

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450484

研究課題名(和文)ベクター媒介性感染症に対する高リスク地域特定のためのモニタリング手法の開発

研究課題名(英文)Development of the monitoring method for identification of high risk areas of vector-borne infectious diseases in Japan

研究代表者

佐藤 雪太(SATO, Yukita)

日本大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：40271762

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：環境の変化により分布が変化する吸血性節足動物(ベクター)媒介性の病原体による感染症は、環境変化の指標ともなるため、ベクターおよび宿主動物の病原体保有状況のモニタリングは重要である。本研究の結果、国内における定点観測候補地が選択され、ベクター媒介性感染症のモデルとなる鳥マラリアなどの鳥類血液寄生原虫の分布状況が明らかとなった。今後、選択されたモニタリング地点における調査を継続することにより、ベクター媒介性感染症の高リスク地域の特定・予想が可能になると期待される。

研究成果の概要(英文)：Monitoring of vector-borne diseases such as malaria is important to evaluate the relationship between climate change and distribution of those pathogens. Through this study, several monitoring sites have been selected for identification of high risk areas of vector-borne infectious diseases in Japan.

研究分野：野生動物医学

キーワード：ベクター媒介性感染症 血液寄生原虫 鳥マラリア 蚊 保全医学 環境

1. 研究開始当初の背景

近年、温暖化現象などの地球全体の環境問題や生態系の保全について関心が高まっており、野生動物とのかかわりの深い獣医学領域においても、高病原性鳥インフルエンザ、ウエストナイル熱、そしてつい昨年にはマダニが媒介する重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) が国内で確認され、これら新興人獣共通感染症の関する喫緊の対策研究が必要とされている。

さらに、これまで熱帯地域でのみ問題となっていたマラリア、デング熱などのベクター媒介性感染症についても、環境変化による蚊などのベクター昆虫の分布域の拡大に伴い、その疫学地図が大きく変化している (IPCC report, 2013)。よって、環境と感染症との関係を正しく理解することは公衆衛生上重要な課題である。

しかしながら、国内におけるベクター媒介性感染症の網羅的なモニタリングは実施されておらず、分布状況も把握されていない状況であった。我々は、鳥類のベクター媒介性感染症である鳥マラリア原虫やロイコチトゾーン原虫を対象に、これらの病原体の分布状況の解明を試みてきた。その結果、国内各地における野鳥の病原体保有状況、ベクター昆虫種など、国内における鳥類原虫感染サイクルを初めて明らかにしてきた。

2. 研究の目的

地球温暖化や福島原発事故等による様々なレベルでの生態系への影響が懸念される中、環境変化は感染症の分布を確実に変化させ、これまで確認されていなかった地域への感染症の侵入や、新たな感染症の発見が相次いでいる。本研究では、我々がこれまで国内で明らかにしてきた鳥マラリアなどの鳥類血液原虫感染症の分布状況と現状とを比較し、原虫およびベクターの分布が以前と変化している地域を特定して、国内における鳥類のベクター媒介性感染症に関する高リスク地域を推定する。本研究成果により、環境変化を生物学的に検出するシステムが構築され、環境変化の影響を受けやすい他のベクター媒介性感染症の感染リスク評価にも応用できると期待される。

本研究では、以下について明らかにすることを目的とした。

(1) 2014年における国内の鳥類血液寄生原虫の遺伝子型分布状況の解明

これまで調査してきたモニタリングサイトにおいて、指標とする原虫3属 (*Plasmodium*、*Haemoproteus* および *Leucocytozoon*) について、病原体を保有する鳥類およびベクター昆虫種それぞれが保有する病原体の遺伝子型の構成を毎調査年次ごとに明らかにし、これまでの分布状況と比較する。

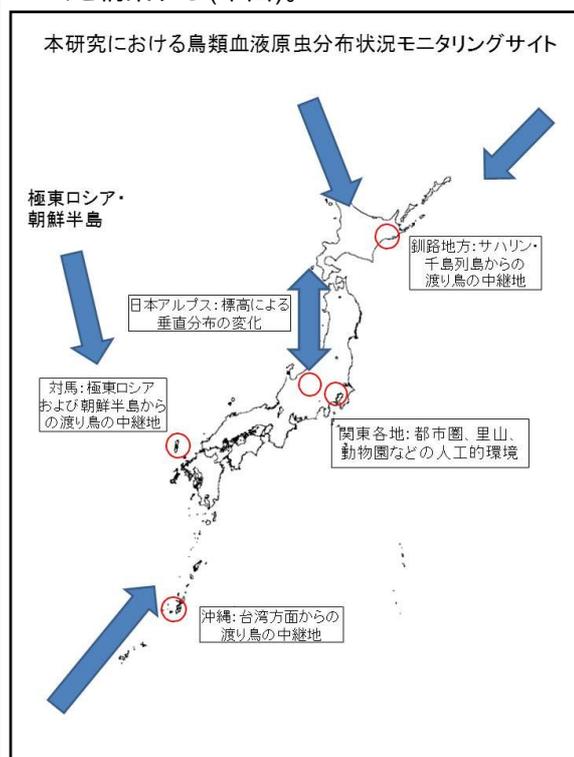
(2) 感染状況の解析と感染リスク評価

モニタリングサイトにおける原虫遺伝子

型を2013年までの結果と比較し、その地域に分布する原虫の遺伝子型構成に何らかの変化が認められた場合、病原体の移動が生じたことが示唆される。このことは、渡り鳥の中継地となるモニタリングサイトにおいて、渡り鳥から留鳥、留鳥から渡り鳥への病原体の移動の可能性も示唆することになる。各モニタリングサイトにおける原虫遺伝子型構成の変化の頻度を指標に、新たな原虫種の侵入の有無などの感染リスクを評価する。

(3) 環境変化の生物学的検知システムの構築

上記の分布状況および病原体伝播の動態を把握した上で、モニタリングサイトにおける宿主動物種およびベクター昆虫種の構成の変化、新たな病原体または遺伝子型を持つ病原体の出現の有無を監視するシステムを構築する(下図)。



3. 研究の方法

これまでに調査されているモニタリングサイトの鳥類およびベクターにおける血液寄生原虫保有状況を2014年現在で明らかにし、これまでの構成パターンと何らかの違いがあるのかどうかを解明し、今後の病原体分布状況の変化を予想し、感染リスクを評価する。そのために、

- (1) 宿主鳥類から採血してDNAを得て、PCRによる原虫遺伝子増幅および塩基配列を解読し、
- (2) ベクター昆虫(蚊やブユなど)から(1)と同様に原虫遺伝子の増幅および塩基配列決定後、
- (3) 検出した遺伝子型を解析し、モニタリングサイトにおける病原体がどのような遺伝子型から構成されているのかを明らかにし

て、これまでの遺伝子型構成と比較し、分布状況の変化を指標に、感染リスクを評価する。

4. 研究成果

【H26 年度】

モニタリングサイトを含む国内各地において、鳥類および媒介昆虫における血液原虫保有状況を調べた。調査対象地点の所在都道府県は、北海道、岩手、秋田、宮城、福島、新潟、栃木、埼玉、千葉、東京、神奈川、静岡、長野、石川、京都、大阪、高知および長崎にまで拡張した。

その結果、モニタリングの指標とする原虫 3 属 (*Plasmodium*、*Haemoproteus* および *Leucocytozoon*) について、各調査地点において鳥類およびベクター昆虫種それぞれが保有する病原体の遺伝子型の構成が明らかになった。

特に継続的にサンプルが得られる神奈川県内の野生動物保護施設および本学部付属の農場・演習林において、保護または捕獲個体から、各種鳥類血液原虫の DNA が検出され、いずれも国内各地の鳥類が保有する原虫と近縁であることが明らかになった。一方、野生動物保護施設において、自然復帰が困難なため 2 年以上保護中のハシブトガラスから、調査期間を通じ同一系統の *Haemoproteus* 属原虫の感染が認められた。この個体からは冬季には血液中に原虫が認められず、臓器内に潜伏感染している可能性が示唆された。

野鳥では血液原虫の感染が多く見られるものの、生態観察の困難さから、媒介昆虫による原虫の侵入から感染成立までの原虫の発育経過は、まったくと言って良い程不明である。今後も、保護個体を調査することができれば、これまで不明であった野鳥における原虫感染動態が明らかになると考える。

以上のように、本年度は神奈川県における鳥類血液寄生原虫の分布状況および感染サイクルが明らかとなり、今後これらの原虫を指標微生物として調査を継続することにより、ある地域における病原体分布の定点観測が可能になると期待される。

【H27 年度】

本年度は、これまで調査してきたモニタリングサイトに加えて、(1)人口の多い都市環境である東京都および千葉県、(2)隔離された環境である小笠原諸島原虫における野鳥の血液寄生原虫および鳥ポックスウイルス (APV) について分布状況を検討した。

2013 年 8 月～2015 年 3 月まで、東京都および千葉県内の動物病院で保護された各種野鳥の血液から DNA を抽出し、各種血液寄生原虫のミトコンドリア DNA *cyt b* 遺伝子部分配列を標的とした nested PCR および分子系統解析を行った。

また、2014 年に小笠原諸島父島で保護されたメジロ 4 羽から病変が認められた皮膚組織

を採取し、DNA を抽出して、APV の 4b core protein 領域を標的とした PCR および分子系統解析を行った。

東京都や千葉県の保護鳥類 52 種 148 羽中 26 種 40 羽 (27.0%) から 3 属いずれかの原虫 DNA が検出され、内訳は *Plasmodium* 属 5.4%、*Haemoproteus* 属 14.2%、*Leucocytozoon* 属 10.8%であった。人口の多い都市部における野鳥の捕獲は困難であるため、今後も継続して傷病保護個体を対象とした病原体保有状況の解明が必要であると考ええる。

APV については、すべての組織由来 DNA から同一の APV 遺伝子の増幅が認められた。検出された配列は、いずれもカナリア痘 (Canary pox) グループに分類された。保護時期および場所が異なるメジロから同一のウイルス DNA 配列が検出されたことから、父島では同一のウイルスがメジロの間で伝播している可能性が示唆される。カナリア痘ウイルスはハワイミツスイやフンボルトペンギンなどで病原性が高く、今後も国内の鳥類やベクターにおけるウイルス保有状況や病原性などを明らかにしていく必要がある。

【H28 年度】

本年度は、(1)定点調査地としての本学部附属農場・演習林における鳥類血液寄生原虫の分布、(2)国内動物園に生息する蚊における犬系状虫保有状況を中心に調査した。

本学農場・演習林で捕集した蚊および野鳥から、各種血液寄生原虫の mtDNA *cyt b* 遺伝子部分配列を標的とした nested PCR による原虫 DNA の検出および分子系統を解析した。また、2015 年 6 月から 10 月まで、関東の動物園内で蚊を捕集し、DNA を抽出してフィラリア線虫の mtDNA CO1 遺伝子を標的とした PCR 増幅および塩基配列解析により線虫種を検討した。また、抽出した DNA から脊椎動物の mtDNA *cytb* 遺伝子を標的とした nested-PCR により蚊が吸血した動物種を推定した。

農場・演習林では、11 種の蚊 2,020 頭が捕集され、アカイエカ (23/855 ; 2.7%) およびトラフカクイカ (1/4 ; 25%) から鳥マラリア原虫遺伝子の増幅が認められた。捕獲された野鳥 16 種 151 個体中 11 種 70 頭 (46.4%) から原虫 DNA が検出された。中でもシジュウカラで鳥マラリア原虫の保有率が高く (78.1%、25/32)、本調査地のアカイエカから検出された系統と一致した。よって、本農場・演習林では主にシジュウカラとアカイエカとの間で鳥マラリア感染が維持されていると考えられた。

また、動物園内のアカイエカおよびヤマトヤブカから犬系状虫の DNA 増幅が認められた。アカイエカから園内の飼育下鳥類および哺乳類、施設周辺に生息する動物の DNA が増幅され、これらの動物が蚊の吸血源になっていることが示唆された。

以上のように、本年度は定点観測が可能な農場・演習林における鳥類血液寄生原虫の分布状況に加え、国内で不明だった犬糸状虫のベクターにおける保有状況も明らかとなり、今後のベクター媒介性感染症の分布状況のモニタリングのために必要な知見が得られた。

さらに、本研究手法を応用し、海外のベクターにおける鳥マラリア原虫の保有状況に関する国際共同研究も展開した。その結果、ブラジルの各種蚊における原虫保有状況が初めて明らかになり、国際専門誌に報告された。

本研究課題で得られた成果は、国内の動物園・水族館、野生動物保護施設にも提供し、ベクターとなる蚊種の駆除や、定期的な鳥類の血液検査など、血液寄生原虫感染の防除に役立つ野生動物医学的知見として広く活用されている。また、昨今の温暖化などの環境変化は、ベクターの生息範囲・密度にも影響し、媒介する病原体の分布も変化させるため、デング熱やジカ熱などの蚊媒介性感染症のアウトブレイクにも関係している可能性がある。さらに鳥類は「渡り」を行うため、鳥マラリアなどの病原体も広く移動すると考えられ、地球規模での病原体伝播や分布状況を理解しなければならない。本研究成果は、病原体の分布変化を指標として、One world、One health の概念に基づく保全医学分野にも貢献すると期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2 件)

Ferreira F. C. Jr., Rodrigues R. A, **Sato Y**, Borges M. A. Z, Braga E. M., Searching for putative avian malaria vectors in a seasonally dry tropical forest in Brazil. *Parasites & Vectors*, 査読有, 9, 2016, 587-599.

DOI: 10.1186/s13071-016-1865-y

Oi M, **Sato Y**, Nakagaki K, Nogami S., Detection of *Dirofilaria immitis* DNA in host serum by nested PCR. *Parasitology Research*, 査読有, 114, 2015, 3645-3648.

DOI: 10.1007/s00436-015-4591-z

[学会発表](計 15 件)

Ayumi Shibata, Symphorosa Sipangkui, **Yukita Sato**, Toshinori Tsubouchi, Masayoshi Yukawa, Prevalence of Haemosporidian parasites in captive birds of at Borneo Island, Malaysia, 9th International meeting of Asian Society of Conservation Medicine, 2016 年 10 月 20 日~24 日, Taipei, Taiwan

Mizue Inumaru, **Yukita Sato**, Masayoshi Yukawa, Prevalence of avian haemosporidia in injured wild birds

rescued in Tokyo and surrounding areas of Japan, 3rd International Conference on Malaria and Related Haemosporidians in Bulgaria, 2016 年 9 月 25 日~30 日, Arbanasi, Bulgaria.

木村 壘、犬丸瑞枝、**佐藤雪太**、堀越和夫、鈴木 創、鈴木直子、西海 功、津田良夫、**村田浩一**、湯川眞嘉、小笠原諸島における鳥類血液寄生原虫の分布状況および伝播経路、第 22 回日本野生動物医学会大会、2016 年 9 月 18 日、宮崎大学(宮崎県宮崎市) 水主川剛賢、小野文菜、浅川満彦、**佐藤雪太**、飼育下エボシドリ科鳥類に認められた血液寄生原虫、第 22 回日本野生動物医学会大会、2016 年 9 月 17~18 日、宮崎大学(宮崎県宮崎市)

柴田歩美、小野文菜、**佐藤雪太**、**村田浩一**、湯川眞嘉、飼育下ペンギン類における近年の血液寄生原虫保有状況、第 22 回日本野生動物医学会大会、2016 年 9 月 17 日、宮崎大学(宮崎県宮崎市)

小田川太一、北村英知、**佐藤雪太**、湯川眞嘉、大学付属農場・演習林における蚊の発生状況と鳥マラリア原虫保有状況、第 159 回日本獣医学会学術集会、2016 年 9 月 7 日、日本大学(神奈川県藤沢市)

北村英知、犬丸瑞枝、小田川太一、中村溪太、**佐藤雪太**、湯川眞嘉、大学付属農場・演習林における鳥類血液寄生原虫の分布および伝播に関する研究、第 159 回日本獣医学会学術集会、2016 年 9 月 6 日、日本大学(神奈川県藤沢市)

神谷美里、**佐藤雪太**、山上達彦、小澤賢一、生井 聡、**村田浩一**、湯川眞嘉、動物園で捕集された蚊の犬糸状虫保有状況および伝播の可能性について、第 159 回日本獣医学会学術集会、2016 年 9 月 6 日、日本大学(神奈川県藤沢市)

犬丸瑞枝、中村溪太、加藤わか葉、**佐藤雪太**、佐藤達夫、石橋 徹、金坂 裕、**村田浩一**、湯川眞嘉、関東地方の保護鳥類における血液寄生原虫保有状況、第 159 回日本獣医学会学術集会、2016 年 9 月 6 日、日本大学(神奈川県藤沢市)

坂本哲理、**佐藤雪太**、鈴木創、鈴木直子、堀越和夫、**村田浩一**、湯川眞嘉、国内の鳥類および蚊における鳥ポックスウイルス DNA の保有状況、第 158 回日本獣医学会学術集会、2015 年 9 月 7 日、北里大学獣医学部(青森県十和田市)

加藤わか葉、**佐藤雪太**、石橋 徹、金坂 裕、**村田浩一**、湯川眞嘉、東京および千葉の動物病院で保護された野鳥における血液寄生原虫感染状況、第 158 回日本獣医学会学術集会、2015 年 9 月 7 日、北里大学獣医学部(青森県十和田市)

佐藤雪太、カラスと感染症：ハシブトガラスの移動と病原体の伝播、第 2 回カラスシンポジウム(招待講演)2014 年 11 月 1 日、宇都宮大学(栃木県宇都宮市)

田中 魁、一番ヶ瀬雄助、**佐藤雪太**、**村田浩一**、国内のカラスバト *Columba janthina* に認められた *Haemoproteus* 原虫の分子生物学的特徴および系統、第 20 回日本野生動物医学会大会、2014 年 9 月 17 日～18 日、国立環境研究所（茨城県つくば市）

富田浩平、**佐藤雪太**、井村貴之、肴倉孝明、**村田浩一**、湯川眞嘉、日本アルプスに生息する各種ブユの吸血源動物の推定、第 157 回日本獣医学会学術集会、2014 年 9 月 11 日、北海道大学（北海道・札幌市）

大野洋佑、**佐藤雪太**、久末修司、**村田浩一**、湯川眞嘉、傷病保護鳥類における血液寄生原虫保有状況および感染動態、第 157 回日本獣医学会学術集会、2014 年 9 月 9 日、北海道大学（北海道・札幌市）

〔その他〕(計 1 件)

佐藤雪太、2016 年度日本獣医学会賞受賞（日本獣医学会：第 121 号）受賞研究課題：鳥類血液寄生原虫の感染経路の解明と野生動物医学への応用、2016 年 9 月 7 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 雪太 (SATO, Yukita)
日本大学・生物資源科学部・准教授
研究者番号：40271762

(2) 研究分担者

村田 浩一 (MURATA, Koichi)
日本大学・生物資源科学部・教授
研究者番号：00339285

(3) 連携研究者 なし

(4) 研究協力者

津田 良夫 (TSUDA, Yoshio)
江尻 寛子 (EJIRI, Hiroko)
肴倉 孝明 (SAKANAKURA, Takaaki)
齊藤 慶輔 (SAITO, Keisuke)
石田 健 (ISHIDA, Ken)
久末 修司 (HISASUE, Shuji)