

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月 27日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22580349

研究課題名（和文） 美麗食道虫症の自然伝播に影響する寄生虫の生物学的要因と宿主の生態学的要因の研究

 研究課題名（英文） Transmission dynamics of *Gongylonema pulchrum* in the nature, with special reference to its genetic diversity among isolates from different mammalian host species

研究代表者

佐藤 宏 (SATO HIROSHI)

山口大学・共同獣医学部・教授

研究者番号：90211945

研究成果の概要（和文）：美麗食道虫(*Gongylonema pulchrum* Molin, 1857)は、さまざまな哺乳類の上部食道粘膜内寄生性の線虫である。その分布は世界中に及ぶ。ウシ、シカ、ヤギ、ラクダ、ブタ、ウマ、シカ、クマ、ヒト等から記録されているが、その単一種性については長く議論されてきた歴史がある。国内各種動物(ウシ、シカ、サル等)およびイラン・ネパール・中国から得た当該種について、形態学的な観察を行うとともに、rDNA および *cox-1* 遺伝子について詳細な検討を行い、生物群としての構成や伝播動態を探究した。

研究成果の概要（英文）：The gullet worm (*Gongylonema pulchrum* Molin, 1857) has been recorded from a variety of mammals worldwide. Due to its wide host range, it has been suggested that the worm may be transmitted locally to any mammalian host by chance. To investigate this notion, the rDNA and *cox-1* genes of *G. pulchrum* were characterized using parasites from cattle, deer, monkeys and water buffaloes, etc. in Japan, Iran, Nepal and China. It is concluded that domestic and sylvatic transmission cycles of the gullet worm are present, and we should be aware of different parasite populations in each host animals.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学、応用獣医学

キーワード：美麗食道虫, *Gongylonema pulchrum*, 伝播、ハプロタイプ、rDNA、*cox-1*

- | | |
|-------------------------------------|--|
| 1. 研究開始当初の背景
寄生虫学において、寄生虫個々の「宿主特 | 異性（宿主城）」もしくはその反映としての「自然伝播」の理解は大きな課題である。形 |
|-------------------------------------|--|

態学的種同定が難しい微生物-原虫で広く採用されている遺伝子型把握は、その伝播理解を大きく進めた。一方、「形態学的種同定=伝播理解」となりがちであった蠕虫(線虫、吸虫、糸虫)においても、最近では、遺伝子型の解析を通して、従来の理解と実際の伝播の間に乖離があったことが理解されつつある。しかし、そのような解析は、まだまだ、ごく一部の種に限られている。更に、その解析を生物系統地理学的な「寄生虫の特定動物への適応と地理学的分散」から一步進め、自然環境下での「伝播」の真の理解となるかどうか今後の課題となっている。

2. 研究の目的

美麗食道虫(*Gongylonema pulchurum*)は、反芻動物、ブタ、奇蹄類、クマ(肉食動物)、ヒトを含めた霊長類と広い宿主域をもつ、上部消化管重層扁平上皮内寄生の線虫と理解されてきた。私たちの最近の野外研究は、異なる遺伝型をもつ美麗食道虫の伝播が、野生動物であるシカと家畜であるウシで独立的に国内では維持されている可能性を示唆していた。シカとウシの長い歴史を考える時、この事実は、厳然とした「宿主特異性」の高さ(「宿主域」の狭さ)を反映した自然伝播を考えなくてはならないことを意味している。この点を掘り下げて、実験室内での生化学的解析と媒介者となる中間宿主での解析を有機的に活用し、広い宿主域をもつとされる美麗食道虫を解析モデルとして、寄生線虫の宿主特異性と自然伝播の関係について探究することを目的に解析を行った。

3. 研究の方法

(1) 国内・国外各種動物での美麗食道虫感染状況の把握と寄生虫体の確保を行った。国内では、北海道、東北産ウシでの寄生率が報告され、北海道、近畿圏のシカでの感染が確認されているにすぎなかったことから、より広域な材料収集と、イノシシやニホンザルでの感染確認を目指した。

(2) 形態学的観察により、美麗食道虫としての種確認とともに、並行して行う遺伝子解析との相関性をもつ形態学的変異の検出を考えた。

(3) 収集した虫体については、18S~28Sにわたる一連のリボソームRNA 遺伝子塩基配列における変異とミトコンドリアDNAのチトクロームCオキシダーゼサブユニット1における塩基置換に注目して、遺伝子型の確認を行った。

(4) 動物種と美麗食道虫遺伝子型との関係を総合的に考察した。

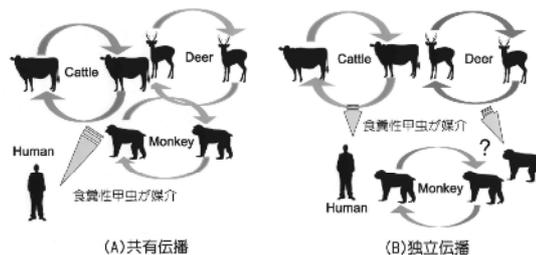
4. 研究成果

ウシならびにシカといった反芻類、イノシシ、ニホンザル、動物園リスザルなどの

異なる宿主に寄生する美麗食道虫について、その感染状況を明らかにした。すなわち、国内各地で育成されたウシ 638 頭の 5.3%、シカ 200 頭の 19.5% (但し、地域差が大きく、100%の感染率がみられる地域、まったく感染のみられない地域が区別された)、イノシシ132頭の3.8%、ニホンザル10頭の30%、国内動物園で飼育されるリスザル群では100頭の13%前後の感染率がみられるコロニー、あるいは50頭の46%前後に感染がみられ、国内に広く美麗食道虫の分布があること、また、国内各種動物での感染状況を新たに確認した。

各種動物に寄生する美麗食道虫のrDNAならびにミトコンドリアDNA cox-1領域に注目して遺伝子型の解析を行った。rDNAについては18S~28Sにかけた6,100塩基対をそれぞれの動物種に寄生する美麗食道虫で明らかにし、ITS1ならびにITS2領域に変異が頻発することを確認するとともに、更に、これらの2領域を中心に異なる宿主由来をもつ虫体の遺伝子型の解析を進めた。この解析から、ウシ型(ウシ、動物園リスザル、外来動物キョン)とシカ型(シカ、イノシシ、ニホンザル)が区別された。ミトコンドリアDNAのcox-1領域の解析から、ウシ型2タイプ(ウシ、リスザル)、シカ型8タイプ(シカ、イノシシ、ニホンザル)が確認された。以上の結果から、自然環境下では、家畜(ウシ)と野生動物(シカ、イノシシ、ニホンザル)との間で同一遺伝子型の美麗食道虫の感染環の共有がないことを広汎な材料収集を通して明らかにしたことになる。また、ネパールの水牛に寄生する美麗食道虫について同様の検討を行ったところ、国内各種動物およびイラン産ウシに寄生する美麗食道虫とはかなり異なる、固有の遺伝子型をもつことが確認された。なお、形態学的な種鑑別は従来の基準に依る限りにおいて別種と考えることは不可能であった。

従来、下図(A)に示すように、美麗食道虫は宿主特異性が低く、さまざまな動物種が宿主となると理解されてきたが、今回の研究を通して、下図(B)に示すように、実際には宿主動物種群毎に独立した伝播が起こり、また、地域個体群とも言える変異をも感がないことが明らかになったと言える。



(A)共有伝播

(B)独立伝播

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

- ① Makouloutou P, Rana H B, Adhikari B, Devkota B, Dhakal I P, Sato H, A distinct genetic population of *Gongylonema pulchrum* from water buffaloes in Nepal. *Journal of Parasitology*, 査読有、2013、(in press)
DOI:
<http://dx.doi.org/10.1645/12-143.1>
- ② Makouloutou P, Setsuda A, Yokoyama M, Tsuji T, Saita E, Torii H, Kaneshiro Y, Sasaki M, Maeda K, Une Y, Hasegawa H, Sato H, Genetic variation of *Gongylonema pulchrum* from wild animals and cattle in Japan based on ribosomal RNA and mitochondrial cytochrome c oxidase sub-unit I genes. *Journal of Helminthology*, 査読有、2013、(in press)
DOI:
<http://dx.doi.org/10.1017/S0022149X12000442>
- ③ Sultan K, Omar M, Makouloutou P, Kaneshiro Y, Saita E, Yokoyama M, Suzuki K, Hosoi E, Sato H, Molecular genetic conspecificity of *Spiculopteragia houdemeri* (Schwartz, 1926) and *S. andreevae* (Drózdź, 1965) (Nematoda: Ostertagiinae) from wild ruminants in Japan. *Journal of Helminthology*, 査読有、2013、(in press)
DOI:
<http://dx.doi.org/10.1017/S0022149X12000521>
- ④ Hasegawa H, Sato H, Suzuki K, Kaneshiro Y, A new oxyurid species (Nematoda) collected from a Japanese serow, *Capricornis crispus* (Mammalia: Bovidae), in Japan. *Journal of Parasitology*, 査読有、98 巻 6 号、2013、1161-1165
DOI: 10.1645/GE-3133.1
- ⑤ Yamane K, Suzuki Y, Tachi E, Li T, Chen X, Nakao M, Nkouawa A, Yanagida T, Sako Y, Ito A, Sato H, Okamoto M, Recent hybridization between *Taenia asiatica* and *Taenia saginata*. *Parasitology International*, 査読有、61 巻、2012、351-355
DOI: 10.1016/j.parint.2012.01.005
- ⑥ Hasegawa H, Sato H and Torii H, Redescription of *Enterobius*

(*Enterobius*) *macaci* Yen, 1973 (Nematoda: Oxyuridae: Enterobiinae) based on material collected from wild Japanese macaque, *Macaca fuscata* (Primates: Cercopithecidae). *Journal of Parasitology*, 査読有、98 巻、2012、152-159

DOI: 10.1645/GE-2867.1.

- ⑦ 佐藤 宏, 連載「動物病理学の今」第 5 回 最近話題の人獣共通寄生虫病、病理と臨床、査読無、30 巻 8 号、2012、2-6
- ⑧ 佐藤 宏, シカ肉処理の注意点 2. -寄生虫編-, *JVM(獣医畜産新報)*, 査読無、65 巻、2012、475-478
- ⑨ 佐藤 宏, 随伴侵入生物としての脊椎動物寄生蠕虫、*地球環境*, 査読有、17 巻 2 号、2012、183-192
- ⑩ Halajian A, Eslami A, Salehi N, Ashrafi-Helan, J, Sato H, Incidence and genetic characterization of *Gongylonema pulchrum* in cattle slaughtered in Mazandaran Province, Northern Iran. *Iranian Journal of Parasitology*, 査読有、5 巻 2 号、2010、10-18
- ⑪ Hasegawa H, Sato H, Fujita S, Nguema P P M, Nobusue K, Miyagi K, Kooriyama T, Takenoshita Y, Noda S, Sato A, Morimoto A, Ikeda Y, Nishida T, Molecular identification of the causative agent of human strongyloidiasis acquired in Tanzania: dispersal and diversity of *Strongyloides* spp. and their hosts. *Parasitology International*, 査読有、59 巻、2010、407-413
DOI: 10.1016/j.parint.2010.05.007

[学会発表] (計 9 件)

- ① 松尾加代子・佐藤 宏、岐阜県でと畜される牛の住肉胞子虫浸淫度調査、第 81 回日本寄生虫学会大会、2012. 3. 23-24、西宮市(兵庫医科大学)
- ② 藤井浩平・佐藤 宏・宇根有美、アカハライモリに寄生するトリパノソーマについての形態学的ならびに分子系統学的アプローチ、第 152 回日本獣医学会学術集会、2011. 9. 19-21、大阪府堺市(大阪府立大学)
- ③ 相津康宏・金森弘樹・伊原禎雄・藤原かおり・宇根有美・佐藤 宏、特定地域で捕獲されるアライグマでの高頻度の *Euryhelms costaricensis* 成虫寄生、第 152 回日本獣医学会学術集会、2011. 9. 19-21、大阪府堺市(大阪府立大学)
- ④ Khaled Sultan・Patrice Makouloutou・金城芳典・齋田栄里奈・横山真弓・鈴木和男・

佐藤 宏、Morphological polymorphism of *Spiculopteragia houdemeri* (Schwartz, 1926) (Nematoda: Ostertagiinae) from wild ruminants in Japan、第152回日本獣医学会学術集会、2011.9.19-21、大阪府堺市(大阪府立大学)

⑤戸田正枝・相津康宏・藤井浩平・佐藤 宏、国内各種動物に寄生する *Aonchotheca putorii* の形態多型性と遺伝的多型性、第80回日本寄生虫学会大会、2011.7.17-18、東京都港区新橋(東京慈恵会医科大学)

⑥藤井浩平・佐藤 宏・宇根有美、オキナワシリケンイモリに寄生する *Trypanosoma ogawai*、第80回日本寄生虫学会大会、2011.7.17-18、東京都港区新橋(東京慈恵会医科大学)

⑦相津康宏・伊原禎雄・宇根有美・金森弘樹・藤原かおり・佐藤 宏、各種サンショウウオを第二中間宿主とする *Euryhelminx costaricensis* の国内分布、第80回日本寄生虫学会大会、2011.7.17-18、東京都港区新橋(東京慈恵会医科大学)

⑧Bishnu B. Adhikari, Hari B. Rana Ishwari Dhakal, Aogu Setsuta, Hiroshi Sato、Genetic characterization of the gullet worms, *Gongylonema* sp., from water buffaloes in Nepal、第150回日本獣医学会学術集会、2010.9.16-18、帯広市(帯広畜産大学)

⑨Mosaab Omar, Masae Toda, Tomoka Tsuji, Mayumi Yokoyama, Hiroshi Sato、Helminths of wild boar (*Sus scrofa leucomystax*) in Hyogo Prefecture, with the first record of *Ascarops dentate* Linstow, 1904 (Nematoda: Spirocercidae) in Honshu, Japan、第150回日本獣医学会学術集会、2010.9.16-18、帯広市(帯広畜産大学)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 宏 (SATO HIROSHI)
山口大学・共同獣医学部・教授
研究者番号：90211945

(2) 研究分担者

長谷川英男 (HASEGAWA HIDEO)
大分大学・医学部・教授
研究者番号：00126442

横山真弓 (YOKOYAMA MAYUMI)
兵庫県立大学・自然環境科学研究所・准教授
研究者番号：50344388

(3) 連携研究者

()
研究者番号：