

一例を図 1 に示す. V419 座位に関しては, V419 と L419 のそれぞれのホモ接合体を用いた QProbe の融解温度差は概ね 6°C, L925 座位に関しては, L925 と I925 のそれぞれのホモ接合体を用いた QProbe の融解温度差は概ね 6°Cあり, 各座位に関して 2 型のホモ接合体を明瞭に判別できた. また, 各座位に関して, 両ホモ接合体に基づくそれぞれの PCR 産物を等モル量で混合した DNA 試料を PCR の鋳型として用いても, 両型の存在により生じた融解曲線において二重の融解温度ピークが識別でき, ヘテロ接合体の判別にも問題なく対応できることを確認した. 以上により, ナトリウムチャンネルの V419L と L925I 置換変異のそれぞれを対象とする QProbe を用いた分子ジェノタイピング法を確立した.

変異ナトリウムチャンネル遺伝子の頻度分布に関する全国調査: 23 の都道府県の 80 のコロニーから採集したトコジラミ試料を対象として, ナトリウムチャンネルの V419 と L925 座位におけるアミノ酸置換変異の分子ジェノタイピングを行った. その詳細結果を表 2 に示す. 両座位に関する遺伝子型を同時に決定することができた個体は 696 頭あり, これらの個体に含まれる 2 座位に関するハプロタイプと遺伝子型を推定した. その結果, 野生型ハプロタイプのほかに 2 つの変異型ハプロタイプが同定された. 供試虫ベースで集計した各ハプロタイプは頻度順に, V419—I925 (単一変異型, 77%), V419—L925 (野生型, 16%), L419—I925 (二重変異型, 7%) であった. 2 種の変異ハプロタイプに共通して含まれる変異は I925 であり, この変異を保有するコロニーは全調査コロニーの 89%に及んだ (表 3). これらのコロニーの大多数では, I925 を運ぶ変異型が野生型に対して優勢で, 変異型のホモ接合体として存在していた (表 2 および表 3).

D. 考察

トコジラミのナトリウムチャンネルの V419 座位に相同なオオタバコガの座位では, ピレスロイド抵抗性に連関して, トコジラミとは異なる Val→Met への置換を生じている (Park et al., 1997). 一方, トコジラミの L925I 置換に関しては, タバココナジラミのピレスロイド抵抗性に連関して, トコジラミと同一な置換を生じている (Morin et al., 2002). また, キイロショウジョウバエでは L925 の相同座位に生じている Ile への置換がピレスロイド非感受性の原因となることも電気生理学的に確かめられている (Usherwood et al., 2007). トコジラミのナトリウムチャンネルに生じている 2 つの置換変異に関しては, 電気生理学的な証明は未了であるが, 他昆虫種における相同座位の変異と抵抗性への関連性, ならびにこれらの変異が米国と日本におけるトコジラミのピレスロイド抵抗性に連関性が高いことを考慮すると, ピレスロイド抵抗性コロニーの分布を確かめる全国調査にこれらの変異の保有を指標として用いたことは妥当なことと考えられる.

本研究に先立ち, 米国の 110 のトコジラミコロニーにおいて同様なナトリウムチャンネル遺伝子を対象とする調査が行われている (Zhu et al., 2010). それによると, I925 を運ぶ変異遺伝子 (単一変異と二重変異) の頻度がその他の遺伝子を凌駕している点は日本と同様であった. 相違点としては, 米国においては V419—I925 (単一変異) と L419—I925 (二重変異) ハプロタイプが同程度に分布する点, また L419—L925 (単一変異) ハプロタイプも野生型ハプロタイプに劣る頻度で存在することが確かめられている点であった.

トコジラミのピレスロイド抵抗性機構に関する今後の課題としては, I925 単一変異ハプロタイプと二重変異ハプロタイプとの間で殺虫剤感受性に及ぼす効果にどの程度の差異があるかを確かめることが挙げられ

る。研究結果の項で述べたように、作用点変異を保有しない直接採集個体を使った室内殺虫試験において抵抗性と判定される個体があったことから、代謝抵抗性に係る分子の特定とその変異が抵抗性に及ぼす効果についても確かめることが必要である。

本研究結果から、ピレスロイド系殺虫剤を有効に利用できるコロニーはごく少数の割合に限られていることが明らかとなった。防除の現場でピレスロイド抵抗性遺伝子を含まないコロニーだと簡易に判定することは困難であることから、今後は他の作用点を阻害する薬剤系と物理的駆除法を併用してトコジラミの防除が行われるべきである。欧米諸国では現在はアセチルコリンエステラーゼを阻害する薬剤系（有機リン系とカーバメイト系）がトコジラミへの適用を外れている場合がほとんどであるが、わが国では、これらの薬剤系が家庭内の衛生害虫・不快害虫の防除に一貫して利用可能であった歴史をもつだけでなく、トコジラミへの適用に特化した製剤も最近利用可能になっている。そのため、わが国ではこれらの薬剤系への抵抗性が最初に露呈するおそれも十分ある。これらの系に属する各種殺虫剤に対する感受性の低下を検出可能な調査研究を進めることも緊急の課題といえる。

E. 結論

- 1) トコジラミのナトリウムチャンネルの L925I 置換変異は、一部の例外を除き、国内のピレスロイド抵抗性に強く関連している。
- 2) トコジラミのナトリウムチャンネルの V419L と L925I 変異を対象とした QProbe 法に基づく分子検出法を確立した。
- 3) ナトリウムチャンネルの L925I 置換変異は 89%の日本のトコジラミコロニーに保有されていた。
- 4) トコジラミを完全に駆除するために用い

る殺虫剤の第一選択肢としては、ピレスロイド系殺虫剤を推奨できない。

F. 研究危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

1. Komagata, O., Kasai, S., Itokawa, K., Tomita, T. Proliferation of pyrethroid-resistant bed bugs in Japan, 24th International Conference of Entomology. Daegu, Korea. August 19-25, 2012.

2. 富田隆史, 害虫の殺虫剤抵抗性機構, 第 155 回日本獣医学会学術集会/日本比較薬理・毒性学会における企画シンポジウム「薬剤耐性の分子メカニズム」. 東京都, 2013 年 3 月

H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表 1. ピレスロイド感受性と作用点変異の関連性

コクロー名	採集年	ナトリウムチャンネル遺伝子型	生存率*
継代飼育コクロー			
帝京大系統	<1972	Val419-Leu925 ホモ接合体	0/20
富山01系統	2001	Val419-Leu925 ホモ接合体	(抵抗性比 5.4倍) **
富山08コクロー	2008	(Val419-Leu925 と Val419-Ile925 の混合) (Ile925遺伝子頻度= 3%)	(抵抗性比 1.1倍) **
旭川コクロー	2010	(Val419-Leu925 と Val419-Ile925 の混合) (Ile925遺伝子頻度= 23%)	(12日後生存率 0%) ***
石川コクロー	2009	(Val419-Leu925 と Val419-Ile925 の混合) (Ile925遺伝子頻度= 31%)	(抵抗性比 6.1倍) **
那覇コクロー	2010	(Val419-Ile925 と Leu419-Ile925 の混合) (Ile925遺伝子頻度=100%)	(12日後生存率 80%) ***
千葉コクロー	2009	Val419-Ile925 ホモ接合体	20/20
池袋コクロー	2010	Val419-Ile925 ホモ接合体	20/20
野外採集個体			
川崎市川崎区	2011-01-15	Val419-Ile925 ホモ接合体	2/2
長野県松本市	2011-02-26	Leu419-Ile925 ホモ接合体	2/2
愛媛県松山市	2011-02-17	Val419-Ile925 ホモ接合体	3/3
大阪府和泉市	2011-06-17	Val419-Ile925 ホモ接合体	6/6
大阪府和泉市	2011-06-22	Val419-Ile925 ホモ接合体	8/8
東京都豊島区	2011-06-28	Val419-Ile925 ホモ接合体	1/2
栃木県佐野市	2011-07-06	Val419-Ile925 ホモ接合体	2/4
大阪市西成区	2011-10-13	Val419-Ile925 ホモ接合体	8/8
大阪市西成区	2011-10-13	?419-Ile925 ホモ接合体	2/2
東京都杉並区	2011-11-28	Leu419-Ile925 ホモ接合体	11/11
大阪市西成区	2012-02-23	Val419-Ile925 ホモ接合体	17/21
大阪市西成区	2012-02-23	?419-Ile925 ホモ接合体	6/6
大阪市西成区	2012-03-05	Val419-Ile925 ホモ接合体	5/5
千葉県成田市	2012-05-18	Val419-Leu925 ホモ接合体	2/2
兵庫県尼崎市	2012-06-17	Val419-Ile925 ホモ接合体	1/2
兵庫県尼崎市	2012-06-20	Val419-Ile925 ホモ接合体	10/10

* ろ紙継続接触法(deltamethrin 0.13 mg/cm²)で 24 時間後の生存数を観察した.

** ろ紙継続接触法(permethrin 0.05 mg/cm²)で仰天時間を測定した (渡辺護 2010 衛生動物 61(3) : 239) .

*** ろ紙継続接触法(permethrin 0.05 mg/cm²)で 12 後の生存数を観察した (渡辺護 未発表) .

表2. 変異ナトリウムチャンネル遺伝子の頻度分布に関する全国調査

採集日		採集地	建築物の種類	Val419座位		Leu925座位		Val419-Leu925座位		
				試験 個体数	変異 遺伝子 頻度	試験 個体数	変異 遺伝子 頻度	試験 個体数	変異ハプロタイプ 頻度	
									Val--lle	Leu--lle
2008-08-23	01	北海道倶知安町	(コウモリ巖)	1	0%	1	0%	1	0%	0%
2010-11-15	01	北海道旭川市	ビジネスホテル	24	0%	24	50%	24	50%	0%
2010-11-15	01	北海道旭川市	ビジネスホテル	30	0%	31	50%	30	48%	0%
< 2011-08-31	01	札幌市	?	1	0%	1	100%	1	100%	0%
< 2011-08-31	01	札幌市	?	1	0%	1	100%	1	100%	0%
2012-05-25	04	仙台市宮城野区	マンション	1	0%	1	100%	1	100%	0%
2011-08-13	07	福島県郡山市	ビジネスホテル	3	0%	3	100%	3	100%	0%
2011-07-06	09	栃木県佐野市	旅館	11	0%	11	100%	11	100%	0%
2011-05-23	11	さいたま市見沼区	社員寮	2	0%	2	100%	2	100%	0%
2010-10-04	12	千葉県浦安市	ホテル	3	0%	3	100%	3	100%	0%
2010-11-18	12	千葉県成田市	ホテル	9	0%	9	0%	9	0%	0%
2012-05-18	12	千葉県成田市	ビジネスホテル	18	0%	18	0%	18	0%	0%
2009-08-00	12	千葉市	簡易宿泊所	27	0%	27	100%	27	100%	0%
2010-06-24	13	東京都台東区	?	12	0%	13	100%	12	100%	0%
2010-07-27	13	東京都台東区	?	8	0%	10	100%	10	100%	0%
2010-02-15	13	東京都豊島区	(区立図書館蔵書)	1	0%	1	100%	1	100%	0%
2011-03-19	13	東京都豊島区	?	5	0%	5	100%	5	100%	0%
2010-10-15	13	東京都豊島区	アパート	6	0%	8	100%	6	100%	0%
2011-06-28	13	東京都豊島区	マンション	3	0%	3	100%	3	100%	0%
2011-11-28	13	東京都杉並区	ビジネスホテル	11	100%	11	100%	11	0%	100%
2012-05-22	13	東京都板橋区	簡易宿泊所	3	0%	3	100%	3	100%	0%
2010-09-00	13	東京都豊島区	?	26	0%	26	100%	26	100%	0%
2010-00-00	13	東京都豊島区	?	6	0%	8	100%	6	100%	0%
2011-01-15	14	川崎市川崎区	マンション	5	0%	5	100%	5	100%	0%
2011-11-07	14	横浜市栄区	民家	1	0%	1	100%	1	100%	0%
2009-04-17	14	横浜市中区	?	3	0%	3	100%	3	100%	0%
2010-09-18	15	新潟県長岡市	ビジネスホテル	18	0%	19	100%	18	100%	0%
2008-03-00	16	富山県黒部市	リゾートホテル	31	0%	31	18%	31	18%	0%
2001-10-30	16	富山県黒部市	?	1	0%	1	0%	1	0%	0%
2008-03-27	16	富山県黒部市	?	1	0%	1	100%	1	100%	0%
2008-07-12	16	富山県富山市	マンション	1	0%	1	0%	1	0%	0%
2010-10-30	17	石川県金沢市	?	20	98%	21	100%	20	3%	98%
2009-02-00	17	金沢市	ビジネスホテル	27	0%	27	56%	27	56%	0%
2008-02-12	17	石川県金沢市	ホテル	1	0%	1	100%	1	100%	0%
2011-02-26	20	長野県松本市	ビジネスホテル	2	100%	2	100%	2	0%	100%
2009-00-00	20	長野県	?	8	0%	8	31%	8	31%	0%
2010-09-02	23	愛知県常滑市	ビジネスホテル	6	0%	6	100%	6	100%	0%
2010-09-30	23	愛知県知立市	ビジネスホテル	11	0%	10	25%	10	25%	0%
2011-04-01	25	滋賀県大津市	ビジネスホテル	8	0%	8	100%	8	100%	0%
2010-11-01	26	京都市左京区	?	1	0%	1	100%	1	100%	0%
2007-05-08	26	京都市左京区	?	4	0%	5	100%	4	100%	0%
2010-08-18	26	京都市下京区	?	1	0%	1	100%	1	100%	0%
2011-02-03	26	京都市左京区	ホテル	7	0%	8	100%	7	100%	0%
2010-06-28	27	大阪市西成区	?	6	0%	6	0%	5	0%	0%
2010-00-00	27	大阪府泉大津市	?	1	0%	1	100%	1	100%	0%
2010-00-00	27	大阪市淀川区	?	6	0%	7	86%	6	100%	0%
2010-07-07	27	大阪市西成区	(共同生活)	16	0%	16	97%	16	97%	0%
2010-07-30	27	大阪市住吉区	アパート	22	0%	22	100%	22	100%	0%
2010-08-25	27	大阪市西成区	マンション	9	0%	10	100%	9	100%	0%
2010-09-03	27	大阪市城東区	アパート	5	0%	6	100%	5	100%	0%
2010-09-07	27	大阪府貝塚市	公営住宅	9	0%	12	100%	9	100%	0%
2010-09-14	27	大阪市天王寺区	マンション	10	0%	10	90%	10	90%	0%
2010-11-02	27	大阪市西成区	アパート	10	0%	10	100%	10	100%	0%
2011-06-17	27	大阪府和泉市	公営宿泊施設	5	0%	6	100%	5	100%	0%
2011-06-22	27	大阪府和泉市	公営宿泊施設	10	0%	10	100%	10	100%	0%
2011-10-13	27	大阪市西成区	?	11	0%	13	100%	11	100%	0%
< 2012-02-23	27	大阪府	?	33	0%	38	100%	31	100%	0%
2012-03-05	27	大阪市西成区	?	5	0%	5	100%	5	100%	0%
2010-08-09	28	神戸市中央区	ホテル	7	0%	7	100%	7	100%	0%
2012-06-17	28	兵庫県尼崎市	マンション	2	0%	2	100%	2	100%	0%
2012-06-20	28	兵庫県尼崎市	マンション	10	0%	10	100%	10	100%	0%
< 2012-09-10	28	兵庫県尼崎市	マンション	25	0%	24	100%	24	100%	0%
< 2012-09-10	28	兵庫県尼崎市	マンション	1	0%	1	100%	1	100%	0%
2008-03-18	28	兵庫県豊岡町	(イワツバメ巖)	1	0%	1	100%	1	100%	0%
2010-10-01	30	和歌山県 〇 S 町	宿坊	9	0%	10	100%	9	100%	0%
2011-02-16	34	広島市	ビジネスホテル	2	0%	2	100%	2	100%	0%
2011-07-06	34	広島市	ビジネスホテル	2	0%	3	100%	2	100%	0%
2011-07-22	34	広島市	ビジネスホテル	2	0%	2	100%	2	100%	0%
< 2011-09-05	35	山口県防府市	ビジネスホテル	7	0%	8	0%	7	0%	0%
< 2011-09-05	35	山口県山口市	ビジネスホテル	4	100%	4	100%	4	0%	100%
2011-02-17	38	愛媛県松山市	旅館	3	0%	3	100%	3	100%	0%
2010-10-12	40	福岡県行橋市	?	7	0%	7	100%	7	100%	0%
2010-10-13	40	福岡県宮若市	?	7	0%	7	100%	7	100%	0%
2010-10-09	40	福岡県宮若市	?	9	0%	9	100%	9	100%	0%
2010-11-08	47	沖縄県那覇市	?	8	100%	10	100%	8	0%	100%
< 2011-09-28	47	沖縄県恩納村	?	1	50%	1	100%	1	50%	50%
2010-11-08	47	沖縄県那覇市	ビジネスホテル	35	1%	36	99%	35	99%	1%
2010-00-00	?	?	?	5	0%	4	100%	3	100%	0%
< 1972-00-00	?	?	?	26	0%	26	0%	26	0%	0%
1970-00-00	?	?	?	1	0%	1	0%	1	0%	0%
総計または平均				701	7%	730	84%	696	77%	7%

表 3. ナトリウムチャンネル変異遺伝子を保有するコロニーの発生率

	Val419座位	Leu925座位	Val419--Leu925 haplotype	
	変異 遺伝子	変異 遺伝子	変異ハプロタイプ	
	Leu	Ile	Val-Ile	Leu-Ile
調査コロニー数	80	80	80	
変異遺伝子を検出したコロニー数	7 (9%)	71 (89%)	67 (84%)	7 (9%)
変異遺伝子の頻度が50%以上であったコロニー数	6 (8%)	68 (85%)	62 (78%)	6 (8%)

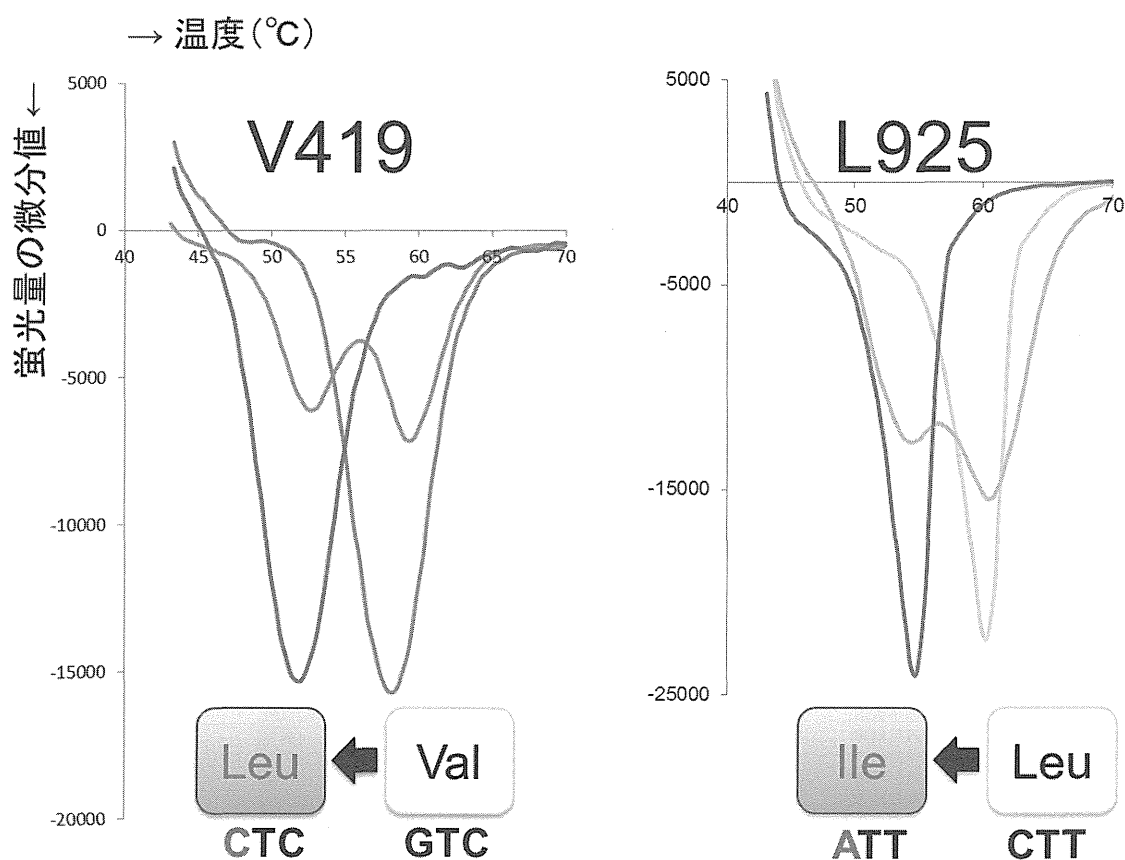


図 1. QProbe 法によるナトリウムチャンネル遺伝子型判別の例

3 道府県で得られたトコジラミの殺虫剤感受性と適用承認された マイクロカプセル剤の基礎的検討

分担研究者	名古屋真弓	富山県衛生研究所
協力研究者	渡辺 護	国立感染症研究所・昆虫医科学部
協力研究者	山内 健生	富山県衛生研究所
協力研究者	澤邊 京子	国立感染症研究所・昆虫医科学部

研究要旨

「北海道札幌市」「千葉県成田市」「京都府京都市」で採集されたトコジラミはピレスロイド系のフェントリンとペルメトリンに対して高度の抵抗性を示し、有機リン系のジクロロボスとフェニトロチオンには低度の抵抗性を示した。その中で「千葉県成田市」のトコジラミが全体的に抵抗性が高いことが明らかになったが、先に試験した「千葉系」に比べると、その程度は低かった。今回の試験で、国内 13 カ所で採集したトコジラミの感受性が明らかになり、北海道から沖縄まで全ての地域でピレスロイド剤に高い抵抗性の発現が認められた。手軽な剤型が市販されているこれらの薬剤では実質的な駆除は望めないと思われる。有機リン系とカーバメイト系に対しても低度の抵抗性が認められたが、丁寧な散布を行うことで駆除は可能と考えられる。さらに、2012 年にトコジラミに適用が承認された有機リン・マイクロカプセル（MC）剤 2 種も抵抗性系統に対して殺虫効果が期待できると思われた。

A. 研究目的

国内各地でトコジラミの吸血被害が増加しており、害虫駆除業者などによって駆除作業が行なわれているが、一部で駆除に失敗する例が問題になっている。その失敗の原因の一つにトコジラミの殺虫剤に対する抵抗性の発現が考えられ、国内各地のトコジラミの殺虫剤感受性レベルを把握する必要がある。今までに北海道旭川市、新潟県長岡市、富山県黒部市、石川県金沢市、千葉県千葉市、福岡県福岡市、沖縄県那覇市の宿泊施設で採集したトコジラミを入手し、主要 5 種殺虫剤

に対する感受性を明らかにしてきた。今回、新たに北海道札幌市、京都府京都市、千葉県成田市で採集されたトコジラミを増殖し、主要 5 種殺虫剤に対する感受性を明らかにすることを目的とした。さらに、2012 年にトコジラミに適用が承認されたマイクロカプセル（MC）剤 2 種の効果を確認することも目的とした。

B. 研究方法

1. 供試トコジラミの由来

①帝京大系（感受性系統：S）：帝京大学医学部で飼育されていたトコジラミを

1972年頃から日本環境衛生センター環境生物部で飼育維持されてきた系統であり、国内における殺虫剤に対する標準系と考えられる。2006年11月に日本環境衛生センターから分与を受け、その後富山県衛生研究所で飼育繁殖してきた個体群。

②千葉系（抵抗性系統：R）：2009年8月に千葉県千葉市で採集された数個体を元に富山県衛生研究所で飼育繁殖してきた系統。2010年の殺虫剤感受性試験で、フェノトリンとペルメトリンに対して強度の抵抗性、ジクロロボスとフェニトロチオンに軽度の抵抗性が確認された系統である。現時点で、国内では最もフェノトリンとペルメトリンに対して高度の抵抗性を示す系統。

③京都府京都市系：2011年6月7日に宿泊施設で採集した♀1♂1個体を出発個体群として富山県衛生研究所で飼育繁殖してきた系統。

④千葉県成田市系：2011年6月9日に宿泊施設で採集した♀3個体を出発個体群として富山県衛生研究所で飼育繁殖してきた系統。

⑤北海道札幌市系：2012年6月4日に市内のビジネスホテルで採集された♀1♂3個体を出発個体群として富山県衛生研究所で飼育繁殖してきた系統。

これらの個体群は温度 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、照度約200ルクスの15明9暗の飼育室で、小型水槽（18L×28W×23H）に潜み場所になる濾紙を折った紙辺を入れ、毎週もしくは隔週に金網固定のマウスを与えて増殖維持されて来た。なお、試験には2週間マウスを与えていない雌雄成虫を用いた。

2. 供試殺虫剤

全て市販製剤を用いた。ピレスロイドはペルメトリン 5%水性乳剤とフェノトリン 10%水性乳剤を、有機リン剤はジクロロボス 5%乳剤とフェニトロチオン 10%乳剤を蒸留水で1%に希釈して、カーバメイト剤はプロポクスル 1%油剤をそのまま試験に用いた。さらに、プロペタンホス 20%を閉じ込めたMC剤とフェニトロチオン 20%を閉じ込めたMC剤の20倍、40倍蒸留水希釈剤を用いた。

3. 試験方法

1) 濾紙継続接触法：径11 cmのNo.131定性円形濾紙に、1%の各殺虫剤液を0.5 ml均一になる様に滴下（約50 ml/m²）、一晩風乾後、薬剤滴下面を内側にして二つ折りにし、その内側に5対のトコジラミ成虫を放し、経過時間毎の死亡虫を観察する方法で行った。実際には、トコジラミを放した濾紙を径12 cm高さ4 cmのシャーレに静置し経過時間毎に死亡虫を観察した。各薬剤2個のシャーレで2回の繰り返しを行った。試験は2012年11～12月に、室温 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ で行った。

2) 腹面微量滴下法：各薬剤の1%液をリピーティングデスペンサー(Hamilton, PB 600-1)に、25 μl 微量注射器(Hamilton, #702)を装着して、1 μl ずつトコジラミ成虫の腹面に滴下し、死亡までの時間を個体別に観察した。1薬剤につき、各系のトコジラミ成虫を各々20個体供試した。試験は2012年11～12月、室温 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ で行った。

3) ベニヤ板継続接触法：10×10 cm、厚

さ 2.5 mm のベニヤ板に各 MC 剤を 0.5 ml 滴下し，一晚室内で風乾後，千葉系トコジラミ成虫 10 個体（♀♂5）を放し，経過時間毎の死亡虫を観察した（各薬剤ベニヤ 4 枚）．対照にジクロロボス乳剤とフェニトロチオン乳剤の 0.5% と 1% 液を同じ様に試験した（各薬剤ベニヤ 2 枚）．試験は 2012 年 12 月，室温 23±2℃ で行った．

C. 研究結果

表 1 に，殺虫剤の残渣面に触れる効果を想定した，濾紙継続接触法による成績を示した．「札幌市」，「成田市」，「京都市」とも感受性「帝京大系」に比べ，50%致死時間（LT₅₀ 値）は全ての薬剤で長かった．プロポクスルではその差は小さく，最も大きい「成田市」で 1.7 倍，最も小さい「札幌市」で 1.05 倍であった．ジクロロボスでは同じく「成田市」で 3.3 倍，「札幌市」で 3 倍，フェニトロチオンでは「成田市」で 3 倍，「札幌市」で 2.4 倍であり，抵抗性の程度は抵抗性「千葉系」よりも明らかに小さかった（表 1 の右端欄）．ペルメトリンとフェノトリンに対しては 24 時間経過後まで観察したが，3 市から採集されたトコジラミの LT₅₀ 値は算出できなかった．最終的には 12 日経過後（288 時間＝17,280 分）の死亡率を観察し実験を打ち切った．フェノトリンでは，「札幌市」と「京都市」が 12 日後の死亡率は 50% で，「成田市」の 25% よりも高かった．同様にペルメトリンでは「京都市」の 45% が死亡し，「札幌市」で 30%，「成田市」は 20% であった．3 市のトコジラミともフェノトリンとペルメトリンに対して抵抗性を示し，「成田市」が最も高いことが明らかになった．

表 2 に，速効的效果を知る方法として，1% 剤の腹面滴下法の成績を死亡までの最短と最長時間，平均時間と標準偏差で示した．「帝京大系」ではプロポクスルの平均時間は 8 秒 45 で極めて短時間で死亡した．一方，ジクロロボスでは 40 秒，フェニトロチオン 1 分 15 秒，ペルメトリン 6 分 15 秒，フェノトリン 6 分 30 秒で死亡した．この殺虫剤感受性系「帝京大系」に対して，「京都市」はプロポクスルで 13 秒 03，フェニトロチオンで 2 分 48 秒，ジクロロボスで 3 分 5 秒を要した．ペルメトリンとフェノトリンでは滴下後 24 時間まで観察を行ったが平均時間は求められなかった．最終的には濾紙継続接触法と同様に 12 日後までの観察で打ち切ったが，ペルメトリンで死亡個体が現れたのは 96 時間後，フェノトリンで 144 時間後であった．「札幌市」はプロポクスル 15 秒，フェニトロチオンは 2 分 55 秒，ジクロロボスは 2 分 21 秒の時間を要したが，ペルメトリンでは死亡個体が現れたのは 96 時間後，フェノトリンは 144 時間後で，「京都市」と同じであった．同様に「成田市」はプロポクスル 21 秒 65，フェニトロチオンは 6 分 08 秒，ジクロロボスは 5 分 12 秒であり，ペルメトリンとフェノトリンで死亡個体が現れたのはともに 144 時間後であった．本結果から，3 市のトコジラミともフェノトリンとペルメトリンに対して高度の抵抗性を示し，「成田市」が最も高いことが明らかになった．

先に報告した「北海道」，「新潟県」，「富山県」，「石川県」，「福岡県」，「沖縄県」との比較を試みたのが表 3 である．試験の都度の感受性「帝京大系」との比（＝

抵抗性比) で比較を行った。濾紙継続接触法で LT_{50} 値を求められなかった場合は 288 時間後の死亡率を下式によって求めた。つまり、288 時間後 (17,280 分) に 50% が死亡した場合は「帝京大系」が 50% 死亡した時間 (LT_{50} 値) で除することで、おおよその比が求められると判断した。

$\{17,280 \times (50/288 \text{ 時間後の死亡率}) / \text{帝京大系の } LT_{50} \text{ 値}\} = \text{帝京大系との比例}$ 、フェノトリンでの「千葉県成田市」の場合 $= \{17,280 \times (50/25) / 360\} = 96$ 倍。また、腹面微量滴下法においても死亡までの平均時間が求められない場合は各地採集トコジラミの各殺虫剤に対する最短死亡時間を「帝京大系」の最短時間で除することで求めた。なお、先の試験成績 (渡辺, 2012) と今回の成績において「帝京大系」の値が微妙に異なったが、その理由は別途検討する。

濾紙継続接触法では、フェノトリンに対する今回の 3 市では「成田市」が 96.0 倍で最も高く、「札幌市」と「京都市」は共に 48.0 倍であった。これまで試験を行った 11 系統の中で「成田市」は「沖縄那覇」の 130.9 倍に次いで抵抗性比が高く、11 系統の中で 3 番目に高かった。「千葉系」は最も高く、死亡個体が無く倍率が無限大になった。「札幌市」と「京都市」は「福岡市 Y」「長岡市」の 65.5 倍に次いで高く、11 系統の中では中間に位置し多。ペルメトリンに対しても「成田市」は 124.0 倍で「沖縄那覇」の 205.7 倍に次いで高く、「札幌市」が 103.3 倍と続いた。

「京都市」は 68.9 倍で 11 系統の中では中位であった。有機リン系とカーバメイト系の倍率は 1.1~6.6 倍の範囲であり、抵抗性比は比較的小さかった。

腹面微量滴下法における 3 市のフェノトリンに対する抵抗性比を見ると (表 3 の下段)、「成田市」が今までの 13 系統中で、倍率が求められない「千葉系」に次いで高い 1,772 倍であり、「札幌市」「京都市」はそれに続く 1,329 倍で高度の抵抗性を示した。さらに、ペルメトリンに対しても「成田市」は「那覇市」と同じ 1,843 倍で、「千葉系」に次いで高く、「札幌市」「京都市」は 922 倍でそれに続いた。

MC 剤の成績を表 4 に示した。フェニトロチオン MC 剤、プロペタンホス MC 剤ともに感受性「帝京大系」と抵抗性「千葉系」に対して、ほぼ同等の LT_{50} 値が得られ、抵抗性系統にも効果が見られた。本結果は、対照のフェニトロチオン乳剤とジクロロボス乳剤の感受性系と抵抗性系統に対する結果とも一致した。特に、乳剤 0.5% と MC 剤 40 倍希釈 (0.5% に相当) を比べると、抵抗性系統に対する LT_{50} 値は、MC 剤の方が乳剤よりも小さく、効果が大きいことを示した。しかし、MC 剤は散布する材質により均一に散布されない (拡がらない) 場合も多いため、使用には注意が必要である。また、フェニトロチオン MC 剤の粒子は小さく均一であるのに対し、プロペタンホス MC 剤の粒子は不均一であり、殺虫効果にも微妙な影響を与えていると思われる。

D. 考察

今回用いたトコジラミ 3 系統は、今までに試験を行ったトコジラミの中では抵抗性が高いと言える。特に抵抗性が高かった「成田市」は、同じ千葉県の「千葉系」に比べてその比は小さいが、「札幌市」は同じ北海道の「旭川市」に比べる

と大きいなど、比較的近い地域同士でも、抵抗性比は異なり、抵抗性の発現にはそれぞれの地域の特色があると思われた。富田ら（2012）の遺伝子解析により抵抗性発現の背景が明らかになりつつあるが、今後も各地のトコジラミの殺虫剤感受性を明らかにすると同時に、効果的な駆除を行うための監視が必要と思われる。

新たに承認された有機リン系 2 種類の MC 剤は、感受性「帝京大系」に対して乳剤に劣る成績であったが、抵抗性「千葉系」では効果を発揮した。さらに、剤系の特色から残効性も期待された。しかし、MC 剤は散布する材質によっては MC が点状に固まり、均一にならない場合が多く、トコジラミが歩行する場面を考慮し、潜む隙間など均一に散布するか、確認する必要がある。また、プロペタンホス MC 剤はフェニトロチオン MC 剤に比べて MC の粒子が不均一であるため、トコジラミの脚などの刺毛に引っ掛かり易く、効果を発揮すると予想したが、試験の結果ではフェニトロチオン MC 剤の方が、僅かではあるが有効であった。プロペタンホスの原体、もしくは乳剤の試験を行っていないが、薬剤そのものの殺虫効果が低いことも考えられる。今後の検討課題である。

E. 結論

今回「札幌市」「成田市」「京都市」で採集されたトコジラミの中で、特に「成田市」はピレスロイド系のフェノトリンとペルメトリンに対して高度の抵抗性を示したが、「札幌市」と「京都市」も今までに試験した各地のトコジラミに比べ抵抗性比は高かった。国内のトコジラミは

採集地によって、殺虫剤に対する感受性が異なることが考えられ、今後さらに採集地を広げ、国内の状況を明らかにする必要があると思われる。

MC 剤は抵抗性を発現させたトコジラミ駆除に、今後効果を発揮すると思われるが、実際場面では丁寧な散布を行うことが必要と考えられ、使用薬剤に対する抵抗性の監視も必要である。

F. 健康危険度情報

なし

G. 研究発表

論文発表：なし

学会発表

1. 谷口敬敏・渡辺 護，高湿度環境下におけるトコジラミの観察. 第 28 回ペストロジー学会兵庫大会，2012 年 11 月 8～9 日，神戸市.

H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1 濾紙継続接触法による各系トコジラミ成虫に対する5種殺虫剤の50%死亡時間(図解法)

殺虫剤	トコジラミの系統				
	帝京大(S)	札幌市	成田市	京都市	千葉(R)
フェトリン 1% 乳剤	360分	1)	3)	5)	7)
ペルメトリン 1% 乳剤	280分	2)	4)	6)	8)
デイクロルボス1%乳剤	32分	96分	106分	104分	142分
フェントロチオン1%乳剤	46分	110分	136分	114分	150分
プロポクスル 1% 油剤	26分30秒	27分45秒	44分10秒	34分50秒	42分
1) 12日(17,280分)経過後の死亡率50%.		4) 12日経過後の死亡率20%.		7) 12日経過後の死亡率0%.	
2) 12日経過後の死亡率30%.		5) 12日経過後の死亡率50%.		8) 12日経過後の死亡率0%.	
3) 12日経過後の死亡率25%.		6) 12日経過後の死亡率45%.			
対照(蒸留水)の6日経過後の死亡率 0%.					

表2 腹面微量滴下法によるトコジラミ3系統に対する5種殺虫剤の感受性試験成績

薬剤	項目剤	トコジラミの系統				
		帝京大(S)	札幌	成田	京都	千葉(R)
デイクロルボス	最短時間	40"	1'10"	4'10"	1'15"	5'50"
	最長時間	3'20"	3'30"	6'40"	4'40"	9'40"
	平均	1'47"	2'21"	5'12"	3'05"	7'12"
	標準偏差	43"89	39"94	30"76	1'11"	1'09"
フェントロチオン	最短時間	1'15"	1'20"	4'45"	1'25"	6'20"
	最長時間	3'00"	4'30"	6'55"	5'00"	10'00"
	平均	2'09"	2'55"	6'08"	2'48"	7'36"
	標準偏差	28"04	1'05"	36"21	1'19"	1'10"
プロポクスル	最短時間	5"	10"	15"	8"	14"
	最長時間	12"	22"	35"	25"	28"
	平均	8"45	15"00	21"65	13"03	21"04
	標準偏差	2"04	3"41	4"81	4"22	4"34
ペルメトリン	最短時間	6'15"	96時間	192時間	96時間	なし
	最長時間	16'00"				
	平均	9'00"	288時間経過後	288時間経過後	288時間経過後	288時間経過後
	標準偏差	2'55"	4/20生存	16/20生存	6/20生存	20/20生存
フェトリン	最短時間	6'30"	144時間	192時間	144時間	なし
	最長時間	17'00"				
	平均	10'05"	288時間経過後	288時間経過後	288時間経過後	288時間経過後
	標準偏差	2'34"	5/20生存	18/20生存	6/20生存	20/20生存

表3 各地採集トコジラミの帝京大系に対する感受性の比(=抵抗性比)

1) 濾紙継続接触法(LT50値の比較)					
トコジラミの系統	供試殺虫剤				
	フェントリン	ヘルメトリン	ディクロルボス	フェントロチオン	プロポクスル
帝京大系(S)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
札幌市12	48.0	103.3	3.0	2.4	1.1
成田市11	96.0	124.0	3.3	3.0	1.7
京都市11	48.0	68.9	3.3	2.5	1.3
那覇市10	130.9	205.7	6.6	5.6	1.4
福岡市Y10	65.5	58.4	3.7	2.1	2.2
長岡市10	65.5	102.9	5.3	2.4	1.7
旭川市10	29.3	41.1	2.7	1.6	1.4
富山系01	30.8	5.4	1.4	1.5	1.1
黒部市08	3.5	1.2	1.3	1.2	1.7
金沢市09	42.1	6.1	1.7	1.9	1.8
千葉系09(R)	—*	—*	4.4	3.3	1.6

* 288時間後の死亡率 0%であり、倍率が算出出来ない。
 網掛け数値は288時間後の死亡率から算出した。
 採集地名の数字は採集年の下2桁を示す。

2) 腹面微量滴下法(死亡までの平均時間で比較)

トコジラミの系統	供試殺虫剤				
	フェントリン	ヘルメトリン	ディクロルボス	フェントロチオン	プロポクスル
帝京大系(S)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
札幌市12	1,329	922	1.3	1.4	1.8
成田市11	1,772	1,843	2.9	2.9	2.6
京都市11	1,329	922	1.7	1.3	1.6
那覇市10	743	1,843	2.5	2.8	2.2
福岡市Y10	557	691	2.6	3.9	2.0
福岡市W10	557	691	3.7	4.1	2.5
金沢市10	666	591	3.7	4.3	2.6
長岡市10	557	921	2.3	2.9	2.3
旭川市10	4.9	5.8	1.8	2.0	1.5
富山系01	4.3	4.9	1.5	2.2	2.6
黒部市08	6.0	4.5	1.8	2.0	2.6
金沢市08	8.2	8.7	1.8	2.3	2.2
千葉系09(R)	—*	—*	4.1	3.5	2.5

* 288時間後の死亡率 0%であり、倍率が算出出来ない。
 網掛け数値は最短死亡時間の比から死亡率を算出した。
 採集地名の数字は採集年の下2桁を示す。

表4 マイクロカプセル剤のトコジラミに対する効果確認試験

薬剤と濃度	トコジラミ(LT50値)	
	帝京大系(S)	千葉系(R)
フェントロチオンMC剤 40倍	124分	131分
フェントロチオンMC剤 20倍	71分30秒	103分
プロペタンホス MC剤 40倍	133分	155分
プロペタンホス MC剤 20倍	130分	160分
フェントロチオン乳剤 0.5%	70分15秒	147分
フェントロチオン乳剤 1.0%	43分30秒	92分30秒
ディクロルボス 乳剤 0.5%	60分30秒	145分
ディクロルボス 乳剤 1.0%	31分30秒	47分45秒
ベニア板継続接触法		

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻名	ページ	発表年
Kuwata, R., Nga, P.T., Yen, N.T., Hoshino, K., Isawa, H., Higa, Y., Hoang, N.V., Ttang, B.M., Loan, D.P., Phong, T.V., Sasaki, T., Tsuda, Y., Kobayashi, M., Sawabe, K., Takagi, M.	Surveillance of Japanese encephalitis virus infection in mosquitoes in Vietnam from 2006 to 2008.	American Journal of Tropical Medicine and Hygiene	88	681-688	2013
Obara-Nagoya, M., Yamauchi, T., Watanabe, M., Hasegawa, S., Iwai-Itamochi, M., Horimoto, E., Takizawa, T., Takashima, I., Kariwa, H.	Ecological and genetic analyses of the complete genomes of <i>Culex flavivirus</i> strains isolated from <i>Culex tritaeniorhynchus</i> and <i>Culex pipiens</i> (Diptera: Culicidae) group mosquitoes.	Journal of Medical Entomology	50	300-309	2013
Yamaguchi, Y., Nukui, Y., Kotaki, A., Sawabe, K., Saijyo, M., Watanabe, H., Kurane, I., Takasaki, T., Tajima, S.	Characterization of a serine-to-asparagine substitution at position 123 in the Japanese encephalitis virus E protein.	Journal of General Virology	94	90-96	2013

発表者名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻名	ページ	発表年
Wong, K.T., Ng, K.Y., Ong, K.C., Ng, W.F., Shankar, S.K., Mahadevan, A., Radotra, B., Su, I.J., Lau, G., Ling, A.E., Chan, K.P., Macorelles, P., Vallet, S., Cardosa, M.J., Desai, A., Ravi, V., Nagata, N., Shimizu, H., Takasaki, T.	Enterovirus 71 encephalomyelitis and Japanese encephalitis can be distinguished by topographic distribution of inflammation and specific intraneuronal detection of viral antigen and RNA.	Neuropathology and Applied Neurobiology	38	443-453	2012
Kuwata, R., Hoshino, K., Isawa, H., Tsuda, Y., Tajima, S., Sasaki, T., Takasaki, T., Kobayashi, M., Sawabe, K.	Establishment and characterization of a cell line from the mosquito <i>Culex tritaeniorhynchus</i> (Diptera: Culicidae).	In Vitro Cellular & Developmental Biology	486	369-376	2012
高崎智彦	感染症ワクチン：最近の話題，課題「日本脳炎」	BIO Clinica.	28	332-336	2013
白鳥（田島）茂 高崎智彦	日本脳炎ワクチンの品質管理	臨床とウイルス	40	297-305	2012

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

発表者名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻名	ページ	発表年
Kuwata, R., Nga, P.T., Yen, N.T., Hoshino, K., Isawa, H., Higa, Y., Hoang, N.V., Ttang, B.M., Loan, D.P., Phong, T.V., Sasaki, T., Tsuda, Y., Kobayashi, M., Sawabe, K., Takagi, M.	Surveillance of Japanese encephalitis virus infection in mosquitoes in Vietnam from 2006 to 2008.	American Journal of Tropical Medicine and	88	681-688	2013
Obara-Nagoya, M., Yamauchi, T., Watanabe, M., Hasegawa, S., Iwai-Itamochi, M., Horimoto, E., Takizawa, T., Takashima, I., Kariwa, H.	Ecological and genetic analyses of the complete genomes of <i>Culex</i> flavivirus strains isolated from <i>Culex tritaeniorhynchus</i> and <i>Culex pipiens</i> (Diptera: Culicidae) group	Journal of Medical Entomology	50	300-309	2013
Yamaguchi, Y., Nukui, Y., Kotaki, A., Sawabe, K., Saijyo, M., Watanabe, H., Kurane, I., Takasaki, T., Tajima, S.	Characterization of a serine-to-asparagine substitution at position 123 in the Japanese encephalitis virus E protein.	Journal of General Virology	94	90-96	2013
Wong, K.T., Ng, K.Y., Ong, K.C., Ng, W.F., Shankar, S.K., Mahadevan, A., Radotra, B., Su, I.J., Lau, G., Ling, A.E., Chan, K.P., Macorelles, P., Vallet, S., Cardosa, M.J., Desai, A., Ravi, V., Nagata, N., Shimizu, H., Takasaki, T.	Enterovirus 71 encephalomyelitis and Japanese encephalitis can be distinguished by topographic distribution of inflammation and specific intraneuronal detection of viral antigen and RNA.	Neuropathology and Applied	38	443-453	2012

発表者名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻名	ページ	発表年
Kuwata, R., Hoshino, K., Isawa, H., Tsuda, Y., Tajima, S., Sasaki, T., Takasaki, T., Kobayashi, M., Sawabe, K.	Establishment and characterization of a cell line from the mosquito <i>Culex tritaeniorhynchus</i> (Diptera: Culicidae).	In Vitro Cellular & Developmental	486	369-376	2012
高崎智彦	感染症ワクチン：最近の話題，課題「日本脳炎」	BIO Clinica.	28	332-336	2013
白鳥（田島）茂 高崎智彦	日本脳炎ワクチンの品質管理	臨床とウイルス	40	297-305	2012

