

令和 3 年 8 月 13 日現在

機関番号：10105

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19257

研究課題名（和文）シカ小型ピロプラズマが牛小型ピロプラズマ病の発病に与える影響

研究課題名（英文）The influence of cervine piroplasma on the onset of bovine piroplasmosis

研究代表者

横山 直明（Yokoyama, Naoaki）

帯広畜産大学・原虫病研究センター・教授

研究者番号：80301802

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：野生エゾシカには、1種類のシカタイレリア（シカ小型ピロプラズマ）と2種類のシカバベシア（シカ大型ピロプラズマ）が感染している実態が初めて明らかとなった。また、北海道に広く分布しているシュルツェマダニやヤマトチマダニがそれらシカタイレリアとシカバベシアを媒介している可能性も示された。一方で、シカタイレリアとシカバベシアは牛には感染しないことも明らかになった。すなわち、シカタイレリアとシカバベシアはいずれも放牧牛への感染リスクは低いと結論する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果により、野生動物に寄生する新たなピロプラズマ原虫の存在と生活環の一部が学術的に明らかとなった。また、それら原虫を迅速に検出できるPCR法やLAMP法など新たな診断技術の開発にも成功した。一方で、“シカ小型ピロプラズマを活用した牛小型ピロプラズマ病に対する新たな制御法”を考案するには至らなかった。しかし、マダニへの人工感染系が確立できたことから、牛小型ピロプラズマのライフサイクルの詳細な検証が可能となり、今後牛小型ピロプラズマ病に対するワクチンの開発研究が加速するものと期待する。

研究成果の概要（英文）：We demonstrated for the first time that wild deer in Hokkaido are infected with a Theileria species designated Theileria sp. (sika 1) and two Babesia species designated Babesia sp. (sika 1) and Babesia sp. (sika 2). Our findings also suggested that Ixodes persulcatus and Haemaphysalis longicornis, which are widespread in Hokkaido, are potential transmission vectors of these cervine Theileria and Babesia species. Interestingly, these parasite species were not detected in cattle from the same regions where the infected deer were found. In conclusion, our findings suggest that the risk of being infected with cervine Babesia and Theileria species is very low in cattle.

研究分野：獣医学

キーワード：シカ タイレリア バベシア マダニ 牛 感染 リスク

機関番号：10105

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19257

研究課題名(和文) シカ小型ピロプラズマが牛小型ピロプラズマ病の発病に与える影響

研究課題名(英文) The influence of cervine piroplasma on the onset of bovine piroplasmosis

研究代表者

横山 直明 (YOKOYAMA, Naoaki)

帯広畜産大学・原虫病研究センター・教授

研究者番号：80301802

研究成果の概要(和文):

北海道に生息する野生エゾシカには、1種類のシカタイレリア (*Theileria* sp. Sika1; 別名シカ小型ピロプラズマ) と2種類のシカバベシア (シカバベシア-1 (*Babesia* sp. sika-1) とシカバベシア-2 (*Babesia* sp. sika-2); 別名シカ大型ピロプラズマ) が感染している実態が初めて明らかとなった。また、北海道に広く分布しているシュルツェマダニ (*Ixodes persulcatus*) やヤマトチマダニ (*Haemaphysalis japonica*) がそれらシカタイレリアとシカバベシアを媒介している可能性も示された。一方で、シカタイレリアとシカバベシアは牛には感染しないことも明らかになった。すなわち、シカタイレリアとシカバベシアはいずれも放牧牛への感染リスクは低いと結論する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果により、野生動物に寄生する新たなピロプラズマ原虫の存在と生活環の一部が学術的に明らかとなった。また、それら原虫を迅速に検出できるPCR法やLAMP法など新たな診断技術の開発にも成功した。一方で、“シカ小型ピロプラズマを活用した牛小型ピロプラズマ病に対する新たな制御法”を考案するには至らなかった。しかし、マダニへの人工感染系が確立できたことから、牛小型ピロプラズマのライフサイクルの詳細な検証が可能となり、今後牛小型ピロプラズマ病に対するワクチンの開発研究が加速するものと期待する。

研究成果の概要(英文):

We demonstrated for the first time that wild deer in Hokkaido are infected with a *Theileria* species designated *Theileria* sp. (sika 1) and two *Babesia* species designated *Babesia* sp. (sika 1) and *Babesia* sp. (sika 2). Our findings also suggested that *Ixodes persulcatus* and *Haemaphysalis longicornis*, which are widespread in Hokkaido, are potential transmission vectors of these cervine *Theileria* and *Babesia* species. Interestingly, these parasite species were not detected in cattle from the same regions where the infected deer were found. In conclusion, our findings suggest that the risk of being infected with cervine *Babesia* and *Theileria* species is very low in cattle.

研究分野：獣医学

キーワード：シカ、タイレリア、バベシア、マダニ、牛、感染、リスク

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

我が国の畜産業に多大な経済的被害を与えている放牧病に、牛小型ピロプラズマ病がある。本疾病は、赤血球内に寄生する牛小型ピロプラズマ原虫がマダニの吸血を介して牛に伝播され、しばしば牧野で集団発生する。感染を受けた牛は消耗性の発熱と悪性貧血を呈し、確実に増体率の低下を招く。本疾病は日本全土に発生しているが、現在治療薬も予防用ワクチンもないことから牛畜産業を大いに悩ませている。一方、我々は「野生のシカが保有するシカ小型ピロプラズマが、牧野内の牛小型ピロプラズマ病の発生を劇的に干渉している」可能性を見いだしてきた。

2. 研究の目的

北海道の野生エゾシカに感染しているシカ小型ピロプラズマの種同定と生活環を科学的に検証し、“シカ小型ピロプラズマを活用した牛小型ピロプラズマ病に対する新たな制御法”を考案することを目的とした。

3. 研究の方法

- (1) 北海道に生息する野生のエゾシカに感染しているシカタイレリア(別名:シカ小型ピロプラズマ)の特異遺伝子を同定し、その塩基配列をもとに遺伝子診断用 PCR を確立した。その後、エゾシカ、マダニ、及び放牧牛のシカタイレリアの感染状況を明らかにするための疫学調査を行った。
- (2) 牛タイレリアに人工感染した牛赤血球移入マウスにフタトゲチマダニ(*Haemaphysalis longicornis*)を吸血させ、その後のステージのマダニの唾液腺で成熟した牛タイレリアを形態学的並びに遺伝学的に解析することで、牛タイレリア感染マダニの作出を試みた。
- (3) シカタイレリアによるエゾシカの感染を特異的に、かつ迅速に検出できる新たな遺伝子診断法の開発を行った。
- (4) 北海道に生息する野生のエゾシカに感染しているシカバベシア(別名:シカ大型ピロプラズマ)の特異遺伝子を同定し、その塩基配列をもとに遺伝子診断用 PCR を確立した。その後、エゾシカ、マダニ、及び放牧牛の2種類のシカバベシアの感染状況を明らかにするための疫学調査を行った。

4. 研究成果

- (1) エゾシカに感染しているシカタイレリア種は *Theileria* sp. Sika1 (シカ小型ピロプラズマ)で、エゾシカに高度に感染していること、シュルツェマダニ(*Ixodes persulcatus*)とヤマトチマダニ(*Haemaphysalis japonica*)によって媒介されること、及びシカタイレリアは牛には感染しないことが示された。一方で、牛タイレリア(牛小型ピロプラズマ: *Theileria orientalis*)はエゾシカには感染しないことも明らかになった【 】。
- (2) 牛タイレリアに人工感染した牛赤血球移入マウスにフタトゲチマダニを吸血させることで、成熟した牛タイレリアが唾液腺に寄生した人工感染マダニの作出に成功した【 】。
- (3) シカタイレリアによる感染を特異的に遺伝子検出できる新たな診断法(LAMP法)の開発に成功した【 】。
- (4) 野生のエゾシカには新たなシカバベシアが2種感染している実態が明らかになった。それぞれのバベシア種をシカバベシア-1(*Babesia* sp. sika-1)及びシカバベシア-2(*Babesia* sp. sika-2)と名付けた。また、少なくともシュルツェマダニがシカバベシア-1を媒介すること、及び両シカバベシアともに牛には感染しないことも示された【投稿準備中】。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

- Shirozu Takahiro, Badolo Athanase, Soga Akira, Yoshimura Aya, Morishita Yu-ki, Koketsu Mami, Shirafuji Rika-Umemiya, Inokuma Hisashi, Yokoyama Naoaki, Fukumoto Shinya: Development and evaluation of a novel loop-mediated isothermal

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

amplification (LAMP) method targeting *Theileria* parasites infecting Yezo sika deer. *Parasitology International*, 77: 102130-102130, 2020, DOI: 10.1016/j.parint.2020.102130

- Shibata Shunya, Sivakumar Thillaiampalam, Igarashi Ikuo, Umemiya-Shirafuji Rika, Inokuma Hisashi, Fukumoto Shinya, Yokoyama Naoaki: Epidemiological survey of a cervine *Theileria* in wild deer, questing ticks, and cattle in Hokkaido, Japan. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 9: 1235-1240, 2018, DOI: 10.1016/j.ttbdis.2018.05.006
- Hayashida Kyoko, Umemiya-Shirafuji Rika, Sivakumar Thillaiampalam, Yamagishi Junya, Suzuki Yutaka, Sugimoto Chihiro, Yokoyama Naoaki: Establishment of a mouse-tick infection model for *Theileria orientalis* and analysis of its transcriptome. *International Journal for Parasitology*, 48: 915-924, 2018, DOI: 10.1016/j.ijpara.2018.05.012

〔学会発表〕(計1件)

- 横山直明, 柴田峻也, Thillaiampalam Sivakumar, 五十嵐郁男, 白藤梨可, 猪熊 壽, 福本晋也: 北海道の野生シカ、生息マダニ、及び放牧牛におけるシカタイレリアの感染疫学調査、第70回日本衛生動物学会大会、2018年

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

帯広畜産大学・原虫用研究センター

<https://www.obihiro.ac.jp/facility/protozoa/>

OIE Reference Centres

<https://www.obihiro.ac.jp/facility/protozoa/en/oie-reference-centres>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

(2)研究協力者
研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 6件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Shirozu Takahiro, Badolo Athanase, Soga Akira, Yoshimura Aya, Morishita Yu-ki, Koketsu Mami, Shirafuji Rika-Umemiya, Inokuma Hisashi, Yokoyama Naoaki, Fukumoto Shinya	4. 巻 77
2. 論文標題 Development and evaluation of a novel loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method targeting Theileria parasites infecting Yezo sika deer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102130 ~ 102130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2020.102130	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Shibata Shunya, Sivakumar Thillaiampalam, Igarashi Ikuo, Umemiya-Shirafuji Rika, Inokuma Hisashi, Fukumoto Shinya, Yokoyama Naoaki	4. 巻 9
2. 論文標題 Epidemiological survey of a cervine Theileria in wild deer, questing ticks, and cattle in Hokkaido, Japan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ticks and Tick-borne Diseases	6. 最初と最後の頁 1235 ~ 1240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ttbdis.2018.05.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hayashida Kyoko, Umemiya-Shirafuji Rika, Sivakumar Thillaiampalam, Yamagishi Junya, Suzuki Yutaka, Sugimoto Chihiro, Yokoyama Naoaki	4. 巻 48
2. 論文標題 Establishment of a mouse-tick infection model for Theileria orientalis and analysis of its transcriptome	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal for Parasitology	6. 最初と最後の頁 915 ~ 924
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijpara.2018.05.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 横山直明, 柴田峻也, Thillaiampalam Sivakumar, 五十嵐郁男, 白藤梨可, 猪熊 壽, 福本晋也
2. 発表標題 北海道の野生シカ、生息マダニ、及び放牧牛におけるシカタイレリアの感染疫学調査
3. 学会等名 第70回 日本衛生動物学会大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

帯広畜産大学・原虫用研究センター
<https://www.obihiro.ac.jp/facility/protozoa/>
OIE Reference Centres
<https://www.obihiro.ac.jp/facility/protozoa/en/oie-reference-centres>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------