

## ヒトスジシマカとコガタアカイエカに含まれる元素の PIXE 分析

鈴木弘行<sup>1</sup>、沢辺京子<sup>2</sup>、駒形 修<sup>2</sup>、後藤祥子<sup>3</sup>、高橋千衣子<sup>3</sup>、齋藤義弘<sup>3</sup>、世良耕一郎<sup>4</sup>

<sup>1</sup>千葉大学大学院薬学研究院  
263-8522 千葉県千葉市稲毛区弥生町 1-33

<sup>2</sup>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

<sup>3</sup>日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンター  
020-0603 岩手県滝沢市留が森 348-58

<sup>4</sup>岩手医科大学サイクロトロンセンター  
020-0603 岩手県滝沢市留が森 348-58

### 1 緒言

経済活動のグローバル化に伴い様々な物が海外から本邦に持ち込まれるようになったが、その中には好ましからざる物もある。その一つが輸入感染症であり、中でもデング熱、チクングニア熱、黄熱病、マラリア、西ナイル熱等は潜伏期にある患者が検疫をすり抜け入国後に発病した場合、蚊に吸血されることで蚊を介した大流行を引き起こす危険がある<sup>1-4</sup>。また、本邦において、かつて多数の患者が発生した日本脳炎もコガタアカイエカが媒介する感染症である。本邦での日本脳炎の流行は近年でこそ稀であるが、厚生労働省によるブタの日本脳炎ウイルス抗体獲得状況調査によると日本脳炎ウイルスの活動は未だ活発であるため、依然として防疫上の注意が必要である<sup>5</sup>。

このような蚊を媒介する疾病の防疫では発症した患者を隔離するだけでなく、媒介蚊を駆除することが重要である。しかし、ウイルスを保有する個体が生息する地域を絞ることは難しく、蚊の発生源を特定することも困難であることから、駆除には薬剤散布を広域的に行う必要がある。その場合、生態系に悪影響を及ぼす危険がある一方、その薬剤散布で十分な効果が得られるかどうかは、現状ではあらかじめ予測することができない。なぜならば媒介蚊の行動、特に移動に関しては知見が限られているためである。

蚊の行動範囲を調査するためにはオビトラップや炭酸ガストラップ、人囀法等での捕集を広域的に行う必要があるが、そのためには多大な時間と労力が必要となる。このため、無機元素組成によって感染症を保有する個体に生息地や侵入経路を特定することができれば、駆除の効率化など防疫上有益である。

近年、食品等の産地判別に無機元素組成による多変量解析技術が用いられているが<sup>6,7</sup>、同様の手法が蚊に適用できるかはこれまで検討されてこなかった。試料とする蚊は1mg以下と小さく一匹の個体に対し通常元素分析法を適用することは不可能である。そこで本研究では無機元素組成による多変量解析技術を蚊に適用する場合、無標準PIXE法による定量分析が必要であると考えた。2013年度は基礎的知見を収集した結果、ヒトスジシマカとコガタアカイエカの双方について1個体全体だけでなく脚部や翅部となどの部位別でも無標準法による定量分析が可能であることが明らかになった。今回はヒトスジシマカとコガタアカイエについて

て1個体全体、頭部と胸部、腹部、翅部、脚部などの各部位別で明らかになった元素の分布傾向について報告する。

## 2 測定方法

### 2.1 蚊試料

分析試料としたヒトスジシマカ (*Aedes (Stegomyia) albopictus*) は千葉大学西千葉キャンパス内の薬草園 (以下、西千葉) および国立感染症研究所構内 (以下、感染研屋外) において人囮法によって採取した。採取は西千葉においては2013年8月7日、8日、23日に行い、感染研屋外においては2013年9月4日に行った。また、コガタアカイエカ (*Culex tritaeniorhynchus*) は国立感染症研究所内において屋内飼育した物を使用した。採取は2013年9月4日に行った。ヒトスジシマカとコガタアカイエカはいずれもメスの個体を使用した。採取後、各蚊は氷点下20°Cの冷凍庫内で凍死させた。凍死個体はシリカゲルを含むデシケーター内で1週間乾燥した。乾燥後、1個体丸ごと測定する試料 (以下、「全体」) を除き、プラスチックピンセットを用いて「全体」を「頭部と胸部」、腹部、「3部位 (頭部と胸部と腹部)」、脚部、翅部に分け測定用の試料とした。図1に試料とした蚊についての特性を示した。また、各部位のおおよその分離位置を図2に示した。測定に用いた蚊の試料数は「全体」は4点、「頭部と胸部」、腹部、「3部位 (頭部と胸部と腹部)」は3点、脚部と翅部は6匹分を1つにまとめたものを1点ずつ用意した。ただし、西千葉採取のヒトスジシマカの脚部と翅部は部位別での比較を多重検定によって行うため2点ずつ用意した。

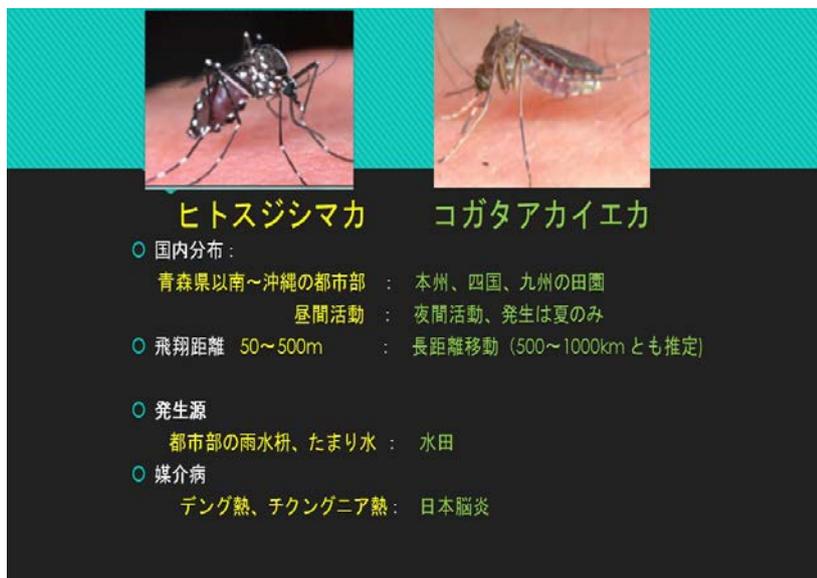


図1  
ヒトスジシマカとコガタアカイエカの特性 (図中の写真は新井<sup>8)</sup>より複製引用した)。

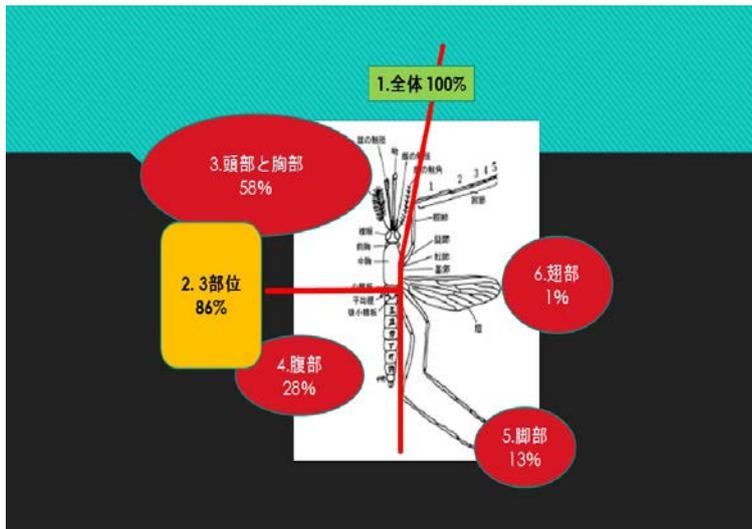


図2  
各部位のおおよその分離位置  
部位の下側の数字はヒトスジシマ  
カ（西千葉）の全体の乾燥重量を  
100とした場合の各部位の重量比  
を示す。（図中の蚊の図は新井<sup>8)</sup>  
より複製引用した）。

## 2.2 測定と解析

蚊の元素分析は日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンターで行った。乾燥した蚊試料はマイラー膜上で希釈したコロジオンを用いて固定し、PIXE測定試料とした。小型サイクロトロンからの2.9 MeVの陽子ビーム（直径6 mm）を真空チャンバー内で試料に照射し、これにより発生した特性X線を低エネルギー用と高エネルギー用の2台のSi(Li)検出器で同時に測定してX線スペクトルを得た。スペクトルの解析と無標準法による解析は世良<sup>9)</sup>の方法によった。

測定結果の解析は、西千葉採取のヒトスジシマカについては「全体」と各部位の元素含有率を多重検定（シェッフエ法）で比較した。感染研屋外のヒトスジシマカとコガタアカイエカについては試料数の関係から多重検定は行わず、今回は西千葉のヒトスジシマカと比較した場合の傾向を述べるに留めた。

また、同一試料の測定結果については部位別での類似性を解析するため、得られた元素含有率のデータを正規化し、クラスター解析（ウォード法）を行った。多重検定（シェッフエ法）とクラスター解析（ウォード法）はKT software and Consulting 菊池富男作成によるフリーソフトを使用した<sup>10)</sup>。

## 3 結果

3 試料の蚊の「全体」また各部位からは13種類の元素（Na、Mg、P、S、Cl、K、Ca、Mn、Fe、Cu、Zn、Br、Sr）が共通して検出された。各試料の結果を元素別にまとめ、図3～図16に示した。

Naの場合（図3）、西千葉のヒトスジシマカの「全体」での含有率は約400mg kg<sup>-1</sup>であった。部位別のNa含有率については統計的に有意な違いが認められなかった。西千葉のヒトスジシマカのNa含有率の傾向を感染研屋外のヒトスジシマカあるいはコガタアカイエカと比較した場合、感染研屋外のヒトスジシマカの翅部においてNa含有率が高くなる傾向が認められた。

Mgの場合（図4）、西千葉のヒトスジシマカの「全体」での含有率は約800mg kg<sup>-1</sup>であった。部位別のMg含有率については脚部において他の部位よりも統計的に有意に高くなった。感染研屋外のヒトスジシマカとコガタアカイエカについても西千葉のヒトスジシマカとMg含有率の傾向を比較した場合、脚部の元素含有率が他の部位よりも高くなる傾向が認められた。また、Naの場合と同様、感染研屋外のヒトスジシマカでは翅部においてMg含有率が高くなる傾向が認められた。

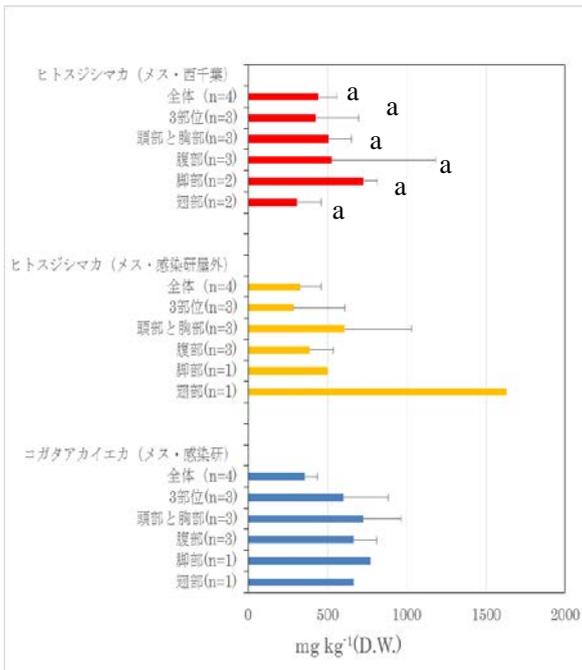


図3 各試料のNa含有率  
(図中の同一英文字は危険率5%水準で部位間に有意差が認められないことを示す。)

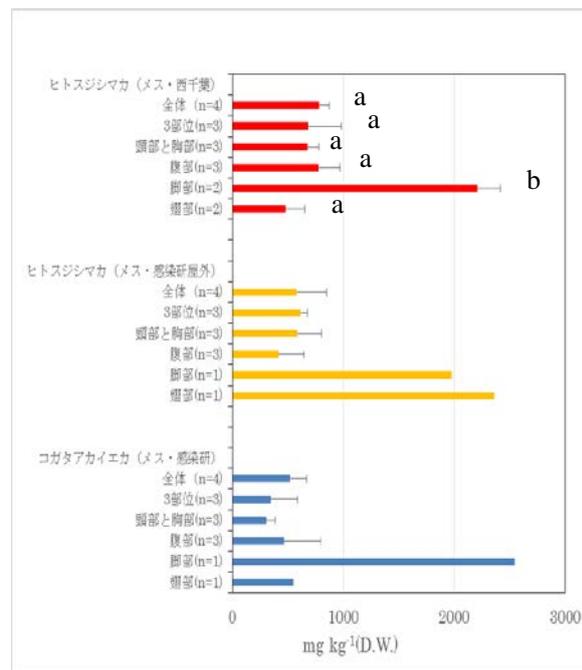


図4 各試料のMg含有率  
(図中の同一英文字は危険率5%水準で部位間に有意差が認められないことを示す。)

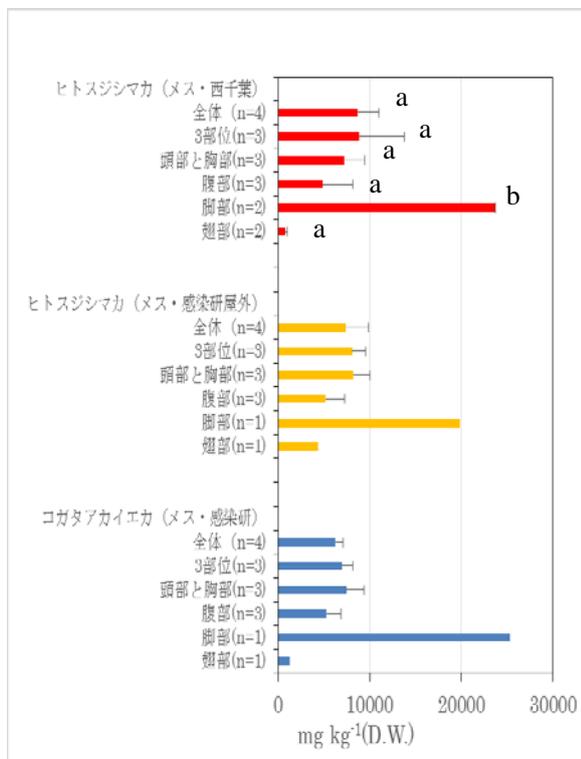


図5 各試料のP含有率  
(図中の同一英文字は危険率5%水準で部位間に有意差が認められないことを示す。)

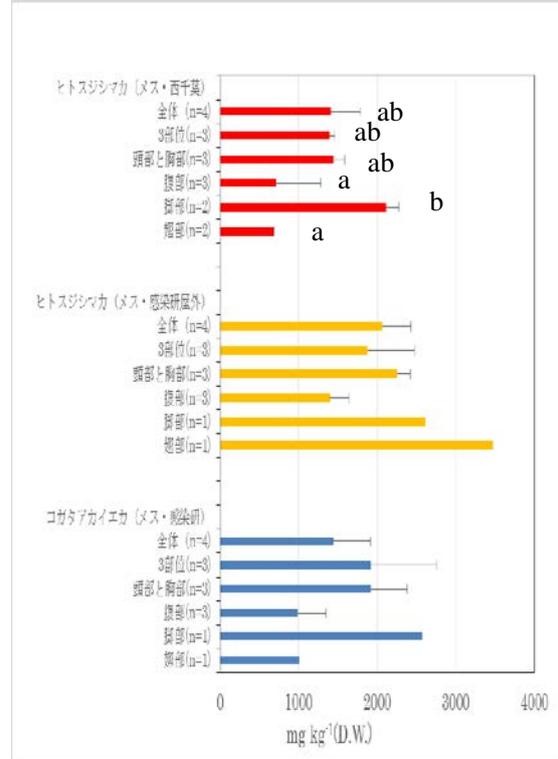


図6 各試料のS含有率  
(図中の同一英文字は危険率5%水準で部位間に有意差が認められないことを示す。)

P の場合 (図 5)、西千葉のヒトスジシマカの「全体」での含有率は約 8700mg kg<sup>-1</sup>であった。部位別の P 含有率については脚部において他の部位よりも統計的に有意に高くなった。感染研屋外のヒトスジシマカとコガタアカイエカについて西千葉のヒトスジシマカと P 含有率の傾向を比較した場合においても、脚部の元素含有率が他の部位よりも高くなる傾向が認められた。

S の場合 (図 6)、西千葉のヒトスジシマカの「全体」での含有率は約 1300mg kg<sup>-1</sup>であった。部位別の S 含有率については脚部が腹部と翅部に対してのみ統計的に有意に高くなった。感染研屋外のヒトスジシマカとコガタアカイエカについて西千葉のヒトスジシマカと S 含有率の傾向を比較した場合、感染研屋外のヒトスジシマカの翅部において S 含有率が高くなる傾向が認められた。

Cl の場合 (図 7)、西千葉のヒトスジシマカの「全体」での含有率は約 800mg kg<sup>-1</sup>であった。また、K の場合 (図 8)、西千葉のヒトスジシマカの「全体」での含有率は約 6500mg kg<sup>-1</sup>であった。部位別での Cl と K の含有率については統計的に有意な違いは認められなかった。感染研屋外のヒトスジシマカとコガタアカイエカについて西千葉のヒトスジシマカと両元素の含有率の傾向を比較した場合においては、コガタアカイエカにおいて脚部の Cl 含有率が他の部位よりも高くなる傾向が認められた。

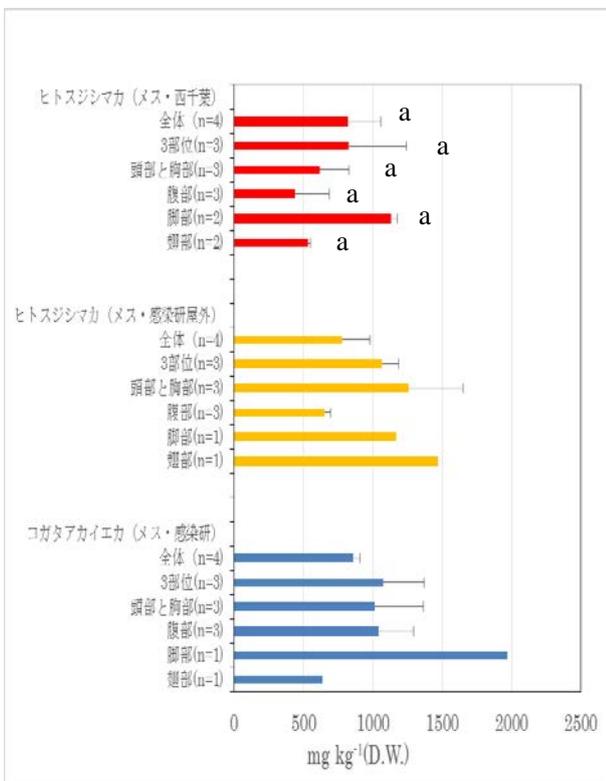


図 7 各試料の Cl 含有率

(図中の同一英文字は危険率 5%水準で部位間に有意差が認められないことを示す。)

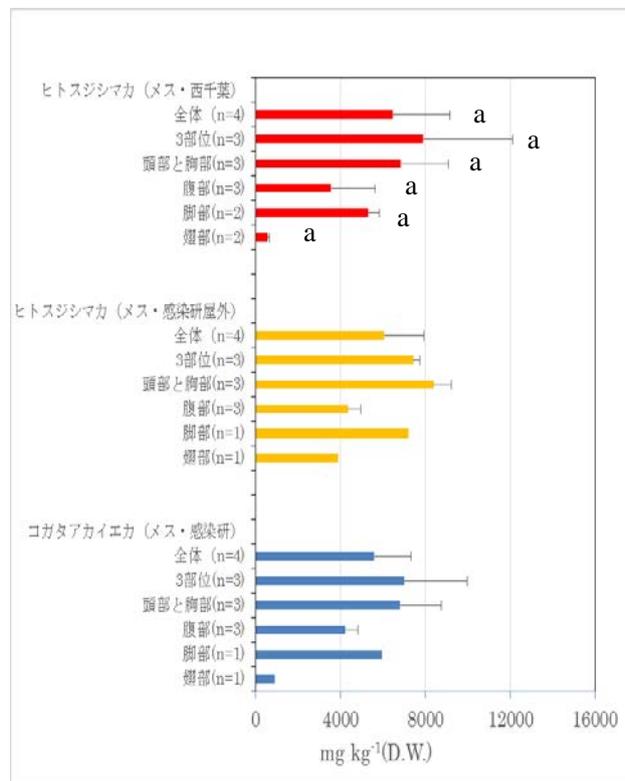


図 8 各試料の K 含有率

(図中の同一英文字は危険率 5%水準で部位間に有意差が認められないことを示す。)

Ca の場合 (図 9)、西千葉のヒトスジシマカの「全体」での含有率は約 14000mg kg<sup>-1</sup>であった。部位別の Ca 含有率については脚部が他の部位と比べて統計的に有意に高くなった。また、翅部と腹部は脚部だけでなく「全体」と比べても Ca 含有率が統計的に有意に低くなった。感染研屋外のヒトスジシマカおよびコガタアカイエカについて西千葉のヒトスジシマカと Ca 含有率の傾向を比較した場合、ほぼ同様の傾向が認められた。

Mn の場合 (図 10)、西千葉のヒトスジシマカの「全体」での含有率は約 80mg kg<sup>-1</sup>であった。部位別での Mn 含有率については統計的に有意な違いは認められなかった。感染研屋外のヒトスジシマカとコガタアカイエカについて西千葉のヒトスジシマカと Mn 含有率の傾向を比較した場合についても、ほぼ同様の傾向が認められた。

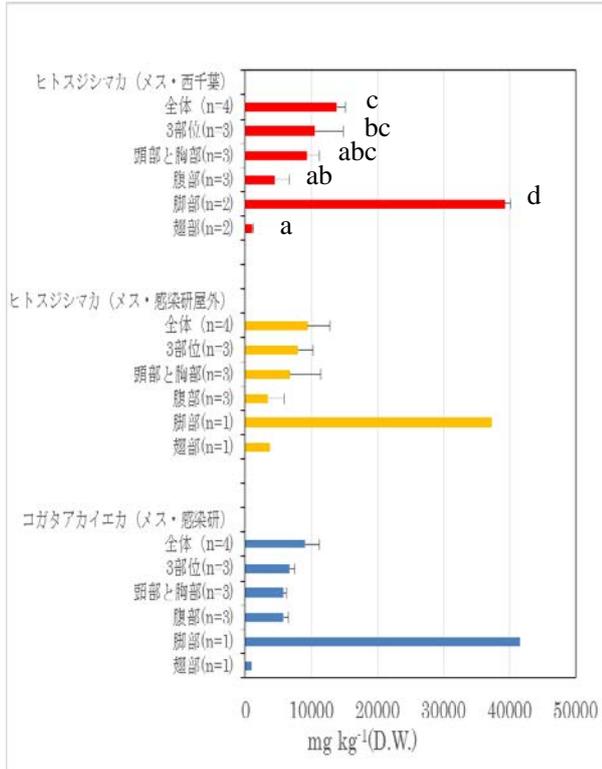


図 9 各試料の Ca 含有率  
(図中の同一英文字は危険率 5%水準で部位間に有意差が認められないことを示す。)

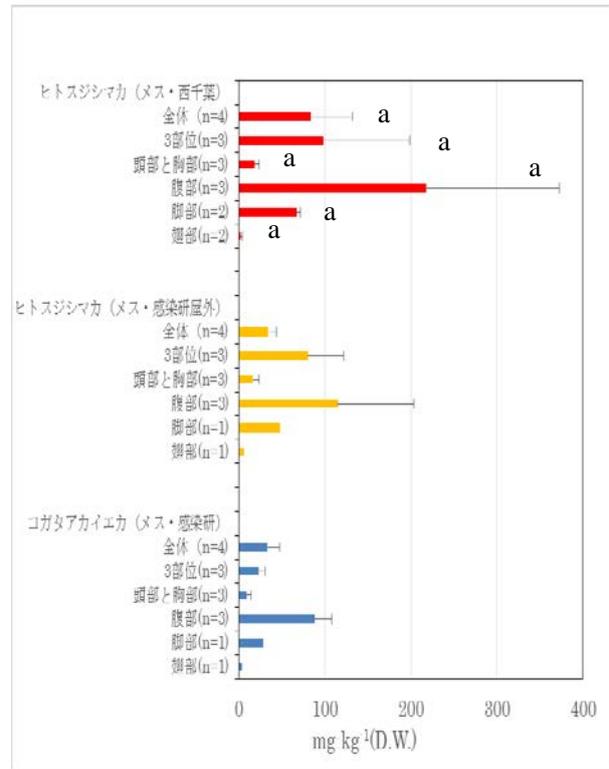


図 10 各試料の Mn 含有率  
(図中の同一英文字は危険率 5%水準で部位間に有意差が認められないことを示す。)

Fe (図 11) と Cu の場合 (図 12)、西千葉のヒトスジシマカの「全体」での含有率はそれぞれ約 100mg kg<sup>-1</sup>と約 15mg kg<sup>-1</sup>であった。また、Zn (図 13) と Br の場合 (図 14)、西千葉のヒトスジシマカの「全体」での含有率はそれぞれ約 150mg kg<sup>-1</sup>と約 15mg kg<sup>-1</sup>であった。これらの 4 元素については部位別での元素含有率に統計的な違いが認められなかった。感染研屋外のヒトスジシマカ並びにコガタアカイエカについて西千葉のヒトスジシマカとこれらの 4 元素の含有率の傾向を比較した場合には、Cu と Zn についてはほぼ同様の傾向が認められた。一方、Fe と Br の場合は感染研屋外のヒトスジシマカの翅部において西千葉のヒトスジシマカの場合よりも元素含有率が高くなる傾向が認められた。

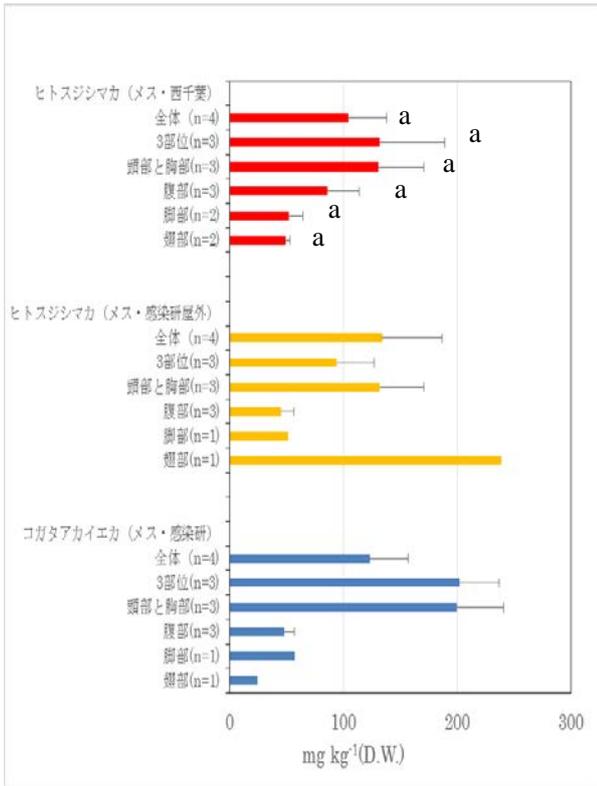


図 11 各試料の Fe 含有率  
(図中の同一英文字は危険率 5%水準で部位間に有意差が認められないことを示す。)

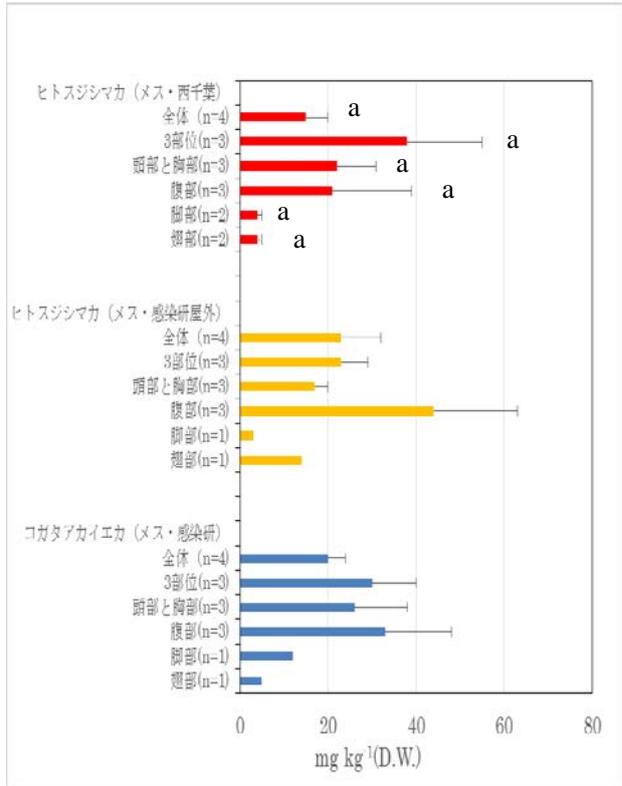


図 12 各試料の Cu 含有率  
(図中の同一英文字は危険率 5%水準で部位間に有意差が認められないことを示す。)

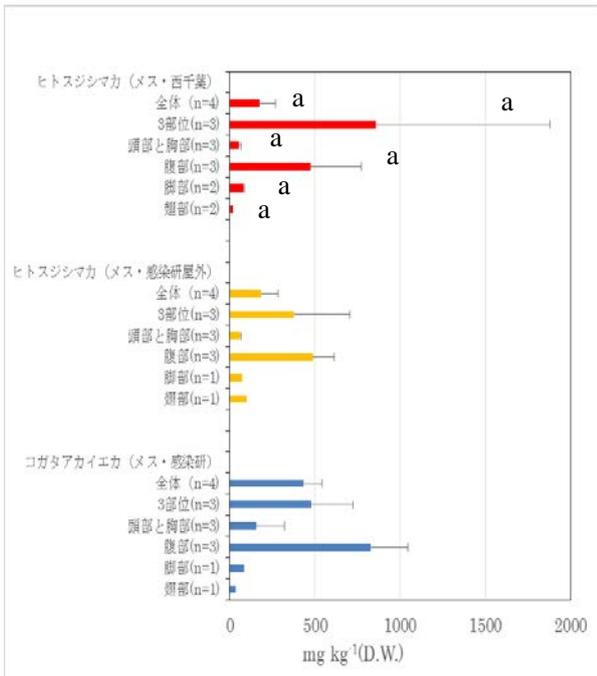


図 13 各試料の Zn 含有率  
(図中の同一英文字は危険率 5%水準で部位間に有意差が認められないことを示す。)

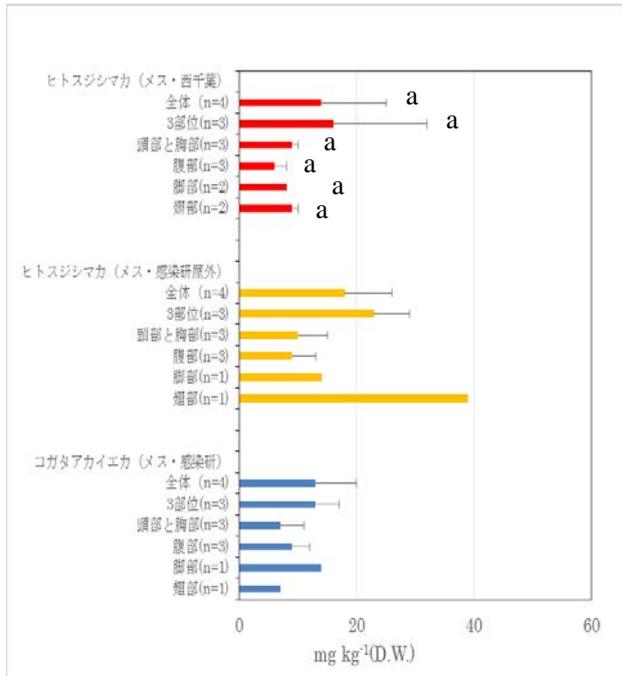


図 14 各試料の Br 含有率  
(図中の同一英文字は危険率 5%水準で部位間に有意差が認められないことを示す。)

Sr の場合 (図 15)、西千葉のヒトスジシマカの「全体」での含有率は約  $60\text{mg kg}^{-1}$  であった。部位別の Sr 含有率については脚部において他の部位よりも統計的に有意に高くなった。感染研屋外のヒトスジシマカおよびコガタアカイエカについて西千葉のヒトスジシマカと Sr 含有率の傾向を比較した場合、感染研屋外のヒトスジシマカについては脚部の元素含有率が他の部位よりも高くなる傾向が認められた。しかし、コガタアカイエカの場合はヒトスジシマカの場合と異なり、脚部の Sr 含有率が他の部位より顕著に高くなる傾向は認められなかった。

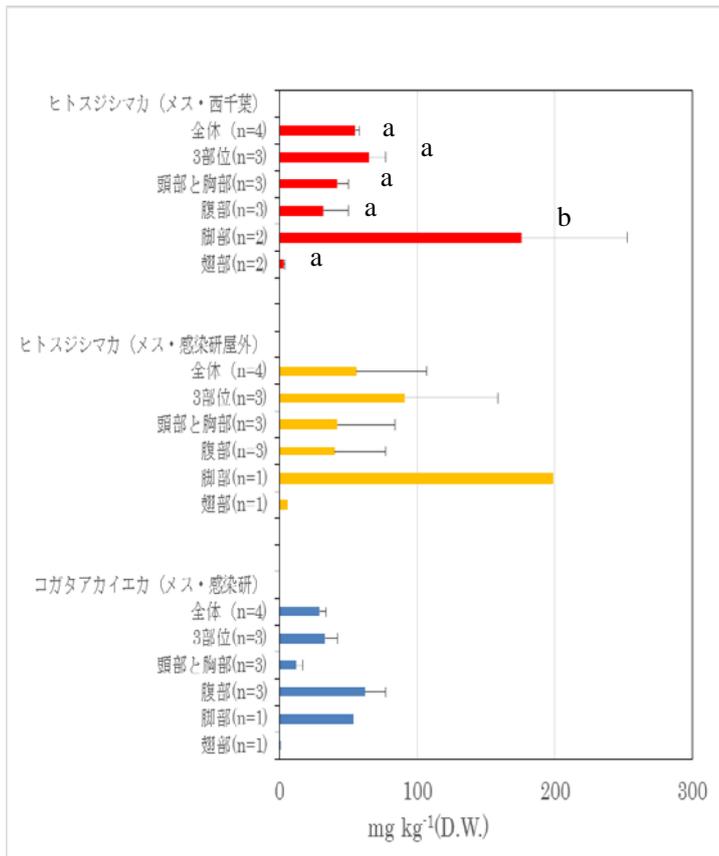


図 15 各試料の Sr 含有率  
(図中の同一英文字は危険率 5%水準で部位間に有意差が認められないことを示す。)

#### 4 考察

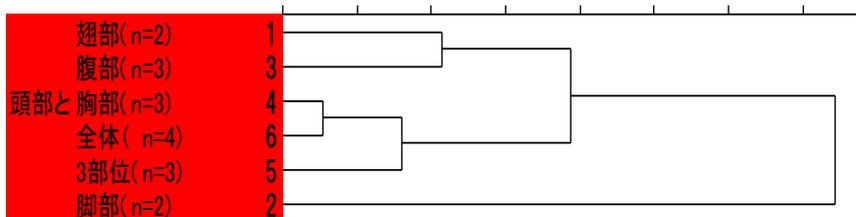
現在、蚊中の元素については、Liang et al.<sup>11)</sup> のネッタシマカについての報告があるのみである。Liang et al. の ICA-P400 を用いたネッタシマカの分析結果には、羽化後の成虫については Ca が約 3 万 ppm、他 5 元素 (Fe, Ca, Pb, Al, Sr) が約 1000ppm と表示されている。本研究のヒトスジシマカとコガタアカイエカにおいても「全体」の Ca は約 1 万 mg/kg と 13 元素中最も高い数値を示している。ネッタシマカの結果と本研究の結果を単純に比較することはできないが、Ca は蚊に含まれる元素の中では主要な元素である点は共通しているのかもしれない。

各元素の含有率を部位別に概観すると、西千葉のヒトスジシマカについては Mg、P、Ca、Sr の元素含有率が脚部で他の部位より高くなる傾向があった。感染研屋外のヒトスジシマカとコガタアカイエカについては統計処理を行っていないが、西千葉のヒトスジシマカにおける Mg、P、Ca、Sr の傾向は感染研屋外のヒトスジシマカについては同様な傾向が、コガタアカイエカについては Sr を除き同様な傾向が認められた。こ

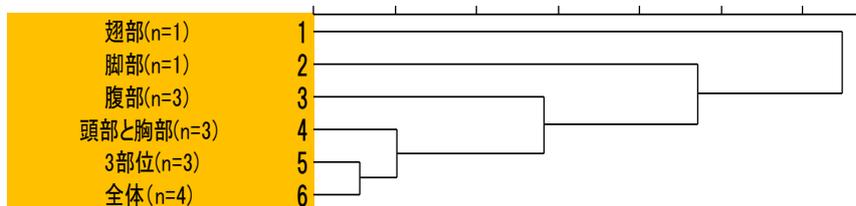
のため、ヒトスジシマカやコガタアカイエカの脚部は他の部位とは異なった元素組成をしている可能性がある。一方、感染研屋外のヒトスジシマカの翅部では Na、Mg、P などいくつかの元素で西千葉のヒトスジシマカの翅部とは異なった傾向が見られた。ヒトスジシマカについては移動距離が短いことが知られているため、翅部の元素含有率の相違は採集地=発生源の地域差を表しているかもしれない。今後、さらに検討が必要と思われる。

また、各蚊について「全体」と部位別の元素含有率の結果をクラスター解析した場合、その結果はいずれの場合も脚部と翅部が最も平方距離が離れた関係を示した(図 16)。これは、脚部では先に述べた Ca などの元素による影響が関係しているためと思われる。一方、「全体」と「3 部位」および「頭部と胸部」はデンドログラム上で比較的平方距離が近く、ほぼ一つの小クラスターを形成していた。これは、「頭部と胸部」の重量が全体に対し占める割合が約 58%と高く(図 2)、「頭部と胸部」の元素傾向が「3部位」や「全体」に反映されやすいためかもしれない。一方、腹部は「全体」に対する重量の割合では約 28%であるが、各デンドログラム上では全体、3 部位および「頭部と胸部」とは少し離れた距離関係が見られた。これは、元素含有率の部位別比較で有意差は認められなかったが Mn や Zn の含有率が腹部で高い傾向を示していたことと関係があるかもしれない。

**ヒトスジシマカ(メス・西千葉:2013.8)**



**ヒトスジシマカ(メス・感染研屋外:2013.9)**



**コガタアカイエカ(メス・感染研屋内飼育:2013.9)**

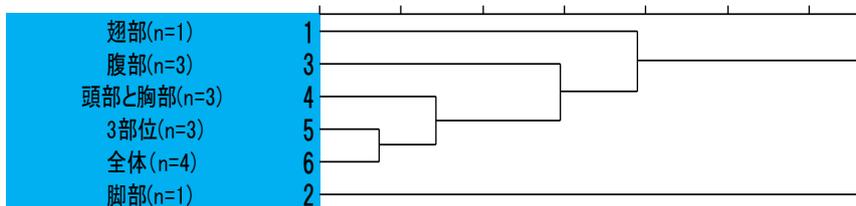


図 16 各蚊のクラスター解析結果

図中の距離は平方距離を示す(1 目盛は 10 に相当)。

今回のクラスター解析の結果で、「全体」、「3 部位」および「頭部と胸部」の元素含有率の傾向が比較的似ていることが示唆されたが、この知見は無機元素組成によって感染症を保有する個体の生息地や侵入経路を特定する上でより有益に活用できるかもしれない。たとえば、蚊 1 個体を腹部と「頭部と胸部」に分離して、腹部をウイルス検査に使用し、「頭部と胸部」を元素分析に使用するような使い方をすることで、ウイルスを

持った個体とウイルスを持たない個体との差を把握しやすくなるとも考えられる。

今後、ヒトスジシマカの発生地特定や長距離移動性のコガタアカイエカの飛来源推定に向けて吸血の影響や発生時期での元素含有率の変動などを調査していく予定である。

#### 参考文献

- 1) 赤沼雅彦, チクングニア熱, 日医大医学会誌, **8**, 54 (2012)
- 2) 新井明治, 日本における感染症媒介蚊 (蚊 後編), モダンメディア, **58**, 231-235 (2012)
- 3) 大西健児, 最近注目されている輸入感染症, 感染症誌, **85**, 139-143 (2011)
- 4) 倉根一郎, 1.ウエストナイル熱, ウイルス, **53**, 1-6 (2003)
- 5) 感染症研究所 (ウイルス第一部) 日本脳炎 <http://www.nih.go.jp/niid/ja/diseases/na/je.html>
- 6) 野地美樹, 福島あや, 内田 治, 吉田宗広, 安藤達彦, コーヒー豆中の微量元素を用いた多変量解析による地域特定, *Trace Nutrients Res.*, **25**, 142-146 (2008)
- 7) 安井明美, 進藤久美子, 玄米中の無機元素組成による産地判別, 分析化学, **49**, 405-410 (2000)
- 8) 新井明治, 日本における感染症媒介蚊 (蚊 前編), モダンメディア, **58**, 199-203 (2012)
- 9) Sera, K., Suzuki, H., Saeabe, K., Komagata, O., Goto, S., Takahashi, C. and Saitoh, Y., Standard-free method for quantitative analysis of mosquitoes and small flies, *Int. J. PIXE* (投稿中)
- 10) <http://ktsc.cafe.coocan.jp/>
- 11) Liang, Q., Liu, R. and Zhang, J., Determination of trace element of *Aedes aegypti*., *Chi. J. Vector Bio and Control*, **10**, 13-15 (1999)

## Elementary analysis of Asian tiger mosquito (*Aedes (Stegomyia) albopictus*) and *Culex tritaeniorhynchus* by PIXE

H. Suzuki<sup>1</sup>, K.Sawabe<sup>2</sup>, O.Komagata<sup>2</sup>, S. Goto<sup>3</sup>, C. Takahashi<sup>3</sup>, Y. Saitoh<sup>3</sup> and K. Sera<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Chiba University  
1-33 Yayoi-cho, Inage-ku, Chiba-shi, 263-8522, Japan

<sup>1</sup> Department of Medical Entomology, National Institute of Infectious Diseases  
Toyama 1-23-1, Shinjyuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan

<sup>3</sup>Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0603, Japan

<sup>4</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0603, Japan

### Abstract

Element contents of Asian tiger mosquito (*Aedes (Stegomyia) albopictus*) and *Culex tritaeniorhynchus* were determined by PIXE at NMCC. The results obtained in this study are summarized as follows.

- 1) Thirteen elements, namely, Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Br and Sr were detected in “whole body”, “head and chest”, abdomen, “3-main parts” (head, chest and abdomen), leg and wing of mosquito samples.
- 2) In the case of Asian tiger mosquito inhabiting nishi-chiba area, the concentrations of Mg, P, Ca and Sr were higher in leg than “whole body” and another parts. The same tendency was observed also in Asian tiger mosquito inhabiting the outdoors of National Institute of Infectious Diseases. In the other hand, in *Culex tritaeniorhynchus* bred indoors, the same tendency was accepted only by three elements other than Sr.
- 3) As a result of evaluating the similarity to the element composition of each body part using cluster analysis, it was suggested that the “head and chest” and “3-main parts”(head, chest and abdomen) resemble “whole body”.