

○座長 続きまして、大阪府立大学大学院生命環境科学研究科の松林誠先生より、「日本ライチョウに寄生するアイメリア原虫の病原性と発症を予防するワクチン開発」について、発表をよろしくお願いいたします。

第19回ライチョウ会議ぎふ大会
-令和2年11月8日(岐阜大学)-

ニホンライチョウに寄生するアイメリア原虫 の病原性と発症を予防するワクチン開発



大阪府立大学大学院
生命環境科学研究科
獣医免疫学教室
松林 誠

<https://ameblo.jp/mozzzzzu/entry-12187721402.html>

<https://yamahack.com/481>

○松林 ご紹介ありがとうございます。大阪府立大学の松林と申します。

本日はこのような発表の機会をいただきまして、誠にありがとうございます。

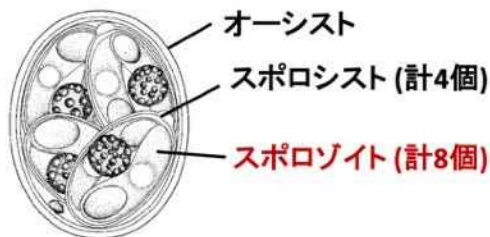
私の演題はですね、「日本ライチョウに寄生するアイメリア原虫の病原性と発症を予防するワクチン開発」という題目です。このアイメリア原虫についてですけど、初めて聞かれる方も多いのではないかと思いますので、前半は少しこのアイメリア原虫というのは何なのか、ということについて話をしたいと思います。

このアイメリア原虫というのはですね、消化管に感染する寄生虫であります。寄生虫と申しましても、アニサキスのような線虫、サナダムシのような条虫とは異なりまして、非常に小さくて、いわば1つの細胞からできている寄生虫という風に言えます。つまり、非常に小さいということですので、もちろん肉眼では見ることが出来ず、10~30ミクロンという大きさです。

アイメリア原虫とは？

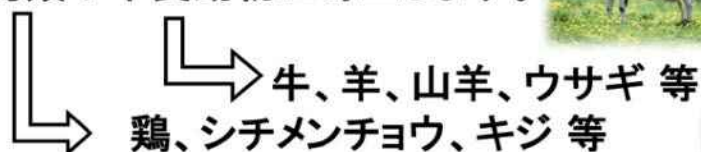
①アイメリア原虫って？

- ▶消化管に感染する寄生虫
- ▶大きさはおよそ10-30ミクロン
(0.01mm-0.03mm)



②どんな動物に寄生するの？

- ▶鳥類や草食動物に寄生します。



③それぞれの動物にはその動物に寄生するアイメリア原虫がいる

野生動物のアイメリア原虫についてはよく分かっていない

こちらにオオシストと書いてありますけれども、感染した動物の糞便中にはですね、このようなオオシストと呼ばれる形でアイメリア原虫が出てきます。

このオオシストの中にはですね、このように4つのスポロシストというものが含まれてまして、こういった殻の中にですね2個ずつのスポロゾイト、計8個ということになります。このスポロゾイトがバナナ状のものがですね腸管粘膜に入って、そして増殖していくということになります。

どんな動物に寄生するのかということですが、鳥類や草食動物に寄生します。例えば、ニワトリ、シチメンチョウ、キジ、草食動物ですと、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ウサギ等、ということになります。

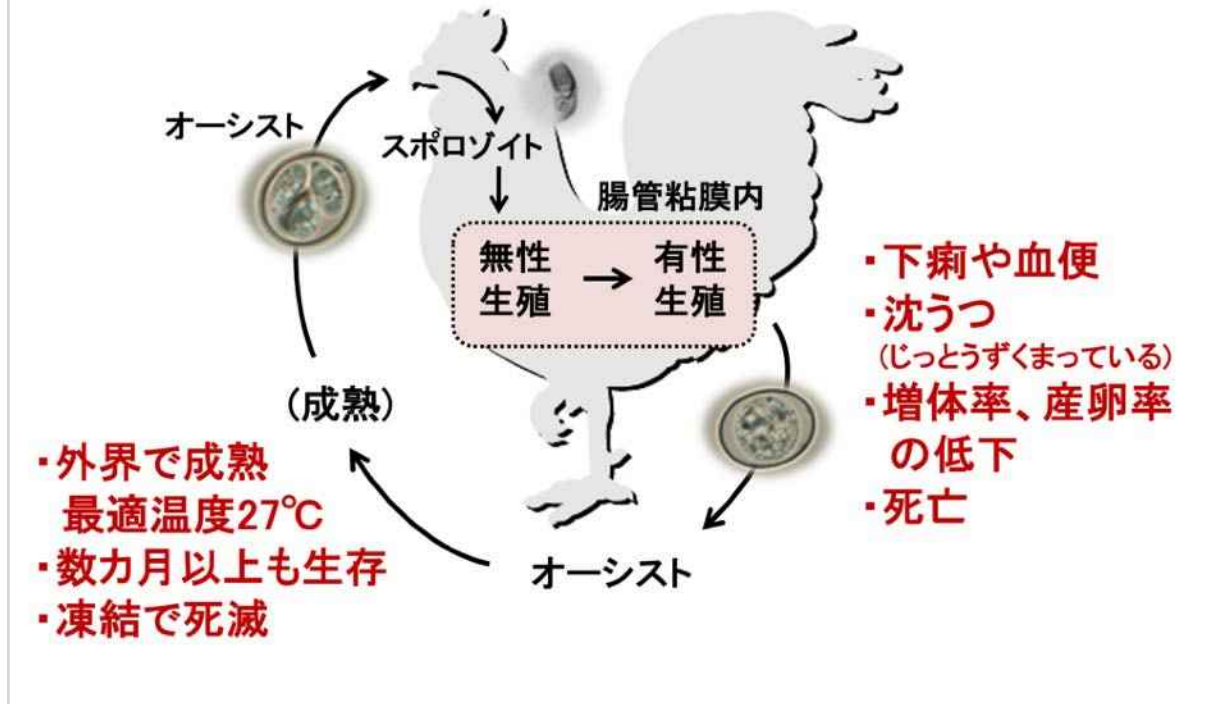
それぞれの動物にはですね、その動物に寄生するアイメリア原虫がいます。ですので、例えば、牛に寄生するアイメリア原虫が、ヤギだったりとかニワトリに寄生することは基本ありません。

もう皆さんお察しと思いますが、これらはほとんど家畜なんですね。つまり、家畜においては、よく研究されているという面もありますし、また、一方で、病原性が出ているということで、問題になっているのですね。

しかし、一方で、野生動物のアイメリア原虫、鳥類というところに日本ライチョウが入ってくるのですが、これらについては、ほとんど良く分かっていないというのが実情です。

感染したらどうなるの？

鶏のアイメリア原虫の生活環

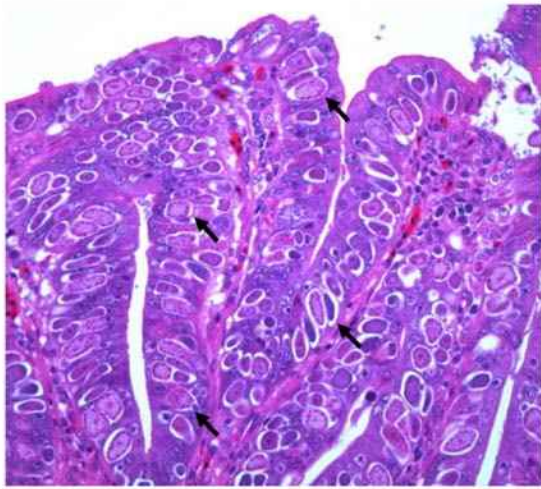


感染したらどうなるのか、ということになります。これも、ニワトリでよく研究されていますので、これを例にとって話をしますと、先ほどのオーシストをニワトリが口からついばんで入ってくると。そうすると8個あったスポロゾイトが、このオーシストから出ていきます。そして、その後、腸管粘膜に侵入しまして、発育、増殖していくと。それを無性生殖と言うんですが、その後雄、雌というように別れてですね、精子と卵子みたいなものです、受精をしてですね、そして、有性生殖といいますけど、新たなオーシストが出てくると。

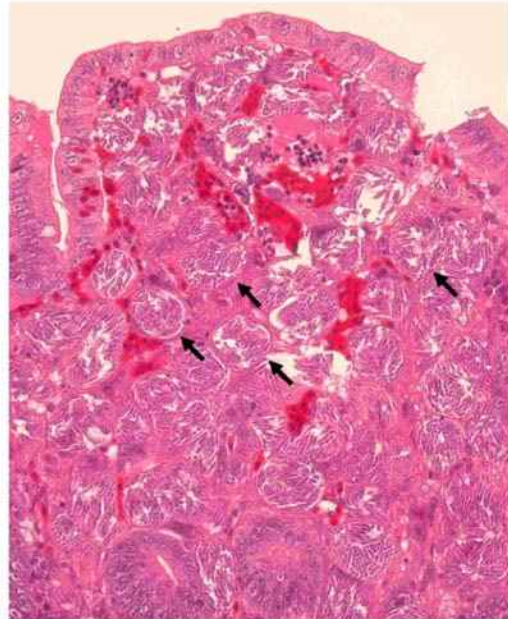
この粘膜で増殖する際にですね、下痢であったりとか、血便、そして、じっとうずくまっていることを沈うつと言いますが、沈うつの症状、そして、雛であるならば、餌を食べても体重が増えない増体率の低下、雌であれば産卵率の低下、そして、死亡してしまう、ということがあり得ます。

糞便とともに出てきたオーシストというのは、外界で成熟して、こういうようなスポロゾイトを最終的につくります。しかし、外界で成熟っていうのは、我々が一般的に知っている情報としては、27度あたりが適温と言われていまして、その温度下で成熟すると。その後はですね、数カ月間以上も生存することができます。しかしながら、凍結には弱くてですね、このオーシスト外界で凍ってしまうと、死んでしまうという特徴もあります。

腸管粘膜で増殖する原虫（鶏）



粘膜上皮に寄生する多数の原虫
⇒ 上皮粘膜が破壊される

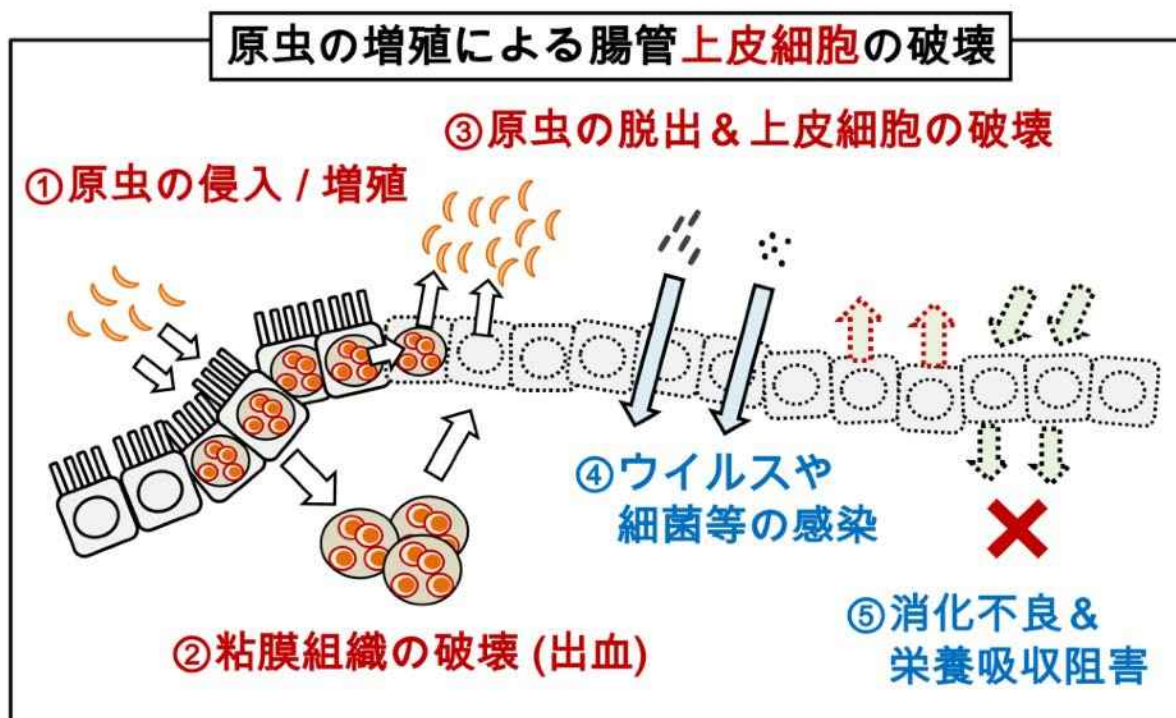


粘膜深層で巨大化する原虫
⇒ 組織(血管)が損傷し出血

腸管粘膜で増殖する原虫ということで、ニワトリの写真なのですが、これが腸管の粘膜でありまして、ここに丸いブツブツがたくさんいると思います。これがアイメリア原虫でありまして、この粘膜の一番表層面、上皮細胞というのですが、この上皮細胞つまり上皮粘膜で原虫が増殖して出ていく時に破壊されてしまう。

または、この粘膜の上皮の深層にはですね、もちろん栄養を吸収して運ぶために血管というのがあります。そこでですね、このように原虫が大きくなって発育すると、当然血管が破れて出血する、この赤い部分っていうのは血管からもれ出ている、出て行ってしまっている赤血球つまり出血という状況になります。

原虫感染の病態メカニズム



これはですね、原虫感染の病態メカニズムということで、私どもが描いたイラストなのですが、まず原虫が侵入して増殖をしますが、この上皮細胞に入ってくる。一部の原虫は深層にずぶずぶと入って行ってですね、そこで大きくなって発育する、出血をします。

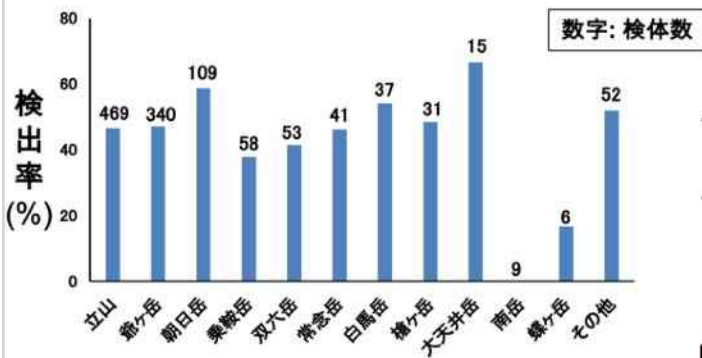
もちろん、これを繰り返すわけなのですが、ここから出ていく、または上皮にいたとしてもですね、この上皮細胞が、当然、原虫が出ていく時に破壊されます。そうなってくると、この粘膜の面ですね、上皮っていうのは外界とのバリアにもなっていますので、当然そこがないと、ウイルス細菌などの感染が起こりやすくなりますし、また当然お腹の腸管粘膜というのは消化吸收の場でもありますので、栄養吸収阻害などが起きてくるということが、家畜での解析で分かっています。

日本ライチョウに寄生するアイメリア原虫というのはいるのか、ということなのですが、答えはいる、ということなのです。過去われわれの研究グループが2006年、2007年のアイメリア原虫の糞便調査をしました。縦軸がアイメリア原虫の陽性率、検出率、横軸が採材した場所です。そして、数字は糞便の検体数を示していますが、検体数が少ないと陽性率、検出率が低いですが、おおよそ40から60%でほぼ場所の偏りはないだろうということで、高率に感染しているということが分かりました。

雛はどうなのかということなのですが、雛は孵化後すぐに感染しておりまして、陽性率は80~100%ということで非常に高い。また、雛はですね、親鳥よりも重度に感染しているということが分かりました。

ニホンライチョウに寄生するアイメリア原虫

2006-2007年のアイメリア原虫の糞便調査結果

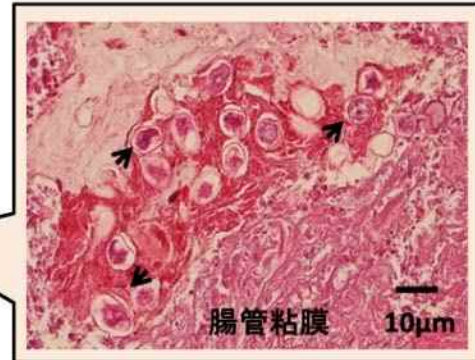


→ 雛は孵化後すぐに感染している
80-100%
→ 雛は親鳥よりも重度に感染

2018年ケージ保護の死亡雛の病理解剖

部位	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5
十二指腸	+++	-	+	+	-
空腸	+++	-	+++	++	+++
回腸	+++	+	+++	-	+
盲腸	+++	-	+++	+	+++
結腸	++	-	-	-	+
死因	事故	衰弱	衰弱	事故	衰弱

(+~+++ : 原虫数の程度)



→ 雛の腸管粘膜を著しく破壊している

昨日も今日もお話しがありましたが、ケージ保護という活動が進められております。このケージ保護で、死亡する雛というのが一定数、例年出ております。2018年で5羽ほどについて粘膜をちょっと調べてみました。そうすると、十二指腸から結腸まで上から下までということなのですが、このプラスの文字というのが原虫のいた場所です。そうすると、全部、お分かりですね、原虫に感染していたということが分かります。

この粘膜なのですが、これはその時の写真なのですが、日本ライチョウの粘膜の上皮の所にですね、たくさん増殖している原虫が認められました。これらが腸管粘膜を破壊している可能性ということが考えられます。

このアイメリア原虫というのは、こういったものがあるのかということなのですが、日本ライチョウにはですね、2種類あります。

1つは細長いタイプで、アイメリアuekiiといいます。

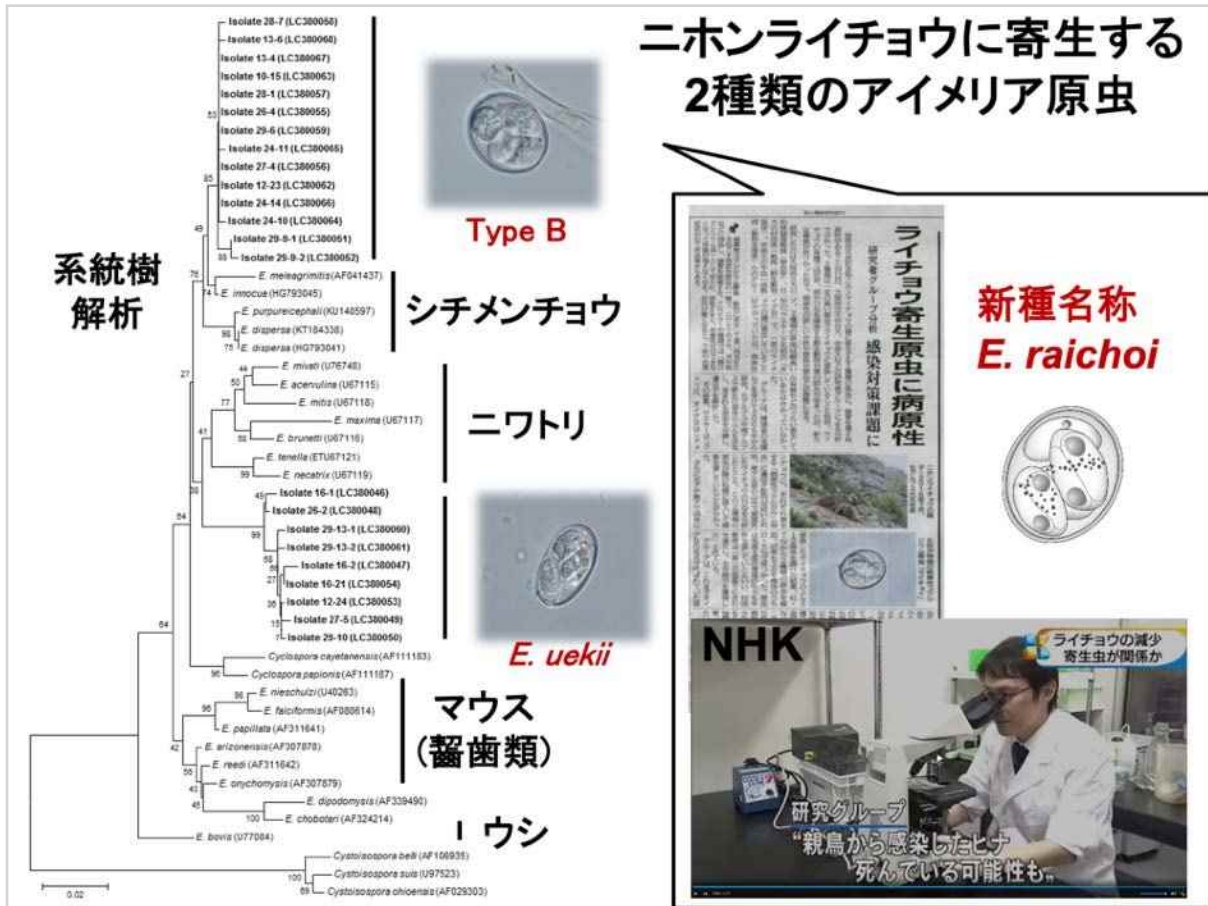
もう1つは丸いタイプの、こちらは名前がついていなかったのですが、2種類あります。

この図はですね、DNA塩基配列を元にして、分子系統樹を解析しているのですが、近縁度を見ることができます。

つまり、アイメリアuekiiというのは、病原性の高い種がたくさんいるニワトリのアイメリア原虫と非常に近縁であるということがわかります。

こちらの方、丸いタイプの方は、シチメンチョウのアイメリアと近縁であるということが分かりました。この丸いタイプは、その後の解析で新種であることが分かりましたので、ライチョウからとってですねraichoという名前で新種を提唱いたしまして、アクセプトされて報道されました。

ニホンライチョウに寄生する 2種類のアメリア原虫



アメリア原虫の感染サイクル



- ・野生型腸内細菌確立に向けた『糞便移殖』への大きな弊害
- ・『野生復帰個体群』への免疫賦活の必要性

<https://yamahack.com/481>

少しまとめますと、アイメリア原虫の感染サイクルというのは、親鳥がですね、高率に感染しているということです。この親鳥はもちろん、発症していないと思われるのですが、これはですね、過去に感染した経緯があっただろうということで、既に免疫を有している可能性があると思われます。そしてですね、雛はですね、食糞という行動もありますので、親鳥から感染している可能性が考えられます。その後ですね、糞便と共に出ていったオーシストが、こういった低温下で原虫がどのようにして成熟し、そして、氷点下で生き残っているのか、というのは分かりません。ここは未だブラックボックスです。

いくつか、また新たな課題ができています。つまり、先程、土田先生、牛田先生が話しをしていただいたように、野生型腸内細菌確立に向けた「糞便移植」ということを考えておりますが、当然、野外の野生の糞便を採ってきたとするとですね、アイメリア原虫がほぼ5割か6割含まれていますので、それをもって感染させてしまうことにはならないだろうか、ということと、それから、野生復帰、つまり、このような免疫を持たない動物園館で繁殖させた個体を戻す時には、野外のアイメリア原虫がおりますので、そのまま返してもいいものかどうか、免疫復活化の必要性があるのではないか、ということも考えられます。

まとめと考察

1. 日本アルプスでは、重度の原虫感染で症状が出ている可能性がある
ケージ保護の死亡原因の1つか
2. 軽度の原虫感染により防御免疫の賦与が可能
3. 幼雛期の感染防除は、それ以外の要因がある可能性
 - ① 親鳥からの有用腸内細菌
 - ② 高山植物に含まれる毒性化合物⇒ 抗原虫作用？
4. 動物園で孵化、飼育された野生復帰個体
『腸内細菌の移植』に加えて『少量の原虫』を飲ませる必要がある

まとめになります。日本アルプスでは、重度の原虫感染をした場合ですね、症状が出ている可能性があるかもしれない。これは、あくまで、色々な要因を排除して、感染実験をしただけの結果からの推測です。

ケージ保護をした場合にですね、重度感染をした場合、死亡に導くような直接、間接的な要因としてあるかもしれない、ということ。

それから、軽度感染した場合ですね、これはですね、防御免疫の賦与がされている可能性がある。

幼雛期においてですね、これもたくさん原虫を摂取している可能性もあると思うのですね。そうやってきた時にですね、生存する場合がありますので、種々の要因も一応考慮しておかないといけない、ということです。

つまり、1つは、親鳥からの有用腸内細菌ですね。または、高山植物に含まれる毒性化合物。これらが、程よくですね原虫に効き、または、雛の自然免疫を活性化させることによって抗原虫作用というのを起こしている可能性があるかもしれない、ということです。それですね、今日は今回の結果だけです。また、来年繰り返し確認実験をしないといけないことがいっぱいあるのですけども、動物園で孵化・飼育された野生復帰個体についてですけれども、「腸内細菌の移植」に加えてですね、これは「少量の原虫」をですね、飲ませる必要があるかもしれない、ということです。

ということで、私の発表はですね、私一人ではなくて多くの先生方、研究協力者の協力を得て、させて頂きました。この場をお借りしてお礼申し上げたいと思います。

以上です。

謝 辞

研究分担者

- 中部大学
牛田一成 先生, 土田さやか 先生
- 東京理科大学
倉持幸司 先生
- 環境省信越自然環境事務所
小林 篤 先生
- 大阪府立大学
笹井和美 教授, 関口理香 さん
朝間典子 さん, 木下萌美 さん
- 東邦大学
長谷川雅美 先生, 飯島大地 先生

研究協力者

- 中村浩志国際鳥類研究所
中村浩志 先生
- 日動水ライチョウ域外保全PT
田村直也 先生, 秋葉由紀 先生,
佐々木真己 先生, 伊藤 崇 先生
- 自然環境研究センター
兼子峰光 先生
- 大阪市立大学 医学研究科
金子 明 教授, 寺本 勲 講師
- 農研機構 動物衛生研究所
芝原友幸 先生

【研究費】

- 基盤研究(B) (19H04319);
『ニホンライチョウ寄生原虫の寒冷地共生進化経路の解明と保全に向けた実践的病態解明』
- 2019年度 環境研究総合推進費実施課題 (4-1903);
『ライチョウの再導入に必要な腸内環境整備に関わる技術開発』

○座長 松林先生ありがとうございました。

このコクシジウムという問題がですね、かなり飼育の現場でも問題になっております。動物園に連れてきたライチョウは卵で持ってきておりますので、基本的には感染しておりません。

なので、そのまま野生に返すこともできないですし、本来、腸内細菌叢を与えたくても、このコクシジウムに感染してしまうかもしれないということで躊躇していました。どんな病原性があるかというのを、松林先生にこのように、分かるグラフとして示していただいたのは、とても重要な情報発表だったと思います。

それでは、フロアからご質問等ありますでしょうか。挙手をお願いいたします。

○質問者 貴重なご講演、ありがとうございました。ケージ保護個体の雛で衰弱した、死亡した個体を見たらコクシジウムのオーシストが見られたというあたりで、その家族、親の方は感染していたのですか。

○松林 はい、親の方も感染しておりました。

○質問者 その親に限らず、自然界でライチョウの雛がついばむ盲腸便の中に、だいたいのぐらいのオーシストが存在しているのでしょうか。

○松林 私の方でカウントした結果ですね、およそ1gの糞便あたり最大で10の6乗個ほど入っています。

○質問者 そうなると、それをついばむ回数とかからすると、どれぐらい雛が摂取するのとか、先ほど先生の感染実験の病原性が出るあたりに通じて見えてくる、自然界でのそういったことも見えてくるのでしょうか。

○松林 仰る通りです。ただ、一方で、原虫自体は排泄直後というのは、単細胞でありまして、成熟してなくて、スポロゾイトができていません。

その後、一定の温度、また一定の期間で成熟するわけですけど、小林先生の話を聞くと、盲腸糞を食べる時間というのは30分以内だろうと聞いています。

今年、私の方で温度変化、15度、20度、25度で、どれぐらいの時間で成熟するのかを調べてみると、およそ10時間は必要なですね。となると、盲腸糞を摂取する、最初はこれが原因だと思っていたのですが、盲腸糞を摂取することによって、大量に感染するということはおそらく無いのではないかと。

つまり、未だ成熟していないオーシストがたくさん含まれていますので、この辺りは重度感染の原因では無いのではないかと。

どこから感染しているのかと言うことになるのですが、それは、ちょっとまだ分かってないのですが、ケージ保護をしている土を調べてみると、成熟したオーシストがわんさか出てきましたので、それがむしろ原因かな、というところを今は考えています。

○質問者 どうもありがとうございました。

○座長 その他質問等ありますでしょうか。

そうしましたら、私の方からも1つお願いというか、動物園に、今後、もしかすると野生の家族を下ろしてくるかもしれませんので、ぜひ、コクシジウムに効く薬があるかどうかとか、1回感染して、再度、どこかで再発症することが長期的にあるかどうか、長いスパンを見て、ちょっと変化がわかるようでしたらその辺りを調べていただけたらと思いますので、よろしく願いいたします。

そうしましたら、発表ありがとうございました。

こちらの3演題をもちまして「第3部ライチョウの野生復帰にむけた研究の取り組み」の発表は終了いたしました。

皆様、ご協力ありがとうございました。