

博士（獣医学） ノッポン サラタファン

学位論文題名

Characterization of *Theileria* parasites
and their vector ticks in Thailand

(タイに分布するタイレリア原虫とその媒介ダニの研究)

学位論文内容の要旨

タイレリア原虫はダニに媒介され、世界中の多く野生動物や家畜に分布している。このうち良性タイレリアとして知られる *Theileria sergenti* / *buffeli* / *orientalis* 原虫はウシに感染し、発熱と貧血を呈す。今回、タイに分布するタイレリア原虫を明らかにするため、タイレリア原虫ピロプラズムステージの表面蛋白 (MPSP) 遺伝子を増幅する PCR 法で解析を行った。PCR 法には 6 セットのプライマーを用いたが、このうち 3 セットは、それぞれ *T.sergenti* p32, *T. buffeli* p33/34 ならびに Thai 型原虫 MPSP 遺伝子を特異的に増幅する。残りの 3 セットは型特異的プライマーとしてそれぞれ *T. sergenti* 池田株 (I 型)、千歳株 (C 型) ならびに *T. buffeli*-Warwick 株 (B1 型) MPSP の各型を特異的に増幅し型別できる。これらのプライマーを用い PCR 法を実施し、以下の成績を得た。

まず 1998 年、タイの 4 地区の乳牛と肉牛よりタイレリア原虫 28 検体を分離し、PCR 法で解析した。28 検体中、14 検体は Thai 型であり、6 検体は *T. sergenti* 型、5 検体は *T. sergenti* と Thai 型の混在、2 検体は *T. sergenti* と *T. buffeli* の混在で、残り 1 検体は *T. sergenti*, *T. buffeli* と Thai の 3 型の混在であった。これらの 28 検体を型特異プライマーを用いた PCR 法により型別をした。その結果 *T. sergenti* 型 MPSP を保持する原虫は C 型であり、I 型は検出されなかった。*T. buffeli* MPSP をもつ原虫は B1 型に型別された。その結果、タイ分離 28 検体には主に Thai 型と C 型原虫が含まれていることが明らかとなった。

次に 1999 年から 2000 年にかけタイ全国 16 地区、214 頭の牛、33 頭の水牛、計 247 検体より PCR 法でタイレリア原虫の検出を行った。その結果、204 (82.6%) 検体からタイレリア原虫が検出された。そのうち 138 検体 (67.6%) からは Thai 型原虫が、17 検体 (8.3%) からは C 型原虫がそれぞれ単独で検出され、49 検体 (24%) からは Thai 型と C 型の両者が検出された。この結果、タイに分布する *T. sergenti* C 型原虫と日本の C 型原虫 (千歳株) の MPSP 遺伝子の比較をするため MPSP 塩基配列の解析を行った。その結果、タイ C 型原虫は塩基配列で千歳株 MPSP と 87.8% の相同意しか示さず、インドネシア・ジャワ島からのタイレリア原虫の MPSP とは 96.3% と高い相同意を示した。分子系統樹解析から Thai 型とタイ C 型原虫はこれまで知られている良性タイレリアとは異なる系統樹を示し日本の C 型とも異なっていた。

最後にこれらタイに分布するタイレリア原虫の媒介ダニを知るためタイに分布する *Haemaphysalis bispinosa* と *Boophilus microplus* による伝播を検討した。*H. bispinosa* の若ダニをタイレリア原虫感染牛に吸血後、脱皮させた成ダニを摘脾牛に吸血させて原虫が伝播されるか否かを検討した。その結果、*H. bispinosa* 成ダニはタイレリア原虫を伝播

した。また原虫感染牛のピロプラズムを吸血したオスの *B. microplus* の唾液腺からのスボロゾイトを子牛に接種し伝播をみたところ、やはり伝播が成立した。これらの結果から、*H. bispinosa* と *B. microplus* は、タイに分布するタイレリア原虫の生物学的伝播の可能性が示唆された。

学位論文審査の要旨

主査 教授 小沼 操
副査 教授 神谷 正男
副査 教授 前出 吉光
副査 助教授 大橋 和彦

学位論文題名

Characterization of *Theileria* parasites and their vector ticks in Thailand

(タイに分布するタイレリア原虫とその媒介ダニの研究)

タイレリア原虫はダニに媒介され、世界中の多く野生動物や家畜に分布している。このうち良性タイレリアとして知られる *Theileria sergenti* / *buffeli* / *orientalis* 原虫はウシに感染し、発熱と貧血を呈す。今回、タイに分布するタイレリア原虫を明らかにするため、タイレリア原虫ピロプラズムステージの表面蛋白 (MPSP) 遺伝子を増幅する PCR 法を用いて解析した。さらに本原虫の媒介ダニについても検討した。

まず 1998 年、タイの 4 地区の乳牛と肉牛よりタイレリア原虫 28 検体を分離し、PCR 法で解析した。その結果、これらの検体中には主に Thai 型と *T. sergenti* 千歳株 (C 型) 原虫が含まれていることが明らかとなった。

次に 1999 年から 2000 年にかけタイ全国 16 地区、214 頭の牛、33 頭の水牛、計 247 検体より PCR 法でタイレリア原虫の検出を行った。その結果、204 検体 (82.6%) からタイレリア原虫が検出され、タイに分布するタイレリア原虫は主に Thai 型と C 型であることが明らかとなった。タイに分布する *T. sergenti* C 型原虫と日本の C 型原虫 (千歳株) の MPSP 遺伝子の塩基配列解析を行った。分子系統樹解析から Thai 型とタイ C 型原虫はこれまで知られている良性タイレリアとは異なった系統樹を示し、日本の C 型とも異なっていた。最後に、タイのタイレリア原虫の媒介ダニを知るためタイに分布するマダニである *Haemaphysalis bispinosa* と *Boophilus microplus* による伝播を検討したところ、*H. bispinosa* と *B. microplus* による、Thai 型と C 型タイレリア原虫の生物学的伝播の可能性が示唆された。

以上のように申請者は、タイに分布するタイレリア原虫について、はじめてその分子生物学的性状ならびに媒介ダニを明らかにした。この成績はタイでのタイレリ

ア原虫の防疫ばかりでなく、タイレリア原虫の分子系統進化に貴重な知見を提供した。よって、審査員一同は、申請者が博士（獣医学）の学位をうける資格を有すると認めた。