

厚生労働科学研究費補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス
総合研究事業)分担研究報告書

献血制限に関わる昆虫学的研究：疾病媒介蚊の移動分散に関する基礎研究

研究分担者 津田良夫（国立感染症研究所・昆虫医科学部 室長）

献血制限に関わるヒトスジシマカとアカイエカの分散範囲を推定した。東京都内の公園で6月から11月の期間にヒトスジシマカを採集し、実験室内における平均余命を求めたところ、最も短かったのは9月の採集雌で13.8日、最も余命が長かったのは、6月の採集蚊で平均40.8日だった。林に生息するヒトスジシマカを対象として行われたマーキング実験結果から、1日当たり移動距離を推定したところ平均移動距離は、 10.1 ± 10.6 m、最長移動距離は44mであった。成虫に与えるダメージが小さい個体識別マーキング法を考案し、石垣島の住宅街でヒトスジシマカを対象としてマーキング実験を実施した。個体識別マークを行って放逐した個体数は、232個体で、再捕獲されたのは43個体、再捕獲率は0.21であった。放逐された個体が再捕獲された48例について、再捕獲するまでに要した日数を求めたところ、最長8日、最短1日で、平均は 2.5 ± 1.7 日であった。再捕獲された48例のうち、放逐された場所とは異なる場所で再捕獲された例について個体別に1日当たりの平均移動距離を求めたところ 35 ± 22 mで、観察された1日の最長移動距離は92mであった。献血制限に関わるヒトスジシマカの“最大”分散範囲を、野外調査により得られた成虫の最長余命40.8日と1日当たり最大移動距離92mの積によって、3,753.6mと推定した。

上野動物園で採集されたアカイエカの吸血蚊を用いて、吸血源動物の同定を行った。131個体のサンプルを分析し、DNAの塩基配列の類似性によって鳥類17種と哺乳類5種が吸血源となっていると推定された。これらの吸血源動物の中で飼育場所が特定できるものについて、飼育場所と吸血個体が採集された場所の距離を測定して、吸血後のアカイエカの移動分散距離を求めた。新鮮な血液を持った個体の平均移動分散距離は30.6mおよび66.7mで40m以内の個体が多かった。これに対して完成卵を持った個体は350mを移動しており、血液を消化中の個体は10mから350mの範囲の様々な距離を移動していた。これらの結果から、アカイエカは吸血後数日間に少なくとも350mを移動すると結論した。過去の研究でアカイエカが吸血源動物の探索のために動き回る範囲の推定値として得られた1.2kmと、本研究で得られた吸血後の移動距離を加算した1.55kmは、献血制限範囲に関するひとつの科学的根拠を与えると思われる。

A.研究目的

蚊によって媒介される病原体の流行を想定し、感染の中心からどの程度の範囲を献血制限範囲とするかを決定するために重要な情報として、問題となる病原体の媒介者である蚊が飛翔する範囲がある。本研究は我国における重要な2種の疾病媒介蚊、アカイエカとヒトスジシマカを取り上げて、成虫の移動分散範囲に関する基礎的な情報を得ることを目的として実施された。

ヒトスジシマカは、 Dengue熱やチクングニヤ熱など熱帯・亜熱帯地方で大流行を繰り返す、近年温帯地方でも流行が確認されている蚊媒介性疾患の重要な媒介蚊である。ヒトスジシマカが一生の間に動き回る範囲は、この蚊によって媒介される病気が流行した際にその拡大速度や拡大範囲を知る上で最も基本的かつ重要な情報である。疾病媒介蚊の分散範囲の推定には、従来マークを付けた蚊を放逐してその後の分散過程を追跡するマーキング法が用いられてきた。ヒトスジシマカ成虫の分布に関してこれまで行われた研究では、成虫の分散行動が住宅街周辺の並木や住宅の庭木、公園や緑地などの植生と密接に関係していることが示されている。そのため、成虫の移動分散は一方向的に起こるのではなく、潜伏に適した茂みの間を転々と行き来するような短距離の動きを繰り返して起こっていると考えられる。このような動きの研究には、個体識別マーキングによって、同一個体の動きを追跡する手法が最も有効であるとされている。

本研究ではヒトスジシマカの個体識別マーキング実験を行うとともに、野外で採集された成虫の余命を実験室で調査した。こ

れらの実験によって得られた結果に基づき、本種の分散範囲の推定を行った。

アカイエカは特にウエストナイルウイルスの潜在的な媒介蚊として医学的に重要な種類である。本種の移動分散範囲は蛍光塗料でマークした多数の個体を放逐することによって調べられており、少なくとも1.2kmは移動することが明らかにされている。蚊の飛翔範囲の推定はほとんどの場合、吸血のために探索飛翔する個体を用いて行われており、アカイエカに関する移動分散範囲の推定も未吸血の成虫を使って行われている。しかし、吸血に成功した個体はその後の数日間に起こる卵巣の発育と産卵を無事に経過するために好適な場所に移動する。蚊媒介性病原体の感染拡大を考える場合、感染者から吸血して病原体を取り込んだ蚊がどの程度の範囲まで分散していくかという空間的な広がりも重要である。したがって、従来行われている吸血飛来個体の飛翔範囲だけでなく、吸血に成功した個体の移動分散に関する情報も加味して、防除対策の実施範囲や献血制限範囲を決定するべきである。本研究は吸血したアカイエカが、その後どの程度の範囲まで移動するかを目的として行った。

B.研究方法

ヒトスジシマカの移動分散範囲の推定：
成虫の寿命と1日当たりの移動距離をマーキング実験によって求め、その積によって分散範囲の推定を行った。

吸血飛来成虫の平均余命：東京都立林試の森公園で6月から11月の期間にヒトスジシマカの人囿採集を行った。採集されたヒトスジシマカの雌成虫を持ち帰り $26.5 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $58 \pm 0.9\%$ 、16時間日長に

調節した飼育室で飼育し、すべての個体が死亡するまで死亡日と死亡個体数を毎日記録した。この調査結果に基づいて、野外捕集蚊の実験室内における平均余命を求めた。

マーキング実験による移動距離の測定：ヒトスジシマカが1日の間に動き回る範囲を知るために、1個体ずつ異なるマークを付けて放逐し、複数の採集場所で再捕獲を継続して行って、個体ごとに動いた軌跡を調べた。個別マークは、左右の翅それぞれに3か所、合計6ヶ所に、マジックペンで印をつけて行った。2012年7月24日から8月2日に感染研の構内とその周辺で合計199頭のヒトスジシマカを採集しマークして放逐したが、再捕獲された個体数がわずかに3頭と少なく、分析できるデータが得られなかった。そのため、同様の方法によって1990年に長崎市の市街地に隣接した林内で実施した調査結果から、44個体の再捕獲データを取り出して分析を行った。

胸部への個体識別マーキング法の検討：翅にマークを行うことによるダメージが大きいと考え、ダメージが小さく抑えられる方法として胸部背面にマークする方法を検討した。予め氷の塊の上に濾紙を乗せ、低温で湿った状態にしておき、この上にクロロフォルムで軽く麻酔した蚊を乗せた。胸部背面5ヶ所に塗料でマークを付けた。塗料には、修正液として市販されている水溶性ミスノンを適当な濃度に希釈して用いた。また、3種類の食品用色素（赤、青、黄色）を少量混ぜて、3種類の異なる塗料を作った。合計4色の塗料と5ヶ所のマーク箇所の組み合わせによって、 $5^5 - 1 = 3124$ 個体を区別できる。

野外における個体識別マーキング調査：

2013年3月17日から3月27日の期間、石垣島の住宅街でマーキング実験を行った。実験地として住宅や商店、公共のビル、2つの緑地がある約230m×250mの区画を設定し、その中に4ヶ所の採集場所を選んだ。採集場所Aは、調査のために滞在した民宿の庭先である。採集場所BとCは民宿の東にある大きな緑地で、Bは緑地の入り口付近、Cは緑地の奥に位置している。採集場所Dは大きな緑地から南東に約92m離れた小規模の緑地の入口である。

蚊の採集は毎日8:00と14:00の2回行った。各採集場所に採集者一人が10分間とどまり、吸血のために飛来する蚊を吸虫管で採集した。採集された蚊は、場所ごとに紙コップに入れて持ち帰った。カップから蚊を1個体ずつ吸虫管で取り出し、マークの有無をチェックした。マーク虫はマークを確認し、採集された場所を記録して紙コップに戻し、その日のうちに採集された場所から放した。無マーク虫には識別マークをつけて、その日のうちに採集された場所から放逐した。マーキングは初めの7日間継続して行い、その後の3日間は捕獲だけを行った。

アカイエカの吸血個体の移動分散に関する研究：本研究では野外で既に吸血した個体を採集し、その個体が保持していた動物血液からDNAを抽出し、吸血源となった動物を推定して、その動物のいた場所と採集場所の距離を吸血した蚊の移動分散距離の推定に用いることを考えた。分析に用いたサンプルは上野動物園で2009年に採集されたアカイエカの吸血蚊である。吸血蚊の腹部からDNAを抽出し、脊椎動物のミトコンドリアDNA16SrRNA遺伝子（16SrRNA）

を標的とした PCR を行い、増幅産物の塩基配列を決定して GenBank に登録されている塩基配列データと比較した。動物園で飼育されており、吸血場所の特定が可能なケースについて、吸血個体の採集場所と吸血源となった飼育動物の飼育場所の距離を地図上で測定した。

C. 研究結果

ヒトスジシマカの移動分散範囲の推定：

野外で採集されたヒトスジシマカの飼育室における平均余命には、調査した月によって大きな変動がみられた。最も短かったのは9月の採集雌で13.8日、最も余命が長かったのは、6月の採集蚊で平均40.8日だった。

長崎市の林で行ったマーキング実験では、合計856雌に個別のマークをつけて、林の中に放逐した。林内の10か所で再捕獲と再放逐を15日間繰り返した。放逐後に、2回再捕獲された個体のデータが44組えられた。各個体について再捕獲された2ヶ所の採集場所の直線距離を移動距離として、1日の平均移動距離を推定した。その結果、1日当たりの平均移動距離は、 10.1 ± 10.6 m、最大移動距離は44mであった。

石垣島の住宅街では調査期間中にヒトスジシマカ309個体が採集された。このうち個体識別マークを行って放逐した個体数は、232個体で、再捕獲されたのは43個体（うち5個体は2回再捕獲）、再捕獲率は0.21（43/232）であった。

採集場所ごとに再捕獲率を求めて表1に示した。採集場所Bの再捕獲率は0.4で、ほかの採集場所の再捕獲率より有意に高かった。

4ヶ所の採集場所間についてマーク虫の

動きを表2にまとめて示した。同一行に示された値は、例えば採集場所Aの場合、採集場所Aから放逐された個体のうち3,2,3,0個体が採集場所A,B,C,Dで再捕獲されたことを示している。つまり、採集場所Aで放逐された8個体のうち同じ場所Aで再捕獲された個体は3個体（37%）である。採集場所BとDの場合も採集場所Aと同様に、放逐された場所に留まりそこで再捕獲された個体の割合は低く、それぞれ30,25%であった。これに対して採集場所Cでは、放逐された26個体のうち放逐場所に留まりその場所で再捕獲された個体の割合は88%と非常に高かった。

表2の同一欄に示された値は、採集場所Aを例にすれば、採集場所Aで再捕獲された3,0,1,1個体がそれぞれ、採集場所A,B,C,Dから放逐された個体であったことを示している。この結果は、採集場所C,Dから採集場所Aへ移動してきた個体がいなかったことを示しているが、その頻度は低かったことを意味している。採集場所BとDへ移動してきた個体の数は表の第2,4欄に示されているように少なく1あるいは2個体に過ぎなかった。これに対して、採集場所Cは本研究で再捕獲された48個体のうち35個体が再捕獲された場所であり、このうち34%に相当する12個体は他の場所からCへ移動してきたことがわかった。特に、表1で放逐された個体の再捕獲率が最も高かった採集場所Bの場合、この場所から放逐された10個体のうち7個体は採集場所Cで再捕獲されていたことがわかった。

放逐された個体が再捕獲された48例について、再捕獲するまでに要した日数を求めたところ、最長8日、最短1日で、平均

は 2.5 ± 1.7 日であった (表 3)。再捕獲された 48 例のうち同じ場所で再捕獲された例は 31 例だった。これらを除外して、放逐された場所とは異なる場所で再捕獲された例について分析したところ、再捕獲までに要した日数は 2.8 ± 1.8 日、再捕獲された場所までの距離は平均 69 ± 22 m であった。また、各個体について 1 日当たりの移動距離を計算して、17 例について平均移動距離を求めたところ、 35 ± 22 m であった。また、観察された 1 日の最長移動距離は 92m であった。

本研究で観察された最長余命 40.8 日と 1 日当たり最長移動距離 92m の積として、“最大”分散範囲を推定すると、 $40.8 \times 92 = 3,753.6$ m であった。

アカイエカ吸血個体の移動距離の推定：

アカイエカの吸血源動物と推定された動物のリストを表 4 に示した。分析に用いた 131 個体のうち 54 個体では DNA の増幅が見られず同定できなかった。DNA の塩基配列の類似性 (99% 以上) によって種類が同定されたのは鳥類 17 種、哺乳類 5 種であった。これらの吸血源動物のうち飼育場所が 1 ヶ所に限られ移動距離が推定できたのは、9 ヶ所で飼育されている 15 種類であった。

採集された吸血蚊は保持している血液の量と状態によって、Full-fed, Partial-fed, half-gravid, Gravid の 4 種類に分類した。Full-fed は新鮮な血液を満腹に吸った個体、Partial-fed は新鮮な血液を少しだけ吸った個体、half-gravid は血液を消化中で腹部が部分的に黒色を呈する個体、Gravid は完成卵を持つ個体で腹部白くて卵で膨らんでいる個体である。新鮮な血液を持った個体の平均移動分散距離は 30.6m および 66.7m で 40

m 以内の個体が多い。これに対して完成卵を持った個体は 350m を移動しており、血液を消化中の個体は 10m から 350m まで移動距離は様々であった。

これらの結果から、吸血したアカイエカは卵を成熟させ産卵するまでの期間 (ふつう 3~4 日間) に、少なくとも 350m の距離を移動すると推定された。

D. 考察

ヒトスジシマカの動きが生息場所の植生に強く影響されていることは多くの研究で報告されている。我が国の場合、都市域であっても緑地や公園が散在し、これらがヒトスジシマカの潜伏場所を提供している。したがって、都市域であってもヒトスジシマカの分散範囲を推定するとき、緑地や茂みの空間分布を考慮することが大切である。

本研究で示されたように、ヒトスジシマカは好適な茂みへ移動して、そこに留まる傾向がある。長崎市の林の内部で行われたマーキング実験で求められた 1 日の移動距離は平均 10.1 ± 10.6 m、最長 44m であった。これに対して、石垣島の住宅街の場合、1 日の平均移動距離は 35 ± 22 m、観察された 1 日の最長移動距離は 92m であった。これらの結果は、ヒトスジシマカが好適な林の中に留まる傾向があるため、1 日の移動距離は林の中では短く、緑地が点在するような住宅街では長くなることをはっきり示している。

ヒトスジシマカの分散範囲は好適な茂みがあれば狭くなり、好適な茂みがなければ広くなると予想される。分散範囲を 1 日の移動距離によって推定する場合、もうひとつの重要なパラメータは、成虫の寿命である。本研究の調査では、吸血のために飛来

する成虫の平均余命は、最短 13.8 日、最長 40.8 日であることが示された。

献血制限に関わるヒトスジシマカの移動分散範囲の推定は、通常行われる平均値に基づく推定ではなく、いわゆる過大推定である方が適切である。したがって、本研究で観察された最長余命 40.8 日と 1 日当たり最大移動距離 92m を掛け合わせて得られた、3,753.6m を“最大”分散範囲とするのが妥当だろう。

アカイエカは吸血後 3~4 日で卵を成熟させ産卵する。この期間中にはまったく吸血せず、水分や糖分の補給を行う以外は潜伏に適した場所に留まっていると考えられてきた。しかしながら、本研究の結果に示されているように、実際には卵巣を发育させながら、あちこちの潜伏場所を転々と動き回っていると思われる。完成卵を保持している Gravid 個体は 350m 離れた場所から移動した個体しか得られなかったが、これは技術的な制約のためと思われる。Gravid 個体の場合、動物血液はほとんど消化されているため、血液残渣から DNA が増幅される例は少ない。そのため、仮に近い距離から移動してきた Gravid 個体が採集されていたとしても、吸血源動物が同定できなかった可能性が高い。

過去に推定された吸血のために飛来するアカイエカの移動範囲 1.2km と本研究で推定された吸血後の移動距離 350m をどのように総合するかという問題については、今後の生態学的な検討を要する。これらの推定値を単純に合計した 1.55km という移動分散範囲は、もっとも単純な考えであり、献血制限範囲に関するひとつの科学的根拠となりうるだろう。

E. 結論

献血制限に関わるヒトスジシマカの“最大”分散範囲を、野外調査により得られた成虫の最長余命 40.8 日と 1 日当たり最大移動距離 92m の積によって、3,753.6m と推定した。

吸血後のアカイエカの移動分散距離が少なくとも 350m と推定された。吸血源動物の探索のために動き回る範囲の推定値 1.2km と吸血後の移動距離を加算した 1.55km という値は、献血制限範囲に関するひとつの科学的根拠を与えると思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Tsuda, Y. and Kim, K.S. 2012. Ecology of mosquitoes inhabiting a park in urban Tokyo, Japan: density of biting *Aedes albopictus* and laboratory estimation of the residual longevity. *Medical Entomology and Zoology* 63: 223-230.

2. 学会発表

津田良夫．ヤブカの個体識別マーキング法の検討：石垣島におけるヒトスジシマカとオオクロヤブカを用いた実験．第 65 回日本衛生動物学会東日本支部大会，2013 年 10 月 25 日，川口市．

H. 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 . マーク放逐されたヒトスジシマカの放逐場所による再捕獲率の違い

採集場所	ヒトスジシマカ		
	再捕獲数	放逐数	再捕獲率
Site A	8	54	0.15
Site B	10	25	0.40
Site C	26	125	0.21
Site D	4	28	0.14
Total	48	232	0.21

表 2 . 4 つの採集場所間で観察されたヒトスジシマカ（マーク虫）の動き

放逐場所	再捕獲場所				合 計
	Site A	Site B	Site C	Site D	
Site A	3	2	3	0	8
Site B	0	3	7	0	10
Site C	1	1	23	1	26
Site D	1	0	2	1	4
合 計	5	6	35	2	48

表 3 . 再捕獲されたヒトスジシマカの再捕獲までの日数、再捕獲された場所までの距離、1 日当たりの移動距離

	平均	標準偏差	最大	最小	観察数
すべての再捕獲個体					
再捕されるまでに要した日数	2.5 日	1.7	8 日	1 日	48
異なる場所で再捕獲された個体：					
再捕されるまでに要した日数	2.8 日	1.8	7 日	1 日	17
再捕獲場所までの距離	69m	22	95m	48m	17
1 日当たり移動距離	35m	22	92m	8m	17

表 4. 上野動物園で採集された吸血したアカイエカの吸血源動物の同定結果と飼育場所と採集場所の位置関係から推定した移動距離

吸血源動物	サンプル数	移動距離* (m)
鳥類 (合計)	57	
サンカノゴイ <i>Botaurus stellaris</i>	16	10
オグロヅル <i>Grus nigricollis</i>	6	130
アオサギ <i>Ardea cinerea</i>	5	10
ハシブトガラス <i>Corvus macrorhynchos</i>	5	
ケープペンギン <i>Spheniscus demersus</i>	4	170
ホオカザリヅル <i>Bugeranus carunculatus</i>	3	130
オオワシ <i>Haliaeetus pelagicus</i>	3	40
スズメ <i>Passer montanus</i>	3	
イヌワシ <i>Aquila chrysaetos</i>	2	40
ネパ - ルワシミミズク <i>Bubo nipalensis</i>	2	40
シジュウカラ <i>Parus major</i>	2	
チョウゲンボウ <i>Falco tinnunculus</i>	1	40
ハゲトキ <i>Geronticus calvus</i>	1	
ハゲワシ <i>Gyps africanus</i>	1	
ソリハシセイタカシギ <i>Recurvirostra avosetta</i>	1	
フクロウ <i>Strix uralensis</i>	1	40
アフリカクロトキ <i>Threskiornis aethiopicus</i>	1	90
哺乳類 (合計)	20	
ウシ <i>Bos taurus</i>	15	350
ユーラシアカワウソ <i>Lutra lutra</i>	2	60
ニホンザル <i>Macaca fuscata</i>	1	210
タヌキ <i>Nyctereutes procyonoides</i>	1	100
ホッキョクグマ <i>Ursus maritimus</i>	1	
同定不可	54	
合 計	131	

*飼育場所と採集場所の直線距離によって推定した。