

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 21 日現在

機関番号：82603

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24658058

研究課題名(和文) 昆虫体内の微量元素の質的量的解析と気象解析に基づく昆虫の長距離移動特性の解明

研究課題名(英文) Analyses of qualitative and quantitative characters of the trace elements and long-distance migration based on the weather information

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・部長

研究者番号：10215923

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：日本脳炎ウイルス媒介蚊であるコガタアカイエカのミトコンドリア遺伝子の解析から、九州地方では毎年夏季に海外からコガタアカイエカが飛来していることが明らかになった。フライトミルを用いた飛翔実験から、本種の長時間飛翔が物理的にも可能であることが確認された。上空800～1,000 mの下層ジェット気流の流れを解析し、コガタアカイエカの飛来源、飛来経路、ならびにその後の国内分散を考察した。本研究でPIXE分析による微量元素解析を昆虫に初めて応用し、蚊1個体単位での部位別測定が13元素で定量可能であることが示唆された。コガタアカイエカの長距離移動を解析する有効なツールが得られたと結論した。

研究成果の概要(英文)：Based on the mitochondrial DNA sequences of Japanese encephalitis vector mosquito, *Culex tritaeniorhynchus*, it was revealed that it migrates from overseas countries into Kyushu areas every summer. The flight experiment using a computer-assisted flight mill revealed that *Cx. tritaeniorhynchus* has the ability for a long distance migration physically. In this study, we analyzed the flow of the low level jet stream in the range of 800 to 1,000 m height, and discussed it in relation to the origin and course of migration of *Cx. tritaeniorhynchus*, and their domestic dispersion after the landing. A trace element analysis using a PIXE was applied to an insect for the first time. The results of PIXE analysis suggested that 13 trace elements were measured according to the part of the body of one mosquito.

In conclusion, it was revealed that several tools are very useful to analyze the long-distance migration of *Cx. tritaeniorhynchus*.

研究分野：衛生昆虫学

キーワード：長距離移動 日本脳炎媒介蚊 フライトミル 放射光照射法 中性子放射化法 PIXE分析 流跡線解析

1. 研究開始当初の背景

わが国の地理的・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。地球温暖化が危惧される中、ヒトや農作物に対して疾病を媒介する昆虫の我国への侵入、国内での移動、疾病の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不可欠であるが、それを実証する有効なツールは国内外を問わず未だ見つかっていない。近年、農産加工品の種類の増加や輸入量の増大に伴い、化学分析法に基づく産地判別手法の開発が求められ、主に玄米、ジャガイモ、茶、コーヒー、ワインなどを対象に微量元素の組成や同位体分析法による農産物の産地判別が可能になってきた(前田, 2003)。そこで我々は、毎年国内で流行が報告される日本脳炎の主要な媒介種であるコガタアカイエカの長距離移動性に注目し、その生息地を反映するような環境要因(主に土壌)に特徴的な微量元素を特定することで、その発生地(飛来源)を推定することを計画し、文部科学省科学研究補助金・挑戦的萌芽研究(H21~H23)に申請し採択された。

我々の前回の研究においては、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、コガタア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、期間中に震災の影響等で幾度となく原子炉が停止する事象が発生し、当初の計画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。一方で大型放射光施設(SPring-8)において放射光解析を新たな試みとして取り入れ、放射化分析で測定不能であった元素種の再評価、および成虫各部位における元素マッピング等の予備的な実験を行うことができた(課題番号 2011A1089, 利用課題実験報告書)。これらの成果も加わり、現在では蚊を含む多数の昆虫種において長距離移動のメカニズムやその飛来源の推定に関する知見が徐々に蓄積されてきている(個体群生態学会企画シンポジウム, 岡山大会, 2011年ほか)。

本研究では、これまでの成果を踏まえ、放射化分析を継続し、新たに放射光照射実験、および蚊の移動エネルギーの評価と気象解析を加え、さらに発展させることを計画した。

2. 研究の目的

アジア地域において主要な日本脳炎の媒介蚊であり、且つ長距離移動性を有するコガタアカイエカを材料とし、微量元素分析および気象解析を行い、さらに蚊の飛翔エネルギーの検討を加え、本種蚊の海外飛来の検証ならびに国内への飛来経路と国内移動の経路を推

定することを目的とした。

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、放射化分析、放射光照射実験の有効性評価のための基本データ収集を第一の目標とし、国内外で捕集される蚊の微量元素を測定し、蚊が保有する元素情報を可能な限り多く収集し蓄積することに努めた。また、フライトミル法を蚊に応用し、飛翔前後の飛翔エネルギー(脂肪・炭水化物等の質的・量的変化)を測定することで、本種蚊の飛翔能力を物理的・生理学的側面から評価した。次いで、実際の蚊の捕集成績と気象データとの詳細な解析(解析飛来予測モデルおよび流跡線解析)により本種蚊の飛来経路の推定を行い、これらの結果をもとに、コガタアカイエカの長距離移動を考察した。

3. 研究の方法

1) 微量元素分析

微量元素分析は、当初、中性子放射化法(至:日本原子力研究開発機構)と放射光照射法(至:兵庫県播磨市SPring-8施設)による2種類の測定を計画したが、いずれも予定通りに実施できなかった。前者は2011年の東北大地震以降、茨城県那珂郡東海村に所在する原子炉が稼働せず、未だに利用できない状況にあるためであり、後者に関しては、SPring-8施設の使用に際して、測定試料の準備が十分にできなかったことが主な理由である。従って、本研究では、仁科記念サイクロトロンセンター(NMCC:岩手県滝沢市)においてPIXE(粒子線励起X線: Particle Induced X-ray Emission)分析を行うことに計画を修正した。

蚊試料は、2008年~2010年に国内数ヶ所、海外2地域(ベトナム、フィリピン)で捕集したコガタアカイエカ、2009年および2013年に千葉県酒々井町で捕集したコガタアカイエカ、2013年および2014年に千葉県松戸市(千葉大学校内)および東京都新宿区(国立感染症研究所敷地内)で捕集したヒトスジシマカである。

2) 蚊の飛翔能力の物理的および生理的評価

様々な温度条件下で飼育したコガタアカイエカ雌成虫を、虫体を固定し強制飛翔させるフライトミル法(大久保, 1973)により飛翔させ、連続飛翔時間および総飛翔距離を算出した。

連続飛翔時間とエネルギー消費との相関関係を解析するために、グリコーゲンと脂肪含量を測定し、脂肪酸組成を調査した。グリコーゲン含量はアンスロン法(Mokrasch, 1954)により、脂肪含量はBligh-Dyer法(Bligh and Dyer, 1959)で測定した。脂肪

酸組成はTLC（薄層クロマトグラム）で展開した後イアトロスキャンおよびGC（ガスクロマトグラム）により解析した。

3) 飛来源および飛来経路の推定

2009年および2010年に佐賀県佐賀市，長崎県壱岐市，五島市，および鹿児島県南さつま市の各定点において，飛来昆虫類を捕獲するためのネットトラップおよびジョンソントラップに捕集されたコガタアカイエカのミトコンドリア遺伝子を解析し，日本以外の地域に生息する個体（アジア型）の混入を確認した。次いで，2012年に富山県と新潟県の定点でCO₂トラップを用いてコガタアカイエカを捕集した。

アジア型個体が確認された日，および富山・新潟両県の捕集数のピークの日時前後の気象解析を，ウンカ類を対象とした飛来予測モデル（JPP ネット情報）および NOAA（アメリカ海洋大気庁）が提供する気象情報を使用して，上空 800～1,000 m の下層ジェット気流の流れを後方流跡線解析および前方流跡線解析（HYSPLIT MODEL：Hybrid Single Particle Lagrangian Integrated Trajectory Model）で解析し，アジア型個体の日本への飛来経路，およびその後飛来するであろう地域と経路を推定した。

4. 研究成果

1) 微量元素分析

微量な試料の測定に最適である無標準法の条件検討を行い，適用可能な状態にした。無標準法が適用可能となったことで，従来の放射化分析では難しかった蚊 1 個体単位の部位別測定が可能となった。また，無標準法では放射化分析の場合よりも定量可能な元素数（13 元素：Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Br, Sr）がほぼ倍増し，特に P および S 等，生物多量元素についての知見を得ることができた（図 1）。

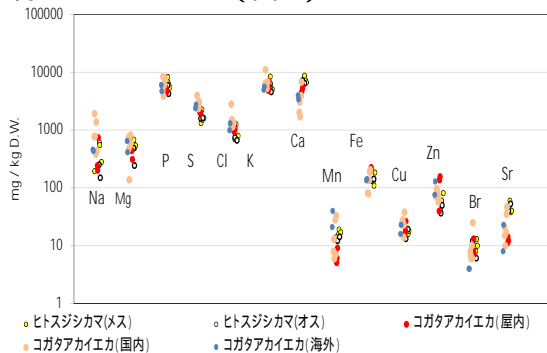


図 1. 蚊試料の「頭部+胸部」における元素含有率

次に，コガタアカイエカ，ヒトスジシマカの合計 17 個体の蚊の部位（「頭部と胸部」，「腹部」，「脚部」，「翅部」など）に分けて PIXE

分析を行い，得られた元素分析結果を用いてクラスター解析を行った。クラスター解析では，「飼育条件が同じであれば元素組成は類似して同一クラスターに属する」という仮説に基づいて感染研の屋内で飼育したコガタアカイエカが同一クラスターに属する条件を検索した結果，そのような条件として蚊の「頭部と胸部」について上述した 13 元素を対象とした場合が該当した（図 2）。このため，蚊の「頭部と胸部」中の 13 元素の含有率に基づくクラスター解析は，コガタアカイエカの発生源を推定する手法の一つとして有用であると考えられた。

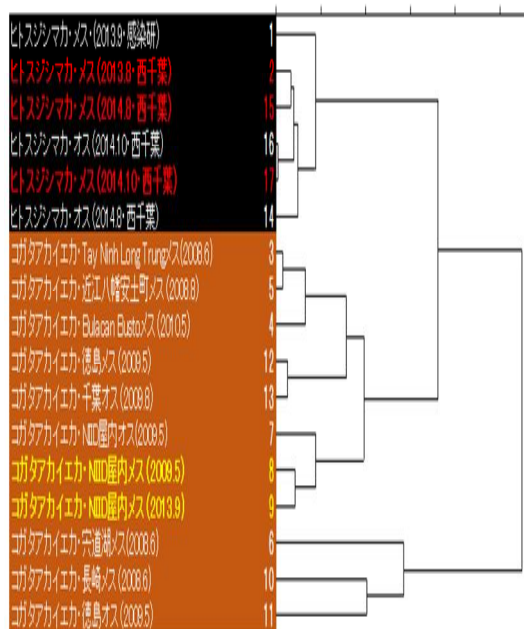


図 2. 蚊の頭部および胸部における 13 元素含有率により作成したデンドログラム（正規化したデータを使用し，平方距離に基づき作成した。1 目盛りは 20 に相当する。）

2) 蚊の飛翔能力の物理的および生理的評価

実験に用いたコガタアカイエカの約半数は自力で連続 20 時間以上飛翔し，最高で 38 時間自力で連続飛翔する雌成虫が見出され，本種の長時間飛翔性が明らかになった（図 3）。また，その飛翔は持続的であり，非常にゆっくりと翅をはばたかせ続けている状態も観察され，力強く短時間で翅を休めるアカイエカとは対照的であった。コガタアカイエカの飛翔パターンはアカイエカとは異なり，長距離飛翔に向いていること，長距離移動性の高い個体は，脂肪酸（特にパルミトオレイン酸）を有効に利用していることも示唆された（結果は省略）。以上の結果は，コガタアカイエカが大陸から渡ってくることは物理的にも可能であることを示唆している。

さらに，25 で飼育した雌成虫を 20 条件下で飛翔させた場合に最も長く飛翔したことから，800～1,000 m の下層ジェット気流で

運ばれる可能性が示唆された。

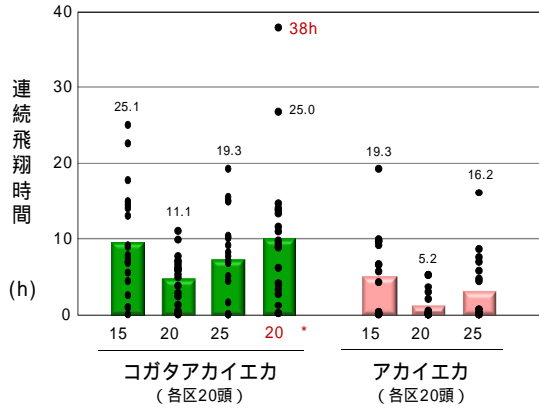


図3. フライトミルによる飛翔時間の比較 (20 *は、25 で飼育した蚊を20 で飛翔させた実験区。それ以外は飼育温度と飛翔中の温度は同じ。各実験区20頭を実験に用いた。)

3) 飛来源および飛来経路の推定

上空 800~1,000 m の下層ジェット気流の流れを NOAA HYSPLIT MODEL により解析した結果、2009年7月11日に佐賀市で捕集されたアジア型コガタアカイエカは、その36~24時間前に中国大陸あるいは東シナ海上で発生した風に乗って運ばれてきた可能性が高いと推察された(図4, A)。同様に、2010年6月30日に中国大陸で発生した風は、36時間後には7月2日には五島市に到着していることも示唆された(図4, B)。

西九州地方(壱岐市・五島市・佐賀市)では、毎年、特に7~8月にはアジア型個体が全体の10%以上を占めていたことは、本結果からも理解できる。

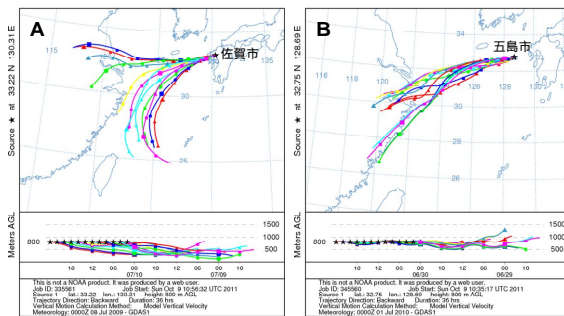


図4. NOAAによる後方流跡線解析による解析 (A: 2009年7月9日の佐賀市に向かう風を推測した。 B: 2010年6月30日の五島市に向かう風を推測した。)

富山・新潟両県におけるコガタアカイエカの国内移動に関しては、年次変動はあるものの、新潟市で捕集数のピークが見られたほぼ前日に富山県でも同様のピークが見られたことから、同じ気流で飛翔してきた可能性が高いと推察された。前方流跡線解析の結果が示すように、狭い範囲の中での移動であることが示唆されたことから、海外からの長距離飛翔ではなく国内で発生した本種蚊が長距

離飛翔したと推測された。

本研究では、微量元素測定(本研究ではPIXE分析)を初めて昆虫に応用し、個別に部位別に測定が可能であることが確認されたことは大きな成果である。また、飛翔エネルギーの解析をフライトミル法と組み合わせ、昆虫の飛翔を物理的・生理学的アプローチから評価し、さらに気象データとの照合を行う試みは他の昆虫類でもこれまで行われてきていない。このようにウンカ類のみならず、蚊などの多くの長距離移動性昆虫の発生源および飛来経路の推定が可能になれば、国内で問題が顕在化する前に発生源の情報を入手することができ、詳細な発生予察が可能になると期待される。また、衛生昆虫学分野においては、日本に侵入してくる日本脳炎等の感染症の情報をいち早く入手し、国内での予防・対策へと繋がるのが期待される。

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3件)

〔学会発表〕(計8件)

〔図書〕(計2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：
出願年月日：
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・部長
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

駒形 修 (KOMAGATA OSAMU)
国立感染症研究所・昆虫医科学部・
主任研究官
研究者番号：20435712

(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

大塚 彰 (OOTSUKA AKIRA)
独立行政法人農業・食品産業技術総合研究
機構・九州・沖縄農業研究センター・
主任研究員
研究者番号：20370497