

学 位 論 文 題 名

Intraspecific variations within *Taenia taeniaeformis*
and *Echinococcus multilocularis*,
and their phylogenetic origins in Japan.

（ネコ条虫と多包条虫にみられる種内変異と日本における両種の起源）

学位論文内容の要旨

寄生虫の種内変異は、宿主に対する感染性や病原性の差異、駆虫薬に対する感受性の差異として現れてくるため、同一種内でも性質の異なる個体群が存在するか否かを正確に把握しておくことは重要である。多包条虫は、ヒトの多包虫症の原因となる条虫であり、北方圏において医学的に最も重要な寄生虫の一つである。一方ネコ条虫は、実験室での継代維持が容易なため、多包条虫を含む医学的、経済学的に重要なテニア科条虫のモデルとして広く研究に用いられており、これら両種の種内変異を把握することは緊急の研究課題である。近年北海道において、他の流行地ではほとんど感染例のない宿主からの多包条虫の自然感染例が報告され、北海道で流行している多包条虫と他の地域の多包条虫との異同が問題となってきた。また、北海道産ネコ条虫の中に中間宿主への感染性の異なる個体群が存在することが報告された。そこで本研究では、ネコ条虫と多包条虫にみられる種内変異を様々な方法により検討し、それらの結果から日本におけるこれら両種の起源を推定した。

1. 北海道南部で捕獲されたドブネズミに見られた多包条虫の自然感染例について

北海道南部のごみ処理場で捕獲した42頭のドブネズミのうち1頭で、多包条虫の自然感染が見られた。多包条虫の病変は、肝臓、肺、腸間膜等にみられ、各病巣とも壊死や炎症性の細胞反応はほとんど見られなかった。肝臓の病巣中大きなものでは内部に未熟な原頭節の形成が認められた。この原頭節をラットおよびスナネズミの腹腔内に移植し4～7カ月後に剖検したところ、正常な原頭節の形成が認められた。以上より、自然感染していたドブネズミにおいても時間の経過に伴い正常な

原頭節の形成がみられると推定された。本例により、北海道南部では、ドブネズミを中間宿主とした生活環が野外において存在している可能性が示された。

2. 種々の基準からみたネコ条虫の種内変異について

虻田のエゾヤチネズミ由来、札幌のドブネズミ由来、マレーシアのドブネズミ由来、ベルギーのハツカネズミ由来のネコ条虫4分離継代株(以下それぞれACR, SRN, KRN, BMM)について、形態(小鉤と大鉤の長さ)、各種齧歯類への感染性、囊虫の蛋白組成、DNAの制限酵素切断パターンについて比較検討した。頭節の鉤の長さでは、SRN株の大鉤とACR株の小鉤で他の分離継代株との間に有為な差が見られた。各分離株の感染性は、SRN株とKRN株はラットに、BMM株はマウスに、ACR株はエゾヤチネズミにもっとも高い感染性を示した。囊虫の蛋白組成、DNAの制限酵素切断パターンについては4分離継代株間で互いに類似していたが、ACR株ではわずかに差異が見られた。以上のように、ACR株は今回調べたすべての基準で他の分離株と異なっており、ACR株が別種あるいは独立したstrainであることが強く示唆された。一方他の3分離株は、これら種々の寄生虫の分類に應用されている基準では区別できず、互いにその性状が類似していることが示された。

3. ジゴキシゲニン標識オリゴヌクレオチドプローブ(CAC)₅を用いたDNAフィンガープリント法によるネコ条虫と多包条虫の遺伝的変異の解析

ネコ条虫よりDNAを抽出し、ジゴキシゲニン標識(CAC)₅をプローブとしたザンハイブリダイゼーションを行ったところ、明瞭なDNAフィンガープリント像が得られた。ネコ条虫4分離継代株(ACR, SRN, KRN, BMM)について本法により分離株間の遺伝的変異を調べた。その結果、4分離株すべてから分離株特異的なDNAフィンガープリント像が得られ、ACR株のみならず他の3分離株の間にも明瞭な遺伝的差異があることが明らかとなった。これに対し多包条虫では、ブタおよびドブネズミ由来を含む北海道産6分離株の間で全く差異がみられなかった。北海道内の多包条虫は、遺伝的にきわめて均一な集団と考えられた。一方、アラスカのセントローレンス島からの分離株と比較した場合にもわずかな差しかみられなかった。

4. ネコ条虫におけるアイソザイムの種内変異とその系統関係

ネコ条虫3分離継代株(KRN, BMM, ACR)および日本国内の野外分離株(72株)について、その系統関係を明らかにするためデンプンゲルを用いた電気泳動法により

アイソザイム変異(10酵素)について検討した。その結果、日本国内のドブネズミ寄生のネコ条虫個体群の average heterozygosity(0 - 0.0902) および total genetic variability (0.0499) は非常に小さく、日本国内のドブネズミ寄生のネコ条虫は遺伝学的にはかなり均一な集団であることが明らかとなった。また、各遺伝子座における遺伝子頻度から各集団間の系統関係を推察したところ、日本国内のドブネズミ寄生のネコ条虫はBMM株やKRN株、とくにマレーシア由来のKRN株ときわめて近縁であることが示された。これに対しACR株は、住家性ネズミ寄生のネコ条虫とは遺伝的に大きく離れていることが明らかとなり、ACR株の北海道における起源はドブネズミに寄生しているネコ条虫とは明らかに異なると考えられた。

5. テニア科条虫間にみられる cytochrome c oxidase subunit I (COI) 遺伝子の塩基配列の多様性とそれらから見たテニア科条虫の系統関係

ネコ条虫と多包条虫の数分離株を含むテニア科条虫について、ミトコンドリアDNA中のCOI遺伝子の一部(391 bp)の塩基配列を調べ、それらの結果から系統関係を推定した。その結果、ネコ条虫10分離株間の系統関係は、アイソザイムから推定されたものとはほぼ同様の関係であることが明らかとなった。一方、多包条虫では北海道内の5分離株間でこの領域の塩基配列に差異がみられず、北海道内の多包条虫は遺伝的にきわめて均一な集団であることが示唆された。また、セントローレンス島の多包条虫もまったく同じ塩基配列であり、北海道とセントローレンス島の個体群間に大きな遺伝的差異はないことが明らかとなった。

結論

以上の研究結果より、日本には少なくとも2つの性質の異なるネコ条虫の個体群が存在し、そのうちの一つは世界的に住家性のネズミに寄生するネコ条虫と生物学的にも遺伝学的にも近縁であることが明らかとなった。日本におけるこれらの起源は、遺伝的な類縁関係や過去の日本の交易の歴史から東南アジアであることが推察された。一方、北海道には、これらとは全く起源の異なるエゾヤチネズミを中間宿主とする別のネコ条虫個体群が存在することが明らかとなった。これに対し多包条虫の場合、北海道では他の流行地ではみられないドブネズミを中間宿主とする生活環が成立している可能性があるが、これらを含めて北海道内に流行している多包条虫は、遺伝的にきわめて均一な個体群であることが明らかとなった。さらに、セン

トローレンス島の多包条虫との間にもわずかな遺伝的差異しかみられなかったことから、北海道で流行している多包条虫はアラスカよりごく近年に北海道の一部に移入され、その個体群を起源として北海道全域に急速に広がったものであることが示唆された。

学位論文審査の要旨

主査	教授	神谷正男
副査	教授	橋本信夫
副査	教授	喜田宏
副査	助教授	奥祐三郎

学位論文題名

Intraspecific variations within *Taenia taeniaeformis*
and *Echinococcus multilocularis*,
and their phylogenetic origins in Japan.

(ネコ条虫と多包条虫にみられる種内変異と日本における両種の起源)

多包条虫は、ヒトの多包虫症の原因となる条虫であり、北方圏における人獣共通寄生虫として重要である。一方、ネコ条虫は、多包条虫を含むテニア科条虫の実験モデルとして広く研究に用いられている。これらの種内変異は、寄生虫の進化の面からだけではなく、宿主に対する感染性や病原性の差異、駆虫薬に対する感受性の差異として現れてくるため、重要な研究課題である。本研究では、両種の種内変異を様々な方法により検討し、それらの結果から日本における起源を推定した。

分離された地域・中間宿主の異なるネコ条虫4分離株について、形態、齧歯類への感染性、囊虫の蛋白組成、DNAの制限酵素切断パターンについて比較検討した。さらに野生動物より分離された個体を加え、DNAフィンガープリント、アイソザイムパターン、cytochrome c oxidase subunit I (COI) 遺伝子の塩基配列を調べ、これらネコ条虫の系統関係を推定した。その結果、日本には少なくとも2つの性質の異なるネコ条虫の個体群が存在し、そのうちの一つは世界的に住家性のネズミに寄生するネコ条虫と近縁であることが明らかとなった。日本におけるこれらの起源は、遺伝子系統解析と過去の日本の交易の歴史から東南アジアであると推察された。一方、北海道には、これらとは全く起源の異なるエゾヤチネズミを中間宿主とする別の個体群の存在が明らかとなった。

多包条虫の場合、北海道ではドブネズミを中間宿主とする生活環が成立している可能性が示唆された。しかし、DNAフィンガープリントおよびCOI遺伝子の塩基配列を比較した結果、北海道内に流行している多包条虫は遺伝的にきわめて均一な個体群であることが明らかとなった。さらにセントローレンス島産の分離株との比較から、北海道で流

行している多包条虫は、近年アラスカから北海道に移入され、その後、急速に広がったものであると推定された。

これらの成果は、両種内に見られる種内変異の程度と日本における起源を明らかにしたものであり、今後の多包条虫やその他のテニア科条虫の防除を目的とした疫学的研究の進展に資するところが多い。よって審査員一同は、岡本宗裕氏が博士(獣医学)の学位を受ける資格が十分あるものと認める。