

我が国のヒトスジシマカの殺虫剤感受性 —現状と今後の見通し—

国立感染症研究所昆虫医科学部 葛西 真治、富田 隆史

要 約

ヒトスジシマカは我が国においてデング熱の主要な媒介蚊である。流行の二次、三次感染を防ぐため、また平時の幼虫密度を抑制し、流行のリスクを減らすために、殺虫剤は重要な役割を果たす。私たちは最近、国内外で採集されたヒトスジシマカやネッタイシマカを対象に殺虫剤感受性を調査している。海外の流行国で採集したネッタイシマカ集団の多くとヒトスジシマカ集団の一部ではピレスロイド剤に強い抵抗性を発達させており、防除が困難になりつつある現状が明らかになった。一方、国内で採集されたヒトスジシマカについては、幼虫用(3薬剤)、成虫用(3薬剤)のいずれの殺虫剤に対しても依然、高い感受性を示した。今回調査の対象となったヒトスジシマカは、区や町内会主導で10年以上継続して幼虫用殺虫剤が使用されてきた地域の集団も含まれていたが、抵抗性が確認されなかったのは幸いであった。デング熱の流行が恒常化しないうちは、成虫用殺虫剤に我が国のヒトスジシマカが抵抗性を発達させる可能性は低いと考えられる。しかし、幼虫用の成長制御剤に関しては、今後、平時の密度抑制を期待した散布の頻度が高まれば、抵抗性の問題に直面する可能性が否定できない。殺虫剤の感受性を継続的にモニタリングし、異なる作用点を有する殺虫剤をローテーションして使うなど、抵抗性の芽をいち早く摘むような防除法を行っていく必要があると考えられた。

はじめに

2014年夏、首都圏を中心として70年ぶりに起こったデング熱の国内流行は、この病気が熱帯・亜熱帯地域にとどまらず、温帯に属する我が国においても問題になりうる感染症であることを強く国民に印象付けた。ウイルス上陸時に感染の拡大を阻止するために大事なことは、感染蚊を少しでも早く退治することである。また、平時に幼虫用に殺虫剤を処理することは、蚊の密度抑制と流行リスクの低減が期待される。しかし、いくらPCO業者の方々によって殺虫剤が適切に散布されても肝心な使用薬剤が抵抗性蚊の出現によって効力が発揮できないようではデング熱の感染サイクルを断つこ

とはできない。実際、世界に目を向けると、長年にわたって流行を繰り返し、殺虫剤が多用されてきた熱帯地域からは、蚊の防除が困難になりつつある状況が報告されている。私たちの研究室では2015年から2016年にかけて国内でヒトスジシマカを採集し、殺虫剤感受性を調査してきた。ここでは、その結果の概要をお伝えするとともに、海外のデング熱媒介蚊の殺虫剤抵抗性の現状も踏まえ、抵抗性発達に関する今後の見通しについて考察したい。

デング熱媒介蚊

世界レベルで見ると、デング熱の主要な媒介蚊はネッタイシマカである。この蚊はとにか

くヒト親和性が高く、人家周辺に留まった生活スタイルをとる。幼虫の発生源は家屋内のトイレ周辺の水たまりや花瓶、雨水を貯めておくタンク、庭に放置されたプラスチックや陶器、古タイヤなどにたまった小さな水たまりである。羽化した成虫は、やはり人家周辺に居座り、家の中に入ってくることも多い。デングウイルスは一般にヒトスジシマカよりもネッタイシマカ体内で増殖しやすく、媒介蚊としてより適している。一方、ネッタイシマカが生息しない我が国においてはヒトスジシマカがデング熱の主な媒介者である。幼虫の発生源はネッタイシマカに重なるが、より人家から離れた林の樹洞などからも発生し、吸血のヒト依存性はネッタイシマカに比べると低い。デング熱流行国の専門家から軽視されがちなヒトスジシマカであるが、この蚊が実際にデング熱の流行に大きく関与しうことは我が国における2014年の例からも明らかである。

殺虫剤によるヒトスジシマカの防除

ヒトスジシマカに対する殺虫剤の使われ方には2通りがある。平時の密度抑制を期待した使用と、緊急時のウイルス保有蚊の駆除を目的とした使用である。前者は主に幼虫を対象とし、成長制御剤が用いられることが多い。雨水ますなど固定された水たまりに薬剤を処理することで密度抑制効果が期待される。後者は感染のサイクルを断つことが目的となるため、対象はメスの成虫蚊となり、使用される薬剤は即効性が期待されるピレスロイド剤や有機リン剤が主体となる。

殺虫剤にどれだけ暴露したかが抵抗性レベルを決める

殺虫剤抵抗性は昆虫がもつ何らかの遺伝子が抵抗性型に変化した結果もたらされる。解毒酵素が高活性型になったり、作用点のタンパク質が殺虫剤の作用を妨げるように変化することなど。しかし、これらの変異というのは殺虫剤そのものが遺伝子に作用して起こさせるわけではない。殺虫剤の登録時には様々な安全性試験が課せられ、変異原性や催奇形性が少しでも疑われる化合物は一切登録されないからである。抵抗性をもたらす変異遺伝子は、その昆虫種内にもともと非常に低頻度で存在していたものであり、それが殺虫剤の淘汰によって頻度が少しずつ上昇し、やがて集団内で大多数を占めるようになるのである。したがって、基本的に抵抗性の付きやすさは殺虫剤の使用頻度と使用量に比例するともいえる。もちろん、その速度はもともとの集団内における抵抗性遺伝子の頻度に依存するし、海外から多数の抵抗性個体が侵入した場合は短時間のうちに強い抵抗性が発達することが考えられる。このような視点から考えたとき、現在我が国に生息するヒトスジシマカが成虫用の殺虫剤に抵抗性を発達させている可能性は非常に低いといえる。なぜなら、彼ら(彼女らはといったほうが正しいか)はこれまでほとんどピレスロイド剤に触れてこなかったからである。触れなければ抵抗性遺伝子を持った個体だけが生き残るという淘汰の原理が働かず、抵抗性レベルも上がらない。ただし、ヒトの生活環境周辺ではピレスロイド剤を主成分とする蚊取り線香やマットが長年使用されてきた歴史がある。ヒトスジシマカの生息環境全体に占める蚊取り線香の使用面積は非常に小さいと予想されるが、抵抗性がつく可能性がゼロというわけではない。幼虫用の殺虫

我が国のヒトスジシマカの殺虫剤感受性

剤についても、全国的に見るとまだまだ使用している自治体は多くないが、一部で10年以上にわたって使用されている環境もある。私たちはそのような自治体もしくは町内会で採集されるヒトスジシマカが最も抵抗性を発達させるリスクが高いと考え、殺虫剤の感受性試験を行った。

野外採集蚊の殺虫剤感受性試験

東京都内(新宿区、渋谷区、豊島区、東久留米市)数か所を含む国内13か所で採集したヒトスジシマカ幼虫を実験室内で飼育し、その子孫を用いて殺虫試験を行った。あらかじめ感受性系統を用いて6剤に対する殺虫試験を行い、99%致死薬量(LD₉₉、成虫)もしくは99%致死濃度(LC₉₉、幼虫)を算出し、これらの値と、その10倍高い値の2薬量(もしくは濃度)について試験を行った。1試験区に用いた個体数は幼虫で80匹(20匹を4反復)、成虫で60匹(20匹を3反復)である。幼虫試験では4齢幼虫を用い、羽化阻害率を死亡率とした。成虫についてはアセトン溶液を胸部背面に局所施用して、24時間後の死亡率を観察した。使用した殺虫剤は、成虫用としてピレスロイド剤3種(ペルメトリン、フェノトリン、エトフェンプロックス)、幼虫用としてピリプロキシフェン、メトプレン、ジフルベンズロンである。ピリプロキシフェンとメトプレンは幼若ホルモン類縁体であり、ジフルベンズロンはキチンの生合成を阻害し、羽化や脱皮を失敗させることで昆虫を死に至らしめる。

いずれも高い感受性

殺虫試験の結果は非常に明解なもので、すべての集団が使用した6つの殺虫剤に対して高

い感受性を示した。つまり抵抗性と判断される個体は見つからなかった。ピレスロイド剤に関しては予想された結果であったが、ピリプロキシフェンの結果は少し意外であった。実験に用いたヒトスジシマカを捕集した豊島区内のエリアと、横浜市のある町内では、10年以上前から蚊のシーズンになると継続的にピリプロキシフェンが雨水ますに投入されてきたからである。今回の結果からは、昆虫成長制御剤はもうしばらく抵抗性の問題を気にすることなく幼虫に使いそうであることが分かった。

どのような機構によって抵抗性になるのか

デング熱媒介蚊の抵抗性に関して世界的に問題になっているのは成虫用に用いられるピレスロイド剤である。抵抗性機構としては、① 解毒酵素の活性が増大し、体内に浸透した殺虫剤を速やかに分解・排泄することによる抵抗性と、② 作用点であるナトリウムチャネルの構成アミノ酸が変化し、ピレスロイド剤が結合できなくなることによる抵抗性、いわゆるノックダウン抵抗性(*kdr*)の2つが主なものとして知られている。①では具体的にシトクロムP450と呼ばれる酵素による酸化的代謝が知られ、②の*kdr*としては、ナトリウムチャネルのアミノ酸変異がいくつか知られている。著者らのこれまでの経験では、抵抗性と判定される個体の多くは*kdr*遺伝子を有しており、解毒酵素が*kdr*の効果を相乗的に高めているといった印象である。ネッタイシマカの*kdr*で代表的なものとして1016番目のバリリンというアミノ酸がグリシンに変化するものや、1534番目のフェニルアラニンがシステインに変化するものが知られている(Smith et al., 2016)。ピレスロイド剤に対する感受性は*kdr*の型によっ

て異なるが、どの*kdr*がどのピレスロイド剤に強く、また弱いのかといった研究はほとんどされていないのが現状である。

世界レベルでの抵抗性の現状

私たちは現在、日本のヒトスジシマカを調べたのと同様の方法を用いて色々な国から採集したネッタイシマカやヒトスジシマカのピレスロイド剤感受性を調べている。ところが、ネッタイシマカについてはベトナム、シンガポール、フィリピン、台湾、ブラジル、メキシコなどどこから採集された集団であっても非常に強い抵抗性を有しており、感受性系統のLD₉₉×10の薬量でも必ず生き残ってくる個体が含まれている。それとは対照的に、ヒトスジシマカはどこで採集された集団も一様に感受性が高く、多くの場合抵抗性個体は確認できない。これは、上述したようなヒトスジシマカとネッタイシマカの生態学的な違いが反映されているのではないと思われる。ネッタイシマカはヒトスジシマカに比べてより殺虫剤に触れやすいヒトの住環境周辺に生息し、淘汰が進んだ結果強いものだけが生き残っているようだ。ただし、ヒトスジシマカについても楽観視はできない。私たちは2009年にシンガポールで採集された集団から*kdr*遺伝子を発見しているし(Kasai et al., 2011)、2016年には別のタイプの*kdr*遺伝子が中国やアメリカ合衆国内から見つかっている(Xu et al., 2016)。私たちが調べたベトナムの一部の集団ではLD₉₉×10の薬量でも生き残る個体が僅かながら含まれており、この集団から、中国やアメリカで見つかったのと同じタイプの*kdr*遺伝子が検出されている。ヒトスジシマカについても今後抵抗性の問題が深刻化する可能性は十分に考えられる。

日本のヒトスジシマカは大丈夫か？

私たちは、今後日本で Dengue 熱が毎年のように流行し、その都度多くの殺虫剤が散布されるような状況が繰り返されない限り、日本のヒトスジシマカがピレスロイド剤に抵抗性を発達させることはないのではないかと予想している。しかし、地球温暖化が進み、台湾のように Dengue 熱が毎年上陸し流行するような事態になれば、それに比例して殺虫剤の使用量も増えるであろうから、ヒトスジシマカの防除は困難なものになるかもしれない。台湾の専門家によるとこの国の Dengue ウイルスは土着しておらず、毎年海外から持ち込まれていると考えられているようだ。2015年には約40,000名の報告例を出した。ここ数年、日本の国際空港で相次いでネッタイシマカが生きてそのまま捕獲されて問題になっているが、これらはいずれも飛行機に乗って海外からやってきた個体もしくはその子孫である。もしかしたら抵抗性遺伝子を保有しており、ピレスロイド剤による駆除が容易ではない集団かもしれない。また、今後抵抗性のヒトスジシマカが海外から運ばれてくるとなれば、抵抗性の発達スピードもより加速するであろう。一方、幼虫用の殺虫剤に対する抵抗性問題については成虫用ほど楽観視できない。私たちの今回の限られた調査結果を見る限り、日本のヒトスジシマカ集団は抵抗性が付きにくい印象があるが、それは将来にわたって抵抗性が発達しないことを意味するものではない。すでに農業害虫のタバココナジラミやイエバエではピリプロキシフェン抵抗性個体の存在が明らかになっているし、同じ蚊の仲間であるチカイエカからも感受性が低下した集団が見つわかっている(Horowitz et al., 2005; Zhang et al., 1997; Kasai et al., 2007)。ヒトスジシマ

我が国のヒトスジシマカの殺虫剤感受性

カについても近い将来、ピリプロキシフェン抵抗性の問題が浮上することが強く危惧される。継続的に殺虫剤感受性を調査して抵抗性を監視するとともに、作用点が異なる殺虫剤をローテーションして使用するなど、抵抗性の芽が出ていくような防除を試みるのが重要である。そういった戦略的な薬剤の使用を実現する上で、現在我が国で蚊幼虫用に登録されている殺虫剤の作用点の種類はあまりにも少ないのは気になるところである。BT剤やそのほかの農業用殺虫剤の中にはボウフラに高い効果を示すことが分かっており、近年開発されたそのほかの農薬の中にも、蚊に卓越した効果があり、かつ人畜毒性が低い剤が埋もれている可能性もある。市場規模がそれほど大きくない防疫用殺虫剤に対して安全性試験に多額の費用を費やすだけの見返りが製薬メーカーとして期待できず、なかなか実現しないのが現実であるが、ローテーションの多様性を高めるため、これらの化合物が一刻も早く新薬として登録されることが強く望まれる。

いま、私たちが目指しているもの

私たちの研究室では現在、異なる*kdr*遺伝子を有するピレスロイド剤抵抗性のヤブカ10系統以上を飼育し、維持している。一言でピレスロイド剤といっても数多くの種類が存在し、日本においてその多くは蚊に対して登録がなされていない。それらの化学構造は様々であり、*kdr*遺伝子ごとに感受性が異なることはイエバエの研究で明らかになっている(Sun et al., 2016; Kasai et al., 2017)。ヤブカの*kdr*についても、例えばF1534Cの変異をもつナトリウムチャンネルはシアノ基を含むピレスロイド剤に対して抵抗性を示さないことが電気生

理学的研究によって示唆されている(Hu et al., 2011)。このような法則性が詳細に明らかになれば、抵抗性蚊に対しても効果を発揮するピレスロイド剤の基本骨格が見えてくるかもしれない。デング熱が流行する国や地域ごとに分布する蚊がもつ、異なる*kdr*の型に合わせた殺虫剤を選別することが可能になることを期待して私たちは研究を進めている。

おわりに

2014年の国内流行の前年にあたる2013年に、実は海外からの旅行者が日本国内でデング熱に感染したと疑われる事例が報告されている(Schmidt-Chanasit et al., 2014)。それが事実とするならば、我が国は2年連続でデング熱の国内感染を経験していたことになる。温暖化によって媒介蚊の分布域が広がったり(Nihei et al., 2014)、発生期間が長くなりつつあることや、国民や医療機関の間でデング熱に対する意識が高まり、ウイルスの存在が発覚しやすくなったことなどを考えると、今後も我が国はデング熱発生・流行のリスクを背負い続けていくことになると思われる。ワクチンや特効薬が存在しない現在、流行の拡大を止めるのに大事なことは媒介蚊を減らすことである。そして、何か画期的な媒介蚊対策が登場しない限り、私たちは今後もしばらくは殺虫剤の力に頼らざるを得ないであろう。現段階では、いずれの殺虫剤も我が国のヒトスジシマカに対して非常に高い効力を有する。しかし、害虫防除の歴史は抵抗性とのイタチごっこの歴史でもある。日頃から殺虫剤の効果に目を光らせ、抵抗性が見つかった場合はより効果が高い殺虫剤を選択し、効率よく感染蚊を駆除していかなければならない。そういっ

た意味において、薬剤の効果を最も身近に感じとれるのはやはり防除の最前線で活動されておられるPCO業者の方々である。もし使用されている殺虫剤の効力に疑問を感じることがあれば、是非国立感染症研究所昆虫医科学部までご連絡いただきたい。

引用文献

- Horowitz, A.R., S. Kontsedalov, V. Khasdan and I. Ishaaya (2005) Biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* and their relevance to neonicotinoid and pyriproxyfen resistance. *Insect Biochem. Physiol.* 58: 216-225.
- Hu, Z., Y. Du, Y. Nomura and K. Dong (2011) A sodium channel mutation identified in *Aedes aegypti* selectively reduces cockroach sodium channel sensitivity to type I, but not type II pyrethroids. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 41: 9-13.
- Nihei, N., O. Komagata, K. Mochizuki and M. Kobayashi (2014) Geospatial analysis of invasion of the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus*: competition with *Aedes japonicus japonicus* in its northern limit area in Japan. *Geospat. Health* 8: 417-427.
- Kasai, S., T. Shono, O. Komagata, Y. Tsuda, M. Kobayashi, M. Motoki, I. Kashima, T. Tanikawa, M. Yoshida, I. Tanaka, G. Shinjo, T. Hashimoto, T. Ishikawa, O. Takahashi, Y. Higa and T. Tomita (2007) Insecticide resistance in potential vector mosquitoes for West Nile virus in Japan. *J. Med. Entomol.* 44: 822-829.
- Kasai, S., L.C. Ng, S.G. Lam-Phua, C.S. Tang, K. Itokawa, O. Komagata, M. Kobayashi and T. Tomita (2011) First detection of a putative knockdown resistance gene in major mosquito vector, *Aedes albopictus*. *Jpn. J. Infect. Dis.* 64: 217-221.
- Kasai, S., H. Sun and J.G. Scott (2017) Diversity of knockdown resistance alleles in a single house fly population facilitates adaptation to pyrethroid insecticides. *Insect Mol. Biol.* 26: 13-24.
- Schmidt-Chanasit, J., P. Emmerich, D. Tappe, S. Günther, S. Schmidt, D. Wolff, K. Hentschel, D. Sagebiel, I. Schöneberg, K. Stark, C. Frank (2014) *Eurosurveillance* 19: pii=20681.
- Smith L.B., S. Kasai and J.G. Scott (2016) Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: Important mosquito vectors of human diseases. *Pestic. Biochem. Physiol.* 133: 1-12.
- Sun, H., K.P. Tong, S. Kasai and J.G. Scott (2016) Overcoming *super-knock down resistance (super-kdr)* mediated resistance: multi-halogenated benzyl pyrethroids are more toxic to *super-kdr* than *kdr* house flies. *Insect Mol. Biol.* 25: 126-137.
- Xu, J., M. Bonizzoni, D. Zhong, G. Zhou, S. Cai, Y. Li, X. Wang, E. Lo, R. Lee, R. Sheen, J. Duan, G. Yan and X. Chen (2016) Multi-country survey revealed prevalent and novel F1534S mutation in voltage-gated sodium channel (VGSC) gene in *Aedes albopictus*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 10: e0004696.
- Zhang, L., K. Harada and T. Shono (1997) Genetic analysis of pyriproxyfen resistance in the housefly, *Musca domestica* L. *Appl. Entomol. Zool.* 32: 217-226.