

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：11201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05961

研究課題名（和文）ヘモプロテウス原虫のベクター探索：国内未確認の原虫感染サイクルの解明

研究課題名（英文）Vector incrimination on Haemoproteus in Japan

研究代表者

佐藤 雪太（Sato, Yukita）

岩手大学・農学部・教授

研究者番号：40271762

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、国内の鳥類に広く感染が見られ、ペンギン類など生息域外で飼育されている鳥類への影響も懸念されるヘモプロテウス（*Haemoproteus*）属原虫のベクターとなる昆虫種を解明することを目的とした。その結果、ニワトリヌカカ、キブネヌカカなど複数種の *Culicoides* 属のヌカカ類から国内の鳥類が保有するヘモプロテウス属原虫DNAの増幅が認められ、国内で初めてこれらのヌカカがベクターであることが示唆された。なお、一部の原虫系統は宿主鳥類に対して病原性が問題になる可能性も考えられ、引き続き国内のヘモプロテウス属原虫の感染状況について監視して行く必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

鳥類に寄生する住血原虫3属（*Plasmodium*、*Haemoproteus*および*Polychitazon*）のうち、海外では報告されているが国内では唯一未確認であったヘモプロテウス属原虫の感染サイクルが解明された。すなわち、日本を含むアジアにおけるヘモプロテウス属原虫のベクターとなるヌカカ種が同定され、寄生虫学分野における学術的知見の充実に貢献した。さらに、ヘモプロテウス属原虫の感染による病害が懸念される鳥種に対する獣医学的予防措置に資する基盤知見として、国の環境保全政策や保護対策など社会的にも活用されることが期待される。

研究成果の概要（英文）：This research aims to elucidate the insect vector species for avian haemosporidian parasites of the genus *Haemoproteus*, which widely infect birds in Japan and may be the lethal risk on naive birds kept outside their habitat (ex-situ), such as penguins. As a result, several genetic lineages of the *Haemoproteus* parasites carried by wild birds in Japan were detected from multiple species of genus *Culicoides*, including *C. arakawae* and *C. kibunensis*. This result suggests for the first time in Japan that these biting midges may act as vectors for the *Haemoproteus* in Japan. In addition, it is possible that some genetic lineages of *Haemoproteus* may be pathogenic to host birds, and it is necessary to continue monitoring the infection status of *Haemoproteus* parasites in Japan.

研究分野：獣医寄生虫学、疾病生態学

キーワード：Haemoproteus ヌカカ Culicoides 感染サイクル Japan

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

鳥類の住血原虫には鳥マラリアの原因となるプラスモジウム (*Plasmodium*)、ヘモプロテウス (*Haemoproteus*) およびロイコチトゾーン (*Leucocytozoon*) の3属が知られているが、ほとんどは感染しても宿主は症状を示さない (Valkiunas 2005)。しかし動物園・水族館のペンギン類など本来の生息域外で飼育されている鳥種では重篤な症状を呈して死亡するため (佐藤 2011)、希少種の域外保全のためにも原虫感染状況の把握は重要である。

これらの原虫はいずれも吸血性昆虫により媒介され、プラスモジウムは蚊、ヘモプロテウスはヌカカまたはシラミバエ、ロイコチトゾーンはブユがベクターである。研究代表者はこれまでに国内ではプラスモジウムはアカイエカ、ロイコチトゾーンはアシマダラブユが主要なベクターであることを明らかにした (Ejiri et al 2009, Sato et al 2009, Ejiri et al 2011a, 2011b)。また、国内の野鳥および飼育下鳥類には3属いずれの原虫も広く分布し恒常的に感染が起こっている状況を把握している (Sato et al 2007; 佐藤 2011; Imura et al 2012; Inumaru et al 2017; Inumaru et al 2020)。一方、国内のヘモプロテウスのベクターはヌカカと想定されていたが原虫保有状況は不明であった。国内のヌカカは82種記録されており、ウシに繁殖障害を起こすアカバネ病ウイルスなどのアルボウイルスの媒介者として重要視されているが、原虫についてはニワトリヌカカが鶏のロイコチトゾーンを媒介することしか判っていない。このようにヘモプロテウスは国内の鳥類住血原虫で唯一ベクター昆虫種が確認されていない属であった。

### 2. 研究の目的

本研究では、国内の鳥類で伝播維持されており、近年は動物園・水族館飼育下のペンギン類など生息域外飼育鳥類での感染が見られ、宿主への影響が懸念されるヘモプロテウス属原虫のベクターとなる昆虫種を解明する。そのために、

- 1)国内でこれまでにヘモプロテウス感染が確認された野鳥が生息している地域や、感染個体を飼養している飼育展示施設周辺でヌカカ類を捕集する。
- 2)ヌカカの種を同定してDNAを抽出し、PCRにより原虫DNAおよびヌカカ体内に残存している可能性がある吸血対象動物DNAの増幅を試みる。
- 3)増幅産物の塩基配列を決定し、原虫種を同定してヘモプロテウス原虫DNA保有状況を解明し、吸血対象動物も推定する。

以上により、国内におけるヘモプロテウスの感染様式を解明し、さらには希少種の域外保全に貢献する知見を得ることを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 原虫保有ヌカカ種の同定および保有率の把握

国内ですでにヘモプロテウス感染鳥類が確認されている地域や飼育展示施設に生息するヌカカ類を捕集して種を同定し、抽出したDNAを用いて鳥類の住血原虫3属のDNAを標的としたPCR (Hellgren et al 2004) により原虫DNA検出を試みる。

#### (2) ニスカカ類の吸血源動物種の推定

ベクター媒介性原虫感染サイクルの解明には、ベクターが吸血する動物種(吸血源動物種)を明らかにする必要がある。そのため、抽出したDNA中に共存している可能性があるヌカカが吸血した動物由来のDNAの増幅を試み、吸血源動物種を推定する。

#### (3) 希少種へのスピルオーバーによるヘモプロテウス感染リスクの検討

以上により解明したヘモプロテウスの感染サイクルを鑑み、在来鳥種では不顕性と考えられる本原虫が、生息域外飼育されているペンギン類などの希少種に感染した際のリスクを検討する。

### 4. 研究成果

研究計画初年度(2021年度)はコロナ禍の影響が大きく、特にフィールド調査が実施できずサンプルの確保が困難であった。2年目以降は研究協力者からサンプルの供給が可能となり、さらには最終調査も実施して解析に必要な材料を確保できた。

#### (1) 国内の鳥類における住血原虫保有状況

国内の水族館飼育下ペンギン類、動物園保護下の野鳥および国内に飛来する渡り鳥を対象に各種ヘモプロテウス属原虫の感染状況を確認した(Inumaru 2021, 2022)。特に症状を示した個体は認められなかったが、検出されたいずれのヘモプロテウス原虫も遺伝的にはヌカカ類が媒介する *Parahaemoproteus* 亜属に分類され、ベクターが国内の各種ヌカカ類であることが強く

示唆された。また、非特異的な鳥種に感染した場合、一部の原虫は宿主鳥類に対して病原性が問題になる可能性も考えられ、引き続き国内の鳥類におけるヘモプロテウス属原虫の感染状況について監視して行く必要がある。

## (2) 国内のヌカカ類からのヘモプロテウス原虫初検出

ニワトリヌカカ、キブネヌカカなど複数種の *Culicoides* 属のヌカカ類から、国内の鳥類が保有するヘモプロテウス原虫 DNA の増幅が認められ、国内で初めて確認された知見となり、本研究の根幹となる課題が解明された。この成果は国際専門誌に発表し、海外の研究者からも注目されることとなった (Inumaru et al 2023)。なお、一部の原虫は宿主鳥類に対して病原性が問題になる可能性も考えられ、引き続き国内のヘモプロテウス原虫の感染状況については、鳥類・ベクター昆虫ともに監視して行く必要がある。

なお、最終年度、研究代表者が所属研究機関を変更したため、当初予定していた調査対象地域の拡大や国内におけるヌカカ類の原虫媒介者としての役割の評価が十分には達成できなかった。しかし、新たに新潟県のヌカカ類からヘモプロテウス原虫 DNA を検出したほか、北海道の希少鳥種から新種と考えられるヘモプロテウス原虫を確認し、国内における本属原虫の感染状況の理解が深まった。さらに、鳥類の住血原虫に関する膨大な知見を有し世界的に認められているリトアニア自然研究所 (Nature Research Centre) 寄生虫学研究室長の Gediminas Valkiunas 博士を訪問し、これらの成果を直接説明して国際的見地からも本研究の意義を評価された。

## <引用文献>

1. Ejiri H, Sato Y\*, Kim KS, Hara T, Tsuda Y, Imura T, Murata K, Yukawa M. (2011b) 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.
2. Ejiri H, Sato Y\*, Kim KS, Tsuda Y, Murata K, Saito K, Watanabe Y, Shimura Y, Yukawa M. (2011a) Blood-meal identification and prevalence of avian malaria parasite in mosquitoes collected at Kushiro Wetland, a subarctic zone of Japan. *J Med Entomol* 48:904-908.
3. Ejiri H, Sato Y\*, Sawai R, Sasaki E, Matsumoto R, Ueda M, Higa Y, Tsuda Y, Omori S, Murata K, Yukawa M. (2009). Prevalence of avian malaria parasite in mosquitoes collected at a zoological garden in Japan. *Parasitol Res* 105: 629-633.
4. Ejiri H, Sato Y\*, Sasaki E, Sumiyama D, Tsuda Y, Sawabe K, Matsui S, Horie S, Akatani K, Takagi M, Omori S, Murata K, Yukawa M. (2008). Detection of avian *Plasmodium* spp. DNA sequences from mosquitoes captured in Minami Daito Island of Japan. *J Vet Med Sci* 70: 11, 1205-1210.
5. Imura T, Sato Y\*, Ejiri H, Tamada A, Isawa H, Sawabe K, Omori S, Murata K, Yukawa M. (2010) Molecular identification of blood source animals from black flies (Diptera: Simuliidae) collected in the alpine regions of Japan. *Parasitol Res* 106: 543-547.
6. Imura T, Suzuki Y, Ejiri H, Sato Y\*, Ishida K, Sumiyama D, Murata K, Yukawa M. (2012) Prevalence of avian haematozoa in wild birds in a high-altitude forest in Japan. *Vet Parasitol* 183:244-248.
7. Inumaru M, Nakamura K, Odagawa T, Suzuki M, Murata K, Sato Y\* (2023) The first detection of avian haemosporidia from *Culicoides* biting midges in Japan, with notes on potential vector species and the transmission cycle. *Vet Parasitol Reg Stud Reports*. 39:100840.
8. Inumaru M, Nishimura I, Kawakami K, Sato Y\* (2022) A widespread survey of avian haemosporidia in deceased wild birds of Japan: the hidden value of personally collected samples. *J Vet Med Sci* 84: 9 1253-1260.
9. Inumaru M, Odaya Y, Sato Y, Marzal A. (2021) First records of prevalence and diversity of avian haemosporidia in snipe species (genus *Gallinago*) of Japan. *Int J Parasitol Parasites Wildl.* 16:5-17.
10. Inumaru M, Aratani S, Shimizu M, Yamamoto M, Sato Y\*, Murata K, Valkiunas G. (2020) Penguins are competent hosts of Haemoproteus parasites: the first detection of gametocytes, with molecular characterization of Haemoproteus larvae. *Parasites Vectors* 13:307.
11. Inumaru M., Murata K., Sato Y.\* (2017) Prevalence of avian haemosporidia among injured wild birds in Tokyo and environs, Japan. *Int J Parasitol: Parasit Wildlife* 6:299-309.
12. 佐藤雪太 (2011) 環境および生態系の保全指標としての鳥類原虫感染症. *獣医畜産新報* 64: 15-20. Invited review
13. Sato Y\*, Tamada A, Mochizuki Y, Nakamura S, Okano E, Yoshida C, Ejiri H, Omori S, Yukawa M, Murata K. (2009) Molecular detection of *Leucocytozoon lovati* from probable

**vectors, black flies (Simuliidae) collected in the alpine regions of Japan. Parasitol Res 104:251-255.**

**14. Valkiunas G. (2005) Avian Malaria Parasites and other Haemosporidia. CRC Press.**

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Inumaru M, Matsumoto N, Nakano Y, Sato T, Tsuda Y, Sato Y	4. 巻 60
2. 論文標題 Species composition and feeding behaviors of vector mosquitoes of avian infectious diseases at a wild bird rehabilitation facility in Japan	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Wildlife Diseases	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -
1. 著者名 Inumaru M, Nakamura K, Odagawa T, Suzuki M, Murata K, Sato Y	4. 巻 39
2. 論文標題 The first detection of avian haemosporidia from Culicoides biting midges in Japan, with notes on potential vector species and the transmission cycle	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports	6. 最初と最後の頁 100840
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.vprsr.2023.100840	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 -
1. 著者名 Inumaru M, Nishiumi I, Kawakami K, Sato Y	4. 巻 84
2. 論文標題 A widespread survey of avian haemosporidia in deceased wild birds of Japan: the hidden value of personally collected samples	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 1253-1260
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1292/jvms.22-0179	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 Inumaru Mizue, Odaya Yoshiya, Sato Yukita, Marzal Alfonso	4. 巻 16
2. 論文標題 First records of prevalence and diversity of avian haemosporidia in snipe species (genus Gallinago) of Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife	6. 最初と最後の頁 5~17
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ijppaw.2021.07.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Alan Fecchio, Nicholas J. Clark, Jeffrey A. Bell, Heather R. Skeen, Holly L. Lutz, Gabriel M. De La Torre, Jefferson A. Vaughan, Vasyi V. Tkach, Fabio Schunck, Francisco C. Ferreira, Erika M. Braga, Camile Lugarini, Wanyoike Wamiti, Janice H. Dispoto, Spencer C. Galen, Karin Kirchgatter, Yukita Sato他	4. 巻 30
2. 論文標題 Global drivers of avian haemosporidian infections vary across zoogeographical regions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Global Ecology and Biogeography	6. 最初と最後の頁 2393 ~ 2406
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/geb.13390	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 佐藤雪太
2. 発表標題 国内における鳥類の住血原虫の生態および疫学
3. 学会等名 日本寄生虫学会 第38回生態学・疫学談話会 (順天堂大学2024年3月8日) (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 菅澤颯人、金子優樹、佐渡島 悠、森 章、阿部秀明、越後谷裕介、佐藤雪太
2. 発表標題 希少鳥類におけるベクター媒介性感染症のリスク評価：非侵襲的なトキの住血原虫感染状況把握の試み
3. 学会等名 第29回日本野生動物医学会大会 (鹿児島大学)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 内藤美羽, 川内雄太, 渡辺美佑, 杉本悠真, 野島大貴, 吉本悠人, 越後谷裕介, 佐藤雪太
2. 発表標題 国内の他施設から搬入されたペンギン類における住血原虫感染状況および治療経過
3. 学会等名 第29回日本野生動物医学会大会 (鹿児島大学)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉岡佐織、加藤あずさ、山田 篤、村山和範、福留 静、越後谷裕介、佐藤雪太
2. 発表標題 新潟市内のヌカカにおける鳥類住血原虫保有状況
3. 学会等名 第29回日本野生動物医学会大会（鹿児島大学）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐々木遥太、渡邊有希子、齊藤慶輔、越後谷裕介、佐藤雪太
2. 発表標題 北海道の希少鳥類における住血原虫の保有状況について
3. 学会等名 第29回日本野生動物医学会大会（鹿児島大学）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐藤未来、平野真珠、菅澤颯人、越後谷裕介、佐藤雪太
2. 発表標題 神奈川県における住血原虫保有状況および感染動態の解明
3. 学会等名 第29回日本野生動物医学会大会（鹿児島大学）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 甲藤美奈、越後谷裕介、佐藤雪太
2. 発表標題 凍結保存試料を用いた国内のヒヨドリにおける住血原虫保有状況の解明
3. 学会等名 第29回日本野生動物医学会大会（鹿児島大学）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 宮本かなえ, 犬丸瑞枝, 佐藤雪太, 川上和人
2. 発表標題 小笠原諸島の鳥類における住血原虫保有状況
3. 学会等名 第28回日本野生動物医学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大槻実穂, 佐藤雪太, 飯間裕子, 野々上範之, 野田亜矢子, 小笠原浩平, 渡邊有希子, 齊藤慶輔
2. 発表標題 北海道の希少鳥類における住血原虫の保有状況と病原性について
3. 学会等名 第28回日本野生動物医学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤雪太
2. 発表標題 研究連携の紹介：ベクター媒介性感染症の伝播サイクルの解明
3. 学会等名 第14回アジア保全医学会・第27回日本野生動物医学会2021年合同大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤雪太
2. 発表標題 鳥マラリア：鳥類の住血原虫から見えてくる環境問題
3. 学会等名 日本生物科学研究所 第二研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究協力者	村田 浩一  (Murata Koichi)	よこはま動物園ズーラシア・園長	
研究協力者	梁瀬 徹  (Yanase Tohru)	農研機構・動物衛生研究部門・九州研究拠点・主任研究員	
研究協力者	犬丸 瑞枝  (Inumaru Mizue)	国立感染症研究所・昆虫医科学部・任期付研究員	

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
---------	---------