

研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19510235
 研究課題名(和文) 西太平洋地域の干潟に生息する巻貝類とそれに寄生するセルカリア類の現状と保全
 研究課題名(英文) Present condition and conservation of snails and their parasitic cercariae on tidal flats in west Pacific region

研究代表者
 原田 正和 (HARADA MASAKAZU)
 香川大学・医学部・助教・
 研究者番号：90127580

研究成果の概要(和文)：

タイ、韓国、日本で調査を行い、35種類の巻貝から19種類の吸虫類を検出した。干潟により生息する巻貝類とそれに寄生する吸虫類の多様性は異なっていた。巻貝類の多様性が最も高かった地点は日本の名護市我部井干潟の7種で、吸虫類では月浦里で6種であった。感染率はタイで100%、日本では浜松市雄踏町山崎の80%が最高であった。韓国の木浦周辺干潟は、巻貝類、吸虫類の多様性に富んでいた。巻貝と吸虫の多様性・希少性指数は、我部井、大浦川、西表島浦内川で圧倒的に高く、香川県、佐賀県の小さな干潟でも高い値を示した。

研究成果の概要(英文)：

We investigated at 116 sites in Thailand, 18 sites in Korea and 84 sites in Japan. Nineteen trematodes were found from 35 species of snails. The highest diversity of snails was recorded at Gabei in Nago city (7 species), and that of trematodes (6 species) at Geppo-ri. Infection rate of snails was highest in Thailand (100%), and at Yamazaki in Hamamatsu city (80%). Tidal flats around Mokpo in southern Korea had high diversities of snails and trematodes. The diversity-rarity index was defined and calculated. The value was highest at Gabei, and were high at the small tidal flats in Kagawa and Saga Prefecture. Therefore it is suggested that the small tidal flats with good natural conditions are very important for survival of trematodes and their parasitic trematodes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：資源保全学・資源保全学

キーワード：干潟、巻貝、吸虫、セルカリア、環境評価、海洋保全

1. 研究開始当初の背景

河口等の干潟に生息する巻貝類には、哺乳類や鳥類に寄生する吸虫類の中間宿主となるものがあり、その体内にはレジア、スポロシスト、セルカリアが寄生していることが多い。しかし、淡水産の巻貝に較べて、干潟の巻貝を中間宿主とする吸虫類は、日本ではほとんど研究されていない。寄生虫の生活史は終宿主 (host) と中間宿主 (intermediate host) が揃って生息している時のみ成立するので、どちらか一方のみしか生息してない環境ではこれらの寄生虫は存続できない。とどろが、近年干潟が激減し、干潟の環境自身も悪化しているためこれら寄生虫は、巻貝類とともに、種の存続を脅かされる状況に陥っていると想像される。

日本における研究状況：日本の海産或は汽水産セルカリアに関する論文は非常に少なく、1906年に藤田が東京湾のアサリからセルカリアを発見して以来これまでに二十数編しかない。その中には瀬戸内海の貝類についての浅田(1928)、翁(1959)、Bridgman(1971, 1972)の研究、東京湾等の貝類については Ito (1956a, b, 1957, 1980)、Shimura(1980, 1983a, b, 1984)等の研究があるが、その後は筆者らによる香川県の貝類についての研究(Harada, 1989a, b, c, 2001, 2002)があるのみであった。これまで、瀬戸内海、東京湾、八丈島以外での研究は行われておらず、近年ホソウミナナに寄生するセルカリアの研究が発表されたが(Miura et al., 2005)、全国的なセルカリアの分布状況は未だに不明である。

世界における状況：Holliman(1961)はフロリダ半島 Apalachee Bay で、Cable(1963)はジャマイカと Curacao 島で海産セルカリアの研究を行なった。一方、近年はオーストラリア、カリフォルニアでは生態学的研究が盛んになっている。しかしこれまでに全世界でも論文は200編以内と思われ、韓国、東南アジアでは汽水産巻貝とセルカリアの研究は殆どなく、現状を把握する事すらできない。従って、西太平洋地域の干潟のセルカリア相が明らかになれば、日本の干潟の特徴が明らかになり、干潟研究に対しても全く新しい視点加わると思われる。

2. 研究の目的

干潟研究において、巻貝類に寄生する吸虫類はまだほとんど調べられていない。汽水産セルカリアの形態学的分類は非常に困難なため研究の進展を阻害しているため、DNAの塩基配列により種を同定できるようにす

るため、セルカリア、成虫のある特定領域の塩基配列を決定する。また、それと同時に巻貝類の生態学的調査も行い、セルカリアとその寄主である巻貝類との相互作用、セルカリア種間の競争、共生関係も解析する。

寄生虫は複雑な生活史を持ち、巻貝類を中間宿主として必要とするので、これらは干潟生態系の多様性の指標となる。本研究は、西太平洋沿岸に亘って広く干潟の巻貝類とそれに寄生しているセルカリアの分布と種類を明らかにする事を第一の目的とする。その結果に基づき、巻貝類と吸虫類の多様性と希少性を同時に表現できる指数考案し、これにより干潟を評価する。これによって、巻貝-吸虫類系の保全のために現在重要な干潟をリストアップ出来、干潟の保全対策を考える事ができる。さらに環境汚染との関連から、水質、底質がどの程度巻貝類やセルカリアの生存に影響しているかを検討する。

3. 研究の方法

日本国内では、これまで調査を行っていない地域を中心に、順次調査する。

山陰地方、有明海周辺の各地点で、緯度経度を記録して巻貝類の任意採集を行う。国内の野外調査に人手が必要な時は、研究分担者とともに行う。採集に行けない場合は、現地研究者に謝金により採取を依頼し、標本を送付して頂く。

それらを実験室に持ち帰り、貝を破碎して寄生しているセルカリアを検索する。見つかったセルカリアをスライドグラスにとり、顕微鏡で形態を観察、測定し、flame cell formulaを決定する。

レジア、スポロシスト、セルカリアから市販の抽出キットによりDNAを抽出する。リボソームRNA遺伝子のITS regionの保存領域のプライマーを用いてPCRを行い、ダイレクトシーケンシングによりシーケンスを決定する。この過程は謝金により実験補助者を雇って行う。未記載のセルカリアが見つければ、DNAの配列と共に、新種として記載する。

国外においては、ベトナム、台湾、中国から、具体的に協力が得られた地域から開始する。

国内と同様、研究協力者とともに各地の干潟で緯度経度を記録して巻貝類の任意採集を行う。巻貝類は拠点となる研究機関または宿泊施設の冷蔵庫に保管しておき、まとめて日本に持ち帰る。日本の研究室において上記と同様に研究を行う。

4. 研究成果

西太平洋地域の干潟に生息する巻貝類とそれに寄生する吸虫類の現状を明らかにするため引き続き、韓国及び日本を中心とした各地で調査を行った。

韓国南部においては人体有害異形吸虫症などが報告されているので、木浦を中心としてムアン、ジンド、カンジン湾までの干潟で調査を行った。その結果、これらの地方の干潟には吸虫類の中間宿主となる巻貝類が現在でも種類数、個体数とも多く生息しており、巻貝類の多様性はセマングム干潟より高かった。カンジン湾には、かつて韓国各地の干潟に見られた巻貝類が、現在はこの周辺にだけ貴重種として生息している事が知られている。この地方は、貴重な干潟が多く残っているが、現在でも埋め立ての進行は著しく、特に木浦市では既に多くの干潟が消失している。韓国でも日本と同様に、干潟環境の減少により、巻貝類および吸虫類の生存にとって厳しくなっていると思われた。

次に、日本も干潟の巻貝類は生息地が非常に限局されて来ているので、その分布規定要因として底質と水質のどちらが大きく関与しているかを知るため、ヘナタリを使用して、生息している場所としていない場所の底質と水質の選択および交換実験を行った。その結果、行動や死亡率に水の影響はなく、ヘナタリは藤前干潟の底質上を避け、和歌川の底質上に集まった。従ってヘナタリは藤前干潟の底質より和歌川の底質を選択する事が分かった。そこで底質の粒度分析を行うと、底質の粒度組成は両者で大きな違いがあった。藤前では150 μ m以下の粒子が21.8%で、300 μ m以上の29.5%と同程度に多いが、和歌川では150 μ m以下が10.2%であり、300 μ m以上の粒子は47.3%を占めた。底質の化学的な成分の影響は分からないが、底質がヘナタリの分布の要因となっている事が示唆された。そこで、全国13地点の底質の粒度分析を行った。その結果、地点により粒度組成には大きな違いがあり、愛知県田原市汐川では粒径0.075mm以下(シルト、粘土)で10%に達したが、長崎県太良町嫁川河口では0.3mmまで0%であった。*Cerithidea*類はシルトの多い地点にも生息していたが、ホソウミナは粒径2.36mm以上の成分が多い場所を好む事が明らかになった。

続いて、日本の島根県浜田市から鳥取県米子市までの山陰地方の調査を行った。この地方の海岸の環境は瀬戸内海、九州、太平洋岸とは大きく異なっており、主に崖、磯、浜で成り立っており、干潟はほとんど形成されていない。そのためカウミナ科、オニノツノガイ科の巻貝類はほとんど見られず、ホソウミナナ

みが見られたが、本種の分布は非常に限られていた。

次に徳島県、愛媛県、有明海、三重県、愛知県の干潟でオニノツノガイ科の巻貝類と吸虫類の調査を行った。有明海の9地点ではそれぞれ1-3種類の巻貝が確認されたが、特にクロヘナタリが5地点で確認された。これらの貝類の寄生虫感染率は0-60%で、4種類の吸虫が寄生していた。中でも緑川、塩田川河口のクロヘナタリはそれぞれ60%、20%と高い感染率であった。これらの事からクロヘナタリは、ヘナタリと同様に吸虫類の中間宿主として重要である事が明らかになった。また、生物群集は多様性ばかりでなく、希少種も重要なので、多様性と同時に希少な種の存在も評価できる、多様性・希少性指数を考案した。有明海で調査した9地点で、巻貝類と吸虫類の種類数によるこの指数を計算すると、田古里川の値が最も高く、次いで菊池川左岸、塩田川右岸であったが、菊池川右岸、六角川河口では非常に小さかった。この様に、巻貝類と寄生吸虫類の多様性・希少性指数は干潟環境の指標となり、対象種を更に広げれば、より総合的な干潟の環境評価指数として使用できると思われた。

さらに、徳島県大湊湾のセルカリアと神奈川県油壺、小網代のホソウミナに寄生している*Cercaria hosoumininae*を、形態的、遺伝学的に比較検討し、さらに香川県の財田川において採集したホソウミナにナから得られたセルカリアとも形態学的に詳細に比較検討した。その結果これらのセルカリアは同一の物との結論が得られたので、今後これらの結果を順次報告する予定である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計10件)

- ①Koh-ichi Ohshima, Ichiro Yamadori, Masakazu Harada, Setsuo Suguri and Noboru Kagei. 2009. Orbital inflammation caused by a spirurid larva type X showing small speckles on magnetic resonance imaging. *Jpn. J. Ophthalmol.* 53, 667-668. 査読有り
- ②Arif U Hasan, Setsuo Suguri, Jetsumon Sattabongkot, Chigusa Fujimoto, Masao Amakawa, Masakazu Harada and Hiroshi Ohmae. 2009. Implementation of a novel PCR based method for detecting malaria parasites from naturally infected mosquitoes in Papua New Guinea. *Malaria Journal* 2009, 8:182. 査読有り
- ③増田高央, 山地英孝, 白神千恵子, 福田恒輝, 大垣修一, 原田正和, 影井昇, 白神史雄. 2009. 寄生虫性網膜嚢胞症に対し硝子体手術を施行した1例. *臨床眼科*,

63(3), 303-306. 査読有り

- ④Arif U Hasan, Setsuo Suguri, Chigusa Fujimoto, Rodney L Itaki, Masakazu Harada, Masato Kawabata, Hugo Bugoro and Bobogare Albino. 2008. Genetic diversity in two sibling species of the *Anopheles punctulatus* group of mosquitoes on Guadalcanal in the Solomon Islands. BMC Evolutionary Biology 2008 Nov 24, 8:318. 査読有り. doi:10.1186/1471-2148-8-318.
- ⑤Arif-Ul Hasan, Setsuo Suguri, Chigusa Fujimoto, Masakazu Harada, Masato Kawabata, Hugo Bugoro, Bobogare Albino. 2008. Population genetic structure of *Anopheles hinesorum* on Guadalcanal and Malaita of the Solomon Islands. Med. Entomol. Zool., 59(4), 283-295. 査読有り
- ⑥Arif-Ul Hasan, Setsuo Suguri, Chigusa Fujimoto, Rodney Londari Itaki, Masakazu Harada, Masato Kawabata, Hugo Bugoro, Bobogare Albino, Takahiro Tsukahara, Francis Hombhanje and Andrew Masta. 2008. Phylogeography and dispersion pattern of *Anopheles farauti* sensu stricto mosquitoes in Melanesia. Molecular Phylogenetics and Evolution, 46(2), 792-800. 査読有り
- ⑦Makoto Ohashi, Masakazu Harada, Setsuo Suguri, Hiroshi Omae and Akira Ishii. 2008. Identification of an eosinophil chemotactic factor from anopheline mosquitoes as a chitinase family protein. Parasitology Research, 102, 357-363. 査読有り
- ⑧原田正和・村主節雄. 2007. 干潟の巻貝類に寄生する吸虫類幼生. 兵庫陸水生物, 59, 1-14. 査読なし
- ⑨影井 昇, 原田正和, 村主節雄. 2007. 香川大学医学部国際医動物学教室に鑑別を依頼された眼虫属線虫類について (附、我が国におけるヒト眼虫症感染の現状について). Clinical Parasitology, 18(1), 14-17. 査読有り
- ⑩Masakazu Harada, Pusadee Sri-aroon, Chantima Lohachit, Chigusa Fujimoto, Arif-Ul- Hasan, Rodney Itaki, Setsuo Suguri, Yupa Chusongsang and Phiraphol Chusongsang. 2007. Intertidal snail-trematode communities on the southern Thailand before and after the South Asia tsunami. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, 38(4), 658-662. 査読有り
- ①原田正和, 新井明治. 有明海の干潟に生息する巻貝類とそれに寄生するセルカリアについて. 第65回日本寄生虫学会西日本支部大会. 2009年11月8日. 大阪大学.
- ②藤本千草, 村主節雄, Arif-Ul- Hasan, 原田正和. パプア・ニューギニアにおけるマラリア媒介蚊の調査 (15) *Anopheles punctulatus* group の既報とは異なる RFLPパターンを示す個体の解析. 第63回日本衛生動物学会西日本支部大会. 2008年11月3日. 神戸大学.
- ③Arif-Ul- Hasan, Setsuo Suguri, Chigusa Fujimoto, Rodney Londary Itaki, Masakazu Harada. Phylogeography of *Anopheles farauti* sensu stricto and *Anopheles irenicus* mosquitoes in the Solomon Islands. 第60回日本衛生動物学会大会. 2008年4月18日. 自治医科大学.
- ④藤本千草, 村主節雄, Arif-Ul- Hasan, 原田正和. パプア・ニューギニアにおけるマラリア媒介蚊の調査 (14) *Anopheles punctulatus* groupの既報とは異なる RFLPパターンを示す個体の解析. 第60回日本衛生動物学会大会. 2008年4月18日. 自治医科大学.
- ⑤村主節雄, 藤本千草, Arif-Ul- Hasan, 石井明, 太田伸生, 原田正和. ソロモン諸島におけるマラリア媒介蚊の調査 (6) ココナツオイルの殺虫剤としての応用の可能性. 第60回日本衛生動物学会大会. 2008年4月18日. 自治医科大学.
- ⑥M. Harada, S. Sato, C. Fujimoto, A. -U. Hasan and S. Suguri. Cercarial infection of snails living in Saemangeum tidal flat in Korea. Forum Cheju 13. October 24, 2007. Hallym University, Chuncheon. Korea.
- ⑦原田正和, 橋本温, 大田直友, 記野秀人, Arif-Ul Hasan, 藤本千草, 村主節雄. 日本のホソウミニナに寄生するセルカリアの形態とその鑑別. 第63回日本寄生虫学会西日本支部大会. 2007年10月7日. 高知県医師会館.
- ⑧原田正和, 藤本千草, Hasan Arif-Ul, Itaki Rodney, 村主節雄. 巻貝類とその寄生吸虫類を指標とした干潟の環境評価-香川県の干潟の重要性-. 平成19年度「瀬戸内海研究フォーラムin香川」. 2007年9月6日. サンポート高松.
- ⑨竜翁, 大田直友, 橋本温, 原田正和. 徳島県阿南市大潟干潟におけるホソウミニナの吸虫感染率の潮位による変化. 第54回日本生態学会. 2007年3月21日. 愛媛大学.

[学会発表] (計9件)

〔図書〕（計 2 件）

- ①原田正和, 新井明治. 有明海の干潟に生息する巻貝類とそれに寄生するセルカリアについて. 2010(印刷中)
- ②原田正和, 佐藤慎一, 村主節雄. 2008. セマングム及びその周辺の干潟の巻貝類に寄生する吸虫類. “日韓共同干潟調査報告書 2008「国境を越えた干潟への想い」” (日韓共同干潟調査団編, 2008. 98 pp. 日韓干潟共同調査団. 熊本), pp 34 - 41.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原田正和 (Harada Masakazu)
香川大学・医学部・助教
研究者番号： 90127580

(2) 研究分担者

村主節雄 (Suguri Setsuo)
香川大学・医学部・准教授
研究者番号： 00032897