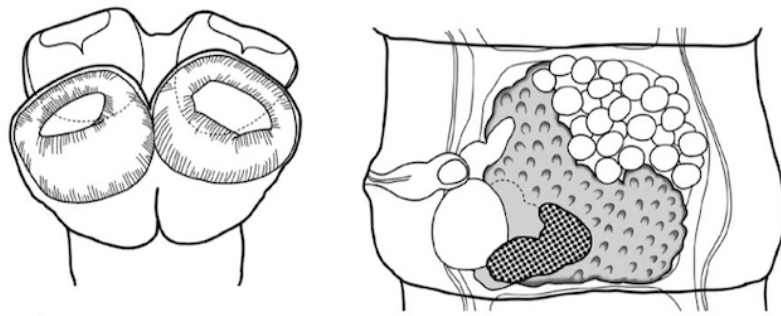


日本寄生虫学会・日本衛生動物学会
第 67 回北日本支部合同大会
プログラム



Paranoplocephala kalelai

(旭川産エゾヤチネズミの条虫)

Species Diversity 26: 255–272 (2021)

1. はじめに
2. 注意事項
3. Zoom の使用方法
4. タイムテーブル
5. 要旨 (特別講演、一般講演 Nos. 1 – 30)

大会長： 中尾 稔 (旭川医科大学・医学部)

事務局： 佐々木 瑞希 (旭川医科大学・医学部)

はじめに

分子から野外フィールドまで様々な一般演題が集まりました。学会員ではないけれど、寄生虫を研究テーマにしている方々にも参加していただきました。特別講演ではキツネに着目しました。エキノコックス症の背景に思いを巡らせていただければと思います。長丁場になりますが、好きなところをお楽しみください（N）。

注意事項

◎ Zoom ミーティング ID は以下の4つがあります。指定された時間によって使い分け
てください（開始時間と終了時間は余裕をもたせてあります）。

- 1) 大会午前の部（08:45 – 12:30）
- 2) 特別講演（12:50 – 14:15）
- 3) 大会午後の部（14:20 – 18:30）
- 4) 懇親会（18:50 – 21:00）

休憩時間はありませんので、参加者は自由に入退室してください。

◎ 従来、北日本支部大会では発表者が順繰りに座長を務めていましたが、オンライン発表では交代時にトラブルや時間ロスが発生しますので、座長を指定することにしました。座長の方は円滑な進行にご協力ください。

◎ 3名のホストオペレーター（佐々木 瑞希・尾針 由真・原口 麻子）が交代で発表を監視します。トラブルがあった場合、介入します。直接連絡する場合がありますので、発表者は手元に携帯電話を備えてください。

◎ 一般講演は質疑応答を含めて発表時間が10分です。実質的な発表時間は概ね8分ですが、予鈴は行いません。発表時間の終了時（一般講演10分、特別講演30分）のみ、オペレーターがお知らせします。時間配分は発表者が工夫してください。

◎ 特別講演の2題については発表時間は各々30分です。発表の後に5分ほどの質問時間を設けます。

◎ 総会開始時（17:30頃）に若手奨励賞の投票を行いますので、大会参加者は集合してください。北日本支部以外の参加者もぜひ投票してください。投票方法は「Zoomの使用

◎ 講演の録画録音は禁止します。

Zoom の使用方法

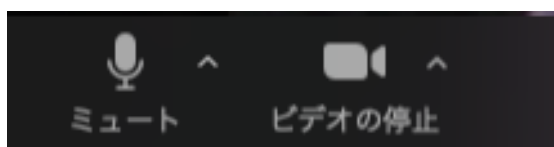
最新のミーティング用 Zoom クライアントをインストールしてください。最近アップデートされたばかりですので、必ず最新版(<https://zoom.us/download>)を使用してください。

1) 参加者

- ◎ メールで送付されたミーティング ID をクリックして、大会午前の部・特別講演・大会午後の部・懇親会に入室してください。4つのミーティング ID がありますので、使い分けてください。入退は自由です。なお、Zoom の参加者名を本名(所属)に変更してください。
- ◎ 入室したら、マイク(図1)は通常オフにしてください。講演者が発表中は必ずオフにしてください(懇親会はマイクオンでかまいません)。
- ◎ 発表に対して質問がある場合は、挙手ボタン(図2)を使用してください。座長が指名しますので、マイクとカメラを必ずオンにして発言してください。質疑応答が終わったらマイクはオフに戻してください。

図1. マイクとカメラのオン・オフのやり方

マイクとカメラがオンの状態



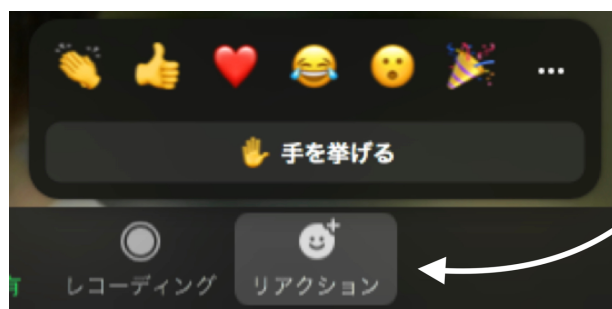
マイクがオフの状態



- 画面左下のマイクもしくはカメラのアイコンをクリックします。
- デフォルトではオンで、赤の斜線が入るとオフになります。

図2. 挙手のやり方

- 画面右下の「リアクション」のアイコンをクリックすると、挙手ボタン(手を挙げる)がポップアップします。これをさらにクリックしてください。



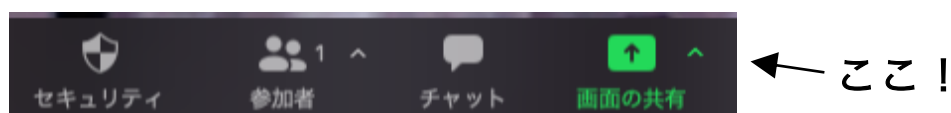
ここ！

2) 講演者

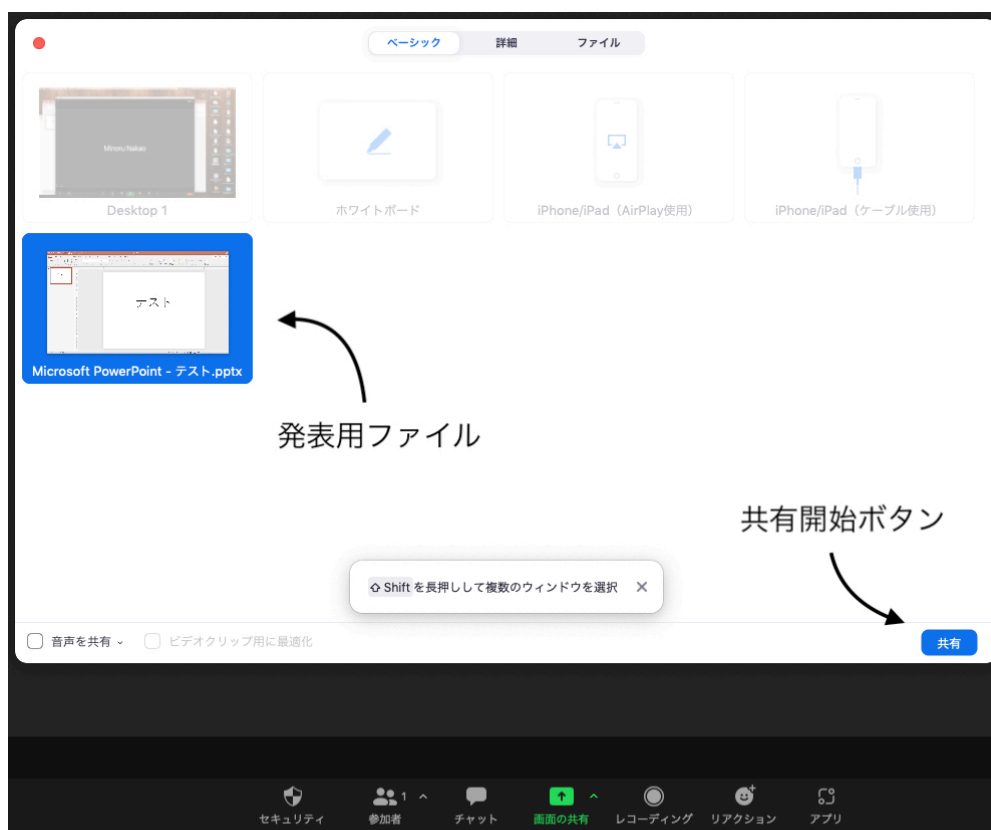
- ◎ 自分の番が来たら、マイクとカメラをオンにして、座長の指示に従ってください。
- ◎ 発表ファイル（パワーポイントなど）を立ち上げて、画面共有（図3）してください。スライドショーにして発表を始めてください。
- ◎ 発表が終わったら、画面共有を止めて、座長の指示に従い、質疑応答してください。すべてが終了したら、マイクをオフにしてください。

図3. 画面共有のやり方

- 先ず、発表用ファイル（パワーポイントなど）を立ち上げてください。
- Zoom に戻って、画面中央下にある「画面の共有」のアイコンをクリックします。

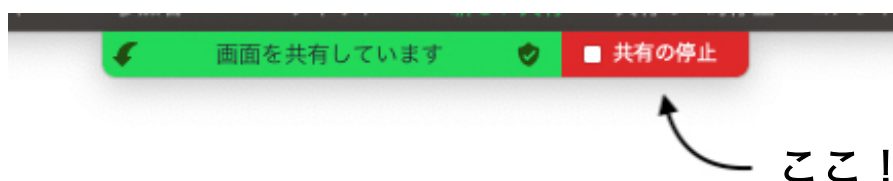


- すると、このような画面が現れます。発表用ファイルを選択して、共有開始ボタンを押してください。



- スライドショーにして、発表を始めてください。

- 発表終了後は、画面上部にある「共有の停止」をクリックすると共有が停止します。



3) 座長

- ◎ マイクとカメラをオンにして、講演者の紹介をしてください。
- ◎ 発表中もカメラをオンにしておくこと、演者と参加者には座長がみえているので、ライブ感が出て、演者の孤独感が軽減されます。
- ◎ 質疑応答には挙手ボタンを使用します。画面を見て、質問者に指示を出してください。
- ◎ トラブルがあった場合、ホストオペレーターが介入します。

4) 若手奨励賞の投票

- ◎ 総会開始時（17:30頃）に投票を行います。投票はすぐに締め切ります。
- ◎ 投票画面（図4）が現れたら、1名だけ選んで投票してください。
- ◎ 結果は総会の最後に発表します。

図4. 投票のやり方



- 演題番号の若い順に3つの投票画面が現れます。それぞれの画面で「該当者」または「該当なし」をラジオボタンで選んで、送信ボタンをクリックしてください。
- 投票できるのは1名だけです。1名を選択したら、他の投票画面では「該当なし」にしてください。

タイムテーブル（*でマークされた一般講演は若手奨励賞候補）

08:50 – 09:00 大会長挨拶（オンライン発表についての注意事項を説明）

09:00 – 10:00 一般講演 Nos. 1 – 5（座長：白水 貴大）

- * 1. クリプトスポリジウム感染細胞で機能する宿主因子 MAPK4 の役割 ○ 渡邊 仁奈¹⁾、伴戸 寛徳¹⁾、村越 ふみ^{1,2)}、福田 康弘¹⁾、加藤 健太郎¹⁾（¹⁾ 東北大・院農・動物環境システム、²⁾ 京府医大・感染病態学）
- * 2. Evaluation of traditional Chinese medicines using in vitro and in vivo approach to identify anti-*Cryptosporidium* compounds ○ Md. Hazzaz Bin Kabir^{1,3)}, Nur Khatijah Mohd Zin²⁾, Yasuhiro Fukuda³⁾, Hironori Bando³⁾, Hiroki Bochimoto²⁾, Kenichi Watanabe¹⁾, Xuenan Xuan¹⁾, Kentaro Kato^{1,3)}（¹⁾ 帯畜大・原虫研、²⁾ 慈恵医大・細胞生理、³⁾ 東北大学・院農・動物環境システム）
- * 3. Subversion of adaptive immune response during acute *Babesia* co-infection in mice ○ ZAFAR Iqra, GALON Eloiza May, 玄 学南（帯畜大・原虫研）
- * 4. Inhibitory effect of naphthoquine phosphate against *Babesia gibsoni* in vitro and *Babesia rodhaini* in vivo ○ Ji Shengwei, 玄 学南（帯畜大・原虫研）
- * 5. 雄ハマダラカを用いた *Plasmodium falciparum* oocyst 形成の検討 ○ 原口 麻子、箱崎 純、中山 和彦、中村 咲蓮、草木迫 浩大、筏井 宏実（北里大・獣医）

10:00 – 11:00 一般講演 Nos. 6 – 10（座長：草木迫 浩大）

- * 6. 北海道におけるゲジの分布 ○ 開澤 菜月¹⁾、脇村 涼太郎²⁾、山内 健生¹⁾（¹⁾ 帯畜大・昆虫、²⁾ 東海大・生物）
- 7. 北海道十勝地方で発生するアブの季節消長とその保有病原体に関する予備的調査 ○ 菅沼 啓輔^{1,2)}、安馬 英斗¹⁾、洪 祐天¹⁾、河津 信一郎¹⁾（¹⁾ 帯広畜産大学・原虫研、²⁾ 帯広畜産大学・グローバルアグロメディシン研）
- * 8. マダニから分離したリケッチエラ共生菌が保有するビタミンB群代謝関連遺伝子群の特定 ○ 大前 日希、May June Thu、林 直樹、今里 裕平、野中 成晃、中尾 亮（北大・獣）
- * 9. ハマダラカの腸内細菌 *Methylobacterium* sp.が卵発育に与える影響 ○ 箱崎 純¹⁾、野々垣 雄介¹⁾、田邊 太志²⁾、西山 啓太³⁾、中山 和彦¹⁾、原口 麻子¹⁾、中村 咲蓮¹⁾、草木迫 浩大¹⁾、筏井 宏実¹⁾（¹⁾ 北里大・獣医・獣医寄生虫学、²⁾ 北里大・獣医・獣医微生物学、³⁾ 慶応義塾大・医）
- 10. パブロフスキーマダニに見いだされた遺伝的多様性 ○ 新倉（座本）綾¹⁾、佐藤 雅

彦²⁾、中尾 稔³⁾、小林 宏尚¹⁾、花木 賢一¹⁾ (¹⁾ 感染研、²⁾ 利尻博物館、³⁾ 旭川医大・医)

11:00 – 12:00 一般講演 Nos. 11 – 15 (座長：福本 晋也)

- * 11. *Plasmodium berghei*の吸血感染と注入感染で形成された oocyst の比較検討 ○ 中山 和彦、藤原 幹太、原口 麻子、箱崎 純、中村 咲蓮、草木迫 浩大、筏井 宏実 (北里大・獣医)
- * 12. 野鳥の節足動物媒介性病原体の検出 ○ 益 桃子¹⁾、佐々木 瑞希²⁾、村松 康和¹⁾、内田 玲麻¹⁾ (¹⁾ 酪農学園大・獣医、²⁾ 旭川医大・医)
- * 13. Molecular detection of tick-borne pathogens in cattle from Binh Dinh province, Vietnam ○ 長谷川 野恵¹⁾、GALON Eloiza May¹⁾、LAN Dinh Thi Bich²⁾、PHUNG Long Thang²⁾、玄 学南¹⁾ (¹⁾ 帯畜大・原虫研、²⁾ フエ農林大・獣医)
- * 14. First molecular evidence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Anaplasma* and first genotyping of equine piroplasma in Philippine racehorses ○ GALON Eloiza May¹⁾、MACALANDA Adrian Miki²⁾、玄 学南¹⁾ (¹⁾ 帯畜大・原虫研、²⁾ カビテ州立大・獣医)
- * 15. Diagnostic potential of *Schistosoma japonicum* recombinant antigens with ELISA in detecting *S. mekongi* infection in Cambodia ○ Atcharaphan Wanlop¹⁾, Jose Ma. M. Angeles²⁾, Masashi Kirinoki³⁾, Minh Anh Dang Trinh⁴⁾, Wilawan Pumidonming⁵⁾, Aya Yajima⁶⁾, Keisuke Suganuma¹⁾ and Shin-ichiro Kawazu¹⁾ (¹⁾ National Research Center for Protozoan Diseases, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine、²⁾ Department of Parasitology, College of Public Health, University of the Philippines Manila, Philippines、³⁾ Department of Tropical Medicine and Parasitology, Dokkyo Medical University、⁴⁾ Institute of Malariology, Parasitology and Entomology Ho Chi Minh, VietNam、⁵⁾ Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Medical Science, Naresuan University, Phitsanulok, Thailand、⁶⁾ World Health Organization Western Pacific Regional Office, Manila, Philippines)

13:00 – 14:15 特別講演「北海道のキツネ」(座長：中尾 稔)

山田 伸一 先生 近代の養狐業と島々への移入

増田 隆一 先生 全道と札幌都市部におけるキツネの集団遺伝構造

14:30 – 15:30 一般講演 Nos. 16 – 20 (座長：佐々木 瑞希)

16. 糞 DNA 分析を用いたキツネの都市生態研究 ～函館市と旭川市を例に～ ○ 天池 庸介¹⁾、佐々木 瑞希²⁾、中尾 稔²⁾、増田 隆一¹⁾ (¹⁾ 北大・理、²⁾ 旭川医大・医)
17. 市街地で維持されるエキノкокスの感染環 —旭川市の現状と考える対策—
○ 佐々木 瑞希¹⁾、天池 庸介²⁾、増田 隆一²⁾、中尾 稔¹⁾ (¹⁾ 旭川医大・医、²⁾ 北大・理)
- * 18. 北海道に分布する多包条虫 *Echinococcus multilocularis* のミトゲノムにおける遺伝的多様性およびその北海道への移入、拡散に関する考察 ○ 林 直樹¹⁾、入江 隆夫²⁾、尾針 由真¹⁾、孝口 裕一³⁾、木下 豪太⁴⁾、八木 欣平¹⁾、中尾 亮¹⁾、野中 成晃¹⁾ (¹⁾ 北海道大学・獣医、²⁾ 宮崎大学・農、³⁾ 北海道衛研・感染症部、⁴⁾ 遺伝研・生態)
19. キツネへの駆虫薬散布によるエキノкокクス症感染源対策の事例紹介 ○ 斎藤 通彦¹⁾、小林 文夫¹⁾、神谷 正男¹⁾、野中 成晃²⁾ (¹⁾ 合同会社環境動物フォーラム、²⁾ 北海道大・獣医)
- * 20. 吸虫類のミトコンドリアゲノムを対象としたユニバーサルプライマーの開発(予報)
○ 尾針 由真¹⁾、佐々木 瑞希²⁾、中尾 稔²⁾、板垣 匡³⁾、野中 成晃¹⁾、中尾 亮¹⁾ (¹⁾ 北大院・獣・寄生虫、²⁾ 旭川医大・医、³⁾ 岩手大・農・獣医寄生虫)

15:30 – 16:30 一般講演 Nos. 21 – 25 (座長：原口 麻子)

- * 21. 犬糸状虫感染ネッタイシマカのマルピーギ管組織培養による ex vivo 実験系の構築
○ 白水 貴大、福本 晋也 (帯畜大・原虫研)
- * 22. 重症複合型免疫不全マウスを用いた犬糸状虫ミクロフィラリア血症移植モデルの開発
○ 水関 実法子、池田 奈央、白水 貴大、福本 晋也 (帯畜大・原虫研)
- * 23. Nemabiome 技術によるメタバーコーディングを利用しためん羊の消化管内毛様線虫類の駆虫薬治療による種構成変化の評価 ○ 市川 雄貴¹⁾、市居 修^{2,3)}、柳川 洋二郎⁴⁾、中尾 亮¹⁾、野中 成晃¹⁾ (¹⁾ 北大・獣医・寄生虫、²⁾ 北大・獣医・解剖、³⁾ 北大・農・アグリメディカル、⁴⁾ 北大・獣医・繁殖)
- * 24. 牛に寄生する糸状虫 *Setaria marshalli* の分子学的解析 ○ 北島 ちひろ¹⁾、一條 俊浩²⁾、関 まどか¹⁾ (¹⁾ 岩手大・農・獣医寄生虫、²⁾ 岩手大・農・産業動物内科)
25. 青森県内で捕殺されたツキノワグマより分離した糸状虫の分子系統解析 ○ 草木 迫 浩大¹⁾、新山 熙¹⁾、原口 麻子¹⁾、箱崎 純¹⁾、中山 和彦¹⁾、中村 咲蓮¹⁾、進藤 順治²⁾、工藤 上¹⁾、筏井 宏実¹⁾ (¹⁾ 北里大・獣医寄生虫、²⁾ 北里大・野生動物)

16:30 – 17:30 一般講演 Nos. 26 – 30 (座長：尾針 由真)

- * 26. 単為生殖型肝蛭の中間宿主ヒメモノアラガイ体内における動態解析 ○ 中村 咲蓮、井澤 優香、中山 和彦、箱崎 純、原口 麻子、草木迫 浩大、筏井 宏実 (北里大・獣医)
- 27. 最近水族館から依頼のあった寄生性扁形動物の鑑定に関する概要紹介 平田 晴之、○ 浅川 満彦 (酪農大・獣・感染病理)
- * 28. 口に寄生された魚は釣られにくい：イワナに寄生するカイアシ類ナガクビムシの影響評価 ○ 長谷川 稜太¹⁾、小泉 逸郎^{1,2)} (¹⁾ 北海道大院・環境、²⁾ 北海道大院・地球環境)
- * 29. 空知川上流域の湧水支流と非湧水支流における魚類寄生虫群集組成について ○ 中 正大¹⁾、小泉 逸郎^{1,2)} (¹⁾ 北海道大院・環境、²⁾ 北海道大院・地球環境)
- 30. 北海道のドブシジミ科微小二枚貝と吸虫類 ○ 中尾 稔¹⁾、照井 滋晴²⁾、佐々木 瑞希¹⁾ (¹⁾ 旭川医大・医、²⁾ 環境把握推進ネットワーク PEG)

17:30 – 18:00 総会 (若手奨励賞投票と各賞の発表を含む)

19:00 – 20:30 懇親会

「標本を語り倒す、作り方からスケッチ・写真撮影まで」

- 標本がうまく作れない… (固定法は、染色法は?)
- 上手なスケッチのコツは… (皆さんどうやっているの?)
- 光が反射してキレイなマクロ写真が撮れない… (どんな機材で、どんな工夫?)

などなど、悩みや今さら聞けない疑問を話してください。ゲストの先生方や他の参加者が答えてくれるはずですが、正解はないのかもしれませんが、こうすれば上手くゆくという気付きがあるかもしれません。マイクとカメラをオンにして自由にディスカッションしてください。飲み物・おつまみは各自ご自由に。

特別ゲスト

長谷川 英男 先生

小川 和夫 先生

浦部 美佐子 先生

特別講演「北海道のキツネ」

近代の養狐業と島々への移入

山田伸一（北海道博物館）

1910年代半ば、カナダ北東部のプリンス・エドワード島などで盛んになっていた毛皮目的のキツネ飼育（養狐業）の状況が日本国内に紹介された。こうした情報が刺激となり、気候が適しているとされた樺太や北海道で養狐業が活発化する。この地域ではまた、市場価値が高い毛色のキツネを外部から持ち込んで放つことが、いくつかの島でおこなわれた。

千島中部では、1911年に日米英露4国が締結した国際条約を背景に、オットセイやラッコの保護を政策課題とした農商務省が、これとあわせてキツネの繁殖事業に取り組んだ。越年するための施設を各所に設け、越年者たちに海獣の密猟取締とともにキツネ繁殖にも従事させた。カムチャツカ半島沖のロシア領コマンドルスキー島などから優良種のキツネを持ち込み、一部は囲いの中で飼育して繁殖を図り、一部は野に放った。交雑を避けるために在来の赤キツネを駆除し、キツネの食料確保のために外部からネズミ類を持ち込むといったこともあった。

樺太南西沖の海馬島では、民間人である志田力二が北海道からのタヌキ、プリンス・エドワード島からのキツネの移入を計画した。彼の計画は修正を加えつつも、一部は実現に至った。志田の死後、1929年からは村役場が主体となり、島の窮乏対策としてキツネを移入した。ここでも千島などからの優良キツネの持ち込み、在来キツネや野犬の駆除が見られた。

1915年には樺太庁小沼種畜場が島内の蘭泊・並川・留多加地方から「赤狐」と「十字狐」計4つがいを購入し、試験的な飼育を開始した。樺太と北海道各地には民間の養狐場も多数設けられ、種狐の販売が活発に行われる。

この時代、生きたキツネの人為的な移動は、カナダ、コマンドルスキー島、プリビロフ諸島（アラスカ沖）、中国東北部、樺太、千島、北海道、東北地方などつながっていた。その影響は今もどこかにも残っているのではないか。

特別講演「北海道のキツネ」

全道と札幌都市部におけるキツネの集団遺伝構造

増田 隆一（北海道大学 大学院理学研究院）

アカギツネ (*Vulpes vulpes*) は、日本列島を含むユーラシアおよび北米に広く分布する食肉目イヌ科動物であり、北海道全域（全道）に生息している集団をキタキツネ、本州集団をホンドギツネとよぶこともあります。私たちは、北海道立衛生研究所との共同研究として、全道および札幌都市部に生息するキタキツネの集団遺伝構造を解析する研究に取り組んできました。

寄生虫検査のための捕獲個体および交通事故死亡個体から採取された組織サンプルを用いてマイクロサテライト遺伝子分析を行った結果、道南の渡島半島集団がそれ以外の地域集団から遺伝的に大きく分化していることが明らかになりました (Oishi et al. 2011)。これは、渡島半島の入り組んだ地理的構造による隔離によるものか、または、植生に関連した生態的隔離によるものと考えられました。それに対し、渡島半島以外の道央、道北、道東の集団間では遺伝的分化が比較的小さく、遺伝構成に地理的勾配が見られました。これは、渡島半島以外では、キツネ個体が比較的広域にわたって移動していることを示唆しています。

次に、札幌都市部に出没するキタキツネのマイクロサテライト遺伝子を調べたところ、遺伝的に3つのグループ（西部、南部、北部）に分けられました (Kato et al. 2017)。そして、その分布境界は、列車の線路に沿ったラインおよび豊平川でした。さらに、その地理的隔離は厳密なものではなく、比較的緩やかなものであると考えられました。つまり、頻度は低いながらも、キツネはそれらの地理的障壁を乗り越えて移動し、都市環境に適応しながら「アーバンフォックス」として生活しているともいえます。さらに、知床半島の道路沿いで採取されたキツネの糞を用いたDNA分析 (Oishi et al. 2010) に取り組むとともに、サンプリング法や分析法を改良し、非侵襲的に糞の落とし主の種判定、個体識別、行動圏を推定する研究に発展しています。

一般講演

演題番号：1（若手奨励賞候補）

クリプトスポリジウム感染細胞で機能する宿主因子 MAPK4 の役割

○ 渡邊 仁奈¹、伴戸 寛徳¹、村越 ふみ^{1,2}、福田 康弘¹、加藤 健太郎¹

¹ 東北大・院農・動物環境システム、² 京府医大・感染病態学

クリプトスポリジウム (*Cryptosporidium parvum*) はヒトや家畜等の哺乳類を宿主とする原虫であり、腸管上皮細胞に寄生して下痢を主徴とする人獣共通感染症を引き起こす。未だ有効な治療薬は存在しないため、薬剤開発に向けた研究基盤の構築が進められている。そこで我々は、*C. parvum* と宿主の相互作用に関与する新規宿主分子の同定を目的とし、様々な病原体に対する宿主応答に重要なシグナル伝達経路として、宿主の MAP キナーゼに着目した。我々はこれまでに、*C. parvum* を感染させた宿主細胞において、非古典的 MAP キナーゼである MAPK4 の遺伝子発現が増加することを初めて見出した。現在まで、病原体感染に対する MAPK4 の役割を明らかにした報告は全くない。そこで本研究では、*C. parvum* 感染細胞において宿主因子 MAPK4 が原虫感染に及ぼす影響を解析し、その役割を解明することを目的とした。まず、CRISPR/Cas9 ゲノム編集法により MAPK4 遺伝子を欠損したヒト由来結腸細胞株 HCT-8 を作製した。次に、この MAPK4 欠損細胞と野生型細胞に *C. parvum* を感染させ、24 時間後の感染率を比較した。MAPK4 欠損細胞では原虫感染率が有意に低下していたことから、宿主因子 MAPK4 は原虫にとって有利に働いていることが示唆された。さらに感染 3 時間後の感染率を比較したところ、感染初期の感染率も MAPK4 欠損細胞で有意に低下していたことから、宿主因子 MAPK4 は原虫の侵入ステージで機能していると考えられた。さらに、感染 24 時間後の寄生胞内に存在する虫体数を比較したところ、複数の核がみられた原虫数は MAPK4 欠損細胞で有意に減少していた。我々は以上の結果から、宿主因子 MAPK4 が *C. parvum* の宿主細胞への侵入と増殖の両方に関与する重要な遺伝子であることを明らかにした。

演題番号：2（若手奨励賞候補）

Evaluation of traditional Chinese medicines using in vitro and in vivo approach to identify anti-Cryptosporidium compounds

○ Md. Hazzaz Bin Kabir^{1,3}, Nur Khatijah Mohd Zin², Yasuhiro Fukuda³, Hironori Bando³, Hiroki Bochimoto², Kenichi Watanabe¹, Xuenan Xuan¹, Kentaro Kato^{1,3}

¹ 帯畜大・原虫研、² 慈恵医大・細胞生理、³ 東北大学・院農・動物環境システム

[Introduction] Cryptosporidiosis is a diarrheal disease predominantly caused by *Cryptosporidium parvum*, apicomplexan parasites which infect the intestinal epithelial cells of hosts. The only approved drug for cryptosporidiosis is nitazoxanide, which shows limited efficacy in the immunocompromised infant. Thus, *in vitro* infection and *in vivo* models are urgently needed to identify new drugs that are less toxic.

[Materials and Methods] Toward this aim, we screened a natural product library of traditional Chinese medicines (TCMs) to identify anti-*Cryptosporidium* compounds that suppressed *C. parvum* growth without host cell cytotoxicity.

[Results] Of the 87 compounds screened, 9 compounds demonstrated $\geq 60\%$ parasite growth inhibition. Four natural compounds (C-3, C-4, C-11, C-21) showed anti-*Cryptosporidium* effects (IC₅₀ 62.5 -250 nM), and low cytotoxicity (cell viability > 90%) using *C. parvum* HNJ-1 strain. However, *in vivo* models, two of these compounds (C-11, C-21) showed to significantly decrease oocyst excretion in *C. parvum*-infected SCID mice.

[Conclusion] These compounds derived from TCMs thus show promise as potential future lead compounds for drug development against Cryptosporidiosis.

演題番号：3（若手奨励賞候補）

Subversion of adaptive immune response during acute *Babesia* co-infection in mice

○ ZAFAR Iqra、GALON Eloiza May、玄 学南

帯畜大・原虫研

It was elucidated earlier that fatality by lethal *B. rodhaini* (Australia strain) infection in murine can be evaded by *Babesia microti* (Munich strain) primary infection (non-lethal). It is well established that during the chronic stage of the primary *B. microti* infection, macrophages were pinpointed as the immune cell primarily responsible for the conferment of cross-species protection against a subsequent lethal challenge infection. However, whether the same immune dynamics occur during acute *B. microti* co-infection is not known. Hence, we use mouse model to comprehensively investigate the influence of the two parasites on each other during co-infection as well as to elucidate the cross-species protection immunity conferred to a lethal *B. rodhaini* challenge infection during acute primary *B. microti* infection in mice. Our results verified that *B. microti* infection attenuates peak parasitemia in co-infected mice as well as subverts the splenic immune response, in a way that significant decrease in splenic B and T cells leading to downfall in antibody levels and plummeted humoral immunity. Interestingly, rise in macrophage, and NK cells was observed depicting their subtle role in protection. Substantial down-regulation was noted in pro-inflammatory cytokines (i.e. IFN- γ , TNF- α and IL-12), while anti-inflammatory cytokines (i.e. IL-10) were upregulated during the acute phase. Herein, the major cytokines implicated in the lethality caused by *B. rodhaini* infection are IFN- γ and IL-10. Survival of mice in bm/br4 group, despite having the highest IL-10 levels among all groups, may be attributed to the preceding immune responses induced by primary *B. microti* infection. These findings are in harmony with the previously explained heterologous immunity during chronic *Babesia* co-infection. In the future, we intend to investigate and identify the roles of M1 and M2 macrophage subtypes in mechanism involved in the protection of *Babesia*-infected host.

演題番号：4（若手奨励賞候補）

Inhibitory effect of naphthoquine phosphate against *Babesia gibsoni* *in vitro* and *Babesia rodhaini* *in vivo*

○ JI Shengwei、玄 学南

帯畜大・原虫研

Drug resistance and severe side effects are major challenges in the treatment of babesiosis as they lead to less choices for treatment. Development of new drugs to enrich the treatment strategies and delay the emergence of drug resistance in parasites is still needed. Naphthoquine (NQ) combined with artemisinin treats *Plasmodium* infection by rapid parasite clearance. The current study repurposed NQ as a babesiosis drug treatment by evaluating the effects of naphthoquine phosphate (NQP) as a single dose treatment for babesiosis. *In vitro* anti-*Babesia* activity of NQP was tested on *Babesia gibsoni* cultures. The inhibition of parasite growth was verified using a SYBR green I-based fluorescence assay. *In vivo* efficacy of NQP was evaluated using BALB/c mice infected with *Babesia rodhaini*. The parasitemia level and hematocrit values were monitored. The half maximal inhibitory concentration of NQP against *B. gibsoni* *in vitro* was $3.3 \pm 0.5 \mu\text{M}$. Oral administration of NQP for 5 successive days at a dose of 40 mg/kg of body weight resulted in significant inhibition on parasite growth compared with the control group. All mice in NQP-treated group survived, whereas the mice in control group died between days 6 and 9 post infection ($P = 0.0002$). This is the first study to evaluate the anti-*Babesia* activity of NQP *in vitro* and *in vivo*. The results showed that NQP is a promising drug for babesiosis treatment and drug repurposing may provide new treatment strategies for babesiosis.

演題番号：5（若手奨励賞候補）

雄ハマダラカを用いた *Plasmodium falciparum* oocyst 形成の検討

○ 原口 麻子、箱崎 純、中山 和彦、中村 咲蓮、草木迫 浩大、筏井 宏実

北里大・獣医

Plasmodium falciparum (Pf) は熱帯熱マラリアを引き起こし、ハマダラカにより媒介伝播される。Pf は吸血により蚊体内に侵入すると 10-15 日で oocyst が成熟し、内部に sporozoite を形成する。ookinete から oocyst への形成期間は Pf の生活環中で原虫数が最も減少することから、感染伝播制御の重要なターゲットである。しかし、oocyst や sporozoite の in vitro 培養は一部報告があるものの煩雑であり、雌蚊を用いた場合にはヒトへの感染リスクや実験設備などが課題となる。当研究室のこれまでの研究において、雄蚊の血体腔へ *P. berghei* の ookinete をインジェクションすることにより、雄においても *P. berghei* が oocyst および sporozoite を形成することが明らかとなった。そこで、雄蚊における Pf の oocyst 形成を明らかにすることを目的とし、in vitro 培養した Pf の gametocyte および zygote を雄蚊にインジェクションした。インジェクション後 15 日目までの雄蚊から DNA を抽出し、Nested PCR により Pf を検出した。また、gametocyte をインジェクションした蚊について Real-time PCR を行い、インジェクション後 1 日目と 15 日目の Pf の DNA 量を比較した。結果、インジェクション後 1-15 日で Pf の DNA が検出された。DNA 量はインジェクション後 1 日目に比較して 15 日目に明らかに増加していた。このことから、Pf の gametocyte および zygote のインジェクションにより雄蚊体内で oocyst および sporozoite が形成される可能性が示された。以上より本方法は、雄蚊を利用することで吸血によるヒトへの感染リスクがなく、より安全に Pf の蚊体内ステージを得られると考えられた。

演題番号：6（若手奨励賞候補）

北海道におけるゲジの分布

○ 開澤 菜月¹、脇村 涼太郎²、山内 健生¹

¹ 帯畜大・昆虫、² 東海大・生物

ゲジ目は多足亜門ムカデ綱に属し、世界に約 130 種、日本ではゲジ *Thereuonema tuberculata* (Wood, 1862) とオオゲジ *Thereuopoda clunifera* (Wood, 1862) の 2 種が知られている。日本においてオオゲジは関東地方以南に分布し、ゲジは北海道には少ないが本州以南各地に普通に分布することが知られている。ゲジは屋内にも侵入し、その見た目を不快に感じる人が多いため、不快害虫として扱われている。北海道におけるゲジの分布はほとんど報告されておらず、小樽市および札幌市の記録があるのみであり、人為的な理由で北海道に分布していると指摘されていた。本来は温帯域に分布するゲジが、人為的な理由で亜寒帯気候の北海道に定着して分布が拡大しているとしたら、北海道のどこまで分布しているかは生物学的に興味深いと考えられる。そこで、我々は、2019~2021 年に北海道におけるゲジの分布を調査した。その結果、ゲジは斜里町ウトロ（北緯 44 度）以南の北海道本土の建物付近や屋内など的人為的な環境に広く分布することが明らかとなった。北海道の離島では奥尻島および渡島大島（無人島）でゲジの分布を確認した。また、洞爺湖の中央付近に位置する中の島（無人島）でもゲジが採集された。人の出入りが少ないと考えられる無人島でもゲジが確認されたことから、道南地域のゲジは自然分布である可能性も考えられる。今後は北海道に分布するゲジの起源を明らかにするために遺伝子解析を行う予定である。

演題番号：7

北海道十勝地方で発生するアブの季節消長とその保有病原体に関する予備的調査

○ 菅沼 啓輔^{1,2}、安馬 英斗¹、洪 祐天¹、河津 信一郎¹

¹帯広畜産大学・原虫研、²帯広畜産大学・グローバルアグロメディシン研

【背景】アブはトリパノソーマや馬伝染性貧血ウイルスなど、多数の家畜病原体を伝播するベクターである。アブによって伝播される家畜病原体のうち、牛白血病ウイルスの感染によって発症する地方病性牛白血病の発症例は年々増加傾向にあり、その対策は酪農経営に大きな経済負担となっている。酪農集積地帯である十勝地方におけるアブの季節消長に関する研究は長期間実施されておらず、近年の酪農規模の拡大や飼養形態の変遷にともなうアブの季節消長や発生種の変遷が考えられる。さらにアブの保有・媒介する病原体についての知見はない。そこで2020年7月から9月にかけて十勝地方の牧場でアブの採集を行い、アブの季節消長と保有病原体叢を明らかにすることを目的とした研究のための予備調査を実施した。

【材料と方法】飼育家畜に飛来するアブを捕虫網で採集した。採集したアブは、検索表にしたがって形態学的に種同定をおこなった。採集したアブの一部は解剖後、消化管内に寄生するトリパノソーマを検出するために位相差顕微鏡で観察、およびDNAを抽出し、*Trypanosoma theileri* およびその近縁種を対象としたPCRを実施した。

【結果】採集したアブは、10種類430個体であった。優占種は7月がニッポンシロフアブ（80%）、8月がゴマフアブ（60%）であった。また採集したアブのうち37個体を解剖し顕微鏡で観察した結果、1個体のアカウシアブの後腸から多数のトリパノソーマ様原虫が確認された。またPCRの結果、40%のニッポンシロフアブ（8/20）、11%のゴマフアブ（1/9）および43%のアカウシアブ（3/7）からトリパノソーマを検出した。

【考察】アカウシアブが *T. theileri* もしくはその近縁種のベクターである可能性が示唆された。本予備試験の結果を踏まえ、2021年以降も定期的なアブの採集を行い、より詳細な季節消長や保有病原体叢を解明する予定である。

演題番号：8（若手奨励賞候補）

マダニから分離したリケッチエラ共生菌が保有するビタミンB群代謝関連遺伝子群の特定

○ 大前 日希、May June Thu、林 直樹、今里 裕平、野中 成晃、中尾 亮

北大・獣

【背景・目的】マダニは多様な微生物を保有し、その一部はマダニの生存に好適な影響を持つことが知られつつある。これまでコクシエラ共生菌が最もよく研究されており、ビタミンB群を生合成しマダニに供給すること等が報告されている。一方で、コクシエラを持たないマダニがいることから、他のマダニ共生菌の存在が示唆されているが研究が進んでいない。我々はイスカチマダニから、コクシエラと系統的に非常に近縁なリケッチエラ属細菌（R412株）を分離した。本研究ではR412株がコクシエラ共生菌と同様にマダニの生存に好適な影響を持つ共生菌となりうるかを、その全ゲノム配列の解読により評価した。

【材料・方法】蚊由来C6/36細胞を用いてR412株を培養後、細胞より菌体を精製しDNAを抽出した。MiSeqとPacBio RS IIを用いて全ゲノム配列を決定した後、DFASTによるアノテーションとKEGGを用いたパスウェイ解析を行い、ビタミンB群の代謝経路を構成する遺伝子群の特定を行った。

【結果・考察】R412株のゲノムは一個の環状染色体（約1.6 Mb）と一個のプラスミド（約34 kb）から構成されており、それぞれ1,364個と44個の遺伝子がコードされていた。ビタミンB群の遺伝子について探索したところ、チアミン、ビタミンB6、パンテト酸とCoA、ビオチン、リポ酸の完全な代謝・生合成経路を持つことが分かった。R412株はビタミンB群の代謝・生合成経路を持つことから、コクシエラ共生菌と同様にマダニにビタミンB群を提供できる可能性が示唆された。現在、R412株のビタミンB群関連遺伝子の発現動態について研究を進めている。

演題番号：9（若手奨励賞候補）

ハマダラカの腸内細菌 *Methylobacterium* sp. が卵発育に与える影響

○ 箱崎 純¹、野々垣 雄介¹、田邊 太志²、西山 啓太³、中山 和彦¹、原口 麻子¹、中村 咲蓮¹、草木迫 浩大¹、筏井 宏実¹

¹北里大・獣医・獣医寄生虫学、² 同・獣医微生物学、³慶応義塾大・医

蚊の腸内細菌は宿主に様々な影響を与えることが報告されている。我々は第64回本大会において、ハマダラカの腸内細菌 *Methylobacterium* sp. が卵発育を抑制することを報告した。蚊の卵発育は十分量の吸血によって開始し、次いで血液消化と脳からのインスリン様ペプチド分泌が起こる。その後エクジステロイド (Ecd) が卵巣から脂肪体に分泌され、卵黄前駆タンパク質・ピテロジェニン (Vg) が合成される。Vgが卵巣に取り込まれることで、卵発育は完了する。本研究では、*Methylobacterium* sp. が上記の卵発育過程における吸血量と Vg mRNA 発現量に与える影響を検討した。

はじめに、ストレプトマイシン(ST) 2週間摂取により腸内に *Methylobacterium* sp. の割合が増加した蚊 (ST 蚊) および無処置蚊の吸血量を比較した。その結果、ST 蚊および無処置蚊はどちらも1匹当たりの吸血量が0.6 mg 前後であり有意差はなかった。次に、Vg mRNA 発現量への影響を評価した。*Methylobacterium* sp. を懸濁した飼育水を3日間与えた蚊 (菌摂取蚊) および無処置蚊を用いた。吸血前、吸血6、12、24、36 および 48 時間後の Vg mRNA をリアルタイム PCR によって定量した。その結果、無処置蚊の Vg mRNA は吸血後上昇して12時間後で最大となりその後減少傾向を示したが、菌摂取蚊は吸血後全ての時間で無処置蚊よりも発現量が低値であった。

以上より、*Methylobacterium* sp. は吸血量に影響を与えず、Vg mRNA 発現量を低下させて卵発育を抑制すると考えられた。今後は Ecd 受容体の mRNA の定量やその他の因子についての検討を実施することにより、*Methylobacterium* sp. が卵発育を抑制する機序を解明していく。

演題番号：10

パプロフスキーマダニに見いだされた遺伝的多様性

○ 新倉 (座本) 綾¹、佐藤 雅彦²、中尾 稔³、小林 宏尚¹、花木 賢一¹

¹感染研、²利尻博物館、³旭川医大・医

旧北区のマダニ *Ixodes pavlovskyi* Pomerantsev, 1946 は、わが国では中尾らによって1992年に初めて報告された。マダニ刺咬症が札幌で1例報告されているが(安藤ら)、一般的には生息密度が低く、野外調査では旭川や札幌等で散発的にみつかるとの程度である。我々は、利尻島の植生上から *I. pavlovskyi* を高率(含有率60~80%)に採集し、これらのCOX1遺伝子配列を解析したところ、利尻島において2つの系統群(利尻型と旭川型)を見出した。両系統は北海道本島の調査地でも同所的に採集され、利尻型が優勢(90%以上)であった。両系統間の遺伝的分化指数(Fst)は0.95と高く、また、交配実験においてヘテロのペアからF1を得られなかったことは、利尻型、旭川型の系統間に、遺伝的、形質的差異があることを示唆している。各系統群の遺伝的多様度(Hd)は、利尻型が0.067と、旭川型の0.533に比べて極端に低く、また、ネットワーク解析において利尻型は、1つの主要ハプロタイプと1塩基置換のマイナータイプ(頻度1)で構成されていた。利尻型は近い過去に強いボトルネック、もしくは新たな創始者の移入とその後の集団の急激な拡大を経験した集団で、新たなハプロタイプが派生しはじめた段階であると推察される。

利尻島は、渡り鳥の中継・繁殖地であり、イタチより大きい中・大型のほ乳動物が生息していない。このような環境が、日本における *I. pavlovskyi* の遺伝的集団構造に影響しているのか、さらには大陸の *I. pavlovskyi* との差異はどの程度かは明らかでない。今後、極東ロシアのパプロフスキーマダニを含めた解析と、国内のデータ集積が必要である。

演題番号：11（若手奨励賞候補）

Plasmodium berghei の吸血感染と注入感染で形成された oocyst の比較検討

○ 中山 和彦¹、藤原 幹太¹、原口 麻子¹、箱崎 純¹、中村 咲蓮¹、草木迫 浩大¹、筏井 宏実¹

¹ 北里大・獣医

Plasmodium 属原虫は蚊に吸血されると中腸腔内において gametogony を経て zygote を形成し、約 1 日で ookinete になる。Ookinete は中腸細胞を通過し、基底膜側に移動し、吸血後約 2 日で初期 oocyst になる。その後初期 oocyst は成長し、吸血後約 2 週間で内部に sporozoite を形成する成熟オーシストになる。通常の吸血感染以外に ookinete を *in vitro* で培養し、蚊の血体腔に注入感染させることで成熟 oocyst ができることが知られている。注入感染は吸血感染とは異なり中腸細胞を通過しない。そこで今回、吸血感染と注入感染で形成された oocyst の違いについて、oocyst 径を基準に比較検討した。

実験にはネズミマラリア原虫 *P. berghei* とハマダラカ *Anopheles stephensi* を使用した。吸血感染または注入感染後 8 から 20 日目にかけて形成された oocyst 径を比較した。その結果、感染後 10、12、14 日目において注入感染蚊の oocyst 径が吸血感染と比べて有意に小さかった。感染後 16、18 日目においても、注入感染蚊の oocyst 径で有意な差はなかったものの小さい傾向が見られた。次に oocyst 径が血液成分に影響されている可能性を考え、原虫非感染血液を注入感染の当日または 3 日後に吸血させて注入感染のみの oocyst 径と比較した。非感染血液を当日または 3 日後に吸血させた場合、感染後 10 から 12 日目においてどちらも注入感染のみの oocyst 径とは差は見られなかった。

注入感染蚊は吸血感染蚊と比べて oocyst 径が小さくなった。そして oocyst 径が小さくなった原因には血液成分が関与していないことが考えられた。以上より oocyst 径に関して中腸細胞の通過が何かしら重要であると考えられた。

演題番号：12（若手奨励賞候補）

野鳥の節足動物媒介性病原体の検出

○ 益 桃子¹、佐々木 瑞希²、村松 康和¹、内田 玲麻¹

¹ 酪農学園大・獣医、² 旭川医大・医

日本には季節性の移動を行わない鳥類（留鳥）が多く生息する一方、様々な渡り鳥が飛来する。特に北海道は渡り鳥が多数飛来し、鳥類相も本州と異なる。鳥類は移動能力が高く、それにより各地へ拡散される種々の病原体の中には節足動物媒介性のものがある。本研究では、鳥類を宿主とし、節足動物により媒介される血液原虫であるプラスモディウム、ヘモプロテウス、ロイコチトゾーンを対象とした疫学調査を行った。

2017 年 8 月～2020 年 11 月に主に北海道内の野鳥死体を採集または提供いただき、肝臓から DNA を抽出し、PCR 法にて原虫の *cyt b* 遺伝子の増幅を試みた。各増幅産物はシーケンス解析を行い、系統樹を作成した。

計 42 羽（8 目 19 科 25 属 27 種）の鳥類サンプルのうち、10 羽（23.8%）からプラスモディウム 3 系統、ヘモプロテウス 1 系統、ロイコチトゾーン 5 系統の計 9 系統が検出された。それらのサンプルのうち、4 羽は留鳥、5 羽はユーラシア大陸から北海道に渡る夏鳥、1 羽は北海道と本州を行き来する夏鳥だった。コサメビタキから検出されたロイコチトゾーンは HYBOR02 と 99.8% の塩基相同性を、クロツグミから検出されたロイコチトゾーンは TUOBS01 と 99.6% の塩基相同性を示し、新規の系統と思われた。ロイコチトゾーン TUMER02 は国内で未報告だった。プラスモディウム 3 系統およびロイコチトゾーン 3 系統の計 6 系統は原虫を保有する鳥類の種が宿主として報告済みの種に新たに加えられるものだった。

プラスモディウム SYBOR02 が本研究で用いた留鳥と日本に渡る渡り鳥から過去に検出されたことにより、本原虫が両者の間で伝播され、大陸を越えて拡散され得ることが示唆された。現在、越境性感染症が問題となっているが、鳥類の行動を制限することは難しく、今後も継続した野鳥の節足動物媒介性病原体の調査が必要である。

演題番号：13（若手奨励賞候補）

Molecular detection of tick-borne pathogens in cattle from Binh Dinh province, Vietnam

○ 長谷川 野恵¹、GALON Eloiza May¹、LAN Dinh Thi Bich²、PHUNG Long Thang²、玄 学南¹

¹帯畜大・原虫研、²フエ農林大・獣医

【Background and Objective】 Tick-borne pathogens are known to have great impact on livestock productions all over the world. In Vietnam, cattle is the third major livestock after chicken and pig, and the cattle demand is expected to increase. Previously, epidemiological researches on tick-borne pathogens were conducted in three places in Vietnam; Hanoi, Hue, and Ho Chi Ming. However, Vietnam stretches widely from north to south, and the climate differs according to latitude, and a wide range of areas are yet to be studied. Therefore, in this study, we aim to have a rough idea of the epidemiology of tick-borne pathogens in south-central coastal region of Vietnam.

【Materials and Methods】 Cattle blood samples (n=217) were collected in several different farms and slaughterhouses in Binh Dinh province, Vietnam. The whole genomic DNA was extracted from the blood samples. All of the samples were screened for piroplasma and Anaplasmatidae (*Anaplasma* and *Ehrlichia*) by using PCR in order first to identify infecting genus. Positive samples were screened using species-specific primers.

【Results and Discussion】 101 (46.5%) and 137 (63.1%) were recorded positive for piroplasma and Anaplasmatidae, respectively. Further analysis was done by species specific PCR and specific-gene sequencing. For piroplasm pathogens, 8.8%, 22.6%, 42.9% of cattle were positive for *Babesia bigemina*, *B. bovis*, and *Theileria orientalis*, respectively. The infection rate of *Anaplasma marginale* was 35.0%. *Babesia* sp. Mymensingh and *Ehrlichia ruminantium* were not detected. It is clear that the infection rates of tick-borne pathogens are relatively high in this area, and in order to maintain a stable cattle production, control measures need to be taken.

演題番号：14（若手奨励賞候補）

First molecular evidence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Anaplasma* and first genotyping of equine piroplasma in Philippine racehorses

○ GALON Eloiza May¹、MACALANDA Adrian Miki²、玄 学南¹

¹帯畜大・原虫研、²カビテ州立大・獣医

Equine tick-borne diseases (TBDs) cause economic losses which hugely impact the global horse industry. The adverse effects are further aggravated in horse racing, as TBDs hinder international equid trade. Besides the economic impact, horses may act as reservoirs of potentially zoonotic tick-borne pathogens (TBPs), posing a public health risk. Philippine horse racing is a huge income-generating industry, but information on TBPs is scarce. Thus, this study aimed to detect equine TBPs using polymerase chain reaction (PCR) assays. One hundred twenty-four (n=124) thoroughbred racehorses were sampled in a race park in Cavite, Philippines and the blood DNA samples were screened for selected TBPs. *Babesia caballi* (12.10%; 15/124), *Theileria equi* (0.81%; 1/124), *Anaplasma phagocytophilum* (10.48%; 13/124), *Borrelia burgdorferi sensu lato* (38.71%; 48/124), and *Coxiella burnetii* (0.81%; 1/124) were detected in the samples. Genotype A was confirmed as the predominant *B. caballi* genotype, while the sole *T. equi*-positive sample belonged to the genotype E clade based on the 18S rRNA gene sequences. Moreover, novel variants of *A. phagocytophilum* and *A. ovis* were identified through the partial 16S rRNA gene sequence analysis. In the case of *B. burgdorferi s.l.*, the 5-23S rRNA gene sequences obtained from this study were highly identical to *Bo. japonica* and other *Borrelia* sp. genospecies. This is the first molecular detection of *Borrelia* and *Anaplasma* and the first genotyping of *B. caballi* and *T. equi* parasites in Philippine racehorses.

演題番号：15（若手奨励賞候補）

Diagnostic potential of *Schistosoma japonicum* recombinant antigens with ELISA in detecting *S. mekongi* infection in Cambodia

○ Atcharaphan Wanlop¹, Jose Ma. M. Angeles², Masashi Kirinoki³, Minh Anh Dang Trinh⁴, Wilawan Pumidonming⁵, Aya Yajima⁶, Keisuke Suganuma¹ and Shin-ichiro Kawazu¹

¹National Research Center for Protozoan Diseases, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, ²Department of Parasitology, College of Public Health, University of the Philippines Manila, Philippines, ³Department of Tropical Medicine and Parasitology, Dokkyo Medical University, ⁴Institute of Malaria, Parasitology and Entomology Ho Chi Minh, VietNam, ⁵Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Medical Science, Naresuan University, Phitsanulok, Thailand, ⁶World Health Organization Western Pacific Regional Office, Manila, Philippines

[Introduction] The Asian Zoonotic schistosomiasis caused by blood fluke *Schistosoma mekongi* is endemic in Northern Cambodia and Southern Lao People's Democratic Republic. Current parasitological methods like Kato-Katz underestimates the infection levels, particularly in low transmission settings as in Cambodia and Lao PDR. Several schistosome specific antigens have been evaluated for their diagnostic potentials in *S. japonicum* infection and they have a potential to be useful in detecting *S. mekongi* infection. Thus, the aim of this study is to validate diagnostic potential of *S. japonicum* recombinant antigens with ELISA for detection of *S. mekongi* infection in Cambodia.

[Materials & Methods] Five *S. japonicum* recombinant antigens and soluble egg antigen (SjSEA) were validated for their diagnostic potential with ELISA using a panel of serum samples collected from 28 Kato-Katz positive patients, 31 Kato-Katz negative individuals in Cambodia and 31 individuals in USA where the disease is not endemic. The last samples were used for calculation of cut-off values. 29 serum samples from patients with *Opisthorchis viverrini* infection in Thai were also used to evaluate cross-reactions.

[Results] ELISA results showed that the recombinant thioredoxin peroxidase-1 antigen (rSjTPx-1) showed the best diagnostic performance among five recombinant antigens with 71.4% sensitivity and 74.2% specificity. SjSEA at the low concentration has the highest diagnostic performance with 96.4% sensitivity and 93.5% specificity. The cross-reaction with the serum samples from *O. viverrini* infected patients is very minimal in rSjTPx-1 with only 2 reactive samples and SjSEA with no reactive samples.

[Discussion] Although, the diagnostic performance of recombinant antigen was still inferior as compared to that of SEA, ELISA with the recombinant antigen might be more advantageous. Further optimization of ELISA with the recombinant antigen including application of *S. mekongi* recombinant antigen are currently under way in our laboratory.

演題番号：16

糞 DNA 分析を用いたキツネの都市生態研究 ～函館市と旭川市を例に～

○ 天池 庸介¹、佐々木 瑞希²、中尾 稔²、増田 隆一¹

¹北大・理、²旭川医大・医

北海道に生息するキタキツネ (*Vulpes vulpes schrencki*、以下キツネ) は、人獣共通感染症であるエキノコックス症の媒介動物として広く知られている。そして近年、札幌市をはじめとした都市部に定着するキツネ (所謂、都市ギツネ) の個体数増加に伴い、感染リスクの増大が懸念されている。そうした感染症の予防対策を講じる上で、都市部およびその周縁部に生息するキツネの基礎的な生態特徴を明らかにすることは重要である。その一環として、我々はこれまで非侵襲的な糞 DNA 分析法を用いて、キツネの分布、個体数、地域間の移動等を推定し、その都市生態の把握に取り組んできた。

その一つに、函館市のキツネの事例がある。同市の南西部には、周囲を海と市街地に囲まれた陸繋島である函館山 (326 ha) が存在し、そこにはキツネが生息している。各登山道からキツネ糞を採集し、マイクロサテライト DNA を用いた遺伝子解析を行ったところ、3 年間で 35 個体の特定に成功し、年間の平均観察数は 15 個体であった。さらに、既報の遺伝子型データと比較したところ、函館山集団はその他の地域集団から遺伝的に大きく分化していることが明らかとなり、その特殊な地理的環境によって離れていることが示唆された。

もう一つは、旭川市のキツネの事例である。ここ数年で都市公園をはじめ市街地にてキツネが頻りに目撃されるようになり、生息数の増加が推測される。しかしながら、その市街地におけるキツネの分布状況や集団特性について詳しいことは明らかになっていない。そこで、旭川周辺における公園および河川敷等で糞を採集し、その分布や遺伝構造の解明を試みた。種判定の結果、中心部を含む市街地の広範囲にキツネが分布していることが確認された。さらに、既報の遺伝子型データを含め比較解析した結果、旭川集団は 5 つの遺伝集団に分けられ、それらは混在していることが明らかとなった。札幌集団同様、分散能力の高さが原因の一つとして考えられる。

演題番号：17

市街地で維持されるエキノコックスの感染環 —旭川市の現状と考える対策—

○ 佐々木 瑞希¹、天池 庸介²、増田 隆一²、中尾 稔¹

¹ 旭川医大・医、² 北大・理

北海道では年間 20～30 名のエキノコックス症患者が報告されている。病原体である多包条虫は主にアカギツネとエゾヤチネズミで維持されている。都市空間に侵入したキツネは都市ギツネと呼ばれ、公園や住宅地に定着し、繁殖している。また、エゾヤチネズミは都市部においても公園・河畔・山際など林床がササで覆われた残存緑地に多数生息し、ここに感染ギツネが侵入すれば、病原体の温床となり得る。効果的な疾病予防対策を立案するためには、都市部における感染環の成立要因を明確にする必要がある。我々は旭川市内の都市公園において野ネズミを定期的に捕獲して多包虫の感染状況を調べるとともに、公園内へのキツネの侵入をカメラトラップや糞の痕跡調査によって確認した。この調査地では前年の秋にエゾヤチネズミの高率な感染が確認されている。春から晩秋まで毎月ネズミを捕獲した結果、春には感染が見られなかったが、7 月より感染個体が出現し、10 月には 30.8% (4/13) の高い感染率を記録した。従って、この公園ではネズミの感染個体群は冬期にほぼ壊滅し、初夏から復活すると考えられた。キツネは全季節を通して公園へ頻繁に侵入しており、ネズミへの感染源はキツネと考えられた。以上の結果から、住宅密集地に隣接する都市公園においても病原体のホットスポットが継続的に存在することが明らかになった。このような状況は道内都市部の残存緑地が存在する場所ならばどこでも起こり得ることなので、駆虫剤ベイトの散布で局所的に対応するだけでは事態は改善しないことは明白である。今後、都市ギツネの生息密度を推定する方法を生態学的に確立し、駆除等による個体数管理によって生息密度を低レベルに維持し、ヒトの感染リスクを相対的に下げるための行政的なシステムを構築する必要がある。

演題番号：18 (若手奨励賞候補)

北海道に分布する多包条虫 *Echinococcus multilocularis* のミトゲノムにおける遺伝的多様性およびその北海道への移入、拡散に関する考察

○ 林 直樹¹、入江 隆夫²、尾針 由真¹、孝口 裕一³、木下 豪太⁴、八木 欣平¹、中尾 亮¹、野中 成晃¹

¹ 北海道大学 獣医、² 宮崎大学 農、³ 北海道衛研 感染症部、⁴ 遺伝研 生態

【背景・目的】北海道では 1960 年代に道東に限局していた多包条虫が本島全域に広がったと考えられるが、その検証はされていない。本研究では、北海道の多包条虫のミトゲノムにおける遺伝的多様性とその地理的分布を検証して、本虫の北海道への侵入と拡散を考察することを目的とした。

【材料・方法】道内 27 地点のアカギツネ 53 頭 (2020 年に採取) および 6 頭の野鼠およびアカギツネ (2014 年以前に採取) から得た 59 虫体、および米国・セントローレンス島の野鼠 6 頭から得た包虫 6 虫体より DNA を抽出した。ミトゲノムの PCR 産物を断片化した後、Illumina MiSeq で塩基配列を解読し、参照配列へのマッピングによりアノテーションを実施した。その後、タンパク質コード領域 (10,057 bp) について遺伝的多様性解析とネットワーク解析を行なった。

【結果・考察】道内 59 虫体より 16 個のハプロタイプ (MtG_type1-16) が識別された。type1 が優占タイプ (約 62%) で、北海道全域で検出された。ネットワーク解析では、type1 を中心に 1-2 塩基置換を伴う 13 個の衛星ハプロタイプ (type4-16) を伴った星型ネットワークが形成された。type1 および 12 はセントローレンス島でも検出され、北海道への侵入前にこれらが形成されていた可能性が示唆された。加えて、type1 から 19-20 の塩基置換を伴う type2、3 が配置され、これらは道東部でのみ検出された。2014 年以前の 6 虫体は全て type1 またはその衛星ハプロタイプであり、type1 を中心とするグループが北海道本島に最初に侵入したことが示唆された。道内で 16 個のハプロタイプが検出されたこと、更に type1 から大きく離れた type2、3 が道東に限局していたことから、多包条虫の北海道への侵入は道東を玄関口として、複数回に渡って生じたことが示唆された。

演題番号：19

キツネへの駆虫薬散布によるエキノコックス症感染源対策の事例紹介

○ 斎藤 通彦¹、小林 文夫¹、神谷 正男¹、野中 成晃²

¹合同会社環境動物フォーラム、²北海道大・獣医

環境動物フォーラムは、地方自治体等が行っているエキノコックス症感染源動物対策として駆虫薬（プラジクアンテル）入りベイト剤を道路沿いに散布する取り組みをサポートしている。今回は自治体単位のベイト散布及び一つの農場周辺の小規模ベイト散布についての事例を紹介する。

ベイト散布は多包条虫のプリパテントピリオドを考慮して、原則、月1回、5月～10月に行った。効果の検証のため、ベイト散布開始前、及びベイト散布開始後は9月～10月に、対象地域の道路沿いを踏査してキツネの糞便を採取し、糞便内抗原検査（サンドイッチ ELISA）及び虫卵検査（蔗糖浮遊法）を実施して感染状況を評価した。

【自治体単位の事例】2006年以降12町村がベイト散布を開始した。これらの自治体では、散布開始前の虫卵及び抗原陽性率はそれぞれ2～17%及び17～43%であった。これらの陽性率はベイト散布により減少し、すべての自治体で散布開始後3年以内に虫卵陽性率は0%となり、抗原陽性率も59～94%までの減少率を示し、その後も低値で推移した。

【小規模事例】ある農場周辺約1.3km²で2008～2014年にベイト散布を行った。野外採取糞便の抗原及び虫卵陽性率は、散布前(n=52)に46%及び35%であったが、散布後徐々に減少し、2013年(n=18)に6%及び0%まで減少した。

このようにベイト散布は規模の大小を問わずエキノコックス症感染源動物対策として有効であった。しかしながら、キツネへの再感染圧の指標となる糞便内抗原陽性率は0%に至らず、これには他所からの感染キツネの侵入が影響していると考えられた。したがって、低い感染状況を維持するには持続的なベイト散布が必要となり、経費削減と省力化が現在の課題となっている。いくつかの自治体ではベイトの散布量や散布頻度を変更することでこれらについての検討を行っている。

演題番号：20（若手奨励賞候補）

吸虫類のミトコンドリアゲノムを対象としたユニバーサルプライマーの開発（予報）

○ 尾針 由真¹、佐々木 瑞希²、中尾 稔²、板垣 匡³、野中 成晃¹、中尾 亮¹

¹北大院・獣・寄生虫、²旭川医大・医、³岩手大・農・獣医寄生虫

吸虫は約18,000種が属する巨大な分類群であり、多くの種が第一中間宿主として巻貝に寄生する。そのため巻貝を採集して吸虫を検出することで、吸虫の種多様性を効率的に検出できると考えられ、病原性吸虫の侵入や定着などをいち早く確認する手段となり得る。しかし巻貝体内の吸虫は種間で形態的特徴が極めて類似しており、形態学的に種同定を行なうことは非常に困難である。また、ゲノム情報の蓄積がほとんどない種については既知プライマーが適合せず、分子学的同定が困難である場合が多い。そこで本研究は、吸虫全般のミトコンドリアゲノム（ミトゲノム）を増幅可能なユニバーサルプライマーを開発し、種を問わずミトゲノムの解読が可能な手法の開発を試みた。まずデータベース上に登録されている吸虫45種のミトゲノム完全長配列を用いてアライメントを行ない、種間で配列が保存された領域を探索した。保存領域に新たに設計したプライマーおよびミトコンドリア *ox1* 遺伝子領域の既知プライマーを用いて、2亜目4上科5科7属の吸虫類7虫体を対象にPCRを行なった。増幅産物が得られた場合は、illumina MiSeqにより塩基配列を解読して *de novo* アッセンブルを行なった。

配列長が20-30 bpで種間の相同性が50%を超える領域を対象に保存配列を探索し、合計22個のプライマーが設計できた。そのうち、1つのプライマーと既存のプライマーを用いたロングレンジPCRでは、6虫体から約7,500-9,500bpの増幅産物を得ることができ、塩基配列を解読することができた。これらの吸虫は亜目レベルで異なる分類群に属しているため、新たに設計したプライマーは幅広い吸虫種で用いることが可能だと考えられる。一方で、増幅産物が得られていない種もあるため、今後は鋳型DNAとの結合能力が高い人工核酸を組み込んだプライマーの設計など、PCR条件の改良を検討している。

演題番号：21（若手奨励賞候補）

犬糸状虫感染ネッタイシマカのマルピーギ管組織培養による ex vivo 実験系の構築

○ 白水 貴大¹、福本 晋也¹¹ 帯畜大・原虫研

蚊の犬糸状虫媒介能は種・系統間で異なることが報告されているが、媒介メカニズムについては不明な点が多い。我々は、これまでにネッタイシマカ Liverpool 系統の中で犬糸状虫感受性 OB 系統と抵抗性 IB12 系統を同定した。感染初期の表現型を解析した結果、IB12 ではミクロフィラリア(mf)から第一期幼虫 (L1) への発育が阻害されていることが示された。これにより、逆遺伝学的アプローチを用いた L1 発育阻害に関与する遺伝子の同定が期待される。しかし、犬糸状虫感染ネッタイシマカの実験系は in vivo が主体で解析手法の選択肢が少ないのが現状である。先行研究では、感染 24 時間後(h)のマルピーギ管組織(Malpighian tubule: MT)を 20%ウシ胎児血清含有昆虫培地で培養すると、約 20-30%が L1 へ発育したという報告があるが、その他の詳細な解析データは少ない。そこで、生体外で mf から L1 への発育過程を解析する手法を確立するために、犬糸状虫感染 MT 培養の条件検討および ex vivo 実験系の構築を目指した。感染 24 h の OB MT を 6, 12, 24, 48, 96 ウェルの各マルチプレートを用いて培養した結果、培養 4 日後の L1 発育率(%)はそれぞれ 89.2, 86.5, 76.1, 83.9, 65.6 であり、有意差はみられなかった。感染 6, 9, 12, 15, 17, 20, 23 h の MT を培養した結果、培養 4 日後の L1 発育率(%)はそれぞれ 100, 90.3, 88.9, 66.7, 88.2, 82.0, 84.0 であり、有意差はみられなかった。また感染 3 h では、mf, L1 共に非検出であり、感染 6 h では L1 検出数が有意に低い結果であった。感染 24 h の IB12 MT の培養では、L1 への発育がほとんどみられなかった。OB, IB12 MT を共培養した実験では、OB, IB12 の L1 発育率(%)はそれぞれ 74.4-83.1, 0-6.7 であり、in vivo の表現型が維持されていた。培養 MT において免疫関連遺伝子の RNAi を行った結果、ターゲット遺伝子の発現量が 15-30%程度まで抑制された。以上の結果から、感染 6-24h の MT 培養で、RNAi による L1 への発育阻害や促進等の解析は可能であることが示された。今後、構築した ex vivo 実験系を用いた逆遺伝学的解析による蚊の犬糸状虫媒介メカニズムの解明が期待される。

演題番号：22（若手奨励賞候補）

重症複合型免疫不全マウスを用いた犬糸状虫ミクロフィラリア血症移植モデルの開発

○ 水関 実法子、池田 奈央、白水 貴大、福本 晋也

帯畜大・原虫研

犬糸状虫は蚊媒介性の寄生性線虫である。ミクロフィラリア(mf)が蚊体内で発育、吸血の際にイヌに感染、致死性の犬糸状虫症を惹起する。有効な予防薬が存在するが、未だ日本を含む多くの国で蔓延している。予防薬耐性犬糸状虫も報告されており、予防薬に依存しない抜本的対策の樹立が急務である。蚊媒介性感染症の制御には蚊からの感染阻止が最も有効とされる。したがって新規対策の樹立には、犬糸状虫の蚊による媒介機構の解明が必須である。蚊ステージの研究には安定した mf の供給が必要となる。一般的に mf 供給源として感染犬が用いられるが、動物福祉・コストなどの観点から問題が多い。我々は代替法として、マウスを用いた犬糸状虫 mf 血症移植モデルの構築を試みたので報告する。

文献的情報として mf を投与した γ 線照射処置 BALB/c マウスでは、mf 血症を 5 週間維持可能との報告がある。この報告を元に我々はまず、血中異物排除能を持つ脾臓の摘出が mf 血症の維持に有効か検証した。その結果、非処置群では 2 週間、脾臓摘出群では 3 週間 mf 血症が持続した。脾臓摘出の有効性は確認されたものの、 γ 線照射の結果を下回った。更に長期間 mf 血症を持続させるため、重症複合型免疫不全(SCID)マウスの利用を試みた。その結果、SCID マウスでは BALB/c マウスと比較し有意に長期間の mf 血症を維持可能なことが明らかとなった。

そこで次に、脾臓摘出 SCID マウスを用いて長期 mf 血症限界維持試験を行った。その結果 6 ヶ月以上に渡り mf 血症を維持可能なことが確認された。以上の結果から、脾臓摘出 SCID マウスは犬糸状虫 mf 血症移植モデルとして有用なことが明らかとなった。本モデルは犬糸状虫媒介機構の研究の他、臨床検体からの mf の分離・維持などにも応用可能であり、寄生虫学教育、薬剤耐性などの犬糸状虫症に関する諸問題解決へ多大な寄与が期待される。

演題番号：23（若手奨励賞候補）

Nemabiome 技術によるメタバコーディングを利用しためん羊の消化管内毛様線虫類の駆虫薬治療による種構成変化の評価

○ 市川 雄貴¹、市居 修^{2,3}、柳川 洋二郎⁴、中尾 亮¹、野中 成晃¹

¹ 北大・獣医・寄生虫、² 北大・獣医・解剖、³ 北大・農・アグリメディカル、⁴ 北大・獣医・繁殖

めん羊には複数種の消化管内円虫類（以後円虫類）が混合感染するが、円虫類は種により病原性や薬剤への感受性が異なる。そのため、円虫類のコントロールには感染種や感染強度を知ることが重要である。円虫類は虫卵の形態が類似し虫卵検査による種特定は困難で、種同定を行うには糞便培養に頼らざるを得ない。近年、高速シーケエンサーを用いた ITS-2 領域のアンプリコン解析によって、円虫類の種同定および種の構成割合を求められる Nemabiome 技術が開発された。本研究ではこの技術を用いて 35 頭の羊を対象に、糞便から培養した第 1 期幼虫と敷き藁中の第 3 期幼虫の解析を行い、イベルメクチン投与前後での種構成の変化を調べた。羊 3 群（雌子羊群、雄子羊群、親羊群）計 35 頭の直腸便および子羊飼育場所の敷き藁 17 箇所のサンプリングを駆虫 26 日前、駆虫当日、駆虫 14 日後、駆虫 42 日後の計 4 回実施した。糞便に対してショ糖遠心浮遊法/EPG 計算盤法を実施し、糞便 1g あたりの虫卵数(EPG)が 50 を超えたものから虫卵を分離、培養して第 1 期幼虫を得た。敷き藁からはバールマン法で第 3 期幼虫を得た。各材料の幼虫から DNA を抽出し、Nemabiome 解析を行った。親羊群では駆虫 26 日前の 1 回目採材時に 12 頭すべての個体で EPG が 100 を超えていたが、駆虫時すでに減少しており、駆虫後も低値で推移した。子羊群は 1 回目採材時に EPG は 100 未満であったが、駆虫時には 21 頭中 5 頭で 100 を超え、駆虫後は特に雌で増加していた。種構成をみると、駆虫前後で子羊 2 群の優占種が *Teladorsagia circumcincta* から *Haemonchus contortus* に変化した。優占種の変化は駆虫薬への感受性や幼虫発育の高温適性に関係があると考えられる。敷き藁中種構成は現在解析中である。

演題番号：24（若手奨励賞候補）

牛に寄生する糸状虫 *Setaria marshalli* の分子学的解析

○ 北島 ちひろ¹、一條 俊浩²、関 まどか¹

¹ 岩手大・農・獣医寄生虫、² 岩手大・農・産業動物内科

S. marshalli（マーシャル糸状虫）は牛で出生前感染を起こすセタリア属糸状虫の一種であり、子牛の腹腔内に成虫が寄生すると宿主の横隔膜や腹膜に病害を起こす可能性がある。また、馬、羊、山羊に脳脊髄セタリア症を引起こすことがよく知られている *S. digitata*（指状糸状虫）や、*S. labiatopapillosa*（唇乳頭糸状虫）との鑑別も重要である。しかし、*S. marshalli* の DNA バルコードは存在せず、分子学的種同定は不可能であった。さらに、他のセタリア属糸状虫との分子学的系統関係も不明であった。そこで、本研究では子牛から得られたセタリア属糸状虫を形態学的に *S. marshalli* と同定したうえで、その DNA 情報を初めて解析した。

岩手県盛岡市の子牛 1 頭の腹腔から検出された糸状虫 7 隻（雄 1 隻、雌 6 隻）を 70%エタノールで固定した。そのうち、雄 1 隻、雌 2 隻についてラクトフェノールに浸漬して虫体の形態的特徴を解析した。また全虫体の一部から DNA を抽出し、PCR ダイレクトシーケンス法により COI 領域の塩基配列（596 bp）を解析し、最尤法を用いて系統樹を作製した。

糸状虫は口唇クチクラ冠や尾端の形態的特徴から *S. marshalli* と同定された。本研究で解析した *S. marshalli* の COI 領域の塩基配列に種内変異は認められず、*S. digitata* と *S. labiatopapillosa* との間にはそれぞれ 9%の種間変異が認められた。従って、COI 領域の塩基配列は種鑑別マーカーとして有用であると考えられた。また、系統樹では反芻類のセタリア属糸状虫からなるクレードに属した。本研究により *S. marshalli* の DNA 情報が初めて得られた。この研究成果は、今後、牛寄生セタリア属糸状虫の分子学的疫学調査に活用できる。

演題番号：25

青森県内で捕殺されたツキノワグマより分離した糸状虫の分子系統解析

○ 草木迫 浩大¹、新山 熙¹、原口 麻子¹、箱崎 純¹、中山 和彦¹、中村 咲蓮¹、進藤 順治²、工藤 上¹、笹井 宏実¹

¹北里大・獣医寄生虫、²北里大・野生動物

ツキノワグマは本州・四国の山地帯に分布し、北里大学獣医学部のある青森県十和田市周辺にも出没する。昨年度に十和田市周辺で捕殺されたツキノワグマから寄生虫の分離を試みたところ糸状虫と考えられる虫体が複数採取された。クマ由来糸状虫の情報は、日本では 1983 年と 1990 年に兵庫・岩手または九州のツキノワグマ (Uni, 1983; Yokohata, 1990) から糸状虫成虫の感染報告がなされ、2020 年に岩手のツキノワグマの凍結血液検体からクマ由来糸状虫である *Dirofilaria ursi* の遺伝子が検出され、5S rRNA 遺伝子ならびに 18S-ITS1 領域の配列が報告された (Masatani et al., 2020)。一方、*D. ursi* 成虫の感染報告が複数なされており、5S rRNA 遺伝子配列も報告されている (Michalski et al., 2010)。そこで、今回採取された糸状虫の虫体が *D. ursi* であるかを調べるために遺伝子配列の比較を行った。

2020 年 8 月に十和田市周辺で害獣駆除として捕殺された 10 頭のツキノワグマの内 3 頭より糸状虫を 12 虫体得た。得られた虫体から DNA を抽出後、5S rRNA ならびに 18S rRNA-ITS1 領域の遺伝子検出とシーケンス解析、さらに分子系統解析を行った。

得られた虫体の 5S rRNA ならびに 18S rRNA-ITS1 領域の遺伝子配列の分子系統解析を行った結果、既に報告されていた *D. ursi* の遺伝子配列と同じクラスターに分類された。以上の結果から、今回得られたツキノワグマ由来の糸状虫虫体は、分子系統学的に *D. ursi* であることが示された。

演題番号：26 (若手奨励賞候補)

単為生殖型肝蛭の中間宿主ヒメモノアラガイ体内における動態解析

○ 中村 咲蓮¹、井澤 優香¹、中山 和彦¹、箱崎 純¹、原口 麻子¹、草木迫 浩大¹、笹井 宏実¹

¹北里大・獣医

単為生殖型肝蛭 (以下、肝蛭) は主に反芻類を終宿主とする二生吸虫であり、中間宿主はヒメモノアラガイ (以下、貝) である。肝蛭ミラシジウムは貝へ経皮的に侵入することが知られている。侵入時間に関して、2~5 時間かかる (小野・磯田、1951) あるいは 30 分で完了する (Daws、1959) という報告があるが、体内への侵入及び移行時間は明らかでない。さらに、貝体内で腹部以外に寄生する肝蛭についての報告は少ない。本研究では分子生物学的手法を用いて、肝蛭による貝への侵入及び体内移行時間を解析した。また、組織学的手法により、肝蛭の貝体内寄生部位を検討したため併せて報告する。

まず、ミラシジウムを 10、30、60 および 120 分曝露させた貝の頭足部と腹部各個における肝蛭 DNA 量をリアルタイム PCR で定量した。その結果、肝蛭 DNA 量は曝露 30 分では頭足部、腹部とも増加し、曝露 60 分では頭足部で増加、腹部で減少した。次に、感染 4、5、7 週の貝を解剖し、頭足部-腹部間でレジア数を比較した。その結果、レジア数は頭足部より腹部で著しく多かった。また、頭足部-腹部間でレジアの発育を比べた結果、感染 4 週において腹部で頭足部より成熟したレジアが多かった。

以上より、肝蛭ミラシジウムは貝と遭遇して 30~60 分の間に、侵入及び腹部への移行を完了することが示唆された。また、肝蛭は頭足部と腹部のいずれでも発育するが、腹部が主要な寄生部位であり、頭足部では発育遅延が生じると考えられた。

演題番号：27

最近水族館から依頼のあった寄生性扁形動物の鑑定に関する概要紹介

平田 晴之、○浅川 満彦

酪農大・獣・感染病理

演者らにより、今年の寄生虫学会奈良大会で某水族館から依頼された深海魚から得られたプレロセルコイドの同定結果を紹介したが、その後も水族館からの扁形動物の鑑定依頼が寄せられたので概要紹介する。1) ジンベエザメ体表上に無数の単生類が認められた。エタノール固定し、一部は酢酸カーミンにて染色、他は 28s rRNA 遺伝子を鋳型とした PCR を行った。その後 GenBank から塩基配列を入手、相同性検索を行い解析した。形態学的検討で *Udonella* 属 と同定されたが、既知 7 種と雌性生殖器の形や位置などが異なるため種名は保留された。PCR を行った結果、Blast 解析で *U. caligorum* と遺伝子型が 87.6% 一致した。この単生類は魚類に直接寄生あるいは共生橈脚類体表に付着しつつ魚類組織を摂食する性質がある。ジンベエザメに寄生する橈脚類における寄生状況の把握が必要であろう。2) また、同じ水族館からワシエイ類の鰓に寄生し、糜爛を呈した部位から得た単生類について 1) と同様な方法で検討したところ *Decacotyle* sp. と鑑定された。3) さらに、四国地方の水族館に飼育されたシユモクザメ類の胃からの Tetrphyllidea あるいは Trypanorhyncha 目条虫類の成虫についても (病変は未確認)、1) と同様な方法で、現在、分類学的な解析中である。4) しかし、関東地方の水族館で飼育されたメダカ類の口腔から検出された自由生活性の渦虫類 (おそらく *Temnocephalida* の一種) は標本数が 1 と少なく、形態観察中に破損したので、詳細は不明となった。このケースは、水槽内に生息していた渦虫類が、偶発的に経口的に入り込んだのか、それとも、この魚類に飲み込まれたものがその口腔内に付着したものは不明であった。実際、この魚類口腔に如何なる病変も認められなかった。典型的な偽寄生現象と見させるが、水族館飼育魚類ではこういった紛らわしい現象が少なくないと想像される。したがって、水族館からの依頼では、幅広い水棲扁形動物の情報を具備していた方が望ましい。

演題番号：28 (若手奨励賞候補)

口に寄生された魚は釣られにくいか：イワナに寄生するカイアシ類ナガクビムシの影響評価

○長谷川 稜太¹、小泉 逸郎^{1,2}

¹北海道大院・環境、²北海道大院・地球環境

世界的に行われている遊魚 (釣り) は、古くから人々に親しまれてきた余暇活動である。世界人口の約 10% が日常的に釣りを経験しているという統計もあるほど、今なお釣り人口は増え続けている。どのような特徴を持つ魚が釣られやすいのかという疑問は、古くから世界中の釣り人が抱いてきた。特にサケ科魚類は遊魚における需要が高く、どのような特徴を持つ個体が釣られやすいか把握することは、適切な資源管理を行う上でも重要である。これまでの研究から、体サイズや成長率などの違いが釣られやすさに影響することがわかっているが、寄生虫の影響は着目されていない。寄生は宿主の資源を搾取することで、宿主の肥満度や活動性を低下させるため、寄生された個体は寄生されていない個体に比べて、釣られにくくなることが予想される。

イワナに寄生するカイアシ類であるナガクビムシ *Salmincola* sp. は、口に寄生するという特徴から、宿主の摂餌を強く阻害すると考えられる。本研究は、ナガクビムシに寄生されたイワナ (以下、寄生個体) と寄生されていないイワナ (以下、非寄生個体) の釣られやすさを比較することを目的とした。北海道南部の保護水面である汐泊川の一支流で調査を行った。まず餌釣りをを行い、その後釣られなかった魚を電気ショッカーで捕獲した。予想に反し、寄生個体と非寄生個体では、釣られやすさに有意な違いは認められなかった。一方、非寄生個体では肥満度が低い個体が釣られやすいのに対し、寄生個体では肥満度が高い個体が釣られやすいという対照的な結果が得られた。肥満度が低い非寄生個体は、成長や繁殖に必要な資源を補償すべく積極的に摂餌するため、釣られやすいのかもしれない。一方、肥満度が低い寄生個体は、摂餌行動に割く資源さえ寄生により搾取されるために摂餌活性が下がり、釣られにくくなったと考えられる。以上から、寄生は宿主の状態に依存して、釣られやすさに影響する可能性が示唆された。

演題番号：29（若手奨励賞候補）

空知川上流域の湧水支流と非湧水支流における魚類寄生虫群集組成について

○ 中 正大¹、小泉 逸郎²

¹ 北大・環境、² 北大・地球環境

【緒言】北海道空知郡を流れる石狩川水系空知川上流域には地中深くからの湧き水によって維持される湧水性河川と地表付近の水が集まってできる非湧水性河川が混在し流入している。湧水性河川は一年を通して水温や流量が安定するという特徴を持ち、特有の生物群集が形成される。夏季水温が低く保たれる湧水河川は地球温暖化が進行する中で冷水性生物の生息地として重要性が高いと考えられる。寄生虫は自然界で多くの生物と関係するにもかかわらず湧水河川における群集についてはよくわかっていない。

【仮説】寄生虫群集組成は環境要因と宿主要因に影響されて変化する。そのため、他の生物群集と同じように、魚類寄生虫も湧水河川特有の群集を形成していると仮説立てた。また宿主魚類自体が湧水環境特有の群集を形成するため、湧水・非湧水河川間における魚類寄生虫群集組成の乖離はより大きいと予想した。

【方法】空知川に流れ込む小河川のうち、湧水5河川・非湧水5河川の計10河川で魚類および寄生虫群集調査を行った。各支流間の群集組成の類似度を構成種とその個体数から算出し、NMDS（non-metric multidimensional scaling: 非計量的多次元尺度法）を利用して群集組成の違いを距離として可視化した。寄生虫群集解析は主に2019年の調査結果に基づいて行い、個体数は各河川の魚類個体数密度で事前に補正した。

【結果および考察】2019年に採捕した宿主魚類7種類209個体から寄生虫12種1601個体を得た。魚類群集では湧水河川群と非湧水河川群間に群集組成の差が見られたのに対し、寄生虫群集では見られなかった。得られた寄生虫のうち、カゲロウセンチュウ *Salmonema ephemeridarum* が個体数の大半を占めたため、両河川群間の平均な群集組成が似通ったのだと考えられる。また宿主のうちサケ科に属する魚類が多く、宿主の種多様性を寄生虫群集が反映していない可能性がある。河川上流域において魚類寄生虫群集のこのようなパターンが一般的なのか定かではない。知見の蓄積が望まれる。

演題番号：30

北海道のドブシジミ科微小二枚貝と吸虫類

○ 中尾 稔¹、照井 滋晴²、佐々木 瑞希¹

¹ 旭川医大・医、² 環境把握推進ネットワーク PEG

ドブシジミ科の貝類は雌雄同体かつ卵胎生の微小な二枚貝で、淡水の止水域に生息している。ドブシジミ属とマメシジミ属に大別されており、日本では昭和初期に多数の種類が記載された (Mori, 1938)。その後、分類の再検討が行われたものの、形態で種を識別することが非常に困難な動物群として放置されている。また、この二枚貝は両生類や魚類に寄生する *Phyllodistomum* 属や *Crepidostomum* 属などの吸虫類の第一中間宿主になるが、その宿主・寄生体関係については日本ではほとんど研究されていない。北海道はこの二枚貝の多産地域であることから、貝の系統と吸虫類の相互関係を調べるには絶好のフィールドである。我々は移動能力のほとんどない微小貝が分布を拡大するメカニズムに興味を持ち、道内各地で貝を採集して DNA バーコードを付与することで貝の種類数と系統地理学的な関係性を調査している。さらに、貝から幼生、両生類・魚類から成虫を回収して吸虫類にも DNA バーコードを付けて宿主・寄生体関係を調べている。現在までに北海道各地からドブシジミ属3種、マメシジミ属7種を検出した。いずれの種類も旧北区もしくは全北区と関連する汎存種であった。カモ類などの水鳥によって貝の分布が攪乱されている可能性が濃厚で、貝は鳥の羽毛に付着したり、鳥に捕食されても消化管を生きたまま通過することで運ばれていると考えられた。貝からは Gorgoderidae 科吸虫が2種類検出され、このうち1種はエゾサンショウウオの *Phyllodistomum kanae* と一致した。サケ科魚類からは3種の *Crepidostomum* 属吸虫が得られたが、これらと一致する幼生はまだ貝から得られていない。欧州に分布する *Crepidostomum farionis* と成虫の形態が同一の種がヤマメから発見されており、鳥による中間宿主貝の移動を魚類寄生虫の分布拡大の要因として考慮する必要があるかもしれない。



都市公園のキツネ
(カメラトラップで撮影)

2021年9月27日発行

(無断での改変・転載・再配布・転送等の行為を禁止します)

〒078-8510

北海道旭川市緑が丘東2条1丁目1-1

旭川医科大学医学部寄生虫学講座

Tel. 0166-68-2422 Fax 0166-68-2429

https://twitter.com/parasitology_as