

令和 2 年 6 月 23 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08809

研究課題名(和文) ヒトとイヌに感染する糞線虫の種の歴史：進化的起源・分化・拡散に関する研究

研究課題名(英文) Evolutionally history of Strongyloides species that led to *S. stercoralis*, parasitic nematodes of humans and dogs

研究代表者

長安 英治 (Nagayasu, Eiji)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：20524193

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：様々な食肉目動物に由来する糞線虫のサンプリングと得られたDNA試料を用いた分子系統解析の結果、ステルコラリス糞線虫に近縁の糞線虫は主に食肉目動物の糞線虫であり、このグループの糞線虫は基本的には食肉目動物の寄生虫として進化してきたことが強く示唆された。今回南米(ペルー)のヒトおよびイヌに由来する糞線虫サンプリングと、遺伝マーカー配列のデータを入手することができた。今後、アジア・アフリカなど他地域の糞線虫DNA配列との比較により、ヒト糞線虫が人類集団にどのように広がっていったかに関する詳細が明らかになることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糞線虫(*Strongyloides* spp.)は様々な脊椎動物の小腸粘膜を最終寄生部位とする腸管寄生線虫である。ヒトに感染する*S. stercoralis* (ステルコラリス糞線虫)を含め、約50種が知られ、熱帯・亜熱帯地域を中心に約3千万から1億人の感染者がいるものと推定されている。ステルコラリス糞線虫がいかなる進化的道筋をへてヒトの寄生虫になったのかに関し、我々はイヌの寄生虫からの宿主転換説を提唱した(Nagayasu et al., 2017)。今回の研究において、様々な食肉目動物に由来する糞線虫がステルコラリス糞線虫に対して近縁性を示したことにより、あ前出の仮説は改めて支持された。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we obtained *Strongyloides* spp. from various carnivore hosts, namely cats, raccoons, raccoon dogs, Siberian weasels, and Japanese badgers. We observed a presence of a group, which are composed of *Strongyloide* spp. from various carnivore hosts (*stercoralis/procyonis* group). It appeared that *Strongyloides* spp. belonging to this group essentially evolved as parasites of carnivores. Humans may have acquired *S. stercoralis* from dogs, after domesticating them by host-switch.

For the first time, a substantial numbers of *S. stercoralis* samples from humans and dogs were obtained in South America (Peru). Detailed analysis using DNA sequence information from these samples will enable us to elucidate how *S. stercoralis* spread in human population around the globe.

研究分野：寄生虫学

キーワード：糞線虫 *Strongyloides* 進化 食肉目 宿主転換 イヌ

1. 研究開始当初の背景

糞線虫(*Strongyloides* spp.)は様々な脊椎動物の小腸粘膜を最終寄生部位とする腸管寄生線虫である。ヒトに感染する *S. stercoralis* (ステルコラリス糞線虫)を含め、約 50 種が知られ、熱帯・亜熱帯地域を中心に約 3 千万から 1 億人の感染者がいるものと推定されている。

ステルコラリス糞線虫の主要な宿主はヒトとイヌであり、約 1 万 8 千~3 万 2 千年前にユーラシア大陸で始まったイヌの家畜化(Thalman, 2013)以降、ヒトとイヌが生活環境を密接に共有する過程で、ヒトからイヌ若しくはイヌからヒトへの宿主転換が起こったものと考えられる。しかしながら、この宿主転換が起こった時期、地域、方向性(そもそもステルコラリス糞線虫はヒトの寄生虫だったのか、それともイヌ祖先の寄生虫だったのか)に関しては、これらを推定するための十分な情報がなかった。

また、ステルコラリス糞線虫と形態学的に類似した糞線虫種がアライグマやイタチなどから見出されることが報告されていた。これらの情報は、ステルコラリス糞線虫の祖先種は本来食肉目動物の寄生虫として進化してきたのではないかと示唆していた。しかしながら、観察できる形態学的な違いは非常に小さく、各種遺伝マーカーをもちいた分子系統解析の実施が考慮された。

研究開始当初、公共データベースに登録されたステルコラリス糞線虫の配列情報にはかなり地理的な偏りがあり、特に南米大陸由来の配列は存在しなかった。

2. 研究の目的

(1) 南米大陸(ペルー)におけるヒトおよび犬からのステルコラリス糞線虫サンプリングを行い、これまでに蓄積のある日本、および東南アジア地域における多様性と比較する。

(2) 様々な食肉目動物に由来する糞線虫を回収し、ヒトやイヌに由来するステルコラリス糞線虫との系統関係を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) ペルーにおけるヒトおよびイヌ由来糞線虫のサンプリング:

ヒト由来糞線虫検体はカジェタノ・エレディア大学病院臨床検査室におけるルーティン検査に由来するものを入手した。イヌに関しては、リマ(パンブローナ地区)および、タラポトの 2 箇所において路上からの糞便採取を行い、その後寒天平板法を実施し、実体顕微鏡下に線虫虫体を回収した。

(2) ミャンマーにおけるネコ由来糞線虫のサンプリング

ヤンゴン近郊に位置する保護施設に飼育中のネコ由来糞便を入手し、寒天平板法を行い、実体顕微鏡下に線虫を検出、回収した。

(3) 日本における様々な食肉目動物からの糞線虫サンプリング

有害鳥獣駆除などに由来するアライグマ、日本アナグマ、タヌキ、チョウセンイタチ、ハクビシンの腸管を入手した(和歌山県、および鹿児島県)。腸管粘膜より糞線虫成虫虫体を回収した。

(4) 遺伝マーカーを用いた分子系統解析

得られた虫体サンプルに由来する DNA を用い、PCR, サンガーシーケンシングを行った。遺伝マーカーとしては 18s rDNA, 28s rDNA, ミトコンドリア *cox1* 遺伝子を用いた。得られた配列をもとに分子系統樹を作成した

(5) ミトコンドリア 全ゲノム配列のシーケンシング

単一虫体 lysate を出発材料に、全ゲノム増幅を行った。精製の後、Miseq シーケンシングライブラリを作成し、シーケンシングを行った。ミトコンドリアゲノム由来配列を抽出したのち、*de novo*、もしくは mapping アセンブリを行い、全ミトコンドリアゲノム配列を決定した。さらに、すべてのミトコンドリアゲノム由来タンパクをコードする遺伝子配列を用いたミトコンドリア 系統樹を作成した。

4. 研究成果

(1) ペルーにおけるヒトおよびイヌからの糞線虫サンプリング

ヒト由来糞線虫については、カジェタノ大学病院において患者 22 名に由来する 79 虫体を入手した。一方、イヌに関してはリマで 180 検体、タラポトで 97 検体の検査を行ったが、糞線虫はタラポトの 2 検体にのみ見出された。

(2) ペルーのヒトおよびイヌから見出された糞線虫を含めた世界の糞線虫集団の系統関係

ミトコンドリア *cox1* 遺伝子部分配列(711bp)の解析により、ペルー産糞線虫からは 10 の新規ハプロタイプが見出された。これらのハプロタイプは 3 つのグループにまとめられた(unique haplogroup in Peru 1-3, 図 1)。これらは、ネットワーク解析ではアジアで主にみられるハプロタイプとはかなり離れた場所に配位された。これらはアジア株からの地理的隔絶のちに起こった変化を反映しているものと考えられた。

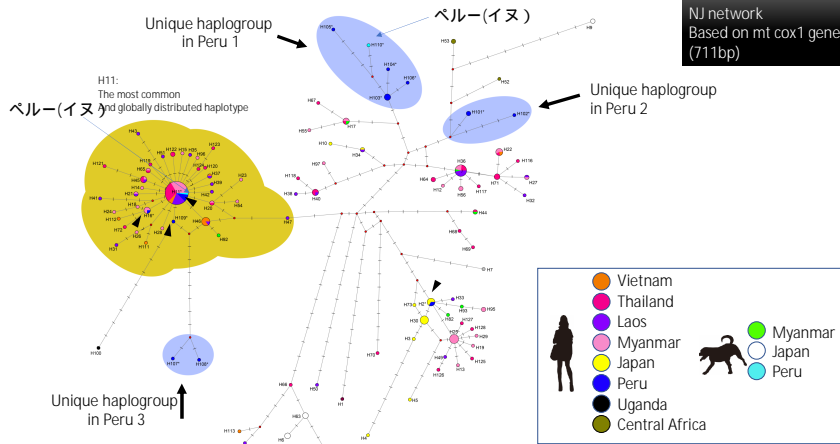


図 1 ペルー産糞線虫 (*S. stercoralis*)を含めた世界各地の糞線虫の系統関係 (ミトコンドリア *cox1* 遺伝子部分配列 [711bp]に基づくネットワーク図)

(3) ステルコラリス糞線虫と様々な食肉目動物由来糞線虫の系統関係

アライグマ、日本アナグマ、タヌキ、チョウセンイタチ、ハクビシン、ネコのうち、ハクビシンを除く全ての食肉目動物宿主から糞線虫が検出された。これらの食肉目動物由来糞線虫は 18S rDNA 部分配列のシーケンシングにより、9 の OTU (operational taxonomy unit)に分類された。他の糞線虫配列との比較により、食肉目動物由来糞線虫は 2 つのグループ (*stercoralis/procyonis* group、および *planiceps* group) に大別されることがわかった。前述 9 つの OTU のうち 6 つは *stercoralis/procyonis* group、3 つは *planiceps* group に属することがわかった。*stercoralis/procyonis* group に属する 6 つの OTU のうち、5 つに関してはミトコンドリア 全ゲノム配列を取得することに成功した。この配列情報をもとに系統樹を作成した(図 2)

ヒトに寄生する糞線虫(ステルコラリス糞線虫 type A)に近縁な糞線虫はすべて食肉目動物の糞線虫であり、このグループの糞線虫は基本的に食肉目動物の寄生虫であったことが強く示唆された。ステルコラリス糞線虫の最近縁種としてはこれまで *S. procyonis* (アライグマが自然宿主)とされてきたが、今回の研究ではネコ由来の(OTU CT1)が最近縁であることが示唆された。

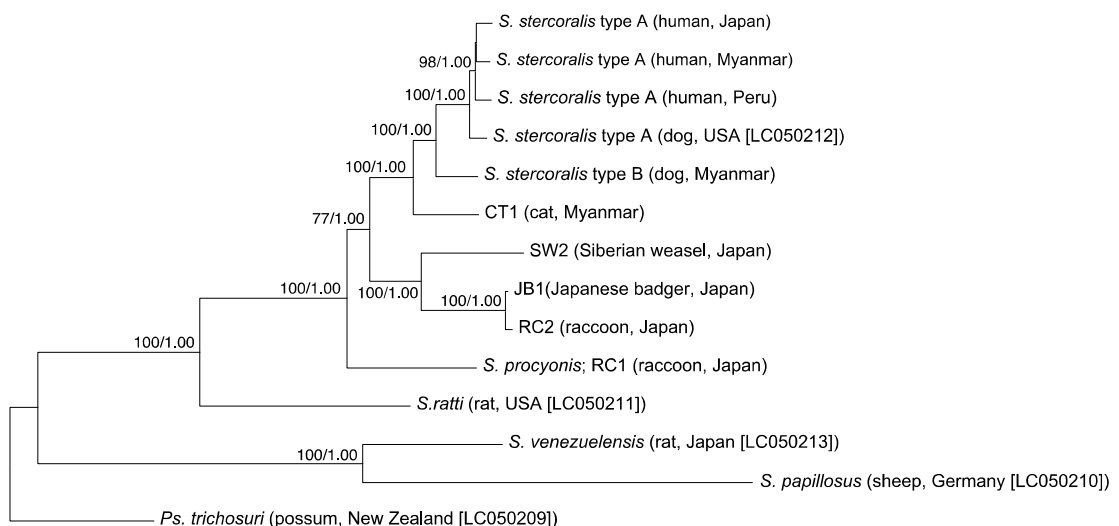


図 2 ヒトに寄生する糞線虫種である (*S. stercoralis* type A)と様々な食肉目動物に寄生する糞線虫種との系統関係 (ミトコンドリア ゲノム配列 [protein coding regions, 10,180 nucleotide positions]に基づく系統樹)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Eiji Nagayasu, Myo Pa Pa Thet Hnin Htwe Aung, Thanaporn Hortiwakul, Akina Hino, Teruhisa Tanaka, Miwa Higashiarakawa, Alex Olia, Tomoyo Taniguchi, Soe Moe Thu Win, Isao Ohashi, Emmanuel Igwaro Odongo-Aginya, Khin Myo Aye, Mon Mon, Kyu Kyu Win, Kei Ota, Yukari Torisu, Siripen Panthuwong, et al.	4. 巻 7
2. 論文標題 A possible origin population of pathogenic intestinal nematodes, <i>Strongyloides stercoralis</i> , unveiled by molecular phylogeny	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-017-05049-x	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 長安英治、菊地泰生、丸山治彦	4. 巻 74
2. 論文標題 糞線虫症研究の新展開	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 医学と薬学	6. 最初と最後の頁 1407-1414
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 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 Ko Phoo Pwint, Suzuki Kazuo, Canales-Ramos Marco, Aung Myo Pa Pa Thet Hnin Htwe, Htike Wah Win, Yoshida Ayako, Montes Martin, Morishita Kazuhiro, Gotuzzo Eduardo, Maruyama Haruhiko, Nagayasu Eiji	4. 巻 78
2. 論文標題 Phylogenetic relationships of <i>Strongyloides</i> species in carnivore hosts	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102151-102151
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.parint.2020.102151	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 長安英治、丸山治彦	4. 巻 29
2. 論文標題 ヒトとイヌに由来する <i>Strongyloides stercoralis</i> の分子系統解析	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Parasitology	6. 最初と最後の頁 21-23
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 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 Ko Phoo Pwint、Sakaguchi Kohei、Yoshida Ayako、Maruyama Haruhiko、Nonaka Nariaki、Nagayasu Eiji	4. 巻 72
2. 論文標題 First molecular identification of <i>Strongyloides vituli</i> in cattle in Japan and insights into the evolutionary history of <i>Strongyloides</i> parasites of ruminants	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 101937 ~ 101937
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2019.101937	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 -

〔学会発表〕 計14件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 長安英治, 丸山治彦
2. 発表標題 ヒトとイヌに由来する <i>Strongyloides stercoralis</i> の分子系統解析
3. 学会等名 第29回日本臨床寄生虫学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 丸山治彦, 鴻巣明日香, 阿部愛, 村瀬一典, 菊地泰生, 長安英治
2. 発表標題 現在のわが国における寄生蠕虫症の症状について
3. 学会等名 第29回日本臨床寄生虫学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Eiji Nagayasu, Duong Duc Hieu, Bui Khanh Linh, Kazunori Murase, Ayako Yoshida, Nariaki Nonaka, Haruhiko Maruyama
2. 発表標題 Identification of clade II (dog-isolate type) Cox1 haplotype identified in <i>Strongyloides stercoralis</i> isolated from a Vietnamese human
3. 学会等名 第87回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Duc Hieu Duong, Khanh Linh Bui, Thu Huong Nguyen, Thanh Duong Tran, 長安 英治, 丸山 治彦, 吉田 彩子, 野中 成晃
2. 発表標題 Genetic relationship of <i>Ancylostoma ceylanicum</i> isolated from dogs and humans in Vietnam inferred from mt cox1 gene
3. 学会等名 第161回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長安英治, 丸山治彦
2. 発表標題 ヒトの糞線虫はどこから来たのか-ネコ目由来糞線虫との関係から
3. 学会等名 第12回蠕虫研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Phoo Pwint Ko, 坂口 浩平, 吉田 彩子, 丸山 治彦, 野中 成晃, 長安 英治
2. 発表標題 First molecular identification of <i>Stroglyoides vituli</i> in Japanese cattle
3. 学会等名 第88回日本寄生虫学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長安英治, Phoo Pwint Ko, 丸山治彦
2. 発表標題 ヘビの糞線虫、アライグマの糞線虫：糞線虫属における種分化に関する研究
3. 学会等名 第11回蠕虫研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 長安英治、Phoo Pwint Ko、丸山治彦
2. 発表標題 ヒトとイヌに寄生する糞線虫の系統関係について
3. 学会等名 70 回日本寄生虫学会南日本支部大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Eiji Nagayasu, Duong Duc Hieu, Bui Khanh Linh, Kazunori Murase, Ayako Yoshida, Nariaki Nonaka, Haruhiko Maruyama
2. 発表標題 Identification of clade II (dog-isolate type) Cox1 haplotype identified in Strongyloides stercoralis isolated from a Vietnamese human
3. 学会等名 第87回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Phoo Pwint Ko, Eiji Nagayasu, Haruhiko Maruyama
2. 発表標題 Genetic diversity of Strongyloides procyonis in feral raccoons (Procyon lotor) from Wakayama, Japan
3. 学会等名 第87回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 長安英治、Phoo Pwint Ko、Jorge Manuel Cardenas Callirgos、Martin Montes、Eduardo Gotuzzo、森下和広、丸山治彦
2. 発表標題 ペルーのヒトおよびイヌ由来糞線虫の分子系統解析
3. 学会等名 第72回日本寄生虫学会南日本支部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Phoo Pwint Ko, Kohei Sakaguchi, Ayako Yoshida, Haruhiko Maruyama, Nariaki Nonaka, Eiji Nagayasu
2. 発表標題 First molecular identification of <i>Strongyloides vituli</i> in cattle in Japan
3. 学会等名 第72回日本寄生虫学会南日本支部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Phoo Pwint, Ko, Myo Pa Pa Hnin Htwe Aung, Wah Win Htike, Ayako Yoshida, Haruhiko Maruyama, Eiji Nagayasu
2. 発表標題 Phylogenetic relationships of <i>Strongyloides</i> species found in Carnivore hosts
3. 学会等名 第89回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長安英治, Marco Canales-Ramos, Phoo Pwint Ko, Jorge Manuel-Cardenas-Callirgos, Martin Montes, Eduardo Gotuzzo, 森下和広, 丸山治彦
2. 発表標題 Molecular phylogenetic analysis of <i>Strongyloides stercoralis</i> isolated from humans and dogs in Peru
3. 学会等名 第89回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2020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
研究分担者	吉田 彩子 (Yoshida Ayako) (20343486)	宮崎大学・農学部・教授 (17601)	