

図9 2009年10月以降の気温の変動

表1 飛来数調査日前14日間の気温の変動

調査日	飛来数*	気温(°C)		
		最低	最高	平均
9/20	27	18.5	34.3	23.7
10/4	30	18.4	33.7	21.8
10/11	8	15.1	31.2	21.3
10/18	4	12.3	28.9	19.4
10/31	8	11.4	28.7	18.4
11/7	7	6.6	28.7	16.5
11/15	3	6.6	26.2	16.0
11/21	0	5.1	25.7	14.9
11/28	0	5.1	23.6	13.2

*:10:00~15:00の間の観察場所Aにおける飛来数

厚生労働省科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

ベトナムのデング熱媒介蚊の地理的分布とピレスロイド抵抗性の分布調査およびミトコンドリア DNA ハプロタイプの解析

研究分担者 川田 均（長崎大学熱帯医学研究所）
研究協力者 比嘉由紀子（長崎大学熱帯医学研究所）
高木正洋（長崎大学熱帯医学研究所）
Nguyen Thi Yen (National Institute of Hygiene and Epidemiology, Vietnam)
Nguyen Thuy Hoa (National Institute of Hygiene and Epidemiology, Vietnam)
駒形 修（国立感染症研究所）
葛西真治（国立感染症研究所）
富田隆史（国立感染症研究所）

研究要旨

ベトナム全国に散在する中古タイヤから採集したネッタイシマカ幼虫について、ピレスロイドの作用点であるナトリウムチャンネルの遺伝子変異 (*kdr*) としてこれまで報告されている、ドメイン II-膜貫通セグメント 6 (DIIIS6) 領域のアミノ酸置換 L1014F、V1016G および I1011M (あるいは V) のそれぞれの変異に関して、ベトナム国内の 72 カ所から採集されたネッタイシマカ幼虫 (計 860 個体) につき調査したところ、L1014F および I1011M (あるいは V) 変異は全く見られず、V1016G 変異についてもベトナム南部からの採集幼虫からわずか 2 個体が確認されるに留まった。一方、近年になってタイの採集個体から発見された、上記のアミノ酸置換変異とは異なるドメイン III-セグメント 6 (DIIIS6) 領域の新しいアミノ酸置換変異 (F1269C) について、上記幼虫サンプルに関して同様に調べたところ、高い頻度でこの変異が見つかった。同様の変異は、タイ、ミャンマー、カンボジアでも見つかっており、東南アジアに普遍的なアミノ酸置換変異の可能性が高いことが明かとなった。

また、上記幼虫サンプルにつき、ミトコンドリア DNA の COI および ND4 領域の塩基配列を調べた結果、39 個のハプロタイプが見つかった。ネットワーク図を作成したところ、系統的に 3 グループに分かれた。多くの個体が属するグループはベトナムに全土に分布していたが、他の 2 グループは中部以南に集中的に分布しており、地理的分布に違いがみられた。*kdr* 遺伝子はどのグループからもみつき、本遺伝子がベトナム全土に短期間で一斉に広まった可能性が示唆された。

A. 研究目的

デング熱およびデング出血熱は、熱帯地域において最も重要な蚊媒介性疾患の一つである。デングの主要な媒介蚊として、ネッタイシマカ *Aedes aegypti* (L.) とヒトスジシマカ *Aedes albopictus* (Skuse) が重要な位置を占めていることは言うまでもない。なかでもネッタイシマカは、中南米、東南アジア、南アジア等の熱帯地域に広範囲に分布するが、黄熱病・デング熱その他の多くの熱帯病の媒介蚊であることから、

古くから防除の対象になっており、防除の歴史に伴って、殺虫剤抵抗性に関する報告がなされてきている。1980 年以前には DDT 散布が主流であり、DDT に対する抵抗性の報告が世界のほぼ全域からされている。1985 年から 2000 年にかけては、有機リン剤およびカーバメイト剤に対する抵抗性報告が多くみられるが、1990 年代になるとピレスロイド剤に対する報告がこれに加わり、2000 年以降はピレスロイド剤に対する抵抗性の報告が目白押しとなっている。ヒトス

ジシマカは東洋に起源を發すると言われて
いるが、20世紀になってから、ハワイおよ
び南太平洋の島々に分布が拡大した。その
後1980年代初期に、北米大陸東南部での生
息が確認され、現在では北米大陸中南部の
普通種となっている。1980年代後半には、
中南米や豪州、オセアニア、アフリカ大陸
にも侵入が確認されており、デング熱やチ
クングニヤ熱の重要な媒介蚊として注目さ
れている。中古タイヤの日本から米国を中
継した全世界への輸出が、この分布拡大の
一つの重要な要因であることは確実である。
ヒトスジシマカの殺虫剤抵抗性は今のところ
大きな問題とはなっていないが、世界的な
分布拡大と共に今後問題化することは必
至である。また、上記のような経緯から、
ネッタイシマカとヒトスジシマカはマクロ
的には同一の地域に存在するケースが増え
ているが、ミクロ的には棲み分け現象や、
一方が他方を凌駕してしまう現象が数多く
報告されている。

本研究は、この2種の東南アジアにお
ける分布をミクロな観点から詳細にマッピ
ングすることにより、両種の棲み分けや種
の置き換え現象の要因や遺伝学的背景を解
析するとともに、現在防除の主流となっ
ているピレスロイド抵抗性の分布や特性を
明らかにすることによって、有効な防除法
策定にあたっての情報を提供することを大
きな目的とするが、今年度はその一環とし
てベトナムをフィールドとした調査を行っ
た。

B. 研究方法

1. ベトナムのネッタイシマカにおけるピ レスロイド抵抗性機構の解析

解析に用いた蚊のサンプルは、2006年12

月から2008年1月にかけての3年間にわた
って、ベトナム北部の山間地から南部のメ
コンデルタ地帯の国道沿いに点在する中古
タイヤから採集したネッタイシマカ幼虫を
使用した。ピレスロイド抵抗性機構として
は、大きく分けてP450由来の酵素による代
謝活性の増大と、神経膜電位依存性のナト
リウムチャンネルを構成する遺伝子のアミ
ノ酸置換に起因した神経の低感受性の二つ
が主要因として考えられる。特に後者はピ
レスロイドのノックダウン活性を極度に低
下させるために *kdr* あるいは *kdr* 様の塩基
置換として重要視されている。そこで、我々
はこの *kdr* 様の塩基置換に注目して、PCR
による遺伝子増幅とダイレクトシーケン
シングによる解析により、ピレスロイド抵
抗性遺伝子の解明とその地理分布に関する
解析を試みた。

2. ベトナムのネッタイシマカにおけるミ トコンドリアハプロタイプによる系統解析

解析には、2と同じテンプレートDNAを用
い、採集地1箇所あたり、2サンプルとした。
参考として、ケニア・キスム産、インドネ
シア・バリ島産、タイ・チェンマイ産、エ
ルサルバドル産のネッタイシマカを用いた。
ネッタイシマカの系統解析にこれまで使わ
れているミトコンドリアDNAのCOIおよび
ND4タンパクコード領域を、下記のフォー
ワードおよびリバースプライマーを用いてそ
れぞれPCR法にて増幅をおこなった。COIには
5' -GGATTATTAGGATTTATTGT-3' および 5'
'-GCAAATAATGAAATTGTTCT-3'、ND4には
5' -TGATTGCCTAAGGCTCATGT-3' および
5' -TTCGGCTCCTAGTCGTTTCAT-3' である。
PCRは、94°C2分、37°C2分、72°C1分の3サイ
クル、94°C30秒、50°C30秒、72°C1分の35

サイクル、72°C5分の伸長反応でおこなった。PCR産物の精製後、BigDye1.1および上記のプライマーを用いてダイレクトシーケンス反応を行い、ABI3730にて塩基配列の決定をおこなった。塩基配列の決定後、アライメント、ハプロタイプの解析を行い、ハプロタイプネットワーク図を作成した。また、ハプロタイプの地理的分布、*kdr*遺伝子の分布との相関も調べた。

C. 研究結果

1. ベトナムのネッタイシマカにおけるピレスロイド抵抗性機構の解析

ピレスロイドの作用点であるナトリウムチャンネルの遺伝子変異として、これまで多くの衛生・農業害虫種で報告されているドメインII-膜貫通セグメント6(DIIS6)領域のアミノ酸置換(L1014F変異)、およびネッタイシマカのピレスロイド抵抗性に関連するアミノ酸置換変異で、同じくDIIS6領域にあるV1016GおよびI1011M(あるいはI1011V)変異に関して、ベトナム国内の72カ所から採集されたネッタイシマカ幼虫(計860個体)につき調査したところ、I1011M(あるいはI1011V)とL1014F変異は全く見られず、V1016G変異についてもベトナム南部からの採集幼虫からわずか2個体が確認されるに留まった。一方、Yanola et al. (2008)は、タイの採集個体から、上記のアミノ酸置換変異とは異なるドメインIII-セグメント6(DIIS6)領域の新しいアミノ酸置換変異(F1269C)を報告しているが、この部位の変異について、上記幼虫サンプルに関して同様に調べたところ、非常に高頻度かつ広範囲の地域でこの変異が確認された。この塩基置換は、ベトナム中部以北では低頻度であるが、中南部にお

いて高頻度となり、特に南部のほぼ全域とDong Ha、Hue、Da Nang、Tam Ky、Quang Ngai、Quy Nhon、Nha Trangなどの大きな都市部周辺において頻度が高くなる傾向が見られた。最も高い遺伝子頻度は87.5%で、Da Nang市内の採集コロニーにみられた(図1)。

2. ベトナムのネッタイシマカにおけるミトコンドリアハプロタイプによる系統解析

ベトナム産ネッタイシマカ112サンプルに加え、ケニア、エルサルバドル、タイ、インドネシアのサンプルを用いて、ミトコンドリアDNAのCOIとND4領域の塩基配列を調べたところ、ベトナムでは39個のハプロタイプが見つかった。ハプロタイプネットワーク図(図2)を作成したところ、ベトナムのネッタイシマカは系統的に3グループに分かれることがわかった。ネットワーク図右上のグループ(グループ1)に属するものがもっとも多く、ベトナム全土でみられ、ケニアおよびエルサルバドル産ネッタイシマカがこれに属した。左下のグループ(グループ2)は南部の海岸地域、高地、メコンデルタに主に分布しており、タイおよびインドネシア産がこれに属した。左下のグループ(グループ3)は中部以南に主に分布していた。また、*kdr*遺伝子はどのグループにもみられた。

D. 考察

1. ベトナムのネッタイシマカにおけるピレスロイド抵抗性機構の解析

F1269C変異は、タイ、ミャンマー、カンボジアでも見つかっており、東南アジアに普遍的なアミノ酸置換変異の可能性が高い。F1269Cを有するコロニーに対しては、PBOの協力効果もみられず、成虫のピレスロイ

ドに対するノックダウンも極めて遅延されることから、この塩基置換はベトナムのネッタイシマカのピレスロイド抵抗性において重要な役割を果たしているものと思われる。また、南部の山間地において、バイオアッセイでは抵抗性を示しながらも F1269C の頻度が低い地域がみられたのは興味深い。この地域のネッタイシマカでは異なるピレスロイド抵抗性機構が関与している可能性が高く、今後の調査が必要である。

2. ベトナムのネッタイシマカにおけるミトコンドリアハプロタイプによる系統解析

ミトコンドリア DNA を用いた系統解析により、ベトナムのネッタイシマカは大きく 3 つの系統に分かれることがわかった。ネッタイシマカはアフリカ原産の種であることから、過去に少なくとも 3 度、ベトナムへネッタイシマカが侵入したことを示唆している。過去の植民時代、戦争時代に人的、物的移動に伴って侵入してきた可能性が高い。

さらに、どのグループにも *kdr* 遺伝子がみられたことから本遺伝子がベトナム全土に短期間で一斉に広まった可能性が示唆された。また、高地のネッタイシマカはバイオアッセイではピレスロイド感受性の低下がみられたが、*kdr* 遺伝子を持った個体は見つからず、高地特有のハプロタイプもなかった。このことより、高地と低地で蚊の移動は頻繁にあるものの、地域によっては *kdr* 遺伝子をもっていることによって適応度が低下する可能性が示唆された。*kdr* 遺伝子そのものが間接的に適応度を低下させるのか、ヒッチハイク遺伝子が適応度を低下させるのかは現時点では不明である。

E. 結論

1. ベトナムのネッタイシマカにおけるピレスロイド抵抗性機構の解析

ベトナムにおける熱帯病媒介蚊のピレスロイド抵抗性に関する報告は極めて少ないが、その数少ない結果だけを見てもかなり深刻な状況であることが覗かれる。ピレスロイド剤は媒介蚊防除の主流となりつつあり、今のところこれに代わる新しい殺虫剤の出現はなかなか期待できないことから、今後しばらくはできるだけピレスロイド剤の寿命を長く保ちながら効率的かつ合理的な防除を行う必要がある。Vu et al. (2006) は、ピレスロイド抵抗性のベトナム南部地域のネッタイシマカコロニーが、いずれも有機リン剤に対しては比較的感受性が高いことを報告している。したがって、この地域における有機リン剤の使用には期待が持たれる。しかし、殺虫剤の無計画かつ大量の使用は、いずれは抵抗性問題を引き起こすことは必至である。ポピュレーションレベルで殺虫剤抵抗性を生化学的・遺伝学的にモニターできるシステムの構築、および新しい作用性を有する殺虫剤の早期の開発、そして理論的には抵抗性発達の危険性が考えられないノックダウン剤を用いた空間忌避剤（蚊取り線香剤や常温揮散性ピレスロイドを使用した製剤など）の使用等の手段の再考が急務であろう。

2. ベトナムのネッタイシマカにおけるミトコンドリアハプロタイプによる系統解析

過去に少なくとも 3 回、ネッタイシマカが大量にベトナムに入ってきたことが明らかになったが、ハプロタイプと *kdr* 遺伝子の分布をみても、国内でも頻繁に移動、分散していることが伺えた。成虫の移動範囲

は広くないため、乾耐性の卵が産み付けられる発生源のコントロールは本種の分散を制限する有効な手段であり、デング熱媒介蚊対策の最重要課題であるといえよう。ヒトスジシマカは卵が古タイヤとともに世界中に運ばれ、最近のチクングニヤ熱流行もあいまって、研究の重要性が高まっている。ベトナムではピレスロイド抵抗性もほとんど発達していないことから、成虫の生態がネッタシマカとは異なっていると考えられるので、流行への関与の仕方も異なっている可能性がある。アジア原産であり系統学的背景もネッタシマカとは異なっていることが予想され、次の課題としたい。両種の発生源要因とともに遺伝学的背景を明らかにしていくことで、より効果的な媒介蚊対策のための情報を提供できるだろう。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kawada H, Higa Y, Komagata O, Kasai S, Tomita T, Nguyen T Y, Luu L L, Sánchez R A P, Takagi M. Widespread distribution of a newly found point mutation in voltage-gated sodium channel in pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* populations in Vietnam. PLoS Neglected Tropical Diseases 3(10):e0000527, 2009.
- 2) Kawada H. An Inconvenient Truth of Pyrethroid - Does it have a promising future? -. In Clark J, Bloomquist J R, Kawada H [ed.] Advances in Human Vector Control (ACS Symposium Book 1014)

American Chemical Society, New York.

- 3) Higa Y, Nguyen TY, Kawada H, Tran HS, Nguyen TH, Takagi M. Geographic distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* collected from used tires in Vietnam. Journal of American Mosquito Control Association 26 (*in press*).

2. 学会発表

- 1) 川田 均・比嘉由紀子・駒形 修・葛西真治・富田隆史・Nguyen Thi Yen・Nguyen Thuy Hoa・高木正洋. ベトナム全土における古タイヤに発生する蚊類の生態調査 (5) ネッタシマカの *kdr* 遺伝子頻度の地域分布に関する解析 第61回日本衛生動物学会大会, 2009年4月, 高松市.
- 2) 欽田龍星・伊澤晴彦・星野啓太・佐々木年則・津田良夫・金 京純・梁瀬 徹・白瀬浩明・今田忠男・川田 均・比嘉由紀子・前川芳秀・高木正洋・小林睦生・澤邊 京子. 2008年国内捕集コガタアカイエカからの日本脳炎ウイルスの検出および遺伝子解析 第61回日本衛生動物学会大会, 2009年4月, 高松市.
- 3) 大橋和典・津田良夫・葛西真治・川田均・阿部眞由美・都野展子・高木正洋. 住宅地におけるウエストナイルウイルスの潜在的媒介蚊の特定とその季節消長 第61回日本衛生動物学会大会, 2009年4月, 高松市.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

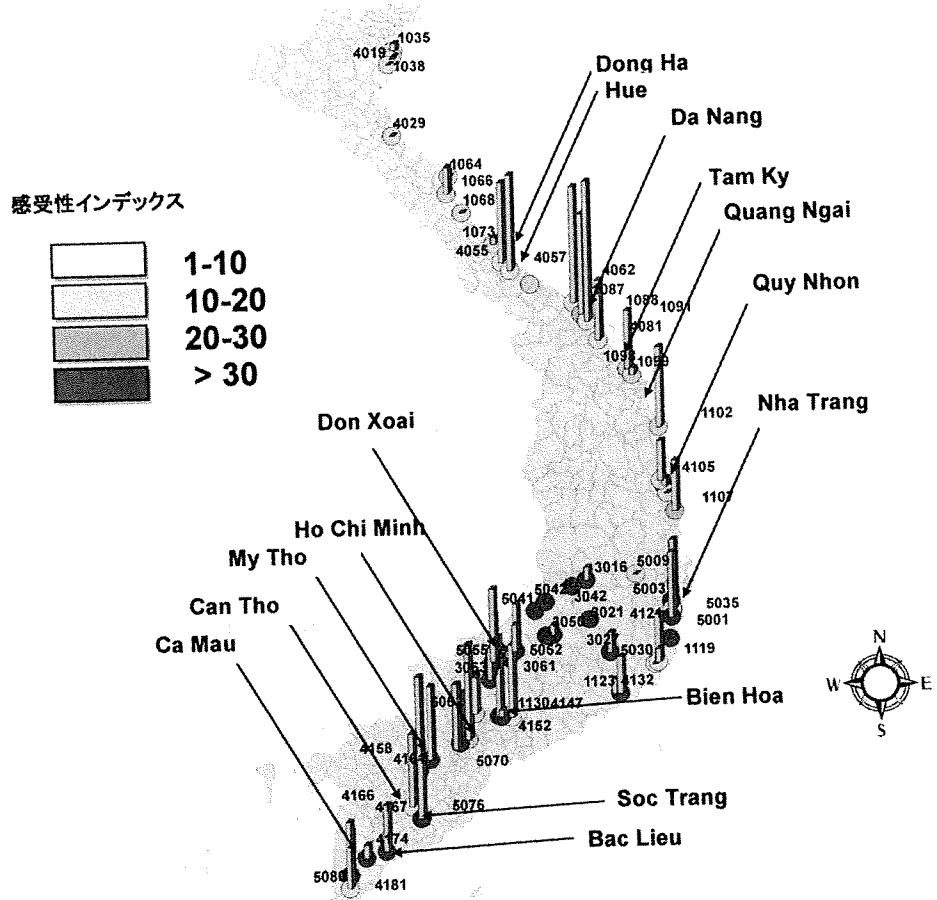


図 1 ベトナム中南部の中古タイヤから採集されたネッタイシマカ幼虫の α アレスリンに対する感受性インデックス (1 が最も感受性が高く 36 が最も低い) と膜電位依存性ナトリウムチャンネルの塩基置換 (F1269C) の頻度分布 (棒グラフ)

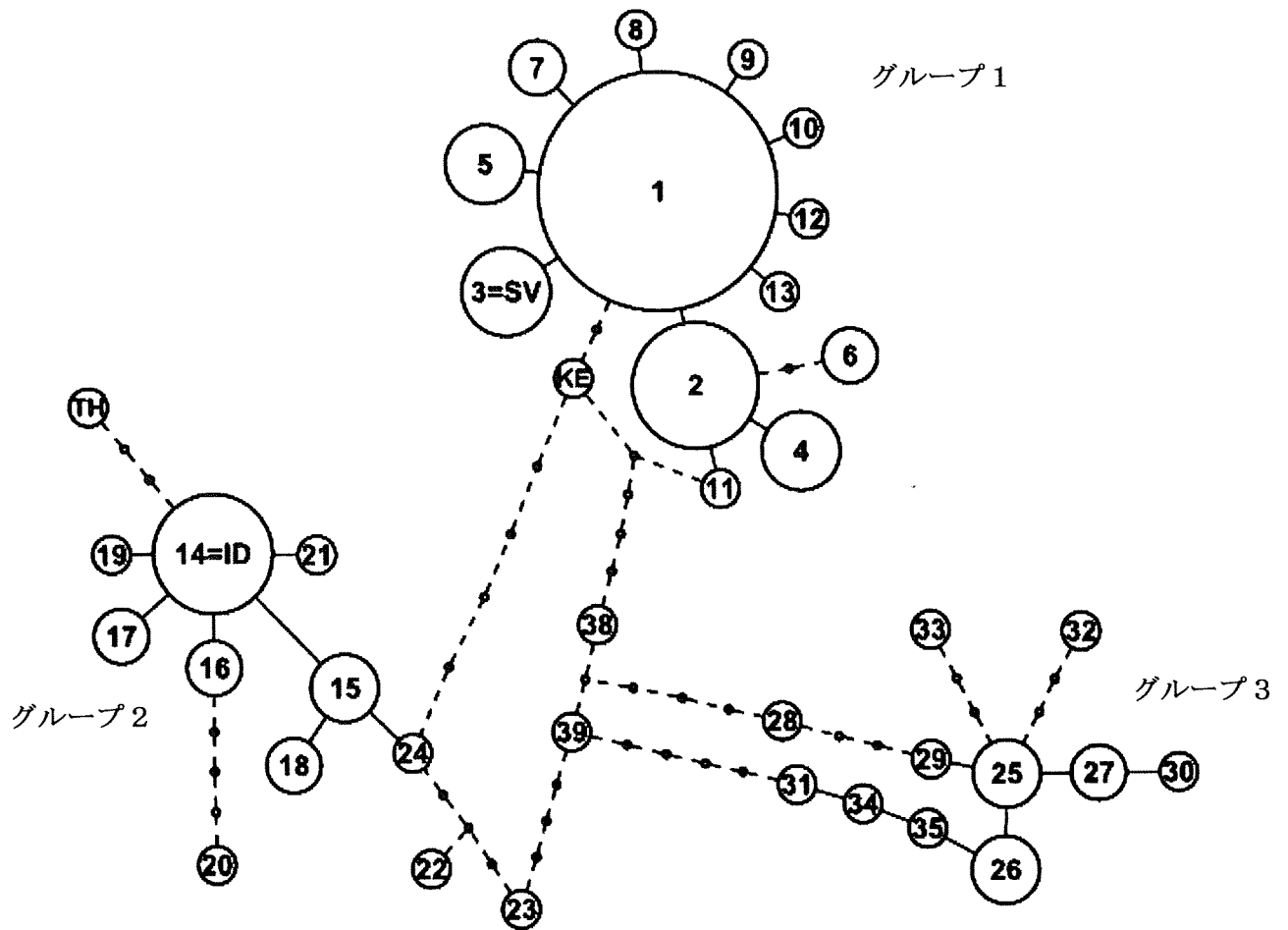


図2 ベトナムの中古タイヤから採集されたネッタイシマカ幼虫のミトコンドリア DNA、COI および ND4 領域の塩基配列より作成したハプロタイプネットワーク図。円の大きさはサンプル数に比例。円内部の数字はハプロタイプ番号。白丸は仮想の塩基置換。

KE : ケニア産, SV : エルサルバドル産, ID : インドネシア産, TH : タイ産

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

コガタアカイエカの集団飛来と越冬に関する研究
(2008年秋-2009年春の調査結果)

研究分担者 津田良夫 国立感染症研究所
研究協力者 金京純 岐阜大学大学院

2007年9月～12月に休眠前のコガタアカイエカが多数飛来した東京都の都市域にある公園で、2008年秋にも同様の集団飛来が観察された。飛来の時間経過は2007年と2008年で同様で、9月中・下旬に始まり、飛来数は10月中旬にピークに達して12月に終息した。飛来したコガタアカイエカの密度は2007年よりも2008年の方が常に高く、最高密度は1時間あたり3,740個体で2007年の3.5倍であった。卵巣の形態観察の結果、飛来成虫の96.5% (222/230)は基部卵母細胞の発育ステージがNまたはI、あるいは基部卵母細胞と2番目のそれとの長さの比が1.5以下であり繁殖休眠の状態であった。2009年3、4月に実施した捕虫網採集の結果、合計211雌(内4個体は吸血個体)の越冬覚醒したコガタアカイエカが捕獲され、この採集地の近くに越冬場所が存在していることが示された。ミトコンドリアDNAのチトクロームb遺伝子あるいは16S rDNA 遺伝子領域の塩基配列によって吸血蚊の吸血源動物を同定した結果、2個体はヒト、1個体はネコを吸血していたと推定された。

A. 研究目的

蚊の繁殖シーズンの終了期に相当する2007年9月末に東京都の都市域にある公園で、突然コガタアカイエカ成虫が多数捕獲され始めた。個体数が著しく多いことと飛来時期から考えて、これらの成虫は越冬世代の成虫であると思われた。過去に越冬世代のコガタアカイエカがこれほどの密度で採集された報告はないことから、この現象が毎年起きているのか、あるいは2007年に限って観察された例外的な事象であるのか判断ができない。この点を明らかにすることは本種の生態を理解する上で重要な課題であるので、2008年9月から2009年5月にかけて同じ公園で調査を行い2007年の調査結果と比較した。

B. 研究方法

2008年9月～12月まで、直径36cmの捕虫網を用いて日の出直後に1時間のsweeping採集を週あたり2～3回行った。採集場所は2007年と同じ都立林試の森公園の南部に位置する約600m²の林床部で、上部を樹冠で覆われ、シャガ、ヤブラン、キチジョウソウが茂っていた。捕獲された成虫は感染研に持ち帰り、種類ごとに個体数を記録し冷凍で保存した。これらのサンプルを解剖し卵巣の形態観察から経産雌の割合を求めた。雌個体が繁殖休眠にあるかどうかを判定するために、230個体の卵巣を解剖してもっとも大きい基部の卵母細胞5つを選びその大きさを測定した。卵母細胞が大きく発育段階が進んでいるものは、2番目の卵母細胞の大き

さを測定し、1番目と2番目の卵母細胞の大きさの比を求めた。1番目の卵母細胞の発育段階がNあるいはI, または1番目と2番目の卵母細胞の大きさの比が1.5以下の個体は繁殖休眠であると判定した。

2009年1月から3月中旬にあたたかな日を選んで午後1時間のsweeping採集を14回行った。2009年3月中旬から5月初旬には朝と夕方にそれぞれ1時間のsweeping採集を計44日実施した。

C. 研究結果

コガタアカイエカの集団飛来は2008年9月12日に始まり、捕獲密度は10月18日に最高に達し1時間あたり3,740雌を示した(表1, 図1)。捕獲密度は2007年に比べて常に2008年の方が高く、調査期間全体で27,471雌1,717雄が採集された。経産雌率は2.6%(6/230)で、2007年(4.4%)と有意な差はなかった。卵巣を解剖して卵母細胞の大きさを測定して頻度分布で示した(図2)。繁殖休眠状態にあると判定された雌の比率は96.5%で、2007年よりも有意に高かった。

2009年1月から5月にかけて実施した越冬成虫の調査結果を図3に示した。捕獲されたコガタアカイエカの越冬成虫数は2008年春の11雌(調査回数42回)に比べて非常に多く、合計80回の採集によって211雌が採集された。採集されたコガタアカイエカはすべて雌で4個体が吸血蚊であった。これら4吸血蚊についてミトコンドリアDNAのチトクロームb遺伝子あるいは16S rDNA遺伝子領域の塩基配列によって吸血源動物を同定した結果、2個体はヒト、1個体はネコを吸血していたと推定された。

D. 考察

2008年秋も2007年秋と同様にコガタアカイエカの集団飛来が観察された。コガタアカイエカは水田などで発生し、8月末～9月中旬に羽化した成虫は繁殖せずに冬越することが知られている。発生源である水田の周囲には越冬に適した場所はないと考えられるので、越冬世代の成虫は生育した水田から越冬に適した場所へ移動していると推測されている。本研究で観察された集団飛来はこの越冬場所への移動に関連した現象と思われる。したがって毎年繰り返されていると考えるのが妥当だろう。

集団飛来の時間経過は2007年と2008年でほぼ同様であった。コガタアカイエカの休眠を誘起する条件は短日と低温の組み合わせであることが実験的に示されており、特に日長の季節変化は年による変動が小さいので、短日・低温条件に反応して集団飛来が起こるとすれば集団飛来の時間経過が2007年と2008年でほぼ同じであったことは容易に理解できる。

毎年繰り返されているながら、この現象がこれまでまったく報告されていない理由に関しては、調査が主として牛舎や豚舎で行われそれ以外の場所では行われなかったこと、採集方法がライトトラップやドライアイスによる誘引採集のように吸血のために飛来する成虫を対象にした方法であったことがあげられるだろう。越冬世代成虫は吸血性がないため、誘引源を利用した採集方法では捕獲できない。本研究は越冬世代成虫の調査には捕虫網による採集が非常に有用であることを示している。

2009年春には休眠覚醒したと思われる211雌が捕獲されている。この中に4個体と数は少ないものの吸血蚊が含まれていたことは、春先に捕獲された成虫がすでに休眠から覚めていたことを示唆してい

る。

E. 結論

2007年9月～12月に休眠前のコガタアカイエカが多数飛来した東京都の都市域にある公園で、2008年秋にも同様の集団飛来が観察された。本研究で観察された集団飛来は越冬場所への移動に関連した現象と思われ、したがって毎年繰り返されていると考えられた。2009年春には211個体の越冬から覚めた個体が捕獲されていることから、この公園の周辺に越冬場所が存在していると思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Tsuda, Y. and Kim, K.S. 2010.
Prediapause migration and overwintering of *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae) observed in a park in urban Tokyo during 2007 to 2009. *Med. Entomol. Zool.*, 61(1): 印刷中

2. 学会発表

津田良夫・金京純 2009.
2007年と2008年の秋に突然飛来したコガタアカイエ

カの大集団. 第61回日本衛生動物学会大会, 2009年4月3日～4日, 高松市.

津田良夫・金京純 2009. コガタアカイエカ越冬世代の生態調査. 第44回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 2009年6月19日～20日, 千歳市.

津田良夫・金京純 2009. コガタアカイエカの越冬に関する生態的研究: 2008年秋と2009年春の野外調査結果. 第61回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2009年10月17日, 東京.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表 1. 都立林試の森公園におけるコガタアカイエカ集団飛来の観察結果

調査項目		2007年	2008年
集団飛来の経過日	開始	9月26日	9月12日
	ピーク	10月13日	10月18日
	終了	12月8日	12月20日
時間あたり最高密度		1,062/時間	3,740/時間
総捕獲個体数	雌	14,091	27,471
	雄	2,802	1,717
経産雌率 (%)		4.4 (41/936)	2.6(6/230)
休眠個体の割合 (%)		85.7 (120/141)	96.5(222/230)

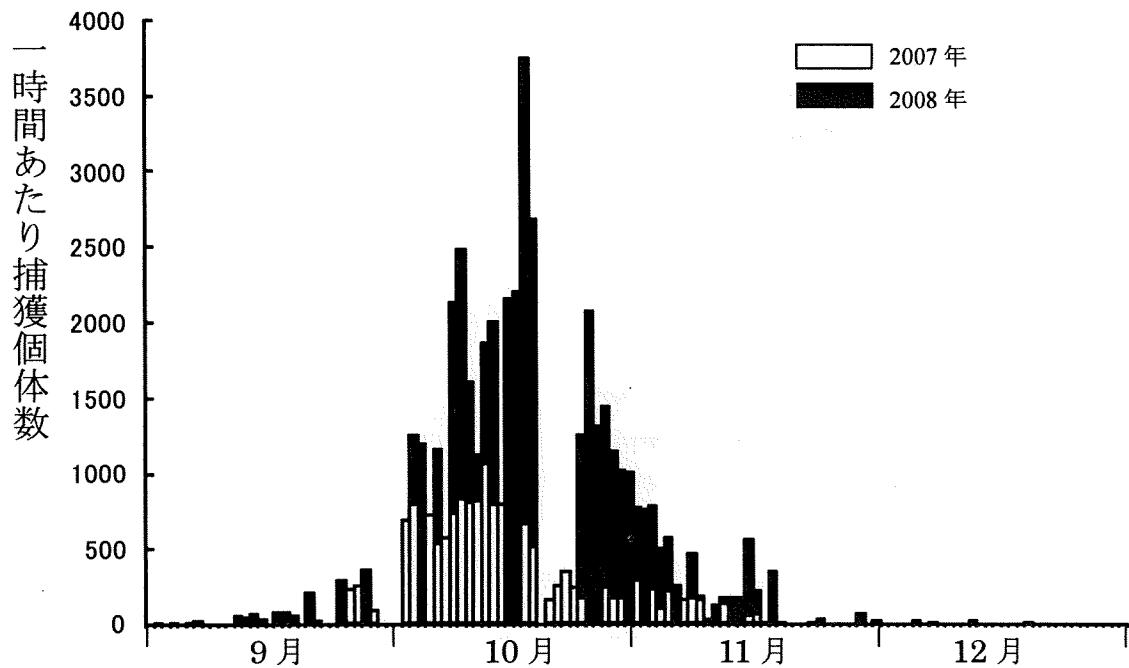


図 1. 1時間の捕虫網採集によって捕獲されたコガタアカイエカの個体数の推移.

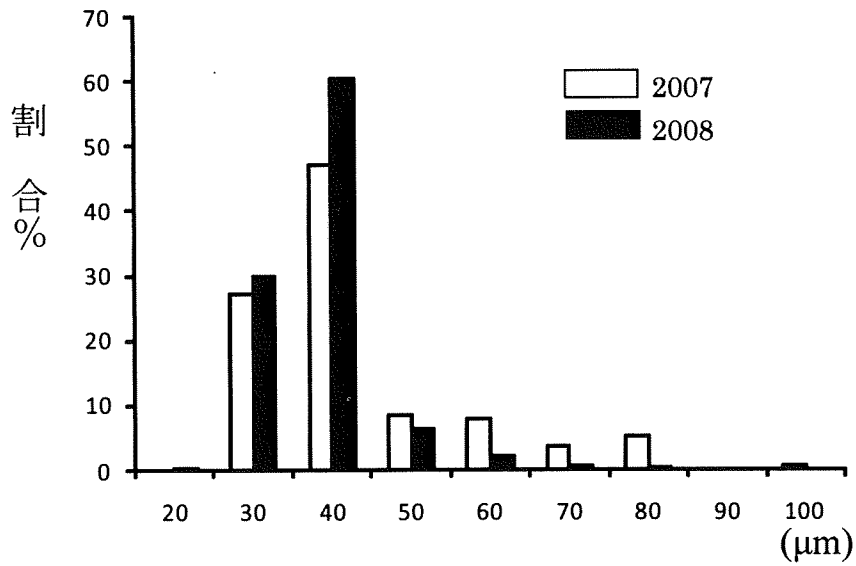


図 2. 基部卵母細胞の大きさの頻度分布

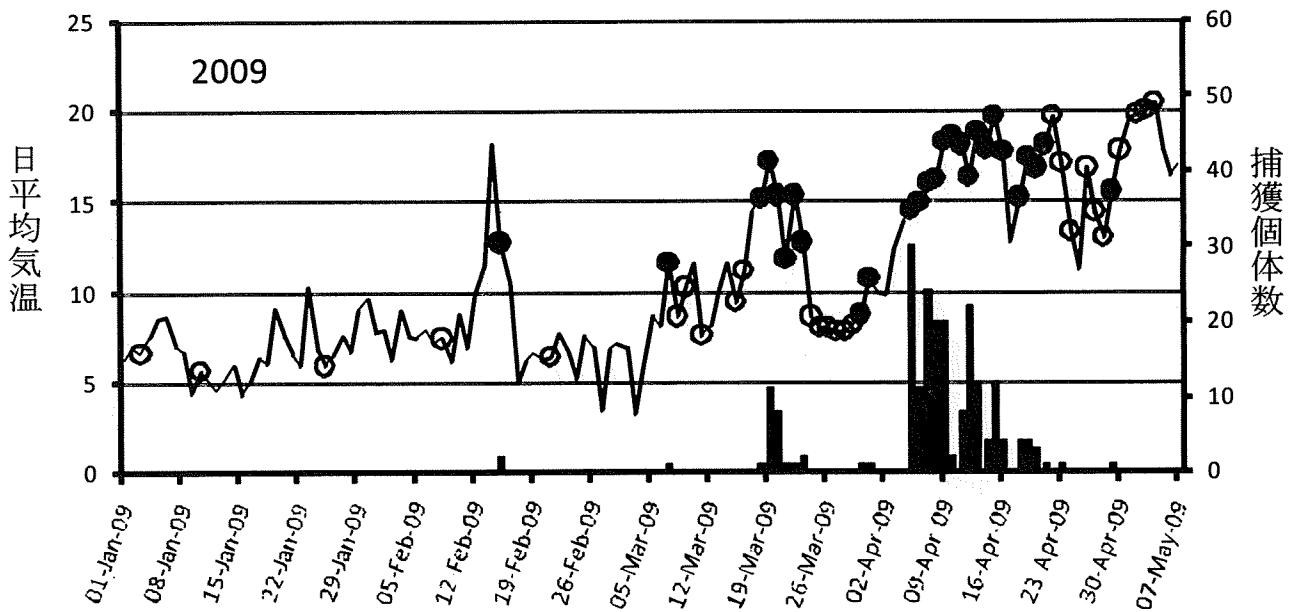


図 3. 2009 年 1 月から 5 月の日平均気温の変化と成虫調査の結果. 丸印は調査実施日を示し, 黒丸はコガタアカイエカが捕獲された日を示す. 棒グラフは捕獲個体数を示す.

滋賀県琵琶湖湖東地域におけるコガタアカイエカの分布調査と景観解析

分担研究者 小林睦生 (国立感染症研究所・昆虫医科学部)
協力研究者 二瓶直子 (国立感染症研究所・昆虫医科学部)
米島万有子 (立命館大学・文学部院)
渡辺 護 (国立感染症研究所・昆虫医科学部)
津田良夫 (国立感染症研究所・昆虫医科学部)
中谷友樹 (立命館大学・文学部)

研究要旨

彦根市・近江八幡市等琵琶湖湖東地域において感染症媒介蚊の調査を 2008 年 8 月から 10 月にかけて実施した。CDC トラップやライトトラップで捕集した結果、コガタアカイエカの捕集数に地域差が認められた。そこで 2009 年については 5 月から 10 月まで、20 箇所を定点として選び CDC トラップを設置し、コガタアカイエカの季節消長と地域差を検討した。その結果さらに地域の特徴が明らかになったので、その要因をトラップ設置場所の土地利用あるいは景観の違いから検討した。トラップからの距離が 50m, 100m, 150m, 200m, 500m, 1km, 1.5km, 2km の 8 つの半径の範囲内で、景観要素の構成比率と蚊の捕集数との回帰分析を行い、その解析における正の要因として農地や湿地、負の要因として道路などが重要な関係要因であることを明らかにした。この結果から琵琶湖孤島地域におけるコガタアカイエカの生息ポテンシャルマップを作成することが出来た。

A. 研究目的

温暖化に伴い日本における蚊媒介感染症の流行が懸念されている。特に日本脳炎の媒介蚊であるコガタアカイエカにとっては、琵琶湖周辺はヨシ原などの湿地帯や水田などが広がっていて、現在の日本としては生息に最も適した地域の一つであると考えられる。初年度である 2008 年の予備調査で捕集数の地域的特性が推測されたことから、2009 年度は春から秋の本蚊の活動時期に、捕集数に特徴的な傾向が見られる地点を定点として、CDC トラップで

成虫を捕獲して、捕集数の季節的消長と地域差、およびそれをもたらす要因について、特に捕集数と景観的特性の関係を、地理情報システムや統計解析手法で明らかにした。この結果を用いてコガタアカイエカ生息のポテンシャルマップを作成した。本研究は空中写真や衛星画像を用いて対象地域の環境復元を行い、コガタアカイエカの生息条件の過去・現在の変化を観察しながら、来るべき温暖化の時期に、どのような生息状況となるかを予測し、監視体制に貢献することを目的とする。

B. 研究方法

対象地域は、北緯 35 16, 東経 136 16 の、滋賀県琵琶湖の湖東平野にあって、行政的には彦根市、東近江市、安土町、近江八幡市に属する。

断層湖である琵琶湖周辺の沖積低地は狭く、調査地域は琵琶湖に流入する河川の沖積平野としては広い面積を占める。その北部にある彦根市の年平均気温は 14.1℃、最寒月の 1 月平均気温 3.1℃、最暖月の 8 月 26.6℃である。地形的には丘陵または山地、犬上川、愛知川、日野川などの扇状地面、三角州面、湖畔や河川流域の自然堤防状微高地、それらの間の後背湿地および内湖からなる。内湖のかなりの面積が戦中・戦後にかけて干拓され、土地利用は市街地、畑地・田等の農地、ヨシ原など沼沢地、水体等からなる。家畜の飼養は、戦前から近江牛や軍馬の飼養として盛んで、戦後も干拓によって造成された水田単作地帯に乳牛・肉牛・豚その他の家畜の多頭飼育が展開されている。水田と畜舎が近接して存在し、また琵琶湖の水運に関連した古くからの集落や安土城なども散見される。琵琶湖の湿地帯に栽培されるヨシは京都の良質な建築資材として古くから珍重され、現在にいたっており、ヨシ原の保存活動も盛んである。

成虫の捕集は東京エーエス社製ライトトラップ 3 台および 1 kg ドライアイスを用いた CDC トラップ 20 台を供

した。トラップの設置場所は図 1 に示した。1kg ドライアイス誘引物質とした CDC トラップは北から (A)「戦前・戦後のマラリア流行地における 2009 年蚊の発生状況調査」(以下「戦前・戦後マラリア報告書」と略記す)の「市街区」(彦根城周辺など市街地とその周囲の水田、河川敷)で 6 箇所、(B)同「池沼区」(琵琶湖湖岸の内湖、神上沼・野田沼・曾根沼などの周辺にある水田等の農業土地利用卓越地域)で 6 箇所、(C)同「湖岸区」(干拓されなかった内湖の一つの西の湖周辺で、ヨシ原保存によって自然の原風景が残存している安土・近江八幡市を含む地域) 8 箇所である。なお、これらの区分は本報告書「戦前・戦後のマラリア流行地における 2009 年蚊の発生状況調査」(以下「戦前・戦後マラリア報告書」と略記する)と同一である。ライトトラップは彦根市の水田地域内乳牛舎、琵琶湖(大中の湖)の干拓地脇山際の肉牛舎、近江八幡市の市街地内牛乳販売の乳牛舎、計 3 軒で設置した。

捕集方法・期間等の詳細については「戦前・戦後マラリア報告書」と同じである。すなわち調査期間は 5 月 29 日から 10 月 3 日まで、3 週間毎に 2 夜連続して 7 回行った。

供した地図は国土地理院発行 1:25,000 地形図、同土地条件図で、環境省生物多様性センター・生物多様性情報システムの自然環境保全基礎調査第 5 回植生調査の植生データ、1961 年か

ら 2006 年撮影の空中写真、リモートセンシング技術センター (RESTEC) の ALOS 成果品、滋賀県琵琶湖環境科学研究センターの空中写真判読システムによる空中写真を用いた。

現地調査としてはトラップによる成虫調査のほか、その定点周辺の幼虫調査、土地利用および地形等の環境調査および滋賀県琵琶湖環境科学研究センターや関係自治体、住民への聞き取り調査などを行った。

(倫理面への配慮)

調査協力者の氏名などが特定されない様に配慮した。

C. 研究結果

a) 蚊相の地域差

「戦前・戦後マラリア報告書」で、この地域の蚊捕集数に付いて報告されていることから、ここでは CDC トラップによる蚊相の地域差、その中でもコガタアカイエカの捕集数や季節消長等の地域差についてのみ報告することとする。

CDC トラップによる地域別捕集場所は図 1 の 1-20 の数字で示した。地域別捕集数を見ると、「戦前・戦後マラリア報告書」の表 4 (琵琶湖湖東地域に設置した CDC トラップで採集された蚊の種類と数) で示されたように、北から (A) 「市街区」は他の 2 地区に比べて捕集数は少ないが、蚊の種類は多く、コガタアカイエカ、アカイエカの他ヒトスジ

シマカ、カラツイエカ、オオクロヤブカ、キンイロヤブカ、アカツノフサカ、シナハマダラカ、チョウセンハマダラカ、ハマダライエカ、ヤマトヤブカなどが捕集された。(B) 「池沼区」の内湖等の湖沼群と水田農村地域では、コガタアカイエカのほかアカイエカが特に多く捕獲される定点があった。シナハマダラカの捕集数は少なかった。(C) 「湖岸区」(南西部の近江八幡市・安土町など西の湖の湖畔) では捕集数は最も多く特にコガタアカイエカは多く次いでアカイエカ、シナハマダラカが次ぐが、蚊の種類は少なかった。このように調査地域内でも蚊相の地域差が認められ、これは蚊の生息環境の違いに由来するものと考えられる。

b) コガタアカイエカの季節別・定点別捕集数

定点別に全調査期間のコガタアカイエカの一晩当り捕集数を比較すると(図 2)、定点 1-10 までは全期間を通じて捕集数は少なく、定点 11 から 20 では明らかに多く、捕集期間も長いことが分かる。

トラップ一台あたりの一晩の捕集数を地域別に見ると(表 1)、(A) 市街地の定点 1 から 6 では平均 229.3 (最小値 21.0-最大値 800.5) 個体であったのに対し、(B) 湖沼周辺の水田地域では 1,518.3 (598.5-2833.0) 個体と増加し、(C) ヨシ原を持つ湖岸地域では 2,771.6 (868.0-6,749.5) 個体と明ら

かに多かった。

季節消長をみると、調査地域全域では5月29-30日は46.0個体で次第に増加して7月31-8月1日20,296.5個体でピークを記録し、8月21-22日、7,906.0個体と減少し、10月2-3日69.0個体となった。地域別に見ると、(A)および(B)地区で7月31-8月1日に夫々70.0%、73.4%と集中し、8月21-22日には17.0%、15.5%と減少したのに対し、(C)地区では7月31日-8月1日には57.1%、8月21-22日には28.2%と8月にも分散して捕集されることが分かった。

c) 土地利用

調査地域の土地利用(図(図3)では、(A)は戦前・戦後のマラリア対策のため彦根城の外・中濠のかなりの部分が埋め立てられ、また旧彦根市街地背後の沼沢地・湿地も干拓・整備され市街地化・農地化した。しかし現在でも、湿地は散見される。(B)は水田地域で、池沼の一部は干拓され池沼畔は整備されているものの、河川の周囲の沼地や湿地は残存している。乳牛の飼養農家は一軒残像的に水田地域内にある。なおこの牛舎でライトトラップを設置した。

土地利用変化の最も著しいのは(C)の干拓された大中の湖、西の湖、曾根沼あるいは、津田沼などのある湖岸地域である。そこで(C)地区を中心に1961年から2006年撮影の空中写真から判読した土地利用図(京都府立大学

生命環境科学研究科流域情報学研究室村松和樹記教授から供与)で土地利用の変化を比較した。1961年には大中の湖、津田沼が湖として残存し、西の湖も内湖として琵琶湖水域の化学的、物理的、生物的影響を受けていたことが想像される。その後1967年には大中の湖が埋め立てられて水田化し、1975年には津田沼が干拓され水田、畑地、造成地として変化して、西の湖は津田沼に流入する長命寺川のみで琵琶湖と繋がっていることが分かる。内湖としての環境が制約されていることが分かる。一方大中の湖では水田地域に牛豚など家畜飼養が始まり、その傾向は1985年にも続くと同時に、市街地面積の増加が特徴的である。しかし2006年現在の空中写真では西の湖西部を流れる蛇砂川も流路の付け替えや整備がなされている一方で、内湖などの水域やヨシ原なども保存されていることがわかる。

その土地利用面積の変化を、1961年、1967年、1975年、1985年、1995年、2006年空中写真から計測すると(図4)、水田は各年夫々5,911、6,827、6,401、6,149、5,742、5,725ha、畑地は273、264、376、229、541、516ha、ヨシ原191、161、152、149、146、146haとなり、蚊の生息地域の面積は特に1995年以降はほとんど減少していない。一方琵琶湖あるいは大きな水域では蚊は採集されないとされる。水域(湖沼など)は干拓などで、1961年から1975年までは1,785、704、

559haと減少したがその後は2006年でも567haとほとんど変化はない。市街地は1961年991haから2006年2,138haと確実に増加し、これは主として1985年にピークとなった造成地に由来している。

以上のことから、コガタアカイエカの生息適地の面積は近年変化が少なくと考えられる。

d) トラップ設置場所周辺の土地利用の構成

コガタアカイエカの捕集数と景観との関係を、2種類の土地利用図で解析した。1つは現地調査による土地利用で、トラップの設置場所から50mごとに200mまで4距離帯で、もう1つは既往の植生データを用いて500mごとに2kmまでの4距離帯で、計8距離帯で検討した。統計解析には重回帰分析法およびPLS回帰分析法を用いた。ここでは結果の一部を報告する(詳細の分析方法や結果については、米島の立命館大学2009年度修士論文で報告した)。

現地調査による定点周辺200m以内の土地利用図のうち各地域代表的な例を図5に示した。重回帰分析の結果では、現地調査データのうち、200mの範囲で、駐車場、土地利用の種類数、建物、傾斜方向が負の変数、畑が正の変数として94%が説明できた。PLS回帰分析でも200mで96%のモデルとの適合度が上昇することが分かった。200mの第1潜在変数としては水田が正の相

関、公園、水系、道路、主要道路、駐車場などに負の相関が認められた。

植生データ(図6)から得られた変数による重回帰分析では捕集数を0.5km、1km、1.5km、2kmの範囲で推測すると、夫々61%、69%、64%、71%説明することが出来た。PLS回帰分析では0.5km、1.5km、2kmでは86-88%であったが、1kmでは91%の適合度が得られた。

e) コガタアカイエカの生息ポテンシャルマップの作成

これらの結果を踏まえて重回帰モデルを用いて、コガタアカイエカの生息ポテンシャルマップを作成した(図7)。この図に関してはさらに家畜の飼養頭数や分布を考慮して検討する予定である。

D. 考察

琵琶湖湖東地域における蚊相、コガタアカイエカとハマダラカ等の割合やその時代による変化については、「戦前・戦後のマラリアの報告書」で触れた。蚊相と捕集数における地域差はその地区を代表する環境景観に由来すると思われる。

今回の調査地域の(A)彦根区は市街地を中心に背後に水田その他の都市的農業が展開する地域であり、日本の都市近郊の農業地域のモデルと考えることができる。(B)の池沼区の池沼周辺では湿地帯などもある一方湖岸は整備されていることから、コガタアカイエ

カ生息地域は主として水田で、その水環境は、水田の水管理に左右されている。従って日本の多くの水田地域のコガタアカイエカの生息地域に似た環境であると考えられる。(C)の湖畔地域はヨシ原も保存され、水郷等の原風景が展開され、年間を通じて湿地帯が確保されており、水田の水管理によって幼虫の発生が規制されることはない。その結果至適温度条件を具備している期間は、コガタアカイエカが捕集できることが明らかとなった。この環境は現在の日本の水田地域では少なく、土地整備されていなかったかつての日本の水田環境のモデルと考えられる。今回の(A)から(C)の3地区は日本のコガタアカイエカの生息条件を理解する上でも、貴重なモデルとなると考えられる。これらの成果は、日本脳炎の伝播拡大を阻止する際の、蚊対策の基礎資料を提供すると期待される。

さらに今回、土地利用・景観およびその変化とコガタアカイエカの捕集数との関係を、重回帰分析法、PLS 回帰分析法で検討した。その結果に基づいてコガタアカイエカが生息すると思われる地域をポテンシャルマップとして図化した。

空中写真からの土地利用の変化を捕集数と景観解析の結果から検討すると、1961年から1967年の大中の湖や津田沼の干拓による水田の拡大は、コガタアカイエカの発生にはより至適な条件が提供され、ヨシ原の原風景はコガタ

アカイエカの発生条件や発生期間を長く維持していると考えられる。この空中写真の判読によって得られた戦後数時期の土地利用の復元によって、今後、コガタアカイエカの各時期における消長を推測することが可能になった。

加えて今後の土地利用の変化とコガタアカイエカの生息ポテンシャルの推測によって、日本脳炎のリスクを検討しながら、監視体制を開発していくことが可能となったと考えられる。今後畜舎の分布や動向を考慮して、より精度の高いコガタアカイエカの生息ポテンシャルマップを開発していきたい。

E. 結 論

滋賀県琵琶湖湖東平野は、行政的には彦根市、東近江市、安土町、近江八幡市を含んでいる。2009年5月から10月までドライアイス1kgを誘引源としたCDCトラップとライトトラップで、夜間に蚊を捕集した結果、優先種はコガタアカイエカで、捕集数の季節消長や地域差が確認された。その地域差の要因の一つとして土地利用が重要であると考え、戦後から2006年までの既存の空中写真から土地利用の変遷を判読した。トラップ設置場所である定点周辺の景観(土地利用)を現地調査や既存の植生データで検討した。捕集数と景観要素との関係を重回帰分析やPLS回帰分析をした結果、現地調査のデータでは半径200m以内の土地利用変数で

モデルとの適合度 94-96%が得られた。植生データでは半 PLS 解析で半径 1km の土地利用変数で 91%の適合度が得られた。この結果を用いてコガタアカイエカの生息ポテンシャルマップを作成することが出来た。

F.

G. 研究発表

1. 論文発表

衛生動物に投稿準備中

2. 学会発表

米島万有子・渡辺護・津田良夫・沢辺京子・大橋眞・中谷友樹・二瓶直子・小林睦生. 滋賀県湖東地区における蚊の発生状況. 第 51 回日本衛生動物学会大会, 2009. 4. 2-4, 香川県高松市.

二瓶直子・米島万有子・渡辺護・津田良夫・沢辺京子・大橋眞・中谷友樹・小林睦生. 滋賀県における元マラリア浸淫地での媒介蚊調査. 第 61 回日本衛生動物学会大会, 2009. 4. 2-4, 香川県高松市.

渡辺 護・米島万有子・二瓶直子・小林睦生. 富山県, 岐阜県, 石川県, 滋賀県の畜舎における 2008 年のコガタアカイエカの捕集状況. 第 44 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 2009. 6. 19-20, 北海道千歳市.

H. 知的財産の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし