総 説

鳥マラリアと媒介蚊に関する最近の研究

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：2017年2月16日；登載決定：2017年3月14日）

Review of recent studies on avian malaria parasites and their vector mosquitoes

Yoshio TSUDA*

*Corresponding author: tsudayso@nih.go.jp

Department of Medical Entomology, National Institute of Infectious Diseases,
Toyama 1-23-1, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan

(Received: 16 February 2017; Accepted: 14 March 2017)

Abstract: Avian malaria parasites of wild birds and their vector mosquitoes have been studied intensively in recent years mainly because of the development of molecular techniques to detect and identify genetic lineage of parasites. This review focused on field studies of vector mosquitoes of avian malaria parasites and examined geographic distributions of vector mosquitoes and genetic lineages of avian *Plasmodium* parasites based on the Vector data table in MalAvi database. *Culex pipiens* group and 5 genetic lineages, such as SGS1, GRW11, SYAT05, PADOM02 and CXPIP10, showed a global distribution. The vector-parasite relationships summarized from the Vector data table of MalAvi showed that the average number of reported genetic lineages of avian malaria parasite per suspected vector species was 4.3 ± 8.0 , whereas the average number of suspected vector species per genetic lineage was 1.5 ± 1.1 . Among 42 suspected vector species of avian malaria parasite 43% of them harbored only 1 genetic lineage and 75% (89/119) of genetic lineages were reported from single suspected vector species. The epidemiological significance of avian malaria vector studies was discussed for predicting the potential transmission cycles of vector-borne zoonotic diseases.

Key words: avian malaria, genetic lineage, vector mosquito, geographic distribution, vector-parasite relationship

はじめに

鳥マラリアは血液に寄生する原虫の感染によっておこる鳥類の病気で、多くの野鳥類で報告されている。Valkiūnas (2005)によれば、全世界の鳥類相の約45%で血液寄生原虫の感染の有無が調べられており、調査した鳥類相の中で *Haemoproteus* 属、*Plasmodium* 属、*Leucocytozoon* 属の鳥マラリア原虫に感染していた鳥類の割合は、それぞれ約50%, 30%, 30%とされている。これら3属の鳥マラリア原虫は我が国の野鳥類からも報告されており、加納・木村 (1950)によれば、調査した49種のうち7~17種 (8~35%)で感染が確認されている。また1988年から2001年に我が国で行われた Murata (2002) の調査によれば、調べた69種の野鳥類701個体のうち10.6%でこれら3属の鳥マラリア原虫の感染が確認されている。過去に我が国で行われた調査で鳥マラリアに感染していた野鳥の中には、スズメ *Passer montanus*, シジュウカラ *Parus minor*, ハシブトガラス *Corvus macrorhynchos*, ヒヨドリ *Hypsipetes amaurotis*, ツグミ *Trudus naumanni*, カワラヒワ *Carduelis sinica*, メジロ *Zosterops japonicus* など人家周辺や里山でよく見かける種類が含まれている。このように鳥マラリアは、我が国で身近にみられる野鳥がよく感染している

病気のひとつとすることができる。鳥マラリア原虫と宿主鳥類の間には様々な関係が報告されている。一般に野鳥の鳥マラリア感染は不顕性と考えられているが、感染した個体が飛べなくなったり死亡した例も報告されている (加納, 1950; Valkiūnas, 2005)。また、ハワイ諸島のように周囲の地域から隔離された島嶼に生息し、過去に鳥マラリアに曝された経験がない固有野鳥の中には、鳥マラリアの侵入によって絶滅あるいは絶滅の危機に陥っている種類も知られている (Warner, 1968; van Reiper III, 1991; Woodworth et al., 2005)。

2000年以降、鳥マラリアの媒介蚊研究が盛んに行われるようになってきた。2017年2月の時点で鳥マラリアと蚊をキーワードにして Pubmed で検索された244編の論文の中から宿主鳥類に関連した研究を除いた209編について、その研究内容によって原虫、媒介蚊、疫学の3分野に分類した。これら3分野の発表論文数を1950年~1959年の10年間、その後は5年間ごとに2014年まで11の期間に分けて集計し、論文数の推移を Fig. 1 に示した。1995年ごろからいずれの分野でも論文数が増加の傾向を示しているが、2000年以降の増加傾向は顕著で、特に媒介蚊研究の論文が急増している。媒介蚊研究としてリストされた80編の論文のうち、実に69% (55/80) は2000年以降に行われている。さらに媒介蚊に関す

Fig. 1. Temporal distribution of avian malaria studies according to year of publication. References were retrieved from searches in PubMed and classified into the following three study fields, vector, parasite and epidemiology.

る研究を、室内実験に基づくものと野外調査に基づくものの二つに大別すると、2000年以降に行われた鳥マラリアの媒介蚊研究で論文数の増加が目立つのは野外調査に基づくもので、2004年以前には6編だったが2005～2009年に9編、2010～2014年には26編と急増している。

この総説は近年盛んに研究が行われ始めた鳥マラリア媒介蚊の野外研究に焦点を当て、どのような研究が行われ何が分かかってきたかを整理し、最近行われた興味深い研究のいくつかを紹介した。また、鳥マラリア媒介蚊研究の有用性について考察を行った。

鳥マラリア原虫検出法の技術的進歩：形態的種と遺伝的系統

最近10年間に鳥マラリアの媒介蚊に関する野外調査が盛んになったことの最大の理由は、鳥マラリア原虫に感染した蚊の検出と蚊が感染している原虫の種類の同定が容易になったことにありと思われる。

鳥類のマラリア原虫は、Valkiūnas (2005) によれば、感染個体の末梢血に現れた原虫の形態的特徴によって、4科206種に分類されている：Haemoproteidae科132種、Plasmodiidae科38種、Gamiidae科1種、Leucocytozoidae科35種。これらの種は形態的種 (morpho species) と呼ばれている。この中でPlasmodiidae科*Plasmodium*属の鳥マラリア原虫が蚊によって媒介されていると考えられており、本論文の主な対象は*Plasmodium*属の原虫とその媒介蚊である。

マラリア原虫は宿主動物の血液と共に蚊などの吸血性昆虫の体内に取り込まれ、有性生殖を行った後に中腸壁にオオシストを形成し、その中で多数のスポロゾイトを生産する。このスポロゾイトが唾液腺に移行して、吸血時に唾液と共に新たな宿主動物に注入されることで伝播される。かつて、蚊がマラリア原虫に感染しているかどうかを調べる方法として一般的に行われていたのは、蚊を解剖して中腸壁のオオシストや唾液腺のスポロゾイトの有無を顕微鏡観察によって調べる方法であった (例えば Reeves et al., 1954; Rosen and Reeves, 1954)。この方法は解剖技術の習得が難しく、また1個体の処理に時間がかかるので、多数のサンプルの処理にかなりの労力が必要になるという欠点があった。加えて、感染の有無を知ることはできるが、蚊が感染している原虫の種類を形態学的には同定できないという致命的な欠点があった。蚊が媒

介するとされる*Plasmodium*属の鳥マラリア原虫には38種類が知られており、蚊が感染している原虫の種類が同定できなければ媒介蚊の野外研究は成り立たない。そのため、蚊が感染しているマラリア原虫の種類を知るために従来行われていた唯一可能な方法は、得られたスポロゾイトを宿主となりそのような動物に摂取して感染させ、血中に現れた原虫の形態的特徴を調べることであった (例えば, Herman et al., 1954)。

2000年代に入りミトコンドリアDNAのシトクロームb遺伝子の塩基配列に基づいて鳥マラリア原虫を区別する方法が検討され、感度の良い方法が開発された (Perkins and Schall, 2002; Bensch et al., 2004; Hellgren et al., 2004; Waldenström et al., 2004)。塩基配列に基づいて分類された集団は遺伝的系統 (Genetic lineage) と呼ばれている。この手法は蚊だけでなく、宿主鳥類からの鳥マラリア原虫の検出にも適用できるので、蚊と鳥類から検出されたマラリア原虫の遺伝的系統を比較できる。そして、蚊と鳥類から同じ鳥マラリア原虫の遺伝的系統が検出されれば、その鳥マラリア原虫の宿主鳥類と媒介蚊に関する有力な情報が得られる。このような目的で利用できる鳥マラリアのデータベースMalAviが作られている (Bensch et al., 2009)。塩基配列に基づいた分子分類は非常に有用な方法であるが、完全ではなく未解決の問題が少なくとも2つ残されている。ひとつは、これまで宿主鳥類の血液標本から得られる原虫の形態的特徴に基づいて記載された形態学的種とDNAの塩基配列に基づいた分子分類法によって区別された遺伝的系統との対応関係が多くの種では不明であること、もうひとつは、分子分類法は感度が高いため、蚊の体内で发育できずに退化していく原虫のDNAも検出してしまうことである (Valkiūnas et al., 2013; Kim et al., 2009a)。MalAviによれば、これまでに形態学的種と遺伝的系統の対応関係が調べられているのは88組にすぎず、分子分類によって見つかった遺伝的系統は2118系統に達している。また、1種類の形態学的種に複数の遺伝的系統が存在するケースが多く、そのため分子分類された原虫の遺伝的系統を宿主鳥類に接種して形態観察を行い、形態学的種との関係を調べる感染実験が行われ始めている (Palinauskas et al., 2007; Valkiūnas et al., 2007)。退化していく原虫のDNAを検出してしまいう問題については、分子分類法だけでなく顕微鏡による原虫の发育ステージの確認を加味した手法が有効で実際的と考えられている (Valkiūnas, 2011; Kim and Tsuda, 2015)。

鳥マラリア伝播の時間的推移：季節消長と年次変動

これまで鳥マラリアの研究は宿主鳥類に関する研究が中心で、温帯地域だけでなく熱帯地域でも調査研究が行われてきた。これに対して、鳥マラリアの媒介蚊の研究はほとんどが温帯地域に限られ、熱帯地域での媒介蚊研究は最近始まったばかりである。ここでは温帯地域における媒介蚊研究に基づいて、鳥マラリア伝播の時間的推移についてこれまでの知見を整理する。鳥マラリア原虫に感染した蚊が採集される時期は、米国カリフォルニア州の研究によれば、媒介蚊は*Culex tarsalis* Coquillettで6月～8月末まで (Herman et al., 1954)、スイスでは媒介蚊はトビロイエカ*Cx. pipiens* Linnaeusで4月～9月まで (Lalubin et al., 2013)、オランダの調査ではトビロイエカから7月と8月に (Huijben et al., 2007)、さらにスペイン南部では*Cx. perexiguus* Theobald, *Cx. modestus* Ficalbi, *Cx. theileri* Theobaldの3種類から春から秋にかけて感染蚊が

採集されている (Ferraguti et al., 2013). またトルコでの研究 (Inci et al., 2012) によると、トビロイエカなど4種類の蚊から鳥マラリア原虫が検出されているが、2年間の調査で常に感染蚊が採集され感染率も高いのはトビロイエカであり、感染蚊は6月～8月に採集されている。我が国の調査では、東京湾沿岸の野鳥公園でアカイエカ *Cx. pipiens pallens* Coquillett, から7月～10月に (Kim et al., 2009b), 東京都の都市域の公園でもアカイエカから4月～11月に感染蚊が採集されている (Kim and Tsuda, 2010). また新潟県の佐潟湿地でアカイエカとイナトミシオカ, *Cx. inatomii* Kamimura and Wada, から6月～9月に感染蚊が採集されている (Kim and Tsuda, 2012). これらの研究が示すように、早春 (3～4月) に媒介蚊の繁殖が始まり成虫密度が高くなると、鳥マラリア原虫に感染した蚊が現れ、季節の進展とともに感染蚊率は高まる。そして感染蚊は、秋が到来して蚊の繁殖が終了する9月あるいは10月まで採れ続ける。これが温帯地方で共通して観察される鳥マラリア伝播の季節的な推移で、主要な媒介蚊の感染蚊率は数%～数十%の値を変動する。

鳥マラリア媒介蚊の感染率は季節的な変化だけでなく、年によっても変動すると考えられるが、年次変動に関する報告は限られる。米国カリフォルニア州の4年間の研究では、*Cx. tarsalis* の年間感染率が6.6～16.3% (このうち中腸の感染率=4.5～16.0%; 唾液腺の感染率=2.9～6.9%) の年次変動が報告されている (Herman et al., 1954). また、新潟県佐潟湿地で2007年から2010年の4年間、毎年6月末から7月初めに行われた調査では、アカイエカの感染蚊の割合は年によって変動し0～25%, イナトミシオカの感染蚊率は6～67%の年次変動がみられた (Kim and Tsuda, 2012).

以上のまとめでは、理解を容易にするために、鳥マラリア原虫の種類を区別せずにひとまとめにして扱った。しかし実際には、1950年代に行われた Herman et al. (1954) の研究を除けば、上に紹介した研究では鳥マラリア原虫の分子分類が行われ複数の遺伝的系統が検出されている; 例えば, Lalubin et al. (2013)=7系統, Ferraguti et al. (2013)=15系統, Inci et al. (2012)=11系統, Kim et al. (2009b)=5系統, Kim and Tsuda (2010)=10系統, Kim and Tsuda (2012)=7系統. このように同一地域で複数の遺伝的系統が流行していることは鳥マラリアの場合ふつうにみられるのだが、複数の遺伝的系統を鳥マラリア原虫の群集と捉えて考察している研究は少なく、Kim and Tsuda (2012) と Lalubin et al. (2013) がある。Lalubin et al. (2013) は、遺伝的系統の季節的な置き換えがあることを指摘している。鳥マラリア原虫に感染した蚊が増加する期間に、*P. vaughani* の遺伝的系統 SYAT05 は春から夏にかけて減少するが、これと置き換わるように *P. relictum* の遺伝的系統の SGS1, GRW11, PADOM02 が増加した。また、Kim and Tsuda (2012) は4年間の調査で毎年高頻度で検出される系統と1回しか検出されていない系統が存在することを示し、前者はこの調査地で流行している系統であり、後者はこの調査地では流行していない系統であると考察している。この例と同じように、検出頻度が高い系統は毎年検出される傾向がみられることはスイスの研究でも報告されている (Lalubin et al., 2013). これらの例が示すように、鳥マラリア原虫の遺伝的系統を区別することは、鳥マラリア原虫と宿主鳥類の関係の詳細を明らかにするだけでなく、ある地域の野鳥群集で維持される鳥マラリア原虫の種類相や原虫間の相互

関係のような群集生態学的な観点からの鳥マラリア原虫の研究を可能にしている。

鳥マラリアの媒介蚊研究の現状 (1) MalAviのベクターに関する情報

鳥マラリアのデータベース MalAvi にはこれまで報告されているベクター (媒介昆虫) に関するデータが244登録されており (2016年3月12日現在), このデータベースの Vector data table を分類群ごとに集計して Table 1 に示した。合計42種の媒介昆虫がリストされており、その内訳は、蚊30種、ヌカカ6種、ブユ5種、シラミバエ1種である。ただし、ここにリストされた種類の多くは、最近の研究によって原虫の遺伝子が検出された種類であり、媒介能力の有無がスποロゾイトの形態観察や感染実験によって確かめられた種類は限られることに注意が必要である。しかしながら、原虫遺伝子の検出に際して、唾液腺あるいは唾液腺を含む胸部を用いている研究も増えており、原虫遺伝子が検出された種類は実際に媒介能力を有する可能性が高いと考えて集計を行った。また蚊が最も多い結果になっているが、これは蚊以外の昆虫に関する調査が少ないことが理由である可能性が高い。最も多く報告されている蚊類の中では、イエカ属 (*Culex*) が16種類で媒介蚊全体の50%以上を占めている。イエカ属の蚊の多くは基本的に鳥嗜好性と考えられており、吸血源動物の調査結果でも鳥を吸血していた個体が多く (Sawabe et al., 2010; Kim et al., 2009b; Kim and Tsuda, 2010; Tamashiro et al., 2011; Ejiri et al., 2011) 米国では野鳥類におけるウエストナイルウイルスの感染環で重要な媒介蚊とされている (Turell et al., 2005; Farajollahi et al., 2011; Andreadis, 2012). 媒介昆虫から検出された鳥マラリア原虫の遺伝的系統はのべ131系統であるが、このうち83% (109/131) は蚊から見つかっている。そして、蚊の中でもイエカ属の種類から79系統が検出されており、多種類の蚊が媒介昆虫となって多様な鳥マラリア原虫の伝播・維持に関与していることがわかる。また、蚊から検出されている鳥マラリア原虫の系統は *Plasmodium* 属だけで、*Leucocytozoon* 属, *Haemoproteus* 属の系統はブユ, ヌカカ, シ

Table 1. Number of suspected vector species and the avian parasite lineages by taxonomic group of vectors.

Vector	No. of lineages found	No. of vector species
<i>Mosquito</i>		
<i>Culex</i>	79	16
<i>Coquillettidia</i>	12	4
<i>Lutzia</i>	5	2
<i>Ochlerotatus</i>	5	2
<i>Aedes</i>	5	3
<i>Mansonia</i>	1	1
<i>Armigeres</i>	1	1
<i>Culiseta</i>	1	1
Sub-Total	109	30
<i>Biting midge</i>	13	6
<i>Louse fly</i>	3	1
<i>Black fly</i>	6	5
Total	131	42

Based on the Vector data table of MalAvi (accessed on 12 March, 2016).

ラミバエから見つかっている。

鳥マラリア原虫が検出された吸血性昆虫（以下、原虫陽性昆虫）の種類とその検出件数を国別に集計してTable 2に示した。原虫陽性昆虫が報告された国を見ると、ヨーロッパが9か国で最も多く、アフリカと南米はそれぞれ1か国に過

ぎず、東南アジアからの報告はない。このリストには含まれていないが、フィリピンで行った鳥マラリアの媒介蚊に関する研究が最近発表されており、10種の蚊から鳥マラリア原虫が検出されている（Chen et al., 2015）。研究がヨーロッパに偏っているのは、研究者がスウェーデンやリトアニア

Table 2. A list of suspected vector insects of avian malaria parasites and the number of records by country.

Species	Jpn ¹⁾	CM	Spn	Tur	US	Ity	Por	CR	Fr	Sw	Ecu	Lit	Ger	Blg	Total
Mosquito															
<i>Culex pipiens</i> gr.	35		2	7	11	10	1	2	28	13		2			111
<i>Culex inatomii</i>	7														7
<i>Culex quinquefasciatus</i>	6														6
<i>Lutzia vorax</i>	5														5
<i>Culex sasai</i>	3														3
<i>Culex bitaeniorhynchus</i>	2														2
<i>Aedes albopictus</i>	1					1									2
<i>Armigeres subalbatus</i>	1														1
<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	1														1
<i>Lutzia fuscana</i>	1														1
<i>Coquillettidia</i> sp.	1														1
<i>Coquillettidia aurites</i>		12													12
<i>Culex neavei</i>		5													5
<i>Culex perfidiosus</i>		3													3
<i>Coquillettidia metallica</i>		2													2
<i>Coquillettidia pseudoconopas</i>		2													2
<i>Culex annulioris</i>		1													1
<i>Culex guiarti</i>		1													1
<i>Culex poicilipes</i>		1													1
<i>Mansonia uniformis</i>		1													1
<i>Culex perexiguus</i>			11												11
<i>Culex modestus</i>			7												7
<i>Culex theileri</i>			4	1			1								6
<i>Ochlerotatus caspius</i>			4												4
<i>Aedes vexans</i>				2											2
<i>Culiseta annulata</i>				1											1
<i>Culex restuans</i>					10										10
<i>Aedes canadensis</i>					1										1
<i>Culex hortensis</i>						1									1
<i>Ochlerotatus taeniorhynchus</i>											1				1
Biting midge															
<i>Culicoides circumscriptus</i>			6											2	8
<i>Culicoides segnis</i>								4							4
<i>Culicoides kibunensis</i>								3					3		6
<i>Culicoides festivipennis</i>								1							1
<i>Culicoides pictipennis</i>													1	1	2
<i>Culicoides scoticus</i>													1		1
Black fly															
<i>Prosimulium hirtipes</i>	1														1
<i>Simulium japonicum</i>	1														1
<i>Simulium uchidai</i>	1														1
<i>Simulium lineatum</i>				1											1
<i>Simulium securiforme</i>								3							3
Louse fly															
<i>Microlynchia galapagoensis</i>											3				3
Total	66	28	34	12	22	12	2	13	28	13	4	2	5	3	244

Based on the Vector data table of Malavi (accessed on 12 March, 2016). ¹⁾Jpn=Japan, CM=Cameroon, Spn=Spain, Tur=Turkey, US=United States, Ity=Italy, Por=Portugal, CR=Czech Republic, Fr=France, Sw=Switzerland, Ecu=Ecuador, Lit=Lithuania, Ger=Germany, Blg=Bulgaria.

に多いため、ヨーロッパの国々が研究対象になっていることが主な理由である。鳥マラリアに感染した鳥類は熱帯地域でも報告されており (Laird, 1998; Valkiūnas, 2005; Marzal et al., 2011; Lacorte et al., 2013), 長距離の渡りをする鳥類の中にはヨーロッパだけでなくアフリカにも感染地を持つとされている鳥も知られている (Waldenström et al., 2002; Hellgren et al., 2015)。したがって、今後アフリカや南米、東南アジアでの研究が進めば、鳥マラリア原虫の媒介昆虫の種類構成は大きく変化する可能性が高い。これまで報告されている媒介昆虫42種の1/3に相当する14種 (蚊11種, プユ3種) は我が国から報告されており, 我が国で報告された陽性サンプルの数も全体の27% (66/244) を占めている。これらの結果に示されるように, 我が国は鳥マラリアの媒介昆虫に関する研究が活発に進められている国のひとつといえることができる。

Table 2で蚊の種類ごとに原虫陽性サンプル検出件数の合計を見ると, 1位はアカイエカ群, *Culex pipiens* gr. の111, 2位はカメルーンのキンイロヌマカの一種, *Coquillettidia aurites* (Theobald), で11, 3位はスペインのイエカの一種, *Cx. perexiguus*, で10である。我が国のアカイエカが属するアカイエカ群は温帯から寒帯にかけて非常に広い地理的分布域を持っており (Harbach, 2012), 10カ国で鳥マラリア原虫に感染した個体が採集されている。アカイエカ群以外の原虫陽性昆虫は地理的分布が狭いことが第一の理由と思われるが, 1あるいは2か国で報告されている種類がほとんどである。アカイエカ群の次に原虫陽性サンプルが多い *Cq. aurites* はキンイロヌマカの一種であるが, キンイロヌマカ属3種からはこれまでに11系統の鳥マラリア原虫が報告されており, カメルーンの原虫陽性昆虫の中では重要度が高いといえる。キンイロヌマカの仲間は, 我が国にも3種類が知られているが, 宮城 (1977) によって新種ではないかと報告されている南大東島のキンイロヌマカの一種から鳥マラリア原虫の陽性サンプルが見つかった (Ejiri et al., 2008)。残りの日本産キンイロヌマカの2種, キンイロヌマカ *Cq. ochracea* (Theobald) とムラサキヌマカ *Cq. crassipes* (Van der Wulp) から陽性サンプルが得られる可能性が高いと思われる。

我が国の鳥マラリア媒介蚊でアカイエカ群の次に多数の陽性サンプルが得られているのは, イナトミシオカである。これは, 本種が高密度で生息している新潟県佐潟湿地で複数年にわたり調査が継続されていることが理由である (Kim and Tsuda, 2012, 2015)。この調査地ではアカイエカ群からも多数の鳥マラリア原虫陽性サンプルが見つかり, イナトミシオカは2番目に重要な媒介蚊といえることができる (津田, 2013)。本種と近縁で地中海沿岸部を中心に生息する *Cx. modestus* から, スペインの調査地で7つの陽性サンプルが見つかり, *Cx. perexiguus* に次いで2番目に重要な媒介蚊であることは興味深い (Table 1)。イナトミシオカも *Cx. modestus* も, 海岸線に沿って茂る葦原に生息する蚊であり, 葦原で営巣したり, 採餌あるいは休息する野鳥類を吸血源として利用していると思われる。地理的には遠く離れているが, よく似た生息場所を利用する近縁の蚊が, 鳥マラリア原虫の媒介蚊としても似たような役割を果たしていることは, 鳥マラリアの生態学を考える上で非常に興味深い。

Fig. 2. Frequency distribution of the number of reported genetic lineages of avian malaria parasite per suspected vector species. Based on the Vector data table of MalAvi (accessed on 12 March, 2016).

鳥マラリアの媒介蚊研究の現状 (2)

吸血性昆虫から検出された鳥マラリア原虫の遺伝的系統

MalAviのデータベースを利用して, これまで吸血性昆虫から検出された鳥マラリア原虫の遺伝的系統について整理した。Table 1に示した合計42種の吸血性昆虫から118系統が検出されているが, 一種類の吸血性昆虫から何系統の鳥マラリア原虫が検出されているかを求め, その頻度分布をFig. 2に示した。吸血性昆虫1種類から検出された鳥マラリア原虫の系統の数は, 平均4.3 (± 8.0) 系統であった。1種の吸血性昆虫から検出された系統数が最も多いのは52系統で, これはアカイエカ群であった。これに対して, 鳥マラリア原虫の系統が1つだけ検出されている吸血性昆虫の種類数は18種類で, 吸血性昆虫全体の43%であった。半数以上の吸血性昆虫が複数の鳥マラリア原虫系統の伝播に関係していると推測される。

次に, 鳥マラリア原虫の側から, 一つの遺伝的系統が何種類の吸血性昆虫から検出されているかを集計して, その頻度分布をFig. 3に示した。1種類の鳥マラリア原虫の系統は平均して1.5 (± 1.1) 種の吸血性昆虫から検出されていた。検出された吸血性昆虫の種類数をもっとも多かったのは, 系統SGS1の7種類で, 次に多いのは系統LIN1とSYAT05で6種類だった。さらに5種類の吸血性昆虫から検出されたのは, GRW09の1系統だけだった。1種類の吸血性昆虫のみから検出されている系統は全体の75% (89/118) であった。

これらの結果は, 鳥マラリア原虫の多くは多種類の昆虫と親和性を持つことは難しく, 多種の媒介昆虫を持つことに成功しているのはごく一部の系統に限られることを示しているように思われる。蚊類は吸血源動物として多種類の動物を利用する。そして, 蚊が利用する吸血源動物の種類は, 蚊の間でかなり重複している。そのため, 1種類の吸血源動物を種類の異なる蚊が利用するのはふつうであり, 鳥マラリア原虫に感染している一種の野鳥から複数種の蚊が吸血するという状況は頻繁に起きていると考えられる。この状況では, 感染鳥を吸血して原虫を受け取った蚊種の中で, 原虫との親和性が高くより多くのスポロゾイトを生産し, より伝播力が強

Fig. 3. Frequency distribution of the number of suspected vector species per genetic lineage of avian malaria parasite. Based on the Vector data table of MalAvi (accessed on 12 March, 2016).

い蚊種が最適の媒介昆虫として選択されると考えられる。このように1つの鳥マラリア原虫の系統に対して、最適の媒介昆虫が1種類選択される傾向があるため、Fig. 3に示されているように1種類の媒介昆虫のみから検出されている系統の割合が高いのではないと思われる。これに対して、ある原虫系統の媒介昆虫になることが、他の原虫系統の媒介昆虫になることを妨げるような生物学的な理由がないかぎり、1種類の蚊が複数の原虫系統の媒介昆虫になることは十分に起こり得る。この考えは鳥マラリア原虫に感染することが蚊の適応度に負の影響を与えないことを前提としているが、この前提が成り立つのかどうかはよくわかっていない。しかしながら、Fig. 2が示すように鳥マラリア原虫陽性昆虫として報告されている昆虫の半数以上で、複数の原虫系統が検出されていることを説明する仮説として検討する価値はあるように思われる。

鳥マラリアの媒介蚊研究の現状 (3)

鳥マラリア原虫の地理的分布と媒介昆虫の関係

我が国の鳥マラリア原虫陽性昆虫、特に蚊に関する情報はかなり蓄積されてきているので、日本で蚊などの吸血性昆虫から検出された鳥マラリア原虫の遺伝的系統と、その系統が検出された吸血性昆虫の種数ならびに世界各地で検出された件数を、国ごとに整理してTable 3に示した。日本産の吸血性昆虫からは30の鳥マラリア原虫の遺伝的系統が見つかった。そのうち19系統はこれまで得られている陽性サンプルの数が1つだけで、アカイエカ群、イナトミシオカ、カラツイエカ *Cx. bitaeniorhynchus* Giles, コガタアカイエカ *Cx. tritaeniorhynchus* Giles, トラフカクイカ *Lutzia vorax* Edwards, サキジロカクイカ *Lt. fuscana* Wiedemann, オオクロヤブカ *Armigeres subalbatus* (Coquillett), キンイロヌマカ的一种 *Coquillettia* sp. のいずれかから見ついている。これらの系統がどのような宿主鳥類を持ち、どこに感染環を持っているかは今のところ明らかではなく、今後の研究結果を待つ必要がある。

鳥マラリア原虫が検出された件数が多く、日本産の蚊だけでなく海外の蚊からも検出されている系統は、*Plasmodium relictum* の3系統 (SGS1, GRW11, PADOM02) と *P. vaughani* の1系統 (SYAT05), CXPIP10 (形態学的種は不明) の5系統である。特に *P. relictum* の2系統 (SGS1, GRW11) と SYAT05 は日本を含めて、それぞれ8および9か国の蚊から見つっている。日本と外国で検出されているこれら5系統について、検出された蚊の種類をTable 4に示した。SGS1はアカイエカ群など7種、SYAT05はアカイエカ群など6種から検出されている。またPADOM02は日本とスイスの計4種の蚊、CXPIP10は日本とスペインの計3種の蚊から見つっている。これらの結果は、*P. relictum* の2系統 (SGS1, GRW11) と SYAT05 が典型的な広域分布種であり、広域に分布するアカイエカ群に加えてローカルな蚊も媒介蚊となっていることを示している。つまり地理的分布が広い鳥マラリア原虫の系統は、何らかの理由で多種の蚊を利用することが可能になった系統と考えられる。そして、多種の蚊を利用するためには、それぞれの蚊に順応するための遺伝的な変化を伴う可能性がある。したがって、*P. relictum* の2系統やSYAT05のように広域に分布する鳥マラリアの系統について、異なる地域で採取されたサンプルに基づいて、集団間にどんな遺伝的多様性が存在するかを分析することは興味深い課題である。

広域に分布する鳥マラリア *P. relictum* の3系統 (SGS1, GRW11, GRW4) の遺伝的多様性について、人マラリアの遺伝的多様性研究で使われているメロゾイト表面たんぱく質1 (MSP1) の遺伝子をターゲットにした研究が行われている (Hellgren et al., 2015)。この研究では熱帯から寒帯まで16か国21ヶ所で採取された3系統108個のサンプルを分析し、MSP1のブロック14に9種類の遺伝子 (Pr1~Pr9) が見つっている。分析に用いた3つの遺伝的系統がこれら9種類の遺伝子をどのような組み合わせで保持しているかを比較したところ、これらの3系統がある程度まとまった集団として存在していることや、SGS1/GRW11とGRW4は別種の可能性があることが示唆された。また、遺伝的系統ごとにMSP1の9種類の遺伝子の地理的分布を調べたところ、興味深い結果が得られた。SGS1はTable 3で見たように広域に分布する遺伝的系統であるが、SGS1から見つかったMSP1遺伝子は4種類で、日本のサンプルからはこのうち3種類の遺伝子 (Pr2, Pr3, Pr7) が見つっている。これに対して、ヨーロッパのサンプルからは1種類の遺伝子 (Pr2) しか見つからない。しかも我が国で最も多い遺伝子 (Pr3) は、他の地域では全く見つからない。同様にGRW11からは3種類の遺伝子 (Pr2, Pr3, Pr7) が見つかり、日本のサンプルからはこれら3種類の遺伝子がすべて検出されたのに対して、他の地域では1種類の遺伝子 (Pr2) しか見つからない。これらの結果は、広域に分布する鳥マラリアの遺伝的系統SGS1/GRW11のMSP1遺伝子に多型が存在すること、そして、特に日本の集団の遺伝的多様性が他の地域の集団に比較して高く、また遺伝子組成も異なることを示している。この分析で用いられた日本のサンプルは、ほとんどがKim and Tsuda (2010) によって東京都の公園で採集されたアカイエカから検出されたもので、この公園で流行していた鳥マラリア原虫の集団の多様性が高かったことを意味している。Hellgren et al. (2015) は、日本のSGS1/GRW11がヨーロッパの集団に比較して多様であることの説明として、ある一つの系統がヨー

Table 3. A list of genetic lineage of avian malaria parasites found from suspected vector insects of Japan and the number of records by country.

Genetic lineage	No of vector species	Jpn	Spn	Cm	Fr	US	CR	Sw	Ity	Tur	Ger	Ecu	Blg	Lit	Por	Total
CXPIP09	4	11														11
PADOM02	4	9						2								11
SGS1	7	5	4		4			2	1	2				1	1	20
GALLUS01	4	5														5
GRW11	2	3			1			2	1					1		8
CXPIP10	3	3	1													4
CXQUI01	3	3														3
LAMUT01	3	3														3
GRW04	2	2														2
LZFUS01	2	2														2
SYAT05	6	1	3		2	2	1	2	2	1					1	15
BT7	1	1														1
CXBIT01	1	1														1
CXINA01	1	1														1
CXPIP11	1	1														1
CXPIP12	1	1														1
CXPIP13	1	1														1
CXPIP14	1	1														1
CXPIP15	1	1														1
CXPIP16	1	1														1
CXPIP17	1	1														1
CXPIP18	1	1														1
CXPIP19	1	1														1
CXQUI02	1	1														1
CXQUI03	1	1														1
CXTRI01	1	1														1
GALLUS02	1	1														1
LTVOR01	1	1														1
MANSON01	1	1														1
SYBOR02	1	1														1

Based on the Vector data table of MalAvi (accessed on 12 March, 2016). Country code is shown in Table 1.

Table 4. A list of suspected vector mosquitoes for five globally-distributed genetic lineages of avian malaria parasites found from Japan and other countries.

Vector mosquito	SGS1	GRW11	PADOM02	SYAT05	CXPIP10
1. <i>Culex sasai</i>	○				
2. <i>Lutzia vorax</i>	○		○		
3. <i>Culex bitaeniorhynchus</i>			○		
4. <i>Culex inatomii</i>			○		○
5. <i>Culex pipiens</i> gr.	○	○	○	○	○
6. <i>Aedes albopictus</i>				○	
7. <i>Culex quinquefasciatus</i>		○			
8. <i>Culex theileri</i>	○			○	
9. <i>Culex modestus</i>	○			○	
10. <i>Culex perexiguus</i>	○			○	○
11. <i>Culex restuans</i>				○	
12. <i>Culiseta annulata</i>	○				

Based on the Vector data table of MalAvi (accessed on 12 March, 2016). Vectors 1–6 have been found from Japan.

ロッパに侵入し急速に分布を拡大した、あるいは日本で長時間をかけて鳥マラリア原虫の分化が起こったのではないかと考察している。

SGS1など広域に分布する系統とは好対照の遺伝的系統が、CXPIP09である。この遺伝的系統は我が国で最も多く

報告されており、しかも東京、神奈川、新潟の4カ所の調査地から見つかっている (Ejiri et al., 2009, 2011; Kim and Tsuda, 2010, 2012)。この遺伝的系統が検出された蚊の種類は、広域分布種のアカイエカ群に加えて、日本国内に広く分布するヤマトクシヒゲカ *Culex sasai* Kano, Nitahara & Awaya とトラ

フカクイカそして分布が限られるローカルな蚊であるイナトミシオカの4種である。CXPIP09はハシブトガラス *Corvus macrorhynchos* とスズメ *Passer montanus* を吸血していたアカイエカから多数検出されていることから、これらの野鳥が宿主である可能性が高い (Kim and Tsuda, 2010)。ハシブトガラスとスズメは我が国の広い範囲に生息している野鳥であることから、CXPIP09の媒介蚊と宿主鳥類がともに広域分布種と考えられ、したがって、この遺伝的系統は我が国で最も広く分布している鳥マラリア原虫であると推測される。しかしながら、現時点ではCXPIP09は海外の鳥マラリア調査ではまったく報告がなく、その理由は不明である。

鳥マラリア媒介蚊研究の有用性

鳥マラリアは野鳥と蚊の間で感染サイクルが維持されているが、原虫に感染した蚊がこの感染サイクルの外側にいる飼育鳥類を吸血して鳥マラリアに感染させ死亡させたと推測される事例が我が国や米国、ヨーロッパ、ブラジルなどで報告されている (Beier and Trpis, 1981; Bak et al., 1984; Hujiben et al., 2007; Murata et al., 2008; Vanstreels et al., 2014)。これらの事例は希少鳥類の飼育や人工繁殖などを行う上で重要であるだけでなく、蚊によって媒介される人畜共通病原体の流行に関する考察を行う上でも有用である。例えば、北米大陸で蚊が媒介するウイルス性感染症の中には、ウエストナイル熱や東部馬脳炎、西部馬脳炎のように野鳥が宿主となって感染サイクルが成立しているものがある。そして1940年代にこれらのウイルスの感染サイクルを研究していた米国の研究者は、ウイルスの伝播に関する疫学的な基本情報が鳥マラリアの生態研究を通じて得られることに気づいていた (Herman et al. 1954)。つまり、ウイルスと鳥マラリア原虫は病原体が異なるだけで、宿主となりうる野鳥と媒介能力を持った蚊によって感染サイクルが構成されているという意味で、ウイルス性感染症も鳥マラリアも疫学的には同じ感染サイクルで伝播していると考えられる。さらに、鳥マラリア原虫に感染している蚊の割合は、鳥と蚊の相互関係の時間的推移を考察する上で有用だと考えられている (Hughes et al., 2010)。

具体例としてウエストナイルウイルス (WNV) の感染サイクルと鳥マラリアの感染サイクルの類似性をあげることができる。米国のウエストナイル熱の流行で重要な媒介蚊とされているのは、トビイロイエカ、ネッタイエカ、*Cx. salinarius* Coquillett, *Cx. restuans* Theobald, *Cx. tarsalis* などのイエカ類であるが (Goddard et al., 2002; Reisen et al., 2004; Kilpatrick et al., 2005; Kramer et al., 2008; Turell et al., 2005; Farajollahi et al., 2011; Andreadis, 2012)、これらのイエカ類の多くは北米における鳥マラリアの媒介蚊でもある (Herman et al., 1954; Kimura et al., 2010; Carison et al., 2015)。また、地中海沿岸地域におけるWNVの感染サイクルの研究からも鳥マラリアの感染サイクルとの類似性が認められる。例えば、Tsai et al. (1998) によればドナウ峡谷へのWNVの持ち込みは中東やアフリカからの渡り鳥によって行われ、渡り鳥の飛来地に生息する *Cx. modestus* と野鳥との間にWNVのsylvaticサイクルが成立する。そしてこのサイクルに含まれる宿主野鳥の一部をトビイロイエカが吸血し、感染野鳥を吸血してWNVを取り込んだトビイロイエカは都市域に生息している野鳥を吸血してWNVを伝播する。こうして都市域の野鳥とトビイロイエカによってWNVの都市サイクルが形成され、

人への感染経路ができあがる。一方、地中海沿岸の渡り鳥飛来地で報告されている鳥マラリアの感染サイクルはこれとよく似ている。スペイン南部の調査によれば、トビイロイエカ、*Cx. modestus*, *Cx. theileri*, *Cx. perexiguus*, *Ochlerotatus caspius* (Pallas) の5種類の蚊から鳥マラリア原虫が検出されている (Ferraguti et al., 2013)。そして、トビイロイエカは沿岸部だけでなく、ヨーロッパの内陸部においても鳥マラリアの重要な媒介蚊である (Glaizot et al., 2012; Lalubin et al., 2013; Inci et al., 2012; Martinez-de la Puente et al., 2015)。したがって、地中海沿岸部には *Cx. modestus* やトビイロイエカを含む少なくとも5種類の媒介蚊が関与する鳥マラリアの感染サイクルが存在し、内陸部の都市域にはトビイロイエカが媒介する感染サイクルが成立していると考えられ、Tsai et al. (1998) が示したWNVの感染サイクルとよく似た構造を示している。そして米国と同様に、この地域でもWNV媒介蚊と鳥マラリア媒介蚊はほぼ共通している (Becker et al., 2010; Ponçon et al., 2007; Roiz et al., 2012)。

このように、鳥マラリア研究を通じて得られる (1) 野鳥類から吸血する蚊のリストや (2) 鳥マラリアや脳炎ウイルスなど何らかの病原体を媒介している蚊のリスト、(3) 病原体に感染している蚊の割合とその時間的な推移、さらに (4) これら媒介蚊の人吸血性に関する情報は、野鳥類が関係する新興の蚊媒介性感染症の流行の可否や流行の大きさを予測する上で有用と思われる。

文 献

- Andreadis, T. G. 2012. The contribution of *Culex pipiens* complex mosquitoes to transmission and persistence of West Nile Virus in North America. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 28: 137–151.
- Bak, U. B., Park, J. C. and Lim, Y. J. 1984. An outbreak of malaria in penguins at the Farm-land zoo. *Korean J. Parasitol.*, 22: 267–272.
- Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Madon, M., Dahl, C. and Kaiser, A. 2010. Mosquitoes and Their Control second ed., 577 pp., Springer, New York.
- Beier, J. C. and Trpis, M. 1981. Incrimination of natural culicine vectors which transmit *Plasmodium elongatum* to penguins at the Baltimore Zoo. *Can. J. Zool.*, 59: 470–475.
- 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. Resour.*, 9: 1353–1358.
- Bensch, S., Pérez-Tris, J., Waldenstrom, J. and Hellgren, O. 2004. Linkage between nuclear and mitochondrial DNA sequences in avian malaria parasites: Multiple cases of cryptic speciation? *Evolution*, 58: 1617–1621.
- Carison, J. S., Walther, E., Trout Fryxell, R., Staley, S., Tell, L. A., Sehgal, R. N. M., Barker, C. M. and Cornel, A. J. 2015. Identifying avian malaria vectors: Sampling methods influence outcomes. *Parasit. Vectors*, 8: 365.
- Chen, T. H., Aure, W. E., Cruz, E. I., Malbas, F. F. Jr., Teng, H. J., Lu, L. C., Kim, K. S., Tsuda, Y. and Shu, P. Y. 2015. Avian *Plasmodium* infection in field-collected mosquitoes during 2012–2013 in Talac, Philippines. *J. Vector Ecol.*, 40: 386–395.
- 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.
- Ferraguti, M., Martínez-de la Puente, J., Muñoz, J., Roiz, D., Ruiz, S., Soriguer, R. and Figuerola, J. 2013. Avian *Plasmodium* in *Culex* and *Ochlerotatus* mosquitoes from southern Spain: Effects of season and host-feeding source on parasite dynamics. *PLoS ONE*, 8: e66237.
- Farajollahi, A., Fonseca, D. M., Kramer, L. D. and Kilpatrick, A. M. 2011. “Bird biting” mosquitoes and human disease: A review of the role of *Culex pipiens* complex mosquitoes in epidemiology. *Infect. Genet. Evol.*, 11: 1577–1585.
- Glaizot, O., Fumagalli, L., Iritano, K., Lalubin, F., Van Rooyen, J. and Christe, P. 2012. High prevalence and lineage diversity of avian malaria in wild populations of great tits (*Parus major*) and mosquitoes (*Culex pipiens*). *PLoS ONE*, 7: e34964.
- Goddard, L. B., Toth, A. E., Reisen, W. K. and Scott, T. W. 2002. Vector competence of California mosquitoes for West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.*, 8: 1385–1391.
- Harbach, R. E. 2012. *Culex pipiens* species versus species complex—taxonomic history and perspective. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 28: 10–23.
- Hellgren, O., Atkinson, C. T., Bensch, S., Albayrak, T., Dimitrov, D., Ewen, J. G., Kim, K. S., Lima, M. R., Martin, L., Palinauskas, V., Ricklefs, R. E., Sehgal, R. N. M., Valkiūnas, G., Tsuda, Y. and Marzal, A. 2015. Global phylogeography of the avian malaria pathogen *Plasmodium relictum* based on MSP1 allelic diversity. *Ecography*, 38: 842–850.
- Hellgren, O., Waldenström, J. and Bensch, S. 2004. A new PCR assay for simultaneous studies of *Leucocytozoon*, *Plasmodium*, and *Haemoproteus* from avian blood. *J. Parasitol.*, 90: 797–802.
- Herman, C. M., Reeves, W. O., McClure, H. E., French, E. M. and Hammon, W. McD. 1954. Studies on avian malaria in vectors and hosts of encephalitis in Kern County, California. I. Infections in avian hosts. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 3: 676–695.
- Hughes, T., Irwin, P., Hofmeister, E. and Paskewitz, S. M. 2010. Occurrence of avian *Plasmodium* and West Nile virus in *Culex* species in Wisconsin. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 26: 24–31.
- Huijben, S., Schaftenaar, W., Wijsman, A., Paaijmans, 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.
- Inci, A., Yildirim, A., Njabo, K. Y., Duzlu, D., Biskin, Z. and Ciloglu, A. 2012. Detection and molecular characterization of avian *Plasmodium* from mosquitoes in central Turkey. *Vet. Parasitol.*, 188: 179–184.
- 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.
- 加納六郎, 木村マリ. 1950. 鳥マラリアの研究 (4) 日本産野鳥の血液内寄生虫の自然感染状態. *日本細菌学雑誌*, 5: 103–106.
- 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.
- 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.
- Kim, K. S. and Tsuda, Y. 2012. Avian *Plasmodium* lineages found in spot surveys of mosquitoes from 2007 to 2010 at Sakata wetland, Japan: Do dominant lineages persist for multiple years? *Mol. Ecol.*, 21: 5374–5385.
- Kim, K. S. and Tsuda, Y. 2015. Sporogony and sporozoite rates of avian malaria parasites in wild *Culex pipiens pallens* and *C. inatommii* in Japan. *Parasit. Vectors*, 8: 633–637.
- 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.
- Kimura, M., Darbro, J. M. and Harrington, L. C. 2010. Avian malaria parasites share congeneric mosquito vectors. *J. Parasitol.*, 96: 144–151.
- Kramer, L. D., Styer, L. M. and Ebel, G. D. 2008. A global perspective on the epidemiology of West Nile virus. *Annu. Rev. Entomol.*, 53: 61–81.
- Lacorte, G. A., Felix, G. M. F., Pinheiro, R. R. B., Chaves, A. V., Almeida-Neto, G., Neves, F. S., Leite, L. O., Santos, F. R. and Braga, E. M. 2013. Exploiting the diversity and distribution of neotropical avian malaria parasites: A molecular survey from southeast Brazil. *PLoS ONE*, 8: e57770.
- Laird, M. 1998. Avian malaria in the Asian Tropical Subregion. 130 pp., Springer-Verlag, Singapore.
- Lalubin, F., Deledevant, A., Glaizot, O. and Christe, P. 2013. Temporal changes in mosquito abundance (*Culex pipiens*), avian malaria prevalence and lineage composition. *Parasit. Vectors*, 6: 307–315.
- Martínez-de la Puente, J., Muñoz, J., Capelli, G., Monyarsí, F., Soriguer, R., Arnoldi, D., Rizzoli, A. and Figuerola, J. 2015. Avian malaria parasites in the last supper: Identifying encounters between parasites and the invasive Asian mosquito tiger and native mosquito species in Italy. *Malaria J.*, 14: 32.
- Marzal, A., Ricklefs, R. E., Valkiūnas, G., Albayrak, T., Arriero, E., Bonneaud, C., Czirkak, G. A., Ewen, J., Hellgren, O., Horakova, D., Iezhova, T. A., Jensen, H., Krizanauskienė, A., Lima, M. R., de Lope, F., Magnussen, E., Martin, L. B., Möller, A. P., Palinauskas, V., Pap, P. L., Pérez-Tris, J., Sehgal, R. N. M., Soler, M., Szöllosi, E., Westerdahl, H., Zetindjiev, P. and Bensch, S. 2011. Diversity, loss, and gain of malaria parasites in a globally invasive bird. *PLoS ONE*, 6: e21905.
- 宮城一郎. 1977. 南大東島の蚊について. *衛生動物*, 28: 245–247.
- 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.
- Palinauskas, V., Kosarev, V., Shapoval, A., Bensch, S. and Valkiūnas, G. 2007. Comparison of mitochondrial cytochrome b lineages and morphospecies of two avian malaria parasites of the subgenera *Haemamoeba* and *Giovannolaia* (Haemosporida: Plasmodiidae). *Zootaxa*, 1626: 39–50.
- Perkins, S. L. and Schall, J. J. 2002. A molecular phylogeny of malarial parasites recovered from cytochrome b gene sequences. *J. Parasitol.*, 88: 972–978.
- Ponçon, N., Toty, C., Lambert, G., le Goff, G., Brengues, C., Schaffner, F. and Fontenille, D. 2007. Population dynamics of pest mosquitoes and potential malaria and West Nile virus vectors in relation to climatic factors and human activities in the Camargue, France. *Med. Vet. Entomol.*, 21: 350–357.
- 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. *Am. J. Trop.*

- Med. Hyg.*, 3: 696–703.
- Reisen, W., Lothrop, H., Chiles, R., Madon, M., Cossen, C., Woods, L., Husted, S., Kramer, V. and Edman, J. 2004. West Nile virus in California. *Emerg. Infect. Dis.*, 10: 1369–1378.
- Roiz, D., Roussel, M., Munoz, J., Ruiz, S., Soriguer, R. and Figuerola, J. 2012. Efficacy of mosquito traps for collecting potential West Nile mosquito vectors in a natural mediterranean wetland. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 86: 642–648.
- Rosen, K. 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.
- 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.
- Tamashiro, M., Toma, T., Mannen, K., Higa, Y. and Miyagi, I. 2011. Bloodmeal identification and feeding habits of mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected at five islands in the Ryukyu Archipelago, Japan. *Med. Entomol. Zool.*, 62: 53–70.
- Tsai, T. F., Popovici, F., Cemescu, C., Campbell, G. L. and Nedelcu, N. I. 1998. West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania. *Lancet*, 352: 767–771.
- 津田良夫. 2013. 蚊の観察と生態調査. 359 pp. 北隆館, 東京.
- Turell, M. J., Dohm, D. J., Sardelis, M. R., O'Guinn, M. L., Andreadis, T. G. and Blow, J. A. 2005. An update on the potential of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile virus. *J. Med. Entomol.*, 41: 349–360.
- Valkiūnas, G. 2005. Avian Malaria Parasites and Other Haemosporidia. 932 pp. + 3 plates, CRC Press, New York.
- Valkiūnas, G. 2011. Haemosporidian vector research: Marriage of molecular and microscopical approaches is essential. *Mol. Ecol.*, 20: 3084–3086.
- Valkiūnas, G., Kazlauskienė, R., Bernotienė, R., Palinauskas, V. and Iezhova, T. A. 2013. Abortive long-lasting sporogony of two *Haemoproteus* species (Haemosporidia, Haemoproteidae) in the mosquito *Ochlerotatus cantans*, with perspectives on haemosporidian vector research. *Parasitol. Res.*, 112: 2159–2169.
- Valkiūnas, G., Zehindjiev, P., Helligren, O., Ilieva, M., Iezhova, T. A. and Bensch, S. 2007. Linkage between mitochondrial cytochrome b lineages and morphospecies of two avian malaria parasites, with a description of *Plasmodium* (*Novyella*) *ashfordi* sp. nov. *Parasitol. Res.*, 100: 1311–1322.
- Vanstreels, R. E. T., Kolesnikovas, C. K. M., Sandri, S., Silveira, P., Belo, N. O., Ferreira, F. C. Jr., Epiphany, S., Steindel, M., Braga, E. M. and Catao-Dias, J. L. 2014. Outbreak of avian malaria associated to multiple species of *Plasmodium* in magellanic penguins undergoing rehabilitation in southern Brazil. *PLoS ONE*, 9: e94994.
- van Reiper, C. III. 1991. The impact of introduced vectors and avian malaria on insular passeriform populations in Hawaii. *Bull. Soc. Vector Ecol.*, 16: 59–83.
- Waldenström, J., Bensch, S., Hasselquist, D. and Östman, Ö. 2004. A new nested polymerase chain reaction method very efficient in detecting *Plasmodium* and *Haemoproteus* infections from avian blood. *J. Parasitol.*, 90: 191–194.
- Waldenström, J., Bensch, S., Kiboi, S., Hasselquist, D. and Ottosson, U. 2002. Cross-specific infection of blood parasites between resident and migratory songbirds in Africa. *Mol. Ecol.*, 11: 1545–1554.
- Warner, R. E. 1968. The role of introduced diseases in the extinction of the Hawaiian avifauna. *Condor*, 70: 101–120.
- Woodworth, B. L., Atkinson, C. T., LaPointe, D. A., Hart, P. J., Spiegel, C. S., Tweed, E. J., Henneman, C., LeBrun, J., Denette, T., DeMots, R., Kozar, K. L., Triglia, D., Lease, D., Gregor, A., Smith, T. and Duffy, D. 2005. Host population persistence in the face of introduced vector-borne diseases: Hawaii amakihi and avian malaria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102: 1531–1536.