

200400621A

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16年度総括・分担研究報告書

平成17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. 千葉県における感染症媒介カ類の生息実態調査 (第2報) 藤曲正登他	21
2. 富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査	
1. 成虫の発生動態と捕集蚊からのフラビウイルスの検出	33
2. 幼虫発生源調査 渡辺 護他	57
3. 成田空港周辺の媒介蚊相調査 (2003, 2004年) 津田良夫他	67
4. ドライアイストラップによる都市域における疾病媒介蚊の発生状況調査 (2004年度) 津田良夫他	75
5. ドライアイストラップで捕獲された昆虫相による生息環境の類型化 津田良夫他	85
6. 横浜市における蚊類成虫および幼虫の生息調査 金山彰宏他	93
7. 京浜工業地帯近隣および郊外緑地帯の住宅地における蚊発生調査とその対 策について	
1. 神奈川県逗子市民家庭先で発生する蚊類成虫の周年調査および同三浦郡 葉山町民家との蚊相の相違について	105
2. 川崎市市内における蚊類成・幼虫生息調査	109
3. オオクロヤブカの浄化槽への住みつき	113
4. 雑排水槽に発生のチカイエカ等防除について	117
5. 野外で発生の蚊幼虫の感受性について (中間報告) 新庄五朗他	123
8. 都市域における蚊類の生態と防除 吉田政弘他	127
9. 沖縄県における疾病媒介蚊に関する調査研究 當間孝子	147
10. 蚊採集場所の位置情報の収集と環境解析について 二瓶直子他	159

1 1. 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	171
1 2. ウエストナイルウイルス媒介蚊の吸血源動物種の同定	
澤邊京子他	195
1 3. 本邦産ウエストナイル(WN)ウイルスを含むフラビウイルスの検出	
澤邊京子他	205
1 4. Yokose ウイルスの蚊およびマウスに対する感染性の検討	
高崎智彦他	215
1 5. 抗ウエストナイル効果のあるペプチドの検索	
松岡裕之	225
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	229

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) 幼虫の発生状況調査

幼虫の発生状況調査において、人工容器ではヒトスジシマカが多く採集され、雨水マスではアカイエカとヒトスジシマカが混在するケースが多く見られた。都市部における一定面積内の雨水マス調査では、幼虫が発生している雨水マスは1 km²当たり約 500 ヶ所と推定され、今後の防除対策の立案に貴重な結果を得ることができた。雨水マスにおける幼虫発生は地域的に、また季節的に大きく異なっていた。今後の媒介蚊防除対策に資する調査結果が得られている。

2) 成虫の捕集調査

東京、埼玉、千葉、神奈川、富山、大阪、沖縄等でドライアイストラップを設置し、成虫の捕集を行った。2004 年の首都圏における捕集蚊数は 2003 年と比べて明らかに多く、富山県での調査とは反対の結果であった。捕集蚊の種類は、アカイエカ、ヒトスジシマカが捕集蚊の 90%以上を占め、千葉県では、上記 2 種以外にコガタアカイエカ、ハマダライエカ、カラツイエカ、オオクロヤブカ、キンイロヤブカが加わり、富山県では農村部の住宅地でコガタアカイエカが多数捕集された。大阪の都市部においてもコガタアカイエカが捕集された。

3) 成田空港周辺における媒介蚊相調査およびウエストナイルウイルス検出の試み

2003 年、2004 年の 2 シーズンに成田空港から数キロ範囲の 3 ヶ所で 6 月から 10 月の間に 2003 年は 3 回、2004 年は 6 回の調査を行った。2004 年の総捕集蚊数は 6,156 匹でアカイエカ種群、キンイロヤブカ、コガタアカイエカ、ヒトスジシマカ、オオクロヤブカの順に多く捕集された。捕集された蚊から WNV の検出を試みたが全て陰性で、少なくとも 2004 年の秋の段階で成田空港周辺では WNV の移入は起こっていないことが示された。

4) 野外捕集蚊からのウイルスの検出

首都圏を中心に捕集された蚊 10,283 匹から 1,147 プールを作成し、Vero 細胞および C6/36 で細胞培養を行い、細胞変性を示したコロニーを中心にウイルスの検出を行った。その結果、ウエストナイルウイルス(WNV)は全てのプールから検出されなかったが、一部のプールがフラビウイルスの陽性反応を示した。

5) アカイエカおよびコガタアカイエカの越冬生態

アカイエカは成虫で越冬することが知られているが、都市環境において、どのような場所で越冬するか今まで全く報告がされていない。埼玉県と大阪府の市街地の暗渠で1-2月上旬の厳冬期に調査したところ、多数のアカイエカの成虫が壁や天井に静止しているのが観察された。また、大阪ではコガタアカイエカの越冬成虫が採集された。この発見は今までに報告がなく、都市部でのイエカ類の越冬生態を知る上で貴重な観察となった。なお、大阪市内の雨水マスで1-2月にアカイエカの終齢幼虫と蛹が多数採集され、アカイエカは幼虫でも越冬することが明らかとなった。

6) GISによる蚊捕集場所の環境解析

過去2年間のドライアイストラップによる蚊の捕集で、捕集蚊数の非常に多い場所と少ない場所が存在することが明らかとなっている。この違いが何に起因するかよく分かっていない。そこで、トラップ設置場所の位置情報をデジタル地図に図化し、デジタル化した空中写真を入手して周辺環境の解析を行った。蚊の捕集数および蚊以外の昆虫相による採集場所のグループ化と、空中写真から判読した周辺環境とにある種の関係が存在する可能性が示唆された。

7) アカイエカとチカイエカとの分類における分子的手法と形態的手法の開発

アカイエカ種群の分類は、雄の生殖器の形態的差異を利用する方法が知られているが、雌に関して、決定的な手法が確立されていなかった。今回、アセチルコリンエステラーゼの部分配列から設計されたプライマーを用いて、アカイエカとチカイエカを分子分類する方法を確立した。また、以前報告された個眼数を数える方法との比較を行い、相当高い一致率が確認された。トラップで捕集された雌蚊に関して、歩脚6本からのDNA抽出で結果を判定することが可能で、今後、いろいろな調査で応用が可能と思われる。

8) 吸血源動物の同定について

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行った。キンイロヤブカ56匹では全て哺乳動物吸血性を示した。アカイエカとチカイエカを分子分類し、それぞれの種に関して吸血源動物の同定を試みたところ、アカイエカは65%が鳥類のみ、19%がほ乳類から吸血しており、チカイエカは、野鳥と哺乳動物の割合が各々44%と同じであった。鳥類の内訳は、約40%がカモ類、約40%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、メジロ、カラスの血液が検出された。哺乳動物では人が45-60%と多く、イヌが16-18.6%、ネコが8-15%であった。これらの結果、我が国のアカイエカは野鳥の吸血嗜好性が高く、また人吸血嗜好性を示し、チカイエカも同様の傾向が確認されたことから、両種はWNVのbridge vectorとして重要な媒介蚊となる可能性が示唆された。ヒトスジシマカは、捕集個体数が少なかったが、50%が鳥類のみ、29%がほ乳類を吸血しており、WNVの橋渡しをする可能性が示された。

9)殺虫剤感受性試験の結果

全国各地から採集されたアカイエカ、チカイエカ、ネツタイエカに関して幼虫の殺虫剤感受性試験を行った。ピリプロキシフェン、ジフルベンズロン、テメフォスに対して抵抗性を示す個体が低頻度で存在すること、エトフェンプロックスに対しては全体的に抵抗性の頻度が高いことが示され、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確認された。また、この抵抗性が他のピレスロイド剤にも交差抵抗性を示すことが示された。ナトリウムチャンネルの膜貫通セグメント6のアミノ酸置換以外にシトクロムP450の解毒酵素の活性増大が確認され、複数の要因が抵抗性の発現に関わっていることが示唆された。

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
技術調査役
當間孝子 琉球大学医学部助手

A：研究目的

1999年に米国でウエストナイル熱が突然流行して以来、2004年までに1万6千人以上が感染し、重症の脳炎または髄膜炎で650人ほどが亡くなっている。蚊が媒介する感染症が、先進国である米国でこれほど流行することは予想されておらず、蚊媒介性感染症の予防対策の難しさを見せつけた。2002年には、台湾の南部の高雄を中心にデング熱の流行が起こり、5,000名以上の患者が発生し、デング出血熱も240名ほどが報告された。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ツタイシマカで

あったが、徹底的な媒介蚊対策を行い、現在、媒介蚊の密度は相当低い状態に保たれている。デング熱の世界的流行は、2-3年の周期で起こると言われているが、最近の傾向では、ほぼ毎年東南アジア、中南米、南太平洋諸国等で流行が起こっており、媒介蚊の発生源対策および蚊に刺されない個人的防御法のみしかない予防対策の限界が露呈されている。また、マラリアはアフリカで猛威を奮い、タイ、ミャンマー、カンボジア等の東南アジアの一部山間地域や海岸線近くの平野部で三日熱および熱帯熱マラリアの流行が収まっていない。また、朝鮮半島では1993年から三日熱マラリアの流行がおり、当初非武装地帯(DMZ)周辺の軍人に患者が多く認められたが、その後韓国全体に患者の発生が見られ、1年間に5,000人を超す三日熱マラリア患者が発生した。北朝鮮でのマラリアの流行状況に関する情報がほとんど入手できず、北での流行が韓国での流行と連動しているとの推定がなされている。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の平時からの

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15,000名規模の流行(実際は10万人規模との推定)、復員者が原因となった戦後マラリアの一時的な流行、1960年代の日本脳炎の全国的な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流行がなく、媒介蚊対策の重要性を軽視する傾向が各自治体で見られている。WNVが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が広がる可能性が予想される。米国でのウエストナイル熱の流行に関して、近い将来我が国へのウイルスの移入の可能性が考えられることから、媒介蚊の発生状況調査を開始した自治体が増加してきた。これら自治体が行っている媒介蚊の調査法、ウイルスの検出法等の技術移転等の重要性も増しており、本研究事業における一つの目的になっている。以前行われていた水田地帯での牛舎や豚舎におけるコガタアカイエカの調査とは異なり、都市部の雨水マスや人工的な容器での幼虫発生調査が求められており、調査法、防除法の評価、防除効果の判定なども研究目的として重要となっている。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、幼虫発生源調査によって明らかにし、どのような種類の発生源か、一定面積にどの程度の数の発生源が存在するかなどを明らかにする。成虫のトラップによる捕集調査においては、都市部を中心に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、捕集された成虫からのウエストナイルウイルスの検出

を、培養細胞への接種およびRT-PCR法を併用しておこなう。トラップによる捕集地点周辺の環境をトラップで捕集される蚊以外の昆虫相の解析で明らかにし、航空写真を用いて、捕集場所の環境を評価する方法を検討する。また、ウイルスの橋渡しをする蚊を特定するために、吸血源動物の同定を行い、野鳥およびヒト吸血性の蚊を明らかにする。都市部で多数捕集されるアカイエカは、近縁のチカイエカとの鑑別が外部形態では困難であるが、複眼の個眼数を計測する方法および分子的に同定する方法を開発する。また、野外の蚊における殺虫剤抵抗性がどの程度発達しているかを、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的な防除に使用できるかを明らかにする。

B：研究方法

1) 幼虫の発生状況調査

富山県では、蚊の幼虫が発生する水が溜まっているあらゆる人工容器、雨水マス等で幼虫調査を行った。大阪市では、ある面積に存在する古タイヤおよび雨水マスの位置を全て地図上に記入し、定期的に発生幼虫数を調査した。なお、公園、道路側溝にある雨水マスでの幼虫調査は地図上に調査地点をプロットし、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、成虫まで飼育して種の同定を行った。アカイエカ種群の幼虫は、成虫まで育て、一部は無吸血産卵をするか否かを検討し、一部は分子同定を行った。殺虫

剤感受性試験に用いたアカイエカ種群幼虫は、東北から沖縄まで広くサンプルを入手し、アカイエカ 23 コロニー、チカイエカ 17 コロニー、ネッタイエカ 2 コロニーに関して感受性試験を行った。

2) 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（猪口鉄工および CDC タイプ）、ライトトラップ（野沢式）、人囮法、モスキートマグネット（蚊成虫捕集装置）を用いておこなった。ドライアイストラップは単 1 電池 4 本でファンが回るタイプで、小型の発泡スチロール箱に 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、一晩または 24 時間後に回収して種の同定を行った。トラップの設置は原則として、5 月から 12 月まで週 1 回行ったが、一部は周年継続した。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。北海道、首都圏、成田空港周辺で捕集された蚊成虫 20 種類、雌 9,282 匹から 1,001 プール、雄 1,434 匹から 146 プールを作成し、MEM 培地で磨砕後、Vero 細胞接種をして継代し、一部は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。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。なお、短時間で結果を出す必要があった場合はリアルタイム PCR 法で検出を試みた。また、PCR の陽性産物はダイレクトシーケンスで塩基配列を解読した。

4) 吸血源動物の同定

トラップによる成虫捕集では、腹部（中腸）に血液をもった雌蚊が含まれる。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。また、一部は捕虫網で採集した蚊を分析に用いた。吸血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、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を解析した(ABI PRISM 310 Genetic Analyzer, PE Biosystems)。野鳥と哺乳動物が吸血源と予想されたため、それぞれに対応する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、種の同定を行った。一部は完全な種の同定が不可能なサンプルがあり、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、本年の研究事業における大きな業績として、アカイエカとチカイエカとの分子分類が可能となったため、吸血源の分析を行う前に、種の分子同定を 6 本の歩脚で行い、種ごとに吸血源動物の同定を行った。なお、キンイロヤブカ、コガタアカイエカ、ヒトスジシマカの 3 種類に関しても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。簡易殺虫剤感受性試験法として、「ウエストナイル熱媒介蚊対策ガイドライン」に準じ、供試薬剤としては、7種類の製剤（スミチオン 10%乳剤、バイテックス 5%乳剤、アベイト 5%乳剤、エクスミン 5%乳剤、ベルミトール 7%粒剤、スミラブ 0.5%粒剤および Vectobac12AS/W5）を用いた。簡易法以外の方法としては、原体を用いる方法で試験され、薬剤としては、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。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。

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) 幼虫の発生状況調査

幼虫の発生状況調査は、横浜市、富山県、大阪市を中心に行われた。富山県における幼虫発生源では、ある地域に存在する発生源となる容器または水たまり全てを調査対象とした。発生源としては、バケツ、空き缶、フライパン、発泡スチロール箱、手水鉢、竹の切り株、古タイヤ、墓地の花立て、樹洞、ブロックの穴、野鳥の餌台、雨水マス、排水溝、水槽、風呂桶、ドラム缶、かめ、ガラスコップ、池などである。幼虫は多い順からヒトスジシマカ、ヤマトヤブカ、アカイエカ、トラフカクイカの順であるが、圧倒的にヒトスジシマカの幼虫が多く採集された。大阪市での調査では、ある地点から半径 500m 以内の地域に存在する古タイヤと雨水マスを調査対象として選び、定期的に全ての場所で水が溜まっているか、幼虫が発生しているかを調査した。その結果、幼虫が発生している雨水マスは 1 km² 当たり 503 ヶ所となり、古タイヤは 131 個であった。また、発生幼虫はアカイエカ、ヒトスジシマカおよびトウゴウヤブカで、雨水マスにおける幼虫発生が高率に確認された時期は 7 月で、その後 9 月から 11 月にかけて明らかに減少した。古タイヤでは 4 月に水が溜まっているタイヤが多く、発生幼虫は多くがトウゴウヤブカであ

った。トウゴウヤブカは一般に海岸地帯の海水が混ざるロックプールなどに発生するが、大阪市内のトウゴウヤブカは淡水で系統が維持されている系統である。幼虫の発生源として重要な雨水マスの蓋に殺虫剤を含んで織られたオリセットネットを設置し、未処理区と処理区における幼虫発生状況を継続して調査した。その結果、ネットを処理した雨水マスでは、4ヶ月経過してもほとんど幼虫が発生せず、防除効果が非常に高いことが示された。川崎市内の幼虫発生源調査においては、調査地点によって水が溜まっている雨水マスの率が大きく異なっていたが、6—7月の調査で幼虫が発生している雨水マスの率が最も高い傾向があった。浄化槽内のチカイエカの防除に関しては、浄化槽の掃除で一時的に蚊の発生が抑制される。しかし、1.5ヶ月ほどで発生が顕著になり、蒸散剤等を用いることによって、発生を抑えることが可能であることが明らかとなった。浄化槽内で発生するチカイエカが、その後、開放空間に出て、アカイエカと同様に野鳥から吸血する可能性があることから、これらの設備から発生するチカイエカ対策も重要と考えられる。

b) 成虫の調査結果

東京、埼玉、千葉、神奈川、富山、大阪、沖縄等でドライアイストラップを設置し、一部、人囮法でネットによって成虫の捕集をおこなった。一部の地域は設置期間が短い、多く場合は5月から12月まで週1回の調査が行われた。トラップの設置環境は、戸建ての低層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。首都圏における2003年の捕集数と2004年

の捕集数とを比較した場合、明らかに2004年の捕集数が多く、富山県での調査結果とは大きく異なった。捕集蚊の種類としては、2003年と同様に、アカイエカ、ヒトスジシマカが捕集蚊の90%以上であるが、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、カラツイエカ、オオクロヤブカ、キンイロヤブカが加わり、富山県では農村部の住宅地でコガタアカイエカが多数捕集された。大阪の都市部においても、コガタアカイエカが捕集されることから、水田地帯に隣接している地域においては、日本脳炎の重要な媒介蚊の存在を認識する必要がある。

沖縄県での捕集においては、2003年と同様に2004年の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かった。そこで、トラップの設置場所周辺での幼虫調査を行ったところ、水が溜まっている雨水マスの数が非常に少なく、これが捕集数に影響している可能性が考えられた。これは、沖縄本島の地質学的な性質に関係していることが考えられる。

2) 野外捕集蚊からのウイルスの検出

北海道(釧路市、根室市)、千葉県(成田市、柏市)、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)、神奈川県横浜市、茨城県、富山県富山市、沖縄県那覇市等で主にドライア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10,283匹から1,147プールを作成し、Vero細胞およびC6/36で細胞培養を行い、細胞変性を示したコロニーを中心にウイルスの検出を行った。その結果、ウエストナイルウイルス(WNV)は全

でのプールから検出されなかったが、一部のプールがフラビウウイルスの陽性反応を示した。現在、この陽性反応を示したウイルスに関して、遺伝子解析を進めている。2004年の段階では我が国にWNVの侵入は起こっていないことが示唆された。昨年、都市部で捕集されたアカイエカおよびヒトスジシマカからのJE遺伝子が検出されたが、今年は、ほとんど検出されていない。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ウイルス分離を進めている。

3) 吸血源動物の同定について

トラップで捕集された蚊およびネットで捕集した蚊の腹部(中腸)の血液を用いて、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昨年に引き続き行った。千葉県で採集されたキンイロヤブカ56匹の解析では、全てが哺乳動物の血液を吸血しており、牛、ブタ、人の血液が検出された。この結果は、ある限られた環境における結果であるが、キンイロヤブカが野鳥からWNVに感染する可能性は低く、感染が成立したとしても、その後1-2週間後にヒトを吸血する頻度は相当低いと考えられた。

今年、アカイエカとチカイエカを複眼の個眼数、アセチルコリンエステラーゼの部分配列、ITS1領域の塩基配列の解読による方法によって分類し、それぞれの種に関して吸血源動物の同定を試みた。

アカイエカ80匹の解析では、65%が鳥類のみ、19%がほ乳類のみ、16%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、41%がカモ類、44%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、メジロ、カラスがそれぞれ1-2個体ずつであった。また、哺乳動物では人が45%と多く、イヌが18.6%、ネコが15%であった。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bridge vectorとしては相当重要な媒介蚊と判断された。一方、チカイエカは46匹の解析から、野鳥から吸血した割合と哺乳動物から吸血した割合は44%と同じで、これらの比率はアカイエカと大きく異なっていた。また、野鳥の内訳はカモ類が48%、スズメが41%とアカイエカと同様の傾向が認められた。哺乳動物では人の割合が60%と最も高く、イヌとネコの比率は各々16%と8%であった。これらの結果は、チカイエカも明らかに野鳥吸血性が高く、また、人吸血性がアカイエカより高い傾向が認められた。今まで、開放空間でのチカイエカの行動がほとんど調査されていなかったが、今回の結果は、チカイエカもWNVの伝播に関わる可能性があることを強く示唆した。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。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、哺乳動物と鳥類の両方の血液が認められるが、同定できなかったものが1匹あった。

4) 殺虫剤感受性試験の結果

全国各地から採集されたアカイエカ 23 コロニー (累積 36)、チカイエカ 17 コロニー (累積 19)、ネッタイエカ 2 コロニー (累積 2) に関し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、昆虫成長制御剤のジフルベンズロ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。ピリプロキシフェン、ジフルベンズロン、テメフォスに対して抵抗性を示す個体が低頻度で存在することが明らかとなった。一方、エトフェンプロックスに対しては全体的に抵抗性の頻度が高いことが示され、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が示唆された。また、この抵抗性が他のピレスロイド剤にも交差抵抗性を示すことが示された。エトフェンプロックス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、この突然変異以外にシトクロム P450 の解毒酵素の活性増大が確認され、複数の要因が抵抗性の発現に関わっていることが示唆された。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、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研究協力者で行われ、都市部において発生している蚊の実態が明らかになった。首都圏、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、4 月から 12 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。首都圏では 2004 年の捕集数は 2003 年と比べて明らかに多く、富山県での結果と大きく異なった。

今年度の幼虫調査においても、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するが、大阪における単位面積当たりの雨水マス数の調査では、幼虫が発生している雨水マスが 1km² 当たり約 500 個存在すると推定され、中規模の都市で幼虫が発生する可能性のある雨水マスは数万個以上存在すると考えられた。また、水が溜まっている雨水マスの数は、地域によって大きく異なり、沖縄の那覇市内では幼虫が発生している雨水マスが非常に少ない傾向が認められた。また、同じ都市においても、標高、地質および地理的違

いなどで、水の溜まった雨水マスの率は相当異なることが明らかとなった。今後、各地方で、幼虫が発生する可能性のある雨水マスの調査を単位面積当たりで行い、市、町全体でどの程度の雨水マスが存在するか明らかにすることが、将来の幼虫防除計画の立案に必要と考えられた。大阪府での冬期(1-2月)の幼虫調査で厳冬期の雨水マスにアカイエカの幼虫や蛹が採集された。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。一方、アカイエカの成虫越冬がどのような場所で行われているか、いままでよく分かっていなかった。厳冬期の2月上旬に埼玉県K市の東西に走る用水路(高さ1.7m, 長さ200m)を調査したところ、入り口の10mからコンクリートの天井や壁に静止しているアカイエカが見つかり、2ヶ所の用水路で合計200匹以上の越冬成虫を採集することができた。1970年代の調査では、防空壕に越冬している成虫が多数確認されていたが、都市部の居住地域での越冬生態が全く分かっていなかった。なお、用水路内の温度は外気温より1-2℃ほど低く、5.4-7.8℃であった。一部、弱々しく飛ぶ個体もあり、完全な休眠状態でない。恒常的な越冬場所が用水路のような環境の場合は、冬の期間に薬剤処理で防除する方法が考えられ、翌春の個体群密度を相当低下させる効果が期待できる。

2) 野外捕集蚊からのウイルスの検出

今年、蚊の抽出物を最初に Vero 細胞に接種する方法を採用した。その結果、昨年のように不明のフラビウイルスの増殖が抑えられたが、その分、日本脳炎の検出率が低くなった可能性がある。2004年のウエストナイルウイルスの検出結果は、全ての蚊のプールで陰性を示した。今年、成田空港周辺3ヶ所で月1回のペースで蚊の捕集を行い、WNVの移入を監視したが、全く検出されていない。しかし、これらの野外調査と捕集に関して、関係職員の技術面での向上が認められ、緊急時の依頼調査を可能にした。昨年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が、現在、ウイルスを分離するために継代培養を継続して行っている。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。

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、吸血蚊が少なくとも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。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、この方が有利と考えられる。ウエストナイルウイルスは野鳥の体内で増殖することから、野鳥の吸血

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が可能となり、また、アカイエカ種群をアカイエカとチカイエカに分類する簡便な方法を開発し、種ごとに吸血源動物の同定を行った。結論としては、両種とも野鳥吸血活性が高く、また、人吸血活性も高いことが示された。また、アカイエカとチカイエカとでは、人吸血活性に差が認められ、チカイエカがより人から吸血する傾向が明らかになった。野鳥の種類としては、両種ともカモ類とスズメが吸血源となっており、WNV のカラス、スズメ、カモ類などの野鳥体内での増殖を考えた場合、我が国へ WNV が移入された場合には、相当広範囲にウエストナイル熱の流行が起こることが示唆された。一方、千葉県で捕集されたキンイロヤブカは、哺乳動物を吸血する傾向が高く、野鳥の血液は全く検出されなかった。また、富山市で捕集された少数のコガタアカイエカはブタ嗜好性が高く、野鳥の血液は検出されていない。また、ヒトスジシマカは、野鳥、人など種々の動物から吸血する傾向があり、WNV を野鳥から人へ橋渡しする可能性のあることが示された。

4) 殺虫剤感受性試験の結果

全国各地で採集されたアカイエカ、チカイエカ、ネツタイシマカの殺虫剤感受性を調査したが、一部のコロニーでピレスロイド系殺虫剤のエトフェンプロックスに強い

抵抗性の発達が認められた。また、ピリプロキシフェン、ジフルベンズロン、テメフォスに対して抵抗性を示す個体が低頻度で存在することが明らかとなった。また、この抵抗性が他のピレスロイド剤にも交差抵抗性を示すことが示された。都内で採集されたチカイエカでは、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た。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。一部のアカイエカ種群のコロニーで抵抗性が認められたことから、今後、抵抗性の発達状況を継続して調査する必要がある。

E: 結論

1) 幼虫の発生状況調査

幼虫の発生状況調査において、人工容器では圧倒的にヒトスジシマカの幼虫が多く採集され、雨水マスではアカイエカとヒトスジシマカが混在するケースが多く見られた。都市部における一定面積内の雨水マス調査では、幼虫が発生している雨水マスは 1 km² 当たり約 500 ヶ所と推定され、今後の防除対策の立案に貴重な結果を得ることができた。雨水マスにおける幼虫発生は地域的に、同じ都市でも局所的に、また季節的に大きく異なっており、一概に都市部の傾向をまとめることはできない。オリセットネットを雨水マスの蓋に設置する方法、薬剤を個々のマスに処理する方法など、今後の媒介蚊防除対策に資する調査研究の予

備的結果が得られた。

2) 成虫の調査結果

東京、埼玉、千葉、神奈川、富山、大阪、沖縄等でドライイストラップを設置し、成虫の捕集をおこなった。首都圏における2003年の捕集数と2004年の捕集数とを比較した場合、明らかに2004年の捕集数が多く、富山県での調査結果とは大きく異なった。捕集蚊の種類としては、2003年と同様に、アカイエカ、ヒトスジシマカが捕集蚊の90%以上であるが、千葉県では、上記2種以外にコガタアカイエカ、ハマダライエカ、カラツイエカ、オオクロヤブカ、キンイロヤブカが加わり、富山県では農村部の住宅地でコガタアカイエカが多数捕集された。大阪の都市部においてもコガタアカイエカが捕集された。

3) 野外捕集からのウイルスの検出

北海道（釧路市、根室市）、千葉県（成田市、柏市）、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）、神奈川県横浜市、茨城県、富山県富山市、沖縄県（那覇市）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 10,283 匹から 1,147 プールを作成し、Vero 細胞および C6/36 で細胞培養を行い、細胞変性を示したコロニーを中心にウイルスの検出を行った。その結果、ウエストナイルウイルス (WNV) は全てのプールから検出されなかったが、一部のプールがフラビウイルスの陽性反応を示した。現在、この陽性反応を示したウイルスに関して、遺伝子解析を進めている。

4) 吸血源動物の同定について

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吸血源動物の同定を昨年引き続き行った。千葉県で採集されたキンイロヤブカ 56 匹では、全て哺乳動物吸血性を示した。アカイエカとチカイエカを分子分類し、それぞれの種に関して吸血源動物の同定を試みたところ、アカイエカは 65% が鳥類のみ、19% がほ乳類のみ、16% が両方から吸血しており、チカイエカは、野鳥から吸血した割合と哺乳動物から吸血した割合は 44% と同じで、これらの比率はアカイエカと大きく異なっていた。鳥類の内訳は、約 40% がカモ類、約 40% 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、メジロ、カラスの血液が検出された。哺乳動物では人が 45-60% と多く、イヌが 16-18.6%、ネコが 8-15% であった。これらの結果は、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が、チカイエカも同様の傾向が確認された。両種が WNV の bridge vector としては相当重要な媒介蚊となることが推定された。今まで、開放空間でのチカイエカの行動がほとんど調査されていなかったが、今回の結果は、チカイエカも WNV の伝播に関わる可能性があることを強く示唆した。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、WNV の橋渡しをする可能性が示された。

5) 殺虫剤感受性試験の結果

全国各地から採集されたアカイエカ、

チカイエカ、ネッタイエカに関して有機りん系殺虫剤のフェン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、昆虫成長制御剤のジフルベンズロ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。ピリプロキシフェン、ジフルベンズロン、テメフォスに対して抵抗性を示す個体が低頻度で存在すること、エトフェンプロックスに対しては全体的に抵抗性の頻度が高いことが示され、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が示唆された。また、この抵抗性が他のピレスロイド剤にも交差抵抗性を示すことが示された。エトフェンプロックス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た。また、この突然変異以外にシトクロム P450 の解毒酵素の活性増大が確認され、複数の要因が抵抗性の発現に関わっていることが示唆された。

F : 健康危険情報

アカイエカとチカイエカはスズメなどの野鳥と人の吸血嗜好性が高い傾向が認められたことから、WNV の重要な媒介蚊となることが予想される。平時からの幼虫対策が予防対策として特に必要である。

G : 研究発表

1. 論文発表

1) Saitoh, Y., Hattori, J., Chinone, S., Nihei, N., Tsuda, Y., Kurahashi, H. and Kobayashi, M.: Yeast-generated CO₂ as a convenient source of carbon dioxide for adult mosquito sampling. J. Am.

Mosq. Control Assoc., 20: 261-264, 2004.

2) Nihei, N., Yoshida, M., Kaneta, H., Shimamura, R. and Kobayashi, M.: Analysis of the dispersal pattern of newly introduced *Latrodectus hasseltii* (Araneae: Theridiidae) in Japan by spider diagram. J. Med. Entomol., 41: 269-276, 2004.

3) Moribayashi, A., Sugie, H., Katagiri, C., Uchida, K., Kobayashi, M. and Agui, N.: Polyunsaturated fatty acid, eicosapentaenoic acid, mediates larval-pupal and pupal-adult development in the malarial vector mosquito, *Anopheles stephensi*. Med. Entomol. Zool., 55: 59-66, 2004.

4) 小林睦生 : 旅行医学—望まれる診療体制の確立と普及, 海外旅行と感染症 3. 虫よけ. 治療学, 38(3): 42-44, 2004.

5) 小林睦生 : ウエストナイルウイルスの伝播と媒介蚊の役割. 獣疫学雑誌, 8(1): 5-7, 2004.

6) 倉根一郎, 小林睦生 : ウエストナイル熱. INTERET, 3(8): 6-7, 2004.

7) Suwonkerd, W., Tsuda, Y., Overgaard, H. J., Chawprom, S., Tsuno, N., Prajakwong, S. and Takagi, M.: Changes in malaria vector densities over a twenty-three year period in Mae Hong Son province, northern Thailand. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, 35: 316-324, 2004.

8) Kawada, H., Maekawa, Y., Tsuda, Y. and Takagi, M.: Laboratory and field evaluation of spatial repellency with metofluthrin-impregnated paper strip

- against mosquitoes in Lombok Island, Indonesia. J. Am. Mosq. Control Assoc. 20: 293-298, 2004.
- 9) Kawada, H., Maekawa, Y., Tsuda, Y. and Takagi, M.: Trial of spatial repellency of metofluthrin-impregnated paper strip against *Anophels* and *Culex* in shelters without walls in Lombok, Indonesia. J. Am. Mosq. Control Assoc., 20: 434-437, 2004.
- 10) 津田良夫： Dengue 熱媒介蚊の生態（東南アジアを例として）。病原微生物検出情報, 25(2): 9-10, 2004.
- 11) 小曾根恵子, 金山彰宏, 神奈川県ペストコントロール協会：横浜市における蚊成虫捕獲調査（2003 年度）。ペストロジー学会誌, 19(2): 103-108, 2004.
- 12) Kobayashi, J., Phompida, S., Toma, T., Looareensuwan, S., Toma, T. and Miyagi, I.: The effectiveness of impregnated bed net in malaria control in Laos. Acta Tropica, 89: 299-308, 2004.
- 13) Miyagi, I., Toma, T. and Higa, Y.: A new species of *Mimomyia* (*Ingramia*) from Indonesia (Diptera: Culicidae). Med. Entomol. Zool., 55: 11-20, 2004.
- 14) Okudo, H., Toma, T., Sasaki, H., Higa, Y., Fujikawa, M., Miyagi, I. and Okazawa, T.: A crab-hole mosquito, *Ochlerotatus baisasi*, feeding on mudskipper (Gobiidae: Oxudercinae) in the Ryukyu Islands, Japan. J. Am. Mosq. Control Assoc., 20: 134-137, 2004.
- 15) Miyagi, I., Toma, T. and Lien, J. C.: *Ochlerotatus* (*Geoskusea*) *timorensis* (Culicidae: Diptera), a new species from crab-holes, West Timor, Indonesia. Med. Entomol. Zool., 55: 107-114, 2004.
- 16) Toma, T. and Higa, Y.: A new species of *Ficalbia* (Diptera: Culicidae) from Iriomote Island, Okinawa, Ryukyu Archipelago, Japan. Med. Entomol. Zool., 55: 195-199, 2004.
- 17) Sasaki, H., Fujikawa, M., Toma, T. and Miyagi, I.: Culicoides biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) collected at Iriomote Island, Ryukyu Archipelago, Japan, and their blood source. Med. Entomol. Zool., 55: 125-127, 2004.
- 18) Toma, T., Higa, Y., Tokuyama, Y. and Miyagi, I.: Comparison of rDNA ITS2 sequence of *Anopheles saperoi* (Diptera: Culicidae) from two islands of the Ryukyu Archipelago, Japan. Med. Entomol. Zool., 55: 115-120, 2004.
- 19) Nihei, N., Kajihara, N., Kirinoki, M., Chigusa, Y., Saitoh, Y., Shimamura, R., Kaneta, H. and Matsuda, H.: Fixed-point observation of *Oncomelania nosophora* in Kofu Basin-establishment of monitoring system of Schistosomiasis japonica in Japan. Parasitology International, 53, 199-205, 2004.
- 20) 二瓶直子：感染症と GIS. 保健医療のための GIS (中谷友樹, 谷村 晋, 二瓶直子, 堀越洋一編著), pp.127-165, 古今書院, 2004.
- 21) Toda, S., Komazaki, S., Tomita, T. and Kono, Y.: Two amino acid substitutions in acetylcholinesterase associated with pirimicarb and organophosphorous insecticide resistance in the cotton aphid,

- Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae). *Insect Molecular Biology*, 13: 549-553, 2004.
- 22) Kasai, S.: Role of cytochrome P450 in mechanism of pyrethroid resistance. *J. Pestic. Sci.* 29: 220-221, 2004.
- 23) 葛西真治: ピレスロイド剤抵抗性要因としてのシトクロム P450 に関する研究. *日本農薬学会誌*. 29: 234-239, 2004.
- 24) 澤邊京子, 小林睦生: ウエストナイル熱媒介蚊と吸血嗜好性. *ファルマシア*, 40: 527-531, 2004.
- 25) Usuku, S., Noguchi, Y., Takasaki, T.: Newly developed TaqMan assay to detect West Nile viruses in a wide range. *Jpn. J. Infect. Dis.* 57: 129-130, 2004.
- 26) Beti, E. D., Takasaki, T. and Kurane, I.: In vitro assessment of human endothelial cell permeability: effects of inflammatory cytokines and dengue virus infection. *J. Virol. Methods*, 121: 171-180, 2004.
- 27) Tajima, S., Takasaki, T., Matsuno, S., Nakayama, M. and Kurane, I.: Genetic characterization of Yokose virus, a flavivirus isolated from the bat in Japan. *Virology*, 332: 38-44, 2005.
- 28) Ito, M., Takasaki, T., Yamada, K., Nerome, R., Tajima, S. and Kurane, I.: Development and evaluation of fluorogenic reverse transcriptase PCR (TaqMan RT-PCR) assays for Dengue Virus types 1-4. *J. Clin. Microbiol.* 42(12):5935-5937, 2004.
- 29) Jalloh, A., Tantular, I. S., Pugarawati, S., Kawilarang, A. P., Kerong, H., Lin, K., Ferreira, M. U., Matsuoka, H., Arai, M., Kita, K. and Kawamoto, F.: Rapid epidemiologic assessment of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in malaria-endemic areas in Southeast Asia using a novel diagnostic kit. *Trop. Med. Int. Health*, 9(5): 615-623, 2004.
- 30) Arai, M., Ishii, A. and Matsuoka, H.: Laboratory evaluation of the ICT Malaria *Pf/Pv* immunochromatographic test for detecting the panmalarial antigen using a rodent malaria model. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 70(2): 139-143, 2004.
- 31) 松岡裕之: 蚊の越冬・吸血行動. *日本医事新報*, 4191: 98, 2004.

2. 学会発表

- 1) 小林睦生: ウエストナイルウイルスの伝播と媒介蚊の役割. シンポジウム”ウエストナイルウイルス感染症の疫学”ー現状と対策ー, 第16回獣疫学会学術集会シンポジウム, 16年4月3日, 藤沢市.
- 2) 小林睦生: ウエストナイル熱と SARS-ウイルス学との共同ー. シンポジウム「衛生動物学と関連分野の協調」II. 人獣共通感染症への疫学対応. 第56回日本衛生動物学会大会, 16年4月5-7日, 福井市.
- 3) 佐々木年則, Pundel, S. K. S., 伊澤晴彦, 富田隆史, 澤邊京子, 小林睦生: ネパールの児童の頭部より採取されたシラミ由来のバルトネラ. 第56回日本衛生動物学会大会, 16年4月5-7日, 福井市.
- 4) 荻野和正, 堀尾政博, 金澤 保, 小林文夫, 巖城 隆, 奥祐三郎, 神谷正男, 八木欣平, 林 利彦, 二瓶直子, 小林睦生: ハ

エ類がヒトの多包虫感染に関与する可能性の検討ー野外ハエ類の多包条虫虫卵摂取についてー. 第56回日本衛生動物学会大会, 16年4月5-7日, 福井市.

5) Sudipta Roychoudhury, 伊澤晴彦, 澤邊京子, 佐々木年則, 小林睦生: ヤブカ寄生性原虫 *Ascogregarina culicis* のリボゾームDNAおよび熱ショック蛋白質70遺伝子のクローニング. 第56回日本衛生動物学会大会, 16年4月5-7日, 福井市.

6) 森林敦子, 林 利彦., 倉橋 弘, 小林睦生, 内田桂吉, 杉江 元: クロバエ2種の脂質について. 第56回日本衛生動物学会大会, 16年4月5-7日, 福井市.

7) 林 利彦, 澤邊京子, 二瓶直子, 栗原 毅, 小林睦生: 日本産ハマダラカ属3種の卵および蛹の形態比較. 第56回日本衛生動物学会大会, 16年4月5-7日, 福井市.

8) 高井憲治, 小熊 謙, 栗原 毅, 二瓶直子, 澤邊京子, 小林睦生: ハマダラカ *An. engarensis* 成虫雄における脚白帯による *An. sinensis* との鑑別. 第56回日本衛生動物学会大会, 16年4月5-7日, 福井市.

9) 澤邊京子, 二瓶直子, 高井憲治, 林 利彦, 栗原 毅, 小林睦生: 日本産ハマダラカ属 *hyrcanus* 種群の分類と北海道における分布域の推定. 第56回日本衛生動物学会大会, 16年4月5-7日, 福井市.

10) 齊藤康秀, 服部順子, 茅根士郎, 二瓶直子, 津田良夫, 倉橋 弘, 小林睦生: 蚊成虫捕獲トラップのための二酸化炭素源: 酵母による生物発酵法. 第56回日本衛生動物学会大会, 16年4月5-7日, 福井市.

11) 津田良夫, 倉橋 弘, 林 利彦, 葛西真治, 伊澤晴彦, 佐々木年則, 澤邊京子, 富田隆史, 二瓶直子, 小林睦生: 都市域に

おけるドライアイストラップによる蚊類の発生状況調査. 第56回日本衛生動物学会大会, 16年4月5-7日, 福井市

12) 倉橋 弘, 津田良夫, 林 利彦, 葛西真治, 伊澤晴彦, 佐々木年則, 澤邊京子, 富田隆史, 二瓶直子, 小林睦生: ドライアイストラップで捕集された都市域の昆虫類. 第56回日本衛生動物学会大会, 16年4月5-7日, 福井市.

13) 小林睦生, 伊澤晴彦, 佐々木年則, 二瓶直子, 澤邊京子, 津田良夫: 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: 設置場所と捕集数に関する考察. 第56回日本衛生動物学会大会, 16年4月5-7日, 福井市.

14) 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域拡大と関連する要因. 第56回日本衛生動物学会大会, 16年4月5-7日, 福井市.

15) 吉田政弘, 山下敏夫, 小原豊美, 小林睦生: 都市域における蚊の発生状況 (2003年). 第56回日本衛生動物学会大会, 16年4月5-7日, 福井市.

16) 二瓶直子, 小林睦生, 橋田良彦, 金田弘幸, 川端真人, 太田伸生, Bakote'e, B., Leafasia, J., 石井 明: 地理情報システムGISによるソロモン諸島国マラリアリスクの推定. 第56回日本衛生動物学会大会, 16年4月5-7日, 福井市.

17) 富田隆史, 石川 剛, 正野俊夫, 津田良夫, 小林睦生, 葛西真治: 首都圏を中心としたウエストナイル熱媒介蚊の殺虫剤感受性試験: ピレスロイド剤抵抗性アカイエカ群の確認. 第56回日本衛生動物学会大会, 16年4月5-7日, 福井市.

18) 葛西真治, 石川 剛, 李時雨, 正野俊

夫, 津田良夫, 小林陸生, 冨田隆史: プレ
スロイド剤抵抗性アカイエカ群の抵抗性機
構について: 日本産アカイエカからの *kdr*
遺伝子の初確認. 第 56 回日本衛生動物学会
大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

19) 澤邊京子, 伊澤晴彦, 佐々木年則,
Sudipta Roychoudhury, 西海 功, 濱尾章
二, 津田良夫, 小林陸生: チトクローム b
遺伝子解析による吸血源動物種の同定. 第
56 回日本衛生動物学会大会, 16 年 4 月 5-7
日, 福井市.

20) 伊澤晴彦, 澤邊京子, 佐々木年則, 津
田良夫, 倉橋 弘, 高崎智彦, 吉田政弘,
渡辺 護, 小林陸生: 本邦野外捕集蚊から
のアルボウイルスの分離. 第 56 回日本衛生
動物学会大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

21) 小林陸生, 津田良夫, 林 利彦, 葛西
真治, 伊澤晴彦, 佐々木年則, 澤邊京子,
冨田隆史, 二瓶直子, 吉田政弘: 都市部を
中心としたウエストナイル熱媒介蚊の発生
状況. 第 39 回日本脳炎ウイルス生態学研究会,
16 年 6 月 17-18 日, 神戸市.

22) 澤邊京子, 伊澤晴彦, 佐々木年則, 津
田良夫, 小林陸生: 野外捕集蚊におけるチ
トクローム b 遺伝子解析による吸血源動物
種の同定. 第 39 回日本脳炎ウイルス生態学
研究会, 16 年 6 月 17-18 日, 神戸市.

23) 伊澤晴彦, 星野啓太, 佐々木年則, 澤
邊京子, 津田良夫, 倉橋 弘, 高崎智彦,
吉田政弘, 渡辺 護, 小林陸生: 本邦生息
蚊類のウイルス保有状況調査. 第 39 回日本
脳炎ウイルス生態学研究会, 16 年 6 月 17-18
日, 神戸市.

24) 吉田政弘, 山下敏夫, 小原豊美, 小林
陸生: 都市域における蚊調査とくに, アカ
イエカの越冬について. 第 39 回日本脳炎ウ

イルス生態学研究会, 16 年 6 月 17-18 日,
神戸市.

25) 比嘉由紀子, 星野啓太, 伊澤晴彦, 佐々
木年則, 二瓶直子, 澤邊京子, 津田良夫,
小林陸生: 北海道東部におけるドライアイ
ストラップによる蚊の捕集. 第 56 回日本衛
生動物学会東日本支部大会, 16 年 10 月 25
日, 川崎市.

26) 小林陸生, Sudipta Roychoudhury, 比
嘉由紀子, 二瓶直子, 伊澤晴彦, 佐々木年
則, 澤邊京子, 津田良夫: 日本産ヤブカ類
幼虫に新たに認められた *Ascogregaria* spp.
について. 第 56 回日本衛生動物学会東日本
支部大会, 16 年 10 月 25 日, 川崎市.

27) 葛西真治, 駒形 修, 正野俊夫, 冨田
隆史, 澤邊京子, 比嘉由紀子, 津田良夫,
小林陸生, 元木 貢, 高橋朋也, 谷川 力,
吉田政弘: 日本産アカイエカとチカイエカ
の分子生物学的判別法. 第 56 回日本衛生動
物学会東日本支部大会, 16 年 10 月 25 日,
川崎市.

28) 澤邊京子, 伊澤晴彦, 星野啓太, 佐々
木年則, 津田良夫, 比嘉由紀子, 小林陸生,
福士克男, 宮川憲三, 田村安雄, 佐藤英毅:
本邦産野外捕集蚊からのウエストナイルウ
イルスの検出—2004 年度前期報告—. 第
56 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 16
年 10 月 25 日, 川崎市.

29) 藤曲正登, 小川知子, 保坂久義, 海保
郁男: 千葉県におけるカ類の生息調査. 第
56 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 平
成 16 年 10 月 25 日, 川崎市.

30) 津田良夫: 蚊類の発生源としての公園
の雨水マス調査. 第 56 回日本衛生動物学会
大会, 16 年 4 月 5-7 日, 福井市.

31) 川田 均, 前川芳秀, 津田良夫, 高木