総 説

蚊の疾病媒介生態に関する野外研究： 特に都市域における最近の研究

津田 良夫

国立感染症研究所昆虫医科学部（〒162-8640 東京都新宿区戸山 1-23-1）

（受領：2011 年 10 月 12 日；登載決定 2011 年 10 月 27 日）

Recent field studies on vector ecology of mosquitoes in urban areas of Tokyo, Japan

Yoshio TSUDA

Department of Medical Entomology, National Institute of Infectious Diseases, Toyama 1-23-1,
Shinjuku-ku, Tokyo, 162-8640 Japan (E-mail: tsudayso@nih.go.jp)

(Received: 12 October 2011; Accepted: 27 October 2011)

Abstract: Results of two mosquito studies recently conducted in a park in urban Tokyo were introduced and related studies were reviewed. A large number of adult *Culex tritaeniorhynchus* suddenly appeared from late September to November 2007 during the course of systematic sweep net collections of vegetation in the park. The pre-diapause migration has been observed every year from 2007 to 2010. The time course of pre-diapause migration was similar starting in mid-/late September, peaking in mid-October and ending in December. The density of migrated females and parity differed year by year, and dissection showed that a large part of the females (85 to 97%) were in reproductive diapause. Blood-meal identifications of *Cx. pipiens pallens* together with avian malaria parasite detection were conducted by using blood-fed females collected in the study park from May 2007 to May 2008. Thirteen wild bird species were identified as the blood-source and 5 of them were infected with avian malaria parasite. Ten *Plasmodium* lineages were identified and the three commonest lineages were detected in both the abdomens and thoraxes of mosquitoes, suggested transmission of these lineages. Jungle crow and tree sparrow served as a natural host for the three commonest lineages.

Key words: pre-diapause migration, *Culex tritaeniorhynchus*, *Culex pipiens pallens*, blood-meal identification, *Plasmodium* parasite, transmission of avian malaria parasite

緒 言

蚊によって媒介される病原体（蚊媒介性病原体）の流行は、病原体の媒介能力を有する蚊（媒介蚊）が生息していなければ起こらないし、媒介蚊が生息している地域であっても病原体が持ち込まれない限り起こらない。代表的な蚊媒介性疾患であるマラリアの流行に関する理論

的研究では、ある集団でマラリアに感染する人の割合は時間経過にともなってある値に収束しそのレベルはマラリア媒介蚊の密度に比例して高くなること、またマラリア原虫が持ち込まれたとしても媒介蚊の生息密度がある臨界密度に達していなければ、新たにマラリア原虫に感染する人の数は時間と共に減少し、ついにはマラリア原虫は自然消滅してしまうことが示されて

いる (Macdonald, 1957; Bailey, 1982; Anderson and May, 1992). このように蚊媒介性病原体の流行は媒介蚊の生息密度と密接に関係していると考えられるため、媒介蚊の生息地域に病原体が持ち込まれていない状況下であっても、何らかの病原体が持ち込まれた場合を想定して、どこで、どの程度の流行が起こるかを媒介蚊の生息状況調査に基づいてある程度予測すること (蚊媒介性感染症のリスク評価) ができる。マラリアや日本脳炎、デング熱などの媒介蚊に関する生態的研究は、基本的にはこのような理解に基づいて行われてきたといえることができる。

蚊媒介性感染症のリスクを評価する上で重要な媒介蚊集団の情報としては、地理的分布、生息密度、野外での生存率、成虫の空間分布、吸血行動、ヒトとの接触頻度、吸血嗜好性、病原体に対する感受性などが挙げられる (Kilpatrick et al., 2005; 津田ら, 2005; Kent et al., 2009). これらの情報を収集するために、野外個体群を対象とした種々のトラップによる定量採集、動物園を用いた成虫採集、成虫の記号放逐・再捕獲法など様々な生態調査法が考案されてきた (Silver, 2008). 近年、分子生物学的手法に基づいた蚊からの病原体の検出や吸血蚊を用いた吸血源動物の同定法が開発され、従来の生態調査にこれらの情報を加味することによって、蚊と蚊によって媒介される病原体の分子生態学的な研究が可能になった。

現在、我が国で蚊によって媒介されている人の感染症は日本脳炎だけであり、患者数も少ない。したがって、国内における疾病媒介蚊の野外調査の主な目的は、媒介蚊の対策ではなく、媒介蚊の発生状況を把握し、それに基づいた蚊媒介性感染症のリスク評価を行うことに置かれている。従来のライトトラップの代わりにドライアイスやイースト発酵によって発生させたCO₂を誘引源とするCO₂トラップ (Saitoh et al., 2004) を用いることで、生態的条件の異なるいろいろな場所で成虫採集を行うことが可能になった。そこで、ある地域にどんな種類の蚊がどの程度の密度で生息しているのかを明らかにするために、CO₂トラップを用いた調査を行ってきた (Higa et al., 2006; 津田ら 2006a, b; Tsuda et al., 2009a, b). また、これらの調査と並行して、都市域における蚊媒介性感染症のリスク評価の基礎データとするために、東京都内の大規模公園を対象とした蚊の生態調査を行ってきた。この都市域の公園を対象として行ってきた疾病媒介蚊の生態研究の中から2つの話題を選び、最新の研究結果について研究の背景を加えて以下に紹介する。

(1) 東京都の公園における蚊の生態研究とコガタアカイエカの集団飛来の発見

動物園や水族館で飼育されている鳥類が鳥マラリア原虫に感染して死亡する例が国内外で報告されている (Beier and Stoskopf, 1980; Bak et al., 1984; Fix et al., 1988; Murata, 2002; 松本ら 2006; Huijben et al., 2007; Murata et al., 2008). 我が国ではペンギンが鳥マラリアに感染して死亡する例が全国の動物園や水族館で報告されており、「ペンギンマラリア」と呼ばれ問題になっている。この問題の背景には、我が国の野鳥類と蚊の間に鳥マラリア原虫の感染環が成立しており、野鳥類を吸血して鳥マラリア原虫に感染した媒介蚊がペンギンなど飼育鳥類を吸血することによって感染が起こっていることが推測される。鳥マラリア原虫はヒトに感染しないので医学的な問題はないが、ウエストナイルウイルスのようにヒトにも感染する蚊媒介性の病原体が野鳥で流行した場合には、ヒトが感染環の中に巻き込まれ、米国で起きたような大流行になる可能性がある。

野鳥とヒトに共通する蚊媒介性病原体の流行リスクを評価する上では、蚊の生息密度に加えて、どのような野鳥種と蚊種の間に吸血による生態的つながりができているのか、野鳥から吸血する蚊がどの程度ヒトを吸血するかという情報は、もっとも基本的かつ重要な生態的情報である (Kilpatrick et al., 2005; Molaei et al., 2006; Hamer et al., 2008; Hamer et al., 2009; Kent et al., 2009). 鳥マラリアの流行に関する生態学的研究は、このような生態的情報を収集する上で非常に参考になる (Reeves et al., 1954; Rosen and Reeves, 1954). 特に都市域で流行している鳥マラリアの生態的研究は、都市での蚊媒介性病原体の流行リスクを考える上で非常に有用であるといえることができる。

都市域における鳥マラリアの生態調査地として、東京都品川区と目黒区の境界に位置する都立林試の森公園を選んだ。この公園の前身は1900年に農商務省林野整理局「目黒試験苗圃」として作られ、その後林野庁「林業試験場」として1978年まで使用されてきた。林業試験場の移転にともない跡地を整備し現在の「都立林試の森公園」として公開された。公園内には約90の雨水マスがあり、幼虫の発生状況を2003年から2005年の3シーズン調査し、アカイエカ、*Culex pipiens pallens* Coquillett, ヒトスジシマカ、*Aedes albopictus* (Skuse), ヤマトクシヒゲカ、*Cx. sasai* Kano, Nitahara and Awaya, トラフカクイカ、*Lutzia vorax* Edwards, オオクロヤブカ、*Armigeres subalbatus* (Coquillett), コガタクロウスカ *Cx. hayashii* Yamada の6種の生息が確認されている (津田, 投稿中). 公園には林業試験場時代に植えられた樹木が多数茂り、野鳥も多く生息しているため鳥マラリアの生態研究に適している。

鳥マラリアの生態研究を始めるにあたって、蚊からの鳥マラリア原虫の検出に加えて、蚊の吸血源動物調査を行うことを計画した。蚊の吸血源動物種の調査法は、種々の動物図を使う方法や抗原抗体反応を利用したPrecipiten-test, ELISA法などが使われてきたが、1990年代になってDNAの分析結果に基づく分子生物学的手法が盛んに研究され種々のプライマーが開発された(Silver, 2008)。分析に用いるのは、吸血して体内に未消化の動物血液を持っている蚊(吸血蚊)である。吸血後何時間経過した個体まで吸血源同定に使えるかという点に関しては、論文によって結果がやや異なっている: 例えば吸血後32 hrまで(Mukabana et al., 2002), 吸血後24–30 hrまで(Kent and Norris, 2005), 吸血後7日まで(Lee et al., 2002), 吸血後3日まで(Boakye et al., 1999)。ニワトリマラリア *Plasmodium gallinaceum* の感染実験を行ったサンプルでは、吸血後3日目まで吸血源の同定が可能で、この期間であれば肉眼で吸血蚊の腹部に未消化の血液を認めることができた(Kim et al., 2009a)。

吸血源動物種の同定にDNAを用いることにはいくつか長所があるが、特に鳥マラリアの研究では大きなメリットがある。鳥マラリア原虫はこれまでに数十種が記載されている(Valkiunas, 2005)。記載は赤血球に寄生しているステージの形態観察に基づいて行われている。かつては鳥類種が異なれば寄生しているマラリア原虫種も異なるという前提に基づいて記載が行われていた。しかし、最近の研究によれば1種類の鳥が複数の原虫に感染していることが確認されており(Bensch et al., 2000, 2007)、これまでの種特異性を前提にした *Plasmodium* 原虫の形態分類がどの程度確かなものであるか疑問視されている(Perkins, 2000)。そのため、最近の野外研究では鳥マラリア原虫のDNAを抽出し、その塩基配列の違いに基づいて分子分類を行うことが主流になっており、遺伝子情報に基づいた検索のためのデータベースも公開されている(Bensch et al., 2009)。蚊体内のオーシストやスポロゾイトの種類を形態的な相違によって同定することはできないが、この分子生物学的手法を用いれば、发育ステージに関係なく原虫を区別することができるという大きなメリットがある。吸血源動物種の同定と鳥マラリア原虫の同定をともに分子生物学的手法で行えば、DNAの抽出までは同時にできるので分析時間や費用の節約にもつながる。

分子生物学的分析の材料となる吸血蚊、しかも野外で暮らす動物を吸血した蚊を多数採集することはかなり難しい。これまで吸血蚊を採集するためにいろいろなトラップが考案され利用されてきた(Silver, 2008)。北米のウエストナイルウイルスの大流行に関して近年行わ

れている野外調査では、吸血蚊の採集にCO₂トラップ、Gravidトラップ、電動式吸引機、resting boxなどが利用されている(Kilpatrick et al., 2006a, b; Molaei et al., 2006; Kent and Norris, 2005; Kent et al., 2007; Hamer et al., 2008, 2009)。しかしながら、これらの方法によって採集される吸血蚊の個体数はいずれの方法でも多くはなく、蚊の吸血嗜好性や原虫感染率を推定するために十分な個体数を得るには、多数のトラップを複数の調査地に設置し調査を長期間継続する必要がある、多大の労力と時間がかかる。

なんらかのトラップを用いる方法は労力がかかるわりに得られる個体数が少ないことを考慮すると、トラップを使用せず捕虫網によって採集する方が簡便である。林試の森公園の植生や蚊の潜伏場所に関してはある程度把握できていたので、吸血蚊採集には捕虫網を用いることにした。吸血蚊が潜伏に利用する場所は種類によって異なるが(中尾1959a, b; 緒方ら1968; 和田, 1970; Service, 1971; Morris, 1981; Irby and Apperson, 1992; Burkett-Cadena et al., 2008)、草本植物や背の低い灌木の葉裏や根本、樹幹の割れ目や樹洞などを利用する種類が知られている。予め林試の森公園を植生の構造と種類の違いによって大きく3つに区分し、捕虫網を用いて予備的に休息蚊の採集を行ったところ、優占種のヒトスジシマカとアカイエカの吸血蚊は大きな樹木が茂り、林床にシャガ、ヤブラン、キチジョウソウなど常緑多年生草本植物が茂っている場所で比較的多数採集された。そこで、この場所を選んで捕虫網による休息蚊の採集を行った。採集時刻は、夜間に吸血した個体が植物上で休息し、昼間の休息場所に動く前に採集することを狙って、日の出直後の1時間とした。調査地の広さや蚊の密度を考慮すると、毎日多数の吸血蚊がいるとは思われないので、1回の採集時間を長くするよりも短時間の採集を何日間もくりかえす方が得られる吸血蚊数は多くなると考え、毎週2～3回の頻度で採集を繰り返した。

2007年4月から12月の期間に行った採集結果をTable 1に示した。捕虫網採集では吸血蚊だけでなく未吸血蚊も採集される。そのため、合計11種類27,116個体と予想外に多くの蚊が採集された。このうち吸血蚊は、合計732個体であった。この採集でもっとも興味深い結果は、Table 1の最上段に示されているように、東京の市街地にある公園にもかかわらず、コガタアカイエカ、*Cx. tritaeniorhynchus* Giles, が非常に多数採集されたことである。しかも採集された時期は9月から12月という、これまでの調査報告から考えて季節はずれの時期であり、これはまったく予想外の結果であった(Fig. 1)。

Table 1. Results of sweeping collection of resting mosquitoes conducted at Rinshi-no-mori park, Tokyo, Japan from April to December 2007.

Species	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Total	# blood-fed (%)
<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>			1	5	16	612	14,341	1,900	17	16,892	4 (0.02)
<i>Ae. albopictus</i>		42	131	1,006	3,223	1,699	1,080	65	2	7,248	436 (6)
<i>Cx. pipiens</i> gr.	3	123	310	365	284	126	654	217	10	2,092	249 (12)
<i>Cx. sasai</i>	2	2	6	2			268	211	6	497	18 (4)
<i>Lt. vorax</i>				10	59	18	128	50	1	266	23 (9)
<i>Or. anopheloides</i>					42	7	3			52	2 (4)
<i>Ar. subalbatus</i>			1	1	7	17	1			27	0 (0)
<i>Cx. orientalis</i>							16			16	0 (0)
<i>Cx. rubithoracis</i>							12	1		13	0 (0)
<i>Cx. bitaeniorhynchus</i>			1	2		5	1			9	0 (0)
<i>Cx. inatommii</i>							4			4	0 (0)

Fig. 1. Number of *Cx. tritaeniorhynchus* females collected from vegetation by sweeping and daily changes in average temperature and the day length in Tokyo, Japan from April to November 2007.

(2) コガタカイエカの季節消長に関するこれまでの見解

コガタカイエカの生態に関しては、過去に多くの研究が我が国で行われている；成虫の発生消長(Fukumi et al., 1975; Wada et al., 1975; Mogi, 1978; Watanabe et al., 1990; Matsuzaki, 1990; Takagi et al., 1995), 休息場所(緒方ら, 1968; 和田, 1970), 分散(Wada et al., 1969), 吸血様式(Mwandawiro et al., 1999), 吸血時間(Mogi et al., 1970), 光周反応(Oda and Wada, 1973; Oda et al., 1978), 越冬生態(Omori et al., 1965a, b; Ito et al., 1986; Wada et al., 1967, 1973), 日本脳炎ウイルスの媒介生態(Buescher and Scherer, 1959; Hayashi et al., 1975; Scherer et al., 1959). これらの研究結果に基づいて成虫の季節消長を

以下のようにまとめることができる。コガタカイエカの繁殖は九州地方では3月末にはじまり9月末から10月初めに終了する。動物舎に設置したライトトラップでの調査によると、繁殖の開始時期は北の地域ほど遅くなるが、捕獲個体数が9月末に激減することは各地の調査で一致している。このような季節消長はわが国に限らず他の温帯地方、韓国や中国でもほぼ同様である。(Fukumi et al., 1975; Wada et al., 1975; Reisen et al. 1976; Matsuzaki, 1990; Watanabe et al., 1990; Ming et al., 1993; Takagi et al., 1995; Ming and Xue, 1996; Kim et al., 1999).

9月末から10月に羽化した成虫は卵巣が未発達で吸血せず、いわゆる繁殖休眠の状態で翌春まで越冬する。羽化成虫が繁殖休眠に入る条件としては幼虫期の気温と日長が重要であり、仙台系統を24℃、日長13時間30分の組み合わせで飼育した場合99.2%が繁殖休眠に入り、長崎系統の臨界日長は13時間という調査結果がある(和田ら未発表)。東京の個体群の臨界日長はこの間にあると考えるのが妥当であろう。実際には日の出と日没の前後に30分ほどの薄明薄暮の時期があるので、これを考慮して生物学的日長(日の出から日没までの時間に薄明薄暮1時間を加えた値)を求めるのが実地的である。生物学的日長が13時間30分および13時間になるのは東京では9月13日および9月27日で、この時期を境にして繁殖世代から休眠世代への切り替わりが徐々に進展する。Kawai (1969)によれば、長崎で9月末から10月上旬に産卵された卵は孵化して、その後10月末までに50%以上が羽化し、羽化成虫はすべて繁殖休眠に入った。さらに10月中旬以降に産卵された卵は孵化してその一部(30%程度)は成虫まで发育するが、多くは12月までに幼虫で死亡している。

Table 2. Results of sweeping collection of *Cx. tritaeniorhynchus* at Rinshi-no-mori Park, Tokyo, Japan during 2007 to 2010.

	2007	2008	2009	2010
Overwintered females ¹	—	11	211	12
Total females collected	14,090	27,471	2,666	9,093
Total males collected	2,802	1,717	662	1,150
Total adults	16,892	29,188	3,328	10,243
Total hrs examined	45	42	36	30
No females/hr	375	694	93	341
Proportion of females	83	94	80	89
Parity (%)	4	3	7	2
Proportion diapausing	85	97	93	90

¹ Total number of females collected in March and April.

(3) 林試の森公園へのコガタアカイエカの飛来と越冬

過去の調査で明らかになったコガタアカイエカの季節消長を踏まえて、表1に示したコガタアカイエカの捕獲個体数の推移を見ると、飛来した個体は10月と11月に集中しており、越冬世代であると予想された。そこで飛来した個体(約200個体)を解剖し濾胞の発育状態を調べたところ、多くの個体は濾胞が小さく繁殖休眠状態に入っていることがわかった(Tsuda and Kim, 2008, 2010)。林試の森への集団飛来は2007年以降継続して調べているが、毎年ほぼ同じ時期に飛来が観察されている。Tsuda and Kim (2010)の報告に2009年と2010年の調査結果を加えてTable 2に示した。調査した4年間で飛来総数は2009年が最も少なく3,328個体、2008年が最も多く約9倍の29,188個体であった。飛来個体の中には雄も含まれているが、どの年も雌の方がはるかに多く、捕獲個体全体の83~94%を占めていた。繁殖休眠に入っていると判定された個体の割合は、85~97%で、少なくとも1回は産卵した経験のある雌の割合は全体のわずか2~7%であった。

濾胞の発育状態を調べるために飛来個体を解剖すると、腹部に多量の油滴を蓄えた個体がいることに気づく。飛来数が最も多い10月の採集個体について、油滴量を微量(+)から著しく多量(++++)まで、5段階に分けて記録し初旬、中旬、下旬の3期に分けて集計してFig. 2に頻度分布を示した。観察した3シーズンの結果はほぼ同様の傾向を示していた。10月上旬には油滴量が2番目に少ない(++)個体の頻度が最も高く、著しく多い個体(++++)はわずかである。これに対して10月下旬になると油滴量が多い(++++)個体の頻度が最も高く、著しく多い(++++)個体の比率も高い。このように季節の進行に伴って体内の脂肪の蓄積が進んでいることがわかる。越冬成虫が体内に多量の脂肪を蓄積しているという報告は他の種類の蚊でも報告されており、冬

Fig. 2. Fat body development in females *Cx. tritaeniorhynchus* collected from vegetation in October 2008, 2009 and 2010 in Tokyo.

季の生存に有利であると考えられている (Kliewer et al., 1969; Nelson, 1971; Mitchell, 1988).

2007年と2008年には林試の森公園で多数の飛来が確認された10月に、東京都内と千葉県内の公園でも調査

を行い、調査した公園のほとんどで同じようにコガタアカイエカの飛来が確認された(Tsuda and Kim, 2008). 林試の森公園でコガタアカイエカが多数採集される場所には、シャガ、ヤブラン、キチジョウソウが茂っている。笹やイネ科の1年草が茂っているような場所ではほとんど捕獲されない。他の公園の調査でも、ヤブランが茂っている場所でもコガタアカイエカがよく採集される傾向がある。ヤブランやキチジョウソウは常緑広葉樹林の林床に生育する植物である(平田ら, 2006). 林試の森公園の採集場所も、シイなど常緑広葉樹の樹冠で覆われた林床で、常緑の低木(アオキやヤツデなど)に混じってこれらの植物が茂っている。2008年に調査した千葉県泉自然公園は、我々がこれまでに調査した限りでは、林試の森公園の次に飛来個体数が多い公園である。この泉自然公園でコガタアカイエカが採集される場所も大きな樹の樹冠で覆われている点は林試の森公園と共通していたが、林床の植生は林試の森とは異なり、シダ植物やツタで覆われていた。

これまでの調査でコガタアカイエカが多数採集されている場所の植生から考えて、越冬世代成虫は常緑広葉樹林を目指して移動していると推察している。適当な常緑広葉樹林に飛来した直後は、成虫の脂肪の蓄積量は少ない。その後徐々に脂肪の蓄積が進行する。このころ常緑広葉樹林の林床では、ヤブランやキチジョウソウなどの多年生草本植物が開化期を迎えている。恐らくこれらの花などから吸蜜した糖分を脂肪として蓄積しているものと思われる。1個体に注目した時、季節移動は1回きりなのか、それとも移動期間が存在しその期間中は何度も移動を繰り返すのか、どちらであるかは今のところわからない。たまたま飛来した林の条件が良ければそのまま留まり、条件が悪ければ移動してよりよい場所を探すと推測している。9月から10月にかけての期間、蚊以外にクモ(カニグモやハエトリグモなど)の幼虫や若虫が多数捕獲され、ネットの中で盛んに蚊を捕食する。これらのクモは体が小さく狭い隙間にも入り込むことができるので、その活発な動きから考えて蚊がクモに捕食されるリスクはかなり大きいと予想される。したがって、気温が高く活動可能な時期には、クモが同所的に生活している場所では蚊がクモの捕食を逃れることができるように、狭い空間には留まっていないだろうと推察している。クモ以外の天敵としてアリが考えられるが、コガタアカイエカが捕獲されるような場所ではアリと一緒に捕獲されることは稀であり、アリによる捕食は問題にならないように思われる。

常緑広葉樹林を目指した移動には大きな意味がある。森林の成立を左右する大きな要因は温度条件であり、常

緑樹の分布限界を制限しているのは冬の低温である(大沢, 1993)。常緑広葉樹の場合、地温が3~5℃以下に下がると根の吸水力が低下して乾燥が厳しい冬には乾燥害を受けることが知られており(酒井, 1975)、常緑広葉樹の林は最寒月の平均気温が5℃以上の地域に育つとされている。したがって、常緑広葉樹林に移動したコガタアカイエカには5℃以上の冬季平均気温が確保され、冬季の生存に重要な意味を持つと考えられる。東日本まで分布する代表的な常緑広葉樹であるスダジイの分布北限線は最寒月の平均気温=2℃とされている(吉岡, 1954)。シイノキの分布北限地域では、大きな林ではなく数本のシイノキが生やしヤブランやキチジョウソウなどの林床植物がある程度茂っていれば、そこもコガタアカイエカの越冬場所として利用される可能性があるように思われる。

翌春に越冬した成虫が現れる時期は、1965から1971年にかけて長崎で行われた研究によれば、1月1日からの日平均気温の累積値が651日度に達する3月下旬である(Wada et al. 1973)。林試の森公園の調査で越冬したコガタアカイエカが採れ始めた日は2008年4月1日(697.8日度)、2009年3月18日(597.4日度)、2010年3月16日(549.3日度)、2011年4月2日(628日度)であり、平均累積温量は618.1日度であるから、長崎とほぼ同様の生理的過程を経て休眠から覚醒していることを予想させる。2008年と2009年には平均気温の日変化から考えて、恐らく越冬中と思われる個体が合計4個体採集されている(2008年1月30日、2月23日、2009年2月15日、3月7日に各1個体)。3月中旬~4月にかけて林試の森公園で採集されたコガタアカイエカは、2008年11雌、2009年212雌、2010年12雌であった。前年の飛来個体数に比較するとかなり少ない個体数であるが、飛来した個体の一部がこの調査地周辺に留まり、翌春まで生存していたことは確かめられた。越冬したコガタアカイエカ成虫は林試の森公園以外では、泉自然公園で2009年4月8日に12雌がハマダライエカ、*Cx. orientalis* Edwards, (1雌)と共に採集されている(Tsuda and Kim, 2010)。

コガタアカイエカ成虫の冬期の生存率に関する野外調査はこれまでまったく行われていない。その最大の理由はコガタアカイエカの越冬場所が不明であったためである。冬季のコガタアカイエカの採集に関しては過去に3つの報告がある。Bullock et al. (1959)は1957年9月、11月、12月、1958年1月に、千葉県市川市(新浜)の藪(*brush*)や松東などで数個体ずつ合計10個体、原田ら(1962)が1962年12月と1963年1月に城ヶ島のロックプール水面とブッシュで覆われた溝で合計4個体、和田

ら(1968)が1967年1月に伊豆半島の石切り場などで合計60個体を採集している。越冬に関する実験的な検討は、Omori et al. (1965a)が行っている。実験室で羽化させた成虫約200対を2%砂糖水と共にケージに入れ、気温や明るさの異なる3つ場所(地下室、動物舎内、北側階段踊り場)に設置して、10月末から翌春までの生存個体数を調査している。幼虫飼育時の日長条件に関しては記述されていないが、吸血させた成虫とさせなかった成虫の比較を行っていることから、実験に用いた成虫は休眠成虫ではなかったと思われる。これら成虫の翌春4月初めまでの生存率を生存曲線から読み取ると、5~10%で、もっとも長命な個体は6月まで生存していた。大森らはこの実験結果に基づいて、越冬には昼夜を通じて暗黒な条件が重要で、気温の高低や温湿度の変化度合いはその次に重要な要因であると結論している。

林試の森公園に飛来した個体の場合も、実際の越冬場所がどこであるかは残念ながらいまだにわかっていない。そのため冬季生存率の野外での推定はできていない。しかし、Omori et al. (1965a)と似た発想で実験的な条件下での生存率を調べてみた。2010年11月9日に林試の森公園で採集された105個体を実験に用いた。採集時期から考えて供試個体はほとんどが繁殖休眠に入っていたと推測される。30 cm立方のプラスチック製飼育ケージを用い、実際にコガタアカイエカが採集される場所を模して、ケージ内にキチジョウソウ1株の鉢植えを設置した。ケージの床面は落ち葉や朽木片で覆い、5%砂糖水10 mlに脱脂綿の芯を刺したボトルと熟した柿を設置した。熟した柿はこの時期に野外で利用可能な吸蜜源の一つとして選んだ。ケージの設置場所は北に面した屋内で窓際に設置した。暖房設備はない。データロガーを使って2時間ごとに気温と湿度を記録した。11月から3月初めまでの湿度は平均58% (最低24%, 最高76%)であった。日平均気温と生存個体数をFig. 3に示した。ケージ設置場所の調査期間全体の平均気温は10.8℃ (最低7.8℃, 最高15.1℃)で、これに対して最も近い気象観測地点の平均気温は6.0℃ (最低2.0℃, 最高14.1℃)と約5℃の差が認められた。ケージ設置場所の日平均気温が5℃以下になることはなく、1月1日からの日平均気温の累積値が614.8日度を上回ったのは2月26日(619.4日度)であった。したがって、この条件下で3月初めまで生存していた個体はすでに休眠から覚醒していたと推測される。この時点で生存していた個体は3個体で、生存率は0.029 (3/105)であった。野外の気温との差を考慮すると、野外の越冬場所における生存率がこの値を上回るとは考えにくい。

冬季の生存率が0.029より低いだろうという推測の意

Fig. 3. Survival curve (broken line) of diapausing *Cx. tritaeniorhynchus* collected in October 2010 and kept under indoor conditions without temperature regulation. A total of 105 females were collected from vegetation and kept in a cage with a 5% sugar solution from November 2010 to March 2011. The air temperature in the rearing cage was recorded every 2 hr and the daily changes in average temperature during the study period was calculated (thick line).

味を考察するとき、関東地方がコガタアカイエカの地理的分布の北限に近い地域であることを理解しておくことが重要である。コガタアカイエカは東南アジアを中心に熱帯から温帯まで非常に広い地域に分布しており、熱帯地方恐らく東南アジアに起源を持つと考えるのが妥当と思われる。一般に昆虫類が熱帯から温帯に分布を広げる過程で大きな障壁となるのは、低温で乾燥する冬の実在である。本来南方系のコガタアカイエカが繁殖休眠という生理的な適応戦略を採用することによって低温乾燥の冬を生き延びることに成功し、温帯地方にまで分布を拡大したことは明らかである。しかしながら気象条件がより厳しい分布の北限地域では繁殖休眠によって冬季に高い生存率を達成することは難しく、個体群の存続にとって越冬が現在でもなお重大な生態的問題であると考えるのが妥当なように思われる。冬の気象条件がもう少し緩やかな西南日本で、コガタアカイエカの越冬生態を調査することが望まれる。

(4) 鳥マラリア原虫の媒介蚊と感染環

鳥マラリア原虫の媒介蚊としてこれまで報告されているのは、イエカ属、ヤブカ属、ヌマカ属、クロヤブカ属、ハボシカ属など多種類に及ぶ(Valkiunas, 2005)。これらの報告には実験的に感染させた例が含まれるため、野外で実際に鳥マラリア原虫を媒介している種類はこのうちの一部と考えられる。海外の鳥マラリア媒介蚊の野外研究は1950年代から行われているが、決して多くはない(例えばReeves et al., 1954; Rosen and Reeves, 1954; Applegate et al., 1971; Gogolin and Freier,

1986; Huijben, 2007; Massey et al., 2007; Ishtiaq et al., 2008; Njabo et al., 2009). 鳥マラリア媒介蚊について比較的詳しい調査が行われているのはハワイ諸島で、媒介蚊であるネッタイエカ, *Cx. quinquefasciatus* Sayと鳥マラリア原虫の侵入によって、固有の野鳥種が大きな影響を受けている (van Riper et al., 1986; van Riper, 1991; Ahumada et al., 2004; Reiter and LaPointe, 2007; Aruch et al., 2007).

我が国の野鳥の鳥マラリア原虫感染状況に関する研究は、古くは加納(1950)に始まる。Murata (2002)は1988年から2001年の13年間に治療のために動物園に持ち込まれた傷病野鳥701例について血液寄生性原虫の感染状況をまとめ、調査した10.6%で感染が認められたと報告している。さらに蚊によって媒介される *Plasmodium* 属の鳥マラリア原虫に感染していた野鳥としては、キジバト, *Streptopelia orientalis*, タシギ, *Gallinago gallinago*, ゴイサギ, *Nycticorax nycticorax*, ヒヨドリ, *Hypsipetes amaurotis*, ハシブトガラス, *Corvus macrorhynchos*, がリストされている。鳥マラリア原虫に感染したこれらの野鳥を吸血した蚊がペンギンを吸血し、ペンギンマラリアを引き起こしていると考えられることから、我が国の動物園を対象とした鳥マラリア原虫の媒介蚊に関する調査が行われている (Ejiri et al., 2009, 2011, 松本ら, 2006)。また、野鳥における感染環の調査を目的として、郊外に位置する大学農場や渡り鳥の飛来地、都市部の公園などを対象にした媒介蚊相調査と鳥マラリア原虫の検出も行われている (Ejiri et al., 2008; Kim et al., 2009a, b; 城谷ら, 2009; Tsuda et al., 2009a, b; Kim and Tsuda, 2010)。これらの研究の中から、Kim and Tsuda (2010)を中心に、林試の森公園で採集された蚊サンプルに基づいた鳥マラリア原虫の分子生態学的研究を紹介する。

Table 1の右端の欄に2007年4月から12月に採集された吸血蚊の個体数を示した。多数の吸血蚊が採集されたのは、ヒトスジシマカ、アカイエカ、ヤマトクシヒゲカ、トラフカキカの4種類であった。中でもヒトスジシマカとアカイエカはそれぞれ436個体、249個体と多数のサンプルが集まった。ヒトスジシマカは2003年、2004年に同じ採集場所で作られた86の吸血蚊サンプルを分析して吸血源動物を同定したところ、92%が哺乳類を吸血しており、鳥由来の血液を吸血していた個体はわずかに5%であった。他の地域の分析結果と総合して考えると、ヒトスジシマカが野鳥から吸血する機会は非常に少ないことがわかった (Sawabe et al., 2010)。これに対してアカイエカは、我が国の動物園や渡り鳥飛来地で行った調査の結果、鳥マラリア原虫のもっとも重要な媒介蚊であることが示唆されている (松本ら, 2006, Ejiri et

al., 2009, 2011, Kim et al., 2009b)。そこで鳥マラリア原虫の分析の対象として、アカイエカを選んだ。

(5) 蚊体内での鳥マラリア原虫の発育と吸血蚊からの原虫検出結果の対応関係

鳥マラリア原虫を媒介できる蚊の種類は限られる。また鳥マラリア原虫には数十種が知られており、それぞれの原虫種によって媒介蚊の種類は異なっている (Valkiunas, 2005)。これを蚊の立場からいいかえると、媒介できる鳥マラリア原虫もあれば媒介できないものもある。最近の鳥マラリア原虫の研究は、ある地域の鳥マラリア原虫がとて多様であることや、1種類の鳥類が複数種の原虫の宿主になっていることを報告している (Bensch et al., 2000, 2007; Ricklefs et al., 2005; Fallon et al., 2005)。したがってある調査地の分析対象の蚊を1種類に限っても、媒介できる原虫と媒介できない原虫が複数種存在していることが予想される。このような状況の中で鳥マラリア原虫の感染環を明らかにするためには、蚊から検出された原虫のどれが媒介可能な原虫で、どれがそうでないのかを区別し、さらに検出された原虫の宿主鳥類を推測する必要がある。

吸血蚊を分析する際に1個体を胸部と腹部に二分し、腹部からは血液源動物の同定と鳥マラリア原虫の検出を行い、胸部からは鳥マラリア原虫の検出を行うことで、媒介可能な原虫とそうでない原虫を推測できないかと考えた。蚊が媒介できる鳥マラリア原虫は、血液と共に蚊に取り込まれた後、蚊の中腸壁でオーシストを形成し、スポロゾイトの生産を行う。この発育段階までは原虫は蚊の腹部にのみ存在しているはずである。その後オーシストが破裂してスポロゾイトが体内に泳ぎ出すと、胸部や唾液腺に原虫が移動するので、PCRによって原虫のDNAを増幅させると蚊の腹部だけでなく胸部からも原虫が検出されるはずである。一方鳥マラリア原虫を媒介できない蚊の場合は、感染した鳥から原虫を取りこんでも、オーシストが形成されないため、原虫が検出されるのは腹部に感染血液が残っている短期間に限られ、胸部から検出されることはないと考えられる。これらの予測が実際に成り立っているかどうかを、ニワトリマラリア, *P. gallinaceum*, とネッタイシマカ *Ae. aegypti* (Linnaeus)を用いた感染実験によって調べた (Kim et al., 2009a)。その結果、感染させたニワトリを吸血したネッタイシマカは、予想通り吸血後8日目までは腹部のみで原虫のDNAが増幅されたが、9日目以降には、腹部と胸部の両方で原虫DNAが増幅されることが確かめられた。したがって、蚊の胸部から検出される鳥マラリア原虫は、その種類の蚊によって媒介されている可能性が高

いと考えてもよいと結論した。ただし、ニワトリマラリアを媒介できないアカイエカを用いた比較実験で、胸部から原虫DNAが検出される場合があることから、野外捕集蚊からの鳥マラリア原虫検出結果の考察は、他の情報を加味して注意深く行う必要があると考えている。

(6) 林試の森公園のアカイエカからの鳥マラリア原虫の検出

アカイエカのサンプルからの原虫検出の結果は興味深い。林試の森公園で採集された未吸血蚊 (un-fed mosquito, 吸血しておらず体内に動物の血液を持たない蚊) 643個体は腹部のみを用いて、1–10個体を1プールとして、合計71プールに分けて分析した。その結果22プール(31%)で原虫のDNAが検出された。原虫が検出された10プールをランダムに選び、取り分けておいた胸部を1個体ずつ分析して、原虫陽性個体を調べた結果、1プールあたり平均1.5匹の原虫陽性個体が含まれていた。この値から分析に用いた643個体に含まれていた原虫陽性個体数を求め、感染蚊率を推定したところ5%であった。アカイエカ(未吸血蚊)の原虫感染率は、2007年に実施した東京港野鳥公園の場合、プールあたり感染率は24%(=11/64)で、原虫陽性プールに陽性個体が1個体含まれていると仮定して求めた感染蚊率は、3%であった(Kim et al., 2009b)。ヒトのマラリア原虫の場合、流行地における感染蚊率は数%から10%程度であることが知られている(例えば、Kent et al., 2007; Krafur, 1977; Rao, 1984; Trung et al., 2004; Maekawa et al., 2009)。したがって媒介蚊の感染蚊率から推測する

と、鳥マラリアの流行はかなり盛んであると考えられる。この結果は温帯地方であっても蚊によって媒介される病原体が効率よく伝播されていることを示しており、蚊が病気を媒介するのは熱帯地方に限らないことが再確認される。なお、ベネズエラで野鳥の鳥マラリア感染率と媒介蚊の原虫陽性率を調べた研究では、コウノトリ目の23種類の感染率が親鳥5.8%、雛53.6%、ガン・カモ類など9種類の鳥では親鳥6.5%、雛26.9%で、媒介蚊とされる *Aedeomyia squamipennis* (Lynch Arribáizaga) の感染蚊率は伝播のピーク時に4.5%に達しており、大流行(Holoendemic)の状態であると報告されている(Gabaldon and Ulloa, 1980)。

吸血源動物の同定結果と鳥マラリア原虫の検出結果をTable 3に示した。2007年5月から2008年5月にかけて採集された371個体の吸血蚊のうち、腹部に残っていた血液からDNAを抽出しその塩基配列から動物の種類を推定できたのは、220個体であった。分析に用いた吸血蚊の中には産卵直前の個体(Gravid)も含まれており、このようなサンプルではDNAを得ることが難しく吸血源動物を同定できなかった。同定された動物の種類は1個体を除いてすべて鳥類であった。ヒトを吸血していた個体はわずかに1個体だけであった。同定された鳥類は13種類で、吸血された頻度が高かったのは、ハシブトガラス(63.8%)、スズメ(*Passer montanus*) (12.8%)、シジュウカラ(*Parus major*) (6.8%)で、3種類を合わせた構成割合は83.4%に達した。これらはいずれも留鳥で、ほぼ一年中この調査地で生活している。他に吸血源として同定された野鳥にはシメ(*Coccothraustes coccothraustes*)、シロ

Table 3. Results of blood-meal identification and avian malaria parasite prevalence in blood-fed *Cx. pipiens pallens* collected in Rinshi-no-mori park, Tokyo, Japan from May 2007 to May 2008.

Blood-source	No. of mosquitoes	Plasmodium +	Parasite prevalence (%)
Jungle crow (<i>Corvus macrorhynchos</i>)	141	39	29.1
Tree sparrow (<i>Passer montanus</i>)	28	6	21.4
Great tit (<i>Parus major</i>)	15	6	40
Dusky thrush (<i>Turdus naumanni</i>)	9	0	0
Japanese white-eye (<i>Zosterops japonicus</i>)	6	1	16.7
Hawfinch (<i>Coccothraustes coccothraustes</i>)	5	1	20
Oriental turtle-dove (<i>Streptopelia orientalis</i>)	3	0	0
White-cheeked starling (<i>Sturnus cineraceus</i>)	4	0	0
Pale thrush (<i>T. pallidus</i>)	3	0	0
Azure-winged magpie (<i>Cyanopica cyanus</i>)	2	0	0
Brown-eared bulbul (<i>Microscelis amaurotis</i>)	1	0	0
Grey-bunting (<i>Emberiza variabilis</i>)	1	0	0
Eyebrowed thrush (<i>T. obscurus</i>)	1	0	0
Human (<i>Homo sapiens</i>)	1	0	0
Total	220	53	24.1

ハラ (*Turdus pallidus*), マミチャジナイ (*T. obscurus*) のような渡り鳥も含まれていた。鳥マラリア原虫が検出されたのは13種の野鳥のうち5種類で、原虫陽性率は16.7～40%と鳥の種類によって違いが見られた。

(7) 検出された鳥マラリア原虫の系統

アカイエカから検出された鳥マラリア原虫のDNAを抽出し、チトクロームb遺伝子の塩基配列を比較したところ、互いに配列が異なる合計10系統の鳥マラリア原虫が見つかった。1種類の蚊から検出される原虫系統の数がこれほど多いとは予測していなかった。吸血蚊の胸部と腹部に分けて検出された鳥マラリア原虫の系統を整理したところ、これら10系統の中で胸部と腹部の両方から検出されているのは3系統であった。またこれら3系統が検出された個体が吸血していた野鳥の種類は、ハシブトガラスとスズメであった。これらの結果から、3系統は少なくともハシブトガラスとスズメを宿主としてアカイエカによって媒介されていると結論した。

感染環が成立していると推測される3系統の中で、CXPIP09と呼ばれる系統はこの調査地の優占種で、Ejiri et al. (2009), Kim et al. (2009b) によってわが国のほかの調査地でも検出されているが、今のところ海外では報告がない。したがって、本邦産の蚊と留鳥に適応した系統である可能性が高い。これに対して、SGS1, PADOM02と呼ばれる2系統は海外でも報告されている分布の広い種類である。恐らく海外で感染した渡り鳥によって持ち込まれ、新しい媒介蚊としてアカイエカとの間に親和性を確立し、ハシブトガラスやスズメとの寄生関係を成り立たせることに成功したのだろう。これに対して、残りの7系統は吸血蚊の腹部からのみ検出されており、吸血源となった鳥が感染していたと推測している。これらの系統は胸部から検出されていないことから、少なくともアカイエカとの間にはまだ親和性が確立されていないと考えられる。このように鳥によって持ち込まれていても、今のところ定着に成功していないと思われる系統が見出されることは、鳥マラリア原虫以外の病原体の野鳥による持込の可能性をも示唆しており重要である。

(8) アカイエカの吸血源動物の種類と季節変化

吸血源動物の調査結果を月単位でまとめて、吸血パターン (feeding pattern) の季節変化を見ると、春先3月、4月には冬鳥を吸血している個体が70～80%を占めている。その後ハシブトガラスやスズメ、特にハシブトガラスの構成割合が著しく高くなり、9月には吸血源動物全体の約90%に達した。4月から8月は温帯地方の野鳥

の繁殖期であり、林試の森公園でもシジュウカラやスズメ、ハシブトガラスの営巣が行われている。営巣中の親鳥や雛は吸血されやすいと思われるが、アカイエカは吸血源となる野鳥の種類相の季節変化や行動・生態の変化に対応させて、吸血する動物の種類を変えていることがはっきり示されている。アカイエカはその時々を利用しやすい動物を吸血して効率よく繁殖していると考えられるが、このような習性がハシブトガラスやスズメを宿主動物とする鳥マラリア原虫系統の感染環を支えているのである。

(9) 蚊によって媒介される病原体の侵入・定着の生態学的基盤

これまで行われた吸血源動物の調査結果に基づいて、林試の森公園に生息しているアカイエカ、ヤマトクシヒゲカ、ヒトスジシマカと野鳥などの野生動物の生態的関係を以下のようにまとめることができる。アカイエカは鳥嗜好性が極めて高く (99.5%), 少なくとも13種類の野鳥から吸血していることがわかった。また、ヤマトクシヒゲカも調査した吸血蚊の86.7%が5種の野鳥を吸血しており、アカイエカと同様に鳥嗜好性が高い (Kim et al., 2009a)。これに対してヒトスジシマカはヒトを含む哺乳類を92%の個体が吸血しており、野鳥を吸血していた個体はわずかに5%であった。この公園に生息する蚊と動物は、蚊の吸血嗜好性に依存したいろいろな強さで間接的なつながりを持っている。そして野鳥とのつながりが強いアカイエカやヤマトクシヒゲカが、野鳥の鳥マラリア原虫の伝播や存続にかかわっている。つまり、都市域に生息する蚊の中には、吸血習性によって多様な野生動物 (野鳥) と接触し、その生態的関係を通じて実際に野鳥由来の病原体を伝播している種類が存在することが明らかになった。このことは、蚊を媒介者として人と動物の間で伝播する病原体が侵入・定着し流行するための生態学的条件が、既に都市域の公園や緑地に整っていることを示唆しており、媒介蚊の生態調査の重要性を再認識させている。

謝 辞

これまで私の研究をいろいろな形で支えてくださった、諸先輩や同僚、国内外の共同研究者の方々に心からお礼を申し上げます。特に長崎大学熱帯医学研究所で疾病媒介蚊の生態研究を始めた当時、素人の私を一から指導して下さった和田義人博士、高木正洋博士に感謝いたします。また、国立感染症研究所において媒介蚊研究を継続できたのは、小林睦生博士をはじめ昆虫医科学部の皆様のご理解とご協力によります。心から感謝いたし

ます。都市域の疾病媒介蚊調査を継続するにあたって、鳥マラリアに目をむける機会を与えてくださった日本大学村田浩一博士、佐藤雪太博士に深く感謝します。最後に、共同研究者として野外調査に協力し、吸血源動物の同定や鳥マラリア原虫の検出など分子生物学的分析を忍耐強く行ってくださった金京純博士に心から感謝いたします。

引用文献

- Ahumada, J. A., LaPointe, D. and Samuel, M. D. 2004. Modeling the population dynamics of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae), along an elevational gradient in Hawaii. *J. Med. Entomol.*, 41: 1157–1170.
- Anderson, R. M. and May, R. M. 1992. Infectious diseases of humans: dynamics and control. 757 pp., Oxford University Press, Oxford.
- Applegate, J. E., Beaudoin, R. L. and Seeley, Jr. D. C. 1971. The effect of spring relapse in English sparrows on infectivity of malaria to mosquitoes. *J. Wildl. Dis.*, 7: 91–92.
- Aruch, S., Atkinson, C. T., Safage, A. F. and LaPointe, D. A. 2007. Prevalence and distribution of pox-like lesions, avian malaria, and mosquito vectors in Kipahulu valley, Haleakala national park, Hawaii, USA. *J. Wildl. Dis.*, 43: 567–575.
- Bailey, N. T. J. 1982. The biomathematics of malaria. 210 pp., Charles Griffin & Company, London.
- Bak, U. B., Park, J. C. and Lim, Y. J. 1984. An outbreak of malaria in penguins at the Farm-land zoo. *Korean J. Parasit.*, 22: 267–272.
- Beier, J. C. and Stoskopf, M. K. 1980. The epidemiology of avian malaria in black-footed penguins *Spheniscus demersus*. *J. Zoo Anim. Med.*, 11: 99–105.
- Bensch, S., Hellgren, O. and Pérez-Tris, J. 2009. MalAvi: a public database of malaria parasites and related haemosporidians in avian hosts based on mitochondrial cytochrome b lineages. *Mol. Ecol. Resources*, 9: 1353–1358.
- Bensch, S., Stjernman, M., Hasselquist, D., Östman, Ö., Hansson, B., Westerdahl, H. and Pinheiro, R. T. 2000. Host specificity in avian blood parasites: a study of *Plasmodium* and *Haemoproteus* mitochondrial DNA amplified from birds. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 267: 1583–1589.
- Bensch, S., Waldenström, J., Jonzén, N., Westerdahl, H., Hansson, B., Sejberg, S. and Hasselquist, D. 2007. Temporal dynamics and diversity of avian malaria parasites in a single host species. *J. Anim. Ecol.*, 76: 112–122.
- Boakye, D. A., Tang, J., Trunc, P., Merriweather, A. and Unnasch, T. R. 1999. Identification of bloodmeals in haematophagous diptera by cytochrome B heteroduplex analysis. *Med. Vet. Entomol.*, 13: 282–287.
- Buescher, E. L., and Scherer, W. F. 1959. Ecologic studies of Japanese encephalitis virus in Japan: IX. epidemiologic correlations and conclusions. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 8: 719–722.
- Bullock, H. R., Murdoch, W. P., Fowler, H. W. and Brazzel, H. R. 1959. Note on the overwintering of *Culex tritaeniorhynchus* Giles in Japan. *Mosq. News*, 19: 184–188.
- Burkett-Cadena, N. D., Eubanks, M. D. and Unnasch, T. R. 2008. Preference of female mosquitoes from natural and artificial resting sites. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 24: 228–235.
- Ejiri, H., Sato, Y., Kim, K. S., Hara, T., Tsuda, Y., Imura, T., Murata, K. and Yukawa, M. 2011. Entomological study on transmission of the avian malaria parasite in a zoological garden in Japan: Blood-meal identification and detection of avian malaria parasite DNA from blood-fed mosquitoes. *J. Med. Entomol.*, 48: 600–607.
- Ejiri, H., Sato, Y., Sasaki, E., Sumiyama, D., Tsuda, Y., Sawabe, K., Matsui, S., Horie, S., Akatani, K., Takagi, M., Omori, S., Murata, K. and Yukawa, M. 2008. Detection of avian *Plasmodium* spp. DNA sequences from mosquitoes captured in Minami Daito Island of Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 70: 1205–1210.
- Ejiri, H., Sato, Y., Sawai, R., Sasaki, E., Matsumoto, R., Ueda, M., Higa, Y., Tsuda, Y., Omori, S., Murata, K. and Yukawa, M. 2009. Prevalence of avian malaria parasite in mosquitoes collected at a zoological garden in Japan. *Parasitol. Res.*, 105: 629–633.
- Fallon, S. M., Bermingham, E. and Ricklefs, R. E. 2005. Host specialization and geographic localization of avian malaria parasites: a regional analysis in the Lesser Antilles. *Am. Nat.*, 165: 466–480.
- Fix, A. S., Waterhouse, C., Greiner, E. C. and Stoskopf, M. K. 1988. *Plasmodium relictum* as cause of avian malaria in wild-caught magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*). *J. Wildl. Dis.*, 24: 610–619.
- Fukumi, H., Hayashi, K., Mifune, K., Shichijo, A., Matsuo, S., Omori, N., Wada, Y., Oda, T., Mogi, M. and Mori, A. 1975. Ecology of Japanese encephalitis virus in Japan. I. Mosquito and pig infection with the virus in relation to human incidence. *Trop. Med.*, 17: 97–110.
- Gabaldon, A. and Ulloa, G. 1980. Holoendemicity of malaria: an avian model. *Trans. R. Trop. Med. Hyg.*, 74: 501–507.
- Gogolin, L. R. and Freier, J. E. 1986. Avian malaria among house sparrows: a survey of disease and mosquito vectors (Diptera: Culicidae) in Reed City, Michigan. *The Great Lake Entomol.*, 19: 43–50.
- Hamer, G. L., Kitron, U. D., Brawn, J. D., Loss, S. R., Ruiz, M. O., Goldberg, T. L. and Walker, E. D. 2008. *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae): a bridge vector of West Nile virus to humans. *J. Med. Entomol.*, 45: 125–128.
- Hamer, G. L., Kitron, U. D., Goldberg, T. L., Brawn, J. D., Loss, S. R., Ruiz, M. O., Hayes, D. B. and Walker, E. D. 2009. Host selection by *Culex pipiens* mosquitoes and West Nile virus amplification. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 80: 268–278.
- 原田文雄，小林一郎，森谷清樹，原田久雄，石井襄二。

1962. 日本脳炎の疫学に関する野外実験(2)神奈川県下の越冬蚊採集成績. 神奈川県衛生年報, 12: 66-79.
- Hayashi, K., Mifune, K., Shichijo, A., Suzuki, H., Matsuo, S., Makino, Y., Akashi, M., Wada, Y., Oda, T., Mogi, M. and Mori, A. 1975. Ecology of Japanese encephalitis virus in Japan. III. The results of investigation in Amami island, southern part of Japan, from 1973 to 1975. *Trop. Med.*, 17: 129-142.
- Higa, Y., Hoshino, K., Tsuda, Y. and Kobayashi, M. 2006. Dry ice-trap and human bait collection of mosquitoes in the eastern part of Hokkaido, Japan. *Med. Entomol. Zool.*, 57: 93-98.
- Huijben, S., Schaftenaar, W., Wijman, A., Paaijman, K. and Takken, W. 2007. Avian malaria in Europe: an emerging infectious disease? In: Emerging pests and vector-borne diseases in Europe. (ed. Takken, W. and Knols, B.G.J.), pp. 59-74, Wageningen Academic Publishers, Wageningen.
- 平田晶子, 上条隆志, 中村 徹. 2006. 関東地方東部における人工林の種組成とその地理的分布. 植生学会誌, 23: 119-136.
- Irby, W. S. and Apperson, C. S. 1992. Spatial and temporal distribution of resting female mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the coastal plain of North Carolina. *J. Med. Entomol.*, 29: 150-159.
- Ishtiaq, F., Guillaumot, L., Clegg, S. M., Phillimore, A. B., Black, R. A., Owens, I. P. F., Mundy, N. I. and Sheldon, B. C. 2008. Avian haematozoan parasites and their association with mosquitoes across Southwest Pacific Islands. *Mol. Ecol.*, 17: 4545-4555.
- Ito, S., Buei, K., Yoshida, M. and Nakamura, H. 1986. Ecological studies on the overwintering of mosquitoes, especially *Culex tritaeniorhynchus* Giles in Osaka Prefecture. 2. Physiological age composition of overwintered females and population density of adults and larvae in autumn. *Jpn. J. Sanit. Zool.*, 37: 341-347.
- 加納六郎. 1950. 鳥マラリアの研究(2)日本産野鳥の鳥マラリアの感受性. 日本細菌学雑誌, 5: 77-80.
- Kawai, S. 1969. Studies on the follicular development and feeding activity of the females of *Culex tritaeniorhynchus* with special reference to those in autumn. *Trop. Med.*, 11: 145-169.
- Kent, R., Juliusson, L., Weissmann, M., Evans, S. and Komar, N. 2009. Seasonal blood-feeding behavior of *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) in Weld County, Colorado, 2007. *J. Med. Entomol.*, 46: 380-390.
- Kent, R. J. and Norris, D. E. 2005. Identification of mammalian blood meals in mosquitoes by a multiplexed polymerase chain reaction targeting cytochrome B. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 73: 336-342.
- Kent, R. J., Thuma, P. E., Mharakurwa, S. and Norris, D. 2007. Seasonality, blood feeding behavior, and transmission of *Plasmodium falciparum* by *Anopheles arabiensis* after an extended drought in southern Zambia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 76: 267-274.
- Kilpatrick, A. M., Daszak, P., Jones, M. J., Marra, P. P. and Kramer, L. D. 2006a. Host heterogeneity dominates West Nile virus transmission. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 273: 2327-2333.
- Kilpatrick, A. M., Kramer, L. D., Campbell, S. R., Alleyne, E. O., Dobson, A. P. and Daszak, P. 2005. West Nile virus risk assessment and the bridge vector paradigm. *Emerg. Infect. Dis.*, 11: 425-429.
- Kilpatrick, A. M., Kramer, L. D., Jones, M. J., Marra, P. P. and Daszak, P. 2006b. West Nile virus epidemics in North America are driven by shifts in mosquito feeding behavior. *Plos Biol.*, 4: 1-5.
- Kim, H. C., Lee, K. W., Klein, T. A. and Strickman, D. A. 1999. Seasonal prevalence of mosquitoes collected from light trap in Korea (1995-1996). *Korean J. Entomol.*, 29: 181-187.
- Kim, K. S., Tsuda, Y., Sasaki, T., Kobayashi, M. and Hirota, Y. 2009a. Mosquito blood meal analysis for avian malaria study in wild bird communities: laboratory verification and application to *Culex sasai* (Diptera: Culicidae) collected in Tokyo, Japan. *Parasitol. Res.*, 105: 1351-1357.
- Kim, K. S., Tsuda, Y. and Yamada, A. 2009b. Blood-meal identification and detection of avian malaria parasite from mosquitoes (Diptera: Culicidae) inhabiting coastal areas of Tokyo Bay, Japan. *J. Med. Entomol.*, 46: 1230-1234.
- Kim, K. S. and Tsuda, Y. 2010. Seasonal changes in feeding pattern of *Culex pipiens pallens* govern transmission dynamics of multiple lineages of avian malaria parasite in Japanese wild bird community. *Mol. Ecol.*, 19: 5545-5554.
- Kliewer, J. W., Miura, T. and Chapman, H. C. 1969. Seasonal occurrence and physiology of *Culex tarsalis* in the foothills of Fresno County, California. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 62: 13-18.
- Krafsur, E. S. 1977. The biology and relative prevalence of *Anopheles* species with respect to the transmission of *Plasmodium* to man in western Ethiopia. *J. Med. Entomol.*, 14: 180-194.
- Lee, J. H., Hassan, H., Hill, G., Cupp, E. W., Higazi, T., Mitchell, C. J., Godsey, Jr., M. S. and Unnasch, T. R. 2002. Identification of mosquito avian-derived blood meals by polymerase chain reaction-heteroduplex analysis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 66: 599-604.
- Macdonald, G. 1957. The epidemiology and control of malaria. pp. 201., Oxford University Press, London.
- Maekawa, Y., Tsuda, Y., Dachlan, Y. P., Yotopranto, S., Gerudug, I. K. K., Yoshinaga, K., Kanbara, H. and Takagi, M. 2009. Anopheline fauna and incriminatory malaria vectors in malaria endemic areas on Lombok Island, Indonesia. *Med. Entomol. Zool.*, 60: 1-11.
- Massey, B., Glesson, D. M., Slaney, D. and Tompkins, D. M. 2007. PCR detection of *Plasmodium* and blood meal identification in a native New Zealand mosquito. *J. Vect. Ecol.*, 32: 154-156.
- 松本令以, 植田美弥, 佐藤雪太, 比嘉由紀子, 津田良夫, 澤辺京子, 村田浩一. 2006. よこはま動物園における鳥マラリアの発生と対策. 獣医畜産新報, 59: 827-830.

- Matsuzaki, S. 1990. Population dynamics of *Culex tritaeniorhynchus* in relation to the epidemics of Japanese encephalitis in Kochi Prefecture, Japan. *Jpn. J. Sanit. Zool.*, 41: 247–255.
- Ming, J. G. and Xue, M. 1996. Progress in studies on the overwintering of the mosquito *Culex tritaeniorhynchus*. *Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Hlth.*, 27: 810–817.
- Ming, J. G., Jin, H., Riley, J. R., Reynolds, D. R., Smith, A. D., Wang, R. L., Cheng, J. Y. and Cheng, X. N. 1993. Autumn southward return migration of the mosquito *Culex tritaeniorhynchus* in China. *Med. Vet. Entomol.*, 7: 323–327.
- Mitchell, C. J. 1988. Occurrence, biology, and physiology of diapause in overwintering mosquitoes, pp. 191–218. In: T. P. Monath (ed.), *The arboviruses: epidemiology and ecology*, vol. 1. CRC, Boca Raton, FL.
- Mogi, M. 1978. Population studies on mosquitoes in the rice field area of Nagasaki, Japan especially on *Culex tritaeniorhynchus*. *Trop. Med.*, 20: 173–263.
- Mogi, M., Kawai, S., Oda, T., Nishigaki, J., Suenaga, O., Ito, S., Miyagi, I., Wada, Y. and Omori, N. 1970. Ecology of vector mosquitoes of Japanese encephalitis, especially of *Culex tritaeniorhynchus* 3. Seasonal changes in the time of being attracted to dry ice in the females of *Culex tritaeniorhynchus*. *Trop. Med.*, 12: 122–127.
- Molaei, G., Andreadis, T. G., Armstrong, P. M., Anderson, J. F. and Vossbrinck, C. R. 2006. Host feeding patterns of *Culex* mosquitoes and West Nile virus transmission, Northeastern United States. *Emerg. Inf. Dis.*, 12: 468–474.
- Morris, C. D. 1981. A structural and operational analysis of diurnal resting shelters for mosquitoes (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.*, 18: 419–424.
- Mukabana, W. R., Takken, W., Seda, P., Killeen, G. F., Hawley, W. A. and Knols, B. G. 2002. Extent of digestion affects the success of amplifying human DNA from blood meals of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae). *Bull. Entomol. Res.*, 92: 233–239.
- Murata, K. 2002. Prevalence of blood parasites in Japanese wild birds. *J. Vet. Med. Sci.*, 64: 785–790.
- Murata, K., Nii, R., Sasaki, E., Ishikawa, S., Sato, Y., Sawabe, K., Tsuda, Y., Matsumoto, R., Suda, A. and Ueda, M. 2008. *Plasmodium* (*Bennettinia*) *juxtannucleare* infection in a captive white eared-pheasant (*Crossoptilon crossoptilon*) at a Japanese zoo. *J. Vet. Med. Sci.*, 70: 203–205.
- Mwandawiro, C., Tuno, N., Suwonkerd, W., Tsuda, Y., Yanagi, T. and Takagi, M. 1999. Host preference of Japanese encephalitis vectors in Chiangmai, Northern Thailand. *Med. Entomol. Zool.*, 50: 323–333.
- 中尾舜一. 1959a. 草地の日間潜伏蚊類群集の生態学的研究. 第1報, 群集構造の動態. 衛生動物, 10: 1–7.
- 中尾舜一. 1959b. 草地の日間潜伏蚊類群集の生態学的研究. 第3報, 数種の蚊の潜伏習性. 衛生動物, 10: 8–15.
- Njabo, K. Y., Cornel, A. J., Sehgal, R. N. M., Loiseau, C., Buermann, W., Harrigan, R. J., Pollinger, J., Valkiunas, G. and Smith, T. B. 2009. *Coquillettidia* (Culicidae, Diptera) mosquitoes are natural vectors of avian malaria in Africa. *Mal. J.*, 8: 193.
- Nelson, M. J. 1971. Mosquito studies (Diptera: Culicidae) XXVI. Winter biology of *Culex tarsalis* in Imperial valley, California. *Contr. Am. Entomol. Inst.*, 7: 1–56.
- Oda, T. and Wada, Y. 1973. On the gonotrophic dissociation in *Culex tritaeniorhynchus summorosus* females under various conditions. *Trop. Med.*, 15: 189–195.
- Oda, T., Wada, Y. and Mori, A. 1978. Follicular degeneration in unfed nulliparous females of *Culex tritaeniorhynchus*. *Trop. Med.*, 20: 153–155.
- 緒方一喜, 田中生男, 水谷 澄, 鈴木 猛, 大畑吉春, 西沢 伝, 小林英夫. 1968. コガタアカイエカ成虫の係留場所に関する観察成績. 衛生動物, 19: 38–43.
- Omori, N., Ito, S., Takenokuma, M., Mifune, K., Shichijo, A. and Hayashi, K. 1965a. Experimental hibernation of *Culex tritaeniorhynchus* in Nagasaki, Japan. *Endem. Dis. Bull. Nagasaki Univ.*, 7: 288–295.
- Omori, N., Wada, Y., Kawai, S., Ito, S., Oda, T., Suenaga, O. and Nishigaki, J. 1965b. Preliminary notes on the collection of hibernated females of *Culex tritaeniorhynchus* in Nagasaki. *Endem. Dis. Bull. Nagasaki Univ.*, 7: 147–153.
- 大沢雅彦. 1993. 東アジアの植生と気候. 科学 63: 664–672.
- Perkins, S. L. 2000. Species concepts and malaria parasites: detecting a cryptic species of *Plasmodium*. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 267: 2345–2350.
- Rao, R. T. 1984. The anophelines of India. pp. 518, Malaria Research Center, New Delhi.
- Reeves, W. C., Herold, R. C., Rosen, L., Brookman, B. and Hammon, W. McD. 1954. Studies on avian malaria in vectors and hosts of encephalitis in Kern County, California. II. Infections in mosquito vectors, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 3: 696–703.
- Reisen, W. K., Aslamkahn, M. and Basio, R. G. 1976. The effects of climatic patterns and agricultural practices on the population dynamics of *Culex tritaeniorhynchus* in Asia. *Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Hlth.*, 7: 61–71.
- Reiter, M. E. and LaPointe, D. A. 2007. Landscape factors influencing the spatial distribution and abundance of mosquito vector *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in a mixed residential-agricultural community in Hawaii. *J. Med. Entomol.*, 44: 861–868.
- Ricklefs, R. E., Swanson, B. L., Fallon, S. M., Martinez-Abraom, A., Scheuerlein, A., Gray, J. and Latta, S. C. 2005. Community relationships of avian malaria parasites in southern Missouri. *Ecol. Monogr.*, 75: 543–559.
- Rosen, L. and Reeves, W. C. 1954. Studies on avian malaria in vectors and hosts of encephalitis in Kern County, California. III. The comparative vector ability of some of the local culicine mosquitoes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 3: 704–708.
- Saitoh, Y., Hattori, J., Chinone, S., Nihei, N., Tsuda, Y., Kurahashi, H. and Kobayashi, M. 2004. Yeast-gener-

- ated CO₂ as a convenient source of carbon dioxide for adult mosquito sampling. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 20: 261–264.
- 酒井 昭. 1975. 日本における常緑及び落葉広葉樹の耐凍度とそれらの分布との関係. *日本生態学会誌*, 25: 101–111.
- Sawabe, K., Isawa, H., Hoshino, K., Sasaki, T., Roychoudhury, S., Higa, Y., Kasai, S., Tsuda, Y., Nishiumi, I., Hisai, N., Hamao, S. and Kobayashi, M. 2010. Host-feeding habits of *Culex pipiens* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) collected at the urban and suburban residential areas of Japan. *J. Med. Entomol.*, 47: 442–450.
- Scherer, W. F., Buescher, E. L., Flemings, M. B., Noguchi, A. and Scanlon, J. 1959. Ecologic studies of Japanese encephalitis virus in Japan: III. mosquito factors. zootropism and vertical sight of *Culex tritaeniorhynchus* with observations on variations in collections from animal-baited traps in different habitats. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 8: 665–677.
- Service, M. W. 1971. The daytime distribution of mosquitoes resting in vegetation. *J. Med. Entomol.*, 8: 271–278.
- 城谷歩惟, 柴田明弘, 江尻寛子, 佐藤雪太, 畠山吉則, 岩野英俊, 津田良夫, 村田浩一, 湯川眞嘉. 2009. 神奈川県内の大学農場における蚊の分布および鳥マラリア原虫保有状況. *日本獣医師会雑誌*, 62: 73–79.
- Silver, J. B. 2008. Mosquito ecology, field sampling methods 3rd ed., 1494 pp., Springer, New York.
- Takagi, M., Sugiyama, A. and Maruyama, K. 1995. Effect of rice culturing practices on seasonal occurrence of *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae) immature in three different types of rice-growing areas in central Japan. *J. Med. Entomol.*, 32: 112–118.
- Trung, H. D., Bortel, W. V., Sochantha, T., Keokenchanh, K., Quang, N. T., Cong, L. D. and Coosemans, M. 2004. Malaria transmission and major malaria vectors in different geographical areas of Southeast Asia. *Trop. Med. Inter. Health*, 9: 230–237.
- 津田良夫, 比嘉由紀子, 伊澤晴彦, 星野啓太, 澤辺京子, 小林睦生. 2005. ウエストナイルウイルスの主要媒介蚊を決定する生態的特徴. *臨床とウイルス*, 33: 17–21.
- 津田良夫, 比嘉由紀子, 倉橋 弘, 林 利彦, 星野啓太, 駒形 修, 伊澤晴彦, 葛西真治, 佐々木年則, 富田隆史, 澤辺京子, 二瓶直子, 小林睦生. 2006a. 都市域における疾病媒介蚊の発生状況調査—ドライアイストラップを用いた2年間の調査結果—. *衛生動物*, 57: 75–82.
- 津田良夫, 比嘉由紀子, 葛西真治, 伊澤晴彦, 星野啓太, 林 利彦, 駒形 修, 澤辺京子, 佐々木年則, 富田隆史, 二瓶直子, 倉橋 弘, 小林睦生. 2006b. 成田国際空港近接地と周辺地域の媒介蚊調査 (2003, 2004年) *衛生動物*, 57: 211–218.
- Tsuda, Y. and Kim, K. S. 2008. Sudden autumnal appearance of adult *Culex tritaeniorhynchus* Giles (Diptera: Culicidae) at a park in urban Tokyo—First field evidence for pre-diapause migration. *J. Med. Entomol.*, 45: 610–616.
- Tsuda, Y. and Kim, K. S. 2010. Prediapause migration and overwintering of *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae) observed in a park in urban Tokyo during 2007 and 2009. *Med. Entomol. Zool.*, 61: 69–78.
- Tsuda, Y., Matsui, S., Saito, A., Akatani, K., Sato, Y., Takagi, M. and Murata, K. 2009a. Ecological study on avian malaria vectors on an oceanic island of Minami-Daito, Japan. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 25: 279–284.
- Tsuda, Y., Sasaki, E., Sato, Y., Katano, R., Komagata, O., Isawa, H., Kasai, S. and Murata, K. 2009b. Results of mosquito collection from coastal areas of Tokyo Bay receiving migratory birds. *Med. Entomol. Zool.*, 60: 119–124.
- Valkiunas, G. 2005. Avian malaria parasites and other haemosporidia. 932 pp., CRC Press, New York.
- van Riper III, C. 1991. The impact of introduced vectors and avian malaria on insular passeriform bird populations in Hawaii. *Bull. Soc. Vector Ecol.*, 16: 59–83.
- van Riper III, C., van Riper, S. G., Goff, M. L. and Laird, M. 1986. The epizootiology and ecological significance of malaria in Hawaiian land birds. *Ecol. Monogr.*, 56: 327–344.
- 和田芳武. 1970. コガタアカイエカ類の生態の研究 III. 野外における休息習性の比較考察. *衛生動物*, 21: 54–60.
- 和田芳武, 三浦悌二, 神谷正男, 豊川行平. 1968. 伊豆半島および千葉県鋸山における越冬蚊採集成績. *衛生動物*, 19: 82–83.
- Wada, Y., Kawai, S., Ito, S., Oda, T., Nishigaki, J., Omori, N., Hayashi, K., Mifune, K. and Shichijo, A. 1967. Ecology of vector mosquitoes of Japanese encephalitis, especially of *Cx. tritaeniorhynchus* 1. Results obtained in 1965. *Trop. Med.*, 9: 45–57.
- Wada, Y., Kawasi, S., Oda, T., Miyagi, I., Suenaga, O., Nishigaki, J., Omori, N., Takahashi, K., Matsuo, R., Itoh, T. and Takatsuki, Y. 1969. Dispersal experiment of *Culex tritaeniorhynchus* in Nagasaki area (Preliminary report). *Trop. Med.*, 11: 37–44.
- Wada, Y., Oda, T., Mogi, M., Suenaga, O., Miyagi, I., Omori, N., Ito, S. and Nishigaki, J. 1973. Ecology of vector mosquitoes of Japanese encephalitis, especially of *Culex tritaeniorhynchus summorosus*. 5. Overwintering of *Culex tritaeniorhynchus summorosus* and *Anopheles sinensis*. *Trop. Med.*, 15: 11–22.
- Wada, Y., Oda, T., Mogi, M., Mori, A., Omori, N., Fukumi, H., Hayashi, K., Mifune, K., Shichijo, A. and Matsuo, S. 1975. Ecology of Japanese encephalitis virus in Japan. II. The population of vector mosquitoes and the epidemic of Japanese encephalitis. *Trop. Med.*, 17: 111–127.
- Watanabe, M., Arakawa, R. and Kamimura, K. 1990. Relationship between yearly change of captured numbers and insecticide resistance of *Culex tritaeniorhynchus* in Toyama Prefecture. *Jpn. J. Sanit. Zool.*, 41: 59–62.
- 吉岡邦二. 1954. 東北地方森林の群落学的研究 (第4報) スダジイ北限地帯の森林. *植物生態学会報*, 3: 219–229.