

第 62 回 日本寄生虫学会・日本衛生動物学会
北日本支部合同大会プログラム・講演要旨集

Proceedings of the 62th Joint Annual Meeting of Northern Branch of the Japanese
Society of Parasitology and the Japan Society of Medical Entomology and Zoology



October 15, 2016

School of Veterinary Medicine, Kitasato University
Towada, Aomori, Japan

平成28年10月15日(土)

北里大学獣医学部 V1 号館 1 階 V113 中講義室

第 62 回 日本寄生虫学会・日本衛生動物学会
北日本支部合同大会 概要

会 期：2016 年 10 月 15 日（土）

会 場：北里大学獣医学部 V1 号館 1 階（V113 中講義室）
青森県十和田市東二十三番町 35-1

大会長：工藤 上（北里大学獣医学部 獣医寄生虫学研究室 教授）

日 程： 8:40 受付開始
9:10 開会の辞
9:20 一般演題 1
10:32 休憩
10:45 一般演題 2
12:00 休憩・昼食、幹事会・理事会
13:30 公開講演会
丸山治彦 先生 宮崎大学医学部感染症学講座寄生虫学分野
「わが国における食肉由来寄生虫症の最近の動向」
14:30 一般演題 3
15:42 休憩
15:55 一般演題 4
17:10 総会
17:40 閉会の辞
18:30 情報交換会（会場：新和三）

会場： 青森県十和田市東三番町 3-5 第 2 キャスルビル 2F
TEL 0176-24-3113

会 費：当日受付にてお支払い下さい。

参加費：一般 2,000 円、学生 1,000 円

情報交換会費：一般 3,000 円、学生 2,000 円

発表形式：発表時間は講演 8 分、質疑応答 4 分の計 12 分です。Power Point (Windows 版) を用いた液晶プロジェクターによる発表のみとします。発表ファイルは USB メモリーに保存して当日ご持参下さい。なお、会場でのウイルスチェックは行いませんので、各自で事前にチェックをお願いします。

座長：前発表者が次の方の講演の座長を行う方式とします。ご協力をお願い致します。

大会事務局：北里大学獣医学部 獣医寄生虫学研究室（担当 筏井宏実）

〒034-8628 青森県十和田市東二十三番町 35-1

Tel：0176-23-4371（内線 494）

E-mail：ikadai@vmass.kitasato-u.ac.jp

大会参加者の皆様には会場へのアクセスの面でご不便をおかけいたしますが、何卒よろしくお願い致します。また、当日の服装は軽装でご参加ください。

アクセス：本学部（<http://www.kitasato-u.ac.jp/vmass/univ/access/index.html>）あるいは十和田市（<http://www.city.towada.lg.jp/docs/2012051700011/>）のアクセスガイドをご参照ください。なお、本学部の鉄道のアクセスガイドは北海道新幹線開通以前のものとなっていますので、最新の交通手段については交通機関ホームページなどで確認して下さい。

十和田観光電鉄（バス時刻表 <http://www.toutetsu.co.jp/jikoku.htm>）

七戸十和田駅 七戸十和田駅発着時刻表

八戸駅 八戸市から十和田市行き

三沢空港 三沢空港～八戸市内連絡バス、電車代替バス時刻表（十和田～三沢）

新幹線「七戸十和田駅」・「八戸駅」および「三沢空港」からの交通手段

JR 東北新幹線 七戸十和田駅⇒十和田市内

◎タクシー利用の場合 料金 約 4,500 円

◎路線バス利用の場合

十和田観光電鉄バス 約 30~45 分 運賃 650 円

【七戸十和田駅発】十和田市（三本木営業所）行き（十和田市中央下車）

JR 東北新幹線 八戸駅⇒十和田市内

◎タクシー利用の場合 料金 約 10,000 円

◎路線バス利用の場合

十和田観光電鉄バス 約 70 分 運賃 1,250 円

【八戸駅発】十和田市（元町東）行き（十和田市中央下車）

三沢空港（札幌丘珠→三沢 便数少）三沢空港⇒十和田市内

◎タクシー利用の場合 料金 約 6,000 円

◎路線バス利用の場合

十和田観光電鉄バス 三沢駅にて乗換になります

・〈三沢空港⇒三沢駅〉運賃 350 円

【三沢空港発】八戸行き（三沢駅下車）

・〈三沢駅⇒十和田市内〉運賃 630 円

【三沢駅発】十和田市（十和田市中央）行き

十和田市中央バス停から会場まで

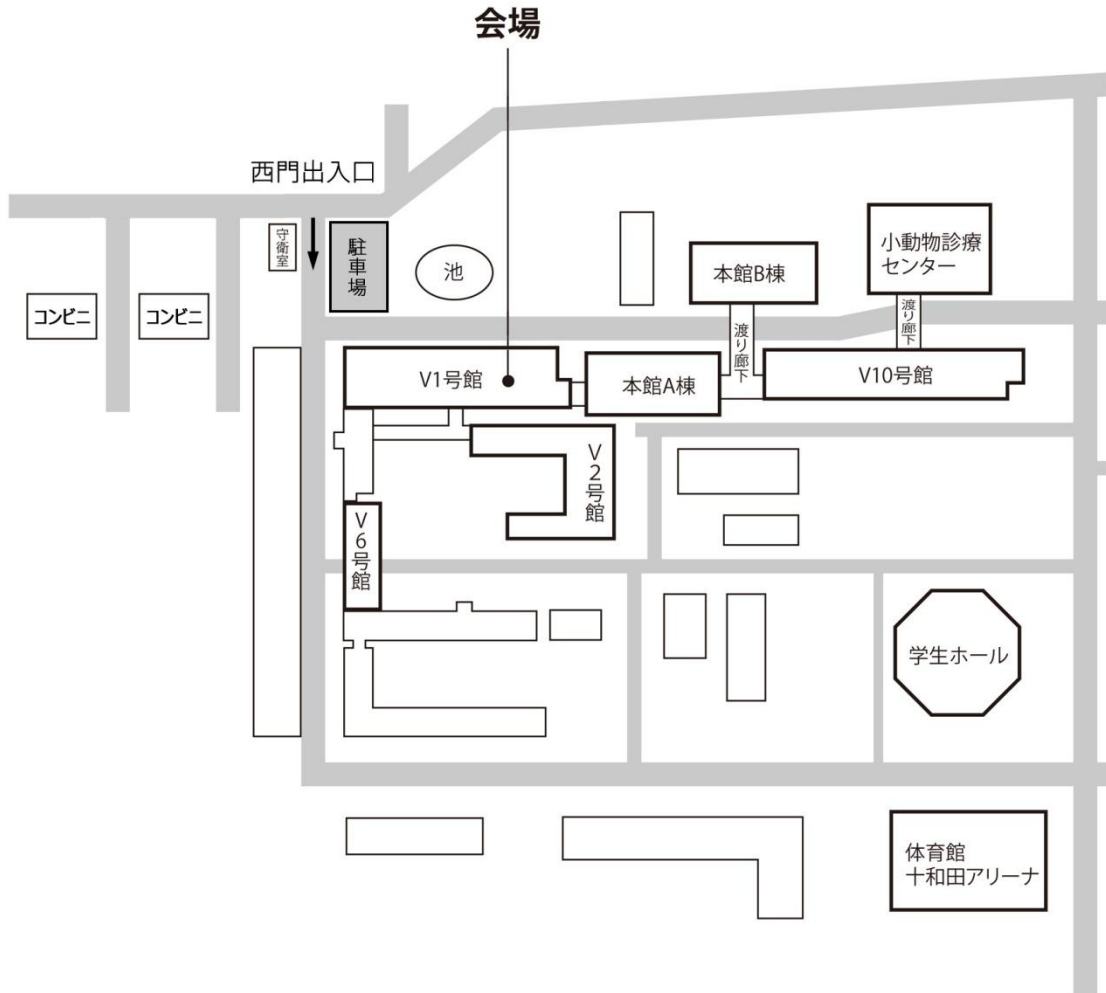
◎タクシー利用の場合 料金 約 1,500 円（約 2.5 km タクシーで 5 分）

◎路線バス利用の場合（便数少）

十和田観光電鉄バス 約 10 分 運賃 200 円

【十和田市中央発】三沢（三沢市役所・三沢高校）行き（北里大学通下車）

北里大学獣医学部 会場案内図



プログラム

9:10 – 9:20 開会の辞

大会長: 工藤 上 (北里大学)

9:20 – 10:32

一般演題 1

1. インドネシア共和国のスラウェシ島における *Anopheles* 属蚊の分布調査

- 鎌倉佑香¹⁾, 齋藤拓海¹⁾, 山口詩織¹⁾, ワヒド イスラ²⁾, 筏井宏実¹⁾ (¹⁾北里大・獣医寄生虫, ²⁾ハサヌディン大・医学部)

2. 盛岡市市街地におけるヒトスジシマカの生息域拡大

- 佐藤 卓 (岩手県環境保健研究センター)

3. *Culicoides pulicaris* 北海道で確認 (双翅目ヌカカ科)

- 伊東拓也 (北海道立衛生研究所)

4. 外来種および家庭動物のハリネズミ類から検出された外部寄生虫

- 浅川満彦 (酪農大・獣・感染/病理)

5. エゾマイマイを中間宿主とするブラキライマ属吸虫について

- 中尾 稔 (旭川医大)

6. 青森県姉沼におけるインガイ科 (*Unionidae*) 二枚貝の宿主

- 上杉翔太, 落合博之, 眞家永光, 丹治肇, 筏井宏実, 柿野 亘 (北里大・獣医学部)

(休憩 13 分間 10:32 – 10:45)

10:45 – 11:57

一般演題 2

7. 自由生活性アメーバ: *Balamuthia mandrillaris* の土壌からの分離と青森県内生息分布

- 坂本 倭²⁾, 山内可南子¹⁾, 関東和樹²⁾, 有馬弘晃¹⁾, 稲葉孝志¹⁾ (1)弘前大・大学院・保健学研究科, 2)弘前大・保健学科)

8. 土壌分析による *Balamuthia mandrillaris* 生息特性の解析

- 山内可南子¹⁾, 坂本 倭²⁾, 関東和樹²⁾, 有馬弘晃¹⁾, 稲葉孝志¹⁾ (1)弘前大・大学院・保健学研究科, 2)弘前大・保健学科)

9. *Balamuthia mandrillaris* の新規液体培地開発に向けた発育条件の比較検討

- 有馬弘晃¹⁾, 坂本 倭²⁾, 関東和樹²⁾, 山内可南子¹⁾, 稲葉孝志¹⁾ (1)弘前大・大学院・保健学研究科, 2)弘前大・保健学科)

10. ジミナゼン耐性 *B. gibsoni* 株の細胞内ジミナゼン濃度の測定

- 山崎真大¹⁾, 渡邊夏央²⁾, 井高菜月²⁾, 大田 寛²⁾, 滝口満喜²⁾ (1)岩手大・小動物内科, 2)北大・獣医内科)

11. 愛玩鳥類の *Cryptosporidium* spp. 感染状況

- 飯島裕子¹⁾, 伊藤直之¹⁾, 菅谷温子¹⁾, 伊藤洋一^{1,2)}, 木村祐哉¹⁾, 金井一亨¹⁾ (1)北里大・小動物第1内科, 2)伊藤動物病院)

12. エゾシカに寄生する *Sarcocystis ovalis* の終宿主動物としてのカラス類における感染状況調査

- 入江隆夫¹⁾, 池田徹也¹⁾, 中村鉄平^{2,3)}, 市居 修³⁾, 山田智子⁴⁾, 伊東拓也¹⁾, 山崎朗子⁵⁾, 高井伸二⁶⁾, 八木欣平¹⁾ (1)北海道立衛研・感染症, 2)日本食品分析センター千歳研究所, 3)北大院・獣医解剖, 4)ウトナイ湖野生鳥獣保護センター, 5)岩手大・獣医公衆衛生, 6)北里大・獣医衛生)

12:00 – 13:30

休憩・昼食、幹事会・理事会

13:30 – 14:30

公開講演会

わが国における食肉由来寄生虫症の最近の動向

丸山治彦（宮崎大学 医学部 感染症学講座 寄生虫学分野）

14:30 – 15:42

一般演題 3

13. 多包条虫の流行検出のための指標動物としてのイヌの重要性について

- 八木欣平¹⁾, 森嶋康之²⁾, 入江隆夫¹⁾, 孝口裕一¹⁾, 浦口宏二¹⁾, 野中成晃³⁾, 奥祐三郎⁴⁾, 吉川泰弘⁵⁾ (1)北海道衛研・感染症部, 2)感染研・寄生動物部, 3)宮崎大・農学部, 4)鳥取大・農学部, 5)千葉科学大)

14. *Hymenolepis microstoma* 幼虫の成熟における昆虫細胞との”接触”の意義

- 佐々木瑞希¹⁾, 甲賀大輔²⁾ (1)旭川医大・寄生虫学, 2)旭川医大・解剖学・顕微解剖学分野)

15. ホンドタヌキ (*Nyctereutes procyonoides viverrinus*) に寄生する鉤虫 *Arthrostoma miyazakiensis* および *Ancylostoma kushimaense* の分子学的解析

- 吾田歩美, 尾針由真, 板垣 匡 (岩手大・獣医寄生虫)

16. 槍形吸虫 *Dicrocoelium* 属の分類についての再評価

- 林 慶^{1,2)}, 唐文強³⁾, 鳳麻衣子¹⁾, 尾針由真^{1,2)}, 松尾加代子⁴⁾, 佐藤 宏⁵⁾,

Uday Kumar Mohanta^{1,2}, 板垣 匡^{1,2} (1)岩手大・獣医寄生虫, 2)岐阜連獣, 3)チベ
ット農牧科学院, 4)岐阜県食肉衛生検査所, 5)山口大・獣医寄生虫)

17. ニホンジカから検出された日本産肝蛭の遺伝的特徴

○ 尾針由真^{1,2}, 林 慶^{1,2}, Uday Kumar Mohanta^{1,2}, 野中成晃³, 佐藤 宏⁴, 板
垣 匡^{1,2} (1)岩手大・獣医寄生虫, 2)岐阜大院・連合獣医, 3)宮崎大・獣医寄生虫病, 4)
山口大・共同獣医寄生虫)

18. リコンビナント Cathepsin L1 を用いたウシにおける肝蛭症の診断用 ELISA の開発

○ 佐藤浩庸¹, 平谷寛樹², 林 慶¹, 藤森亜紀子³, 高島恵輔⁴, 一條俊浩⁵, 野
中成晃⁶, 山崎朗子², 鎌田洋一², 関まどか¹ (1)岩手大・獣医寄生虫, 2)岩手大・
公衆衛生, 3)岩手県食肉衛生検査所, 4)NOSAI 岩手・紫波・盛岡雫石家畜診療所, 5)岩
手大・産業動物内科, 6)宮崎大・獣医寄生虫)

(休憩 13 分間 15:42 – 15:55)

15:55 – 17:07

一般演題 4

19. 日本住血吸虫主要虫卵抗原 Sjp40 の血清診断への応用について

Jose Ma. M Angeles¹, 後藤康之², Lydia R. Leonardo³, Kharleezelle J.
Moendeg¹, Dang Trinh M. Anh¹, Pilarita T. Rivera³, Elena A. Villacorte³, 桐木
雅史⁴, 千種雄一⁴, Raymond L. Houghton⁵, 河津信一郎¹ (1)帯広大・原虫
研, 2)東大農院・応用免疫学, 3)フィリピン大・公衆衛生, 4)獨協医大・熱帯病寄生虫病,
5)InBios international, Inc.)

20. Natural pairing between *Schistosoma indicum* and *S. spindale*

○ Uday Kumar Mohanta, Yuma Ohari and Itagaki Tadashi (Vet. Parasitol. Iwate Univ.)

21. パベシアに対するサイバーグリーンIを用いた薬剤感受性テストの改良法の検討

- ツェルンドルジ ムンクジャルガル, 横山直明, 五十嵐郁男 (帯広大・原虫研)

22. Critical roles of extracellular phospholipids in sexual differentiation of *Plasmodium falciparum*.

- Takeshi Q Tanaka^{1,2}), Suzumi M. Tokuoka³), Daichi Nakatani²), Fumie Hamano³), Thomas E. Wellems⁴), Shin-ichiro Kawazu²), Kiyoshi Kita^{3,5}), Takao Shimizu^{3,6}), Fuyuki Tokumasu³) (1)香川大, 2)帯広大, 3)東京大, 4)米国立衛生研究所, 5)長崎大, 6)国立国際医療センター)

23. PbCap494 は蚊体内における oocyst 形成初期に関与する

- 木村勇太¹), 杉山真言²), 佐々木英恵³), 宮脇翔悟¹), 廣畑圭人¹), 筏井宏実¹)
(1)北里大・獣医寄生虫, 2)北里大・獣医解剖学, 3)ホクサン(株))

24. 青森県における羊の消化管内線虫調査ー冬から翌春にかけての寄生状況ー

- 堺 龍樹, 平林龍太郎, 工藤 上 (北里大・獣医寄生虫)

17:10 – 17:40

総会

17:40 – 17:50

閉会の辞

大会長:工藤 上 (北里大学)

18:30 –

情報交換会

会場:新和三 <http://www.artstowada.com/data.cgi?id=140712120603>

青森県十和田市東三番町 3-5 第2キャスルビル 2F

TEL 0176-24-3113

公開講演会

わが国における食肉由来寄生虫症の最近の動向

丸山治彦（宮崎大学医学部 感染症学講座）

Recent trends in meat-borne parasitic infections in Japan. Maruyama, H.

宮崎大学医学部寄生虫学研究室は、1986年にオクタブロー法と酵素抗体法による寄生虫症診断支援を開始し、現在では multiple-dot ELISA 法と microtiter plate ELISA 法を組み合わせ、年間 300～400 例の検査を受託し 100 例前後の寄生虫症の診断に関与している。対象疾患は主に蠕虫（吸虫・条虫・線虫）症で、検体は血清がほとんどである。検査依頼は九州を中心に西日本の医療機関からのものが多いが、東北北海道の医療機関からも検体が送付される。

2001年から2015年までの過去15年間の診断結果をまとめると、半数近くがトキソカラまたはブタ回虫による幼虫移行症で、約4分の1が肺吸虫症であった。次いで顎口虫症、マンソン孤虫症、アニサキス症がこれに続いた。近年の傾向として、トキソカラ・ブタ回虫による幼虫移行症の年間症例数が低下していた。

幼虫移行症、とくにトキソカラ症は、欧米の教科書では小児の病気であり、感染源は虫卵に汚染された土壌とされる。ところがわが国ではトキソカラ・ブタ回虫症は小児の患者はむしろまれで、明らかに成人の病気であり男性に多かった。患者の食歴から、感染源は土壌や生野菜ではなく、トリや牛の生肉・生レバーと考えられた。われわれが診断に関与した範囲では、患者の絶対数は九州が多いが、検査申込数で割った陽性率は近畿地方が高かった。これは、生肉嗜好性と関連があるものと推測される。

肺吸虫症は継続して年間症例が30から40で、日本人症例は中高年の男性に多く、外国人症例は比較的若い女性に多かった。感染源は、これまで淡水産のカニとイノシシ肉が知られていたが、最近、国立感染症研究所の杉山らが鹿児島県で捕獲したニホンジカの筋肉からウエステルマン肺吸虫の幼若虫体を見いだしたことから、われわれは肺吸虫症患者の食歴を再検討した。その結果、食歴がはっきりしている肺吸虫症380例のうち、シカ肉摂取歴があるものは76例で、そのうちイノシシ肉や淡水産のカニを摂取していないとするものが26例あった。感染源としてシカ肉が疑われる患者の多かった地域は岐阜県と大分県の山間部であり、一家4人がシカ肉で同時に感染したと考えられる症例もあった。われわれはまた、岐阜県で捕獲されたニホンジカ152頭中4頭の血清中に肺吸虫抗原に特異的な抗体を検出した。

以上より、国内の蠕虫症では感染源として食肉が重要な位置を占めていることがわかる。これに原虫のトキソプラズマ症や住肉孢子虫症も加わることから、生肉食には、畜産野生を問わず寄生虫感染のリスクがあることを一般に啓発していく必要がある。

1. インドネシア共和国のスラウェシ島における *Anopheles* 属蚊の分布調査

○鎌倉佑香¹⁾, 齋藤拓海¹⁾, 山口詩織¹⁾, ワヒド イスラ²⁾, 筏井宏実 (1)北里大・獣医寄生虫,
2) ハサヌディン大・医)

Distribution investigation into mosquito of *Anopheles* genus in Sulawesi Island, Indonesia.
Kamakura, Y., Saito, T., Yamaguchi, S., Wahid, I., Ikadai, H.

マラリア流行地域であるインドネシアは数多くの島々から構成されており、その風土、自然環境も多様である。インドネシア中部のスラウェシ島の山間部地域 (Aralle village (Av))、海沿いの2地域 (Tonyaman village(Tv)、Karama village(Kv)) と都市部 (Lakkang village(Lv)) におけるマラリアを媒介する *Anopheles* 属蚊の分布調査を行い、*Anopheles* 属蚊の形態学的分類と分子遺伝子学的分類の整合性の確認を行った。

Kelambu Interception Trap 法により *Anopheles* 属蚊の採取を行った。Kv から 17 匹、Lv から 59 匹、Tv から 160 匹、Av から 50 匹を採取した。それぞれの地域から採取された *Anopheles* 属蚊を形態学的特徴により分類した。その結果、*An. indefinitus*, *An. vagus*, *An. subpictus*, *An. barbumbrosus*, *An. barbirostris*, *An. kochi*, *An. hyrcanus* group の 7 種に分類された。ITS2 領域の塩基配列の決定により分子遺伝子学的に種の分類を行った。その結果、*An. vagus*, *An. subpictus*, *An. barbumbrosus*, *An. barbirostris*, *An. kochi*, *An. hyrcanus* group の 6 種に分類された。

形態学的に *An. indefinitus* と *An. vagus* と分類されていた蚊は一部 *An. subpictus* に分類された。また、*An. barbumbrosus* と分類された蚊は一部 *An. barbirostris* と *An. hyrcanus* group に分類された。採取された *An. vagus*, *An. subpictus*, *An. hyrcanus* group はそれぞれの地域間で違いは見られなかった。

以上より、今後インドネシアで *Anopheles* 属蚊の分類を行う際には、形態学的分類のみならず分子遺伝子学的に分類する必要がある。

2. 盛岡市市街地におけるヒトスジシマカの生息域拡大

○佐藤 卓 (岩手県環境保健研究センター)

Distribution expansion of *Aedes albopictus* in Morioka city urban area. Satou, T.

ウイルス性感染症対策上重要なヒトスジシマカについて、我々は岩手県内の生息分布調査 (幼虫調査) を 2009 年から継続して実施しており、その生息北限が盛岡市であることを明らかにした。

岩手県におけるヒトスジシマカの生息北限は、2000 年には一関市、2007 年には花巻市と年々北上してきた。盛岡市では市街地南部地域において 2009 年及び 2010 年と 2 年連続して同一地点で同蚊の生息を確認したことから、同地点を定着北限とした。その後、盛岡市市街地における同蚊の生息は、2012 年には北上川の幅 300m を超す広い河川敷に隔てられた地域、2014 年にはさらに約 3km 北西の地域、2016 年には 2014 年地点から約 2km 北の地域で確認され、年々生息分布域が拡大していることが確認された。ヒトスジシマカの飛翔範囲は半径 100m 程度であり、盛岡市市街地における生息地が点的に分布していることから、同蚊の移動が飛翔のみではなく、電車や自動車等の交通機関によって移動し、定着したことが推測される。

また、ヒトスジシマカの生息が確認された地点においても、シーズン初期の 6 月中旬には同蚊の幼虫が確認されないが、シーズン後期である 9 月以降にヒトスジシマカの幼虫のみが確認された地点もあった。生息条件の厳しい北限地域である盛岡市市街地においては、越冬卵により繁殖ができる地点と越冬卵による繁殖はできないがシーズン中に成虫が何らかの方法で輸送され、シーズン限定で繁殖している地点が混在している可能性がある。

3. *Culicoides pulicaris* 北海道で確認（双翅目ヌカカ科）

○伊東拓也（北海道立衛生研究所）

Confirmation of *Culicoides pulicaris* (Diptera: Ceratopogonidae) in Hokkaido. Ito, T.

Culicoides pulicaris (Linnaeus), 1758 は, *Culicoides* 亜属のなかでも近似種が多く, これらの種は翅斑紋の共通性などから *Pulicaris Group* として扱われることもある. 日本については従来 *C. pulicaris* 1 種のみが分布するとされてきたが, Kitaoka 1984 は日本の集団は *C. pulicaris* ではなく, *C. punctatus* (Meigen), 1804 ホシヌカカであると同定した. *C. punctatus* は *C. pulicaris* の変種とされることもあったが, 近年では独立した種とされており, メス成虫では翅斑紋で同定できる. 北海道においても *C. punctatus* が広く分布している. 今回, 北海道根室地方の別海町及び標津町, 宗谷地方の猿払村の 3 カ所において *C. pulicaris* を採集した. 採集された個体はすべてメスで, 斑紋を含む特徴は, 欧州・ロシア・中国における先行研究と一致した. さらに, 18S rDNA の塩基配列では特定位置に両種間で相異がみられた. 採集環境は 3 カ所ともに海浜性砂丘後背湿地周辺で, 付近にはガンコウラン群落などがあることから, 冷涼な場所であると推定される. また, 本種はヒトを含むほ乳類を吸血することが知られており, 日本のヒト吸血昆虫に新たに 1 種が加わったことになるが, 北海道では今のところ吸血源動物に関する情報はない.

同定の確認並びに検鏡技術等についてご教示いただいた北岡茂男博士に感謝いたします.

4. 外来種および家庭動物のハリネズミ類から検出された外部寄生虫

○浅川満彦（酪農大・感染/病理）

Exoparasites obtained from alien and captive hedgehogs, Japan. Asakawa, M.

[背景と目的] アムールハリネズミ（以下、アム）*Erinaceus amurensis* は東アジアから北東アジアに自然分布し, 日本では家庭用動物として輸入されたものが, 野外で繁殖し, 2005 年に特定外来生物（特定外来生物による生態系等に係る被害の防止に関する法律）として指定されたことから, 事実上, この種を含む *Erinaceus* 属は輸入禁止された. そのため, この指定外である別属別種・アフリカ中央部原産のヨツユビハリネズミ（以下、ヨツ）*Atelerix albiventris* が家庭動物として国内で多数流通している. 以上のような背景から, 演者のもとに外部寄生虫に関しての問い合わせや調査依頼が増加した. 今回はこれら 2 種から見出された種について紹介をする. なお, 以下の事例は, 田中ら (2016) と竹内 (2016) らの検査事例を基にした.

[材料] 静岡県内有害捕獲個体のアムおよび東京都内診療個体のヨツから得られた外部寄生虫が供された.

[結果と考察] アムではキチマダニ *Haemaphysalis flava*, タカサゴキララマダニ *Amblyomma testudinarium*, キュウセンダニ類 *Caparinia erinacei* が, また, ヨツでは *Caparinia tripilis* が得られた. しかし, 寄生性昆虫類は見出されなかった. 特に, キュウセンダニ類に関しては, 概して宿主特異的であるにも関わらず, 日本に定着を遂げていたことが考えられた. また, 野外のマダニ類については, アムが新たな吸血源動物としての役割の一端を担いつつあることが示唆された.

[引用文献] 田中祥菜ら. 2016. 都内の愛玩用ヨツユビハリネズミ *Atelerix albiventris* より検出された *Caparinia* 属ダニ類（キュウセンダニ科 Psoroptidae）. JVM. 69: 443-445. 竹内萌香ら. 2016. 静岡県内で外来種として定着したアムールハリネズミ *Erinaceus amurensis* から得られた内外寄生虫. 第 22 回日本野生動物医学会大会講演要旨集, 宮崎大学: 印刷中.

5. エゾマイマイを中間宿主とするブラキライマ属吸虫について

○中尾 稔 (旭川医大)

Brachylaima sp. (Trematoda: Brachylaimidae) using *Ezohelix gainesi* as an intermediate host. Nakao, M.

旭川市神楽岡公園は住宅地に囲まれた面積約 41ha の都市公園で、忠別川沿いの丘陵地には広葉樹の自然林が保全されている。この公園内の両生類の寄生虫相を調べている際、アズマヒキガエルの消化管から *Brachylaima* sp. (ブラキライマ科吸虫) の未熟成虫を発見した。この属の構成種は主に鳥類と哺乳類を終宿主とするため、両生類への寄生は偶発的なものと考えられた。公園内の軟体動物が中間宿主と予想されたため、陸貝を採集して吸虫感染を調べたところ、自然林に高密度に生息するエゾマイマイの約 1 割が肝臓にスポロシスト、約 9 割が腎臓にメタセルカリアを保有していた。公園内にはエゾリス・アカネズミ・エゾヤチネズミなどの哺乳類が生息し、アカギツネも散見される。アカネズミ・エゾヤチネズミの一部を捕獲して、腸管内の寄生虫を調べたが、*Brachylaima* sp. を発見することはできなかった。エゾマイマイから回収したメタセルカリアをプレドニゾロンで炎症を抑制したマウスに経口投与したところ、回腸に成熟成虫が寄生した。得られた成虫は精巣が巨大で、本邦で確認された既知種とは形態が異なるため、新種であると考えられた。エゾマイマイから得られたメタセルカリア 30 個体について、そのミトコンドリア DNA (*cox1*) の塩基配列を決定したところ、6 個のハプロタイプを検出した。自然界の終宿主は不明であるが、遺伝的多型が保たれていること、北海道在来種を中間宿主とすることから、この吸虫は外来種ではなく、古くから旭川に分布していたものが生息環境の都市化によって公園内に封じ込められたものと推察された。

6. 青森県姉沼におけるイシガイ科(Unionidae)二枚貝の宿主

○上杉翔太, 落合博之, 眞家永光, 丹治 肇, 筏井宏実, 柿野 亘 (北里大・獣医学部)

Host fish species of Unionid mussel in Anenuma Lake, Aomori Prefecture. Uesugi, S., Ochiai, H., Maie, N., Tanji, H., Ikadai, H. and Kakino, W.

イシガイ類は、特定の宿主魚にグロキディウム幼生が寄生する本類独特の生活環を有している。一時は、水産分野において、サケ・マス類への寄生に起因する鰓病について報告された。しかし、近年、本類の生態的機能の評価および生息分布が消失、縮小していることから、保全の対象となっている。以上から、種ごと水域ごとの宿主を把握することは、極めて重要な課題である。本研究では、青森県東部に位置する姉沼において、イシガイ科二枚貝の宿主魚種を調べた。その結果、宿主魚種として認められたのは、フネドブガイ (*Anemina arcaeiformis*) ではジュズカケハゼ、ウグイ、ドブガイ属 (*Sinanodontia* spp.) ではワカサギ (*Hypomesus nipponensis*)、ジュズカケハゼ (*Gymnogobius castaneus*)、ヌマチチブ (*Tridentiger brevispinis*)、ウグイ (*Tribolodon hakonensis*) であり、イケチョウガイ (*Hyriopsis Schlegelii*) ではワカサギ、ジュズカケハゼ、ヌマチチブであり、ヨコハマシジラガイ (*Inversiunio jokohamensis*) でジュズカケハゼ、ヌマチチブ、ウグイであった。また、本水域における魚類の種構成を調べ、宿主魚種ごとのイシガイ科二枚貝への繁殖の貢献度を概算した。その結果、魚種構成ではワカサギが優占しており、貢献度が高かった宿主として、ドブガイ属ではワカサギ、フネドブガイ、イケチョウガイ、ヨコハマシジラガイでは主にジュズカケハゼであることが示唆された。なお、フネドブガイ稚貝が初めて県内で確認された。

7. 自由生活性アメーバ: *Balamuthia mandrillaris* の土壌からの分離と青森県内生息分布

○坂本 倭²⁾, 山内可南子¹⁾, 関東和樹²⁾, 有馬弘晃¹⁾, 稲葉孝志¹⁾ (1)弘前大学大学院保健学研究科, 2)弘前大学保健学科)

Free-Living Amoeba Isolation from the soil of *Balamuthia mandrillaris* and habitat distribution in Aomori, Japan. Sakamoto, Y., Yamanouchi, K., Kanto, K., Arima, H., Inaba, T.

病原性自由生活性アメーバは、傷口や皮膚、鼻腔などから侵入し、皮膚アメーバ症やアメーバ性髄膜脳炎(GAE)などを引き起こすといわれ、現在有効な治療法もなく罹患者はほぼ 100 % の割合で死に至る。国内における GAE は、2015 年までに 10 症例確認されており、そのうち 8 症例が *B. mandrillaris* によるものである。ほぼ全ての罹患報告で感染源や感染経路は不明である。本研究は、自然環境下からの感染が示唆される本アメーバの国内生息状況を明らかにするため、青森県内土壌を用い本アメーバの分離培養を試みた。単離に至った大型アメーバ (Leptomyxid ameba) は、PCR により 16S rRNA 領域を増幅し、遺伝子配列を解読した。また neighbor-joining method による系統樹を作成した。培養の結果、41 検体土壌中 18 検体で Leptomyxid ameba の出現を確認し、3 検体で PCR 陽性であった。また土壌 DNA を用いた PCR の結果、41 検体土壌中 5 検体で陽性であった。これまで、環境下からの本アメーバの分離は南米や中東などで報告され、温暖な気候地域に偏っていた。しかし、寒冷な気候を持つ青森県内から分離されたことから本アメーバは多様な環境下で適応し生息している可能性が高いと思われる。

8. 土壌分析による *Balamuthia mandrillaris* 生息特性の解析

○山内可南子¹⁾, 坂本 倭²⁾, 関東和樹²⁾, 有馬弘晃¹⁾, 稲葉孝志¹⁾ (1)弘前大学大学院保健学研究科, 2)弘前大学保健学科)

Habitat characteristics analysis of *Balamuthia mandrillaris* in soil. Yamanouchi, K., Sakamoto, Y., Kanto, K., Arima, H., Inaba, T.

Leptomyxid ameba に分類される *Balamuthia mandrillaris* は我々の生活環境下に身近な土壌や湖沼、塵埃などに生息する自由生活性アメーバ (FLA) である。本アメーバは髄膜脳炎 (*Balamuthia amoebic encephalitis*: BAE) を引き起こすことで知られ国内感染者も複数報告されていたが、本アメーバの国内生息状況は不明であった。しかし当研究室では、青森県内土壌から数種の *B. mandrillaris* を分離し、日本国内において本アメーバが生息していることを明らかにした。そこで本研究では *B. mandrillaris* 生息土壌の解析を通じて、本アメーバの環境下における生息特性を明らかにする試みである。

土壌 30 検体に対し、含水比、pH、電気伝導率、土壌密度解析を実施した。*B. mandrillaris* 陽性土壌の pH は 7.57 ± 0.67 、未出現土壌は 6.74 ± 0.80 であった。また、電気伝導率は陽性 $85.10 \pm 34.08 \mu\text{S}/\text{cm}$ に対し陰性 $50.01 \pm 41.62 \mu\text{S}/\text{cm}$ であった。*B. mandrillaris* は酸性土壌では生息できず、またミネラル分を含んだ土壌を好んでいる可能性が示唆された。現在、生息土壌の粒径分析を行っており、本学会にて土種調査結果について加えて報告する。

9. *Balamuthia mandrillaris* の新規液体培地開発に向けた発育条件の比較検討

○有馬弘晃¹⁾, 坂本 倭²⁾, 関東和樹²⁾, 山内可南子¹⁾, 稲葉孝志¹⁾ (1)弘前大学大学院保健学研究科, 2)弘前大学保健学科)

The comparison of the growth condition for the newly liquid culture medium development of *Balamuthia mandrillaris*. Arima, H., Sakamoto, Y., Kanto, K., Yamanouchi, K., Inaba, T.

B. mandrillaris は髄膜脳炎の原因アメーバとして知られ, その生息域は土壌や水などの生活に身近な環境下であると考えられている. 本研究室で培養する環境由来 *B. mandrillaris* も青森県内土壌から分離した株である. 継代培養にあたって, これまで報告されている *B. mandrillaris* 用培地 BM-3 やアフリカミドリザル腎細胞 COS-7 を使用した細胞培養を行ったが, 発育することではなくアメーバは短期間のうちに死滅してしまうことが分かった. そこで, 我々は環境分離 *B. mandrillaris* の新たな培養法を構築することを企図した.

環境分離 *B. mandrillaris* は, 無栄養の寒天培地上で, 長期間発育することが可能である. しかしながら, 既報の液体培地に移行することで, 未知の雑菌群に培地を汚染され発育が阻害された. この細菌群は, *B. mandrillaris* の共生細菌であると思われ, その存在を証明するため LIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability Kit (Thermo Fisher) にて染色し, アメーバの栄養型とシスト共に, 細菌が取り込まれ生存していることを明らかとした. 現在, この共生細菌の発育を抑制しながらアメーバの培養を可能とする培地の開発を行っている. 発育が可能であった液体培地は, 既報の BM-3 などに比べ電気伝導率が 200 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 前後と低値であった. また, 加えてアメーバの発育が可能な抗生剤の濃度を選択しており, 無菌培養の可能性を模索している.

10. ジミナゼン耐性 *Babesia gibsoni* 株の細胞内ジミナゼン濃度の測定

○山崎真大¹⁾, 渡邊夏央²⁾, 井高菜月²⁾, 大田 寛²⁾, 滝口満喜²⁾ (1)岩手大・小動物内科, 2)北大・獣医内科)

Measurement of diminazene concentrations in diminazene resistant *Babesia gibsoni* isolate. Yamasaki, M., Watanabe, N., Idaka, N., Ohta, H., Takiguchi, M.

Babesia gibsoni は犬に感染し, 犬バベシア症を引き起こす. 治療には広くジミナゼン・アセチュレート (DA) が利用されているが, 治療効果が低い場合があり, DA 耐性を獲得すると考えられている. 演者らは, *in vitro* にて維持している培養 *B. gibsoni* を利用し, DA に耐性を持つ *B. gibsoni* を作製した. その後, この DA 耐性 *B. gibsoni* 株の性質の解析を行っているが, DA 耐性のメカニズムについては明らかに出来ていない. そこで本研究では, DA 耐性 *B. gibsoni* 株においては DA の取り込みの低下, あるいは排泄の亢進が起きているのではないかと予測し, *B. gibsoni* 体内の DA 濃度の測定を試みた.

DA 濃度の測定に関しては, HPLC を用いた方法が報告されていたため, これを利用した. COSMOSIL/COSMOGEL 5C₁₈-MS waters (4.6×150 mm) カラムを用いて, 30%アセトニトリルを移動相溶媒として分析を行った. 野生株および DA 耐性株のそれぞれの *B. gibsoni* を総量 12 mL に増やし, 赤血球から分離, 回収したものをサンプルとして測定を行った.

HPLC を用いた DA 濃度の測定は可能であり, 様々な濃度の DA を測定することで検量線を作製した. 次に, *B. gibsoni* を破碎したものをサンプルとして測定し, 得られた結果を検量線に当てはめ, 濃度を算出したところ, 合計 5 回の測定においていずれも DA 濃度は DA 耐性株において野生株と比較して低い値を示し, DA 耐性 *B. gibsoni* 株体内の DA 濃度は明らかに低下していた.

以上より, DA 耐性 *B. gibsoni* 株では DA の排泄が亢進あるいは取り込みが低下していることが予想された.

11. 愛玩鳥類の *Cryptosporidium* spp.感染状況

○飯島裕子¹⁾, 伊藤直之¹⁾, 菅谷温子¹⁾, 伊藤洋一^{1,2)}木村祐哉¹⁾, 金井一亨¹⁾ (1)北里大・小動物第1内科, 2)伊藤動物病院)

The detection and identification of *Cryptosporidium* spp. from pet birds in Japan. Iijima, Y., Itoh, N., Sugaya, A., Ito, Y., Kimura, Y., Kanai, K.

クリプトスポリジウム症は, *Cryptosporidium* spp.原虫によって引き起こされ, その一部は人獣共通感染症である. 鳥類においては, 最も蔓延している寄生虫症の1つとされる一方, 国内での報告は限られている. 今回, ペットショップで販売されている愛玩鳥類を対象に, PCRとシーケンス解析を用いて *Cryptosporidium* spp.の検出および種の同定を行った.

国内5か所のペットショップから, 計275検体の鳥類の糞便を収集した. 鳥種の内訳は, オウム目155検体, カエデチョウ科68検体, アトリ科22検体, キジ目22検体, ハト目5検体, ムクドリ科2検体, カモ目1検体であった. 糞便から市販のキットを用いDNAを抽出した. *Cryptosporidium* spp.に特異的なプライマーを用いて nested-PCRを実施し, シーケンス解析により種の同定を行った.

全体で8.7% (24/275)が *Cryptosporidium* spp.陽性となった. 鳥種グループごとでは, カエデチョウ科14.7% (10/68), アトリ科13.6% (3/22), オウム目6.5% (10/155), キジ目4.5% (1/22)であった. 解析により, 13検体が *C. galli*, 8検体が *Cryptosporidium* avian genotype III, 3検体が *C. baileyi*として同定された. カエデチョウ科の陽性検体は全て *C. galli*であった. また avian genotype IIIは全てオウム目から検出された. 今回, 検出された *Cryptosporidium* spp.は, どれも哺乳類への感染の可能性は比較的低いとされる種であり, 人への感染リスクは低いことが示唆された. 一方で, *C. galli*は鳥類の前胃に寄生し, 発症した場合には高い致死率を示すことから, 特にカエデチョウ科の検体で本種が多く検出されたことは, 鳥類のクリプトスポリジウム症の疫学においては重要なことと言える.

12. エゾシカに寄生する *Sarcocystis ovalis* の終宿主動物としてのカラス類における感染状況調査

○入江隆夫¹⁾, 池田徹也¹⁾, 中村鉄平^{2,3)}, 市居修³⁾, 山田智子⁴⁾, 伊東拓也¹⁾, 山崎朗子⁵⁾, 高井伸二⁶⁾, 八木欣平¹⁾ (1)北海道立衛研・感染症, 2)日本食品分析センター千歳研究所, 3)北大院・獣医解剖, 4)ウトナイ湖野生鳥獣保護センター, 5)岩手大・獣医公衆衛生, 6)北里大・獣医衛生)

Survey on corvid birds as definitive host for *Sarcocystis ovalis* in Hokkaido, Japan. Irie, T., Ikeda, T., Nakamura, T., Ichii, O., Yamada, N., Ito, T., Yamazaki, A., Takai, S., Yagi, K.

北海道に生息するエゾシカの筋肉中には *Sarcocystis* 属原虫の感染が広く知られているが, 種の同定や種別の寄生状況 (寄生率や地域差など) についてはほとんど検証されていない. 一部の種については人への病原性を持つことが示唆されていることから, 感染虫種を特定し, エゾシカへの感染源となる終宿主動物を明らかにしていくことは, コントロールの上でも重要と考えられる. そこで我々は, 属や種に特異的な遺伝子配列を用いてシカ寄生の一種について *Sarcocystis ovalis* であると同定し, さらに推定された終宿主動物であるカラス類における保有状況を調査した.

2015年8月から2016年7月に, 苫小牧市内で発見されたカラス類の死体 (ハシブトガラス22羽, ハシボソガラス20羽) を回収し, 解剖検査を行った. その結果, スポロシストを排出している個体は見出せなかったものの, ハシブトガラス1羽の小腸組織から *S. ovalis* の遺伝子を検出し, 病理学的にも小腸の粘膜内に有性生殖像を確認した.

このことから, エゾシカに寄生する *S. ovalis* について, ハシブトガラスが自然界での終宿主動物のひとつであることを本邦で初めて明らかとした.

13. 多包条虫の流行検出のための指標動物としてのイヌの重要性について

○八木欣平¹⁾, 森嶋康之²⁾, 入江隆夫¹⁾, 孝口裕一¹⁾, 浦口宏二¹⁾, 野中成晃³⁾, 奥祐三郎⁴⁾, 吉川泰弘⁵⁾ (1)北海道衛研・感染症部, 2)感染研・寄生動物部, 3)宮崎大・農学部, 4)鳥取大・農学部, 5)千葉科学大)

Detection of *Echinococcus multilocularis* from dogs as the centinel animal. Yagi, K., Morishima Y., Irie T., Kouguchi, H., Uruguchi K., Nonaka N., Oku Y and Yoshikawa Y.

北海道では多包条虫の流行状況を把握するため、毎年有害獣駆除等で捕獲されるキツネを解剖検査し、その感染率が公表されている。一方イヌについても、放浪犬や不要犬として扱われたイヌの解剖検査が行われてきたが、近年検査の対象となるイヌは激減し、最近の感染状況は明らかにされていない。1997-2007年にNonakaらが糞便内抗原の検出法を開発し、4768頭の北海道のイヌの調査を行ったところ、0.7%が糞便内抗原陽性、0.4%が虫卵陽性であった。30%前後のキツネの感染率と比べると高い値ではないが、人への感染リスクを考慮した場合、キツネより重要といえる。そこで、最近のイヌの感染状況を把握するため、道内のイヌ保護収容施設で抑留されていたイヌ119頭について糞便検査を行った。その結果、1頭(0.8%)から多包条虫の虫卵を検出した。このことから、現状においても引き続きイヌの感染と管理については十分に注意する必要があることが明らかになった。

本州に於いては2005年埼玉県、2014年愛知県の動物管理センターに抑留されたイヌの糞便中に、多包条虫の虫卵が確認されている。このことにより、人の患者の発生では明らかにできない多包条虫の移入がある可能性が示された。流行地においてはその感染リスクの存在の確認のため、これから流行が広がる可能性のある地域においては、流行の拡大の把握のために、イヌの指標動物としての役割は大きいものと考えている。

14. *Hymenolepis microstoma* 幼虫の成熟における昆虫細胞との”接触”の意義

○佐々木端希¹⁾, 甲賀大輔²⁾ (1)旭川医大・寄生虫学, 2)旭川医大・解剖学講座顕微解剖学)

The direct contact between *H. microstoma* larvae and host insect cells is important for the maturation of larvae to cysticercooids. Sasaki, M. and Koga, D.

条虫の幼虫が体表から物質を吸収するしくみは未だ明らかになっていない。我々はフィーダー細胞を用いた *in vitro* 培養系を用いて *H. microstoma* 幼虫の発育を観察する過程で、幼虫が発育初期から昆虫細胞と接着している様子を確認した。昆虫細胞との直接接触が *cysticercooid* の成熟に必要なのか確認するため、ポアサイズ 1 μm のフィルターで幼虫と昆虫細胞を隔離して培養した。その結果、直接接触のある場合と比較して初期の発育に遅れがみられた上、頭部は形成されなかった。そこで、幼虫の発育および成熟には宿主昆虫細胞との直接接触が重要なのではないかと考えた。

我々はこれまで、*H. microstoma* 幼虫は昆虫の血体腔に浮遊する形で寄生していると思い込んでいた。そこでもう一度丁寧に昆虫を解剖して観察すると、幼虫は *fat body* と思われる組織と接触している様子が観察された。以上のことから、*H. microstoma* 幼虫の発育、成熟には宿主昆虫の *fat body* との直接接触が必要である可能性が示唆された。今後は接触部位の微細構造を解析するとともに、どのような物質が幼虫の発育および成熟に必要なのか明らかにしたい。

15. ホンドタヌキ (*Nyctereutes procyonoides viverrinus*) に寄生する鉤虫 *Arthrostoma miyazakiensis* および *Ancylostoma kushimaense* の分子学的解析

○吾田歩美, 尾針由真, 板垣 匡 (岩手大・獣医寄生虫)

Molecular characterization of *Arthrostoma miyazakiensis* and *Ancylostoma kushimaense* detected from raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides viverrinus*). Azuta, A., Ohari, Y., Itagaki, T.

【背景】*Arthrostoma miyazakiensis* および *Ancylostoma kushimaense* はタヌキで高率で感染が認められる鉤虫であり、日本では他のイヌ科動物からの検出報告もある。鉤虫類には *A. caninum* や *A. braziliense* などイヌへの感染や、ヒトに皮膚爬行症を引き起こす種が知られている。タヌキから検出される鉤虫はこれらの種と形態学的に類似しており、識別することは困難を伴うことから、感染が見過ごされている可能性もある。これらの鉤虫種については DNA 情報が蓄積されているが、*A. kushimaense* と *A. miyazakiensis* に関する情報はない。そこで本研究ではこの二種の鉤虫の DNA 情報の蓄積を試みた。

【方法】死亡したタヌキ 4 頭の消化管内から検出された鉤虫 14 隻を 70% エタノール固定および -30°C で冷凍保存し、内部形態を観察した。また、虫体の一部から DNA を抽出し、ダイレクトシーケンス法にてリボソーム DNA の ITS2 領域 (222bp) を解析した。

【結果】*A. kushimaense* は ITS2 領域において種内変異がみられず、*A. miyazakiensis* は 0.6% の種内変異がみられた。また、*Ancylostoma* 属の鉤虫と比較した場合、2.4~13% の種間変異がみられた。*A. kushimaense* は特に *A. ceylanicum* と相同性が高く、ITS2 領域での識別が困難であることが判明した。今後は *cox* 領域など他のミトコンドリア DNA を解析し、種間の識別をより簡便にするため、制限酵素などを用いた診断法の確立を目指したい。

16. 槍形吸虫 *Dicrocoelium* 属の分類についての再評価

○林 慶^{1,2)}, 唐 文強³⁾, 鳳麻衣子¹⁾, 尾針由真^{1,2)}, 松尾加代子⁴⁾, 佐藤 宏⁵⁾, Uday Kumar Mohanta^{1,2)}, 板垣 匡^{1,2)} (1)岩手大・獣医寄生虫, (2)岐阜連獣, (3)チベット農牧科学院, (4)岐阜県食肉衛生検査所, (5)山口大・獣医寄生虫)

Taxonomic reappraisal of the genus *Dicrocoelium*. Hayashi, K., Tang, W.Q., Ohtori, M., Ohari, Y., Matsuo, K., Sato, H., Mohanta, U. K., Itagaki, T.

【背景】アジアに分布する槍形吸虫 *Dicrocoelium* 属には *D. dendriticum* および *D. chinensis* の 2 種が知られており、これらは精巢の位置などの形態的特徴によって容易に識別できるとされてきた。今回、形態的にこれら 2 種の間の特徴を有する *Dicrocoelium* sp. を見出した。そこで、このような虫体の形態学および分子学的特性を解析し、既存の *D. dendriticum* および *D. chinensis* の 2 種と比較することで、*Dicrocoelium* 属の分類についての再評価を試みた。

【材料と方法】中国青海省においてヤク 1 頭より得られた *Dicrocoelium* sp. 4 隻を解析に用いた。まず、虫体を染色し、その形態的特徴を解析した。次に、虫体前部より DNA を抽出し、ITS2 領域の塩基配列を PCR ダイレクトシーケンス法により明らかにした。ITS2 の塩基配列を用いて近隣結合法を用いて系統樹を作製し、*D. dendriticum* および *D. chinensis* の 2 種との関係について分子系統学的に解析した。

【結果と考察】*Dicrocoelium* sp. は精巢の位置などの形態的特徴は *D. dendriticum* に類似した特徴を示した。一方、系統樹において、*Dicrocoelium* sp. は *D. chinensis* と近縁であることが示唆された。さらに、*Dicrocoelium* sp. の ITS2 領域の塩基配列は *D. dendriticum* よりも *D. chinensis* との間に高い相同率を示したものの、*Dicrocoelium* 属の種内における相同率からは逸脱した値であった。これらの結果は、*Dicrocoelium* 属が隠蔽種を含んでいる可能性を示唆している。

17. ニホンジカから検出された日本産肝蛭の遺伝的特徴

○尾針由真^{1,2)}, 林 慶^{1,2)}, Uday Kumar Mohanta^{1,2)}, 野中成晃³⁾, 佐藤 宏⁴⁾, 板垣 匡^{1,2)} (1)岩手大・獣医寄生虫, 2)岐阜連獣, 3)宮崎大・獣医寄生虫病, 4)山口大・獣医寄生虫)
Genetic characterization of *Fasciola* flukes detected from sika deer in Japan. Ohari, Y., Hayashi, K., Mohanta, U. K., Nonaka, N., Sato, H., Itagaki, T.

【背景・目的】近年、家畜における肝蛭の寄生率は減少したが、一方で野生のニホンジカ *Cervus nippon*(以下、シカ)において高い寄生率が報告されている。このことからシカが肝蛭の保虫宿主となり、家畜との間で相互伝播が生じることが懸念されているため、その解明に両者に寄生した肝蛭の遺伝学的特徴やその分布の解析が必要であると考えられる。そこで本研究では、シカから検出された肝蛭における遺伝学的特徴を明らかにし、既存の家畜由来肝蛭における遺伝学的特徴との比較を行なった。

【材料・方法】北海道、山口県および宮崎県のシカ 6 頭から検出された肝蛭 24 虫体について、核 DNA の Internal transcribed spacers 1 (ITS1), phosphoenolpyruvate carboxykinase (*pepck*), DNA polymerase delta(*pold*)およびミトコンドリア DNA の NADH dehydrogenase subunit 1(*nad1*)の各領域における解析を行なった。

【結果・考察】解析した全虫体において *pepck* および *pold* が Fh/Fg 型を示し、*nad1* では Fsp1 ハプロタイプと塩基配列が完全に一致した。また ITS1 については 21 虫体が Fh/Fg 型を示し、山口県で検出された 3 虫体は Fh 型を示した。これらのことから、シカにおいてもハイブリッド型の肝蛭が寄生していることが明らかになった一方で、採集地それぞれにおいて報告のある家畜由来肝蛭の遺伝的特徴とは異なった特徴を示すことがわかった。これは肝蛭の遺伝学的特徴の分布が終宿主における生息域の違いに起因することを示唆する可能性がある。

18. リコンビナント Cathepsin L1 を用いたウシにおける肝蛭症の診断用 ELISA の開発

○佐藤浩庸¹⁾, 平谷寛樹²⁾, 林 慶¹⁾, 藤森亜紀子³⁾, 高島恵輔⁴⁾, 一條俊浩⁵⁾, 野中成晃⁶⁾, 山崎朗子²⁾, 鎌田洋一²⁾, 関まどか¹⁾ (1)岩手大・獣医寄生虫, 2)岩手大・公衆衛生, 3)岩手県食肉衛生検査所, 4)NOSAI 岩手・紫波・盛岡雫石家畜診療所, 5)岩手大・産業動物内科, 6)宮崎大・獣医寄生虫)

Development of ELISA for fasciolosis in Cattle using Recombinant Cathepsin L1 Protease. Sato, H., Hiraya, H., Hayashi, K., Fujimori, A., Takashima, K., Ichijo, T., Nonaka, N., Yamazaki, A., Kamata, Y., Ichikawa-Seki, M.

【背景】国内では肝蛭の粗抗原を用いた ELISA が報告されているが、一般に、粗抗原は他の寄生虫とのクロスリアクションが多く、また肝蛭症が減少した今日では粗抗原を得るための虫体が入手困難である。一方、海外では肝蛭の cathepsin L1 (cat-L1) を用いた ELISA が報告されている。そこで、本研究では cat-L1 を抗原とした ELISA を確立し、国内でウシの疫学調査に応用することを目的とした。

【方法】*E. coli* に HAT-tag 融合 cat-L1 を発現させ、抗原とした。食肉衛生検査所において陽性コントロール血清 (n=18) を得た。Calicophoron 属の双口吸虫が陽性の農場から陰性コントロール血清 (n=17) を得て、クロスリアクションの有無も同時に検討した。さらに、肝蛭陽性 1 農場、陰性 2 農場 (それぞれ n=26, n=36) に対して ELISA を実施した。

【結果・考察】確立した ELISA は感度 88.9%、特異度 100%で、双口吸虫とのクロスリアクションはなかった。肝蛭陽性農場では 42.3%が抗体陽性と判定され、陰性 2 農場では全検体が抗体陰性であった。今後、ELISA の感度を上げるための検討を進めるとともに、ウシ肝蛭症の大規模疫学調査を展開する予定である。

19. 日本住血吸虫主要虫卵抗原 Sjp40 の血清診断への応用について

Jose Ma. M Angeles¹⁾ 後藤康之²⁾, Lydia R. Leonardo³⁾, Kharleezelle J. Moendeg¹⁾, Dang Trinh M. Anh¹⁾, Pilarita T. Rivera³⁾, Elena A. Villacorte³⁾, 桐木雅史⁴⁾, 千種雄一⁴⁾, Raymond L. Houghton⁵⁾, 河津信一郎¹⁾ (1)帯広大・原虫研, 2)東大農院・応用免疫学, 3)フィリピン大・公衆衛生, 4)獨協医大・熱帯病寄生虫病, 5)InBios international, Inc.)

Diagnostic potentials of major egg protein Sjp40 for human schistosomiasis. Angeles, JM., Goto, Y., Leonardo, L., Moendeg, K., Anh, D., Rivera, P., Villacorte, E., Kirinoki, M., Chigusa, Y., Houghton, R., Kawazu, S.

Sjp40 is a 40 kDa major egg protein identified as a potential candidate antigen for the diagnosis of schistosomiasis. In this study, Sjp40 was fragmented into 3 distinct portions namely Sjp40N (N-terminal portion), Sjp40M (middle portion) and Sjp40C (C-terminal portion) to determine which part will give the best diagnostic potential as compared with the whole antigen (Sjp40W) for both IgG and IgM detection. Fragmentation of the antigens was done to possibly remove non-antigenic and cross-reactive parts of the antigen which will further increase the sensitivity and specificity of the test. Whole and fragmented antigens were tested by enzyme linked immunosorbent assay. Overall, Sjp40M showed the highest diagnostic potential with 83.33% sensitivity and 91.37% specificity whereas the Sjp40N is the fragment responsible for the antigen detection at the early stage of the disease. Therefore, the fragmented antigens do not only improve the diagnostic potential of Sjp40 but they might also be useful in differentiating active and chronic disease.

20. Natural pairing between *Schistosoma indicum* and *S. spindale*

○Uday Kumar Mohanta, Yuma Ohari and Itagaki Tadashi. (Laboratory of Veterinary Parasitology, Iwate University)

Schistosoma indicum and *S. spindale* are the two important members of *Schistosoma indicum* group, inhabiting the mesenteric veins of cattle, buffaloes, sheep and goats. As they share same hosts, same location within the host and same geography, it is an advantage for heterospecific pairing to produce hybrids. Therefore, the aim of this study was to investigate the hybridization event, if any, between *S. indicum* and *S. spindale*. We collected 16 paired adult flukes from the mesenteric veins of cattle at the slaughter houses of three different areas of Bangladesh. From the pairs, females were separated and identified individually by the morphology of intrauterine eggs and 28S rDNA sequences, while the males were identified by 28S rDNA sequences only. In 16 paired flukes, three *S. indicum*-homospecific pairing and 11 *S. spindale*-homospecific pairing were observed, but the remaining two pairs whose female counterparts could not be identified by egg morphology had heterospecific pairing with *S. indicum* female and *S. spindale* male. The intrauterine eggs of heterospecific female were spindle shaped, characteristics of *S. spindale* eggs, but had the size (97.2 x 35.5 µm) similar to those of *S. indicum* (97.6 x 43.9 µm). The heterospecific pairing with the production of intermediate form of eggs suggests natural hybridization between these two species. Therefore, investigation on the hybrid generation between the two species is further warranted.

21. バベシアに対するサイバークリーン I を用いた薬剤感受性テストの改良法の検討

○ツェルンドルジ ムンクジャルガル, 横山直明, 五十嵐郁男 (帯広畜産大学原虫病研究センター)

An improved SYBR Green I based fluorescence method for assessing susceptibility of *Babesia* to anti-babesial drugs *in vitro*. Munkhjargal, T., Yokoyama, N. and Igarashi, I. (National Research Center for Protozoan Diseases, Obihiro university of Agriculture and Veterinary Medicine)

We investigated the validity of a SYBR Green I (SG) based fluorescence assay under various culture conditions and compared the results to those of previously published SG method. The results in the present study showed that freeze-thaw of *Babesia* or *Theileria* parasite culture followed by incubation with lysis buffer containing SG for 30 min was consistently observed to give the highest fluorescence signal. These results indicated that incubation was complete and also led to better lysis of the infected erythrocytes and parasites, thus releasing the DNA, which could then freely react with the SG. Further, susceptibility of *Babesia* and *Theileria* parasites to anti-babesial drugs was assessed with optimized condition of SG assay. All tested drugs except valproic acid showed that the potential babesicidal activity and low cytotoxicity in *Babesia* or *Theileria* parasite.

22. Critical roles of extracellular phospholipids in sexual differentiation of *Plasmodium falciparum*

○Takeshi Q Tanaka^{1,2}, Suzumi M. Tokuoka³, Daichi Nakatani², Fumie Hamano³, Thomas E. Wellems⁴, Shin-ichiro Kawazu², Kiyoshi Kita^{3,5}, Takao Shimizu^{3,6}, Fuyuki Tokumasu³ (1)香川大, 2)帯広大, 3)東京大, 4)米国立衛生研究所, 5)長崎大, 6)国立国際医療センター)

Sexual differentiation of intracellular asexual stages of *Plasmodium falciparum* to gametocytes is an indispensable checkpoint for malaria transmission. To find critical extracellular molecules for producing gametocytes, we analyzed lipid composition of serum, AlbuMAX and the parasites by lipidomics approach. As compared with AlbuMAX, serum had more lipids and is characterized by a higher content of polyunsaturated fatty acids (PUFA) such as arachidonic acid (AA) and docosahexaenoic acid (DHA). Gametocytes also have higher fractional amounts of phospholipids (PL) and diacylglycerols with unsaturated fatty acids. Gametocytemia with additional AA and DHA increased more than three times than in control AlbuMAX culture and became comparable to the culture with human serum. These results suggest that extracellular PL, especially PUFA, may provide critical supports in the sexual development of *P. falciparum*, and the metabolic pathways involved in utilizing them should be potential drug targets to block malaria transmission.

23. PbCap494 は蚊体内における oocyst 形成初期に関与する

○木村勇太¹⁾, 杉山真言²⁾, 佐々木英恵³⁾, 宮脇翔悟¹⁾, 廣畑圭人¹⁾, 筏井宏実¹⁾ (1) 北里大・獣医寄生虫,²⁾ 北里大・獣医解剖学,³⁾ ホクサン(株)

PbCap494 participates early oocyst formation in the mosquito. Kimura, Y., Sugiyama, M., Sasaki, H., Miyawaki, S., Hirohata, K., Ikadai, H.

【背景】マラリア原虫は蚊に吸血されると蚊中腸内で ookinete となり、中腸基底膜下に移動し oocyst を形成する。oocyst 形成初期では、ookinete の細胞膜から oocyst 壁へ構造が変化する。だが、形成された oocyst 壁について詳細は明らかにされていない。そこで今回、*Plasmodium berghei* において oocyst 形成初期における oocyst 壁を構成するタンパク質の機能について明らかにするため、ookinete から oocyst に発現している oocyst 壁タンパク質である PbCap494 の機能解析を行った。

【方法】間接蛍光抗体法による PbCap494 発現の確認、KO 原虫を用いた比較試験、透過型電子顕微鏡での観察、oocyst の浸透圧耐性試験、抗 PbCa494 抗体を用いた伝搬阻止試験を行った。

【結果と考察】間接蛍光抗体法により PbCap494 は gametocyte、ookinete、oocyst で発現しており、特に oocyst 壁での局在が見られた。KO 原虫との比較試験では oocyst において 5 日目以前の形成数の減少、発育の遅延していることがわかった。透過型電子顕微鏡では oocyst 壁の菲薄化がわかり、さらに浸透圧耐性試験で KO 原虫の oocyst 壁が浸透圧に対して脆弱であることがわかった。抗体を用いた伝搬阻止試験では oocyst 形成数の減少、蚊への感染率の低下が見られた。

以上のことから PbCap494 は、形成初期に関与する主要な壁構成タンパク質であることがわかった。また PbCap494 はマラリア原虫の伝搬阻止ワクチンの候補抗原になりうるタンパク質であると考えられる。

24. 青森県における羊の消化管内線虫調査—冬から翌春にかけての寄生状況—

○堺 龍樹, 平林龍太郎, 工藤 上 (北里大・獣医寄生虫)

Gastrointestinal nematodes of sheep between winter and spring in Aomori. Sakai, T., Hirabayashi, R., Kudo, N.

消化管内線虫に起因する綿羊の寄生虫性胃腸炎は古くより重要視されている。本研究では、2015 年の冬から翌春の舎飼期に十和田市内の農場において綿羊の経時的な糞便内虫卵検査を行うとともに、虫体の分離による第四胃の寄生虫調査を実施した。

虫卵検査では、乳頭糞線虫、*Trichuris* 属、*Capillaria* 属および *Nematodirus* 属の虫卵と、形態観察による判別が困難な未同定線虫卵が検出された。検出虫卵はほぼ全調査期間を通じて未同定が最も多く、その平均 EPG は 10 月～翌年 2 月に 10.5～108.1 を示した後、3 月半ばから増加し、3 月末以降は 1,200 を越えるまでに至った。未同定線虫卵の培養で得た 3 期幼虫の rDNA-ITS 領域の解析により、それらの虫卵は *Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta*, *Trichostrongylus axei* および *Trichostrongylus colubriformis* から成ることが判明した。その成績を基に EPG の推移を検討したところ、未同定線虫卵の 3 月半ば以降の増加は主として *H. contortus* によることが明らかになり、同線虫における春期顕性化現象の発現が確認された。また、虫卵検査と併せて虫体の分離による第四胃の寄生虫調査を実施した結果、各検体では糞便内虫卵の検査成績に合致する *H. contortus*, *Te. circumcincta* および *Tr. axei* の成虫と、形態観察では種の同定が困難な第 4 期幼虫が検出された。それらの検出状況は *H. contortus* の成虫が 12 月と 1 月の検査で 0～44 匹であったのに対し、5 月と 6 月では 661～1,487 匹と有意に高値であった ($p<0.05$)。幼虫の検出数は 12 月と 1 月に 45～96 匹であったが、5 月以降は 0～2 匹と有意に少なかった ($p<0.05$)。なお、3 期幼虫と同様に検出幼虫の遺伝子解析を行ったが、種の同定に至らず、*H. contortus* の春期顕性化に先行する幼虫の発育休止を明確に捉えることはできなかった。