

令和 2 年 6 月 23 日現在

機関番号：15101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2019

課題番号：15K18780

研究課題名（和文）鳥マラリアの媒介蚊特定法の確立と国内の鳥類における外来性病原体の流行リスク評価

研究課題名（英文）Vector incrimination of avian malaria and risk assessment of introduction of alien lineages in Japan

研究代表者

金 京純（KIM, Kyeongsoon）

鳥取大学・農学部・准教授

研究者番号：20646012

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、国内の鳥類および蚊から検出されるトリマラリア原虫のうち、国内で流行している原虫系統を明らかにすることである。トリマラリアは、蚊が媒介する鳥類の感染症で、日本の留鳥および渡り鳥から50系統以上が報告されているが、どの系統が日本の蚊によって伝播されているかは不明であり、在来系統と外来系統の区別ができていない。

本研究では、国内の蚊および鳥類から検出された11系統のうち3系統は在来系統であることが明らかになった。また、渡り鳥から検出され、日本産蚊の媒介能については不明である4系統は海外で感染した鳥類の移動に伴い、一時的に日本産蚊に取り込まれている可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

外来性のトリマラリア原虫が国内で流行するかどうかは、蚊がベクターとして機能するか否かに大きく左右される。したがって、日本産蚊がベクターとなり、国内で伝播されている原虫系統を特定した本研究成果は、在来系統と外来系統を見分ける基礎的データを提供する。これによって、国内で鳥類の大量死などの異常が発生した場合、原因となった病原体が在来の系統であるか、外来の系統であるかの判断が可能となり、媒介蚊の生息状況を考慮した流行推移の予測、および流行の拡大防止に役立てることができる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to identify avian malaria parasites that are transmitted in Japan. Avian malaria is a mosquito-borne disease of birds caused by Plasmodium spp. Although more than 50 genetic lineages have been reported from birds including resident and migratory birds in Japan, of which lineages are native or exotic are unknown.

Out of 11 Plasmodium lineages that have been detected from mosquitoes and birds in this study, three lineages were confirmed as native by a combination of dissection and PCR methods. Four lineages have been exclusively detected from migratory birds, suggesting temporal introduction of exotic lineages via infected migratory birds.

研究分野：獣医寄生虫病学

キーワード：トリマラリア原虫 媒介蚊

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

鳥マラリアは、鳥類を宿主とする血液寄生性の Plasmodium 属の原虫に起因する感染症で、蚊によって媒介される。鳥マラリア原虫の種類は非常に多く、形態による明確な種分類が困難であることから、チトクローム b 遺伝子の塩基配列に基づき、412 系統に分類されている。日本では、種々の野鳥、家禽、動物園等の飼育鳥類から、50 系統以上の鳥マラリア原虫が見つかるが、これらほとんどの原虫系統について、宿主範囲、媒介蚊（ベクター）の種類、病原性、流行地などは不明である。

申請者らは、日本における鳥マラリアの媒介蚊を明らかにするため、国内の野鳥生息地にて蚊を採集し、PCR 法を用いて鳥マラリア原虫の保有状況、および吸血源動物を調べてきた。これまでに 37 種 1 万匹以上の蚊を調べた結果、17 種から鳥マラリア原虫の DNA が検出されている。これらの中には、欧米の野鳥類から頻りに報告されている原虫系統や、東南アジアで流行している高病原性の *Plasmodium gallinaceum* の塩基配列と 100% 一致するものがある。しかし、原虫の DNA が検出されたからといって、その蚊がベクターであるとは断定できない（つまり、国内流行の有無を判断できない）という問題が残っており、本研究ではこの課題に取り組む。

2. 研究の目的

本研究は、日本国内の鳥類および蚊から検出される鳥マラリア原虫のうち、国内で流行している原虫系統を明らかにするために、媒介蚊の特定方法を確認し、新たな病原体の侵入および流行の拡大防止につなげることを目的とする。鳥マラリアは、蚊が媒介する鳥類の感染症で、日本では 50 系統以上の鳥マラリア原虫が報告されている。しかし、どの原虫系統が日本の蚊によって伝播されているかは不明であり、在来系統と外来系統の区別ができていない。鳥マラリア原虫の流行には、媒介蚊と宿主鳥類の存在が不可欠であり、どちらか一方が存在しなければ流行は起こらない（表）。本研究では、PCR 法による蚊からの鳥マラリア原虫遺伝子の検出に加え、顕微鏡下で蚊の体内における原虫の発育段階を観察することで、日本の蚊がベクターとなり、国内で伝播されている原虫系統を特定する。これらの成果は、鳥類の保健康管理だけでなく、蚊によって媒介される鳥由来人獣共通感染症の侵入経路の特定・流行予測にも役立つ。

表. 鳥マラリア原虫の流行を判定する基本的な考え方

原虫系統	国内における生息状況		判定
	媒介蚊	宿主鳥類	
A 系統	あり	あり	流行あり
B 系統	あり	なし	流行なし
C 系統	なし	あり	流行なし

3. 研究の方法

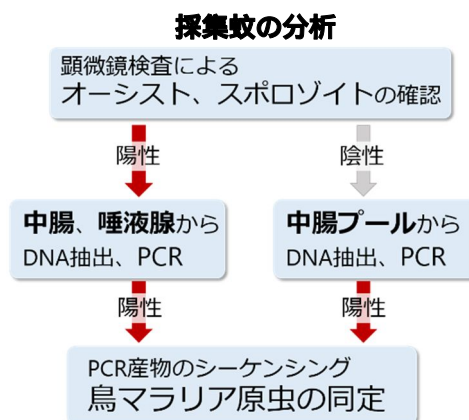
本研究では、国内の鳥類および蚊から検出される複数の鳥マラリア原虫のうち、国内で流行している在来性の原虫系統を明らかにするために、媒介蚊の特定方法を確認する。研究は、以下の手順で進める。

- (1) 国内の野鳥生息地において蚊を採集し、鳥マラリア原虫の保有状況を調べる。
- (2) 腹部に血液を保持している蚊（吸血蚊）については、DNA 分析による吸血源動物種の同定、および鳥マラリア原虫遺伝子の検出を並行して行う。
- (3) 採集した蚊の一部（数百匹）は解剖して、原虫がスポロゾイト（感染仔虫）の段階まで発育しているかどうかを顕微鏡下で観察する。スポロゾイトが確認された場合、DNA 分析により原虫系統を同定する。
- (4) 媒介蚊の種類、原虫系統、宿主鳥類の情報を MalAvi（鳥類の住血原虫データベース）上で公開する。

【蚊の採集】：採集は、ドライアイスから発生する二酸化炭素を誘引剤として用いるドライアイストラップ法、捕虫網を使ったスウィーピング法を用いて、5～10 月にかけて実施する。採集蚊は、形態的特徴に基づき種同定を行い、各調査地における蚊の種類構成や発生密度の季節変化を明らかにする（研究協力者 津田良夫）。

【採集蚊の分析】：過去の研究結果から、蚊における原虫遺伝子の陽性率は、6-7 月に最も高くなり、この時期にスポロゾイトを保有している蚊の割合は、1%程度であると推測している。解剖によるスポロゾイトの観察は、この時期に採集される蚊（数百匹）で行う（研究協力者 津田良夫）。それ以外の採集蚊は冷凍保存し、PCR 法を用いてチトクローム b 遺伝子の塩基配列に基づく原虫系統の同定を行う。

腹部に血液を保有している蚊（吸血蚊）については、原虫遺伝子の検出と併せて、その蚊がどの鳥類種から吸血したかを、血液に由来するDNAの分析によって調べる。これにより、どの原虫系統が、どの鳥類宿主と、媒介蚊の間で流行しているかを明らかにする。



4. 研究成果

本研究の主目的は、日本国内の鳥類および蚊から検出されるトリマラリア原虫(Plasmodium spp.)のうち、国内で流行している原虫系統を明らかにすることである。2015 - 2018 年にかけて、鳥取、岡山、新潟、東京の調査地において、蚊および鳥類血液検体を採取した。本研究課題で得られた主な成果について、以下に示す。

(1) 蚊については、11 種 28,155 個体を解剖した結果、4 つの遺伝子型 (CXPIP09、CXINA01、PADPM02、SGS1) のトリマラリア原虫について、オーシストおよびスポロゾイトが確認された。これら 4 つの遺伝子型のうち、3 つの遺伝子型は国内の鳥類からも検出されており、在来のトリマラリア原虫であることが明らかになった。残る 1 つの遺伝子型 (CXINA01) は、海岸線の葎原などに局所的に生息するイナトミシオカから検出された遺伝子型であるが、宿主鳥類は不明である。イナトミシオカの生息地および発生時期は、留鳥だけでなく夏鳥の飛来時期と重なっている。現在、この遺伝子型の国内流行状況について調べるため、鳥類血液検体の解析を進めている。

(2) 鳥類血液検体については、14 種 227 検体についてトリマラリア原虫の検出を行った結果、9 つの遺伝子型が検出された(表 1)。このうち 4 つの遺伝子型 (ORW1、GRW9、SYAT05、New lineage) は渡り鳥からのみ検出されており、日本産蚊からは一時的に遺伝子が検出されているが、スポロゾイト発育は確認されていない。したがって、これら 4 つの遺伝子型については、海外で感染した鳥類の移動に伴い、一時的に日本産蚊に取り込まれた可能性が考えられる。

表 1. 鳥類検体から検出された Plasmodium spp. と国外における分布

Plasmodium spp.	日本	ア	ア	ア	オ	ヨ
		ジ	リ	リ	ア	ロ
		ア	カ	カ	ア	バ
GRW4 (<i>P. relictum</i>)	オオヨシキリ、シジュウカラ、スズメ	○	○	○	○	○
ORW1	オオヨシキリ、アオバスク	○			○	○
PADOM2	オオヨシキリ、スズメ、シジュウカラ、アオサギ、ハシブトカラス、ハシボソカラス、フクロウ、ホオジロ	○	○	○	○	○
CXPIP9	アオサギ、オナガ、コガラ、シジュウカラ、スズメ、セグロカモメ、ハシブトカラス、ハシボソカラス、(クロツル、シロミミキジ)					
CXPIP12	ヒヨドリ					
GRW6 (<i>P. elongatum</i>)	オオヨシキリ、ミソサザイ		○	○	○	○
GRW9	オオヨシキリ		○	○		○
SYAT5 (<i>P. vaughani</i>)	クロツグミ、シロハラ、トラツグミ	○	○	○	○	○
New lineage	コヨシキリ					

外来性のトリマラリア原虫が国内で流行するかどうかは、蚊がベクターとして機能するか否かに大きく左右される。したがって、日本産蚊がベクターとなり、国内で伝播されている原虫系統を特定した本研究成果は、在来系統と外来系統を見分ける基礎的データを提供し、外来性病原体の侵入および流行の拡大防止に役立つ。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kim Kyeong Soon, Tsuda Yoshio	4. 巻 69
2. 論文標題 Gynandromorph of <i>Culex inatomii</i> (Diptera: Culicidae) collected at Yonago Waterbirds Sanctuary, Tottori, Japan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Medical Entomology and Zoology	6. 最初と最後の頁 35~38
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7601/mez.69.35	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 Huang F, Dang, Z, Zhang H, Yagi K, Kim KS, Joseph M, Pu W, Oku Y	4. 巻 245
2. 論文標題 Comparative study on secretome and transmembranome of immature and mature metacestodes of <i>Echinococcus multilocularis</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Veterinary Parasitology	6. 最初と最後の頁 153-159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vetpar.2017.05.006.	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 該当する
1. 著者名 Huang F, Dang, Z, Suzuki Y, Horiuchi T, Yagi K, Kouguchi H, Irie T, Kim KS, Oku Y	4. 巻 10
2. 論文標題 Analysis on gene expression profile in oncospheres and early stage metacestodes from <i>Echinococcus multilocularis</i>	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 PLoS Neglected Tropical Diseases	6. 最初と最後の頁 1-22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pntd.0004634	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 該当する
1. 著者名 Kyeongsoon Kim, Yoshio Tsuda	4. 巻 8
2. 論文標題 Sporogony and sporozoite rates of avian malaria parasites in wild <i>Culex pipiens pallens</i> and <i>C. inatomii</i> in Japan	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 Parasites & Vectors	6. 最初と最後の頁 633
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13071-015-1251-1	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 Tien-Huang Chen, Wilfredo E. Aure, Estrella Irlandez Cruz, Fedelino F. Malbas Jr., Hwa-Jen Teng, Liang-Chena Lu, Kyegongsoon Kim, Yoshio Tsuda, Pei-Yun Shu	4. 巻 40
2. 論文標題 Avian Plasmodium infection in field-collected mosquitoes during 2012-2013 in Tarlac, Philippines	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 Journal of Vector Ecology	6. 最初と最後の頁 386-392
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jvec.12178	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 該当する

[学会発表] 計4件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 金京純、千葉晃、高辻洋、白井康夫、木下徹、小野島学
2. 発表標題 新潟県佐潟におけるトリマラリア原虫の流行状況
3. 学会等名 日本鳥学会2018年度大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金京純、栗原律子、奥祐三郎
2. 発表標題 鳥取県東部および岡山県蒜山における蚊相と鳥マラリア原虫の検出
3. 学会等名 日本獣医学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 金京純、津田良夫
2. 発表標題 鳥取県東部および岡山県蒜山における蚊相と鳥マラリア原虫の検出
3. 学会等名 日本衛生動物学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 金京純、津田良夫
2. 発表標題 鳥取県東部および岡山県蒜山における蚊相と鳥マラリア原虫の検出
3. 学会等名 日本衛生動物学会
4. 発表年 2016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
--	---------------------------	-----------------------	----