

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 18 日現在

機関番号：82603

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21658021

研究課題名（和文）微量元素分析による長距離移動性昆虫発生源推定の試み

研究課題名（英文）Trial of the estimation of migration source for the long-distance migratory insects by the trace element analysis

研究代表者

沢辺 京子（SAWABE KYOKO）

国立感染症研究所・昆虫医科学部・室長

研究者番号：10215923

研究成果の概要（和文）：(1) 放射化分析による微量元素の特定を初めて昆虫に応用し、代表的な 24 種類の元素類から、対象昆虫であるコガタアカイエカとその生息地の土壌との両方に共通する数種類の元素を特定することができた。(2) 大型放射光施設（SPring-8）（兵庫県播磨）において放射光照射を試み、詳細な元素分析および蚊成虫各部位における元素マッピング等の予備的実験を行った。その結果、蚊の部位や個体間で変動が見られた元素が存在する一方で、採集地による明確な傾向が見られない元素の存在が明らかになった。

研究成果の概要（英文）：(1) We applied the identification of the trace element by the activation analysis to the insects for the first time. The results revealed that several trace elements which are common to both a target insect, *Culex tritaeniorhynchus*, and soil of its habitat were identified from a total of 24 representative elements. (2) We used synchrotron radiation to an adult mosquito in large-scale emission light institution (SPring-8) in Harima, Hyogo, and carried out a preliminary experiment of analysis of trace elements contained in mosquito body. The X-ray imaging using X-ray fluorescence microscopy was also carried out. These results revealed the more detailed information of trace elements composition contained in an adult mosquito and indicated the elemental distribution in each part of the mosquito body with a scanning of X-ray microprobe.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,000,000	0	1,000,000
2010 年度	1,000,000	0	1,000,000
2011 年度	700,000	0	700,000
年度			
年度			
総計	2,700,000	0	2,700,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・応用昆虫学

キーワード：微量元素，中性子放射化分析，疾病媒介蚊，移動性昆虫，安定同位体比

1. 研究開始当初の背景

我が国の地理的・気候的な背景より、大陸や東南アジアから毎年飛来侵入する昆虫は農業害虫のみならず、衛生害虫も少なくないと考えられている。地球温暖化が危惧される中で、ヒトに対して、あるいは農作

物に対して疾病を媒介する昆虫のわが国への侵入、国内での移動・伝播経路を推定することは、病気の発生源を知り、対策を講じる上で非常に重要であるが、現在までにそれを実証する有効なツールは見つかっておらず、国外からのこれら昆虫の飛来経路

を推定することは未だ難しい。

衛生昆虫の中にあつて、日本脳炎ウイルスが南方から飛来する媒介蚊（主にコガタアカイエカ）によって導入されるという仮説や、オオクロバエが特定の季節に韓半島から飛来侵入するという仮説は、これら媒介昆虫の適応分散の繁殖戦略としても興味を持たれるところであり、この仮説を実証的に飛翔の実態を解明することは注目に値する。コガタアカイエカは、日本を含む東南アジア全域において主要な日本脳炎ウイルスの媒介蚊であり、偏西風・台風に伴いわが国に飛来してくる可能性が指摘されている。また、近年、初秋の都立公園に突如として多数のコガタアカイエカが飛来する現象が2年続けて観察され（Tsuda *et al.*, 2008）、周辺10kmほどの範囲内にはおそらく発生源がないと思われたことから、本虫の飛来と移動の実態が確認された事例となったが、具体的にどこから移動してくるのかは未だ分かっていない。

昆虫の長距離移動のメカニズムやその飛来元の推定は、これまでも飛来個体の様々な形態や形質の変化、あるいは生理学的特徴を比較する方法で行われてきた。また、近年の遺伝子解析技術の進歩により、遺伝子マーカー等の発見にも期待が寄せられるところだが、現時点で有効なツールは見つかっていない。そのような中、微量元素の同位体分析法による農産物の産地判別技術への応用に関する報告が近年相次ぎ、玄米やコーヒー豆、ワイン等の産地判別が精度よく行われるようになった（前田, 2003）。そこで、申請者らは、移動性の昆虫である蚊に対して本分析法を応用し、飛来元の推定に利用しようとするに至った。本研究で対象とするコガタアカイエカは、その幼虫・蛹期を水田や湖沼で生育するため、含まれる元素類には地域水系の特徴が反映されている可能性が高いと考えられるからである。

2. 研究の目的

毎年、海外から飛来侵入する病害虫の国内での移動・伝播経路を推定することは非常に重要な課題であるが、現在までにそれを実証する有効なツールは見つかっておらず、国外からのこれら昆虫類の飛来経路を推定することは未だ難しい現状にある。そこで本研究では、移動性の昆虫であり、且つ疾病媒介性昆虫であるコガタアカイエカが

有する微量元素を測定し、本種蚊の飛来元の推定に利用することを目的として本研究を行った。コガタアカイエカは、その幼虫・蛹期を水田や湖沼で生育するため、含まれる元素類には地域水系の特徴が反映されている可能性が高いと考えられる。これにより、本種蚊が媒介する病原体（主に日本脳炎ウイルス）の「海外飛来説」と「国内越冬説」の議論に対する解決の糸口を示すとともに、多くの飛翔性農業害虫の移動メカニズムの解明にも貢献することが期待される。

3. 研究方法

蚊に含まれる元素については微量元素に限らずほとんどの元素について含有量等の知見がない。従って、本研究では、本法の有効性評価のための基本データの蓄積を第一の目標とした。次いで、国内外で得られ

表1. 放射化分析に用いた蚊および土壌検体

sample no.	採取・採集地	採取年月日
1	土壌1 ベトナム Tay Ninh	Driong Minh Chau 2008.06.04
2	土壌2 ベトナム Quang Binh	Bo trach 2008.06.12
3	土壌3 長崎県 諫早市	上井牟田 2008.06.27
4	土壌4 長崎県 長崎市	高浜小学校前 2008.06.27
5	土壌5 沖縄県 石垣市	2008.07.08
6	成虫1 島根県 出雲市	宍道湖 2008.06.20
7	成虫2 島根県 出雲市	宍道湖 2008.06.20
8	成虫3 島根県 出雲市	宍道湖 2008.06.20
9	成虫4 島根県 出雲市	宍道湖 2008.06.20
10	成虫5 長崎県 諫早市	川床 2008.06.27
11	成虫6 長崎県 長崎市	高浜小学校前 2008.06.27
12	成虫7 沖縄県 石垣市	2008.07.08
12	幼虫1 島根県 出雲市	宍道湖 2008.06.20
13	エサ	NIID
14	土壌6 静岡県 御前崎市	新野 2008.08.20
15	土壌7 島根県 出雲市6月	宍道湖 2008.06.20
16	土壌8 島根県 出雲市7月	宍道湖 2008.07.20
17	土壌9 熊本県 菊池市	泗水福本 2008.06.27
18	土壌10 鹿児島県 南九州市	川辺町 2008.08.25
19	成虫8 ベトナム Dak Nong	Cujut-Xa Tam 2007.07
20	成虫9 ベトナム Quang Binh	Bo trach 2008.06.12
21	成虫10 ベトナム Ha Nam	Hung Cong 2008.04.28
22	成虫11 東京都 目黒区	林試の森公園 2008.09.25
23	成虫12 熊本県 合志市	九沖農研センター 2007.08.06
24	成虫13 鹿児島県 南九州市	川辺町 2008.09.25
25	成虫14 千葉県 館山市	中里 2008.08.11
26	土壌11 ベトナム Hanoi	Soc Son 2009.03.17
27	土壌12 フィリピン Bulacan	Bustos 2009.01.13
28	土壌13 佐賀県 佐賀市	富士町開屋 2009.04.25
29	土壌14 佐賀県 小城市	小城町春気 2009.04.25
30	成虫15 NIIDラボ	(出雲市採集 G9)
31	成虫16 NIIDラボ	(出雲市採集 G9)
32	幼虫2 NIIDラボ	(出雲市採集 G10)
33	成虫17 滋賀県 近江八幡市	安土町 2008.08.02
34	成虫18 ベトナム Tay Ninh	Long Trung 2008.06.04
35	土壌15 徳島県 小松島市	水田 2009.05.26-28
36	成虫19 徳島県 小松島市	水田 2009.05.26-28
37	成虫20 徳島県 小松島市	水田 2009.05.26-28
38	土壌16 マレーシア Sarawak州	Bario, Anur Dalan 2009.09.07
39	幼虫3 マレーシア Sarawak州	Bario, Anur Dalan 2009.09.07
40	土壌17 長崎県 五島市	古田町 2009.08.10
41	土壌18 千葉県 千葉市1	若葉区古泉町 2009.08.13
42	成虫21 千葉県 千葉市1	若葉区古泉町 2009.08.13
43	土壌19 千葉県 千葉市2	若葉区泉公園 2009.08.13
44	土壌20 滋賀県 彦根市1	稲里 2009.08.22
45	成虫22 滋賀県 彦根市1	稲里 2009.08.22
46	土壌21 石川県 河北郡	津幡町河北干拓地 2009.08.26
47	成虫23 石川県 河北郡	津幡町河北干拓地 2009.08.26
48	土壌22 滋賀県 彦根市2	金剛寺町 2009.06.15
49	土壌23 ベトナム Ha Tay	Cat Que 2010.03.08
50	成虫24 ベトナム Ha Tay	Cat Que 2010.03.08
51	成虫25 ベトナム Ha Tay	Cat Que 2010.03.08
52	土壌24 鹿児島県 奄美市	2010.05.10
53	土壌25 鹿児島県 奄美市	2010.05.10
54	土壌26 鹿児島県 奄美市	2010.05.10
55	成虫26 沖縄県 石垣市	名蔵 2010.05.12
56	土壌27 沖縄県 石垣市	名蔵 2010.05.12
57	成虫27 フィリピン Bulacan	Bustos 2010.05.12
58	成虫28 神奈川県 海老名市	相ヶ谷 2010.09.17
59	成虫29 神奈川県 海老名市	相ヶ谷 2010.09.17

た蚊を対象に微量元素を測定し、環境情報である「水」と「土壌」の測定値との間の相関関係を評価した。有用性が認められた際には、可能な限り元素情報の蓄積に努めた。各分析に供した蚊および土壌からの検体を表1に示した。

(1) 中性子放射化による微量元素分析：

東海原子力発電所内の原子炉にて所定の方法に従い照射後、千葉大学アイソトープセンターにて各種元素の測定を行った。一連の測定は連携研究者である鈴木弘行が中心となって行い、結果の評価は沢辺京子(研究代表者)と駒形修(協力研究者)が行った。

(2) 放射光照射による微量元素分析 (SPring-8)：

放射光照射のための大型放射光施設 SPring8 (兵庫県播磨) を利用し、放射光解析を行った。予備的に BL37XU ビームライン A ブランチ低エネルギー X 線照射を行った。検出された元素については試料上を走査して元素の蛍光 X 線 2 次元イメージングを行い、生体中における各元素の局在を確認した。

蚊(乾燥検体)は解剖し、頭部・胸部・腹部・脚部・翅の各部位に分けた。脚部・翅についてはそのまま 500 μ m \times 500 μ m の範囲を 13.4keV の X 線(直径 0.5 μ m)を照射し、頭部および胸部は中央の各 1 点を、腹部は等間隔に 5 点に直径 500 μ m の 35keV の X 線を照射した。それぞれの照射点の蛍光 X 線のスペクトルを記録し、主に Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Cr に対応するチャンネルを記録し元素マッピングを行った。

4. 研究成果

(1) 中性子放射化による微量元素分析：

これまでに、土壌および蚊成虫(合計 59 検体)を照射試料として機器中性子放射化分析および安定同位体比の解析を行い、試料の採取地の違いによって含有量が変動しやすい元素と変動し難い元素を、代表的な元素種 24 種(Na, K, Sc, Cr, Fe, Co, Zn, As, Br, Rb, Sr, Zr, Sb, Cs, Ba, La, Ce, Sm, Eu, Yb, Lu, Ta, Th, U) から抽出することできた。例えば、生体内および土壌中の Ba 含量において特異的な相関がみられたが(図 1)、一方で Cu, Mn は放射化分析で測定できなかった。比較的容易に測定可能な 9 元素(Na, K, Br, Ca, Fe, Zn, Rb, Sr, Ba) のクラスター分析結果を

比較する限りでは、1 頭あたりの元素量よりも蚊の個体の大きさを加味した翅長 1mm あたりの 1 頭元素量を用いた方が採取地別の違いを評価できる可能性があることも示唆された(図 1)。

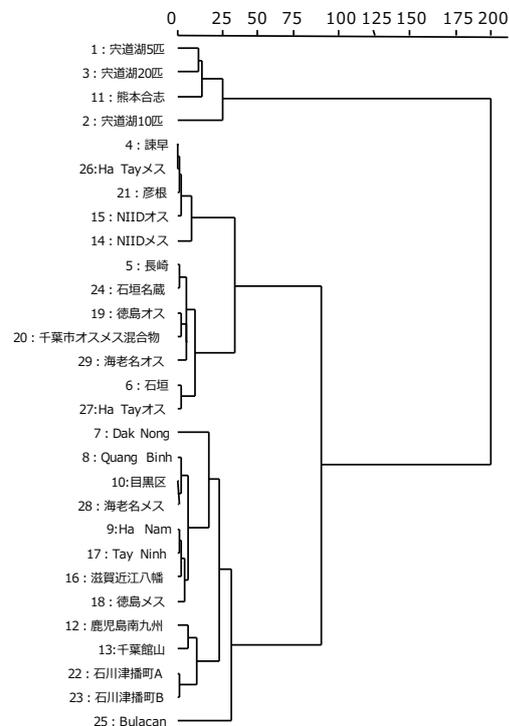


図 1. 平方距離に基づいたデンドログラム (翅長当たりの元素量で計算)

本研究は、放射化分析による微量元素の特定を初めて昆虫に応用する試みとなり、コガタカイエカとその生息地の土壌との両方に共通する元素種をある程度絞り込むことができた。しかし、蚊の飛来源を推定するという本来の目的のためには、土壌とその水域に生息する蚊幼虫の両方に共通して存在する微量元素についてさらに多くの検体からの解析結果が必要であり、また、さらに細かく微量元素を特定する必要があることは明らかである。しかし、期間中に幾度も生じた原子炉の停止や、2011年3月の東日本大震災等の影響もあり、当初計画した照射・解析のすべてを終了させることができず、結果として明確な地域性を得るまでには至らなかった。今後は、これまでの成果を踏まえ、未解析の検体の放射化分析を継続し、基本データを蓄積することが強く望まれる。

(2) 放射光照射による微量元素分析 (SPring-8)：

大型放射光施設 (SPring-8) において放射光解析を行った結果、放射化分析で測定不能で

あった元素類の再評価, ならびに成虫各部位における元素マッピング等の予備的な実験がほぼ計画通りに実施された (課題番号 2011A1089, SPring-8 利用課題実験報告書). 乾燥した蚊標本の各部位に X 線を照射し, 特に Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Cr に対応するチャンネルのスペクトルを記録しマッピングを行った. その結果, 体の部位や個体間で差異のある元素主が存在する一方で, 採集地による明確な傾向が見られない元素種の存在も明らかになった. すなわち, 脚部においては元素は各節の接合部にのみ集中していた (図 2). マッピングを行った 6 元素の内 Ca, Mn, Zn の含量が多く, Cr, Fe, Cu についてはバックグラウンドと同等かわずかに高い程度しか観察されなかった. Ca と Mn は脚部節に偏在する一方, Zn は節部以外に多く存在していた. また, 日本産コガタアカイエカと外国産本種間での元素の含有量に大きな違いは見られなかった.

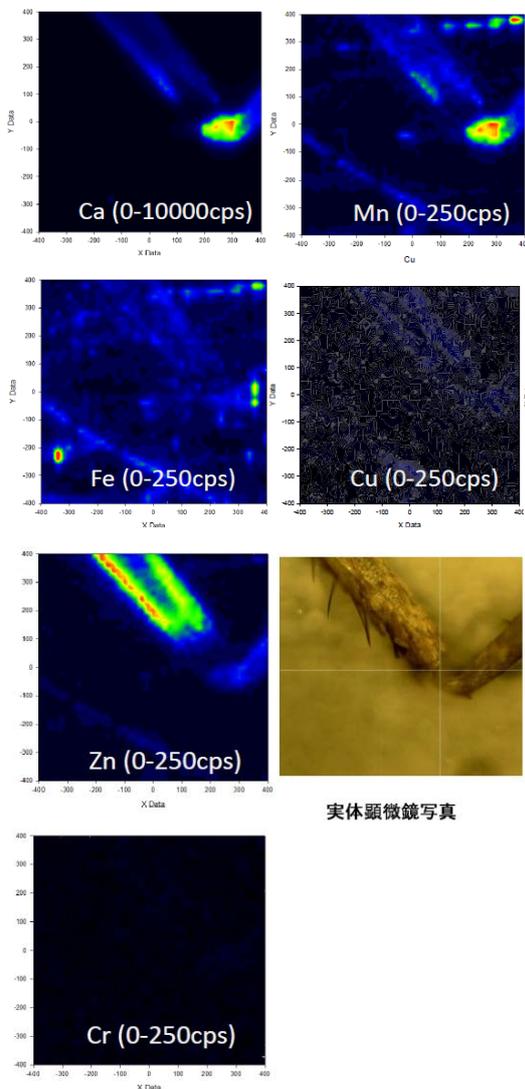


図 2. 脚部節付近の元素マッピング画像

頭部・胸部・腹部の体内において観測された主な元素は Mn, Fe, Zn, Br, Sr 等であり, 腹部内の Fe の含量は, 採集地を問わずほぼ一定であった (図 3). 他の元素は部位や個体間で変動が見られたが, 採集地による明確な傾向は見られなかった. その要因として 2 つのことが推察された. 1 つは蚊は同質量の土壌や植物等の試料に比べ元素の含量が全体として低いことである. 検出される元素の種類が少ないため試料間の比較において差を見出すことが不利であると考えられる. もう 1 つは, 個体中における元素の偏在に関する情報が全くないことである. 本研究では, 個体あたりの元素含量が非常に低いことから全虫体で行った. そのため, たとえば, ある部位の特定元素のみを比べれば有意な差がある場合でも, その元素が他の部位にあれば全虫体では差が出にくいと考えられる. そのため, 本研究では主に放射化分析で分析された元素の個体中の偏在を調べることで, および採集地が異なる個体間で元素の比較を部位別に行い, 地域性を明らかにすることが第一の目的であった.

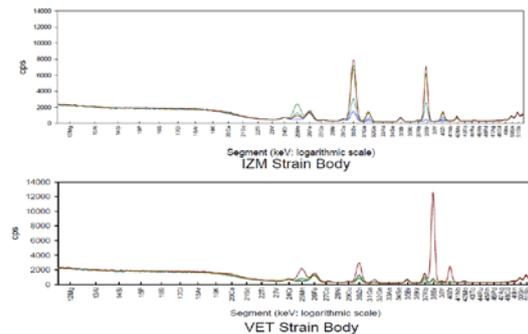


図 3. 出雲 (IZM) およびベトナム (VET) 系統コガタアカイエカの腹部内の蛍光 X 線スペクトル

一方で, 本結果は, 同じ場所から採集された個体でも複数の場所から飛来した可能性があるということも示唆している. このような技術的な問題点は, 今後, 検体数を増やすなどすることで解決できるかもしれない. 更に検討すべき点である. また, 今回 BL37XU を用いることで簡易な前処理だけで高感度に複数の元素を測定し比較できることが示された. 予想通りコガタアカイエカの体内では元素が偏在していることも確認されたが, その生物学的な意味についても今後の検討課題である.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

沢辺 京子 (SAWABE KYOKO)

国立感染症研究所・昆虫医科学部・室長

研究者番号: 10215923

(2)研究分担者

佐々木 年則 (SASAKI TOSHINORI)

国立感染症研究所・昆虫医科学部・

主任研究官

研究者番号: 10300930

(3)連携研究者

鈴木 弘行 (SUZUKI HIROYUKI)

千葉大学大学院・薬学研究院・助教

研究者番号: 70302578

(4)協力研究者

駒形 修 (KOMAGATA OSAMU)

国立感染症研究所・昆虫医科学部・研究員

研究者番号: 20435712