

## 1 1. 昆虫医科学部

部長 澤邊 京子

### 概要

昆虫医科学部は、人に害を与える節足動物を対象とする基礎的調査研究に加え、実際の防除対策に寄与する情報の提供、講義、研修等による社会への貢献に努めている。

平成 30 年度は、2020 東京オリンピック・パラリンピックを控え、節足動物媒介感染症対策の強化が望まれる一方で、国民の関心が低下しつつあることを憂慮した。昆虫医科学部は、これら感染症の国内流行阻止を目標に、アジア諸国との連携を深め、媒介節足動物に関する情報を収集、病原体解析法ならびに殺虫剤による効果的な防除法を検討し、その情報発信に努めた。レファレンス業務として 7 件の衛生害虫類の同定依頼に応じた。研究及び業務の概要は以下の通りである。

国内での分布北限を監視しているヒトスジシマカは、平成 28 年に青森市での定着が確認された。その後ヒトスジシマカ定着の要因である年平均気温 11℃以上である北海道道南地域(小樽、札幌、函館)で調査を行ったが、本種の生息は確認できなかった。北陸 3 県の渡り鳥飛来地において媒介動物(蚊、マダニ)およびウイルスの越境の可能性を検討した。日本脳炎媒介蚊コガタアカイエカにおいては、遺伝子型で鑑別可能な日本型と大陸型の形態を比較したが、両型間に形態的差異はほとんど認められなかったことから、種の独立性の検討に必要な交雑実験のために室内維持系統の確立を試みた。また、SFTS 発生地におけるマダニ相および周辺環境データを用いて、景観スケールによるマダニ生息環境を解析し、さらに野生動物の分布情報を加え、マダニ分布マップを試作した。不快害虫であるフンコバエ類を含む無弁翅ハエ類の分類学的、生態学的情報の蓄積に務めた。

日本脳炎ウイルス(JEV)保有調査を継続している長崎県の定点調査地において、捕集されたコガタアカイエカの 3 プールから 1 型 JEV が分離され、それらは 2017 年に中国で分離された株と近縁であることが明らかになった。本邦産タカサゴキララマダニから分離した新規トゴウイルス属ウイルス(Oz virus と命名)の性状解析および分子系統解析を行い、米国でヒト死亡例を報告した Bourbon virus に近縁であることが示唆された。次世代シーケンサーによる病原体の網羅的解析

法を構築し、国内外の蚊、マダニ、サシチョウバエ等の衛生害虫類から新規を含む多様なウイルスを検出した。また、国内外のヒトスジシマカおよびガーナ産ネッタイシマカのデングウイルス感受性を評価し、サシチョウバエについても同様のウイルス感受性評価のための室内維持系統の確立を試みた。

バングラデシュにおいてサシチョウバエの防除は困難であるが、その理由として、ナトリウムチャンネル(Vssc)遺伝子中にピレスロイド剤抵抗性に関わるアミノ酸変異が複数存在することが考えられた。新たに設計したキャプチャープローブでニホンサシチョウバエの Vssc 全エクソン配列を得ることができ、国内サシチョウバエの殺虫剤抵抗性研究の基盤を作った。蚊においては、抵抗性レベルが非常に高いネッタイシマカが世界中に散在し、アジアのヒトスジシマカにも抵抗性の発達が危惧される現状を把握した。この Vssc 遺伝子型から、近年、中部国際空港で発見されたネッタイシマカは、ベトナムおよびその周辺から移入したと推察された。CRISPR/Cas9 によるゲノムノックアウトから、ネッタイシマカのピレスロイド剤抵抗性に関わるシトクロム P450 を特定し、本技術がイエバエにも応用できることを確認した。ネッタイトコジラミの多くはアセチルコリンエステラーゼ遺伝子に有機リン剤抵抗性をもたらす一因である点突然変異 F348Y を有するため、駆除に際して感受性であるトコジラミとの鑑別が重要であることを提言した。昨年に続き、野外での効果的な殺虫剤の散布法を検討し、殺虫剤の最適濃度、各散布法の長所・短所を明らかにした。

人事面では、当該部の定員 7 名に加え、再任用職員として津田良夫、富田隆史、林 利彦、薬剤耐性研究(AMR)センター第六室(併任)非常勤職員として糸川健太郎(11 月 1 日より病原体ゲノム解析研究センター主任研究官として採用)、AMED リサーチレジデントとして小林大介、研究生として Michael Amoa-bosompem(東京医科歯科大院)、Astri Nur Faizah(東京大院)、実習生として駒田茜里(明治大)、黒木章弘(東京大)、臨時職員として古城一美、高岡安希、廣中和江、ほか客員研究員および協力研究員の協力により業務・研究を遂行した。

## 業績

## 調査・研究

## I. 衛生昆虫の分布に関する調査・研究、および媒介生態に関する研究

## 1. 米子の渡り鳥飛来地における媒介蚊調査

2018年8月に米子水鳥公園および安来市飯梨川周辺の休耕田でドライイストラップによって蚊の採集を行った。米子水鳥公園ではイナトミシオカが採集された。安来市の休耕田では、コガタアカイエカ、アカイエカ群、カラツイエカ、イナトミシオカ、ヒトスジシマカが採集された。また、安来市の休耕田で採集された幼虫からは、コガタアカイエカとアカツノフサカが羽化した。安来市でのイナトミシオカの採集は島根県における本種の初記録であり、本種は地中海の沿岸部に広く分布している可能性がある。採集されたコガタアカイエカは、継代飼育を行って実験系統の確立を試みた。[津田良夫; 金京純(鳥取大)]

## 2. 八王子滝山里山保全地域における疾病媒介蚊調査

里山の蚊相および鳥マラリアの流行状況を調べることを目的として、八王子滝山里山保全地域で2018年5月-9月にCO<sub>2</sub>トラップおよびスウィーピングによる定期調査を実施した。CO<sub>2</sub>トラップは月に1または2回、朝一昼に10基設置し、約24時間後に回収した。捕集時に生存していた雌蚊成虫は解剖して中腸を観察し、原虫オーシストの有無を調べた。解剖個体および捕集時に死亡していた個体はすべて頭胸部と腹部に分け1-複数個体をプールしてPCRによる鳥マラリア原虫遺伝子の検出を行った。アカイエカ群とヒトスジシマカを優占種とする5属10種1,035個体の成虫が捕集された。鳥マラリア原虫遺伝子が確認されたサンプルはすべてアカイエカ群で(最小感染率:1.3%、9/670)、6月から9月を通して陽性個体が認められた。このうち6検体では頭胸部と腹部の両サンプルから原虫DNAが検出され、2検体では中腸にオーシストが観察された。検出された鳥マラリア原虫は4 genetic lineages に分類され、いずれも国内の他地域で報告がある系統であった。[津田良夫; 佐々木晴子、加藤卓也(日本獣医生命科学大)]

## 3. 雨水枡の殺虫剤処理がヒトスジシマカ成虫のトラップ捕集数に与える影響

感染研構内のヒトスジシマカの発生源である雨水枡を幼虫発育阻害剤で処理して成虫の発生を抑制し、トラップ捕集数

がどの程度減少するかを調べた。2018年6月から9月初めまで、2週間間隔で幼虫調査を行い、ヒトスジシマカが発生している雨水マスにはIGR処理を行った。IGR処理を行った雨水マスでは溜まっていた水とともに発生していた蛹・幼虫を2週間後に採集し、羽化阻害率を調べた。ドライイストラップによる成虫調査は、毎週1回実施した。IGR処理2週間後の羽化阻害率は、91.7、83.3、100%とかなり高い効果が得られた。トラップ調査の結果、2018年のヒトスジシマカの発生消長は2017年と非常によく似た傾向を示したが、年間の総捕集数は2,602個体とこれまでの最多捕集数であった。これらの結果から、感染研構内のトラップで捕集されているヒトスジシマカはほとんどが構内ではなく別の場所で発生していると考えられた。[津田良夫]

## 4. 与那国島の蚊相調査

2017年11月に行った調査で未記録種1個体を採集したことから、さらにサンプルを集める目的で2018年10月13日から15日まで全島を対象とした蚊相調査を行った。成虫は、CDC型ライトトラップ7台とドライイストラップ3台、捕虫網を用いた8分間人囀法を用いて採集した。ライトトラップは夕方16時から翌朝8時まで、ドライイストラップは午前10時から翌朝8時まで設置した。幼虫は、様々な発生源で柄杓やピペットなどを用いて行った。その結果、成虫採集では6属12種88個体、幼虫採集では5属9種243個体を採取した。住宅地と港で行った人囀採集では、代々木公園周辺で発生したデング熱流行時のヒトスジシマカの平均密度7.13雌/人/8分より高かった。これまで、与那国島からは11属31種が報告されており、今回採集された蚊種は普通種で、昨年採集した未記録種は含まれていなかった。調査で得られたサンプルのうち、数個体を乾燥ピン標本にし、DNAバーコード用の試料とした。[前川芳秀]

## 5. ヒトスジシマカの国内分布と密度に関する研究

2018年8月28日-31日、北海道函館市と小樽市、札幌市内の緑地や墓地、公園など14カ所で、捕虫網を用いた8分間人囀法ならびに幼虫発生源の探索を行った。成虫採集では3属7種158個体を捕集し、ヤマトヤブカが最も多かった。幼虫採集では2属3種143個体が得られ、羽化成虫を種同定した結果、ヤマトヤブカ、次いでアカイエカ群が多かった。小樽市と函館市で、ヒトスジシマカの近縁種であるヤマダシマカが少ないながらも成虫・幼虫共に採集できたが、ヒトスジシマカは採集されず生息を確認で

きなかった。一方で、ヤマトヤブカおよびアカイエカ群はウエストナイルウイルスの潜在的媒介蚊と考えられており、ヤマダシマカはデングウイルス感受性である。今後もヒトスジシマカの分布北限の監視を続け、これら病原体媒介蚊の生息分布および密度データを蓄積する必要がある。[前川芳秀、比嘉由紀子、澤邊京子;山内繁(小樽検疫所)]

#### 6. 能登半島における感染症媒介蚊の発生状況、2013年～2018年

能登半島は、渡り鳥や渡り蝶(アサギマダラ)の飛来地・通過地として知られている。長距離移動が考えられるコガタアカイエカも飛来している可能性があると思われることから、能登半島における蚊の発生状況を把握する目的で調査を行った。2013年および2014年は日本海に面した輪島市下山町の斜面水田地域、2015年および2016年は珠洲市笹波町の海岸近くの水田、内陸部の珠洲市石神町の隔離された水田、富山湾側の珠洲市三崎町の水田地域にCO<sub>2</sub>トラップを設置した。2017年および2018年は引き続き珠洲市三崎町の水田地域、珠洲市唐笠町の牛舎脇、能都町の丘陵部肥育牛舎の脇、輪島市門前町の水田地域にトラップを設置し、毎年5月から10月まで、原則月に1回調査を行った。これまでの調査で17種の蚊が確認され、コガタアカイエカが最も多く捕集された(42.38個体/トラップ1台/日)であった。次いでアカイエカ4.34個体、シロカタヤブカ0.62個体であり、これら3種は全7調査地で捕集された。コガタアカイエカは比較的海岸に近い広い水田地域で多く捕集され、斜面水田や牛舎周辺では少ない傾向があった。[渡辺護、澤邊京子;渡辺はるな(富山市)]

#### 7. 日本型および大陸型コガタアカイエカの形態の違い

日本脳炎媒介蚊であるコガタアカイエカには種レベルで異なる日本鹿児島県本土以北特有の遺伝子型をもつ日本型とそれ以外の国と琉球列島に分布する大陸型の2集団が国内に分布することが明らかになっている。異なる遺伝型で外部形態レベルの差があるかを調べる目的で、両集団の幼虫、蛹、成虫の形態比較を行った。予備観察で調べた56形質のうち、2型で最も異なる可能性が大きい幼虫呼吸管比(長さ/幅)、蛹呼吸角比(長さ/幅)の2形質について、長崎産・佐賀産・島根産・愛知産・埼玉産(日本型)およびベトナム産・タイ産(大陸型)の標本を調べた。幼虫呼吸管比、蛹呼吸角比ともに日本型と大陸型の差よりも地域差が大きかった。両型間に明らかな外部形態の違いはほとんどないと考えられた。[比嘉由紀子、澤邊京子]

#### 8. 日本型コガタアカイエカの実験室系統確立の試み

島根県安来市で2018年8月に採集されたコガタアカイエカ雌58個体を用いて実験室系統の確立を試みた。野外採集雌は日本脳炎ウイルスに感染している可能性が否定できないため、人工吸血装置を用いて吸血をさせた後、卵を得た。人工吸血に用いたメンブレンの日本脳炎ウイルスの有無についてPCRを行い、未感染であることを確認した。また、ミトコンドリアDNAバーコーディング領域の配列により、日本型であることを確認した。本種は広所交尾性であるためF<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>世代は50×50×100cmの巨大ケージで飼育を行い、世代を経るに伴い、ケージサイズを小型化した。F<sub>10</sub>現在は、40×30×40cmケージでの飼育が可能となっている。卵塊の孵化率はF<sub>2</sub>の6.9%から次第に上昇し、F<sub>10</sub>では100%となった。今後は大陸型コガタアカイエカの飼育系統の確立を試み、日本型および大陸型の交雑実験によって前者の種の独立性を検討する予定である。[比嘉由紀子、津田良夫]

#### 9. 長崎県における蚊の鳥マラリア原虫保有状況調査

2018年4月～10月に長崎市内でCDC型ライトトラップを用いて蚊の採集を行った。採集蚊は種同定後、アカイエカ群については解剖を行った。解剖前に死亡した個体は分子生物学的に鳥マラリア原虫の有無を調べた。全期間で4属9種911個体の成虫が採集され、そのうち78%がヒトスジシマカであり、続いてオオクロヤブカ(5%)、アカイエカ群(5%)であった。全911個体のうち、844個体が雌であり、そのうち284個体(33.6%)を生きた状態で回収し解剖したところ、マラリア原虫のオーシストは認められなかった。現在、解剖できなかった560個体について、Nested PCRによる鳥マラリア原虫由来DNAの検出を行なっている。全251プール中、185プールについてPCRを行なったが、鳥マラリア原虫は検出されていない。今後、さらに実験を続ける予定である。[比嘉由紀子、津田良夫;金京純(鳥取大);二見恭子(長崎大熱研)]

#### 10. 渡り鳥飛来地における蚊・マダニ相の調査

渡り鳥による病原体を媒介する節足動物やウイルスの越境の可能性を検証する目的で、2018年4月～11月に石川県および富山県の渡り鳥飛来地6か所でフランネル法により植生マダニを採取し、5月～11月に石川県加賀市の片野鴨池周辺でCO<sub>2</sub>トラップにより蚊の採集を月1回行った。植生マダニは3属8種が採集され、優占種はキチマダニであり、フタゲチマダニが続いた。いずれも鳥類寄生の報告が多い種である。得られたサンプルを用いて、吸血源動物の特定および

ウイルス分離実験を行う予定である。一方、蚊は4属11種が採集され、数が最も多かったのはコガタアカイエカであり、次いでハマダライエカ、カラツイエカであった。いずれも水田から発生する種であった。これまでにこの3種からは日本脳炎ウイルスが分離されており、近年、中国および韓国において日本脳炎ウイルスV型が分離されていることから今後注視すべきである。[比嘉由紀子、渡辺護、林利彦、澤邊京子]

#### 11. 景観スケールにおけるマダニ生息環境の評価

マダニ出現リスクマップを作成するために、野外調査によって得られたマダニ相と周辺の環境要因に関して解析を行った。環境要因としては、年平均気温、夏季降水量、冬季降水量、海からの距離、積雪日数、TWI、さらに土地利用要因を使用した。これらを Detrended Correspondence Analysis を用いて分析した結果、調査地点別にみると気温の影響が一番大きく、次いで森林・草地率、農地率の順に影響度が高かった。マダニ属毎の結果では夏季の降水量の影響が一番大きく、次いで景観要素の多様性と TWI の影響が大きかった。これらの結果はマダニ生息密度のリスクマップの作成に有用である。[駒形修、澤邊京子; 中尾勝洋(森林総合研究所)]

#### 12. SFTS 症例報告数の地理分布

届出数による SFTS 症例報告数の地理的分布について検討した。SFTS 届出数における空間自己相関を検討した結果、届出数に正の空間自己相関があったことから、分布を規定する要因の存在を示唆した。そこで、自己回帰モデルにより、2018年の都道府県別症例報告数を、シカ個体数、森林面積、人工林面積、農地、平均気温、年降水量から説明できないか解析を行った結果、有効なモデルが構築され、このモデルでは森林面積とシカ個体数(県別推定値)の寄与度が高かった。今後、SFTS のリスクマップを作成する上で有用だと思われる。[駒形修、澤邊京子; 中尾勝洋(森林総合研究所)]

#### 13. 無弁翅ハエ類の分類学のおよび分布に関する研究

日本産コガタフンコバエ属(Genus *Minilimosina*)について以前調べた際に3種を認めたが、今回更に北海道と沖縄県から1種ずつ未記載種を発見した。本結果から、コガタフンコバエ属は日本に5種生息することが示唆された。[林利彦]

## II. 衛生昆虫類の病原体の分離と検出、および媒介生理に関する基礎的研究

### 1. 2018年に国内で採集されたコガタアカイエカの日本脳炎

#### ウイルス保有状況調査

国内における日本脳炎媒介蚊の日本脳炎ウイルス(JEV)保有状況を調査するため、2018年の夏季に長崎県内の畜舎で採集されたコガタアカイエカ *Culex tritaeniorhynchus* (1,686頭、68プール検体)からのウイルス分離を試みた。その結果、3プール検体からJEVが分離され、遺伝子解析の結果、3株ともに遺伝子型I型と同定された。さらに分子系統解析の結果、3分離株は2017年に中国で分離されたウイルス株と近縁であることが明らかとなった。[小林大介、Astri Nur Faizah、Michael Amoa-bosompem、伊澤晴彦、佐々木年則、津田良夫、比嘉由紀子、澤邊京子; 二見恭子、森本康愛、皆川昇(長崎大熱研); 松本文昭、三浦佳奈、山下綾香、吉川亮(長崎県環境保健研究センター)]

### 2. 本邦マダニ類のマダニ媒介ウイルス保有状況調査と分離ウイルスの性状解析

国内に生息するマダニ類の分布とマダニ媒介ウイルスの保有状況を明らかにし、ヒトへの感染リスクを把握することを目的として、主に愛媛県、石川県および富山県でマダニ類を採集し、ウイルス分離を試みた。これまでのところ、接種した脊椎動物細胞に対し、細胞変性効果を示すマダニ検体が多数見出され、これら分離ウイルスについて詳細な性状解析を進めている。[小林大介、Astri Nur Faizah、Michael Amoa-bosompem、渡辺護、前川芳秀、比嘉由紀子、林利彦、澤邊京子、伊澤晴彦; 鯨田龍星、下田宙、前田健(山口大); 木村俊也(八幡浜保健所); 菅美樹、服部昌志、四宮博人(愛媛県立衛生環境研究所); 山内健生(兵庫県大)]

### 3. 愛媛県で採集されたマダニから分離した新規トゴウイルスの性状解析

2013年7月に採集されたタカサゴキララマダニ検体の1プールから、オルソミクソウイルス科トゴウイルス属に属すると考えられる新規ウイルスの分離に成功し、Oz virus (OZV)と命名した。ウイルス感染細胞の電子顕微鏡観察では、エンベロープを有する多形性のウイルス粒子産生が認められた。本ウイルスの全ゲノム配列を決定し、ゲノムにコードされる6種類のウイルス蛋白質(PB2、PB1、PA、GP、NP、M)の配列を基に分子系統解析を行った結果、OZVは代表的なマダニ媒介性トゴウイルスの一種である Dhori virus が含まれるグループに属し、なかでも近年米国で発見された新興ウイルスでヒトの死亡例も報告されている Bourbon virus に近縁な新規トゴウイルスであることが判明した。OZVはいくつかの哺乳動

物細胞で効率よく増殖し、乳のみマウスの脳内接種において強い病原性を示した。以上の結果から、これまで知られていないゴトウイルスが日本国内に分布していることが明らかとなり、今後さらに詳細な分布実態の解明と疫学的調査、ならびに病原性解析が必要であると考えられた。[伊澤晴彦、江尻寛子、藤田龍介、室田勝功、小林大介、澤邊京子；林昌宏、西條政幸(ウイルス第一部)、楯田龍星、下田宙、前田健(山口大)；木村俊也(八幡浜保健所)；菅美樹、四宮博人(愛媛県立衛生環境研究所)]

#### 4. 次世代シーケンサーを用いたマダニ保有ウイルスの解析法の検討

本研究では、次世代シーケンサー(NGS) Miniseq を用いて、マダニ保有ウイルスのサーベイランスに対する有効性を検討した。2017年から2018年にかけて石川県および富山県で採集された721頭のマダニを121検体に集約し、マダニ破砕液からRNA抽出を行い、NGSのライブラリーを合成後、Miniseqによる解析を行った。また、前述の破砕液をBHK-21細胞へ接種してウイルス分離を試み、盲継代後の培養上清を用いて同様の手順によりNGS解析を行った。de novo アセンブリにより得られたcontigをblast検索することによりウイルス配列を同定した結果、マダニ破砕液由来のサンプルからはKabuto mountain virus (KAMV)やOkutama tick virus、その他、新規のイフラウイルスなど様々なウイルスの部分配列が検出された。また、ウイルス分離培養上清からは、Tarumizu tick virus (TarTV)やKAMVの配列が得られた。TarTVは、マダニ破砕液から得られた配列データのみからではウイルス種の同定には至らず、ウイルス分離培養上清を用いることで、ウイルス種を特定することが可能であった。以上の結果から、Miniseqのような低出力NGSの場合は、マダニ破砕液からのウイルス検出とウイルス分離を並行して行うことが、マダニ媒介ウイルスのサーベイランスとして有効であると思われた。[小林大介、室田勝功、糸川健太郎、Astri Nur Faizah、Michael Amoa-bosompem、渡辺護、前川芳秀、比嘉由紀子、林利彦、澤邊京子、伊澤晴彦]

#### 5. コガタアカイエカのRNAウイルス叢解析

日本脳炎ウイルス(JEV)の媒介蚊として重要なコガタアカイエカが保有するRNAウイルス叢を解析するため、2017年に国内の3地点(長崎県、石川県、鳥取県)で捕集されたコガタアカイエカを用いて、次世代シーケンサーによるRNAウイルス叢解析を行った。その結果、石川県のサンプルからは

JEVが検出され、その他3地点のサンプルで共通して、新規ウイルスを含む多様なウイルスが検出された。今後はこれらウイルスについて、詳細な遺伝子解析などを進める予定である。[Astri Nur Faizah、小林大介、Michael Amoa-bosompem、伊澤晴彦、渡辺護、澤邊京子；金京純(鳥取大)；三浦こずえ、平山和宏(東京大)]

#### 6. ベトナムにおけるデングウイルス媒介蚊の捕集とウイルス分離

東南アジアにおけるデング熱媒介蚊の遺伝情報、およびその保有ウイルスに関する情報を収集するために、長崎大学が拠点とするベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)の協力のもと、ベトナム国内のデング熱の流行地において蚊の捕集を行った。捕集蚊のウイルス分離を行ったところ、昆虫フラビウイルスであるAedes flavivirusやCell fusing agent virusに加え、未知のレオウイルス様ウイルスが分離された。この新規レオウイルスは3か所の調査地すべてで分離されており、ベトナム国内に広く分布していると考えられた。また、イエカ属やヌマカ属蚊についてもウイルス分離を行ったところ、新規ウイルスがさらに4株分離され、日本国内とは異なるウイルス叢が形成されていることが示唆された。[室田勝功、小林大介、糸川健太郎、前川芳秀、葛西真治、伊澤晴彦、澤邊京子；角田隆、皆川昇(長崎大熱研)；Tran Chi Cuong、Tran Vu Phong、Nguyen Thi Yen、Vu Sinh Nam(ベトナム国立衛生疫学研究所)]

#### 7. 本邦産ヒトスジシマカのデングウイルス感受性

日本は、2019年にラグビーワールドカップ、2020年にはオリンピック、パラリンピックを控える中で、海外のデングウイルス(DENV)感染者が入国後蚊に刺され、日本国内でデング熱の感染拡大が起きることが危惧される。国内に生息するヒトスジシマカ(Aedes albopictus)のDENV感受性を把握することは、デング熱の感染を予測し、感染拡大を阻止するために重要な情報となる。そこで、国内各地のAe. albopictusのDENV感受性を比較した。少なくとも我々が調査した国内の3か所に生息するAe. albopictusにDENV感受性が確認され、国内においてもデング熱感染拡大を防ぐ対策が必要であることが示唆された。[佐々木年則、斎藤一三、小林大介、伊澤晴彦、澤邊京子；小滝徹、田島茂、林昌宏(ウイルス第一部)；モイ・メンリン(長崎大熱研)；高崎智彦(神奈川県衛生研究所)]

8. ガーナ産およびベトナム産ネッタイシマカにおけるデングウイルス感受性の比較解析

デングウイルス感染に起因するデング熱は、熱帯地域を中心として公衆衛生上大きな問題となっている。特に東南アジアでは、毎年のように大規模な流行が発生している。その一方で、アフリカにおいては、ウイルスのベクターであるネッタイシマカが分布しているものの、東南アジアのようなデング熱の大きな流行はほとんど確認されていない。本研究では、上述のデングウイルス流行の規模を規定する要因として、媒介蚊のウイルス感受性に着目し、両地域で採集したネッタイシマカを用いたウイルス感染実験を行った。その結果、ベトナム産ネッタイシマカは、デングウイルス I 型に対してガーナ産よりも有意に高い感受性を示した。現在、その他のデングウイルスの血清型に対する感染実験を実施しており、詳細なウイルス感受性の比較解析を行う予定である。[Michael Amoabosompem, 小林大介, 糸川健太郎, Astri Nur Faizah, 澤邊京子, 伊澤晴彦; 太田伸生, 岩永史朗(東京医科歯科大)]

9. データベース化を目指したネッタイシマカにおけるデングウイルス感受性関連遺伝子の解析

データベース化を念頭に、ネッタイシマカにおけるデングウイルス感受性に関わる遺伝子解析を行った。ネッタイシマカにおいて、ウイルス感受性と相関のある遺伝子変異は Ago2 や RNAi 経路の Ago2 以外の抗ウイルス因子についても認められた。さらにアミノ酸置換が見つかったが、そのアミノ酸置換がウイルス感受性に重要であるか確認する予定である。[佐々木年則, 武部淳子, 高岡安希, 伊澤晴彦, 澤邊京子; 高崎智彦(神奈川県衛生研究所); Arlene G. Bertuso (フィリピン大マニラ校); 皆川昇(長崎大熱研)]

10. 蚊細胞に持続感染したウイルスによるフラビウイルス増殖抑制効果

ヒトスジシマカ由来 C6/36 細胞の次世代シーケンス解析の過程で、一部の細胞株 (JCRB 株) には無病徴で持続感染しているウイルスが存在していることを見出した。詳細な解析の結果、2 種の持続感染ウイルスを同定し、ひとつはラブドウイルス科に属する Menghai rhabdovirus であり、もうひとつはパームトテトラウイルス科に類縁の新規ウイルスである Shinobi tetravirus であった。これらの持続感染を有する JCRB 株と、持続感染ウイルスを有さない ECACC 株におけるアルボウイルス増殖能を検討したところ、JCRB 株ではフラビウイルスの増殖が著しく抑えられることを見出した。一方で、

アルファウイルスには影響を与えなかった。さらに、持続感染ウイルス 2 種を分離し、ECACC 株へ感染させたところ持続感染が再び成立し、これらの細胞ではジカウイルスの増殖が抑制されることが示された。本研究は、ラブドウイルス科あるいはパームトテトラウイルス科ウイルスの持続感染により蚊細胞におけるフラビウイルス増殖抑制を報告した最初の例である。[藤田龍介, 小林大介, 室田勝功, 伊澤晴彦, 澤邊京子; 加藤文博, 高崎智彦, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸(ウイルス第一部)]

11. サンショウバエ保有ウイルスの網羅的探索と室内維持システムの作成

2018 年に新潟県佐渡市でニホンサンショウバエ *Sergentomyia squamirostris* を採集し、ウイルスの網羅的探索およびウイルス感染実験のための維持システムの作製を試みた。ライトトラップおよび吸血管で採集されたサンショウバエ雌成虫 125 頭をウイルス分離と次世代シーケンサー (NGS) による網羅的解析に供した結果、フレボウイルス様の配列が検出され、得られた分離株の分子系統解析から、新規性の高い新種のフレボウイルスであることが判明した。一方で、一部の吸血雌を個別に管ビンに入れて毎日産卵を確認した。得られた卵は飼育容器に移し羽化まで室内で維持し、終齢幼虫を得ることができた。羽化成虫は確認できなかったが、卵期間 (約 7 日)、孵化率 (44.6%)、1-2 齢期間 (平均 10.6 日)、2 齢から 3 齢への脱皮成功率 (41.3%)、4 齢 (終齢) 幼虫の生存日数 (5 か月以上) 等の生物学的特徴を把握した。今後は、蛹化を促す検討を重点的に行う予定である。[小林大介, 伊澤晴彦, 澤邊京子; 皆川恵子(日本環境衛生センター); 三條場千寿(東京大)]

III. 衛生害虫の殺虫剤抵抗性のモニタリング、遺伝学的・分子生物学的解析

1. イエバエのナトリウムチャンネル変異のピレスロイド剤感受性に及ぼす影響の電気生理学的解析

ナトリウムチャンネルの M918T は L1014F との共変異によって非常に強いピレスロイド剤抵抗性をもたらすことが知られている。M918T は選択的スプライシングによりもう一種類のエクソンが発現するが、夢の島系イエバエ系統では、このもう一方のエクソンにも異なる変異が生じている (M918V)。2 種のナトリウムチャンネル遺伝子全長をアフリカツメガエルの卵で発現させ、電気生理学的に解析したところ、M918V+L1014F は M918T+L1014F と同程度以上にフェンプロパトリン感受性低

下に関与しており、この選択的スプライシングサイトに生じた 2 重変異が夢の島系統のフェンプロパトリン特異的抵抗性をもたらしめている可能性が示唆された。[葛西真治、駒形修、糸川健太郎、富田隆史; Jeffrey G. Scott (コーネル大)]

## 2. CRISPR/Cas9 によるイエバエゲノムノックアウト

昨年度は CRISPR/Cas9 の技術をイエバエに応用するため、複眼の色をつかさどる *white* 遺伝子部分配列を 3 つのイエバエ系統より明らかにし、ターゲットにしたガイド RNA をデザインした。今年度はこのガイド RNA を Cas9 タンパクとともに卵にインジェクションし、*white* 遺伝子のノックアウトを試みた。その結果、6 塩基欠失、1 塩基挿入、3 塩基欠失の 3 つのノックアウト集団を作出することに成功した。野生型との掛け合わせを行った後に自己交配を行ったところ、白色の複眼を有する個体が得られた。これにより、CRISPR/Cas9 によるゲノムのノックアウトがイエバエにおいても適用可能であることが明らかになった。[糸川健太郎、駒形修、富田隆史、葛西真治]

## 3. ブラジル産ネッタシマカから見つかった新たな *kdr* 遺伝子

2016 年にブラジル・リオデジャネイロ市内で採集されたネッタシマカについて、ペルメトリン殺虫試験の後、ナトリウムチャンネル (Vssc) の遺伝子型解析を行ったところ、V410L+V1016I+F1534C の 3 重変異を有する個体よりも F1534C のみを有する個体の方が、生存率が高いことが明らかになった。F1534C 単独変異の個体は、解析対象領域以外に、抵抗性に関与する未知のアミノ酸変異を有することが予想されたため、ターゲットキャプチャー法を用いて Vssc の全長を解析した。その結果、F15634C 以外に 2 つのアミノ酸変異を Vssc 中に有していることが明らかになった。うち一つの変異は、ピレスロイド剤との相互作用が強く疑われる領域に位置していたことから、このアミノ酸変異の抵抗性への関与が強く示唆された。[葛西真治、糸川健太郎、駒形修、富田隆史、前川芳秀、澤邊京子; 林昌宏 (ウイルス第一部)]

## 4. *CYP6BB2* のピレスロイド剤抵抗性関与の検証

これまでの研究により、ネッタシマカのシトクロム P450、*CYP6BB2* はピレスロイド剤抵抗性系統で mRNA が過剰発現し、かつペルメトリンを代謝することが明らかになっている。また、CRISPR/Cas9 で作出した *CYP6BB2* ノックアウト集団はペルメトリン排泄速度が低下していることも明らかになっている。そこで、*CYP6BB2* ノックアウト系統を用いて、ペルメトリン抵抗

性への関与を評価することにした。ノックアウト:非ノックアウト *CYP6BB2* がおよそ 1:1 で混在する集団 (第 6 世代) に対し LD<sub>50</sub> 付近のペルメトリンを処理し、生存/死亡個体について遺伝子ジェノタイプングを行った。20 個体/繰り返しを 7 回行った結果、すべての繰り返しについて、ノックアウト遺伝子の頻度が死亡個体で高かった。これにより、*CYP6BB2* がピレスロイド剤抵抗性に関与していることが直接的に証明された。[葛西真治、糸川健太郎、高岡安希、駒形修、富田隆史]

## 5. バングラデシュ産サンショウバエのピレスロイド剤抵抗性遺伝子頻度に関する研究

バングラデシュのリーシュマニア浸淫地で採集されたサンショウバエについて、ピレスロイド剤感受性を調査するとともに、ナトリウムチャンネル (Vssc) 遺伝子を解析し、抵抗性に関わる変異の頻度を算出した。その結果、*Phlebotomus argentipes* および *Sergentomyia babu babu* のいずれの種においても L1014F もしくは L1014S の頻度が非常に高く、現地のサンショウバエがピレスロイド系殺虫剤により強く選抜されていること、また、ピレスロイド剤による防除が困難になっている実情が明らかになった。[黒木章弘、三條場千寿 (東京大); 糸川健太郎、駒形修、富田隆史、葛西真治]

## 6. サンショウバエゲノム DNA からのナトリウムチャンネル全長迅速解析法の確立

サンショウバエの殺虫剤抵抗性機構解明を目的として、ピレスロイド剤作用点ナトリウムチャンネル (Vssc) のエクソン全長をターゲットとするキャプチャープローブをデザインした。ゲノムプロジェクトで Vssc 全長が明らかにされている *Phlebotomus papatasi* をモデルに設計した。ニホンサンショウバエ *Phlebotomus squamirostris* より抽出したゲノム DNA を断片化したのち、キャプチャープローブで濃縮し、次世代シーケンサー MiniSeq で解析を行った結果、別種であるサンショウバエについても全エクソン配列を網羅する配列が得られることが判明した。[糸川健太郎、葛西真治、駒形修、富田隆史; 黒木章弘、三條場千寿 (東京大)]

## 7. 異なる防疫用殺虫剤剤型の野外ヒトスジマカに対する効力試験

防疫用殺虫剤にはさまざまな剤型があり、それぞれについて散布法が異なる。2020 年の東京オリンピック・パラリンピックを見据え、2014 年同様に再び国内でデング熱など蚊媒介感染症が発生した場合を想定し、各散布法の効力試験を行っ

た。さいたま市霊園および行田市内の総合運動公園において、2 種油剤の煙霧と水性乳剤の ULV (濃厚少量噴霧) による散布を行い、散布前後の蚊の密度を測定することで効果判定を行った。その結果、いずれの散布法においてもヒスジシマカを効率よく駆除できることが明らかになった。また、蚊の効率的な防除に必要な殺虫剤の最適濃度や、各散布法の利点、欠点などが明らかにされた。[皆川恵子、橋本知幸、堀口智博、数間亨(日本環境衛生センター)、葛西真治、比嘉由紀子、前川芳秀、糸川健太郎、駒形修、富田隆史、澤邊京子、Michael Amoa-Bosompem]

#### 8. 成田空港で捕獲されたネッタイシマカの殺虫剤感受性試験と抵抗性遺伝子解析

成田空港で2013年、2014年、2015年に採集されたネッタイシマカ集団についてペルメトリンによる殺虫試験を行った。いずれの集団も強い抵抗性を示し、特に2013年と2015年に採集された集団はヒスジシマカの感受性系統(HKM)のLD<sub>99</sub>×10の薬用に対しても死亡率は50%未満であった。各集団8個体について個体別に作用点ナトリウムチャネルの全長解析を行ったところ、2013年と2015年の集団はS989P+V1016Gを100%の頻度で有していた。2014年の集団はG61V+S989P+V1016GのハプロタイプとT1520I+F1534Cのハプロタイプをほぼ1:1の割合で有していた。国際空港を通じて強い抵抗性集団が国内に侵入している実態が初めて明らかになった。[葛西真治、高岡安希、糸川健太郎、駒形修、津田良夫、富田隆史]

#### 9. 中部国際空港で発見されたネッタイシマカの移入元推定

近年、国際空港での侵入例が相次ぎ発生しているが、中部国際空港では、2016年8月および翌2017年5月の2年連続してネッタイシマカが発見されたことから、建物内で越冬・繁殖した可能性が示唆された。そこで、ミトコンドリアDNAバーコーディング領域による系統解析、マイクロサテライトによる集団遺伝解析、ナトリウムチャネルの変異解析を行い、本種の由来を推測した。その結果、2016年8月9日に捕集された雌成虫、8日-14日後に捕集された幼虫、15日後に捕集された成虫は、同一のCOIハプロタイプを持っていたため、同一系統の繁殖であると推察された。一方、2017年5月18日と20日に捕集された雌雄各1個体ならびに2016年発見の成虫のハプロタイプはいずれも異なり、別系統の繁殖であったと推察された。マイクロサテライト解析では、いずれも東南アジア集団と比較的高い親和性を示した。ナトリウムチャネルの遺伝子変異を調査した結果、L982WとF1534Cの変異

が見つかったが、L982W変異は現時点でベトナムからのみ報告されていることから、ベトナムおよびその周辺地域から移入した可能性が高いと推察された。[胡錦萍、二見恭子、皆川昇(長崎大熱研); 糸川健太郎、津田良夫、比嘉由紀子、澤邊京子]

#### 10. インドネシアのデング熱媒介蚊のピレスロイド剤感受性調査と *kdr* 遺伝子の検出

2018年4月にインドネシアで採集されたネッタイシマカ4集団およびヒスジシマカ3集団についてピレスロイド剤感受性試験を行った。ヒスジシマカはペルメトリンに対して感受性が高く、ヒスジシマカの感受性系統(HKM)のLD<sub>99</sub>×10で生存する個体は皆無であった。一方、ネッタイシマカは抵抗性レベルが高く、4集団全てが感受性系統のLD<sub>99</sub>×10の薬量で死亡率が50%未満であった。いずれのネッタイシマカ集団も高頻度でナトリウムチャネルの変異S989P+V1016Gをホモ接合体として有しており、これが抵抗性の主要因であると推定された。また、ペルメトリン感受性が比較的高かったヒスジシマカにおいても、Petemon Kali 2で採集された1集団から抵抗性変異F1534Cが低頻度(21%)で見つかった。今後、この遺伝子が淘汰され、抵抗性を発達させていく可能性が示唆された。[葛西真治、前川芳秀、高岡安希、駒形修、富田隆史、今西望、澤邊京子]

#### 11. 島根県で採集されたイエバエの *super-kdr* 遺伝子

島根県松江市美保関町でピレスロイド系殺虫剤が効きにくいハエが発生しているという情報を得た。そこで、2016年4月に同町内で採集されたイエバエ11個体について、ナトリウムチャネル(Vssc)の部分配列を解析した。その結果、6個体は*super-kdr*(M918T+L1014F)をホモ接合体として有しており、集団内の*super-kdr*遺伝子頻度は59.1%に達していた。また、11個体中にはこのほかに*kdr-His*(L1014H)が4.5%含まれていたが、*kdr*遺伝子単独(L1014F)は含まれなかった。変異を含まない野生型のVsscは36.4%であった。*Super-kdr*遺伝子の頻度は、イエバエが多数発生して問題になった第三夢の島の末期に採集されたイエバエにおける頻度よりも圧倒的に高かったことから、高い殺虫剤選択圧の下で抵抗性が発達したことを伺わせるものであった。[葛西真治、高岡安希、駒形修、富田隆史; 金京純(鳥取大)]

#### 12. コガタアカイエカのゲノム解析

コガタアカイエカは日本脳炎の媒介者として非常に重要な



疾病媒介蚊であるが、この蚊に関するゲノム・遺伝子情報はこれまで全く蓄積されていない。そこで、コガタアカイエカ由来の培養細胞であるNIID-CTRについて、全ゲノム解読を行った。ナノポアシーケンサー、およびショートリードシーケンサーによるハイブリッド解析で、アセンブリサイズ約 500 Mb、コンティグ N50>200 Kb、スキヤホールド N50>1.9 Mb、Complete BUSCOs(Insecta)99.0%という高品質なゲノムアセンブリが得られた。野外から採集したコガタアカイエカ個体から得た Restriction-site Associated DNA sequence (RAD-Seq) の NGS リードは、高効率でこのゲノムにマップされ、培養細胞のゲノムではあるが実際の蚊個体の参照配列として十分に機能すると考えられた。今回得られた新規ゲノムアセンブリは、コガタアカイエカにおいて遺伝子発現解析や多型解析といった基礎的な研究手段に用いることが可能で、本種において、集団遺伝学・系統地理学、あるいはウイルス-宿主間相互作用・殺虫剤抵抗性といった研究を促進する有用な情報資源となることが期待される。[糸川健太郎、伊澤晴彦、小林大介、比嘉由紀子、葛西真治、駒形修、富田隆史、澤邊京子]

13. バキュロウイルス発現系を用いたトコジラミ変異型アセチルコリンエステラーゼの殺虫剤活性体に対する感受性低下の検証

国内から有機リン殺虫剤抵抗性のトコジラミの存在が報告されており、作用点であるアセチルコリンエステラーゼ (AChE) の遺伝子を解析した。その結果、点突然変異 F348Y が発見されたため、この変異が有機リン剤に対する抵抗性に関与しているかどうかを検証するために、典型的な有機リン剤フェントロキソンの活性体であるフェントロオクソンに対する感受性への影響を *in vitro* で検証した。野生型 (F348) および変異型 (Y348) の AChE を、バキュロウイルス発現系を用いて発現させ粗精製した後、常法である Ellman 法によって AChE に対する分解活性を測定し、更にフェントロオクソンを複数濃度添加して IC<sub>50</sub> を求めた。その結果、変異型 AChE では、フェントロオクソンに対して大きく感受性が低下していた。このことから、F348Y は有機リン剤抵抗性をもたらす一因であることが示唆された。[駒形修、糸川健太郎、富田隆史、葛西真治]

14. ネットイトコジラミから発見されたアセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害剤抵抗性に関連する作用点変異

2016年の国内採集に由来する2つのネットイトコジラミの飼育コロニーは、それぞれ、トコジラミの AChE 阻害剤抵抗性系

統の AChE に存在する F348Y と同一変異を 20% 余りのアレル頻度で保有することを見出した。殺虫剤感受性系統のトコジラミが 100% 死亡するフェントロキソン (0.1 μg) の 100 倍薬量 (10 μg) で局所施用した供試虫の生死と F348Y 保有 (変異のヘテロ接合体またはホモ接合体) の有無の独立性を検定した結果、同変異が AChE 阻害剤抵抗性と密接に関連することが示された。[富田隆史、駒形修、葛西真治; 皆川恵子 (日本環境衛生センター)]

15. ネットイトコジラミにおける AChE の殺虫剤低感受性変異の保有率

日本で 2015~2017 年に採集された 7 つのネットイトコジラミのコロニー (沖縄県 5、大阪府 1、東京都 1) について、AChE 阻害剤低感受性の変異である F348Y をジェノタイプピングした結果、全コロニーが同変異を保有していた。日本で 2000 年代より再興したトコジラミの防除には AChE 阻害剤が現在ほとんどのケースで有効とされていることから、これらトコジラミ属二種の駆除に事前の種同定が重要であることが示された。[富田隆史、駒形修、糸川健太郎、葛西真治; 皆川恵子 (日本環境衛生センター); 小松謙之 (シー・アイ・シー); 足立雅也 (鵬凶商事); 成隆光 (大阪防疫協会); 吉田政弘 (いきもの研究社)]

16. 台湾のヒトスジシマカにおけるピレスロイド低感受性作用点変異の初検出

Dengue 熱媒介蚊の化学的防除が行われている台湾南部で 2016 年に主に幼虫の掬い取りにより採集したヒトスジシマカ 193 頭 (台南市 42 頭、高雄市 65 頭、屏東市 82 頭) について、電位依存性ナトリウムチャンネル (VGSC) のピレスロイド低感受性変異 (V1016G と F1534C/S) の保有を Universal QProbe 法に基づき調べた。その結果、台湾における本種蚊としては初めて、高雄市の 2 頭からそれぞれ G1016 ホモ接合体と F1534/S1534 ヘテロ接合体が同定された。[富田隆史、駒形修、糸川健太郎、葛西真治; 鍾瀚璿、鄧華真 (台湾 CDC)]

## レファレンス業務

### I. 衛生動物同定検査報告

平成 30 年 4 月から平成 31 年 3 月までの間、7 件の昆虫およびダニ類の同定依頼に対応した。ヒトに被害を与えた例としては、マダニ咬傷 2 件、口腔内ハエ症 1 件であった。[林利彦、比嘉由紀子、前川芳秀]

研修業務

1. 第7回蚊類調査に係る技術研修(H30年度)、2018年6月4-5日、東京 [澤邊京子、比嘉由紀子、前川芳秀、伊澤晴彦、葛西真治、津田良夫]
2. フィールドワーク蚊の生態・防除対策蚊の捕集。第4回節足動物媒介感染症研修会、2018年6月6日、東京 [澤邊京子、比嘉由紀子、前川芳秀、葛西真治、津田良夫]
3. 採集蚊の仕分けおよび蚊の分類・同定実習。第32回ペストロジー実習講座、2018年6月13日、川崎市 [津田良夫]
4. 第9回蚊分類学を志す若手研究者のための現地研修、2018年6月17-25日、沖縄県西表島 [比嘉由紀子、津田良夫、糸川健太郎、葛西真治]
5. 蚊からの病原体検出法について。新渡戸短大研修、2018年6月28日、東京 [澤邊京子]
6. 蚊媒介感染症及び蚊の防除対策について。第一回岡山県環境保健センター・岡山県立図書館連携講座「蚊やダニによる感染症を防ぐには-私たちにできること-」、2018年6月30日、岡山市 [澤邊京子]
7. 生物学から防除対策まで夏季の国際的なスポーツ大会に備えて。大下財団シンポジウム「デング熱媒介蚊」、2018年7月13日、東京 [比嘉由紀子、駒形修]
8. デング熱媒介蚊対策におけるリスクアナリシスの重要性。公衆衛生獣医師インターンシップ、2018年8月27日、東京 [澤邊京子]
9. 緊急時における疾病媒介蚊対策としての野外における殺虫剤散布実地演習。2018年9月28日、所沢市 [葛西真治、澤邊京子]
10. 第8回蚊類調査に係る技術研修(H30年度)、2018年10月2-3日、川崎市 [澤邊京子、比嘉由紀子、前川芳秀、津田良夫、皆川恵子(日本環境衛生センター)]
11. 感染症を媒介するダニについて。平成30年動物由来感染症対策技術研修会、2018年10月30日、東京 [澤邊京子]
12. 昆虫・ダニ類媒介の感染症について。日本ペストコントロール協会 平成30年度感染症対策講習会、2018年11月7日、東京 [富田隆史]
13. 媒介蚊対策の考え方と薬剤散布の実態。日本防疫殺虫剤協会総会講演会、2018年11月13日、東京 [澤邊京子]

子]

14. 節足動物媒介感染症について。平成30年度医師卒後臨床研修プログラム、2018年11月13日、東京 [佐々木年則]
15. 媒介蚊対策の考え方と薬剤散布の実態。日本防疫殺虫剤協会講演会、2018年11月13日、東京 [澤邊京子]
16. 昆虫・ダニ類媒介の感染症について。日本ペストコントロール協会 平成30年度感染症対策講習会、2018年11月15日、札幌市 [澤邊京子]
17. 第10回蚊分類学を志す若手研究者のための現地研修、2018年11月19-26日、沖縄県西表島市 [比嘉由紀子、津田良夫、伊澤晴彦、小林大介;宮城一郎(琉球大);二見恭子(長崎大熱研)]
18. 温暖化による蚊やマダニなどの生息域拡大と人と動物の共通感染症の最近の傾向について。モダンメディア「新春放談」人を取り巻く環境と人と動物の共通感染症の変化について、2018年12月10日、東京 [澤邊京子]
19. 衛生害虫に関する最近の話題。第54回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会、2018年12月12日、川崎市 [澤邊京子]
20. 第2回蚊分類学種同定研修、2019年1月25-27日、東京 [比嘉由紀子、津田良夫]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Ejiri, H., Lim, C.K., Isawa, H., Fujita, R., Murota, K., Sato, T., Kobayashi, D., Kan, M., Hattori, M., Kimura, T., Yamaguchi, Y., Takayama-Ito, M., Horiya, M., Posadas-Herrera, G., Minami, S., Kuwata, R., Shimoda, H., Maeda, K., Katayama, Y., Mizutani, T., Saijo, M., Kaku, K., Shinomiya, H. and Sawabe, K. Characterization of a novel thogotovirus isolated from *Amblyomma testudinarium* ticks in Ehime, Japan: A significant phylogenetic relationship to Bourbon virus. *Virus Research*, 249: 57-65, 2018.
- 2) Kobayashi, D., Murota, K., Fujita, R., Itokawa, K., Kotaki, A., Moi, M.L., Ejiri, H., Maekawa, Y., Ogawa, K., Tsuda, Y., Sasaki, T., Kobayashi, M., Takasaki, T., Isawa, H. and Sawabe, K. Dengue virus infection in *Aedes albopictus* during the 2014 Autochthonous dengue outbreak in Tokyo Metropolis, Japan. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 98: 1460-1468, 2018.

- 3) Fujita, R., Kato, F., Kobayashi, D., Murota, K., Takasaki, T., Tajima, S., Lim, C.K., Saijo, M., Isawa, H. and Sawabe, K. Persistent viruses in mosquito cultured cell line suppress multiplication of flaviviruses. *Heliyon*, 4: e00736, 2018.
  - 4) Smith, L.B., Kasai, S. and Scott, J.G. Voltage-sensitive sodium channel mutations S989P+V1016G in *Aedes aegypti* confer variable resistance to pyrethroids, DDT and oxadiazines. *Pest Management Science*, 74: 737-745, 2018.
  - 5) Smith, L.B., Tyagi, R., Kasai, S. and Scott, J.G. CYP-mediated permethrin resistance in *Aedes aegypti* and evidence for trans-regulation. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12: e0006933, 2018.
  - 6) Kasai, S., Caputo, B., Tsunoda, T., Cuong, T.C., Maekawa, Y., Lam-Phua, S.G., Pichler, V., Itokawa, K., Murota, K., Komagata, O., Yoshida, C., Chung, H.H., Bellini, R., Tsuda, Y., Teng, H.J., de Lima Filho, J.L., Alves, L.C., Ng, L.C., Minakawa, N., Yen, N.T., Phong, T.V., Sawabe, K. and Tomita, T. First detection of a *Vssc* mutation V1016G conferring a high level of insecticide resistance in *Aedes albopictus* collected from Europe (Italy) and Asia (Vietnam), 2016: a new emerging threat to controlling arboviral diseases. *Eurosurveillance*, 24: 1700847, 2019.
  - 7) Pichler, V., Malandrucolo, C., Serini, P., Bellini, R., Severini, F., Toma, L., Luca, M.D., Montarsi, F., Ballardini, M., Manica, M., Petrarca, V., Vontas, J., Kasai, S., della Torre, A. and Caputo, B. Phenotypic and genotypic pyrethroid resistance of *Aedes albopictus*, with focus on Italian sites experiencing a chikungunya outbreak in 2017. *Pest Management Science*, (accepted)
  - 8) Hayashi, T. Taxonomy and distribution of the genus *Philocoprella* Richards (Diptera: Sphaeroceridae) from the Oriental and Australasian regions. *Japanese Journal of Systematic Entomology*, 24: 230-233, 2018.
  - 9) Kim, K.S. and Tsuda, Y. Gynandromorph of *Culex inatomii* (Diptera: Culicidae) collected at Yonago Waterbirds Sanctuary, Tottori, Japan. *Medical Entomology and Zoology*. 69. 35-38, 2018.
  - 10) Imanishi, N., Higa, Y., Hwa-Jen Teng, Sunahara, T. and Minakawa, N. Identification of three distinct groups of *Anopheles lindesayi* in Japan by morphological and genetic analyses. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 71: 427-435, 2018.
  - 11) Matsumura, T., Mashiko, R., Sato, T., Itokawa, K., Maekawa, Y., Ogawa, K., Isawa, H., Yamamoto, A., Mori, S., Horita, A., Ginnaga, A., Miyatsu, Y., Takahashi, M., Taki, H., Hifumi, T., Sawabe, K. and Ato, M. Venom and antivenom of the redback spider (*Latrodectus hasseltii*) in Japan. Part I. Venom extraction, preparation, and laboratory testing. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 71: 116-121, 2018.
  - 12) Yamamoto, A., Harano, S., Shinya, N., Nagano, A., Miyatsu, Y., Sawabe, K., Matsumura, T., Ato, M., Takahashi, M., Taki, H. and Hifumi, T. Freeze-dried equine-derived redback spider antivenom: a local irritation study by intramuscular injection in rabbits and a repeated-dose toxicity study in rats. *Journal of Toxicol Pathology*, 31: 105-112, 2018.
- ## 2. 和文発表
- 1) 葛西真治 医療従事者が押さえておきたい衛生害虫防除のポイント①ハエ。薬局、69: 56-61、2018.
  - 2) 澤邊京子 節足動物媒介感染症とそのベクターを研究するためのバイオセーフティ基準と注意。バムサジャーナル、30: 3-8、2018.
  - 3) 沢辺京子 人を取り巻く環境と人と動物の共通感染症の変化について。モダンメディア、65: 1-17、2019.
  - 4) 渡辺護、渡辺はるな、米島万有子、沢辺京子 熊本地震と東日本大震災の被災地における蚊の発生状況の相違。衛生動物、70: 25-32、2019.
- ## II. 学会発表
- ### 1. 国際学会
- 1) Maekawa, Y., Tsudam, Y., Brayner, F., Carlos, L., Gazzoni, G., Kasai, S. and Sawabe, K. A survey of *Aedes albopictus* and *Ae. aegypti* in Recife, Brazil. The 2<sup>nd</sup> Brazil-Japan Collaborative Research Workshop on Zika Virus, 2018年7月25日-26日、東京.
  - 2) Kasai, S., Caputo, B., Pichler, V., Tsunoda, T., Maekawa, Y., Itokawa, K., Murota, K., Komagata, O., Tsuda, Y., Bellini, R., Cuong, T.C., Yen, N.T., Phong, T.V., Minakawa, N., Sawabe, K. and Tomita, T. First identification of a *kdr* allele V1016G in *Aedes albopictus*. *Pyrethrum Workshop 2018*, 2018年9月3日、イギリス.
  - 3) Komagata, O. Evaluation of insecticide efficacies to hematophagous pests in living environment between Taiwan and Japan: The 15th Taiwan-Japan Symposium on Communicable Diseases and Prevention, and Collaborative Project Reports, 2018年9月4日、台湾.
  - 4) Kasai, S., Caputo, B., Tsunoda, T., Cuong, T.C., Maekawa, Y., Lam-Phua, S.G., Pichler, V., Itokawa, K., Murota, K.,

- Komagata, O., Yoshida, C., Chung, H.H., Bellini, R., Tsuda, Y., Teng, H.J., de Lima Filho, J.L., Alves, L.C., Ng, L.C., Minakawa, N., Yen, N.T., Phong, T.V., Sawabe, K. and Tomita, T. First detection of a *Vssc* allele V1016G in *Aedes albopictus* collected from Asia and Europe: A new emerging threat to controlling arboviral diseases. 2nd WIN International Conference on “Integrated approaches and innovative tools for combating insecticide resistance in arbovirus vectors”, 2018年10月1日、シンガポール.
- 5) Itokawa, K., Komagata, O., Tomita, T., Sekizuka, T., Yatsu, K., Kuroda, M., Sawabe, K. and Kasai, S. Targeted capture and sequencing of voltage-gated sodium channel gene in *Aedes* mosquitoes for detecting pyrethroid resistance mutations 2nd WIN International Conference on “Integrated approaches and innovative tools for combating insecticide resistance in arbovirus vectors”, 2018年10月1日、シンガポール
- 6) Dusfour, I., Vontas, J., David, J.P., Weetman, D., Fonseca, D.M., Corbel, V., Raghavendra, K., Coulibaly, Martins, A.J., Kasai, S. and Chandre, F. Management of insecticide resistance in the major *Aedes* vector of arboviruses: Advances and challenges. 2nd WIN International Conference on “Integrated approaches and innovative tools for combating insecticide resistance in arbovirus vectors”, 2018年10月1日、シンガポール.
- 7) Smith, L.B., Tyagi, R., Kasai, S. and Scott, J.G. Evidence that CYP-mediated resistance in *Aedes aegypti* is due to a *trans* regulatory factor. 2018 ESA, ESC and ESBC Joint Annual Meeting, 2018年11月11日-14日、カナダ.
- ## 2. 国内学会
- 1) 佐々木年則 動物における生体防御: 哺乳類から節足動物へ。第70回日本衛生動物学会大会 病害動物の生理分子生物談話会(第26回)、2018年5月11日、帯広市
- 2) 小林大介、伊澤晴彦、室田勝功、糸川健太郎、藤田龍介、Michael Amoa-Bosompem、木村晶平、大橋光子、Kofi Bonney、Samuel Dadzie、沢辺京子、太田伸生、岩永史朗 ガーナ産マダニからのマダニ媒介ウイルス遺伝子の検出。第70回日本衛生動物学会大会、2018年5月11-13日、帯広市
- 3) 小林大介、伊澤晴彦、室田勝功、糸川健太郎、Astri Nur Faizan、Michael Amoa-bosompem、津田良夫、林利彦、金京純、渡辺護、岩永史朗、沢辺京子 重要疾病媒介蚊の RNA ウイルス叢およびその季節的・地理的变化に関する研究。第70回日本衛生動物学会大会、2018年5月11-13日、帯広市
- 4) 室田勝功、小林大介、藤田龍介、糸川健太郎、前川芳秀、葛西真治、角田隆、皆川昇、Tran Chi Cuong、Tran Vu Phong、Nguyen Thi Yen、Vu Sinh Nam、伊澤晴彦、沢辺京子 2016年および2017年のベトナムにおける蚊のウイルス叢調査。第70回日本衛生動物学会大会、2018年5月11-13日、帯広市
- 5) Michael Amoa-Bosompem、Daisuke Kobayashi、Katsunori Murota、Astri Nur Faizan、Mitsuko Ohashi、Toshinori Sasaki、Haruhiko Isawa、Kyoko Sawabe、Shiroh Iwanaga. Analyses of the virome and vector competence in the transmission of dengue virus in *Aedes aegypti* collected in Ghana. 第70回日本衛生動物学会大会、2018年5月11-13日、帯広市
- 6) 伊澤晴彦、江尻寛子、林昌宏、藤田龍介、鍛田龍星、小林大介、佐々木年則、林利彦、小林陸生、西條政幸、前田健、沢辺京子 国内で捕集されたマダニから分離された新規フレボウイルスの性状。第70回日本衛生動物学会大会、2018年5月11-13日、帯広市
- 7) 藤田龍介、江尻寛子、林昌宏、山内健生、渡辺護、野田伸一、小林大介、室田勝功、伊澤晴彦、沢辺京子 キチマダニより分離された新規レオウイルス科ウイルスである Tarumizu tick virus の性状解析。第70回日本衛生動物学会大会、2018年5月11-13日、帯広市
- 8) 前川芳秀、津田良夫、笠井あすか、竹内真人、沢辺京子 2017年小笠原諸島(父島・母島)での蚊相調査。第70回日本衛生動物学会大会、2018年5月11-13日、帯広市
- 9) 前川芳秀、津田良夫、沢辺京子 先島諸島での蚊相調査および *Aedes riversi* と *Culex mimeticus* の初記録。第70回日本衛生動物学会大会、2018年5月11-13日、帯広市
- 10) 津田良夫、林利彦 ドライアイストラップによる疾病媒介蚊のサーベイランス結果: 2003年から2017年の長期的変化について。第70回日本衛生動物学会大会、2018年5月11-13日、帯広市
- 11) 沢辺京子、前川芳秀、小林陸生、山内繁、長島渡、奥山弘幸 2017年青森県および北海道南部で実施したヒトスジシマカ生息調査。第70回日本衛生動物学会大会、2018年5月11-13日、帯広市

- 12) 小林睦生、駒形修、林利彦、津田良夫、沢辺京子 夏季のヒトスジシマカの生息密度に影響を与える気象条件。第70回日本衛生動物学会大会、2018年5月11-13日、帯広市
- 13) 米島万有子、渡辺護、渡辺はるな、長舘昌宏、村松佑典、東田和典、白石伸一、沢辺京子 熊本地震被災地における被災2年目の蚊の発生状況。第70回日本衛生動物学会大会、2018年5月11-13日、帯広市
- 14) 駒形修、沢辺京子 深層学習を用いた全天球写真からのヒトスジシマカ成虫密度の予測。第70回日本衛生動物学会大会、2018年5月11-13日、帯広市
- 15) 葛西真治、角田隆、前川芳秀、糸川健太郎、室田勝功、駒形修、吉田千草、津田良夫、皆川昇、Beniamino Caputo、Verena Pichler、Tran Chi Cuong、Nguyen Thi Yen、Tran Vu Phong、沢辺京子、冨田隆史 強いピレスロイド剤抵抗性をもたらすナトリウムチャンネルのアミノ酸変異V1016Gがヒトスジシマカから初めて検出された。第70回日本衛生動物学会大会、2018年5月11-13日、帯広市
- 16) 冨田隆史、駒形修、糸川健太郎、葛西真治 日本のヒトスジシマカ集団におけるナトリウムチャンネル遺伝子のピレスロイド低感受性変異の分布調査。第70回日本衛生動物学会大会、2018年5月11-13日、帯広市
- 17) 糸川健太郎、駒形修、冨田隆史、葛西真治 一分子ロングリードシーケンス技術を用いたネッタイイエカゲノムの再解析。第70回日本衛生動物学会大会、2018年5月11-13日、帯広市
- 18) 皆川恵子、武藤敦彦、橋本知幸、数間亨、堀口智博、前川芳彦、葛西真治、冨田隆史、津田良夫、沢辺京子 防疫用殺虫剤の新用量によるヒトスジシマカに対する実地試験効力ー2017年実施の結果ー。第70回日本衛生動物学会大会、2018年5月11-13日、帯広市
- 19) 葛西真治、角田隆、前川芳秀、糸川健太郎、室田勝功、駒形修、津田良夫、皆川昇、沢辺京子、冨田隆史 ヒトスジシマカで初めて見出された強いピレスロイド剤抵抗性集団と作用点変異。日本農薬学会第43回大会、2018年5月26日、秋田市
- 20) 比嘉由紀子、吉川亮、二見恭子、井上真吾、鍋島武、嶋田聡、松本文昭、山下綾香、三浦佳奈、竹野大志、西畑伸二、小田さゆり、村木信幸、砂原俊彦、佐野直美、沢辺京子、森田公一 2017年長崎県における大陸型コガタアカイエカの生息調査。第53回日本脳炎ウイルス生態学研究会、6月1-2日、栃木県下都賀郡
- 21) 前川芳秀、沢辺京子、小林睦生、山内繁、長島渉、奥山弘幸 青森市および函館市で実施したヒトスジシマカ生息調査(2017年8月)。第53回日本脳炎ウイルス生態学研究会、6月1-2日、栃木県下都賀郡
- 22) 佐々木年則、Arlene G. Bertuso、伊澤晴彦、高崎智彦、皆川昇、澤邊京子 ネットアイシマカにおける抗ウイルス因子の遺伝子解析。日本比較免疫学会第30回学術集会、2018年8月20-22日、藤沢市
- 23) 沢辺京子 SFTS 媒介マダニに関する考察。日本SFTS研究会第一回学術集会、9月8-9日、東京
- 24) 鳥井駿、欽田龍星、Supriyono Supriyono、Tran Ngo、下田宙、野口慧多、米満研三、南昌平、黒田雄大、立本完吾、冨田隆史、糸川健太郎、沢辺京子、前田健 蚊ゲノムに内在化したウイルス様配列。第161回日本獣医学会学術集会、2018年9月11-13日、つくば市
- 25) 葛西真治、比嘉由紀子、糸川健太郎、宮城一郎、津田良夫 シリアゲアリにアプローチするオキナワカギカ成虫の我が国における初観察。第70回日本衛生動物学会東日本支部大会、2018年10月13日、つくば市
- 26) 渡辺護 富山市郊外の1民家における蚊の捕集状況、2012~2018年の成績。第70回日本衛生動物学会東日本支部大会、2018年10月13日、つくば市
- 27) 倉橋弘、Chong Chin Heo マレーシア、マレー半島産のイエバエ属の新種?の発見。第70回日本衛生動物学会東日本支部大会、2018年10月13日、つくば市
- 28) 葛西真治 蚊を中心とした感染症媒介節足動物の動向。生活と環境全国大会リレー講演「生活環境の招かれざる虫たち」、2018年10月19日、福島市
- 29) 小林大介 ガーナ共和国で流行する節足動物媒介ウイルス感染症の実態解明に向けた基盤的研究。第63回日本応用動物昆虫学会大会 第25回ICIPE研究報告会ーアフリカ昆虫学の夕べ、2019年3月25-27日、つくば市
- 30) 沢辺京子 我が国の公衆衛生に関わる衛生害虫ーその歴史と未来ー。平成30年度第2回全国公衆衛生関連学術協会連絡協議会学術集会 市民公開シンポジウム「わが国の公衆衛生の重要課題を考える」、2019年3月29日、東京