

## 11. 昆虫医科学部

部長 小林 睦生

### 概要

平成14年度、当該部の運営および研究・調査等に関する業務実績の概要は以下の通りである。

人事に関する事項では、8月1日より津田良夫が第1室長として長崎大学から転任し、澤邊京子が第2室長として採用された。新たに、安居院宣昭、倉橋 弘が厚生労働研究事業の継続のために客員研究員として加わり、和田義人、栗原 毅、二瓶直子は客員研究員として、デ・マ・テラー、李時雨、主藤千枝子は協力研究員として本年度も継続された。本年度に実施された研究課題およびその内容は以下の通りである。

#### I. 衛生昆虫類の媒介生態・分類に関する研究

デング熱媒介蚊であるネッタイシマカの生態遺伝学的調査をインドネシア、タイ由来の系統を用いて行い、白色系統と黒色系統との吸血後の寿命、産卵数に有意な差が認められた。東北地方におけるヒトスジシマカの分布調査では、新たな分布域の北進は認められなかったが、2000年に初めて分布が確認された山形市の調査では、全市的に同蚊の分布が広がっており、刺咬被害が発生していることがアンケート調査で明らかとなった。ヒトスジシマカの寄生原虫(*Ascogregarina*)に関して、原虫オーストを感染させた1齢幼虫から大量にスポロゾイトを集める方法を確立することに成功し、遺伝子導入への準備が進んでいる。北海道東部の能取湖畔で夏季に大量に発生するセスジヤブカの調査を行い、実験室内で採卵し、年2回発生することを確認した。インドネシア・ロンボク島におけるマラリアの媒介蚊の調査では、山間部では *Anopheles balabacensis* が主要な媒介蚊であることが明らかとなった。北海道におけるマラリア媒介蚊の分布調査を行い、道東においては、*An. engarensis* が多く見られ、*An. lesteri* も一部の地域で確認された。ソロモン諸島におけるマラリアリスクマップ作成に GIS およびリモートセンシングを用いた。GIS の手法を大阪府におけるセアカゴケグモの分布解析に応用し、今後のゴケグモ対策の一助とした。ハエ類が多包条虫の卵を播種する可能性を考え、北海道において、キタキツネの糞に集まるハエ類の調査を行った。大分県におけるメマトイ類の *Thelazia* 幼虫感染状況を明らかにするために調査を行い3種のメマトイから1-3期幼虫を検出し、遺伝子配列より、東洋眼虫と同定した。センチクバエの休眠性と地理的分布との関係も継続して調査している。

山形県大江町より温泉施設に大量に飛来するイヨシロ

オビアブの調査を依頼された。1晩で2,000匹ほどのアブがドライアイストラップで捕集されたが、発生源が森林の土壌であることから、薬剤による防除が困難で、トラップによる誘引捕殺を対策として奨励した。

#### 衛生動物同定依頼

平成14年度は34件473個体の昆虫、マダニ、クモ等の同定依頼を受けた。また、厚生労働科学研究費関連で、成田空港検疫所、関西空港検疫所、大阪検疫所、横浜検疫所等よりの依頼検体の同定も行った。

#### II. 衛生昆虫類の生理・生化学・遺伝学的研究

北海道のハマダラカの分子系統分類を試み、rDNAITS2の解析で、4種類を同定することが可能となった。ネッタイシマカの斑紋変異系統のエネルギー代謝の特徴を調べ、飛翔距離に系統間で差があることが明らかとなった。ウエストナイルウイルスの検出キット(VecTest)を用い、従来のPCR法と検出感度を検討した。簡便さ等を考慮すると、大量捕集蚊のスクリーニングには有用と判断された。オオクロヤブカのcDNAライブラリーを作製し、液性防御機構の初期反応の解明に利用する。冬期に世代交代を行うクロバエ類の脂質代謝において、融点が高いパルミトオレイン酸の組織含有率が高く、このことが低温環境への適応に貢献していることが示唆された。路上生活者に寄生するコロモジラミからの塹壕熱の病原体検出を継続して行っている。アタマジラミは現在も散発的に流行しているが、現在使用されているピレスロイド剤に対する抵抗性のコロニーを初めて検出し、その抵抗性の分子機構の解析から、作用点であるナトリウムチャンネルのアミノ酸置換が全ての抵抗性アタマジラミから検出された。また、コロモジラミにおいて有機りん剤に対する抵抗性に関わる、第2のアセチルコリンエステラーゼ(AChE)の塩基配列を決定した。また、コガタアカイエカの第2のAChE遺伝子を解析し、第2染色体上の位置を特定した。ネッタイエカのピレスロイド剤抵抗性に関わる分子の解析により、2つのアミノ酸置換によって非常に高度な抵抗性を示す事が示された。シラミ類の保存方法がPCR増幅に与える影響を検討し、餓死後常温で8週間保存したシラミから目的遺伝子の核DNA断片が増幅できることが示された。また、コロモジラミの人工膜吸血法を検討し、約30%が1齢幼虫から成虫まで発育した。この方法は、シラミ媒介性病原体の感染実験に応用可能である。

## 研究業績

### ・衛生昆虫類の媒介生態・分類に関する研究

#### (1) 都市化がもたらすデング熱媒介蚊の生態遺伝的变化

インドネシア・スラバヤで採集され、人為選抜されたネッタシマカの白色系統と黒色系統を用いて、個体群形質の違いを室内実験によって調べた。吸血させずに砂糖水だけを与えて飼育したときの成虫寿命は 35-36 日で系統間に差はなかった。しかし吸血させた場合の平均寿命は黒色系統が 51 日、白色系統は 39 日で、黒色系統の方が長命であった。純繁殖率は黒色系統が 176、白色系統は 121 と、黒色系統の繁殖能力の方が高かった。タイ・チェンマイのネッタシマカ集団に対しても体色による人為選抜を行った。

[津田良夫, 澤邊京子; 江下優樹(大分医大); 高木正洋(長崎大)]

#### (2) 東南アジアにおける蚊媒介性疾患の流行を左右する環境の定量的評価

インドネシア・ロンボク島でマラリア媒介蚊の現地調査を実施した。幼虫・成虫の定期調査によって、この地域の主要媒介蚊がほぼ明らかになり、山地部では *An. balabacensis* が主要媒介蚊であることがわかった。本種の生態的性質を明らかにするために、室内飼育系統の確立を試みたが失敗した。

[津田良夫, 澤邊京子; 高木正洋, 川田 均, 谷村 晋, 中澤秀介, 長谷部太, 安高雄治, 都野展子(長崎大); 中谷知樹(立命館大); 杉山 章(名古屋女大); 吉村光則(総合地球環境学研)]

#### (3) リモートセンシングによるインドシナ半島におけるマラリア浸淫状況の解析

インドシナ半島のマラリア危険地図を作成するために、行政区別の各種のマラリア罹患分布図と、NOAA のデータから得られた 1997 年の月別植生指数 NDVI 図を、Imagine や ArcGIS 等のパソコンソフトで解析した。月別 NDVI 値が 0.35 あるいは 0.4 の月数が、熱帯熱マラリアの危険率を説明していることを明らかにした。

[二瓶直子, 小林睦生; 橋田良彦(日大); 石井 明(自治医大)]

#### (4) ソロモン諸島国におけるマラリアリスクマップ作成

民族紛争や自然環境の問題から現地調査の困難な島嶼マラリアの感染状況を、簡便に推測する方法をガダルカ

ナル島で検討した。GIS やリモートセンシングを活用して、海岸平野、後背湿地、三角州や内陸の段丘など地形、景観の異なる地域の小学校でマラリア罹患率を調査した結果と、森林、土壌、土地利用などの要因を比較して、マラリアリスクマップを作成した。

[二瓶直子, 小林睦生; 橋田良彦(日大); 川端真人(神戸大); Bacotee, B., Leafasia, J. (Solomon Islands MTRI); 石井 明(自治医大)]

#### (5) 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様式について

セアカゴケグモの移動・拡散様式を明らかにする目的で、1995 年 11 月から 2002 年 12 月までの生息確認地を年度別および番地別に図化した。新しい確認地点から前年度までの確認地点までの最短距離を結び、年度ごとに重ね合わせて、移動の年代と移動距離・移動方向を解析した。その結果、移動・拡散は自力歩行による移動と車等の輸送手段を利用した移動によって起こり、仔グモが糸を使って空中飛行する分散方式ではないことが示された。

[二瓶直子, 小林睦生; 吉田政弘(大阪府公衛研); 金田弘幸, 嶋村竜太(パスコ GIS 総合研)]

#### (6) モバイルシステムによるハマダラカ類の採集地点の図化と地理情報収集の試み

北海道の戦前・戦後におけるマラリアの流行が見られる地域におけるハマダラカ類の調査を、ArcPad(ESRI 社)を搭載したポケット PC を用いてモバイル GIS を実施した。緊急監視体制の地図作成や流行予測に寄与すると考えられる。

[二瓶直子, 小林睦生; 斎藤康秀(麻布大)]

#### (7) 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

東北地方におけるヒトスジシマカの分布調査を継続して行っているが、2001 年に横手、水沢、気仙沼、新庄で新たに分布を確認したが、2002 年の調査では新たな分布域の拡大は確認されなかった。山形市では、2000 年に初めてヒトスジシマカが確認されたが、その後徐々に分布が広がり、2002 年に実施されたアンケート調査では、広範に刺傷被害が発生している事が確認された。

[小林睦生, 二瓶直子, 栗原 毅]

#### (8) 北海道北東部の能取湖畔で採集されたセスジヤブカの産卵

フラビウウイルスの媒介蚊として知られるセスジヤブカに関して、北海道北東部で発生源調査を行い、牛舎から吸血雌を多数採集した。実験室内で産卵させることを試みたところ、園芸用土壌の中に数個ずつ産卵することが明らかとなった。これら次世代の幼虫を飼育し、成虫に

まで発育したことから、北海道でセスジヤブカは年2回発生することが確認された。

[小林睦生, 二瓶直子, 栗原 毅]

(9) 無弁翅ハエ類の分類・生態学的研究

マダラフンコバエ *Poecilosomella punctipennis* は東洋区・オーストラリア区・大洋州地区における普通種で、ヒト親和性の種として知られている。このハエを再検討した結果、従来1種として扱われてきた本種に2種が含まれていることが判明し、1種を *Poecilosomella affinis* として新種記載した。両種は分布もほとんど重なり、形態的にも交尾器の構造を調べなくては確実な同定は難しい。生態的には前者は主に家畜の糞に集まるのに対し、新種のほうは人糞に好んで集まり、ヒト病原体の機械的媒介者としては新種のほうが重要と思われた。

[林 利彦]

(10) ハエ類が多包条虫感染に関与する可能性に関する研究

北海道における多包条虫症のヒトへの感染は飲料水汚染、野菜や果物に付着した虫卵の摂食等諸説あるが、詳細は不明である。我々はクロバエ科のハエの1種がある種の条虫卵を媒介していることを実証した仕事 (Lawson, 1989) に着目し、多包条虫もハエが媒介に関与している可能性を探るため、北海道においてキタキツネの糞に集まるハエ類を採集し、腸管と体表から卵の検出を試みた。採集されたハエ類は8科13種46個体であったが、これらから虫卵を見いだすことはできなかった。

[林 利彦, 二瓶直子, 小林睦生; 堀尾政博(産業医大)]

(11) イヨシロオビアブの大発生とその防除に関する調査研究

イヨシロオビアブ *Hirosia iyoensis* は森林の土壌より発生し、各地で大量発生が知られる。今回、山形県大江町の露天風呂へこのアブが大量に飛来し、客に被害を与えるという報告を受け、現地調査を行った。発生地は温泉の山側の森であることが判明し、トラップ調査の結果、一晩で2,000個体近く捕集された。この種は無吸血産卵をすることと発生源が森林の土壌であることから薬剤駆除が難しく、温泉客が咬傷被害にあわないようにドライアイストラップを設置し、誘引捕殺する方法で対策指導を行った。

[林 利彦, 森林敦子, 倉橋 弘, 富田隆史, 葛西真治, 小林睦生; 渡辺 護(富山衛研)]

(12) 大分県におけるメマトイ類の *Thelazia* 幼虫感染に関する研究

大分県下 11カ所においてメマトイ類を採集し、*Thelazia* 幼虫の検出を行った。877個体を解剖し、カップメマトイ *Amiota kappa*, オオマダラメマトイ *A. magna*,

マダラメマトイ *A. okadai* の3種から *Thelazia* の第1, 2, 3期幼虫を検出し、感染率は3.8%, 3.2%, 2.3%であった。大分県下のヒト症例からの東洋眼虫 *Thelazia callipaeda* 成虫と今回検出された幼虫の遺伝子配列とを照合し、一致したことより、これら幼虫は東洋眼虫と同定された。

[林 利彦; 青木千春, 大塚 靖, 高岡宏行(大分医大)]

(13) センチクバエの蛹休眠に見られる多様性と進化

センチクバエは東南アジアを中心に南北半球に広く分布している。北半球の温帯地域では蛹休眠で越冬し、赤道周辺と南半球では非休眠または休眠率が低い。今回チェンマイ市郊外 MaeThang で最寒期に採集したコロニーについて調べ、休眠率0%を得た。これは前にチェンマイ市内で9月に得られたコロニーの高い休眠率(99%)と異なる結果である。亜熱帯では比較的狭い地域でも、サンプルした場所や季節によって休眠性は大きく異なる可能性が示唆された。

[倉橋 弘, 森林敦子, 主藤千枝子, 津田良夫; K. & K. Sukontason(チェンマイ大)]

(14) 衛生動物同定検査報告

平成14年4月から平成15年3月までの間、34件473個体の昆虫・マダニ・クモ等の同定依頼を受けた。昨年度・一昨年度に引き続き、厚生労働科学研究「疾病媒介昆虫の侵入・移動分散の監視・防御に関する研究」の一環として、成田空港・関西空港・大阪・横浜等の検疫所より、港湾地区や海外からの到着便航空機内で採集された昆虫類の同定を依頼された。航空機によって日本に侵入する昆虫種の多くが夜間灯火に飛来する習性のある種であることが判明した。なお同定依頼に関して、エクアドルのジャングルにて感染したヒトヒフバエの輸入症例が含まれている。

[林 利彦, 津田良夫, 倉橋 弘, 栗原 毅]

・衛生昆虫類の生理・生化学・遺伝学的研究

(1) 日本産ハマダラカ属 *hyrcanus* 種群の分子系統分類の試み

2002年7月北海道で採集されたハマダラカ *Anopheles* 属 *hyrcanus* 種群の蚊は、採集個体および次世代の成虫の形態的特徴から *An. sinensis*, *An. engarensis*, *An. lesteri* の3種類に分類された。しかし、形態的特徴にのみよる鑑別は非常に難しいことから、rDNA ITS2領域の塩基配列の比較による分子系統分類を試みた。その結果、前出の北海道採集群は *An. lesteri*, *An. sineroides*, *An. sinensis*, *An. engarensis* に分かれ、それぞれが明らかに独立したクラスターに位置することが分かった。今回の結果から、これまで主に形態的特徴により種の分類が困難であった *sinensis* と *engarensis* の鑑別に対しても有用であること

が明らかとなった。

[澤邊京子；高井憲治(聖マリアンナ医大)；二瓶直子，小林睦生，栗原 毅]

(2) VecTest による蚊からのウエストナイルウイルスの検出

蚊からのウエストナイル(WN)ウイルスの検出には，従来 RT-PCR 法を用いたウイルス遺伝子を検出する方法が用いられてきたが，近年，米国においてウイルス抗原検出用の VecTest が簡便なキットとして開発された．そこで両検出法の有用性について検討した．本邦産2種の雌成虫(ヒトスジシマカ，アカイエカ)を各ウイルス量に希釈した WN ウイルス液を加えて磨砕し検出感度を検討した．その結果 RT-PCR 法は VecTest に比べはるかに検出感度に優れていた．次いで，WN ウイルスを胸部に注射し作成された感染蚊を用いて検出したところ，50 匹中 1 匹でも感染蚊が存在すれば，どちらの方法においても検出可能であった．迅速さと簡便さにおいては VecTest が優るものの，検出感度については RT-PCR 法が優れている結果を得た．

[佐々木年則，澤邊京子；伊藤美佳子，高崎智彦，倉根一郎(ウイルス第一部)；江下優樹(大分医大)；小林睦生]

(3) ネットアイシマカ成虫腹部における斑紋変異とグリコーゲン・中性脂肪量との関係

ネットアイシマカ成虫の腹部には斑紋変異が知られており，この斑紋変異と蚊のデング熱ウイルスに対する感受性や殺虫剤抵抗性との関連性も指摘されている．今回はまず斑紋変異の生理的意味をエネルギー代謝の観点から考察するために，ベトナム国内で採集し維持しているネットアイシマカのコロニーから白色個体および黒色個体をそれぞれ人為選抜しグリコーゲンと脂肪量を測定した．さらにそれらの個体を飛翔量測定装置によって飛翔させた．黒色個体は白色個体に比べ，速度は遅いものより長い時間と距離を飛翔できることが分かった．この結果は黒色系統がグリコーゲンよりも脂肪を効率よく利用できるのに対し，白色系統では逆にグリコーゲンをより多く利用するという，エネルギー利用の特徴から生じるものであると推察された．

[澤邊京子，津田良夫；T. V. Phong，V. S. Nam(ベトナム衛生疫学研究所)；上宮健吉(久留米大)；高木正洋(長崎大)]

(4) 路上生活者より採取されたコロモジラミから壱塚熱病原体 *Bartonella quintana* (*B. quintana*) の検出 (3)

東京都内のホームレスの衣服から採取したコロモジラミにおいて，壱塚熱の病原体 *B. quintana* の存在を昨年引続き PCR 法で調べた．13 人由来のコロモジラミを調べた結果，*B. quintana* のクエン酸合成酵素 A 遺伝子

断片や 16S-23S rRNA 遺伝子 intergenic spacer region 1 (ITS1) は検出されなかった．1999 年以降コロモジラミからの *B. quintana* の検出率は，7.5 % (3/40) となった．[佐々木年則，澤邊京子；佐々木次雄(細菌第二部)；小林睦生]

(5) オオクロヤブカ (*Armigeres subalbatus*) 由来 cDNA ライブラリーの作製

マラリア原虫に対する蚊の殺滅機構として，プロフェノール活性化系が知られている．プロフェノール活性化系に関わると考えられるシアル酸特異的レクチンの cDNA クローニングを行うため，異物に対して強力なメラニン化反応が観察されるオオクロヤブカ (*Armigeres subalbatus*) を用いて cDNA ライブラリーの作製を行った．

[佐々木年則，澤邊京子，小林睦生]

(6) 長距離移動性昆虫の国内への飛来経路と発生源推定

長距離移動性衛生昆虫類のわが国への飛来経路とその発生源の推定を行うための基礎研究として，2 種類のトンボについて分子系統分類学的検討を行った．1999 年から 2002 年にかけて韓国および日本各地で採集したウスバキトンボ *Pantala flavescens* とアカトンボ属 (*Sympetrum* spp.) のミトコンドリア DNA 16S rRNA 領域の塩基配列を解析した結果，ウスバキトンボについては種間の差以上の差異を表すことはできなかったが，アカトンボ属においては，これまで日本特産種とされてきたアキアカネ *S. frequens* が韓国産タイリクアキアカネ *S. depressiusculum* と同一種であることが明らかになった．この結果は両者のこれまでの分類学的な位置関係を見直す必要性を示唆した．

[澤邊京子；上田哲之(石川県農業短大)；東 和啓(佐賀市)；李 承模(ソウル市・韓国)]

(7) オオクロバエの脂質について

オオクロバエは，冬期の短日低温下で世代交代を行い，夏期の長日下では，成虫休眠に入る．低温下での成虫の生理学的な特徴を脂質分析から試みた．脂質の構成脂肪酸は，主にシス型のパルミトオレイン酸で，40 % から 50 % を占めた．この脂肪酸の融点は，± 0.5C と低い．このように融点の低い脂肪酸を高率に含有する脂質は，低温下の冬期において生体内において利用されやすいと考えられる．この脂肪酸は，同様に冬期に世代交代を行うケバクロバエにおいても卵巣や脂肪体に 40 % の高率で含有されていた．冬期において世代交代を行うクロバエ 2 種から同様の結果が得られたことから，シス型のパルミトオレイン酸の増加は，低温下での環境に適應するために有利に働いているものと思われる．

[森林敦子，林 利彦，主藤千枝子，倉橋 弘]

(8) ヒトスジシマカ寄生原虫への遺伝子導入のための  
スポロゾイトの分離法

ヤブカ類には、非病原性で、宿主特異性の高い寄生原虫 *Ascogregarina* spp. が認められており、この原虫を外来遺伝子のベクターとして利用できる可能性が考えられる。そこで、遺伝子導入ステージとして最適と考えられるスポロゾイトを分離する方法を検討した。ヤブカ1齢幼虫に大量にオーシストを感染させ、1時間後に中腸を解剖してスポロゾイトを回収する方法が最も効率が高かった。なお、これら回収されたスポロゾイトは緩衝液中で最低12時間感染性を保持していた。

[ Sudipta Roychoudhry, 小林睦生 ]

(9) アタマジラミのピレスロイド剤感受性調査と作用点の構造変異

2001年より首都圏でアタマジラミのフェノトリン感受性試験を継続して行っており、今年度新たに調べた5コロニーはすべて感受性を示し、累積すると抵抗性コロニーの割合は3/15となった。ピレスロイド作用点のナトリウムチャンネルの構造変異について、抵抗性の2コロニーと感受性の1コロニーを解析した。これまでに解析を終えた3つの抵抗性コロニーは共通して4つのアミノ酸置換変異をホモ接合で有した。これらの置換の内、DII S5領域のT952I変異に関してTaqManプローブを用いたジェノタイピング法を確立した。

[ 富田隆史, 葛西真治; 矢口 昇 (池袋保健所); 安居院宣昭 ]

(10) コガタアカイエカの2つ目のアセチルコリンエステラーゼ遺伝子と有機りん剤抵抗性に関連する点突然変異

有機りん剤抵抗性 Toyama 系統のアセチルコリンエステラーゼ (AChE) はフェニトロオクソンに対して870倍の感受性低下を示す。本種で2番目となる701アミノ酸残基をコードする AChE cDNA 配列 (*Ace2*) を決定し、成熟タンパク質配列に Toyama 系統特異的な唯一のアミノ酸置換を同定した。抵抗性系統と感受性系統の戻し交配個体を使いサザンブロット解析と酵素阻害実験を行い、*Ace2* 構造遺伝子と AChE 殺虫剤非感受性因子は第2染色体上の1cM以内のごく近傍に存在した。

[ 富田隆史; 鍋島 武 (筑波大); 森 章夫 (Univ. of Notre Dame); 古崎利紀, 葛西真治; 河野義明 (筑波大) ]

(11) コロモジラミの第2アセチルコリンエステラーゼの構造解析

アセチルコリンエステラーゼ (AChE) は、国外でヒトジラミの駆除剤として広く用いられている有機りん系殺虫剤の作用点である。ヒトジラミの殺虫剤抵抗性を分子診断する目的で、既知の昆虫種第2族 AChE の保存

配列に基づき、コロモジラミで2番目となる AChE cDNA 配列をプライマーウォーキングにより決定した。翻訳開始点を確定することはできなかったが、少なくとも708アミノ酸残基から成る第2族 AChE 前駆体タンパク質をコードしていた。

[ 李時雨, 葛西真治, 富田隆史 ]

(12) 核酸増幅のためのヒトジラミ保存条件の検討

コロモジラミを用いて PCR 増幅が可能なシラミ保存法を検討した。生きた虫体をエタノールの中に常温で浸漬保存しても、餓死後常温でシラミを保存しても、8週後に抽出した DNA を用いて0.8 kb のナトリウムチャンネル遺伝子の核 DNA 断片が増幅された。エタノール中に浸漬保存した場合であっても、1日後に抽出した RNA を用いた場合 RT-PCR 産物が得られたものの、4日目以降に抽出した RNA では RT-PCR 産物を得ることは困難であった。

[ 李時雨, 葛西真治, 富田隆史 ]

(13) コロモジラミの人工膜吸血法確立に関する研究

飼育法が確立されていないコロモジラミの人工膜吸血法確立に取り組んだ。パラフィルム、脱脂綿および保存液を添加した人血を用いて血液パッドを作製し、コロモジラミ1齢幼虫に21日間連続で吸血させ、毎日の死亡個体数、脱皮数、産卵数を調べた。その結果、シラミ媒介性病原体の感染実験に応用可能なレベルまで効率よく吸血させることが出来たが、成虫脱皮率は33%程度にとどまったことから、継代飼育に用いるためにはさらに改良を加える必要があると考察された。

[ 葛西真治; 三原 實 (日本環境衛生センター); 高橋正和, 安居院宣昭, 富田隆史 ]

(14) ピレスロイド剤抵抗性ネッタイエカの作用点変異に関する研究

ピレスロイド剤抵抗性ネッタイエカについて、ナトリウムチャンネルの構造変化と抵抗性レベルについて調べた。これまでに抵抗性系統から見つかった2種類のハプロタイプについて、それぞれの遺伝子をホモにもつ個体群の分離を試み、純化が進んだ2つのコロニーについて permethrin 感受性を調べた。その結果、両コロニーは共に高い抵抗性を示したことから、2つのアミノ酸置換によって同レベルの薬剤感受性低下がもたらされることが確認された。今後、野外集団における抵抗性の分子診断に応用可能である。

[ 葛西真治, 李時雨, 富田隆史 ]

(15) キイロショウジョウバエのチトクロム P450 発現に関する研究

cDNA アレイ法を用いて、キイロショウジョウバエのチトクロム P450 の遺伝子発現解析を行った。その結果、

脱皮ホルモンの合成に関与している P450 を 2 分子種と、雄体内で雌の 80 倍以上発現している P450 (*Cyp312a1*) を特定することに成功した。*Cyp312a1* の遺伝子発現は成虫期にピークがあることと、その発現の大部分が腹部に集中していることから、*Cyp312a1* が生殖に関わる生理活性物質の代謝に関与していることが示唆された。これらの P450 は今後、新しい昆虫制御剤の作用点として発展する可能性がある。

[ 葛西真治, 富田隆史 ]

## 発表業績一覧

### 誌上発表

#### 1. 欧文発表

##### 原 著

1 ) Shinonaga, S. and Kurahashi, H.: Two new species of the tribe Hydrotaeini from Indonesia (Diptera: Muscidae). *Med. Entomol. Zool.*, 53: 43-47, 2002.

2 ) Hayashi, T.: Description of a new species, *Poecilosomella affinis* (Diptera, Sphaeroceridae) from the Oriental and Australasian regions. *Med. Entomol. Zool.*, 53, Suppl. 2: 121-127, 2002.

3 ) Kurahashi, H. and Afzal, M.: The blow flies recorded from Pakistan, with the description of one new species (Diptera: Calliphoridae). *Med. Entomol. Zool.*, 53, Suppl. 2: 213-230, 2002.

4 ) Wells, J. D., Golf, M. L., Tomberlin, J. K. and Kurahashi, H.: Molecular systematics of the endemic Hawaiian blowfly genus *Dyscritomyia* Grimshaw (Diptera: Calliphoridae). *Med. Entomol. Zool.*, 53, Suppl. 2: 231-238, 2002.

5 ) Moribayashi, A., Hiraoka, T., Kurahashi, H. and Agui, N.: Pupal diapause induction in larvae destined for non-diapause of the flesh fly, *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae). *Med. Entomol. Zool.*, 53, Suppl. 2: 279-288, 2002.

6 ) Moribayashi, A. and Agui, N.: Responses of ligated larvae of the flesh fly, *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae), to injected ecdysteroids: a possible usage for a simple *in vivo* assay for ecdysteroid measurement. *Appl. Entomol. Zool.*, 37: 497-501, 2002.

7 ) Prajakwong, S., Suwonkerd, W., Chawprom, S., Banchong-Aksorn, T., Tsuda Y. and Takagi, M.: A field evaluation study on the effects of residual spray of Bifenthrin and Deltamethrin on *Anopheles minimus* population in Mae Hong Son Province, northern Thailand. *Jpn. J. Trop. Med.*

*Hyg.*, 30: 289-293, 2002.

8 ) 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.

9 ) Dieng, H., Boots, M., Tsuda, Y. and Takagi, M.: A laboratory oviposition study in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) with reference to habitat size, leaf litter and their interactions. *Med. Entomol. Zool.*, 54: 43-50, 2003.

10 ) Sasaki, T., Kobayashi, M. and Agui, N.: Detection of *Bartonella quintana* from bodylice, *Pediculus humanus* (Anoplura: Pediculidae) infesting homeless people in Tokyo by molecular technique. *J. Med. Entomol.*, 39: 427-429, 2002.

11 ) Kobayashi, M., Sasaki, T. and Agui, N.: Possible food contamination with the excreta of housefly with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Med. Entomol. Zool.*, 53: 83-87, 2002.

12 ) Nihei, N., Hashida, Y., Kobayashi, M. and Ishii, A.: Analysis of malaria endemic areas on the Indochina Peninsula using remote sensing. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 55: 160-165, 2002.

13 ) Kasai, S. and Tomita, T.: Male specific expression of a cytochrome P450 (*Cyp312a1*) in *Drosophila melanogaster*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 300: 894-900, 2003.

14 ) 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.

15 ) 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.

16 ) 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, *Tetranychus urticae*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 33: 509-514, 2003.

#### 2. 和文発表

##### 原 著

1 ) 栗原 毅: 日本列島のマラリア媒介蚊 ( 南西諸島を除く ) . *Med. Entomol. Zool.*, 53, Suppl. 2: 1-28, 2002.

2 ) 三原 實, 倉橋 弘: 自然環境中に建てられた大規模近代建築へのウツキイエバエモドキの大量飛来と越冬 . *Med. Entomol. Zool.*, 53, Suppl. 2: 239-258, 2002.

3 ) 森林敦子, 倉橋 弘, 杉江 元, 片桐千俣, 土田耕三: ケブカクロバエ *Aldrichina grahami* (Aldrich)

## 昆虫医科学部

(Diptera: Calliphoridae)成虫の卵巣発育におけるエクジステロイドホルモン及び脂質の変動について. Med. Entomol. Zool., 54:65-71, 2003.

4) 栗原 毅: ヒトスジシマカの生態と分布拡大. 生活と環境, 47(7): 16-20, 2002.

5) 小林睦生: シラミに関する諸問題. 生活と環境, 47(7): 26-30, 2002.

6) 津田良夫, 小林睦生: ウエストナイルウイルス媒介蚊の生態. 病原微生物検出情報, 23(12):10-11, 2002.

7) 小林睦生: 感染症見直しに向けて. 生活と環境, 48(1): 70-75, 2003.

8) 富田隆史, 葛西真治, 小林睦生: シラミの駆除剤抵抗性と病原体媒介能の実態. 生活と環境, 48(2): 45-51, 2003.

9) 林 利彦, 葛西真治, 森林敦子, 富田隆史, 倉橋弘, 小林睦生, 渡辺 護: 山形県大江町の露天風呂におけるコシジロ対策. アブ研究, 26:1-9, 2002.

10) 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.

### 学会発表

#### 1. 国際学会

1) Kobayashi, M.: Present status of pediculosis in Japan. 2nd International Congress of Phthiraptera, July 8-12, 2002, Brisbane.

2) Kasai, S., Yaguchi, N., Agui, N., Mihara, M. and Tomita, T.: Efficacy of pyrethroid insecticide to head lice in Japan ( ): Emergence of phenothrin-resistant colonies. 2nd International Congress of Phthiraptera, July 8-12, 2002, Brisbane.

3) Tomita, T., Yaguchi, N., Agui, N., Mihara, M. and Kasai, S.: Efficacy of pyrethroid insecticide to head lice in Japan ( ). Point mutations of sodium channel gene in pyrethroid-resistant lice. 2nd International Congress of Phthiraptera, July 8-12, 2002, Brisbane.

4) Kurahashi, H., Hayashi, T. and Wells, J. D.: Phylogeny of Chrysomyine blow flies. 5th International Congress of Dipterology, September 28-October 6, 2002, Brisbane.

5) Moribayashi, A., Hiraoka, T., Kurahashi, H. and Agui, N.: Pupal diapause induction in larvae destined for nondiapause of the flesh fly, *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae). 5th International Congress of Dipterology, September 28-October 6, 2002, Brisbane.

6) Tsuda, Y. and Takagi, M.: Variation in dorsal scale pattern of *Aedes aegypti*. Vietnamese-Japanese Seminar on Tropical Infectious Diseases, November 28-30, 2002, Hanoi.

7) Nam, V., Tsuda, Y., Yen, N. and Takagi, M.: Variation in dorsal pattern of *Aedes aegypti* in Vietnam.

Vietnamese-Japanese Seminar on Tropical Infectious Diseases, November, 28-30, 2002.

8) Nam, V., Yen, N., Anh, N., Hasegawa, M., Tsuda, Y. and Takagi, M.: Japanese encephalitis vectors in north and central Vietnam, 2001-2002. Vietnamese-Japanese Seminar on Tropical Infectious Diseases, November 28-30, 2002, Hanoi.

9) Sawabe, K., Phong, Y., Nam, V., Tsuda, Y. and Takagi, M.: Glycogen and neutral lipid contents in selected bright & dark strains of *Aedes aegypti* from Hanoi, Vietnam. Vietnamese-Japanese Seminar on Tropical Infectious Diseases, November 28-30, 2002, Hanoi.

10) Tsuda, Y.: Recent studies on morphological variation of *Aedes aegypti* in Southeast Asian countries. Seminar on Medical Entomology, Post Graduate Program, Airlangga University, January 23, 2003, Airlangga University, Surabaya, Indonesia.

11) Tsuda, Y.: Entomological survey of vector mosquitoes on Sumbawa Island. The 5th regular meeting of the malaria control project in Lombok and Sumbawa Island, February 7-8, 2003, Mataram, Lombok, Indonesia.

#### 2. 国内学会

1) 栗原 毅: 蚊媒介病防除に関する基礎的な問題についての一連の研究. 第 54 回日本衛生動物学会学会賞受賞講演, 14 年 4 月 1-3 日, 東京都.

2) 倉橋 弘, 林 利彦: オビキンバ工種群の系統と *Chrysomya greebergi* の発見. 第 54 回日本衛生動物学会, 14 年 4 月 1-3 日, 東京都.

3) 林 利彦, 倉橋 弘, J. D. Wells: 東洋区産オビキンバ工属八工類の分子系統. 第 54 回日本衛生動物学会, 14 年 4 月 1-3 日, 東京都.

4) 青木千春, 高岡宏行, 林 利彦: 大分県におけるカッパメマトイの季節消長と *Thelazia* 幼虫自然感染. 第 54 回日本衛生動物学会, 14 年 4 月 1-3 日, 東京都.

5) 森林敦子, 主藤千枝子, 倉橋 弘: 晩秋に長距離移動飛翔が見られるオオクロバエのエクジステロイドと脂質. 第 54 回日本衛生動物学会, 14 年 4 月 1-3 日, 東京都.

6) 秦 和壽, 栗原 毅: 衛生害虫の伝統的な対応法(10) 国内のマラリア対策. 第 54 回日本衛生動物学会, 14 年 4 月 1-3 日, 東京都.

7) 小林睦生, 二瓶直子, 佐々木年則, 栗原 毅: メッシュ気候図による東北地方のヒトスジシマカの分布解析. 第 54 回日本衛生動物学会, 14 年 4 月 1-3 日, 東京都.

8) 佐々木年則, 小林睦生, 二瓶直子, 飯塚信二, Jetsumon Sattbongkot, 坪井敬文: VecTest によるハマダラカ唾液腺中のスポロゾイトの検出. 第 54 回日本衛生動物学会,

## 昆虫医科学部

14年4月1-3日,東京都.

9) 橋田良彦, 二瓶直子, 小林睦生, 高阪宏行, 石井明: インドシナ半島のマラリア分布指標としての植生指数 NDVI について. 第 54 回日本衛生動物学会, 14 年 4 月 1-3 日, 東京都.

10) 二瓶直子, 吉田政弘, 小林睦生, 金田弘幸, 嶋村竜太, 高阪宏行, 安居院宣昭: 地理情報システムによる大阪府におけるセアカゴケグモの分布解析. 第 54 回日本衛生動物学会, 14 年 4 月 1-3 日, 東京都.

11) 佐々木年則, 小林睦生, 安居院宣昭, 佐々木次雄: コロモジラミからの壱塚熱病原体, *Bartonella quintana* 遺伝子の検出(2). 第 54 回日本衛生動物学会, 14 年 4 月 1-3 日, 東京都.

12) 富田隆史, 葛西真治, 矢口 昇, 三原 實, 高橋正和, 安居院宣昭: アタマジラミのピレスロイド剤抵抗性 ( ) 日本における抵抗性コロニ - の出現. 第 54 回日本衛生動物学会, 14 年 4 月 1-3 日, 東京都.

13) 葛西真治, 富田隆史, 矢口 昇, 三原 實, 高橋正和, 安居院宣昭: アタマジラミのピレスロイド剤抵抗性 ( ) 抵抗性コロニ - におけるナトリウムチャネルの構造変異. 第 54 回日本衛生動物学会, 14 年 4 月 1-3 日, 東京都.

14) 小林睦生, 佐々木年則, 斎藤典子, 倉橋 弘, 安居院宣昭: 人親和性の高いイエバエにおける腸管出血性大腸菌 O157:H7 の播種能について. 第 6 回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム, 14 年 6 月 24-25 日, 感染研.

15) 小林睦生, Sudipta Roychoudhury, 二瓶直子, 佐々木年則: デング熱媒介蚊の防除に応用するための *Ascogregarina* 原虫に関する予備的研究. 日米医学協力寄生虫疾患専門部会日米合同会議, 14 年 8 月 20-22 日, 長崎市.

16) 佐々木年則, 小林睦生: 蚊由来シアル酸特異的レクチンのチオニン様領域. 日本比較免疫学会第 14 回学術集会, 14 年 8 月 26-28 日, 名古屋市.

17) 小林睦生: 我が国の衛生害虫とその防除への課題. 第 5 回昆虫病理研究会シンポジウム・平成 14 年度 BT 研究小集会合同大会, 14 年 9 月 26-28 日, 富士吉田市.

18) 小林睦生, 二瓶直子, 栗原 毅: 北海道北東部の能取湖畔で採集されたセズジャブカの産卵について. 第 54 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 14 年 9 月 28 日, 相模原市.

19) 二瓶直子, 小林睦生, 斎藤康秀: モバイルシステムによるハマダラカ類の採集地点の図化と地理情報収集の試み. 第 54 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 14 年 9 月 28 日, 相模原市.

20) 秦 和壽, 栗原 毅: 衛生害虫の伝統的な対応法(11) 国内のマラリア対策. 第 54 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 14 年 9 月 28 日, 相模原市.

21) 小林睦生: 日本における節足動物媒介性感染症の問題点と今後の対応. 「節足動物媒介性疾患と媒介動物の

防圧戦略」研究集会, 14 年 10 月 4-5 日, 長崎市.

22) 澤邊京子: 同胞種の問題, どこまで判っているか. 「節足動物媒介性疾患と媒介動物の防圧戦略」研究集会, 14 年 10 月 4-5 日, 長崎市.

23) 二瓶直子: GIS は流行発生予測に使えるか. 「節足動物媒介性疾患と媒介動物の防圧戦略」研究集会, 14 年 10 月 4-5 日, 長崎市.

24) 津田良夫: 環境適応からみたネツタイシマカとヒトスジシマカ. 「節足動物媒介性疾患と媒介動物の防圧戦略」研究集会, 14 年 10 月 4-5 日, 長崎市.

25) 富田隆史: 殺虫剤感受性レベルの監視と抵抗性遺伝子の分子診断. 「節足動物媒介性疾患と媒介動物の防圧戦略」研究集会, 14 年 10 月 4-5 日, 長崎市.

26) 上村 清, 稲岡 徹, 堀尾政博, 中村正聡, 倉橋 弘, Mohammad Afzal: パキスタンにおける蚊類発生源の調査(総括). 第 57 回日本衛生動物学会西日本支部大会, 14 年 10 月 12-13 日, 松山市.

27) 小林睦生: 都市におけるシラミ問題. 全国環境衛生大会, 14 年 10 月 24 日, 東京都.

28) 小林睦生: 地球温暖化による昆虫生態系の変化と感染症. SRL 感染症フォーラム, 2002 年ニュー・スの中の感染症, 14 年 12 月 14 日, 名古屋市.

29) 津田良夫: 無人島におけるヒトスジシマカの生態: 吸血飛来蚊の垂直分布. 第 52 回日本衛生動物学会南日本支部大会, 14 年 10 月 26-27 日, 長崎市.

30) 小林睦生: 東北地方におけるヒトスジシマカの分布拡大について: 山形市を中心に. 日米医学協力研究会寄生虫疾患専門部会国内研究会議, 15 年 1 月 24-25 日, 名古屋市.

31) 安居院宣昭: 衛生動物をめぐる最近の話題(1). ねずみ衛生害虫駆除技術研修会, 15 年 2 月 4 日, 川崎市.

32) 小林睦生: 衛生動物をめぐる最近の話題(2). ねずみ衛生害虫駆除技術研修会, 15 年 2 月 4 日, 川崎市.

33) 小林睦生: 米国におけるウエストナイル熱の現状と我が国での媒介蚊対策. 大阪府立公衆衛生研究所セミナー, 15 年 2 月 7 日, 大阪市.

34) 安居院宣昭: 疾病媒介昆虫等の侵入・移動分散の監視・防除に関する研究の推進について. ねずみ・衛生害虫駆除研究協議会ペストコントロールフォーラム, 15 年 2 月 20-21 日, 新潟市.

35) 富田隆史: シラミ症の実態と流行対策. ねずみ・衛生害虫駆除研究協議会ペストコントロールフォーラム, 15 年 2 月 20-21 日, 新潟市.

36) 小林睦生: 我が国における蚊媒介性感染症のリスク. ねずみ・衛生害虫駆除研究協議会ペストコントロールフォーラム, 15 年 2 月 20-21 日, 新潟市.

37) 小林睦生: 西ナイルウイルス及び蚊媒介性感染症のリスク. 埼玉県ペストコントロール協会感染症対策研究会, 15 年 3 月 4 日, さいたま市.



## 昆虫医科学部

38) 葛西真治: cDNA アレイ法を用いたチトクロム 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. 第 28 回日本農薬学会シンポジウム (植物保護とバイオテクノロジー), 15 年 3 月 23 日, 名古屋市.

39) 葛西真治, 富田隆史: キイロショウジョウバエにおけるチトクロム P450 の性特異的発現. 第 47 回日本応用動物昆虫学会, 15 年 3 月 25-27 日, 盛岡市.

40) 李時雨, 葛西真治, 富田隆史: Two acetylcholinesterase genes of the body louse, *Pediculus humanus*. 第 47 回日本応用動物昆虫学会, 15 年 3 月 25-27 日, 盛岡市.

41) 富田隆史, 鍋島 武, 古崎利紀, 葛西真治, 河野義明: コガタアカイエカの 2 つ目のアセチルコリンエステラーゼ遺伝子と有機りん剤抵抗性に関連する点突然変異. 第 47 回日本応用動物昆虫学会, 15 年 3 月 25-27 日, 盛岡市.

42) 堀尾政博, 金澤 保, 小林文夫, 巖城 隆, 奥祐三郎, 神谷正男, 二瓶直子, 林 利彦: ハエ類が多包条虫感染に関与する可能性の検討. 15 年 3 月 28 日, 第 72 回日本寄生虫学会大会, 久留米市.

43) 二瓶直子: GIS in schistosomiasis control. 日本住血吸虫発見 100 年記念国際シンポジウム, 15 年 3 月 30 日, 久留米市.

44) 富田隆史: 米国での西ナイルウイルス汚染実態について. 第 55 回日本衛生動物学会大会殺虫剤研究班集会,

15 年 3 月 31 日, 大分市.

45) 林 利彦: 山形県大江町の露天風呂におけるコシジロ対策. 第 55 回日本衛生動物学会大会アブ研究班集会, 15 年 3 月 31 日, 大分市.

### 調 査

1) 津田良夫: 東南アジアにおける蚊媒介性感染症の流行を左右する環境の定量的評価 (科学研究費補助金, 長崎大学). インドネシア, 14 年 9 月 8 日-22 日, 15 年 1 月 15 日-2 月 10 日.

2) 津田良夫, 澤邊京子: 東南アジアにおける蚊媒介性感染症の流行を左右する環境の定量的評価 (科学研究費補助金, 長崎大学) ベトナム, 14 年 11 月 25 日-12 月 2 日.

3) 津田良夫: 都市化がもたらすデング熱媒介蚊の生態遺伝学的変化 (科学研究費補助金), チェンマイ, 15 年 2 月 17 日-3 月 4 日.

4) 倉橋 弘: 北半球における高等ハエ類の多様性および系統関係に関する研究 (科学研究費補助金, 九州大学大学院比較社会文化研究院), スウェーデン, 14 年 7 月 16 日-30 日.

5) 倉橋 弘: 疾病媒介昆虫の侵入・移動分散の監視・防御に関する研究. 侵入昆虫の調査 (厚生労働科学研究費補助金), タイ, 15 年 2 月 4 日-17 日.