心に吸血源動物の同定を試みた。

5) 殺虫剤感受性試験

アカイエカ種群（アカイエカ、チカイエカ）の幼虫または成虫を採集し、1代以上室内飼育した幼虫を検定に用いた。野外で採集されたチカイエカ成虫は、次世代の幼虫を用い、採集された幼虫の場合には、無吸血で産卵された卵からの幼虫を用いた。なお、殺虫剤の感受性系統としては、国立感染症研究所で継代されているアカイエカおよびチカイエカを対照系統として用いた。幼虫の殺虫試験では、フェニトロチオン（原体と10%乳剤）、テメフォス（原体と5%水和剤）、エトフェンプロックス（原体）、ジフルベンズロン（ディミリン水和剤25%）、ピリプロキシフェン（シントースミラブS粒剤0.5%）を用いた。4齢幼虫約30匹を直径6cm、容積100mlのプラスチックカップにいれ、蒸留水49.75mlにエタノールに溶解した各薬剤0.025mlを添加して行った。フェニトロチオン、テメフォス、エトフェンプロックスは処理開始後24時間に死亡率を判定し、ジフルベンズロンとピリプロキシフェンの効力は羽化阻止率により判定した。

遺伝子による抵抗性発達状況の調査では、幼虫または成虫よりDNAを抽出し、ナトリウムチャンネル遺伝子のDII-S6コード領域をF1CqSCとR19CqSCのプライマーを用いてPCRで増幅した。産物はTA Cloning kitを用いてクローニングし、クローン化した遺伝子配列を解析した。増幅さ

れた遺伝子断片を鋳型として、内側の配列を増幅するプライマーセットを用いて配列を増幅した。

C. 研究結果

1) 都市部における蚊の発生状況調査

a. 成虫の調査結果

東京、埼玉、千葉、神奈川、富山、大阪等でドライアイストラップを設置して、成虫の捕集を行った。一部の地域は設置期間が短い、多く場合は5月から10月まで週1回の調査が行われた。トラップの設置環境は、戸建て住宅と高層住宅とがあり、捕集数を単純に比較することはできない。しかし、戸建て住宅でも、全体の捕集数に相当の差が認められた。捕集蚊の種類としては、アカイエカ、ヒトスジシマカ、が主であるが、千葉県の仁戸名では、上記2種以外にコガタアカイエカ、ハマダライエカ、カツライエカ、オオクロヤブカ、キンイロヤブカが加わり、種類数が多い。これは、都市の環境とトラップ周辺の環境が関係していると思われる。また、神奈川県各市街地の住宅での成虫捕集において、アカイエカおよびヒトスジシマカの捕集数に大きな違いが認められ、トラップの設置位置やその周辺環境の影響が捕集数に反映する。しかし、関東地区の多くの捕集結果から判断して、地域による明らかな差が存在することが明らかになった。

トラップの種類による捕集数の違いを検討した。ドライアイストラップ、ライトトラップ、ライトトラップ+ドライアイスの組み合わせで行われたが、従来のライトトラップは、吸血昆虫以外の昆虫類が多数捕集されることが大きな問題である。千葉県

の調査結果では、ドライイストラップのアカイエカ捕集数が429匹であったが、ライトトラップでは139匹と明らかな差が認められた。ヒトスジシマカの捕集数に関しても、ドライイストラップが多い傾向が認められたが、キンイロヤブカ、シナハマダラカ、コガタアカイエカではライトトラップの捕集数が多い傾向が認められた。

感染研でのトラップの捕集結果全体をまとめたが、アカイエカ種群の捕集に関する季節消長は6月から7月にかけてピークがあり、その後徐々に減少する。一部の地域の捕集では9月に第2のピークが認められるが、全体としては明瞭ではない。ヒトスジシマカの発生消長は5月中旬以降から捕集数が増加し始め、8月下旬から9月中旬に捕集数がピークに達する。その後、急速に捕集数が減少し、10月中旬以降はほとんど捕集されなくなる。

トラップの設置の高さを感染研と富山市で検討した。感染研では、地上約8mの樹幹部と地上1mに設置し、捕集数の比較を行った。その結果、地上1mでのアカイエカの捕集数は51匹だったが、樹幹部では483匹が捕集され、圧倒的に高い位置での捕集数が多かった。これは、アカイエカが野鳥を好んで吸血する性質を反映していると思われ、野鳥との接点が明らかとなった。一方、ヒトスジシマカは、地上1mの捕集数が476匹であったが、樹幹部では26匹しか捕集されなかった。アカイエカと全く反対の結果であった。しかし、少数ではあるが、ヒトスジシマカも樹幹部で捕集されたことが明らかとなり、野鳥を吸血する可能性を考えると重要な結果である。今回の成虫調査において、従来アカイエカの季

節消長と異なる捕集結果を示したトラップがあった。この場合、9月下旬から11月上旬に大きなピークがあり、11月初旬の1日当たりの捕集数が約80匹に達した。そこで、捕集蚊を研究所に持ち帰り、吸血後産卵させ、次世代の雌成虫で無吸血産卵が見られるかを検討した。その結果、捕集されたアカイエカ種群の多くが無吸血産卵をするチカイエカであることが明らかとなった。なお、この高層住宅の地下水槽の調査を行ったが、チカイエカの発生源を特定することはできなかった。

沖縄県での捕集においては、都市部でのネットアイエカとヒトスジシマカの捕集数が予想外に少なく、2003年の気象条件が影響したのか、現在検討している。しかし、嘉手納町の動物園が併設されている公園では、コガタアカイエカ、キンイロヤブカ、オオクロヤブカ、ヒトスジシマカ、ネットアイエカなどが多数捕集され、周辺の環境が捕集結果に大きな影響を与えていることが示唆された。

大阪府での調査では、12ヶ所でトラップを設置したが、全体で1,773匹が捕集され、全体の67%がアカイエカ、26%がヒトスジシマカであった。その他コガタアカイエカ、ヤマトヤブカが捕集されている。豊中市のトラップ設置場所では、6月下旬から7月上旬にかけて1日あたり100匹を越すアカイエカが捕集され、地域による差が顕著であった。

富山市での捕集では、アカイエカが捕集蚊の優占種(1,165/1,433)で、コガタアカイエカ、ヒトスジシマカの順になる。しかし、住宅周辺の環境によって、種構成が大きく異なっており、郊外住宅団地では、ヒトス

ジシマカが優占種となり、農村地域団地ではコガタアカイエカが優占種であった。

b. 幼虫の発生状況調査

幼虫の発生状況調査は、東京、川崎、横浜、大阪を中心に行われた。幼虫発生源の確認が行われ、公園や道路の側溝にある雨水マスがアカイエカとヒトスジシマカの発生源となっていることが明らかとなった。東京では、多摩川水系沿いに存在する30の公園を選び、公園内の雨水マスの調査を行った。アカイエカ種群、ヒトスジシマカ、トラフカクイカの幼虫発生が確認された。幼虫発生源としての雨水マスの重要度は、公園の規模よりも公園の形状に左右されると考えられた。解析の結果、中規模で、全体の形状が平らな公園に、幼虫が発生している雨水マスの割合が高く、発生する種類も多い傾向があった。ヒトスジシマカは、公園で吸血される頻度の高い蚊であるが、雨水マス以外の発生源も重要と考えられた。東京都の調査した公園内の雨水マスに水が溜まっている率（有水率）は32.6-42.0%で公園の形状の違いに関する傾向が認められなかった。また、有水の雨水マスでの幼虫発生が確認されたマスの割合は6.6-21.5%で予想外に低い傾向が認められた。

神奈川県での道路側溝を中心とした調査では、水が溜まっている雨水マスの割合が11-89%と大きく異なっており、幼虫発生が見られた雨水マスの率は11-14%であった。市街地における雨水マスには主にアカイエカが、郊外の雨水マスからはアカイエカとヒトスジシマカの発生が確認された。また、空き缶、ビニール袋、水の受け皿などの小容量の水たまりからヒトスジシマカの幼虫

が確認された。これらの結果は、市街地の道路側溝にある雨水マスはアカイエカとヒトスジシマカの重要な発生源となっていることが示された。

川崎市の大師公園での調査では、7月から1月にかけて6回同じ雨水マス(51ヶ所)の調査を行った。その結果、有水マスの割合は1月の23.5%を除くと70.6-82.4%と高く、幼虫の発生が確認された雨水マスの率は1月が0%、10月が29.2%であったが、7月から9月にかけては52.9-60.8%と高い率を示した。また、水が溜まっているマスには高率に幼虫の発生が確認された。同様の調査を数キロ離れた住宅地にある約150個の雨水マスで行ったが、有水マスの割合は18.2-43.6%と低く、幼虫の発生が確認された雨水マスの割合も3.1-25%と低かった。しかし、都市域における雨水マスの総数を考えると、幼虫が発生している雨水マスが20%であったとしても、相当数の発生源が存在していることになる。

大阪府の8月の調査では、全体で140ヶ所の雨水マスが調査された。有水マスの割合は47-92%と高く、1ヶ所を除いて、水が溜まっている雨水マスにはほとんど幼虫が発生していた。種類はアカイエカとヒトスジシマカで、両種が同じ雨水マスに生息していた。しかし、ヒトスジシマカの採集幼虫数に占める割合は14-95%と雨水マスによって大きな違いが認められた。これは、雨水マスの周辺環境と水中の有機物の量などが関係していると思われる。大阪府での調査結果は、東京、横浜、川崎と異なり、有水マスの割合も幼虫発生のマスの割合も高い傾向が認められた。

2) 野外捕集蚊からのウイルスの検出

北海道網走市、岩手県盛岡市、千葉県（成田市、市川市、柏市）、大阪府、兵庫県、東京都（東久留米市、新宿区）、埼玉県（春日部市、さいたま市、鶴ヶ島市）、富山県富山市、長崎県長崎市、沖縄県石垣島等で主にドライイラストラップで捕集された蚊からのウイルスの検出を試みた。捕集された蚊 7,281 匹から 320 プールを作成し、C6/36 の細胞培養を行い、細胞変性を示したコロニーを中心にウイルスの検出をおこなった。その結果、36%のプールがフラビウイルスの陽性反応を示し、野外捕集蚊において、相当高率にウイルスの感染が起こっていることが明らかとなった。WNV を検出するプライマーセットを用いた PCR 法の結果は、全て陰性で、現在のところ我が国では WNV の侵入は起こっていないことが示唆された。一方、アカイエカ 7 プールおよびヒトスジシマカ 4 プールから日本脳炎 (JE) ウイルスゲノムがリアルタイム PCR 法で検出された。今までに、我が国では、アカイエカおよびヒトスジシマカからの JE の検出報告はほとんどなく、特にヒトスジシマカからの検出例は初めてと思われる。これらの JE 陽性プールは主に都市部住宅地で採集された蚊で、今後も引き続き慎重に調査を進める必要がある。

3) 吸血源動物の同定について

トラップで捕集された蚊で、腹部（中腸）に血液を持っている蚊に関してミトコンドリア DNA チトクローム b 領域の部分塩基配列の解析から種の同定をおこなった。アカイエカ 69 匹の解析では、73%が鳥類のみ、12%がほ乳類のみ、14%が両方から吸血し

ていることが明らかとなった。鳥類の内訳は、62%がカモ類、23%がスズメ類を吸血しており、その他カワラヒワ、ムクドリ、シジュウカラ、モズ、カラスがそれぞれ 1 個体ずつであった。また、哺乳動物では人が 94%と圧倒的に多く、それ以外にはイヌが 1 個体ふくまれている。この結果は、我が国のアカイエカ (*Culex pipiens pallens*) は野鳥の吸血嗜好性が高く、また、人に対しても高い吸血嗜好性があることを示しており、WNV の bridge vector としては相当重要な媒介蚊と判断された。ヒトスジシマカは、捕集個体数が 14 匹と少なかったが、50%が鳥類のみ、29%がほ乳類のみを吸血しており、21%が両方から吸血していた。鳥類の種類としては、アカイエカと類似しているが、鳥類では全ての吸血源がカモ類であった。なお、カモに関しては、解読された配列からは種の同定までには至っていない。また、哺乳動物では人が 86%で、ネコが 1 個体含まれていた。コガタアカイエカは 11 匹しか採集されなかったが、吸血源の同定を行ったところ、90%がブタで、その他、哺乳動物と鳥類に 1 匹ずつ分析不明があった。

4) 殺虫剤感受性試験の結果

首都圏の市街地で採集したヒトスジシマカ 10 コロニー、アカイエカおよびチカイエカの 15 コロニーについて、有機りん系殺虫剤のフェニトロチオンとテメフオス、ピレスロイド系のエトフェンプロックス、昆虫成長制御剤のディミリンとピリプロキシフェンを用い、幼虫の殺虫剤感受性試験を行った。アカイエカ種群では、エトフェンプロックス以外の薬剤では、製剤の用法・用

量に定められている有効成分濃度以下で全ての幼虫が死亡し、有効性が確かめられた。エトフェンプロックスでは、感受性対照系統の LC99 の 100 倍高い濃度における死亡率が 90%以下であり、各コロニーの中で渋谷のチカイエカは 20%を下回る低い死亡率を示した。この結果は、都市部のチカイエカに相当高いピレスロイド系殺虫剤に対する抵抗性の発達が起きていることを示している。同薬剤の作用点であるナトリウムチャンネルの遺伝子解析の結果、膜貫通セグメント 6 にアミノ酸置換が認められ、典型的なノックダウン抵抗性(knock down resistance : kdr)型遺伝子配列が確認された。また、都内の品川区で採集されたアカイエカコロニーの蚊から、同部位に異なるアミノ酸置換を持つ、kdr 様遺伝子が日本産アカイエカ群で初めて確認された。このような薬剤の作用点におけるアミノ酸置換を伴う点突然変異を簡便に検出する分子診断法の確立が、効率の良い薬剤選択に貢献すると考えられる。ヒトスジシマカに関しては、都内の墓地、公園等から採集されたコロニーにピリプロキシフェンに抵抗性を示す個体の存在が示唆されたが、各薬剤の用法・用量以下の濃度で有効であった。しかし、今後も継続して薬剤の感受性試験を行うことが重要と判断された。

D. 考察

1) 都市部における蚊の発生状況調査

ドライアイストラップによる蚊の捕集が本研究事業の分担研究者および協力研究者で行われ、都市部において発生している蚊の実態があきらかになった。関東地区、大阪府、富山市、沖縄県において、最も多数捕

集された蚊はアカイエカ種群(アカイエカ、チカイエカ、ネッタイエカ)で、6月から10月まで捕集された。この蚊は WNV に対して感受性があり、米国における重要な媒介蚊となっている。また、次に多く捕集された蚊はヒトスジシマカで、都市部の住宅街や公園内等で多数捕集された。その他、地域によって異なるが、コガタアカイエカ、オオクロヤブカなどが人吸血嗜好性から判断して重要と考えられるが、捕集数が前2種と比べると少なく、媒介蚊対策の対象にすべきか判断に迷うところである。トラップの種類による捕集数の違いが認められ、2003年の研究事業で採用したドライアイストラップはアカイエカの捕集に関しては問題がなかったが、ヒトスジシマカに関しては、周辺に多数成虫が存在するわりには捕集数が少ない傾向が若干認められた。発生消長を知る目的では、ドライアイストラップの有効性は評価できるが、実際、ヒトスジシマカの飛翔範囲は非常に狭いことから、同じ地点でトラップによる捕集を頻回に行う場合には、捕集数に影響がでる可能性が考えられる。トラップの設置場所をどのように選定するかが、今後地方自治体等が蚊の調査を開始した時に大きな問題となる。北海道でのドライアイストラップによる蚊の捕集では、ある場所に複数のトラップを設置した。その結果、トラップが低灌木にすっぽり覆われ、風の流れがよどむような場所でのトラップで一晩に800匹を越す蚊(多くがアカイエカ)が捕集され、そのトラップから20-30m離れた場所では100匹以下で大きな差が認められた。この傾向は2日目もほぼ同様で、トラップの周りに二酸化炭素濃度の高い空間が形成され

ることが捕集効率を上げることに貢献する可能性がある。また、電信柱や木の葉や枝がない樹木に設置されたトラップでは、捕集数が非常に少ない傾向が認められた。

どのような場所にトラップを設置したら良いかの結論は得られていないが、3-4個のトラップを予定地の種々の場所に設置し、捕集数の比較をする方法が推奨される。

今年度の幼虫調査においては、都市部の道路側溝や公園内にある雨水マスが重要なアカイエカとヒトスジシマカの発生源となっていることが明らかとなった。公共雨水マスは道路側溝に多数存在し、中規模の都市で数万個存在すると考えられている。今年度の調査では、東京、横浜、川崎、大阪府を中心に行われたが、調査数が全体でも300個ほどで、調査数が足りない。次年度はより広範に調査を行い、都市部の雨水マスが幼虫発生源として重要な役割を果たしていることをより明らかにしたい。公園内の雨水マスは東京都で調査されたが、もう少し広範に調査を進める必要性を感じている。また、公共の建物周辺や民間の事業所敷地内での雨水マスの調査も行う必要を強く感じている。都市部におけるこれら構造物が重要な幼虫発生源となっていることがより明らかになった場合、平常時および緊急時の媒介蚊対策の立案等がより明確化すると考えている。殺虫剤を水系に処理することへの抵抗があることは事実である。しかし、米国のある州では、患者が多数発生し、死亡者の増え始めた段階で徹底した殺虫剤の散布が行われた。環境毒性の低い薬剤の選択、住民への啓発、散布情報の開示などあらゆる情報の発信が必要であるが、

ウエストナイル熱に感染するリスクと殺虫剤を散布した場合のリスクをより科学的な視点で総合的に判断することが重要と思われる。

大阪府での冬期(1-2月)の幼虫調査で非常に興味ある事実が明らかとなった。厳冬の雨水マスにアカイエカ幼虫や蛹が採集されたことである。今まで、アカイエカは成虫で越冬し、翌春に吸血をして次世代が発生すると考えられていた。しかし、大阪府内の複数の場所にある雨水マスからアカイエカの幼虫(多くが3-4齢)が見つかった。この事実は、水温が10℃以下であっても、幼虫は死なないことを意味している。3月からの気温の上昇に伴って発育が進み、3-4週間かけて蛹から成虫になると思われる。これらの春先のアカイエカ集団が、その地域の個体群にどのような影響を与えているか分かっていないが、これらの新しい発見も次年度により詳細な解析を行いたい。

2) 野外捕集蚊からのウイルスの検出

ドライアイストラップで捕集された蚊は冷凍庫(-20, -80℃)で保存され、種類ごとにウイルスの検出をおこなった。C6/36培養細胞に細胞変性(CPE)を示したプールが30%以上に達し、予想外の結果であった。これらの細胞変性は、ある種のウイルスの増殖を意味しており、フラビウイルス特異的なプライマーによるPCRでも陽性反応が確認された。現在、アカイエカとヒトスジシマカからそれぞれ異なる配列を持ったフラビウイルスが検出されている。これらのウイルスの塩基配列をより詳細に検討し、どのようなウイルスが我が国のアカイエカおよびヒトスジシマカに存在するか明らか

にしたい。今年の大きな発見として、CPEを示したアカイエカおよびヒトスジシマカ由来のプールから日本脳炎(JE)ウイルスの塩基配列が検出されたことがあげられる。今まで、地方の水田地帯にある豚舎や牛舎で捕集したコガタアカイエカからの JE ウイルスの分離報告はあるが、都市部で捕集されたアカイエカやヒトスジシマカからの分離の報告は全くなく、疫学的に非常に重要な発見と思われる。現在、より広範に塩基配列を解読しており、細胞培養でウイルスを継代し、ウイルスの型の解析を試みている。なお、WNV 特異的なプライマーを用いたウイルスの検出では、陽性を示すプールはなく、現在のところ、WNV の侵入は認められていない。

3) 吸血源動物の同定について

WNV が人に伝播するためには、吸血蚊が少なくとの10日以上前にWNVに感染した野鳥から吸血することが必要になる。蚊は吸血嗜好性に関して、ある程度特異性を持っている。アフリカのマラリア媒介蚊として有名な *Anopheles gambiae* は人吸血嗜好性が高く、熱帯熱マラリアとバンクロフト糸状虫の重要な媒介者となっている。ネッタイシマカも人吸血嗜好性が高い蚊で、デング熱の重要な媒介蚊である。しかし、多くの蚊の場合には、種々の動物から吸血すると考えられており、種の生存戦略から考えると、この方が有利と思われる。ウエストナイル熱では、ウイルスは野鳥の体内で増殖することから、野鳥への吸血嗜好性が高く、また、人も吸血する蚊が重要な媒介者となる。我が国の都市部に普通に分布するアカイエカやヒトスジシマカがどのよ

うな動物から吸血しているか、今までに報告がなかった。今回、血液中のチトクローム b 遺伝子の部分配列を解読することによって、吸血源動物の種を決定することを試みた。アカイエカでは、野鳥が73%を占め、哺乳動物のみは12%ほどであった。また、両方の血液が混ざっているものが14%あった。野鳥の種類はカモ類、スズメ類、ムクドリ、シジュウカラ、モズ等で、我々の身の回りで見られる野鳥であった。哺乳動物では人がほとんどで、その他はイヌであった。この結果は、アカイエカはWNVの媒介者としては理想的な吸血嗜好性を持っていることを示しており、我が国WNVが侵入した場合には、徹底的な防除対策が必要になると考えられる。また、成虫のトラップ捕集において、アカイエカは樹幹部で多数捕集された。この事実も、同蚊の吸血嗜好性を明確に表している。ヒトスジシマカは、血液を腹部にもっている蚊を十分に捕集できなかったが、アカイエカと類似した傾向が認められ、野鳥、特にカモ類と人の血液が多かった。米国での野鳥のWNVの血中濃度を調べた仕事が報告されているが、スズメは非常にウイルス濃度が上昇し、死亡率は50%程度あることから、スズメは都市部における重要なウイルスの増幅動物になる可能性が考えられる。また、カモ類はウイルス濃度はあまり高くないが、死亡率は低く、冬期に北米から渡って来るカモ類が翌年の夏季に留鳥化した場合なども、リスクとして考えなければならない。

4) 殺虫剤感受性試験の結果

都市部で採集されたアカイエカ、チカイエカ、ヒトスジシマカの殺虫剤感受性を調

査したが、ピレスロイド系殺虫剤のエトフェンプロックスを除く殺虫剤には抵抗性の発達は認められなかった。現段階では、製剤の定められた用法・用量で十分効果が期待できることが明らかとなった。幼若ホルモン様物質のピリプロキシフェンに関しては、アカイエカ種群のコロニー全般と一部のヒトスジシマカに効力の低下が認められたが、理由は不明である。エトフェンプロックスに関しては、調べられたアカイエカ種群15コロニー中に8コロニーで効力低下が認められた。都内で採集されたチカイエカでは、著しい感受性の低下が認められ、P450の解毒作用の増大が幼虫の薬剤抵抗性に関わっていることが示された。また、抵抗性コロニーからピレスロイド系殺虫剤の作用点であるナトリウムチャンネル遺伝子のアミノ酸置換が認められ、ノックダウンを阻止する遺伝子である *kdr* 遺伝子のホモ接合体であることが遺伝子解析で明らかとなった。ナトリウムチャンネルのアミノ酸置換に関して、フェニルアラニンへの置換はチカイエカのみで、セリンへの置換がアカイエカのみで見つかっており、今後、調査コロニー数を増やすことによって、より詳細な状況が明らかになると思われる。一般家庭で行われる蚊成虫の防除では、蚊取線香、電気蚊取り、スプレーなど、ピレスロイド系殺虫剤が使用される頻度が高い。今年の研究事業で、一部のアカイエカ種群のコロニーで抵抗性を示すことが明らかとなり、今後、注意して、抵抗性の発達状況を調査する必要がある。また、分子生物学的解析で、日本産のアカイエカ種群の蚊から初めてピレスロイド作用点遺伝子に抵抗性に関わるアミノ酸置換が同定された。

今後、各地から採集された野外コロニーから、個体レベルで遺伝子の変位を検出する方法の確立が強く望まれる。

E. 結論

1) 成虫の調査結果

東京、埼玉、千葉、神奈川、富山、大阪等でドライアイストラップを設置して、5月から10月にかけて成虫の捕集を行った。捕集蚊は、アカイエカ、ヒトスジシマカが主であるが、地方ではコガタアカイエカ、ハマダライエカ、カツライエカ、オオクロヤブカ、キンイロヤブカ等が捕集された。全体に捕集蚊の数は各トラップで大きく異なり、周辺環境と設置場所が関係したと思われる。都市部の捕集蚊はアカイエカとヒトスジシマカがほとんどで、これらの蚊はWNVの媒介蚊であることから、平時からの発生源対策の必要性が示された。

2) 幼虫の発生状況調査

幼虫の発生状況調査は、東京、川崎、横浜、大阪を中心に行われた。公園や道路の側溝にある雨水マスがアカイエカとヒトスジシマカの発生源となっていることが明らかとなった。ヒトスジシマカは、公園で吸血される頻度の高い蚊であるが、雨水マス以外の発生源もあると考えられた。東京都内の公園にある雨水マスの有水率は32.6-42.0%で、幼虫発生が確認されたマスの割合は6.6-21.5%であった。

神奈川県での有水マスの割合11-89%と大きく異なっており、幼虫発生が見られた雨水マスの率は11-14%であった。川崎市の調査では、有水マスの割合は1月の23.5%を除くと70.6-82.4%と高く、幼虫の

発生が確認された雨水マスの率は夏季に高い傾向が認められた。大阪府では夏季に140ヶ所の雨水マスが調査され、有水マスの割合は47.92%と高く、有水マスにはほとんど幼虫が発生していた。種類はアカイエカとヒトスジシマカであった。これらの結果から、都市部における雨水マスはアカイエカやヒトスジシマカの重要な発生源となっていることが明らかになった。

3) 野外捕集蚊からのウイルスの検出

北海道網走市、岩手県盛岡市、千葉県（成田市、市川市、柏市）、大阪府、兵庫県、東京都（東久留米市、新宿区）、埼玉県（春日部市、さいたま市、鶴ヶ島市）、富山県富山市、長崎県長崎市、沖縄県石垣島等で主にドライイストラップで捕集された蚊からのウイルスの検出を試みた。捕集された蚊7,281匹から320プールを作成し、C6/36細胞に接種し、ウイルスの分離を試みた。36%のプールがPCR法でフラビウイルスの陽性反応を示し、野外捕集蚊において、相当高率にある種のウイルスの感染が起きていることが明らかとなった。WNV特異的なPCR法は全て陰性で、現在のところ我が国ではWNVの侵入は起こっていないことが示唆された。一方、アカイエカ7プールおよびヒトスジシマカ4プールから日本脳炎(JE)ウイルスゲノムがリアルタイムPCR法で検出された。我が国の都市部で捕集されたコガタアカイエカ以外の蚊からJEウイルス遺伝子が検出された事実は、JEウイルスの疫学に新しい問題を投げかけた。なお、我が国では、アカイエカおよびヒトスジシマカからのJEの検出報告はほとんどない。

4) 吸血源動物の同定について

トラップで捕集された腹部（中腸）に血液を持っている蚊に関してミトコンドリアDNAチトクロームb領域の部分塩基配列の解析から種の同定をおこなった。アカイエカ69匹の解析では、73%が鳥類のみ、12%がほ乳類のみ、14%が両方から吸血していることが明らかとなった。鳥類の内訳は、62%がカモ類、23%がスズメ類を吸血しており、その他カワラヒワ、ムクドリ、シジュウカラ、モズ、カラスがそれぞれ1個体ずつであった。また、哺乳動物では人が94%と圧倒的に多く、それ以外にはイヌが1個体ふくまれている。この結果は、我が国のアカイエカ(*Culex pipiens pallens*)は野鳥の吸血嗜好性が高く、また、人に対しても高い吸血嗜好性があることを示しており、WNVのbridge vectorとしては相当重要な媒介蚊と判断された。ヒトスジシマカは、捕集個体数が14匹と少なかったが、50%が鳥類のみ、29%がほ乳類のみを吸血しており、21%が両方から吸血していた。

5) 殺虫剤感受性試験の結果

都市部の市街地で採集したヒトスジシマカ10コロニー、アカイエカおよびチカイエカの15コロニーについて、有機りん系殺虫剤のフェニトロチオンとテメフォス、ピレスロイド系のエトフェンプロックス、昆虫成長制御剤のディミリンとピリプロキシフェンを用い、幼虫の殺虫剤感受性試験を行った。アカイエカ種群では、エトフェンプロックス以外の薬剤では、製剤の用法・用量に定められている有効成分濃度以下で全ての幼虫が死亡し、有効性が確かめられた。

エトフェンプロックスでは、感受性対照系統の LC99 の 100 倍高い濃度における死亡率が 90%以下であり、抵抗性の発達が確認された。同薬剤の作用点であるナトリウムチャンネルの遺伝子解析の結果、膜貫通セグメント 6 にアミノ酸置換が認められ、典型的なノックダウン抵抗性(knock down resistance: kdr)型遺伝子配列が確認された。また、都内の品川区で採集されたアカイエカコロニーの蚊から、同部位に異なるアミノ酸置換を持つ、kdr 様遺伝子が日本産アカイエカ種群で初めて確認された。

F. 健康危険情報

都市部で捕集されたアカイエカとヒトスジシマカから日本脳炎ウイルスの遺伝子が検出された。都市部の蚊に関しても、ウイルスの検出を継続して行うことが必要であり、積極的な疫学調査が重要である。また、ピレスロイド系殺虫剤に対して抵抗性を示すアカイエカ種群が見つかり、抵抗性の発達状況を注意して調査する必要がある。アカイエカが野鳥と人から吸血する性質が明らかとなり、WNV を人と野鳥の間で橋渡しする可能性が危惧される。平時から媒介蚊の幼虫対策が必要であることが示された。

G. 研究発表

1. 論文発表

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. and Kurihara, T.: Analysis of northern distribution of *Aedes albopictus* (Diptera:Culicidae) in Japan by geographical information system. *J. Med. Entomol.*, 39: 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 Dengue 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.

10) Tsuda, Y., Yotoprano, S., Bendryman, S. S., Rosmanida, Dachlan, Y.P., and Takagi, M.: Seasonal changes in variation of dorsal scale pattern of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) in

- Surabaya, Indonesia. Med. Entomol. Zool., 54: 73-80, 2003.
- 11) Dieng, H., Boots, M., Tuno, N., Tsuda, Y. and Takagi, M.: Life history effects of prey choice by copepods: implications for biocontrol of vector mosquitoes. J. Am. Mosq. Control Assoc., 19: 67-73, 2003.
- 12) Satho, T., Tsuda, Y., Somboon, P., Kawada, H. and Takagi, M.: Difference in the larval susceptibility to pyriproxyfen in nine colonies of six vector mosquito species. Med. Entomol. Zool., 54: 155-160, 2003.
- 13) Dieng, H., Boots, M., Mwandawiro, C., Satho, T., Hasegawa, M., Nyambura, G. J., Saita, S., Kawada, H., Tsuda, Y. and Takagi, M.: Effects of a copepod predator on the survivorship and development of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). Med. Entomol. Zool., 54: 187-192, 2003.
- 14) Tsuda, Y., Maekawa, Y., Saita, S., Hasegawa, M. and Takagi, M.: Dry ice-trap collection of mosquitoes flying near a tree canopy in Nagasaki, Japan with special reference to *Aedes albopictus* (Skuse) and *Culex pipiens pallens* Coquillett (Diptera: Culicidae). Med. Entomol. Zool., 54: 325-330, 2003.
- 15) Hu, X.-M., Tsuda, Y. and Takagi, M.: Survival and development of larvae of three tropical malaria vectors (Diptera: Culicidae) under a seasonally changing temperature condition in Nagasaki, Japan. Med. Entomol. Zool., 54: 371-379, 2003.
- 16) Nagao, Y., Dachlan, Y. P., Soedarto, Hidajati, S., Yotopranoto, S., Kusmartisnawati, Sri Subekti, Ideham, B., Tsuda, Y., Kawabata, M., Takagi, M. and Looareesuwan, S.: Distribution of two species of malaria, *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*, on Lombok Island, Indonesia. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, 34: 495-500, 2003.
- 17) Tuno, N., Tsuda, Y., Takagi, M. and Suwonkerd, W.: Pre- and postprandial mosquito resting behavior around cattle hosts. J. Am. Mosq. Control Assoc., 19: 211-219, 2003.
- 18) 吉田永祥, 吉田政弘, 岩上泰雄, 瀧 幾子, 菌 輝久, 内野清子, 田中智之: セアカゴケグモ *Latrodectus hasseltii* (Araneae: Theridiidae) 除去後の個体群動態. Med. Entomol. Zool., 54: 361-366, 2003.
- 19) 吉田政弘: 日本における毒グモ咬症の今後の動向. 日本医事新報, 4155:25-28, 2003.
- 20) Toma, T. and Miyagi, I.: *Armigeres* (*Armigeres*) *laoensis* sp. nov. (Diptera: Culicidae) from Khammouane Province, Lao PDR. Med. Entomol. Zool., 54: 169-172, 2003.
- 21) Higa, Y., Toma, T., Saita, S., Takei, A. and Miyagi, I.: Laboratory rearing method of *Anopheles minimus* (Diptera: Culicidae) from Ishigaki Island, the Ryukyu Archipelago, Japan. Med. Entomol. Zool., 54: 257-266, 2003.
- 22) Toma, T., Miyagi, I., Murakami, H., Nerome, H., Yonamine, M., Higa, Y. and

- Tokuyama, Y.: Distribution and seasonal prevalence of *Anopheles minimus* Theobald (Diptera: Culicidae) in the Yaeyama Island group (except Ishigaki Island), Ryukyu Archipelago, Japan, 1999-2000. *Med. Entomol. Zool.*, 54: 267-274, 2003.
- 23) Miyagi, I., Toma T. and Higa, Y.: A new species of *Mimomyia* (*Ingramia*) from Indonesia (Diptera: Culicidae). *Med. Entomol. Zool.*, 55: (in press).
- 24) 當間孝子: 地球温暖化と蚊媒介性感染症デング熱, 西ナイル熱とマラリア. *公衆衛生*, 67(4): 296-300, 2003.
- 25) Tomita, T., Yaguchi, N., Mihara, M., Takahashi, M., Agui, N. and Kasai, S.: Molecular analysis of a *para* sodium channel gene from pyrethroid-resistant head lice, *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *J. Med. Entomol.*, 40: 468-474, 2003.
- 26) Kasai, S. and Tomita, T.: Male specific expression of a cytochrome P450 (*Cyp312a1*) in *Drosophila melanogaster*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 300: 894-900, 2003.
- 27) Nabeshima, T., Kozaki, T., Tomita, T. and Kono, Y.: An amino acid substitution on the second acetylcholinesterase in the pirimicarb resistant strains of the peach potato aphid, *Myzus persicae*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 307: 12-22, 2003.
- 28) Anazawa, Y., Tomita, T., Aiki, Y., Kozaki, T. and Kono, Y.: Sequence of a cDNA encoding acetylcholinesterase from susceptible and resistant two-spotted spider mite, *Tetranychis urticae*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 33: 509-514, 2003.
- 29) Kasai, S., Mihara, M., Takahashi, M., Agui, N. and Tomita, T.: Rapid evaluation of human lice susceptibility to phenothrin. *Med. Entomol. Zool.*, 54: 31-36, 2003.
- 30) Ni, X-Y., Tomita, T., Kasai, S. and Kono, Y.: cDNA and deduced protein sequence of acetylcholinesterase from the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Appl. Entomol. Zool.*, 38: 49-56, 2003
- 31) Nabeshima, T., Mori, A., Kozaki, T., Iwata, Y., Hidoh, O., Harada, S., Kasai, S., Severson, D. W., Kono, Y. and Tomita, T.: An amino acid substitution attributable to insecticide-insensitivity of acetylcholinesterase in a Japanese encephalitis vector mosquito, *Culex tritaeniorhynchus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 313: 794-801, 2004.
- 32) 葛西真治, 富田隆史: cDNA アレイ法によるチトクロム P450 発現の解析: 殺虫剤新規作用点の探索と抵抗性機構の解明にむけて. *日本農薬学会誌*, 28: 473-478, 2003.
- 33) Eshita, Y., Takasaki, T., Yamada, K. and Kurane, I.: Isolation of Arboviruses from Field-collected Mosquitoes. *Anthology of Biosafety: VI. Arthropod Borne Disease.* (ed. Jonathan, Y.). Chapter 6, pp. 63-71, 2003, American Biological Safety Association, Richmond.
- 34) Takasaki, T., Yabe, S., Nerome, R., Ito, M., Yamada, K. and Kurane, I.: Partial

protective effect of inactivated Japanese encephalitis vaccine on lethal West Nile virus infection in mice. *Vaccine*, 21(31): 4514-4518, 2003.

35) Mizutani, T., Kobayashi, M., Eshita, Y., Shirato, K., Kimura, T., Ako, Y., Miyoshi, H., Takasaki, T., Kurane, I., Kariwa, H., Umemura, T. and Takashima, I.: Involvement of the JNK-like protein of the *Aedes albopictus* mosquito cell line, C6/36, in phagocytosis, endocytosis and infection of West Nile virus. *Insect Mol. Biol.*, 12(5): 491-499, 2003.

36) 伊藤美佳子, 高崎智彦: 新興輸血感染症「ウエストナイル熱・ウエストナイル脳炎」. 血液フロンティア, 13(5): 613-617, 2003.

37) 高崎智彦, 伊藤美佳子: ウイルス性脳炎～ウエストナイル脳炎～. 化学療法の領域, 19(5): 797-801, 2003.

38) 高崎智彦: 感染症診療・投薬ガイド 第Ⅱ部 疾患各論 ウエストナイル熱. 総合臨床, 52: 351-355, 2003.

39) 高崎智彦: ウエストナイル熱 (West Nile Fever). *CURRENT CONCEPTS IN INFECTIOUS DISEASES*, 22(3): 18-19, 2003.

40) 高崎智彦: ウエストナイルウイルス感染症. 畜産技術, 581(10): 28-31, 2003.

41) 高崎智彦: ウエストナイル熱. 臨床医, 29(10): 1779-1782, 2003.

42) 高崎智彦: フラビウイルス感染症およびその流行における鳥類の役割. 鶏病研究会報, 39(増刊号): 1-6, 2003.

43) 高崎智彦: ウエストナイルウイルス感染症の動向. *Medicament News*, 1759号, 4-6, 2003.

44) 高崎智彦, 根路銘令子, 倉根一郎: 2002年日本におけるブタから分離された日本脳炎ウイルスの解析. 病原微生物検出情報, 24(7): 153, 2003.

45) 桑山 勝, 高尾信一, 福田伸治, 島津幸枝, 宮崎佳都夫, 倉根一郎, 高崎智彦, 山田堅一郎, 根路銘令子, 伊藤美佳子, 笠松淳也, 中村就一, 宮脇弘幸, 香川治子, 青山範子, 越智一秀, 原田和歌子, 時信弘: 2002年に発生した日本脳炎3事例についての詳報-広島県. 病原微生物検出情報, 24(7): 152-153, 2003.

2. 学会発表

1) Sudipta Roychoudhury, 小林陸生: 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, 小林陸生, 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, 小林陸生, 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) 小林陸生, 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