

タヌキ (*Nyctereutes procyonoides*) の
疥癬の伝播様式に関する研究

(Study of transmission pattern in sarcoptic mange of raccoon dogs in Japan)

杉 浦 奈 都 子

タヌキ (*Nyctereutes procyonoides*) の
疥癬の伝播様式に関する研究

(Study of transmission pattern in sarcoptic mange of raccoon dogs in Japan)

杉 浦 奈 都 子

日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科
獣医保健看護学専攻博士後期課程平成 29 年入学

(指導教員：近江 俊徳)

令和 2 年 3 月

目次

第1章 緒言	— 1 —
第2章 ヒゼンダニ類の検出による疥癬罹患状況の把握	— 13 —
第3章 自動撮影調査を用いた疥癬発生状況の把握及び生息密度の影響	— 26 —
第4章 タヌキの血縁関係及び生息地が疥癬の伝播に与える影響	— 44 —
第5章 自動撮影調査を用いた繁殖ペアによる接触伝播の検討	— 59 —
第6章 タヌキにおける Multiple paternity の成立の検討	— 65 —
第7章 遺伝子解析によるタヌキの行動生態の把握	— 73 —
第8章 ヒゼンダニの遺伝子解析による疥癬の伝播様式の検討	— 89 —
第9章 神奈川県三浦半島に生息するタヌキとヒゼンダニの遺伝構造解析	— 105 —
第10章 タヌキの主要組織適合遺伝子複合体遺伝子の多様性	— 131 —
第11章 総括	— 143 —
謝辞	— 157 —
引用文献	— 159 —

第 1 章

緒言

1-1. 疥癬とは

疥癬とはヒゼンダニ類の寄生による掻痒性皮膚疾患である。ヒゼンダニ類はダニ目 無気門亜目 キュウセンヒゼンダニ科及びヒゼンダニ科に属するダニであり、宿主範囲が広いことが特徴である（板垣・大石 1984）。そのため、疥癬は人や多くの哺乳動物において発生が報告されている（板垣・大石 1984）。しかしながら、環境省（2007）は、人と動物の共通感染症に関するガイドラインにおいて、国内の患者数が人も動物もともに把握されていないことから、「要注意」の共通感染症として取り上げている。

ヒゼンダニ類の中でも、センコウヒゼンダニ (*Sarcoptes scabiei*, 以下、ヒゼンダニ) による疥癬の発生事例が多く、人や愛玩動物、産業動物、野生動物において報告されている（山端ら 1982；大滝 1998；Bornstein *et al.* 2001；Pence and Ueckermann 2002；Scott and Miller 2013）。ヒゼンダニの大きさ（体長×体幅）は、成虫メス 300-505×230-420 μ m、成虫オス 213-285×162-210 μ m 程度である（Fain 1968）。ヒゼンダニが生存可能である温度範囲は狭く、50°C では 10 分で死滅し、20°C になると動きが止まるが、湿度が十分にある環境下であれば 13°C で 2 週間は生存可能である（内川 2001）。室温であれば 24-36 時間は生存可能であるため（McCarthy *et al.* 2004）、人では疥癬患者との直接的な接触感染以外にも、ベッドや衣類などを介した間接的なヒゼンダニの感染も存在する（Skerratt and Beveridge 1999；Raza *et al.* 2009）。宿主の皮膚上へ感染したヒゼンダニは、感染してから 6 分程度で宿主皮膚内へ潜り始め、感染したヒゼンダニの多くが 1 時間以内に角質層まで到達する（Arlian *et al.* 1984；Arlian 1989）。ライフサイクルは、卵→幼虫→第一若虫→第二若虫→成虫となり、卵が成虫に達するまで約 2 週間を要する（Bornstein *et al.* 2001；内川 2001）。交尾を終えた成虫メスは、宿主の角質層にトンネルを掘り、トンネルを掘り進めながら、約 2 ヶ月にわたって 120 個以上もの卵を産むとされている（内川 2001）。これにより、宿主の角質層は著

しく錯角化し（今井 2006）、痂皮形成や脱毛といった症状が現れる（Pence and Ueckermann 2002）。また、ヒゼンダニの刺咬による機械的刺激及び唾液中に含まれる搔痒性物質が寄与因子となり、アレルギー性過敏症反応が起こり、非常に強い痒みとともに、重篤なストレスを与える（Pence and Ueckermann 2002；McCarthy *et al.* 2004；今井 2006）。そのため、疥癬に重度感染した個体は、衰弱や細菌の二次感染により死に至る場合もある（Morner and Christensson 1984；今井 2006）。

1-2. 野生動物、特にタヌキにおける疥癬

ヒゼンダニによる疥癬は、10 目 27 科 104 種の哺乳類において発生が報告されている（Bornstein *et al.* 2001；Pence and Ueckermann 2002）。我が国に生息する中大型野生哺乳類においては、イノシシ（*Sus scrofa*）、タヌキ（*Nyctereutes procyonoides*）、アカギツネ（*Vulpes vulpes*）、アライグマ（*Procyon lotor*）、ニホンツキノワグマ（*Ursus thibetanus japonicus*）、ハクビシン（*Paguma larvata*）、ニホンカモシカ（*Capreolus crispus*）、ニホンザル（*Macaca fuscata*）、ニホンアナグマ（*Meles anakuma*）、ニホンテン（*Martes melampus*）の 10 種において報告されている（Shibata 2004；佐鹿ら 2009；Makouloutou *et al.* 2015）。我が国におけるタヌキの疥癬は、1981 年に岐阜県でタヌキに認められた皮膚病変の原因が疥癬であると初めて明らかにされ（鈴木ら 1981）、それ以降、全国各地で疥癬を発症したタヌキの発見事例が報告されている（山本ら 1998；Shibata 2004；松本ら 2011；Takahashi *et al.* 2001a）。疥癬発症を疑うような被毛異常が認められた個体（以下、疥癬様個体）は我が国のほぼ全域で確認されている（Shibata 2004）。そのため、疥癬の流行及び蔓延によるタヌキ個体群への影響が懸念されている（Shibata and Kawamichi 1999；Kido *et al.* 2013）。

疥癬の流行は、アカギツネやコヨーテ（*Canis latrans*）、バーバリーシープ（*Ammotragus lervia*）、スペインアイベックス（*Capra pyrenaica*）といった多くの野生動物種において、個体群動態へ影響を与えている（Morner 1992；Lindström *et al.* 1994；Pence and Windberg 1994；Perez *et al.* 1997；塚田ら 1998；Gonzalez-Candela *et al.* 2004）。アカギツネやバーバリーシー

ブといった動物種において、個体数の増加後に、疥癬の流行が認められ、その後個体数の大幅な減少が確認されている（塚田ら 1998 ; Gonzalez-Candela *et al.* 2004）。そのため、疥癬は多くの野生動物において個体数の急激な減少を引き起こす疾患になる可能性がある。タヌキにおいても疥癬の流行による個体数減少の可能性が報告されている（Shibata 2004 ; Kido *et al.* 2013）。さらに、Kido *et al.* (2013) による神奈川県でのタヌキの救護頭数の報告によると、1993 年から疥癬罹患個体の救護が増加し、タヌキの救護頭数が減少した後の 2000 年以降に再び疥癬罹患個体の増加がみられている。このように、疥癬は個体群内で長期的に維持されている可能性があり、長期間に渡ってタヌキ個体群へ影響を与えている可能性がある。

また、一般的に感染症の感染拡大には生息密度の上昇が影響するとされている（Wobeser 2002）。疥癬においても、コヨーテ（Pence and Windberg 1994）、ウォンバット（*Vombatus ursinus*）（Martin *et al.* 1998）、ハナジロハナグマ（*Nasua narica*）（Valenzuela *et al.* 2000）、アカシカ（*Cervus elaphus*）（Oleaga *et al.* 2008）といった様々な動物種において、生息密度上昇による影響が示唆されている。タヌキの疥癬においても、生息密度の上昇が疥癬の流行要因となることが示唆されている（Shibata and Kawamichi 1999 ; Shibata 2004 ; Kido *et al.* 2013 ; Sugiura *et al.* 2018）。しかし、生息密度がどの程度上昇した際に疥癬の流行が引き起こされるのか具体的なことは判明していない。そのため、タヌキ個体群の生息密度のモニタリングを長期的に行うことも必要である。

1-3. タヌキの生態

タヌキは食肉目イヌ科に属する野生動物であり、我が国では北海道、本州、四国、九州に自然分布している（増田ら 2009a）。里山的環境や亜高山帯だけではなく、都市地域といった環境にも適応し生息している（山本ら 1994 ; Saeki *et al.* 2007 ; Iwasaki *et al.* 2017 ; Mitsuhashi *et al.* 2018）。行動域は生息する環境によって異なり、里山的環境において 1km² 前後（Saeki 2001 ; Saeki *et al.* 2007）、亜高山帯では 6km² 前後（山本ら 1994）、都市地域では 0.1km² 前

後とされている (Mitsuhashi *et al.* 2018)。さらに、行動域は一般に冬に狭く、秋に広がる傾向にある (Saeki *et al.* 2007)。これは冬にはエネルギー効率の観点から移動距離や活動時間が短くなること、秋には亜成獣の分散及び採食が活発になることが影響するとされている (Saeki *et al.* 2007)。亜成獣の分散距離は 1-10km 程度とされている (Saeki 2001)。我が国に生息するタヌキの行動域面積や分散距離は、ヨーロッパに生息するタヌキや、アライグマといった同所的に生息する中型食肉目と比較すると狭い或いは短い傾向にある (Takeuchi and Koganezawa 1992 ; Suzuki *et al.* 2003 ; Sutor 2007 ; Drygala *et al.* 2010)。

タヌキの繁殖生理は、基本的に他のイヌ科動物と同様であり、受精可能な発情期が 3.9 日 \pm 1.2 日、妊娠期間が 61.0 \pm 2.0 日である (Valtonen *et al.* 1977)。2 月下旬から 3 月上旬にかけて交尾期を迎え、4 月下旬から 5 月上旬に出産をする (Ikeda 1983 ; 田中 2009)。子育てにはオスもメスと同様に関与し (Ikeda 1983 ; 田中 2009)、親子で同じねぐらを共有する (田中 2009)。生後 30-50 日になると子は親について動き回るようになり、その後、1 ヶ月程度の間は子は親とともに行動をする (Saeki 2001)。そして子が 80 日齢になる 10 月ごろになると親から徐々に独立していく (Ikeda 1983)。タヌキは生後約 9-11 ヶ月で性成熟を迎えることから (Helle and Kauhala 1995 ; 野口 2002)、生まれた翌年には繁殖に参加すると考えられる。

社会構成単位としては、タヌキは年間を通じて繁殖ペアを基本としており (Kauhala *et al.* 1993)、非繁殖期であっても繁殖ペアは行動域の大部分を重複させている (Drygala *et al.* 2008)。分散したばかりの亜成獣の行動域についても、親の行動域と重複することがあり、家族間で同じねぐらを利用する場合もある (谷地森ら 1997 ; Saeki 2001 ; 佐伯 2008)。加えて、タヌキはため糞場を複数頭で共有して利用している (Yamamoto 1984 ; 小泉ら 2017)。ため糞場は 1 個体につき 10 ヶ所程度が行動域内に散財して存在している (Ikeda 1984a)。タヌキは糞から個体を区別でき、ため糞場には個体間の情報交換の機能があると考えられている (Yamamoto 1984 ; 小泉ら 2017)。ため糞場を共有する個体間の関係性は家族や近接して生息する個体であると考えられている (Ikeda 1984a)。

このように、タヌキの行動生態の特徴として、家族間における接触機会が非常に多いことがあげられる。タヌキにおける疥癬の伝播様式はまだ不明な点が多いものの、このような行動生態から、親子間での接触伝播が伝播様式の一つであり、他の動物種よりも容易に接触伝播が起きてしまう要因として考えられてきた(鈴木ら 1981 ; Shibata 2004)。しかしながら、タヌキの血縁関係と疥癬の罹患状況の証明を試みた研究は行われていない。

1-4. 感染症の伝播と宿主動物の生態の関係

感染症の伝播様式を理解する上で、宿主動物の生態との関連は不可欠であり、宿主動物-病原体間の相互作用と、生物個体、個体群、群集、生態系及び環境との関係性を明らかにすることを目的とした生態学的研究を「Disease ecology」という(Kilpatrick and Altizer 2010 ; 松山ら 2016 ; 坪田 2016)。感染症の蔓延について研究するうえで、野生動物の生態を理解することは重要である(Morner *et al.* 2002)。特に、寄生虫の場合は宿主動物との関係性が密であることから(Hudson *et al.* 2002)、宿主-寄生物関係を、両者の遺伝的構造を比較検討する取り組みが一般的に行われるようになってきている(Levin and Parker 2013)。例えば、ヒゼンダニと同様に外部寄生虫であるマダニ科の *Ixodes ricinus* においては、同所的に生息していても宿主動物種によって遺伝的差異が認められると報告されている(Kempf *et al.* 2011)。また、ミツユビカモメ (*Rissa tridactyla*) とニシツノメドリ (*Fratercula arctica*) に寄生するマダニ類では、宿主によってマダニ類の遺伝的距離が異なっており、これは宿主となる鳥種の分散距離の差が影響している可能性が示唆されている(McCoy *et al.* 2003)。このように、宿主動物の生態により、寄生虫の遺伝的構造も変化することから、寄生虫と宿主動物の遺伝的な関係性を理解することは、感染症対策を行っていく上で重要である(Wobeser 2002)。しかし、疥癬においては、ヒゼンダニの遺伝的構造の比較は行われているものの(Walton *et al.* 2004 ; Matsuyama *et al.* 2015 ; Soglia *et al.* 2016 ; Matsuyama *et al.* 2019)、宿主動物の遺伝的構造や行動生態を踏まえてヒゼンダニの遺伝的構造を比較し、伝播様式や流行状況を検討するような研究報告は少ないのが現状である。一方、タヌキの遺伝学的研究においては、

タヌキは我が国だけではなく中国を中心とした東アジアにも自然分布し、ヨーロッパでは外来種として定着していることから、各国に生息するタヌキの遺伝的差異を解析する研究が行われている (Nie *et al.* 2003 ; Kim *et al.* 2013) 。染色体数が中国などユーラシア大陸のタヌキは $2n = 54$ であるのに対し、日本のタヌキは $2n = 38$ であるという染色体数の差異 (Mäkinen *et al.* 1986 ; Nie *et al.* 2003) や、頭蓋骨サイズが日本のタヌキはユーラシア大陸のタヌキに比べ小さいという形態的差異 (Kim *et al.* 2015) に加え、ミトコンドリア DNA (以下、mtDNA) のシトクロム *b* 領域の系統解析から日本のタヌキとユーラシア大陸のタヌキは異なるレフュジアに由来することが示唆されたことから (Kim *et al.* 2013) 、日本のタヌキとユーラシア大陸のタヌキは別種であるという主張が強まっている (Nie *et al.* 2003 ; Kim *et al.* 2015) 。日本国内におけるタヌキの遺伝学的研究は、mtDNA を用いた系統解析 (Iwasa *et al.* 2014) や個体識別や血縁推定 (谷地森ら 1997 ; 松木ら 2006) は行われているものの、地域個体群の遺伝的構造を解析した事例は、都市緑地に生息するタヌキ個体群を対象とした研究 (Saito *et al.* 2016) が報告されているのみである。そのため、我が国のタヌキ個体群の遺伝的構造はまだ不明な点も多い。

タヌキの疥癬においても、宿主動物の行動生態が宿主-寄生体関係に影響を与えている可能性が考えられる。しかし、タヌキの行動域の広さは生息環境によって異なるため (山本ら 1994 ; Saeki 2001 ; Saeki *et al.* 2007 ; Mitsuhashi *et al.* 2018) 、生息環境によって宿主-寄生体の関係性は異なることが予想される。また、疥癬はタヌキが傷病鳥獣として救護される理由の多くを占めている (松本ら 2011 ; Kido *et al.* 2013) 。野生動物の救護は、希少種の救護を通じて生物多様性の保全を図るといった長所の反面 (伊藤ら 2014) 、死亡率が極めて高いことが普通である野生動物を救護してしまうことにより、生態系に負の影響を与えてしまうと考えられている (鈴木 2010) 。救護活動が行われている神奈川県においては、救護されたタヌキが安定した環境に落ち着くまでに野生復帰から約 3 ヶ月を要すると報告しており (加藤 2012) 、救護活動の影響によりタヌキの移動が活発になると予想される。そのため、救護活動を行うことで、タヌキの生存率や行動生態に変化が生まれ、ヒゼンダニとの宿

主-寄生体関係も影響を受けている可能性がある。

また、タヌキは都市郊外から里山・低山にかけての緑地が連続している環境を主な生息地としており（佐伯 2008）、そのような里山的環境には、アカギツネ、ニホンアナグマ、ハクビシンといった野生動物が同所的に生息している（松林ら 2009）。加えて、都市地域にもタヌキの生息が確認されており（川村・大西 2000 ; Saito *et al.* 2016 ; Saito and Sonoda 2017 ; Mitsuhashi *et al.* 2018）、疥癬に罹患したタヌキと人や愛玩動物との接触機会が増加している可能性がある。従って、疥癬がタヌキ個体群内で流行することにより、同所的に生息する野生動物だけではなく、人や愛玩動物へも疥癬の伝播リスクがあると言え、獣医衛生学的また公衆衛生学的な問題が生じる可能性がある。

1-5. ヒゼンダニの宿主動物種を超えた交差感染

従来、ヒゼンダニは宿主動物種ごとに宿主特異性を示すとされており（Fain 1968）、この宿主特異性にはヒゼンダニの形態的特徴にも変化が見られないことから、各動物種に固有の生理的変種として扱われていた（Fain 1968 ; 内川 2001）。しかし、近年、遺伝学的手法の発展に伴い、ヒゼンダニの遺伝子解析が行われ、動物種を超えた交差感染の成立状況の解明が試みられている（Walton *et al.* 2004 ; Rasero *et al.* 2010）。我が国においても、タヌキの疥癬の流行が他種に影響することが懸念されることから、ヒゼンダニの遺伝子解析が試みられている（Makouloutou *et al.* 2015 ; Matsuyama *et al.* 2015 ; Matsuyama *et al.* 2019）。Makouloutou *et al.* (2015) は、我が国に生息するタヌキを含む野生動物に寄生していたヒゼンダニの核リボソーム DNA の Second internal transcribed spacer (ITS2) 領域と mtDNA の 16S リボソーム RNA 領域及びシトクロム *c* オキシダーゼ I (*cox-I*) 領域における解析を行い、2つのハプロタイプが動物種間で混在していたことから、宿主動物に限らず疥癬が蔓延していることを示唆している。また、Matsuyama *et al.* (2019) は、ヒゼンダニのマイクロサテライト (Short Tandem Repeat, 以下、STR) 領域から遺伝構造解析を行い、タヌキを含む食肉目イヌ亜目とニホンカモシカに寄生するヒゼンダニが遺伝的に近縁な関係であったことか

ら、タヌキをはじめとする食肉目イヌ亜目とニホンカモシカの間でヒゼンダニの交差感染が成立している可能性を見出した。ニホンカモシカは四国及び九州地方の個体が絶滅の恐れのある地域個体群に指定されており（環境省 2019）、疥癬の罹患率も高いことから、有効な対策が望まれている（安田ら 2012）。タヌキを含む野生動物の間でヒゼンダニの交差感染が成立しているならば、タヌキの疥癬の流行が、希少種や孤立個体群の個体数減少の要因となりうるため、タヌキのみならず、多くの野生動物に影響を与える可能性が考えられる。

また、疥癬を発症したタヌキが民家の庭先や畜舎などを利用したことにより、そこで飼育されている家庭犬も疥癬を発症したことや（小堤ら 1988; 松尾ら 2015）、ヒゼンダニの STR 領域を用いた解析により、タヌキ及び家庭犬の間で遺伝的構造の異なるヒゼンダニ集団が混在していたことが明らかになったことから、タヌキと家庭犬の間で交差感染が成立している可能性が示唆されている（Matsuyama *et al.* 2015）。さらに、タヌキとの接触により疥癬に罹患したと考えられる家庭犬により、飼い主へもヒゼンダニが伝播し、一時的に動物固有のヒゼンダニが人へ寄生したことで起こる動物疥癬が認められた事例も存在する（松尾ら 2015）。このように、一時的な寄生ではあるものの、タヌキにおいて発生した疥癬が、人や愛玩動物へも強い搔痒感による著しい生活の質の低下（神谷 2006）といった健康被害を生じさせている。よって、タヌキにおける疥癬の流行は、獣医衛生学的、公衆衛生学的に重要視すべきであり、野生動物の保全や管理を遂行する上でも、タヌキの疥癬の発生状況やタヌキ個体群への影響、並びに他種への伝播の可能性やその影響について検討する必要がある。

1-6. 本研究の目的

タヌキの疥癬発生は、我が国のほぼ全域で確認されていることに加え（Shibata 2004）、同所的に生息する野生動物や愛玩動物にも疥癬が伝播する可能性がある（Makouloutou *et al.* 2015 ; Matsuyama *et al.* 2015 ; Matsuyama *et al.* 2019）。タヌキの疥癬の流行が、タヌキだけではなく、希少種や孤立個体群の個体数減少の一要因になることや、家庭犬への感染拡大、人への健康被害といった獣医衛生学的、公衆衛生学的な問題が挙げられる。また、都市地域

で生活する住民は野生動物への知識が乏しく、マスコミによる報道の影響を受けることで、野生動物の問題が生じた際に過剰に反応しやすい（小菅・坂東 2003；辻・横山 2012）。そのため、疥癬に罹患したタヌキが身近にいることへの恐怖心といった精神的問題も起こりうる。タヌキは在来種であるものの農作物被害などの理由により害獣として駆除されることもあり、野生動物の安楽死について議論を呼んでいるが（中島ら 2008）、疥癬に罹患しているという理由によりタヌキを駆除すべきであるのかという倫理的問題も起こることが予想される。さらに、都市地域の行政職員は野生動物への対応に慣れておらず、適切な対応が難しい可能性や（辻・横山 2012）、駆除作業を行う場合には殺処分した個体に対する罪悪感といった精神的苦痛を受ける（中島ら 2008）など、タヌキの疥癬に起因する事柄へ対応を行った作業員への問題も起こる。このように、特に都市地域において疥癬に罹患したタヌキが生息していることで様々な問題が起こることが予想される。

タヌキの疥癬によって引き起こされる様々な問題が挙げられる中で、タヌキの疥癬に対して何らかの対策や方針を定める必要があると言える。疥癬の流行によるタヌキの個体数減少が危惧されていることもあり（Shibata and Kawamichi 1999）、罹患個体に対する治療を行っている事例もある（Kido *et al.* 2013）。しかし、ヒゼンダニの駆虫薬であるイベルメクチンは、体外に排出されても分解されにくく、投与された個体が薬剤を散布する恐れがあり、それにより土壤中で生活する同系統の生物にも同様な殺滅作用をもたらすとされている（浅川 2013）。そのため制御が困難な野生動物への安易な薬剤投与は避ける必要がある。また、農作物被害の増加などを受け、タヌキの捕獲数が年々増加しており、2015年には27,725頭が捕獲されている（農林水産省 2018）。このような状況でむやみに疥癬罹患個体の救護活動を行っても、農作物被害の更なる増加に繋がる恐れもある。また、一般に野生動物における感染症は宿主動物の生息密度の上昇が関与する（Daszak *et al.* 2000）。救護活動に伴いタヌキの個体数が増加し、その地域における生息密度が高まった場合、疥癬だけでなく、他の感染症も流行を起こしやすい環境となってしまう可能性もある。そのため、対策を講じる必要があるのか判断するために、まずはタヌキの疥癬の発生について現状を把

握していく必要がある。また、感染症は感染源、感染経路、感受性動物の3つの条件が整った場合に成立する（環境省 2007）。つまり、いずれかの条件を対策を行えば感染症は成立しない。タヌキの疥癬の流行要因として、親子間での接触伝播や（鈴木ら 1981; Shibata 2004）、生息密度の上昇（Shibata and Kawamichi 1999; Kido *et al.* 2013）といった感染経路に関わる要因が挙げられている。さらに、タヌキ以外の宿主動物との交差感染が成立している可能性があることから（Makouloutou *et al.* 2015; Matsuyama *et al.* 2015; Matsuyama *et al.* 2019）、タヌキにおける疥癬の伝播様式を明確にしていくことは、タヌキだけではなく他の宿主動物においても疥癬の対策の一助となる可能性がある。

バーバリーシープの疥癬のモニタリングでは、生息密度がある一定数を超えた際に、疥癬の流行が引き起こされたことが報告されている（Gonzalez-Candela *et al.* 2004）。また、イベリアオオカミ（*C. lupus signatus*）でのモニタリング事例では、疥癬が個体群内で常に維持されていることが明らかとなっている（Oleaga *et al.* 2011）。神奈川県におけるタヌキの救護個体の受け入れ状況をもとに、疥癬を理由に救護された個体の搬入が続いており（Kido *et al.* 2013）、我が国におけるタヌキにおいても、個体群内で常に疥癬が維持されていることが予想される。そのため、疥癬の発生状況のモニタリングと合わせて、生息密度を長期的にモニタリングする必要がある。また、感染症の蔓延について研究するうえで、野生動物の生態を理解することは重要である（Morner *et al.* 2002）。タヌキは、親子間での接触機会が多い生態であることから、親子間での接触伝播が流行要因とされてきた（鈴木ら 1981; Shibata 2004）。しかし、疥癬罹患と血縁関係を遺伝学的手法から証明した研究は行われていない。さらに、タヌキは通年繁殖ペアで行動することや（Kauhala *et al.* 1993）、交尾期はオスとメスが接触し感染症伝播のリスクも伴う（Ramsey *et al.* 2002）ことから、タヌキの繁殖生態が疥癬の伝播に影響している可能性もある。一方、近年、タヌキの疥癬は森林地域よりも都市や農業地域といった環境の方がおこりやすいことが報告されている（Saito and Sonoda 2017）。タヌキの行動域の広さは生息環境によって異なり、都市地域では狭い傾向にあることから（山本ら 1994; Saeki 2001; Saeki *et al.* 2007; Mitsuhashi *et al.* 2018）、タヌキの行動域を考

慮すると狭い範囲内、つまり、タヌキの遺伝的個体群の範囲内で疥癬の流行が起こることが予想される。また、宿主動物の行動生態によって寄生虫の遺伝的構造も変化することから (Wobeser 2002)、他の野生動物との交差感染が成立せず、タヌキのみでヒゼンダニの伝播が成立しているのであれば、タヌキの遺伝的構造とヒゼンダニの遺伝的構造がリンクしていると考えられる。このように、タヌキの行動生態を踏まえて、タヌキの血縁関係の推定や、タヌキ及びヒゼンダニの遺伝構造解析を行うことが伝播様式の解明に繋がると考えられる。そこで本研究では、疥癬の流行状況のモニタリングと流行要因の検討及び伝播様式を解明することを目的に、以下に記す検討を行った。

まず、第2章では、本研究の予備調査として、本調査地におけるタヌキの疥癬の浸淫状況の把握、及び肉眼的所見から疥癬罹患が判断可能であるか検討することを目的に、本調査地で捕獲されたタヌキからヒゼンダニ類の検出を行った。

次に第3章では、タヌキの疥癬の発生状況と個体群動態の長期的なモニタリング、及び疥癬の発生と生息密度の関連を検討することを目的に、群馬県高崎市に赤外線センサーカメラ（以下、カメラ）を設置し、自動撮影調査から、疥癬の肉眼的所見である脱毛を指標に映像解析を行い、相対的な密度指標としての撮影頻度を算出した。また、カメラを用いて絶対個体数を推定する Random Encounter Model（以下、REM）（Rowcliffe *et al.* 2008）から生息密度を算出した。

第4章では、タヌキの疥癬の流行要因として提唱されてきた、親子や兄弟といった血縁関係のある個体同士の接触による影響を評価することを目的に、タヌキの遺伝子解析から血縁関係の推定を行った。また一方で、近年は生息地の分断化が個体同士の接触を高めているとの報告もある。そこで、生息地域による影響評価も行い、疥癬の流行要因について検討した。

第5章では、通年繁殖ペアで行動するタヌキの行動生態から、繁殖ペアにおける疥癬の接触伝播の影響を評価することを目的に、自動撮影調査を行い、2頭で撮影されている個体同士は繁殖ペアであると仮定し、単独撮影された場合と複数頭で撮影されている場合の疥癬

の発生状況を比較した。

第 6 章では、交尾期が繁殖ペアだけでなく、複数頭のオスと交尾を行い、より多くの個体と接触する機会になりうるのか検討することを目的に、妊娠したタヌキを対象に遺伝子解析を行った。母体と胎子の遺伝子型を比較し、同腹子に複数の父系が存在する **Multiple paternity** が成立している可能性があるか検討した。

第 7 章では、タヌキの遺伝的な個体群構造からタヌキの行動域や分散距離、定住性の程度といった行動生態を把握し、疥癬の流行との関連を検討することを目的に、タヌキの **mtDNA** 及び核 DNA の **STR** 領域の遺伝子解析を行い、群馬県高崎市におけるタヌキの個体群構造を解析した。

第 8 章では、ヒゼンダニの遺伝的な個体群構造から、疥癬の伝播様式を検討することを目的に、群馬県高崎市のタヌキとアカギツネから採取されたヒゼンダニを用いて、**mtDNA** 及び核 DNA の **STR** 領域の遺伝子解析を行った。

第 9 章では、群馬県高崎市での研究により得られた結果から考察された疥癬の流行要因は、異なる地域でも該当する普遍的な結果であるのか検証すること、及び都市周辺地域におけるタヌキの疥癬の伝播様式を解明することを目的に、神奈川県三浦半島において疥癬罹患により救護されたタヌキと寄生していたヒゼンダニを対象に、遺伝子解析を行った。

第 10 章では、タヌキの疥癬の流行要因として、免疫系の関与の可能性を検討することを目的に、主要組織適合遺伝子複合体領域の **STR** 領域の遺伝子型を判定し、遺伝的多様性の評価を行った。

最後に、第 11 章では、第 2 章から第 11 章までの結果を総括し、タヌキの疥癬の伝播様式と疥癬の流行要因について論述し、今後の課題を提言した。

第2章

ヒゼンダニ類の検出による疥癬罹患状況の把握

2-1. 序論

疥癬は、脱毛や痂皮形成といった症状が認められる皮膚疾患である (Bornstein *et al.* 2001 ; Pence and Ueckermann 2002) 。疥癬はヒゼンダニの虫体検出により診断が行われるが、イヌ (*C. lupus familiaris*) の場合、検出率は 20-50%程度、ブタ (*S. scrofa domesticus*) の場合 50%程度 (Lowenstein *et al.* 2004) に留まっている。このような検出率の低さの要因としては、ヒゼンダニが 300 μ m 程度の体サイズであり (内川 2001) 、肉眼で検出するのが困難であるためとされている (Hahm *et al.* 2018) 。そのため、ヒゼンダニが検出されない場合でも、症状から疥癬と判断し、診断的治療を行うことや (Scott and Miller 2013) 、抗体検査などの別の検査手法を併用することもある (Lowenstein *et al.* 2004 ; Davidson *et al.* 2008 ; Oleaga *et al.* 2011) 。

一方、疥癬に罹患した場合に見られる脱毛と痂皮形成という独特の症状を利用し、野生動物の疥癬を自動撮影調査により、経年的にモニタリングした事例もある (Oleaga *et al.* 2011 ; Carricondo-Sanchez *et al.* 2017 ; Saito and Sonoda 2017) 。長期間に渡り広範囲でのモニタリングが可能となり、疥癬の発生と個体群動態のモニタリングが行えることから、イベリアオオカミにおける自動撮影調査において、個体群内でヒゼンダニの感染が常に維持されている可能性が示唆された (Oleaga *et al.* 2011) 。また、異なる環境下にカメラを設置することで、森林地域よりも都市地域や農業地域といった環境のほうがタヌキの疥癬罹患率が高くなることが示唆された (Saito and Sonoda 2017) 。このように、カメラを使用することで疥癬の発生状況のモニタリングを非侵襲的に且つ長期間にわたり行うことが可能である。

Oleaga *et al.* (2011) や Carricondo-Sanchez *et al.* (2017) により、カメラを用いた疥癬のモニタリングの有用性が示唆された一方で、問題点も存在する。疥癬の確定診断には、臨床症状とともに、ヒゼンダニを始めとするヒゼンダニ類の検出も重要である。しかし、カメラで

はヒゼンダニ類の検出という確定診断は不可能であり、脱毛という肉眼的所見のみで判断することとなる。ところが、タヌキにおいて脱毛を引き起こす疾患は疥癬だけではなく、ジステンパーウイルス感染症 (Machida *et al.* 1993) でも報告されている。さらに、イヌにおいてはクッシング症候群 (柴田・永田 2002) や甲状腺機能低下症 (早崎ら 1984) といった内分泌疾患や、発熱や全身性疾患、妊娠などの強いストレスを伴う場合 (Sue 2010) でも脱毛という症状が報告されている。脱毛といった症状を疥癬と断定するには、Oleaga *et al.* (2011) と同様に、カメラでモニタリングするだけではなく、個体からヒゼンダニの検出を行い、カメラでの結果と合わせて疥癬の発生状況を検討する必要がある。

そこで、本章では、カメラ設置地域におけるタヌキの疥癬の浸淫状況ならびに発生状況の把握と、脱毛という肉眼的所見から疥癬を判断することが可能であるか検討することを目的とし、本調査地で捕獲された疥癬様個体からヒゼンダニの検出を行った。

2-2. 材料及び方法

調査地

調査地は、群馬県高崎市箕郷町 (以下、箕郷) に位置する、群馬県立農林大学校周辺と、同県同市市十文字町及び宮沢町 (2 町を併せて以下、榛名) を含む周辺地域を対象とした。

供試動物

①. 捕獲調査において生体捕獲した個体 (以下、生体捕獲個体)

2012 年 7-9 月、2013 年 3, 8-9 月、2014 年 3 月、2016 年 2-3 月、2017 年 3 月、2018 年 3 月に捕獲されたタヌキ 28 頭を対象とした。捕獲には箱罠 (81×25×30cm; model #: 1089, Havahart®, Woodstream Corporation, Lititz, Pennsylvania, U.S.) を用いた。

捕獲された個体は、森光 (2012) を参考に、メドトミジン 0.04mg/kg、ミダゾラム 0.2mg/kg の筋肉内注射による鎮静を行った。鎮静後、性別の確認、歯式による成獣・幼獣の判定、採

血、個体識別のためにマイクロチップの挿入を行った。疥癬様個体の場合は、皮膚病変を採材した。一連の処置の終了後、拮抗薬としてアチパメゾール 0.25mg/kg、フルマゼニル 0.01mg/kg を筋肉内注射し、覚醒後、捕獲地点において放野した。ただし、重度の疥癬発症を疑われた個体は、鎮静薬の投与が危険であると判断されたため、鎮静薬の投与といった一連の処置は行わずに、落屑した皮膚病変の回収のみ行い、速やかに放野した。疥癬様個体から採材した皮膚病変はヒゼンダニ類の検出を行うまで冷凍状態で保存した。

②. 有害鳥獣捕獲された個体（以下、有害捕獲個体）

2014年3月28日から2018年9月30日にかけて、高崎市の委託を受けた猟友会が有害鳥獣捕獲の事由により殺処分し、当研究室が回収したタヌキ47頭も対象とした。

解剖時に、性別、歯式を確認し、永久歯が全萌出した個体においては年齢査定のため上顎犬歯を採材した。採材した犬歯は冷凍状態で保存した。疥癬様個体からは、皮膚病変を採材し、冷凍状態で保存した。メスの場合は、乳頭や乳房の腫脹の確認や、妊娠の有無、子宮の胎盤痕の有無といった繁殖状況も確認した。

ヒゼンダニの検出

皮膚病変を解凍し、ヒゼンダニ類の検出を行った。ヒゼンダニ類の検出を行う際は、皮膚病変を解凍し、メス刃を用いて搔把し、谷（2006）の毛包虫症の検査方法に倣い、採材した皮膚病変に15% KOH - 40% DMSO 液を数滴滴下し、光学顕微鏡下で観察した。検出されたダニ虫体は Fain（1968）の形態学的基準からヒゼンダニであるか確認した。

ヒゼンダニが検出された個体は「疥癬罹患個体」とした。一方で、イヌにおいて疥癬様個体からのヒゼンダニ検出率が低く、診断的治療が多く行われている（Scott and Miller 2013）。そのため、ヒゼンダニが検出されなかった場合においても疥癬罹患を完全には否定できないため、ヒゼンダニが検出されなかった個体は「疥癬疑い個体」として扱った。

有害捕獲個体の年齢査定

①. 切片作成部位の切り出し

上顎犬歯を、モーターハンドピース (model タス-35LX, 技工用電動式ハンドピース, 株式会社松風, 京都) にダイヤモンドカッター (model 62TW, ダイヤモンドディスク, 株式会社松風, 京都) を取り付けたものを用いて歯冠部を切除し、砥石にて歯根部正中矢状面を観察できるように中央 3mm 程残して平行に研磨した。

②. 脱灰・中和・水洗

切り出しを終えた歯根部は薄切できる硬さになるまでプランクリチュロ液 (表 2-1) で 2 日脱灰した。脱灰後、5%硫酸ナトリウム液 (表 2-2) で 1 日中和した。その後、一晚水洗し、薄切するまで 70%アルコールで保存した。

③. 薄切

脱灰後保存した犬歯を凍結マイクロームで 40 μ m 厚に薄切し、ゼラチン処理したスライドグラスに添付し、2-3 日乾燥させた。

④. 染色・水洗・脱水・封入

乾燥させた切片を、デラフィールド・ヘマトキシリン液 (武藤化学株式会社, 東京) で 60-90 分染色後、塩酸アルコール弁色液に 1 回につき 1 秒浸す作業を 10 回ほど繰り返した。その後、一晚水洗した後、アルコール・キシレン透徹を施し、ソフトマウントを用いて切片の封入を行った。

⑤. 切片からの年輪の確認と年齢査定

歯根部のセメント質の成長層はヘマトキシリンによく染まる濃染層とほとんど染まらない淡染層からなり、畑 (1973) は、タヌキの犬歯セメント質の濃染層は冬期 (12-2 月) に形成されると報告している。小原 (1983) は、生後 1 年目の個体は、濃染層が認められないか、形成途中である濃染層が縁取りとなって観察されるとしており、生後 2 年目以降の個体では、冬期に形成された濃染層と、幅の広い淡染層が交互に重なり年齢構造を示すとしている。本研究では、岡野・大沼 (2015) を参考に、便宜的にタヌキは 4 月 1 日に誕生するものと仮

定し、冬期に形成された濃染層を数えることにより、年齢査定を行った。なお、野口 (2002) に倣い、永久歯が全て萌出していない個体は 0 歳とした。

有害捕獲個体の疥癬罹患個状況による性比・幼成獣比の比較

疥癬罹患状況について雌雄及び幼成獣による差を比較するために、Shibata (2004) を参考に、健全個体の性比 (性比=メスの個体数/オスの個体数) と疥癬罹患個体の性比を比較した。また、山本ら (1994) を参考に、年齢査定において 0 歳と査定された個体を幼獣、1 歳以上と査定された個体を成獣とした。そして、Shibata (2004) を参考に、健全個体の幼成獣比 (幼成獣比=幼獣の個体数/成獣の個体数) と疥癬罹患個体の幼成獣比を比較した。

統計学的解析については、統計ソフト R 3.1.2 を用い、Fisher の正確確率検定により比較を行った。なお、疥癬疑い個体に関しては、疥癬の罹患状況が曖昧であるため、解析から除外した。

2-3. 結果

供試動物の疥癬罹患状況

生体捕獲個体全 28 頭のうち、健全個体は 23 頭、疥癬様個体は 5 頭であり、有害捕獲個体において、全 47 頭のうち、健全個体は 29 頭、疥癬様個体は 18 頭であった (表 2-3)。疥癬様個体 23 頭の皮膚病変を搔把し、ヒゼンダニ類の検出を試みたところ、生体捕獲個体は 2 頭、有害捕獲個体は 16 頭からダニ虫体が検出され、形態的特徴からヒゼンダニであると判定した (図 2-1)。全体では、健全個体 52 頭、疥癬罹患個体 18 頭、疥癬疑い個体 5 頭となった (表 2-3)。よって、疥癬様個体と判断された個体 23 頭中 18 頭 (78.2%) がヒゼンダニによる疥癬に罹患していた。

有害捕獲個体のメスの繁殖状況及び疥癬罹患個状況による性比・幼成獣比の比較

有害捕獲個体のメスの繁殖状況は表 2-4 にまとめた。疥癬疑い個体の 2 頭は、乳房腫脹

(図 2-2) や乳汁分泌、うち 1 頭の子宮には 7 つ (左 : 3 右 : 4) の胎盤痕が認められ (図 2-3) 、もう 1 頭は妊娠が確認された。

有害捕獲個体全体では、疥癬疑い個体の 2 頭を除き、オス 21 頭、メス 24 頭であり、幼獣 (0 歳) 19 頭、成獣 (1 歳以上) 25 頭であった (表 2-5) 。健全個体の性比 (♀/♂) は 0.93、疥癬罹患個体の性比 (♀/♂) は 0.6 であったが、有意な差は認められなかった ($P > 0.05$ 、表 2-6) 。年齢査定は、全ての有害捕獲個体において査定でき、0-5 歳の個体が確認された。年齢構成に関しては、健全個体の平均年齢は 1.38 ± 1.58 歳、疥癬罹患個体の平均年齢は 1.19 ± 1.24 歳であった。幼成獣比は、健全個体が 0.93、疥癬罹患個体が 0.6 であったが、有意な差は認められなかった ($P > 0.05$ 、表 2-7) 。

2-4. 考察

対象としたタヌキ全 75 頭のうち 18 頭が疥癬に罹患していたことから、本調査地に生息するタヌキにおいてヒゼンダニによる疥癬が浸淫していたことが明らかとなった。また、疥癬様個体 23 頭中 18 頭 (78.2%) が疥癬を罹患しており、本調査地で捕獲されたタヌキの血清からジステンパーウイルスは検出されていない (山口大学 (現・国立感染症研究所) 前田健教授 未発表) ことから、本調査地に生息するタヌキが脱毛を引き起こす要因となっている疾患は、疥癬である可能性が極めて高いと考えられた。一方、今回は疥癬様の皮膚病変が観察された個体のみからヒゼンダニの検出を試みている。アカギツネによる疥癬の感染実験によると、ヒゼンダニの感染から脱毛といった症状が観察されるまでに 11-45 日の時間を要する (Morner and Christensson 1984) 。そのため、感染初期である個体を見落としている可能性がある。ノルウェーに生息するアカギツネにおいて、抗ヒゼンダニ抗体が陽性となった個体の約半数がヒゼンダニ未検出であったと報告されており、軽症あるいは不顕性感染が原因となっていると示唆されている (Davidson et al. 2008) 。タヌキにおいても、軽症や不顕性感染である個体が存在し、それによって症状が確認されなかった可能性がある。そのため、今回使用した検査手法は、タヌキの疥癬罹患率を過小評価している可能性がある。

今後の解析において、疥癬罹患率を過小評価している可能性と、感染から発症までのタイムラグにより、流行時期が遅れてみえる可能性があることを念頭に置く必要がある。

有害捕獲個体のうち、ヒゼンダニが検出されなかった疥癬様個体 1 頭（90-059 及び 90-125）に関しては、乳房と乳頭が全て腫脹していた点（表 2-4, 図 2-2）や子宮に胎盤痕が認められた点（表 2-4, 図 2-3）から、妊娠という強いストレスによる休止期脱毛の可能性が示唆された（Sue 2010）。しかしながら、イヌにおけるヒゼンダニの検出率は低い（Lower *et al.* 2001 ; Scott and Miller 2013）ことや、アカギツネにおいては疥癬の感染初期は脱毛のみが症状として認められ、進行すると痂皮形成が認められることから（Morner and Christensson 1984）、感染初期であったために、ヒゼンダニが検出されなかった可能性も考えられた。

疥癬の発生状況については、性別や幼成獣による差は認められなかった。スペインに生息するシャモア（*Rupicapra rupicapra*）においても疥癬の発生に性別や幼成獣による差は認められないと報告されている（Fernández-Morán *et al.* 1997）。一方で、アカシカにおいては成獣ではメスよりもオスが疥癬の罹患率が高く、幼獣のほうが成獣よりも罹患率が低いといった差が認められており（Oleaga *et al.* 2008）、動物種により発生状況は異なっている。Shibata（2004）は、イノシシの疥癬が成獣メスと幼獣に多かった要因として、成獣メスと幼獣で群れを形成する行動生態（Nakatani and Ono 1994）をとることを挙げている。タヌキは繁殖ペアと通年行動をとる程度で群れの形成はなく（Kauhala *et al.* 1993）、シャモアは季節によってはオスも加わった群れを形成するとされる（Perez-Barberia *et al.* 1997）。タヌキやシャモアにはこのような群れの構成が影響した可能性がある。そのため、群れの形成有無や構成が疥癬罹患の性別や幼成獣による差に影響している可能性が考えられた。

今回対象とした疥癬様個体の 78.2%は実際に疥癬に罹患しており、本調査地に生息するタヌキが脱毛を引き起こす要因は、疥癬である可能性が高いことが判明した。よって、肉眼的所見から高い確率で疥癬罹患を判断できることが明らかとなったため、第 3 章では、カメラにより疥癬の発生状況のモニタリングを行った。

表 2-1. プランクチュロ液の組成

試薬名	量
蒸留水 (DW)	636ml
塩化アルミニウム (Aluminium chloride 6-hydrate)	56g
塩酸 (35%) (Hydrochloric acid)	68ml
蟻酸 (Formic acid)	40ml
全液量	800ml

表 2-2. 5%硫酸ナトリウム液の組成

試薬名	量
蒸留水 (DW)	760ml
硫酸ナトリウム (Sodium sulfate anhydrous)	40g
全液量	800ml

表 2-3. 群馬県高崎市において捕獲されたタヌキの疥癬罹患状況

	健常	疥癬		計
		罹患	疑い	
生体捕獲	23	2	3	28
有害捕獲	29	16	2	47
計	52	18	5	75

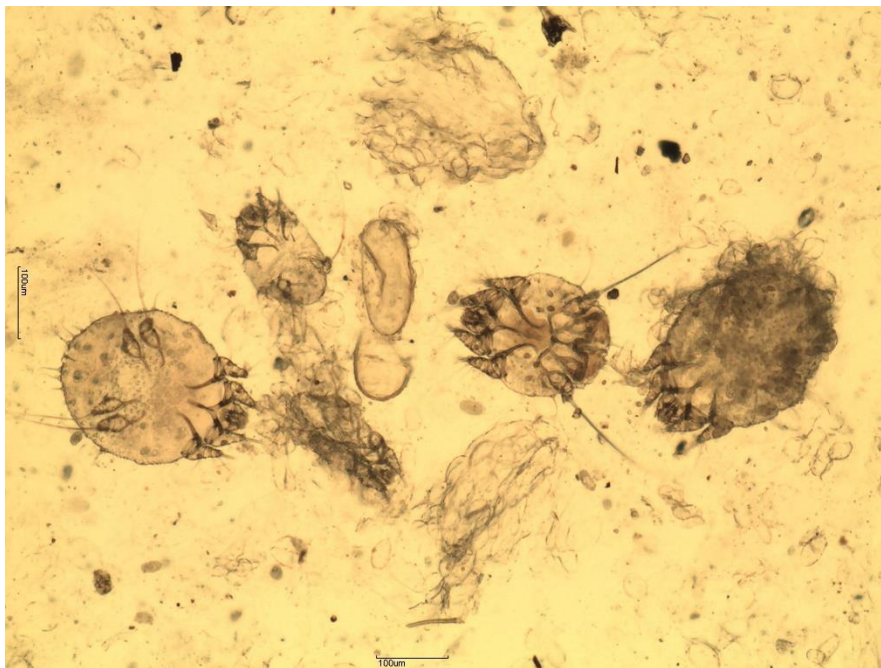


図 2-1. 15%KOH-40%DMSO 液下でのヒゼンダニ虫体

左から成虫メス、幼虫、虫卵（殻のみ）、成虫オス、成虫メスが認められる。

表 2-4. 有害捕獲個体のメスの繁殖状況

個体番号	捕獲年月日	ダニ 検出	乳房 腫脹	乳頭 腫脹	乳頭 色素	乳汁 分泌	胎盤 痕	妊娠
90-002			-	-	-	-	-	-
90-015	2013/12/7		-	-	-	-	-	-
90-024	2014/5/2		-	-	-	-	-	○
90-064	2014/10/26		-	◎	-	-	○	-
90-066	2014/11/11		-	-	-	-	-	-
90-069	2014/10/16		-	-	-	-	-	-
健常 個体	90-103	2015/3/3	-	-	-	-	○	-
90-112	2016/10/20	-	-	◎	◎	-	○	-
90-114	2016/10/26	-	-	-	-	-	-	-
90-115	2016/10/14	-	-	-	-	-	-	-
90-118	2016/11/21	-	-	-	-	-	-	-
90-119	2016/11/28	-	-	-	-	-	-	-
90-123	2017/4/28	-	-	-	-	-	-	○
90-131	2017/9/8	-	-	◎	-	-	○	-
90-018	2014/4/7	○	-	-	-	-	-	-
90-026	2014/4/28	○	-	-	-	-	-	-
90-027	2014/4/23	○	-	-	-	-	-	○
90-059	2014/7/11	×	◎	◎	-	○	○	-
90-061	2014/6/30	○	○	◎	◎	○	○	-
90-062	2014/7/9	○	◎	-	-	-	○	-
90-068	2014/11/11	○	-	-	-	-	-	-
90-109	2015/2/17	○	-	-	-	-	-	-
90-116	2016/11/1	○	-	-	-	-	-	-
90-125	2017/5/16	×	◎	-	-	◎	-	○
90-135	2018/4/25	○	-	-	-	-	○	-
90-144	2018/9/27	○	-	-	-	-	-	-

乳房腫脹、乳頭腫脹、乳頭色素沈着及び乳汁分泌に関しては、全ての乳房または乳頭に認められた場合は二重丸印（◎）、一部のみに認められた場合は丸印（○）で記した。なお、90-002 に関しては、捕獲日が不明であったため空欄となっている。



図 2-2. 乳房腫脹及び乳頭腫脹の様子

ヒゼンダニの検出されなかった疥癬様個体（90-059）に認められた。



図 2-3. 子宮に認められた胎盤痕の様子

ヒゼンダニの検出されなかった疥癬様個体（90-059）に認められた。

表 2-5. 有害捕獲個体の性別、年齢査定結果及び疥癬罹患状況

個体番号	捕獲年月日	捕獲地点	性別	年齢 (歳)	皮膚病変		ヒゼンダニ 検出
					脱毛	痂皮	
90-002			♀	0			
90-007	2013/11/3		♂	2			
90-015	2013/12/7	箕郷町 駒寄	♀	3			
90-024	2014/5/2	井出町	♀	1			
90-063	2014/9/10	箕郷町 西明屋	♂	0			
90-064	2014/10/26	箕郷町 富岡	♀	2			
90-065	2014/9/24	保渡田町	♂	2			
90-066	2014/11/11	箕郷町 富岡	♀	0			
90-067	2014/9/16	箕郷町 富岡	♂	3			
90-069	2014/10/16	箕郷町 上善地	♀	0			
90-075	2014/11/7		♂	1			
90-093	2014/12/1	箕郷町 富岡	♂	4			
90-099	2014/12/17	箕郷町 東明屋	♂	0			
90-103	2015/3/3	箕郷町 駒寄	♀	2			
90-107	2015/3/10	箕郷町 西明屋	♂	3			
90-111	2015/10/10		♂	0			
90-112	2016/10/20	宮沢町	♀	5			
90-113	2016/10/19	十文字町	♂	0			
90-114	2016/10/26	十文字町	♀	0			
90-115	2016/10/14	宮沢町	♀	0			
90-117	2016/11/8	宮沢町	♂	1			
90-118	2016/11/21	本郷町	♀	0			
90-119	2016/11/28	宮沢町	♀	0			
90-120	2017/2/3	宮沢町	♂	0			
90-123	2017/4/28	十文字町	♀	3			
90-129	2017/10/20	中里見町	♂	4			
90-131	2017/9/8	神戸町	♀	4			
90-132	2017/11/30		♂	0			
90-133	2018/2/12	十文字町	♂	0			
90-009			♂	0	○	○	○
90-018	2014/4/7	箕郷町 白川	♀	1	○	○	○
90-026	2014/4/28	井出町	♀	1	○	○	○
90-027	2014/4/23	井出町	♀	2	○	×	○
90-059	2014/7/11	箕郷町 富岡	♀	1	○	×	×
90-061	2014/6/30	箕郷町 富岡	♀	1	○	×	○
90-062	2014/7/9	箕郷町 富岡	♀	2	○	×	○
90-068	2014/11/11	箕郷町 富岡	♀	0	○	○	○
90-092	2014/12/4	箕郷町 富岡	♂	1	○	○	○
90-098	2014/12/25	箕郷町 富岡	♂	4	○	○	○
90-108	2014/12/13	箕郷町 富岡	♂	0	○	○	○
90-109	2015/2/17	箕郷町 富岡	♀	0	○	○	○
90-116	2016/11/1		♀	0	○	○	○
90-122	2017/4/9	宮沢町	♂	1	○	○	○
90-125	2017/5/16	下室田	♀	1	○	○	×
90-130	2017/10/5	本郷町	♂	0	○	○	○
90-135	2018/4/25	宮沢町	♀	3	○	○	○
90-144	2018/9/27	十文字町	♀	3	○	○	○

健全
個体

疥癬
様
個体

表 2-6. 有害捕獲個体における疥癬罹患と性比

	オス	メス
健常	15	14
疥癬罹患	6	10
計	21	10

雌雄での統計的有意差は認められなかった。

(Fisher の正確確率検定 : $P > 0.05$)

表 2-7. 有害捕獲個体における疥癬罹患と幼成獣比

	幼獣	成獣
健常	14	15
疥癬罹患	6	10
計	20	25

幼獣は 0 歳、成獣は 1 歳以上とした。

幼成獣比による統計的有意差は認められなかった。

(Fisher の正確確率検定 : $P > 0.05$)

第3章

自動撮影調査を用いた疥癬発生状況の把握及び生息密度の影響

3-1. 序論

第2章において、群馬県高崎市に生息するタヌキでヒゼンダニによる疥癬が浸淫していることが明らかとなった。疥癬はアレルギー性過敏症反応による皮膚疾患であるが（今井 2006）、重症化すると脱水や衰弱、細菌の二次感染により死に至る場合もある（Morner and Christensson 1984；今井 2006）。そのため、タヌキの疥癬発生による個体群への影響が懸念されている（Shibata and Kawamichi 1999；Kido *et al.* 2013）。しかし、タヌキの疥癬の個体群動態を検討した論文の多くは捕獲個体数や救護個体数を指標としており、これらの指標は捕獲努力量に左右され、必ずしも正確な個体数を反映させるものではないとされる（大東-伊藤・神崎 1998）。特に、疥癬に罹患した場合は衰弱による餌資源の摂取能力の低下により、餌資源の少ない冬場は救護数や捕獲数が増えるとされている（Shibata 2004）。そのため、疥癬の発生状況を把握するためには、捕獲数とは異なる適切な指標を選択する必要がある。

また、タヌキの疥癬の発生要因として、生息密度の上昇が挙げられている（Shibata and Kawamichi 1999；Shibata 2004；Kido *et al.* 2013）。スペインに生息するバーバリーシープでは、1980年以前に4頭/km²以下であった生息密度が、1989年には19頭/km²に達し、1992年に疥癬の流行が起きたと報告されている（Gonzalez-Candela *et al.* 2004）。流行時には7割以上の個体が疥癬を発症し、翌年には生息密度が2頭/km²以下にまで低下している（Gonzalez-Candela *et al.* 2004）。このように、生息密度がある一定数を超えた際に、疥癬の流行が引き起こされると考えられる。バーバリーシープは5-25頭からなる群れを構成するため（Gray and Simpson 1982）、群れを構成しないタヌキとは疥癬を引き起こす生息密度は異なる可能性が高い。タヌキの生息密度は通常では5頭/km²未満とされるが（Goszczyński 1999；Drygala *et al.* 2008；Sutor and Schwarz 2011）、都市地域のように生息地が分断化され

た環境の場合 52 頭/km²にもなる (Iwasaki *et al.* 2017)。しかし、どの程度の生息密度の上昇が疥癬の流行に関与するのかは明らかではない。

中大型哺乳類の生息状況を包括的に把握することを目的として、カメラを用いることが新たな調査手法となっている (平川 2003, 2004)。カメラを用いることにより、継続してモニタリングを行うことが可能であり、得られたデータは生息密度の推定にも応用されている (O'Brien *et al.* 2003 ; 平川 2004 ; Rowcliffe *et al.* 2008 ; Iwasaki *et al.* 2017)。相対的な生息密度指標としては、撮影頻度があげられる。O'Brien *et al.* (2003) は、インドネシアに生息するトラ (*Panthera tigris*) とその被食動物において、自動撮影調査による撮影頻度と、同じ調査地で独立的に行われた痕跡調査から推定された生息密度との間には正の相関関係が示されたと報告している。絶対個体数を推定する手法としては、Schnabel 法 (Schnabel 1938) などがあるが、この手法は個体識別を行う必要があり、標識の装着など野生動物にとって侵襲的な手法を伴うこともある上に、長期的なモニタリングには適さないと考えられる。一方、Random Encounter Model (以下、REM) (Rowcliffe *et al.* 2008) は、動物の撮影率と行動特性及びカメラの特性を利用する手法であり、タンザニアのライオン (*Panthera leo*) やイギリスのヤブノウサギ (*Lepus europaeus*) やユキウサギ (*L. timidus*) の個体数推定に用いられている (Cusack *et al.* 2015 ; Caravaggi *et al.* 2016)。このモデルは、ラインセンサス法から得られた推定値と比較しても、REM により精度の高い推定値が得られており (Rowcliffe *et al.* 2008)、生息密度の指標としては有用であると言える。しかし、このモデルでは、①動物がランダムかつ他個体とは独立して移動すること、②動物がカメラの存在に関係なく独立して撮影されること、③対象個体群が閉鎖している (調査期間中に出生、死亡、移動、移出がおこらない) ことの3つの仮定を満たす必要がある (Rowcliffe *et al.* 2008)。この仮定を満たすことは難しく、季節移動や出産、自然死亡が生じやすい時期を避けるなどの対応が必要である。また、カメラのセンサー範囲が大きいほうが正確な値を得られるともされている (Lucas *et al.* 2015)。このように、有用な生息密度指標であるが、使用するにあたり課題も見受けられる。そこで、タヌキにおいても撮影頻度による相対的な生息密度と REM により

推定された生息密度との間に正の相関が認められるのであれば、タヌキの生息密度の上昇を評価することが可能であると考えた。

そこで、本章では、タヌキの疥癬の発生状況の把握、疥癬の発生と生息密度との関連、及び疥癬がタヌキの個体群動態へ与える影響を検討することを目的に、自動撮影調査を行い、疥癬の肉眼的所見である脱毛を指標に映像解析を行った。

3-2. 材料及び方法

調査地

調査地は、箕郷及び榛名とした。それぞれの地域において、1.5km 四方のエリアを設定し、1 メッシュにつき 500m 四方の 3×3 の 9 メッシュに細分した (図 3-1)。

自動撮影調査

使用するカメラはパッシブ型赤外線センサーカメラ (Model 119435; Trophy Camera Brown, Bushnell, Overland Park, Kansas, U.S.) を用いた。撮影地点は、9つのメッシュ内の動物の痕跡がみられた地点にそれぞれ設定し、カメラは撮影地点の地面に打ち込んだ木杭または樹木の地面から約1mの高さに設置した。カメラは、各メッシュにつき1台以上設置し、箕郷においては2011年6月25日から最大で14台、榛名においては2014年6月21日から最大で9台稼働しており、1回稼働当たり10秒間の動画を撮影し、その後10秒間の間隔をおいて再び待機状態になるように設定した。

カメラごとの稼働日数に関しては表 3-1 にまとめた。なお、稼働日数については、カメラナイト (以下、CN) と呼ばれる単位で表記した。CN は、カメラを用いた調査等で用いられる努力量の単位であり、1 台のカメラを 1 晩設置した場合を 1CN と定義している。

観察方法

箕郷においては2011年6月25日から2019年5月31日までの間、榛名においては2014年6月21

日から2019年5月31日までの間に撮影されたデータのうち、タヌキが撮影されたものを対象とした。第2章の結果から、肉眼的初見からでも疥癬罹患はある程度判断可能であるとし、撮影された個体のうち、脱毛と判断される箇所が視認された場合は「疥癬様個体（図3-2）」、視認されなかった場合は「健常個体（図3-3）」として記録した。撮影された個体が遠すぎるなどの理由から脱毛の有無を視認できない場合は、「判定不能個体」として扱い、各個体における撮影頭数をカウントした。

なお、Moll *et al.* (2009) に倣い、直前の撮影から3分以内に撮影された場合は同一個体であるとみなし、解析からは除外した。もし、3分以内に撮影された個体内で脱毛有無の判断が異なる結果となった場合は、疥癬様個体と判断されたものがある場合は、疥癬様個体をその同一個体の代表として扱った。健常個体と判定不能個体の2つが存在している場合は、健常個体をその同一個体の代表として扱った。

撮影頻度の算出

得られた撮影データは3ヵ月ごとの季節に区分した（春：3-5月、夏：6-8月、秋：9-11月、冬：12-2月）。そして、健常個体、疥癬様個体、判定不能個体のそれぞれの生息密度を推定するために、100CNあたりの撮影頻度を下記の式より算出し（O'Brien *et al.* 2003；園田・倉本 2008；杉浦ら 2014；Sugiura *et al.* 2018）、撮影頻度の経年的、季節的な変動を観察した。統計解析は、統計ソフトR 3.1.2により、各カメラから得られた撮影頻度に対し、季節毎に差が認められるか Kruskal-Wallis 検定によって解析した。

$$100\text{CN あたりの撮影頻度} = \frac{\text{撮影頭数}}{\text{カメラ稼働日数}} \times 100\text{CN}$$

また、疥癬様個体が撮影された割合を示すために、疥癬様個体の撮影率を下記の式より算出した。

$$\text{疥癬様個体の撮影率 (\%)} = \frac{\text{疥癬様個体の撮影頻度}}{\text{全個体における合計撮影頻度}} \times 100$$

REM による生息密度の推定

Rowcliffe *et al.* (2008) を参考に、自動撮影調査から得られた撮影データから、本調査地におけるタヌキの生息密度を、下記に示す REM より推定した。

$$D = \frac{gy}{t} \times \frac{\pi}{vr(2 + \theta)}$$

D は生息密度 (頭/m²)、y/t は調査期間内の動物の撮影回数、v は動物の移動速度 (m/h)、g は 1 枚の写真における動物の群れサイズ、r 及び θ はカメラの探知範囲の距離 (m) と角度 (rad) を示す。移動速度は、Saeki *et al.* (2007) が算出したタヌキの季節毎の夜間の移動速度 (春 : 221.4m/h、夏 : 239.6m/h、秋 : 267.0m/h、冬 : 166.4m/h) とした。また、カメラの探知範囲はそれぞれ 13.7m、1.309rad とした (株式会社地域環境計画調べ)。これらを用いて、各個体における季節ごとの生息密度を推定した。なお、結果では生息密度の単位は「頭/km²」に換算して示した。

また、推定された生息密度のうち疥癬様個体の占める割合を、下記の式より算出した。

$$\text{疥癬様個体の割合 (\%)} = \frac{\text{疥癬様個体の生息密度}}{\text{全個体における生息密度}} \times 100$$

撮影頻度と推定生息密度の相関関係

統計学的解析には、Statistical package Stata ver. 14 を用い、箕郷、榛名に設置したカメラのデータから算出した各個体の 100CN あたりの撮影頻度と REM から算出した各個体の推定生息密度から、Spearman の順位相関係数 (r_s) を算出し、相関関係を分析した。

3-3. 結果

箕郷における観察期間内に撮影されたタヌキのべ 3714 頭のうち、健全個体は 3249 頭、疥癬様個体は 371 頭、判定不能個体は 94 頭であった (表 3-2)。榛名においては、撮影されたタヌキのべ 2751 頭のうち、健全個体は 2076 頭、疥癬様個体は 618 頭、判定不能個体は 57 頭であった (表 3-3)。

箕郷における 100CN あたりの撮影頻度は図 3-4、榛名における 100CN あたりの撮影頻度は図 3-5 に示した。REM による箕郷及び榛名のタヌキの生息密度の推定結果は図 3-6, 3-7 に示した。100CN あたりの撮影頻度は、箕郷、榛名ともに健全個体の撮影頻度は季節毎に一定ではなく（箕郷・健全個体： $\chi^2=57.89, df=31, P<0.05$ 、榛名・健全個体： $\chi^2=66.29, df=19, P<0.05$ ）、経年的な変動が認められた（図 3-4, 3-5）。疥癬様個体は箕郷においては経年的変動が認められたが（箕郷・健全個体： $\chi^2=54.65, df=31, P<0.05$ ）、榛名においては経年的変動は確認されなかった（榛名・健全個体： $\chi^2=17.32, df=19, P>0.05$ ）。一方、判定不能個体に関しては、箕郷、榛名ともに経年的な変動は認められなかった（箕郷・判定不能個体： $\chi^2=34.78, df=31, P>0.05$ 、榛名・判定不能個体： $\chi^2=21.53, df=19, P>0.05$ ）。

100CN あたりの撮影頻度と REM による生息密度の相関関係は、箕郷、榛名のいずれの個体においても有意な正の相関が認められた（箕郷・健全個体： $r_s=0.93, P<0.01$ 、箕郷・疥癬様個体： $r_s=0.96, P<0.01$ 、箕郷・判定不能個体： $r_s=0.92, P<0.01$ 、榛名・健全個体： $r_s=0.98, P<0.01$ 、榛名・疥癬様個体： $r_s=0.98, P<0.01$ 、榛名・判定不能個体： $r_s=0.99, P<0.01$ 、図 3-8, 3-9）。

REM による箕郷における全個体での平均生息密度は 4.1 頭/km²であり、そのうち、最大生息密度は 2012 年冬の 16.8 頭/km²、最低生息密度は 2014 年夏の 0.8 頭/km²であった（図 3-6）。榛名における全個体での平均生息密度は 4.9 頭/km²であり、そのうち、最大生息密度は 2014 年冬の 15.7 頭/km²、最低生息密度は 2018 年夏の 0.8 頭/km²であった（図 3-7）。一方、疥癬様個体は、箕郷における最大生息密度が 2013 年夏の 2.9 頭/km²であり、疥癬様個体の割合が最も高くなったのは、2013 年夏の 48.2%だった（図 3-6）。榛名における疥癬様個体の最大生息密度が 2014 年冬の 3.2 頭/km²であり、疥癬様個体の割合が最も高くなったのは、2018 年夏で 83.3%だった（図 3-7）。

3-4. 考察

REM による推定生息密度と 100CN あたりの撮影頻度との間には、有意な正の相関が認め

られた。撮影頻度は相対的な生息密度指標となることから (O'Brien *et al.* 2003)、REM により推定された生息密度は、妥当な値を示していると判断した。

タヌキにおける疥癬の流行要因として、生息密度の上昇が関係することは既存研究においても示唆されていた (Shibata and Kawamichi 1999 ; Shibata 2004 ; Kido *et al.* 2013) が、具体的にどの程度の密度上昇が関与するのかは不明であった。今回、REM から推定された密度の平均生息密度は箕郷で 4.1 頭/km²、榛名で 4.9 頭/km²であり、既存研究で報告される通常生息密度の範囲内の値であった (Goszczyński 1999 ; Sutor 2007 ; Drygala *et al.* 2008) 。しかし、生息密度の最大値は箕郷で 16.8 頭/km²、榛名で 15.7 頭/km²と両地域とも平均生息密度の 3 倍以上にまで上昇した。箕郷においては、最大生息密度を記録した 2012 年冬の翌年の夏に 2.9 頭/km²と最大値を記録しており、生息密度の上昇が疥癬の流行を引き起こした可能性が示唆された。しかし、本研究では肉眼的所見から疥癬発症有無の判断をしている。アカギツネの疥癬の感染実験から、感染から脱毛といった症状が現れるまでに 1 ヶ月程度を要すると報告されている (Morner and Christensson 1984) 。そのため、本結果で疥癬の流行が確認されたよりも 1 ヶ月程度前に流行のピークを迎えていた可能性も考えられた。また、本結果と既存研究 (Goszczyński 1999 ; Sutor 2007 ; Drygala *et al.* 2008) の結果を踏まえ、5 頭/km²未滿を通常時の生息密度とするのであれば、生息密度が通常時の 3 倍以上となった場合に、疥癬の流行が引き起こされる可能性が高いと考えられた。2つのカメラ設置地域の生息密度が最も上昇した時期は異なっていたが両地域は最短で 2km 程度しか離れていない (図 3-1) 。タヌキの分散距離は 1-10km 程度であることから (山本ら 1994 ; Saeki 2001) 、移動が不可能な距離ではない。また、これらの地域の間には河川があるが、スウェーデンに生息するタヌキは海を泳ぎ島を移動することが報告されており (Dahl and Åhlén 2018) 、河川を横断し両地域を移動することは可能であったと考えられる。そのため両地域における個体群動態や疥癬の発生時期はリンクすると予想されたが、各地域の生息密度が最も上昇した時期は異なっており、さらに榛名は生息密度が最大値となった時期にすでに 2 割程度の個体が疥癬に罹患していた (図 3-6, 3-7) 。両地域間で個体の移動が成立していたのであ

れば、榛名は観察前の 2012-2013 年には 2014 年冬よりも高い生息密度を示し、箕郷と同様な個体群動態を示していた可能性も考えられた。しかし、これは両地域間で個体が移動していたということが前提であり、遺伝子解析により両地域における個体群の交流状況を検証していく必要があるだろう。

箕郷においては、疥癬様個体の撮影頻度には経年的な変動が確認された。これは、2013 年夏に流行したと考えられる疥癬が、約 5 年間かけて収束したことが影響したと考えられる。一方で、榛名は疥癬様個体の撮影頻度に経年的な変動は確認されなかったが、いずれの時期においても一定頭数以上の疥癬様個体が観察されており（表 3-3）、長期に渡ってタヌキ個体群内においてヒゼンダニの感染が維持されていたことが影響したと考えられる。スペインに生息するイベリアオオカミとアカギツネやノルウェーに生息するアカギツネにおける自動撮影調査を用いた疥癬のモニタリングにおいても、約 4-6 年間に渡り疥癬様の皮膚病変が認められた個体が観察されている（Oleaga *et al.* 2011 ; Carricondo-Sanchez *et al.* 2017）。これらのことから、一度疥癬が流行した個体群はヒゼンダニの感染が 5 年以上に渡って維持される可能性が高く、そのため収束にも長期間の時間を要する可能性が示唆された。また、箕郷における 2019 年春の生息密度は 1.1 頭/km² であり、最大値を示した 2012 年冬から減少傾向である（図 3-6）。個体群動態に影響を与える要因として、ロードキルや捕獲圧の上昇、餌資源の増減など様々な要因が考えられる（Helle and Kauhala 1995 ; Saeki and Macdonald 2004 ; Seki and Koganezawa 2017）。そのため、比較的長期にわたり生息密度が減少傾向であった要因としては、疥癬以外の様々な要因が影響した可能性も考えられる。一方で、疥癬の流行以降においても、少数ながらも常に疥癬様個体は観察されていた。よって、疥癬がタヌキ個体群内で常に維持されており、これにより長期的にも個体群動態へ影響を与えている可能性も考えられた。

今回の結果では、健全個体の撮影頻度はいずれの地域も経年的な変動が認められた。いずれの地域も健全個体の撮影頻度の上昇後に疥癬様個体の撮影頻度が上昇し、その後タヌキ全体の撮影頻度は減少傾向となることが確認された。アカギツネやバーバリーシープとい

った動物種において、個体数の増加後に、疥癬の流行が認められ、その後個体数の大幅な減少が確認されている（塚田ら 1998 ; Gonzalez-Candela *et al.* 2004）。今回の結果から、タヌキにおいても疥癬は個体群動態へ影響している可能性が示唆された。生息密度が上昇した時期に着目すると、秋や冬に上昇傾向にあった（図 3-8, 3-9）。タヌキは 5-6 月に子が出産し、約 80 日齢になる秋ごろに分散期を迎える（Ikeda 1983 ; 山本ら 1994 ; 田中 2009）。そのため、当年生まれの幼獣が分散することにより、秋と冬の生息密度の上昇が確認されたと予想される。疥癬はヒゼンダニに感染してから発症するまでに約 1 ヶ月程度の潜伏期間がある（Morner and Christensson 1984 ; Bhat *et al.* 2017）。そのため、秋や冬になり多くの個体が分散し、生息密度が上昇した環境下において、多くの個体と接触することがヒゼンダニを伝播する機会となり、そこから少し遅れて疥癬の流行が引きこされる可能性が示唆された。そのため、疥癬の伝播様式について解明していくためには、どのような個体間での接触伝播が重要となるのか検討していく必要もあると言える。

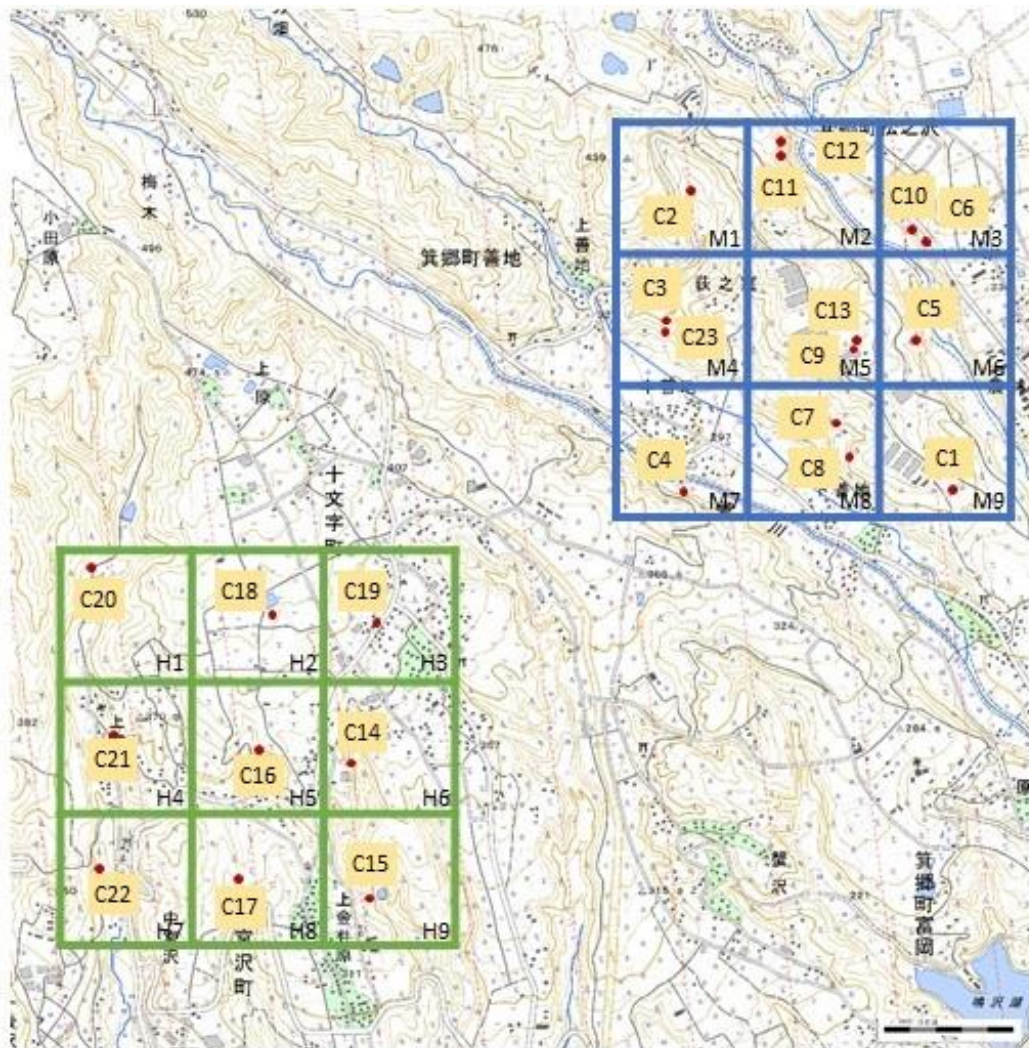


図 3-1. カメラ設置地点

箕郷（青枠）及び榛名（緑枠）の調査地域を、1.5km 四方のエリアを 1 メッシュにつき 500m 四方の 3×3 の 9 メッシュに細分した。

赤丸はカメラ設置地点を表し、M・H はメッシュ番号、C はカメラ番号を表す。



図 3-2. カメラにより撮影された疥癬様個体

2013年6月4日19時41分、M6C5において撮影された。



図 3-3. カメラにより撮影された健常個体

2014年3月11日23時37分、M8C7において撮影された。

表 3-2. 箕郷におけるタヌキの撮影頭数の集計結果 (単位: 頭)

	2011年		2012年		2013年		2014年		2015年		2016年		2017年		2018年		2019年		計															
	夏	秋	冬	春	夏	秋	冬	春	夏	秋	冬	春	夏	秋	冬	春	夏	秋		冬	春													
健全個体	61	140	220	142	88	492	398	177	105	116	83	69	21	82	96	37	39	85	79	58	25	81	47	52	26	82	60	30	3249					
疥癬様個体	22	2	2	1	4	2	15	33	106	2	9	4	5	7	43	3	8	0	1	2	29	0	19	13	17	10	3	1	2	5	1	0	371	
判定不能個体	5	5	7	2	4	9	9	6	9	3	2	0	1	0	0	1	3	1	2	2	2	2	5	3	3	1	4	2	1	1	1	0	0	94
計	88	147	229	145	96	503	422	216	220	121	94	73	27	89	139	41	50	69	117	41	70	90	101	74	43	95	52	54	29	88	61	30	3714	

表 3-3. 榛名におけるタヌキの撮影頭数の集計結果 (単位: 頭)

	2014年		2015年		2016年		2017年		2018年		2019年		計										
	夏	秋	冬	春	夏	秋	冬	春	夏	秋	冬	春											
健全個体	114	392	272	128	74	202	161	101	101	57	130	129	70	10	70	33	15	4	20	61	33	2076	
疥癬様個体	62	11	74	10	56	16	43	23	23	26	9	48	51	28	13	51	38	20	14	12	13	618	
判定不能個体	5	3	20	1	6	1	2	2	2	2	6	1	2	0	2	3	0	0	0	0	0	1	57
計	181	406	366	139	136	219	206	126	126	85	145	178	123	38	85	87	53	24	34	73	47	2751	

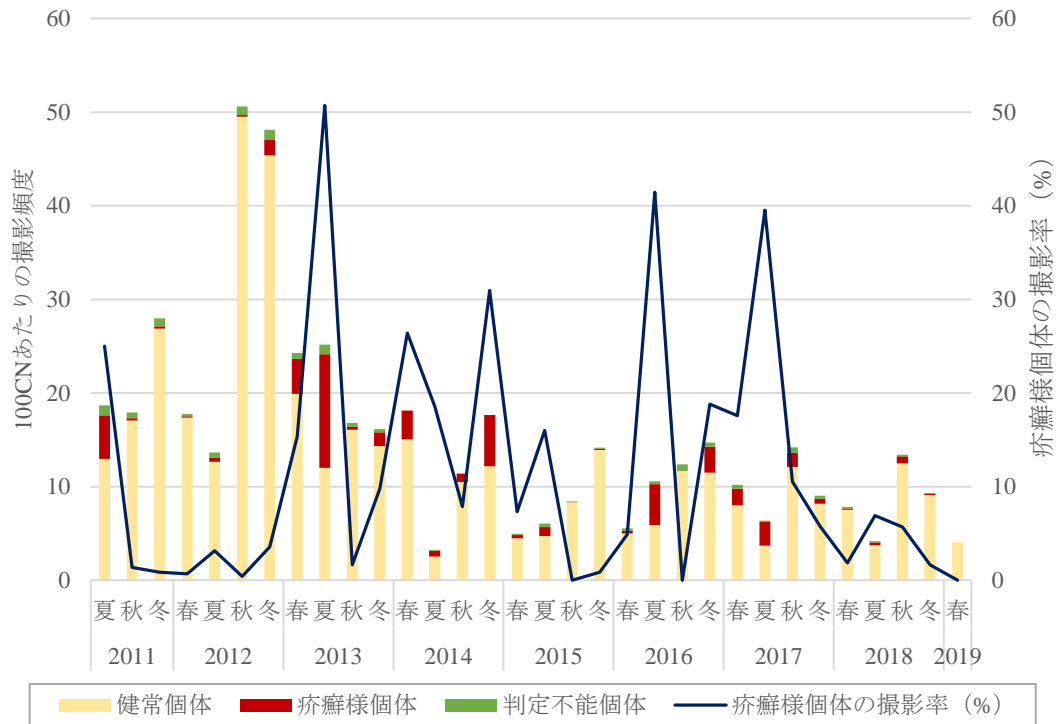


図 3-4. 箕郷における 100CN あたりの撮影頻度の経年的変動

棒グラフは、健常個体、疥癬様個体、判定不能個体それぞれの 100CN あたりの撮影頻度を表し、折れ線グラフは健常個体、疥癬様個体、判定不能個体を合計した撮影頻度に対して疥癬様個体の撮影頻度の占める割合を表す。

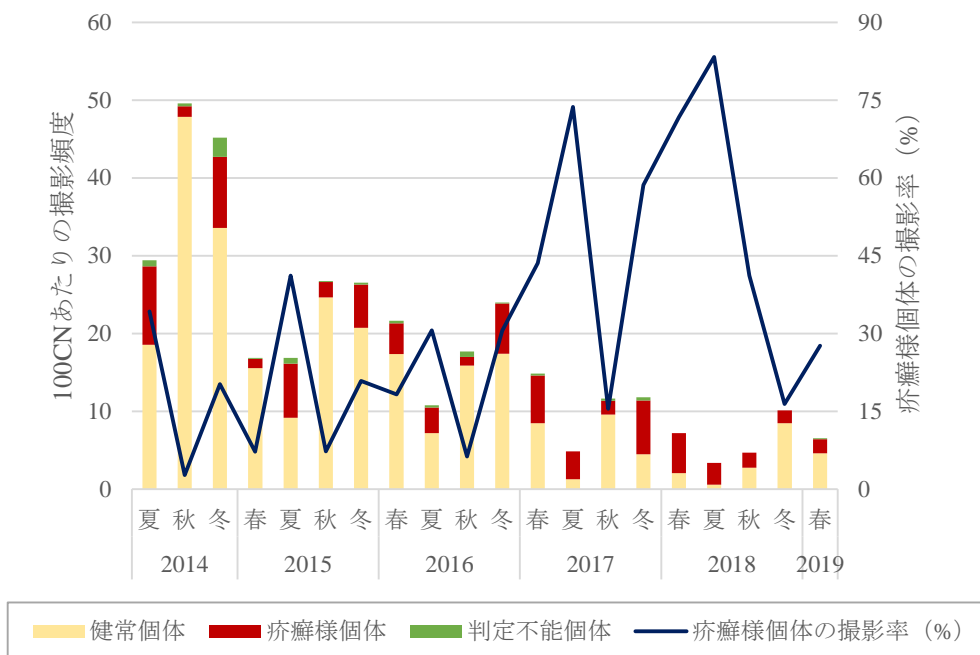
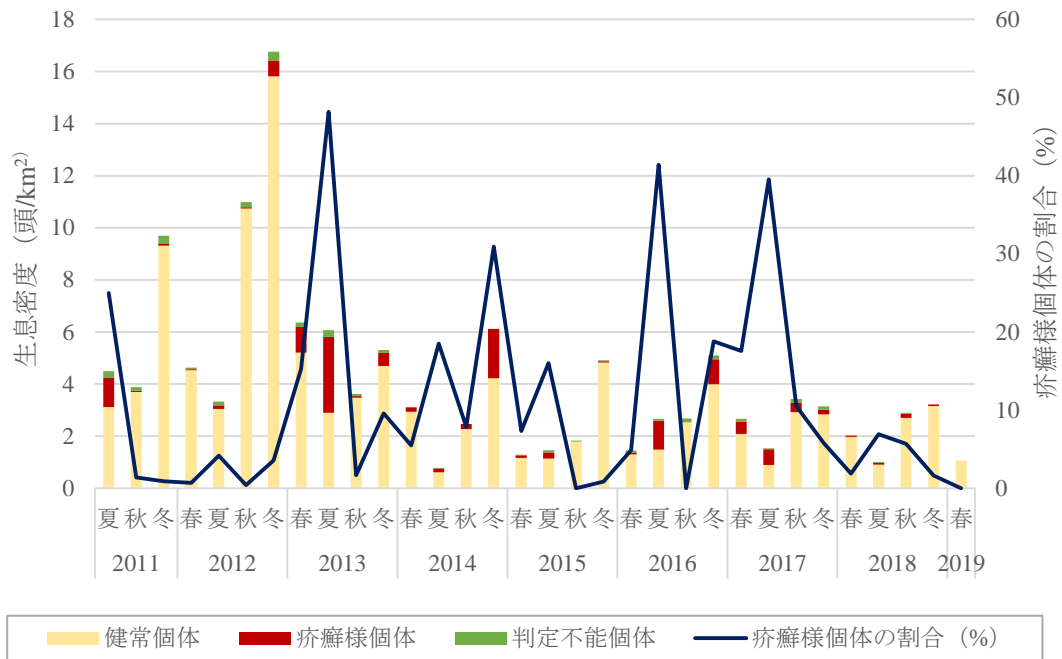


図 3-5. 様名における 100CN あたりの撮影頻度の経年的変動

棒グラフは、健常個体、疥癬様個体、判定不能個体それぞれの 100CN あたりの撮影頻度を表し、折れ線グラフは健常個体、疥癬様個体、判定不能個体を合計した撮影頻度に対して疥癬様個体の撮影頻度の占める割合を表す。



3-6. 箕郷におけるREMから算出したタヌキの生息密度

棒グラフはREM から算出した健全個体、疥癬様個体、判定不能個体の生息密度（頭/km²）を表し、折れ線グラフは健全個体、疥癬様個体、判定不能個体を合計した生息密度に対して疥癬様個体の生息密度の占める割合を表す。

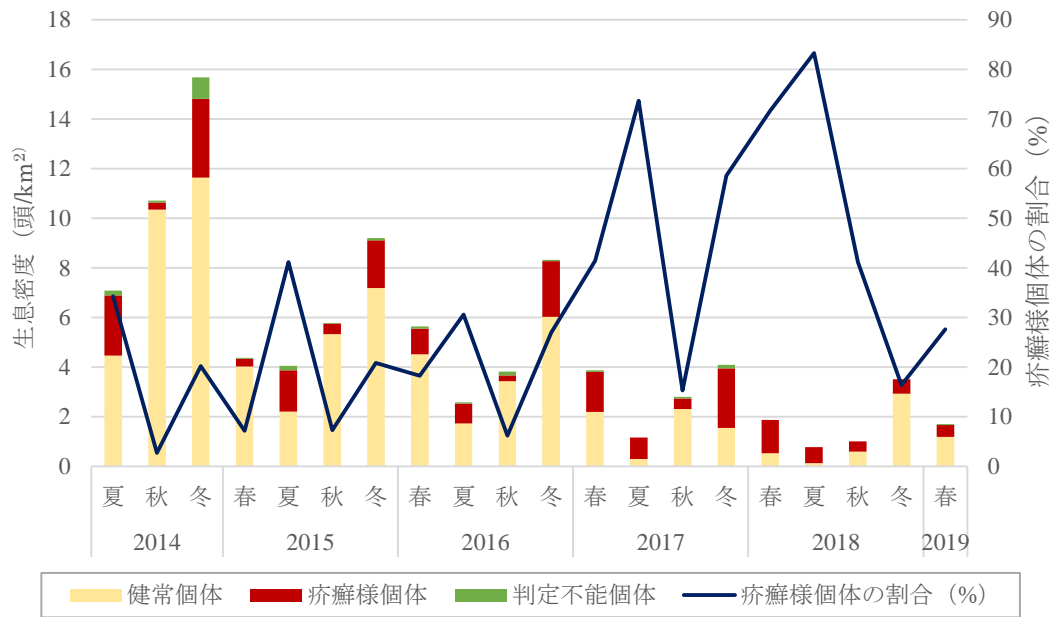


図3-7. 榛名におけるREMから算出したタヌキの生息密度

棒グラフはREMから算出した健全個体、疥癬様個体、判定不能個体の生息密度（頭/km²）を表し、折れ線グラフは健全個体、疥癬様個体、判定不能個体を合計した生息密度に対して疥癬様個体の生息密度の占める割合を表す。

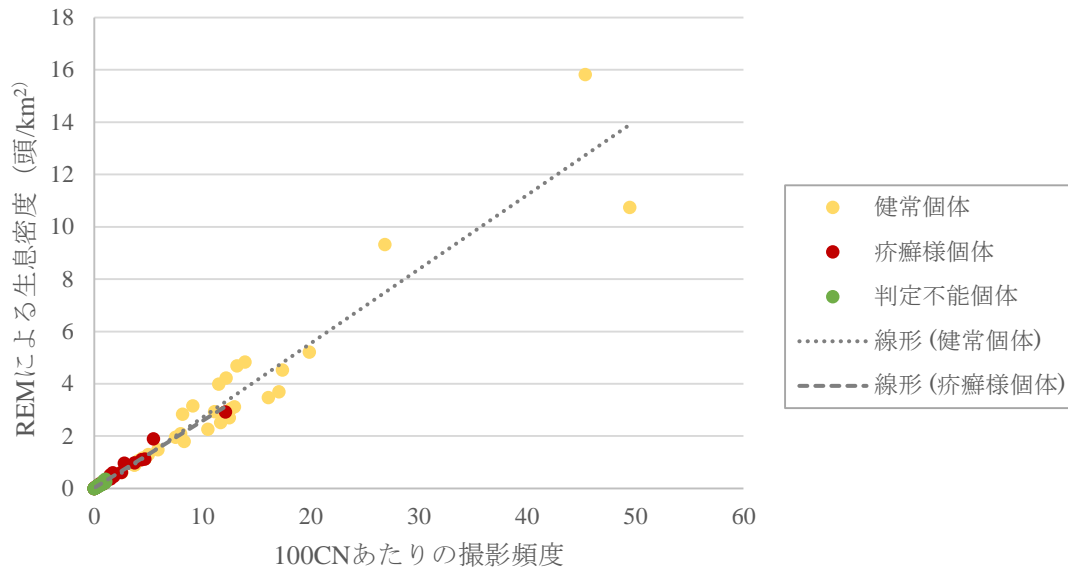


図 3-8. 箕郷における撮影頻度と推定生息密度の相関関係

各個体における撮影頻度と推定生息密度の相関関係を Spearman の順位相関係数により分析した。いずれも有意な正の相関が認められた（健全個体： $r_s = 0.93$, $P < 0.01$ 、疥癬様個体： $r_s = 0.96$, $P < 0.01$ 、判定不能個体： $r_s = 0.92$, $P < 0.01$ ）。

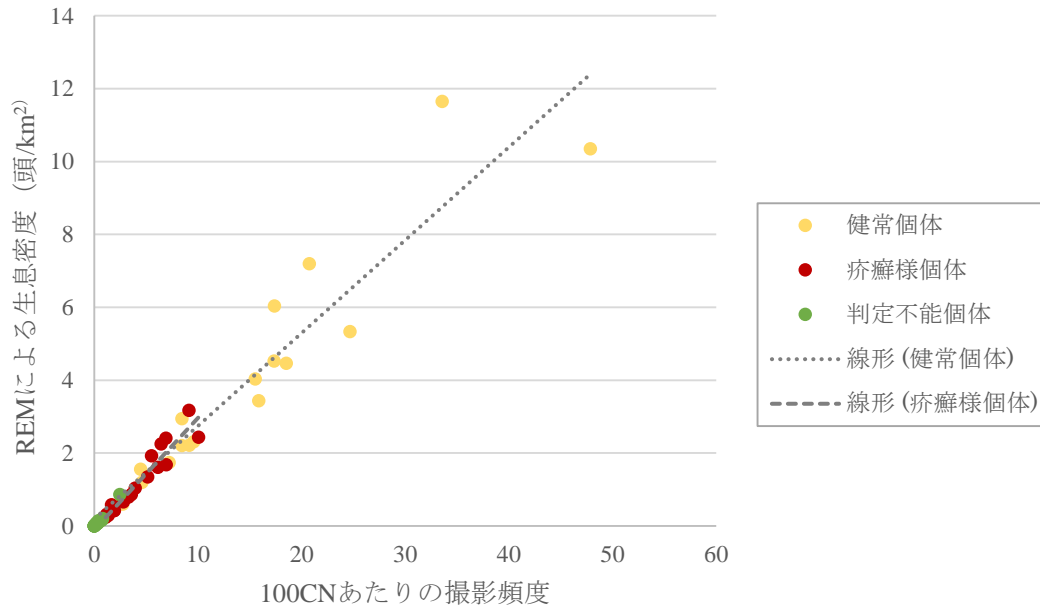


図 3-9. 榛名における撮影頻度と推定生息密度の相関関係

各個体における撮影頻度と推定生息密度の相関関係を Spearman の順位相関係数により分析した。いずれも有意な正の相関が認められた（健全個体： $r_s = 0.98$, $P < 0.01$ 、疥癬様個体： $r_s = 0.98$, $P < 0.01$ 、判定不能個体： $r_s = 0.99$, $P < 0.01$ ）。

第4章

タヌキの血縁関係及び生息地が疥癬の伝播に与える影響

4-1. 序論

野生動物における疥癬の伝播は、直接的あるいは間接的な接触伝播により引き起こされる (Bornstein *et al.* 2001)。タヌキにおける疥癬の伝播様式はまだ不明な点も多いものの、Shibata (2004) は親子と思われる個体や妊娠した個体で疥癬の発生が確認されたことから、家族関係にあたる個体同士での接触伝播が疥癬の流行要因の一つであると示唆している。この仮説には、タヌキの行動生態が深く関係している。タヌキは、オスもメスと同様に育子に参加し (Ikeda 1983 ; 田中 2009)、育子期には親子で同じねぐらで生活する (Ward and Wurster-Hill 1989 ; 谷地森ら 1997 ; 田中 2009)。行動域は約 0.5-2km² と他のイヌ科動物と比較すると狭い傾向にある (Ward and Wurster-Hill 1989 ; Saeki 2001 ; Mitsuhashi *et al.* 2018)。タヌキのこのような生態学的特徴により、親子や兄弟といった血縁関係のある個体間での接触が、疥癬の流行要因となっていると提唱されてきた (鈴木ら 1981 ; Shibata 2004)。このような血縁関係のある個体同士での伝播様式を解明するためには、タヌキの生息域を考慮し、ある程度限られた範囲の調査地内で、タヌキの血縁関係と疥癬の発生状況を調査する必要がある。

一方で、近年、都市化による生息地の分断化がタヌキの疥癬の発生を高める可能性が報告された (Saito and Sonoda 2017)。タヌキの生息分布は農業地域だけではなく、都市地域にも広がっている (Saeki 2001 ; Soga and Koike 2013 ; Mitsuhashi *et al.* 2018)。特に、都市緑地といった生息地の分断化が起きている環境では、タヌキの行動域が狭いことに加え、他個体とコアエリアまで重複している (小泉ら 2017)。生息地の分断化が進行することは、タヌキの接触機会も増加することに繋がると言え、タヌキの生息分布が影響することで、局所的な疥癬の流行が引き起こされている可能性がある。

そこで本章では、タヌキの疥癬の流行要因として提唱されてきた、親子や兄弟といった血縁関係のある個体同士での接触伝播が疥癬流行に影響しているのかを評価することを目的に、タヌキの遺伝子解析から血縁関係を推定し、疥癬罹患の有無と血縁関係にあたる個体数の多さを比較した。また、生息地域による疥癬発生の影響も評価を行うことを目的に、捕獲地点と疥癬罹患有無に関係があるのか分析した。

4-2. 材料及び方法

調査地

第2章で調査地とした箕郷及び榛名に加え、その周辺地域を対象とした。

供試動物

第2章で用いた検体と同じ検体を対象とした。ただし、疥癬疑い個体は疥癬の罹患状況が曖昧となるため、本章では対象から除外した。

①. 捕獲調査において生体捕獲した個体（以下、生体捕獲個体）

第2章で用いた検体のうち疥癬疑い個体を除いたタヌキ25頭を対象とした。

捕獲された個体は、鎮静後に性別の確認、歯式による成獣・幼獣の判定、採血、個体識別のためにマイクロチップの挿入を行った。採取した血液は、直ちに遠心分離機により血清を分離し、冷凍保存した。

②. 有害鳥獣捕獲された個体（以下、有害捕獲個体）

第2章で用いた検体と同じタヌキ45頭も対象とした。

解剖時に、DNAを抽出するために左大腿筋を採材した。採材した左大腿筋は冷凍状態で保存した。

遺伝子解析

得られた血清または左大腿筋から DNeasy & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) を用

いて DNA 抽出を行った。抽出した DNA は濃度及び純度を NANO DOROPTM2000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, U. S.) により測定した後、冷蔵状態で保存した。なお、DNA の抽出方法は本キットのプロトコールに従った。そして、Canine Genotypes Panel 1.1 Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) (表 4-1) により、マイクロサテライト (Short Tandem Repeat, 以下、STR) 領域 18 座位を増幅した。反応液は、Primer Mix 4.5 μ l、Master Mix (Buffer, dNTP, Phusion Hot Start DNA Polymerase) 4.5 μ l、DNA テンプレート (1ng/ μ l) 1 μ l とした。増幅は、T100TM Thermal Cycler (BIO RAD, Hercules, California, U. S.) を使用し、反応条件は、初期熱変性：98°C 3 分、熱変性：98°C 15 秒、アニーリング：60°C 75 秒、伸長反応：72°C 30 秒を 30 サイクル、最終伸長反応：72°C 5 分とした。

PCR 産物 1 検体につき、Hi-Di Mix (Hi-DiTM ホルムアミド (Applied Biosystems, Foster City, California, U. S.) 11 μ l、GeneScan 500 LIZ Size Standard (Applied Biosystems, Foster City, California, U. S.) 0.3 μ l) を作成した。Hi-Di Mix 10 μ l に、PCR 産物 1 μ l を添加し、95°C で 3 分間インキュベートした後、3 分間氷冷した。その後、ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, California, U. S.) によりキャピラリー電気泳動を行った。フラグメント解析データは、Peak Scanner Software v1.0 (Applied Biosystems, Foster City, California, U. S.) により各遺伝子座の波形を読み取り、遺伝子型を判定した。

得られた遺伝子型をもとに、アレル数、ヘテロ接合度観察値 (Observed heterozygosity: H_o) と期待値 (Expected heterozygosity: H_E)、Null-allele 確率を Carvus ver. 3.0 (Marshall *et al.* 1998) を用いて算出した。また、Hardy-Weinberg 平衡 (以下、HWE) からの逸脱に関する検定は、ML-Relate (Kalinowski *et al.* 2006) を用いて算出した。血縁関係の推定には、ML-Relate (Kalinowski *et al.* 2006) を用い、遺伝的血縁度の最尤推定値から、PO (parent-offspring; 親子)、FS (full-siblings; 両親が同一である兄弟)、HS (half-siblings; 片親のみ同一である兄弟)、U (unrelated; 無関係) の 4 つに区分した。

統計解析

タヌキの行動生態として、親子または同年に生まれた兄弟との接触機会が多いと予想されることから、今回は ML-Relate による 4 つの区分のうち、「血縁関係がある」という区分は PO と FS とし、HS の個体は今回の解析からは除外した。その個体に対する血縁関係のある個体、つまり PO 及び FS の関係である個体数をカウントした (図 4-1)。疥癬罹患の有無を目的変数とし、その個体に対する PO 及び FS にあたる関係の個体数を説明変数とし、ロジスティック回帰分析とオッズ比 (Odds ratios, OR) の算出を、Statistical package Stata ver. 14 を用いて行った。疥癬罹患個体に対する PO 及び FS の関係にあたる個体は、QGIS 2.14.3 ソフトウェアを用いて地図上にプロットした。

一方、生息地域による影響を評価するために、それぞれの捕獲地域と疥癬発症有無について解析を行った。捕獲地域は字ごとに区分し、少数しか捕獲されなかった字については周囲の字とプールし、合計で 7 つの地域に区分した (図 4-2)。そして、疥癬罹患の有無を目的変数とし、その個体の捕獲地域を説明変数として、ロジスティック回帰分析を Statistical package Stata ver. 14 を用いて行った。

4-3. 結果

遺伝子解析及び血縁関係による疥癬罹患状況

各個体において、10-17 座位 (平均 15.14 座位) の遺伝子型を判定した。増幅した STR 領域のうち、AHTh260 に関しては、同様な高さのピークが 1bp ごとに多数確認され、遺伝子型を決定することが困難であったため、今後の解析からは除外した。各個体から得られた遺伝子型をもとに算出した、アリル数、ヘテロ接合度観察値、ヘテロ接合度期待値、HWE からの逸脱に関する検定結果、及び Null-allele 確率は表 4-2 にまとめた。また、各遺伝子座におけるアリル頻度を表 4-3 にまとめた。

対象とした健常個体及び疥癬罹患個体の計 70 頭による総当りでの血縁関係の推定の結果、PO 2 組、FS 50 組、HS 199 組、U 2164 組となった (表 4-4)。PO 及び FS にあたる関係の

個体の頭数は、疥癬罹患個体では 0-2 頭、健常個体では 0-8 頭となり（表 4-5）、疥癬罹患個体よりも健常個体のほうが血縁関係のある個体が多い傾向が得られた。統計解析の結果、疥癬罹患の有無において血縁関係のある個体の頭数は有意差はなく（OR = 0.63, 95% CI = 0.38-1.04, $P=0.073$ ）、むしろ P 値が 0.05 に近い値をとっており、血縁関係のある個体が多いほうが疥癬に罹患しにくい傾向が得られた。

疥癬罹患個体 18 頭のうち 6 頭がいずれの個体とも血縁関係がなく、いずれかの個体と血縁関係のあった 12 頭の疥癬罹患個体のうち 9 頭は、健常個体とのみ血縁関係を示し（図 4-3）、多くの疥癬罹患個体同士は血縁関係が認められなかった。

生息地域による疥癬罹患状況

統計解析の結果、疥癬罹患の有無には捕獲地域ごとに有意な差が認められた（OR = 1.79, 95% CI = 0.17-0.99, $P = 0.005$ ）。各個体の捕獲地点を地図上にプロットしたところ、疥癬罹患個体はいくつかの地域ごとにまとまって捕獲されていた（図 4-4）。

4-4. 考察

既存研究において、タヌキの行動生態として親子や兄弟でねぐらやため糞場の共有、行動域の重複などが認められることから（谷地森ら 1997；Saeki 2001；佐伯 2008；田中 2009）、タヌキの疥癬の流行要因の一つとして、親子間での直接的な接触伝播が考えられてきた（鈴木ら 1981；Shibata 2004）。しかし、今回の血縁関係の推定結果では、疥癬罹患個体同士の PO は 1 組しか検出されず、疥癬罹患個体同士の U は 141 組であり、多くの疥癬罹患個体同士に血縁関係は認められなかった（表 4-4）。タヌキは家族同士や生息地が近接する個体とため糞場を共有する（Ikeda 1984b；小泉ら 2017）。そのため、血縁関係にあたる個体が多い場合、それらの個体と行動域を重複させ、より多くの接触機会があったことが予想される。しかしながら、疥癬の罹患には血縁関係にあたる個体の多さは関係がなく、むしろ健常個体のほうが血縁関係にあたる個体が多く認められた（表 4-5）。また、疥癬罹患個体 18 頭中

12 頭はいずれの個体と血縁関係があり、特定の血縁内でのみ疥癬の伝播が成立している可能性も考えられた。しかし、疥癬罹患個体同士で血縁関係が認められたのは3頭であり、残りの9頭は健常個体と血縁関係が認められた。つまり、疥癬の伝播様式は、一部の特定の血縁間のみで成立しているわけではない可能性が高いと言える。よって、血縁関係のある個体間による疥癬の接触伝播の頻度はそれほど多くないか、そのような接触伝播は疥癬の流行に重要な要因ではない可能性が示唆された。

一方で、疥癬は生息地域によって発生状況が異なり、疥癬の流行は局所的に起こっていた。よって、近接して生息する個体同士での接触伝播が、局所的な疥癬の流行を引きおこす重要な要因となっている可能性が示唆された。ヨーロッパでの中心部に生息するタヌキは、一定の地域に定住することを避けると報告されているが (Drygala and Zoller 2013)、日本の都市地域に生息するタヌキは生息域が狭いことから (Mitsuhashi *et al.* 2018)、定住性が高いことが予想される。日本に生息するタヌキのこのような行動生態が、局所的な疥癬の流行を引き起こすことに関与していた可能性が考えられた。

今回の調査地は、北西部には榛名山が位置し、そこから南東へ向かうにつれて都市地域が広がる環境である。疥癬罹患個体は、森林地域の周辺ではなく、都市地域周辺に分布する傾向が認められた (図 4-4)。このような分布が認められた理由として、1) 都市化による生息地の分断化が疥癬の発生を助長している (Saito and Sonoda 2017)、2) 疥癬罹患個体がゴミなどの餌資源を求めて都市地域周辺に集まっている (Hirasawa *et al.* 2006 ; Saito and Sonoda 2017) ことなどが考えられる。いずれにしても、今回の結果から疥癬罹患個体の多くが都市地域周辺に生息している可能性が示唆された。生息地の分断化により、生息密度が上昇すると報告されており (Saito and Sonoda 2017)、疥癬の発生には生息密度の上昇が影響することから (Shibata 2004 ; Kido *et al.* 2013 ; Sugiura *et al.* 2018)、疥癬の発生は森林地域よりも都市地域周辺において多かったと考えられる。今回の結果やこれらの既存研究から、都市地域のような生息密度が高まった環境下において、生息域が近接した個体間で接触することが、疥癬の伝播様式として成立している可能性が示唆された。

都市地域は、森林地域と比べ人口密度も高く、それに伴い多くの家庭犬も飼育されている。従来、ヒゼンダニは宿主特異性が高く、宿主動物種を超えた交差感染の可能性は低いと考えられてきた (Pence and Ueckermann 2002)。しかし、近年の遺伝子解析技術の発展により、タヌキと家庭犬においてヒゼンダニの交差感染が成立する可能性が強く支持された (Matsuyama *et al.* 2015)。さらに家庭犬だけではなく、他の野生動物種においてもタヌキに寄生するヒゼンダニと近縁な遺伝的構造を示すことが報告されている (Matsuyama *et al.* 2019)。つまり、タヌキと複数の動物種においてヒゼンダニの交差感染が成立する可能性が高く、交差感染が成立している場合、タヌキやいずれかの種で疥癬の流行が起きた場合に、交差感染が成立する他の種への影響は計り知れない。そのため、疥癬の伝播様式を明らかにしていくためには、タヌキの行動生態から明らかにすることに加え、他種の行動生態にも着目する必要があるだろう。

表 4-1. Canine Genotypes Panel 1.1 Kit によって増幅される 19 遺伝子座

遺伝子座	染色体	繰り返し 塩基数	アレルサイズ (bp)	蛍光色素
AHTk211	26	di	79-101	FAM (Blue)
CXX279	22	di	109-133	FAM (Blue)
REN169O18	29	di	150-170	FAM (Blue)
INU055	10	di	190-216	FAM (Blue)
REN54P11	18	di	222-244	FAM (Blue)
INRA21	21	di	87-111	VIC (Green)
AHT137	11	di	126-156	VIC (Green)
REN169D01	14	di	199-221	VIC (Green)
AHTh260	16	di	230-254	VIC (Green)
AHTk253	23	di	277-297	VIC (Green)
INU005	33	di	102-136	NED (Black)
INU030	12	di	139-157	NED (Black)
Amelogenin	X	-	174-218	NED (Black)
FH2848	2	di	222-244	NED (Black)
AHT121	13	di	65-118	PET (Red)
FH2054	12	tetra	135-179	PET (Red)
REN162C04	7	di	192-212	PET (Red)
AHTh171	6	di	215-239	PET (Red)
REN247M23	15	di	258-282	PET (Red)

Canine Genotypes Panel 1.1 Kit プロトコールより引用。

各遺伝子座が認められる染色体番号及びアレルサイズはイヌにおけるものである。

繰り返し塩基数における di は 2 塩基の反復配列、tetra は 4 塩基の反復配列の繰り返しから構成される遺伝子座であることを示している。

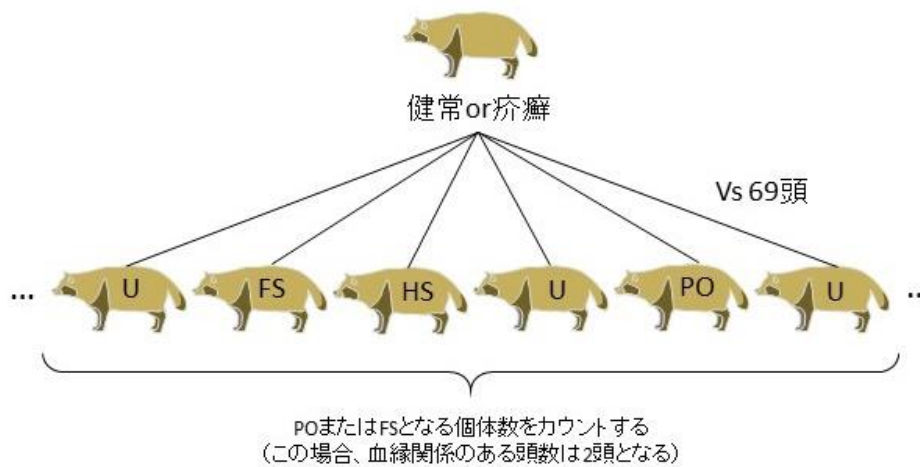


図 4-1. 血縁関係のある個体のカウント方法

ある個体に対して総当りで血縁関係の推定を行い、PO 及び FS と推定された個体の頭数をカウントした。その頭数をその個体における「血縁関係がある個体数」となる。

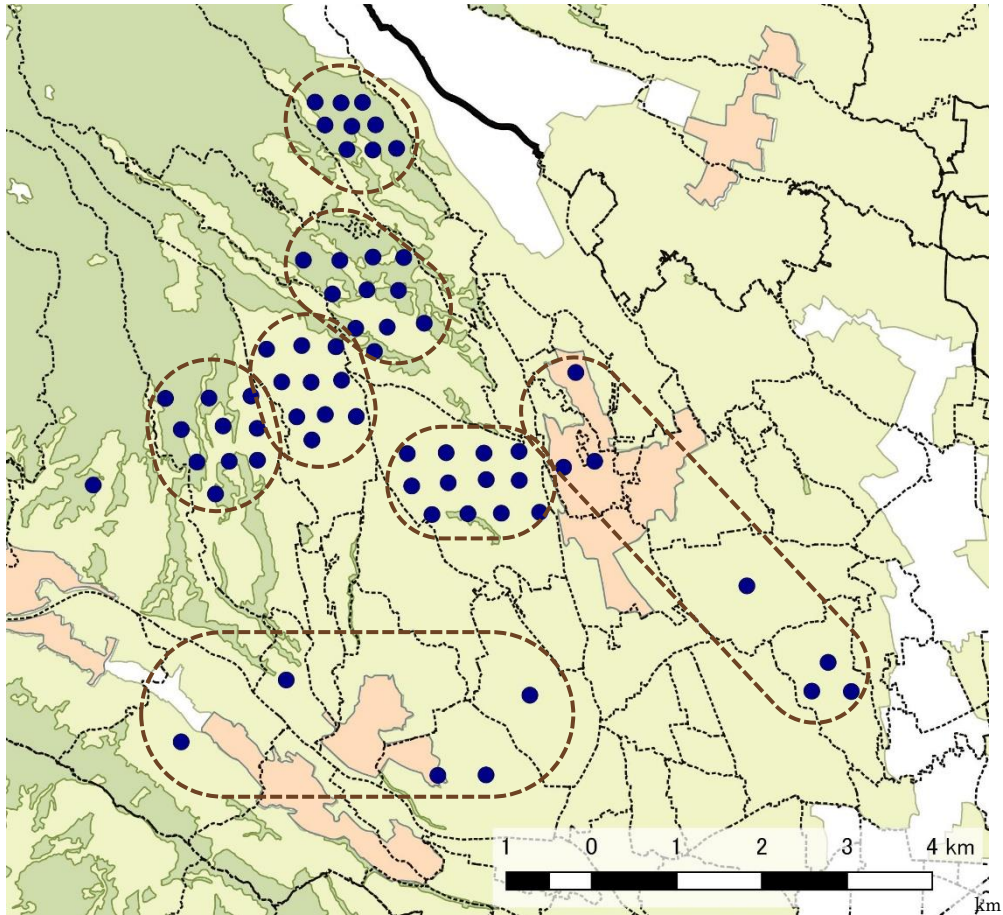


図 4-2. 捕獲地点区分方法

丸はタヌキの捕獲地点を示している。基本的に字ごとに解析を行ったが、頭数が十分でない地域においては、いくつかの地域をプールし、計7地点で解析を行った。なお、疥癬疑い個体を除いた75頭中9頭は捕獲地点が不明であったため地図上に記載していない。

表 4-2.各遺伝子座におけるアリル数、アリルサイズ範囲、ヘテロ接合度観察値・期待値、Hardy-Weinberg 平衡検定の結果

遺伝子座	アリル数	アリル 範囲	ヘテロ接合度		Hardy- Weinberg 平衡 検定	Null-allele 確率
			観察値	期待値		
AHTk211	14	73-98	0.667	0.869	0.000	0.206
CXX279	5	111-138	0.075	0.577	0.000	0.747
REN169O18	13	157-170	0.671	0.825	0.079	0.139
INU055	11	205-219	0.264	0.801	0.000	0.440
REN54P11	12	224-269	0.410	0.871	0.000	0.905
INRA21	8	73-93	0.338	0.598	0.012	0.583
AHT137	16	98-166	0.418	0.726	0.001	0.634
REN169D01	7	203-211	0.486	0.586	0.000	0.059
AHTk253	13	283-298	0.750	0.837	0.028	0.126
INU005	9	107-117	0.414	0.711	0.000	0.341
INU030	13	136-150	0.638	0.868	0.000	0.189
FH2848	13	230-245	0.618	0.863	0.000	0.205
AHT121	19	77-116	0.418	0.871	0.000	0.527
FH2054	18	138-168	0.757	0.899	0.005	0.065
REN162C04	19	197-216	0.738	0.887	0.000	0.514
AHTH171	12	224-242	0.571	0.829	0.000	0.183
REN247M23	13	265-291	0.591	0.877	0.000	0.302
平均	12.647		0.519	0.794	0.007	

表 4-3. 各遺伝子座におけるアリル頻度

遺伝子座	遺伝子型	アリル頻度	遺伝子座	遺伝子型	アリル頻度	遺伝子座	遺伝子型	アリル頻度	遺伝子座	遺伝子型	アリル頻度					
AHTK211	73	0.007	INU055	205	0.377	AHT137	98	0.008	INU005	107	0.450	AHT121	77	0.018		
	86	0.036		206	0.076		108	0.008		108	0.279		109	0.021	79	0.070
	87	0.043		207	0.009		109	0.008		109	0.021		110	0.029	80	0.009
	88	0.021		208	0.009		111	0.008		111	0.008		111	0.086	85	0.035
	89	0.021		211	0.028		114	0.015		114	0.015		111	0.086	98	0.009
	90	0.093		212	0.132		115	0.179		115	0.021		113	0.021	99	0.061
	91	0.150		213	0.170		116	0.478		116	0.043		115	0.043	101	0.061
	92	0.279		215	0.047		119	0.015		116	0.057		116	0.057	102	0.009
	93	0.093		216	0.057		128	0.008		117	0.014		117	0.014	103	0.026
	94	0.071		217	0.076		135	0.105					104	0.035	104	0.035
96	0.036	219	0.019	137	0.015			105	0.026	106	0.035					
CXX279	97	0.021	REN54P11	224	0.025	REN169D01	203	0.050	INU030	136	0.015	AHT171	224	0.236		
	98	0.043		227	0.050		204	0.014		146	0.065		137	0.087	225	0.057
	111	0.023		229	0.088		205	0.607		147	0.087		139	0.007	226	0.300
	115	0.216		242	0.025		206	0.093		148	0.174		141	0.246	227	0.107
	116	0.614		243	0.050		207	0.193		207	0.193		142	0.036	228	0.079
	125	0.102		244	0.113		208	0.036		211	0.007		144	0.145	229	0.021
	128	0.023		247	0.038		250	0.088					145	0.044	230	0.029
	138	0.023		249	0.125		251	0.263					146	0.065	231	0.079
				252	0.025		252	0.025					148	0.174	232	0.036
				259	0.013		269	0.013					149	0.036	233	0.114
REN169018	138	0.007	INRA21	73	0.565	AHTK253	195	0.009	FH2848	230	0.022	REN247M23	265	0.030		
	157	0.029		74	0.268		283	0.116		232	0.007		147	0.071	266	0.008
	159	0.043		80	0.094		284	0.036		233	0.103		148	0.014	271	0.015
	160	0.050		84	0.007		287	0.116		234	0.177		151	0.114	272	0.167
	161	0.057		85	0.007		288	0.009		235	0.228		152	0.064	273	0.144
	162	0.257		88	0.007		290	0.018		236	0.132		153	0.064	274	0.182
	163	0.029		91	0.036		291	0.125		237	0.154		155	0.136	275	0.144
	164	0.029		92	0.015		292	0.089		238	0.022		156	0.214	276	0.114
	165	0.143		93	0.007		293	0.080		240	0.059		157	0.057	277	0.099
	166	0.286					294	0.045		241	0.037		160	0.079	278	0.053
167	0.014			296	0.009	242	0.044	163	0.021	280	0.008					
170	0.007			298	0.018	245	0.007	165	0.014	280	0.008					
								168	0.021	291	0.015					

表 4-4. ML-Relate による血縁関係推定結果 (単位: 組)

	疥癬-疥癬	疥癬-健常	健常-健常	計
PO/親子	1	0	1	2
FS/全兄弟	2	9	39	50
HS/半兄弟	9	66	124	199
U/無関係	141	861	1162	2164

疥癬疑い個体は除いた 70 頭を対象に総当りで血縁関係を推定した。

表 4-5. 疥癬罹患と血縁関係にある個体数

	血縁関係にあたる個体の頭数								計
	0	1	2	3	4	5	6	8	
健常	17	12	10	5	2	4	1	1	52
疥癬罹患	6	9	3	0	0	0	0	0	18

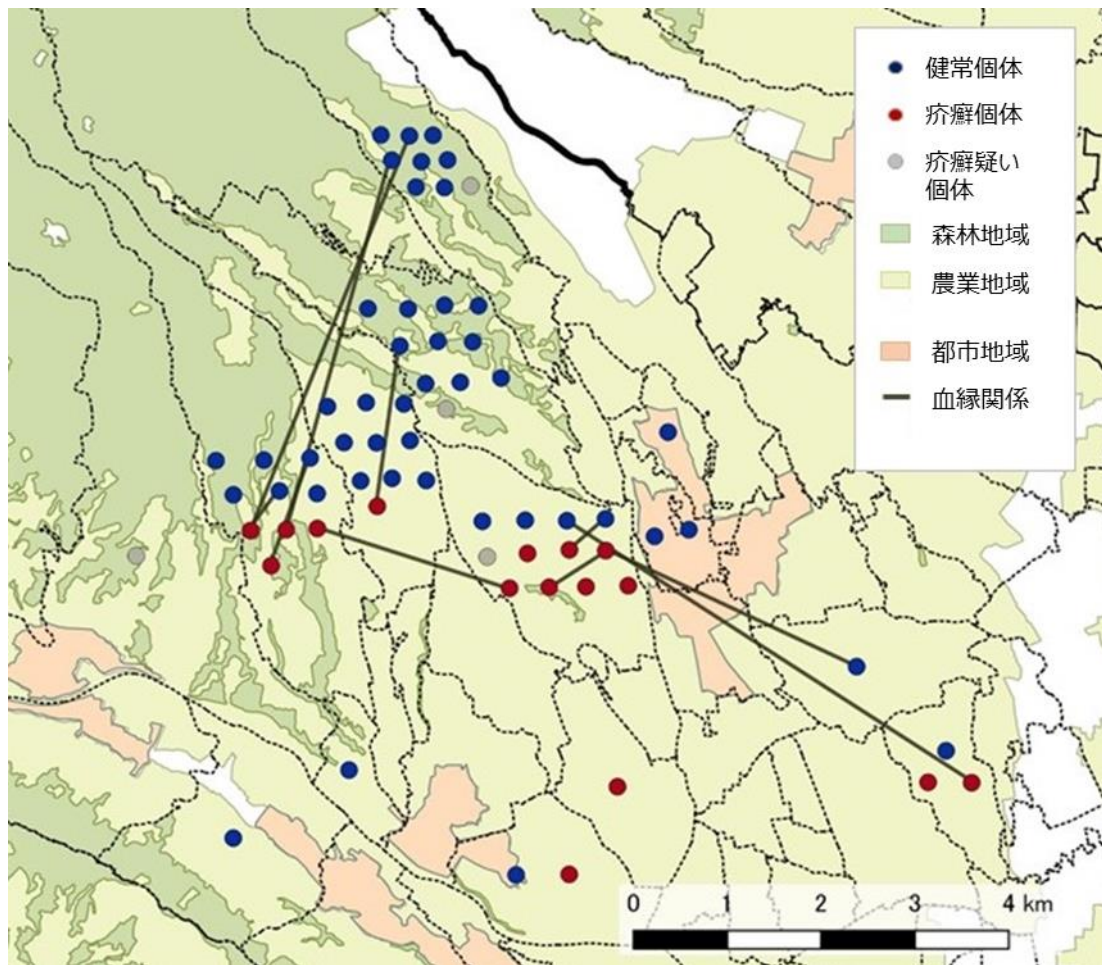


図 4-3. 疥癬罹患個体における血縁関係

赤い丸が疥癬罹患個体、青い丸が健全個体を示し、疥癬罹患個体と血縁関係のあった個体を実線で結んでいる。多くの疥癬罹患個体が健全個体と血縁関係を示している。疥癬疑い個体を除いた 70 頭中 9 頭は捕獲地点が不明であるため、地図上に記載されていない。

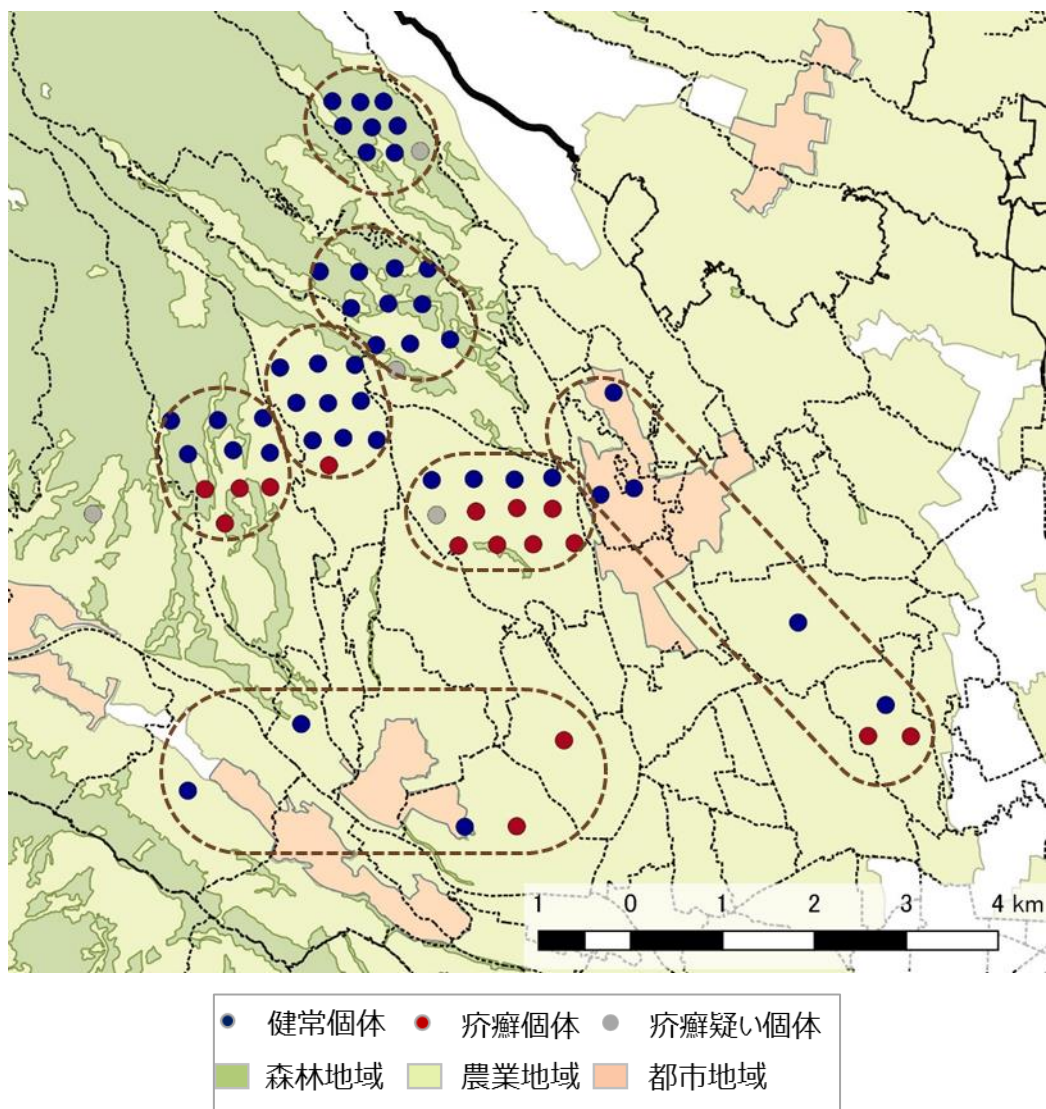


図 4-4. 疥癬の発生と捕獲地点

点線で囲まれた7つの捕獲地域と疥癬罹患の有無に、有意な差が認められた (OR = 1.79, 95% CI = 0.17-0.99, $P = 0.005$)。

第5章

自動撮影調査を用いた繁殖ペアによる接触伝播の検討

5-1. 序論

第4章において、血縁関係のある個体間による疥癬の接触伝播の頻度はそれほど多くないか、そのような接触伝播は疥癬の流行に重要な要因ではない可能性が示唆された。さらに、生息域が近接した個体間で接触することが疥癬の伝播様式として成立している可能性が示唆された。血縁関係がなく、生息域が近接している個体となると、繁殖ペア同士での接触が非常に多いと考えられる。

タヌキは一夫一妻制で、通年繁殖ペアで行動するとされている (Kauhala *et al.* 1993 ; Saeki 2001)。繁殖ペアでの行動域の重複程度は季節によって異なるものの、3-4月が93%程度と最も重複率が高く、5-6月の出産-育子期が最も低く68.9%程度と報告されている (Drygala *et al.* 2008)。非繁殖期である冬季であっても行動域を85.4%程度重複させており (Drygala *et al.* 2008)、繁殖ペアによる行動域の重複率は季節を問わず高いといえる。また、育子期にはオスもメスと同様に育子に参加しており (Ikeda 1983 ; 田中 2009)、育子期は同じねぐらを利用する (Ward and Wurster-Hill 1989 ; 谷地森ら 1997 ; 田中 2009)。行動域の重複や育子行動からも繁殖ペア同士での接触機会は非常に高いと考えられる。そのため、繁殖ペア間による疥癬の伝播は多く、疥癬の流行要因の一つになっている可能性も考えられる。

繁殖ペアであることを判断する手法としては、遺伝子解析により血縁推定から判断する手法 (谷地森ら 1997) や、テレメトリー調査により行動域の重複状況から判断する手法 (Drygala and Zoller 2013) などがあるが、性的二型が認められる種の場合は自動撮影調査からでも繁殖ペアを推定している手法もある (Stoehr and Hill 2000)。自動撮影調査は非侵襲的に野生動物の生息状況のモニタリングを長期間行うことが可能である (Cutler and Swann 1999)。そのため、野生動物の個体群動態の把握に加え、このような特性を活かすことで、疥癬の発生状況のモニタリングも行うことも可能である (Oleaga *et al.* 2011 ; Sugiura *et al.*

2018)。タヌキは体重は雌雄差よりも個体差が大きいと報告されている（岸本 1997）ことから雌雄を外見で判断することは難しい。しかし、繁殖ペアで通年行動をともにしており（Kauhala *et al.* 1993 ; Saeki 2001）、行動域も大きく重複していることから（Drygala *et al.* 2008）、自動撮影調査により 2 頭で撮影された場合、繁殖ペアである可能性は高いと考えられる。

そこで本章では、繁殖ペアにおける疥癬の接触伝播の影響を評価することを目的に、自動撮影調査を行い、2 頭で撮影されている個体同士は繁殖ペアであると仮定し、単独撮影された場合と複数頭で撮影されている場合の疥癬の発生状況を比較した。

5-2. 材料及び方法

調査地

第 2 章で調査地とした箕郷を対象とした。第 2 章と同様に 1.5km 四方のエリアを設定し、1 メッシュにつき 500m 四方の 3×3 の 9 メッシュに細分した（図 5-1）。

自動撮影調査

使用するカメラは第 3 章と同様である。2011年6月25日から2017年8月31日に撮影されたデータのうち、タヌキが撮影されたものを対象とした。観察方法は、各個体における撮影回数と一回に撮影された頭数を観察し、それ以外は第 3 章と同様に行った。複数頭撮影された場合に明確な体格差が見られた場合は、別途記録した。また、複数頭撮影された場合に、疥癬様個体と健常個体が同時に撮影された場合は、いずれも疥癬様個体として記録した。得られたデータは季節ごとに区分し、撮影回数から撮影頻度を算出した。

統計解析

統計ソフト R 3.1.2 を用い、撮影された頭数によって疥癬罹患有無に差があるのか比較するため、皮膚病変の視認の有無と撮影された頭数で χ^2 検定を用いて解析を行った。また、

疥癬様個体が撮影された頭数を比較するために、 χ^2 検定を用いて解析を行い、二項検定を用いて実測値と期待値を比較した。

5-3. 結果

観察期間内にタヌキは計 2861 回であり、そのうち健常個体が 2485 回、疥癬様個体が 334 回撮影され、一度に撮影された最大頭数は 3 頭であった（表 5-1）。撮影された頭数は、1 頭で撮影された場合が 2439 回、2 頭が 397 回、3 頭が 25 回であり（表 5-1）、複数頭で撮影された際に、健常個体と疥癬様個体が同時に撮影されたものは認められなかった。

健常個体と疥癬様個体とで撮影された頭数の比率を比較したところ、有意差は認められず（ χ^2 検定： $\chi^2 = 1.61, df = 2, P > 0.05$ ）、単独で行動している個体であっても、複数頭で行動している個体であっても疥癬の罹患率に差は認められなかった。また、疥癬様個体が 1 頭で撮影された場合が 288 回、2 頭で撮影された場合が 45 回、3 頭で撮影された場合が 1 頭であり、疥癬様個体の撮影頭数には有意差が認められ（ χ^2 検定： $\chi^2 = 429.20, df = 2, P < 0.05$ ）、1 頭で撮影された場合が有意に多かった（二項検定： $P < 0.05$ ）。図 5-2 では、撮影頻度を季節ごとに記した。撮影頭数の比率には、季節による変動や疥癬の流行による変動も少ない傾向が認められた。

5-4. 考察

2 頭が同時に撮影された場合、その個体の関係性として、1) 繁殖ペア、2) 親子、3) 兄弟であることが想定される。タヌキは生後 150 日齢になると親と同じ体重になるため（Ikeda 1983）、出産期の 4 月下旬-5 月上旬ごろ（Ikeda 1983；田中 2009）から 9 月下旬-10 月上旬ごろまでに複数頭で撮影され、さらにその個体同士に明確な体格差が観察された場合は親子である可能性が高いと考えられる。また、体格差がほぼなくなる 10 月上旬ごろにはタヌキは分散期を迎えるため（Ikeda 1983；山本ら 1994）、10 月以降は親子で撮影される可能性は低下すると予想される。今回、育子期から分散期までの時期において、明確な体格差が

ある個体は観察されなかったことから、今回は親子が撮影された可能性は低いと考えられた。一方で、タヌキの子は150日齢には親と同じ体重となることから (Ikeda 1983)、分散期には明瞭な体格差は見られないと考えられる。しかし、春において繁殖ペアではない成獣同士はコアエリアは重複させないとの報告がある (Saeki 2001)。また行動域においては繁殖ペア同士は80%以上の重複が認められるのに対し、亜成獣同士や成獣と亜成獣での重複は20-30%程度に留まっている (Saeki 2001)。これらのことや、繁殖ペア同士の方が通年行動をともにする行動生態であること (Kauhala *et al.* 1993 ; Saeki 2001) を踏まえると、今回2頭で撮影された個体の多くは親子や兄弟である可能性よりも繁殖ペアであった可能性が高いと考えられる。

複数頭で撮影された場合に、健常個体と疥癬様個体が同時に撮影された映像は確認されなかった。Shibata (2004) は、家族とみられる個体群が疥癬に集団感染している事例をいくつか報告していることから、行動をともにする繁殖ペアによる感染経路は成立しているものと考えられる。しかしながら、単独で撮影された場合であっても、複数頭で撮影された場合であっても疥癬に罹患している比率には差が認められず、疥癬様個体は単独で撮影されている場合が多かった。つまり、繁殖ペアによるヒゼンダニの感染経路は成立しているものの、その感染経路がタヌキの疥癬の流行の重要な要因ではない可能性が示唆された。

単独で行動することが多い個体が他個体と接触する機会としては、1) ため糞場の共有、2) 巣穴などのねぐらの共有、3) 餌資源の共有、4) 交尾期 などが考えられる。ため糞場はタヌキにおいて家族やその他の個体との情報交換の場とされている (Yamamoto 1984)。特に、秋には分散が起これ (Ikeda 1983 ; 山本ら 1994)、ペア形成も始まる (福江 1996) ことから、ため糞場の利用頻度が増加するとされている (小泉ら 2017)。このような分散期を迎えることが様々な個体と接触する機会の一つになっていると考えられる。また、ヒゼンダニは生存可能な温度範囲は狭いとされているが (内川 2001)、湿度が十分に保たれていれば13°Cで2週間は生存することが可能である (内川 2001)。野生動物において、ヒゼンダニの間接伝播は確認されていないが、人においては寝具を介した間接伝播が成立してい

る (Skerratt and Beveridge 1999)。ため糞場やねぐら、エサ場においてタヌキ同士の直接的な接触がなくとも、ヒゼンダニにとって好適な環境が整っていれば、間接伝播が成立している可能性も考えられる。さらに、交尾期は血縁関係のない個体が直接的に接触する機会の一つである。タヌキは基本的に一夫一妻制であるが (Kauhala *et al.* 1993 ; Saeki 2001)、Ślaska and Jeżewska (2008) は、フィンランドにおける飼育下のタヌキにおいて、メスを複数のオスと交尾をさせ、その同腹子を STR 領域による遺伝子解析から親子判定を行ったところ、同腹子内で異なる父親を有する **Multiple paternity** が約半数を占めていたと報告している。つまり、我が国におけるタヌキにおいても **Multiple paternity** が成立する可能性がある。**Multiple paternity** が成立しているのであれば、メスは複数のオスと交尾をしており、それだけ多くの個体と接触していたと言える。特に、まだペアのいない分散直後の亜成獣はペアを求めて様々な個体と接触することも予想される。Shibata (2004) は妊娠個体も疥癬に罹患していたと報告しており、第 2 章においても疥癬罹患個体に妊娠や乳房腫脹などの繁殖の兆候が認められている。交尾期という機会にヒゼンダニが伝播し、タヌキに疥癬の流行を引き起こす一つの要因となっている可能性も示唆された。

表 5-1. 疥癬罹患状況と頭数別の撮影回数の結果

	健常	疥癬様	判定不能
1 頭	2111	288	40
2 頭	350	45	2
3 頭	24	1	0
計	2485	334	42

健常個体と疥癬様個体で撮影された頭数の比率に有意な差は認められなかった (χ^2 検定: $\chi^2 = 1.61$, $df = 2$, $P > 0.05$)

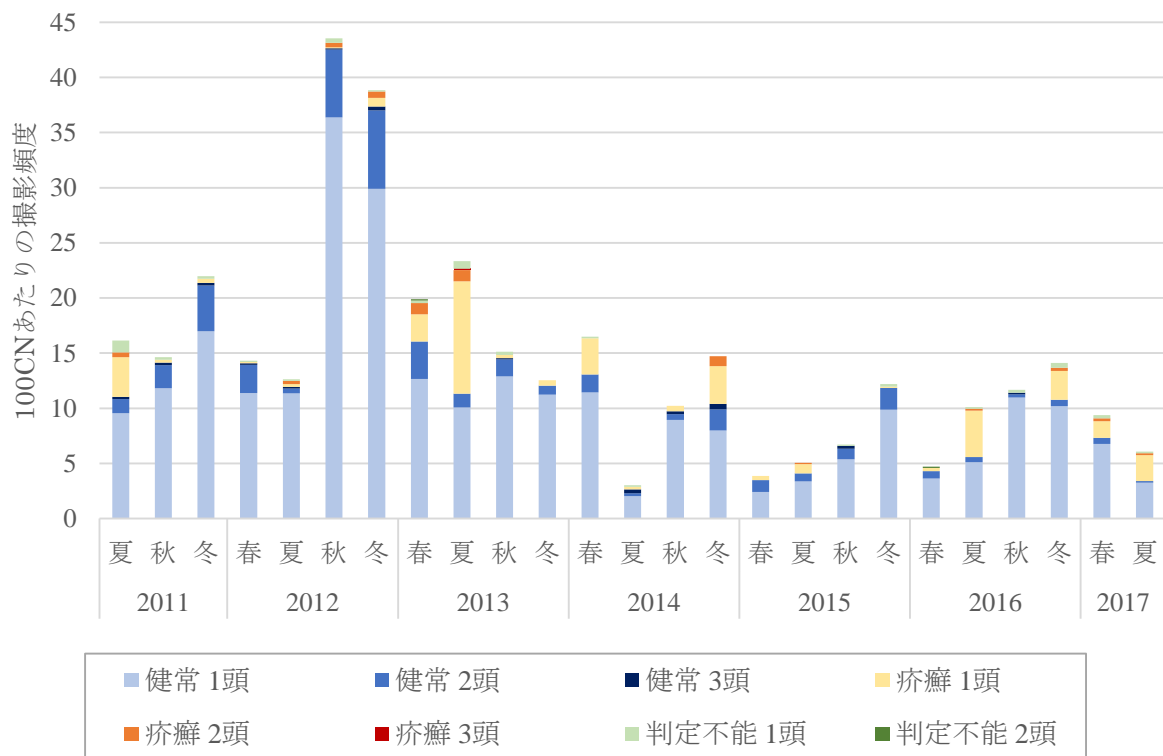


図 5-1. 撮影された頭数別の 100CN あたりの撮影頻度

第 6 章

タヌキにおける Multiple paternity の成立の検討

6-1. 序論

Multiple paternity とは、一腹の子に複数の父親が存在することである。Multiple paternity は、Single paternity と比較し、有効個体群サイズの増加に大きな影響を与えるとされる (Sugg and Chesser 1994)。Multiple paternity は様々な野生食肉目において報告があり (Roemer *et al.* 2001 ; Baker *et al.* 2004 ; Dugdale *et al.* 2007 ; Nielsen and Nielsen 2007 ; Glenn *et al.* 2009 ; Yamamoto *et al.* 2013)、一夫一妻制をとるアカギツネやハイイロギツネ (*Urocyon cinereoargenteus*) などの動物種でも報告されている (Roemer *et al.* 2001 ; Baker *et al.* 2004 ; Glenn *et al.* 2009)。

タヌキは一夫一妻制であり、通年繁殖ペアで行動をとりにしている (Kauhala *et al.* 1993 ; Saeki 2001)。受精可能な発情期は 3.9 ± 1.2 日、妊娠期間は 61.0 ± 2.0 日とされ (Valtonen *et al.* 1977)、4月下旬から5月上旬にかけて4-6頭ほどの子を出産する (Ikeda 1983)。野生のタヌキにおいては Multiple paternity の成立は確認されていないが、飼育下のタヌキにおいては、複数頭のオスと交尾した妊娠個体のうち、約半数の個体が同腹子内に異なる父親を有していたと報告されている (Ślaska and Jezewska 2008)。タヌキと同じイヌ科動物に属するキツネ類においては、高密度化という条件下において Multiple paternity が確認されている (Roemer *et al.* 2001 ; Baker *et al.* 2004)。タヌキの生息地は都市地域にまで広がっており、そのような環境では生息地の分断化により生息密度が上昇しやすいとされている (Mitsuhashi *et al.* 2018)。そのため、タヌキにおいても同様な条件下で Multiple paternity が成立する可能性は十分に考えられる。

野生のタヌキにおいて Multiple paternity が成立していた場合、交尾期にメスが繁殖ペアとなる特定のオス以外とも接触したことを証明することとなる。複数のオスと交尾をし、接触機会を多く持つことは、交尾期がヒゼンダニの直接的な接触伝播の重要な機会の一つとな

る。疥癬罹患個体であっても妊娠が確認されていることから（Shibata 2004）、交尾期に様々な個体と接触することが、ヒゼンダニの伝播様式として成立することが予想される。

そこで本章では、ヒゼンダニの接触伝播の機会の一つと考えられる交尾期に、タヌキは複数頭と接触しているのかを検討することを目的に、タヌキの Multiple paternity の成立について、妊娠したタヌキの母体とその胎子の遺伝子解析により調査した。

6-2. 材料及び方法

供試動物

第 3 章において対象としたタヌキのうち、解剖時に妊娠が確認された 3 頭とその胎子を対象とした（表 6-1）。解剖時に、DNA を抽出するために左大腿筋と胎子を採材し、冷凍状態で保存した。また母体については上顎の犬歯を採材し、年齢査定を行った。

遺伝子解析

母体は左大腿筋から、胎子は尾部などから DNeasy & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) を用いて DNA 抽出を行った。そして、第 4 章と同様に Canine Genotypes Panel 1.1 Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) により、マイクロサテライト (Short Tandem Repeat, 以下、STR) 領域 18 座位を増幅した。遺伝子型の再現性を確認するために、PCR は複数回行った。解析方法は第 4 章と同様である。

母体と胎子の遺伝子型を比較し、得られた遺伝子型をもとに、アレル数、ヘテロ接合度観察値 (Observed heterozygosity: H_O) と期待値 (Expected heterozygosity: H_E)、Null-allele 確率を Carvus ver. 3.0 (Marshall *et al.* 1998) を用いて算出した。

6-3. 結果

STR 領域 18 座位のうち、AHT260 はピークが多数確認されてしまったため、解析の対象からは除いた。母体と胎子の計 17 頭から、16-17 座位の遺伝子型を判定し、得られた遺伝子

情報は表 6-2 にまとめた。Litter 1 の母体と胎子の遺伝子型を比較したところ、AHT137 と INU005、AHTk253 において、胎子の遺伝子型の一方は母体の対立遺伝子を引き継いでいたが、もう一方の遺伝子型、つまり父系の対立遺伝子は胎子から 3-4 つ検出された (表 6-3)。さらに、INU055 及び FH2848 において、胎子からホモ接合が 2 つの対立遺伝子 (INU055 : 205, 207、FH2848 : 233, 235) で検出されており、父系はいずれの対立遺伝子を持つヘテロ接合であると推定される。しかし、胎子からはこれらとは異なる対立遺伝子がそれぞれ 1 つ検出された (INU055 : 201、FH2848 : 237) (表 6-3)。よって、Litter 1 の母体と胎子の遺伝子型を比較した結果、17 座位中 5 座位において父系の対立遺伝子が 3 つ以上検出された。

Litter 2 においても母体と胎子の遺伝子型の比較を行ったが、いずれの遺伝子座位においても父系の対立遺伝子は 2 つ以下であると推定された。

Litter 3 においては、INU030 において、胎子の遺伝子型ではホモ接合が 2 つの対立遺伝子で検出されており、さらに母系とは異なる対立遺伝子が 1 つ検出されていたことから (表 6-4)、父系の対立遺伝子が 3 つ検出された。残りの 16 座位においては、父系の対立遺伝子は 2 つ以下と推定された。

6-4. 考察

Litter 1 において、母体の遺伝子型が判定できなかった CXX279 を除き、いずれの遺伝子座位も母体の対立遺伝子の一方を引き継いでいる。しかし、AHT137、INU005、AHTk253、INU055 及び FH2848 の 5 座位においては、父系から引き継いだと考えられる対立遺伝子が胎子から 3 つまたは 4 つ検出された (表 6-3)。さらに、Litter 3 において、17 座位中 1 座位のみであるが、父系の対立遺伝子が 3 つ想定された (表 6-4)。父系が 1 頭であった場合、父系のアレル数は 2 つであり、これらの結果から父系が複数頭いたことが予想される。STR 領域の突然変異率は一世代あたりで 10^{-3} から 10^{-4} とされており (Ellegren 2000 ; Guichoux *et al.* 2011)、SNP (Single Nucleotide Polymorphism) や mtDNA と比較しても突然変異がおこりやすい遺伝子領域である (Haag-Liautard *et al.* 2008 ; Guichoux *et al.* 2011)。しかしながら、

STR 領域の突然変異率を 10^{-3} と仮定した場合、17 座位中 1 座位で突然変異が起こる確率は 0.1% 以下である。一方で、null-allele やアーチファクトにより対立遺伝子の一方が増幅されなかった可能性や、ジェノタイピングミスにより遺伝子型を正しく判定できなかった可能性もある。しかし、本研究では PCR を複数回実施することで、遺伝子型の再現性も確認しており、ジェノタイピングミスの可能性は低いと考えられる。そのため、本結果から、日本に生息するタヌキにおいても Multiple paternity が成立することが示唆された。

Multiple paternity が成立していたと考えられる Litter 1 と Litter 3 の母体は、犬歯セメント質からの年齢査定により 1 歳であると推定された (表 6-1)。タヌキは生まれた年の秋に親元を離れ分散し (Saeki 2001)、性成熟は 9-11 ヶ月齢であることから (Helle and Kauhala 1995)、Litter 1 及び Litter 3 の母体は生まれてから初めて妊娠した個体である。タヌキは一夫一妻制であるため (Kauhala *et al.* 1993)、すでにペアが確定している成獣はそのペアと交尾を行うと予想されるが、分散したばかりで交尾期を迎えた亜成獣は繁殖ペアが確定していない可能性も考えられる。そのため、Litter 1 と Litter 3 の母体はまだ繁殖ペアが確定していないような若齢な個体であったため、複数のオスと交尾をした可能性が考えられた。しかし、アラスカメスケ (*Sebastes alutus*) においては体サイズが大きく年齢の高いメスほど Multiple paternity が成立する割合が高くなるとしており (Van Doornik *et al.* 2008)、オジロジカ (*Odocoileus virginianus*) においては高齢のオスが若齢のオスからメスを奪うことで Multiple paternity が起きている可能性が示唆されている (Sorin 2004)。今回のタヌキの事例は 2 例のみであり且つ父親個体の特定はできていない。そのため、年齢に関する要因を検討するためにはより多くの事例を集める必要がある。一方、Litter 1 の母体の捕獲された年 (2014 年) は、第 2 章でのカメラでのモニタリングにより、他の年より生息密度が高かった可能性がある。キツネ類 (Roemer *et al.* 2001 ; Baker *et al.* 2004 ; Glenn *et al.* 2009) やアライグマ (Nielsen and Nielsen 2007) と同様に、生息密度の上昇が Multiple paternity が成立しやすい条件となっている可能性も考えられた。

本章によって、飼育下 (Ślaska and Jeżewska 2008) だけではなく、野生のタヌキにおいても **Multiple paternity** が成立する可能性が示唆された。メスが繁殖ペアとなるオス以外とも交尾していた可能性があり、交尾期に複数頭との接触機会を持っていた可能性が示唆された。野生動物の感染症の伝播には個体間の繋がりや接触率が関係しており (Clay *et al.* 2009 ; Tompkins *et al.* 2011) 、野生のタヌキにおいて疥癬に罹患した妊娠個体が確認されていることから (Shibata 2004) 、疥癬罹患個体も繁殖期に交尾行動をしていた可能性は非常に高い。これらのことから、交尾期が複数のタヌキが接触する機会となっており、ヒゼンダニの伝播の重要な機会となっている可能性が示唆された。

表 6-1. 妊娠個体 3 頭の基本情報

	捕獲日	年齢	胎子数	疥癬罹患
Litter 1	2014/5/2	1	8	健常
Litter 2	2017/4/28	3	3	健常
Litter 3	2017/5/16	1	3	疑い

表 6-2. 妊娠個体 3 頭とその胎子による遺伝子解析結果

遺伝子座	アレル数	アレル範囲	ヘテロ接合度	
			観察値	期待値
AHTk211	5	89-97	0.882	0.774
CXX279	2	115-119	0.000	0.312
REN169018	5	159-170	0.765	0.806
INU055	3	201-207	0.353	0.426
REN54P11	4	242-248	0.647	0.677
INRA21	2	73-80	0.529	0.451
AHT137	6	115-149	0.529	0.729
REN169D01	3	203-207	0.529	0.415
AHTk253	6	283-298	0.647	0.790
INU005	6	73-119	0.824	0.619
INU030	6	137-150	0.882	0.775
FH2848	5	233-238	0.588	0.711
AHT121	3	79-115	0.353	0.49
FH2054	6	138-164	0.824	0.809
REN162C04	5	198-212	0.706	0.651
AHTh171	6	224-236	0.941	0.777
REN247M23	5	271-279	1.000	0.768

表 6-3. Litter1 における遺伝子型の比較

	Genotype					
	AHTk211	CXX279	REN169018	INU055	REN54P11	INRA21
Mother	95/97	-	159/170	205/207	242/248	73/80
N1	<u>89/97</u>	-	<u>165/170</u>	205/ <u>205</u>	242/248	73/80
N2	<u>89/97</u>	-	<u>165/170</u>	205/ <u>205</u>	242/248	73/80
N3	<u>89/97</u>	115/115	159/ <u>165</u>	<u>201/207</u>	242/ <u>242</u>	<u>73/73</u>
N4	<u>89/97</u>	119/119	159/ <u>165</u>	205/ <u>205</u>	242/ <u>242</u>	73/80
N5	<u>89/97</u>	119/119	159/ <u>165</u>	205/207	242/ <u>242</u>	73/80
N6	<u>91/97</u>	-	159/ <u>165</u>	207/ <u>207</u>	242/248	<u>73/73</u>
N7	<u>89/97</u>	-	<u>165/170</u>	205/207	242/248	<u>73/73</u>
N8	<u>89/97</u>	-	159/ <u>165</u>	205/207	242/ <u>242</u>	73/80
	AHT137	REN169D01	AHT k253	INU005	INU030	FH2848
Mother	139/149	205/207	294/294	97/107	141/145	233/235
N1	<u>135/149</u>	205/ <u>205</u>	<u>283/294</u>	107/ <u>107</u>	145/ <u>147</u>	233/ <u>237</u>
N2	<u>135/139</u>	205/207	<u>283/294</u>	107/ <u>107</u>	145/ <u>147</u>	233/235
N3	<u>115/149</u>	205/207	<u>291/294</u>	107/ <u>115</u>	141/145	233/ <u>233</u>
N4	<u>119/139</u>	205/207	<u>283/294</u>	107/ <u>119</u>	141/145	233/235
N5	<u>119/139</u>	205/207	294/ <u>298</u>	107/ <u>119</u>	145/ <u>147</u>	233/235
N6	<u>135/139</u>	205/207	294/ <u>298</u>	<u>73/107</u>	141/145	233/235
N7	<u>135/149</u>	205/207	<u>283/294</u>	<u>73/107</u>	145/ <u>147</u>	233/ <u>237</u>
N8	<u>135/139</u>	205/207	294/ <u>298</u>	107/ <u>107</u>	145/ <u>147</u>	235/ <u>235</u>
	AHT121	FH2054	REN162C04	AHT h171	REN247M23	
Mother	79/107	155/159	202/212	226/230	271/277	
N1	107/ <u>107</u>	<u>151/159</u>	202/212	<u>224/230</u>	<u>273/277</u>	
N2	107/ <u>107</u>	<u>151/159</u>	202/ <u>202</u>	226/ <u>228</u>	271/ <u>273</u>	
N3	107/ <u>107</u>	<u>151/155</u>	202/ <u>206</u>	<u>224/230</u>	<u>275/277</u>	
N4	107/ <u>107</u>	<u>151/155</u>	202/ <u>202</u>	<u>224/230</u>	271/ <u>273</u>	
N5	107/ <u>107</u>	<u>151/155</u>	202/ <u>202</u>	<u>228/230</u>	271/ <u>273</u>	
N6	107/ <u>107</u>	159/ <u>159</u>	<u>206/212</u>	<u>224/226</u>	271/ <u>273</u>	
N7	107/ <u>107</u>	<u>151/159</u>	202/212	<u>228/230</u>	<u>273/277</u>	
N8	107/ <u>107</u>	<u>151/155</u>	202/ <u>206</u>	<u>228/230</u>	271/ <u>273</u>	

父系から引き継いだ対立遺伝子は下線で示した。また、父系由来の対立遺伝子が3つ以上検出された遺伝子座はグレーで塗りつぶした。

表 6-4. Litter3 における遺伝子型の比較

	Genotype					
	AHTk211	CXX279	REN169018	INU055	REN54P11	INRA21
Mother	91/93	115/115	166/166	205/205	243/248	73/80
N1	93/ <u>93</u>	115/ <u>115</u>	<u>159</u> /166	205/ <u>205</u>	243/ <u>243</u>	73/ <u>73</u>
N2	91/93	115/ <u>115</u>	166/ <u>166</u>	<u>201</u> /205	243/248	73/80
N3	91/93	115/ <u>115</u>	<u>159</u> /166	205/ <u>205</u>	243/ <u>243</u>	73/ <u>73</u>
	AHT137	REN169D01	AHTk253	INU005	INU030	FH2848
Mother	116/116	205/205	291/291	107/111	143/145	235/238
N1	116/ <u>116</u>	205/ <u>205</u>	291/ <u>291</u>	107/ <u>115</u>	143/ <u>143</u>	235/ <u>235</u>
N2	116/ <u>116</u>	<u>203</u> /205	291/ <u>291</u>	107/111	<u>141</u> /145	235/ <u>235</u>
N3	116/ <u>116</u>	205/ <u>205</u>	291/ <u>295</u>	107/ <u>115</u>	145/ <u>145</u>	235/ <u>235</u>
	AHT121	FH2054	REN162C04	AHT171	REN247M23	
Mother	115/115	138/138	202/205	224/226	273/279	
N1	115/ <u>115</u>	138/ <u>164</u>	202/ <u>202</u>	224/ <u>224</u>	273/ <u>275</u>	
N2	115/ <u>115</u>	138/ <u>164</u>	<u>198</u> /202	224/ <u>228</u>	273/ <u>275</u>	
N3	<u>107</u> /115	138/ <u>164</u>	202/ <u>202</u>	224/226	<u>275</u> /279	

父系から引き継いだ対立遺伝子は下線で示した。また、父系由来の対立遺伝子が3つ以上検出された遺伝子座はグレーで塗りつぶした。

第7章

遺伝子解析によるタヌキの行動生態の把握

7-1. 序論

第4章において、タヌキの疥癬は生息地域ごとに局所的に発生しており、近接して生息する個体同士での接触伝播が疥癬の流行に大きく影響している可能性が示唆された。また、第5章ならびに第6章から、通年行動をともにする繁殖ペアとの接触よりも、交尾期といった不特定多数の個体と接触しやすい時期がヒゼンダニを伝播する重要な機会となっている可能性が示唆された。これらを検討するためには、タヌキの行動域や分散距離といった行動生態、ならびにタヌキの個体群構造を理解する必要がある。

タヌキの行動域面積は、地域によって大きく異なるが、日本の里山的環境において 1km² 前後 (Saeki *et al.* 2007)、都市地域においては 0.1km² 前後とされている (Mitsuhashi *et al.* 2018)。ヨーロッパに生息するタヌキでは 1-9.5km² 程度 (Kauhala *et al.* 1993 ; Drygala *et al.* 2008 ; Sutor and Schwarz 2011)、同所的に生息する中型食肉目であるアライグマでは 0.85-10km² 程度 (Gehrt and Frtzell 1997 ; Suzuki *et al.* 2003)、北海道のアカギツネでは 1-6km² 程度 (Takeuchi and Koganezawa 1992) と、日本に生息するタヌキは他種と比較しても行動域は狭い傾向にある。また、分散距離は 1-10km 程度に過ぎず (山本ら 1994 ; Saeki 2001)、ヨーロッパに生息するタヌキでは 5-100km 程度 (Sutor 2007 ; Drygala *et al.* 2010) とされており、日本に生息するタヌキは分散距離もさほど大きくはなく、生まれた場所の近くに残る子もいるとされている (Saeki 2001)。このように、行動域の狭さや分散距離の短さから、生まれた環境から大きく分散せず、定住性が高いことが予想される。このような行動生態が、遺伝子の移入の程度へも影響を与えることで、遺伝子流動があまり見られない個体群構造を示す可能性がある。

遺伝的な個体群構造や遺伝的多様性を把握する手法として、様々な野生動物種において mtDNA あるいはマイクロサテライト (Short Tandem Repeat, 以下、STR) 領域の解析が行わ

れている (Paetkau *et al.* 1999 ; DeYOUNG and Honeycutt 2005 ; Coulon *et al.* 2006 ; Ogden and Linacre 2015) 。 mtDNA は、母系遺伝をし、組み換えがなく進化速度が大きいという特性があり、多様性の評価に用いられる遺伝子領域である (川本 2008 ; 増田ら 2009b) 。 ニホンザルのようにメスが生まれた地域に留まるような生態を持つ野生動物においては、個体群の地域特性を評価する指標として mtDNA が有用であるとされている (Kawamoto *et al.* 2007 ; 川本 2008) 。 また、母系遺伝することから、ハプロタイプの起源やタイプ間の遺伝的関係を推定しやすく、種内レベルだけではなく、種間・科間レベルの分子系統解析にも用いられる (増田ら 2009b) 。 一方、STR 領域は、核 DNA の 1 から数塩基の反復領域であり、反復回数には高度な多様性が認められる (Varshney *et al.* 2005) 。 また、相同染色体における対立遺伝子は父系と母系からそれぞれ受け継いでいるため、STR 領域の遺伝子型を比較することで、個体判別や血縁関係の推定が可能である (Ichikawa *et al.* 2001 ; Ślaska *et al.* 2007 ; 増田ら 2009b) 。 また、mtDNA よりも速い進化速度であり (Haag-Liautard *et al.* 2008 ; Guichoux *et al.* 2011) 、多様性に富んだマーカーであることから、分集団の推定、その分集団内における多様性評価や分集団間の遺伝子流動の推定といった個体群の集団構造解析にも用いられる (増田ら 2009b) 。 これらの領域を解析することで、タヌキの遺伝的な個体群構造を把握し、さらに分集団における多様性と分集団間の遺伝的流動を推定することで、タヌキの定住性の高さや分散距離などの行動生態を把握することが可能であると考えた。

そこで本章では、タヌキの遺伝的な個体群構造からタヌキの行動域や分散距離、定住性の程度といった行動生態を把握し、疥癬の流行との関連を検討することを目的に、タヌキの mtDNA 及び核 DNA の STR 領域の遺伝子解析を行い、群馬県高崎市におけるタヌキの個体群構造を検討した。

7-2. 材料及び方法

供試動物

第 2 章及び第 4 章で用いたタヌキを対象とした。本章は疥癬罹患の有無にかかわらず全ての個体を対象としたため、対象個体は計 75 頭である。

DNA 抽出

第 4 章と同様に DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) を用いて DNA 抽出を行った。

mtDNA 解析

Iwasa *et al.* (2014) が開発したプライマー L15411 (5'-TCCCTAAGACTCAAGGAAGAAGC-3') / H15841 (5'-GATGTCCCATTGAGAGGATTAG-3') を用いて mtDNA の d-loop 領域の増幅を行った。PCR 反応液の組成は、DNA テンプレート 1.0 μ l (1ng/ μ l)、プライマー (10 μ M) 各 1.0 μ l、5U/l Ex Taq Hot-Start Version (タカラバイオ株式会社, 滋賀) 0.15 μ l、10 \times PCR buffer 2.0 μ l、2.5mM dNTPs 1.6 μ l に滅菌水を加え総量を 20 μ l とした。T100TM Thermal Cycler (BIO RAD, Hercules, California, U. S.) を使用し、反応条件は、初期熱変性 : 98 $^{\circ}$ C 5 秒、熱変性 : 96 $^{\circ}$ C 30 秒、アニーリング : 50 $^{\circ}$ C 60 秒、伸長反応 : 72 $^{\circ}$ C 60 秒を 40 サイクル、最終伸長反応 : 72 $^{\circ}$ C 60 秒とした (Iwasa and Nakata 2011 ; Iwasa *et al.* 2014)。

PCR 産物は、NucleoSpin[®] Gel and PCR Clean-up (タカラバイオ株式会社, 滋賀) により精製した後、プライマー L15411/H15841 により、Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer または Applied Biosystems 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, California, U. S.) を用いて、ダイレクトシーケンスを行った。シーケンス解析はユーロフィンジェノミクス株式会社の DNA シーケンス解析サービスを利用した。

シーケンスデータは、遺伝情報処理ソフトウェア GENETYX Ver. 12 を用いてアライメントを行い、塩基配列を決定した。ハプロタイプは Iwasa *et al.* (2014) により報告された 12

タイプとも比較した。また、推定されたハプロタイプデータを基に、Network 10.0 ソフトウェアを使用し、Median-joining のアルゴリズムによってハプロタイプネットワーク図を作成した。また、雌雄での mtDNA のハプロタイプの構成を比較するために、Fisher の正確確率検定により統計解析を行った。ハプロタイプの分布状況を把握するために、地理情報システム QGIS 2.14.3 ソフトウェアを用いて地図上にプロットした。

STR 領域による遺伝構造解析

第 4 章と同様の手法により、Canine Genotypes Panel 1.1 Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) により、STR 領域 18 座位を増幅した。得られた遺伝子型をもとに、アリル数、ヘテロ接合度観察値と期待値、Null-allele 確率を Cervus ver. 3.0.7 (Marshall *et al.* 1998) を用いて算出した。ヘテロ接合度観察値及び期待値の比較には、統計ソフト R 3.1.2 を用い、t 検定により比較した。また、HWE からの逸脱に関する検定は、ML-Relate (Kalinowski *et al.* 2006) と Bonferroni 補正法を用いて解析した。

タヌキの遺伝的分集団を推定するために、STRUCTURE ver. 2.3.4. ソフトウェア (Pritchard *et al.* 2000) を用い、ベイズ推定により遺伝構造解析を行った。解析では、各クラスター数 (分集団数: K) を 1 から 5 とし、Burn-in を 100000 回行った後、100000 回のマルコフ連鎖モンテカルロシミュレーションを独立に 10 回行った。Ancestry Model は、admixture model を採用した。そして、各 K を推定したときに生じる対数尤度; LnP (D) を算出し、平均対数尤度の標準偏差が小さい場合、対数尤度が最大値をとる K を分集団数と推定した。ただし、標準偏差が大きい場合は、対数尤度ではなく ΔK 値 (対数尤度の変化率) を指標としたほうが良いとされている (Evanno *et al.* 2005)。そのため、標準偏差が大きい場合は、STRUCTURE HARVESTER ver. 0.6.94 (Earl and vonHoldt 2011) を用いて ΔK 値を算出し、 ΔK 値が最大値をとる K を分集団数と推定した。

STRUCTURE ver. 2.3.4. ソフトウェアにより推定された分集団ごとに、集団遺伝的分化の程度を示す F_{ST} 値を GENEPOP ver. 4.2 (Rousset 2008) により求めた。また、 F_{ST} 値を用いて、一世代あたりに移入している有効個体数 N_m を下記の式から算出した。

$$N_m \text{ (一世代あたりに移入した有効個体数)} = \frac{1 - F_{ST}}{4F_{ST}}$$

集団の構成・分布状況を把握するために、STRUCTURE ver. 2.3.4. ソフトウェアにより 50% 以上の確率で当てはまった分集団をその個体が属する分集団とし、タヌキの捕獲地点を地理情報システム QGIS 2.14.3 ソフトウェアを用いて地図上にプロットした。なお、捕獲地点は捕獲地域の字までしか明らかとなっていない個体が多いため、字の代表地点の周辺にプロットした。

7-3. 結果

mtDNA 解析

対象としたタヌキ 75 頭の mtDNA の d-loop 領域の 420bp をダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定したところ、6 つのハプロタイプが検出された。このうち 2 つは Iwasa *et al.* (2014) により検出された Haplotype A 及び C と一致した (図 7-1)。残りの 4 つのハプロタイプについては、Iwasa *et al.* (2014) により検出されていたものと異なっていたため、Haplotype R, S, T, U とした (図 7-1)。75 頭のうち 51 頭が Haplotype A を示し、対象個体の 68% が同一の母系であることが示された (図 7-2)。

ハプロタイプを基に作成したネットワーク図は図 7-3 に示した。円の大きさはそのハプロタイプに属する個体数を表している。雌雄ごとの mtDNA のハプロタイプの構成については表 7-1 に示した。オスでは 4 つ、メスでは 6 つのハプロタイプが検出されたが、有意な差は認められなかった (Fisher の正確確率検定: $P > 0.05$)。

STR 領域による遺伝構造解析

各個体から 10-17 座位（平均 15.28 座位）の遺伝子型が判定でき、アليل数、ヘテロ接合度観察値、ヘテロ接合度期待値、HWE からの逸脱に関する検定結果、及び Null-allele 確率は表 7-2 にまとめた。各遺伝子座におけるアليل頻度は表 7-3 にまとめた。ヘテロ接合度の観察値の平均は 0.524、期待値の平均は 0.798 であり、有意な差が認められた（t 検定： $P < 0.05$ ）。

STRUCTURE ver. 2.3.4. ソフトウェアで使用する Admixture model は、想定する Admixture の単位集団内で、任意交配することを仮定する（Pritchard *et al.* 2000）。そのため、HWE の成立した集団で解析する事例が多い。しかし、生物集団の中には、HWE が成立しない集団も多く、解析手法にこのような前提を設けることは非現実的であるという見解もある（Jombart *et al.* 2008）。そのため、HWE からの逸脱など前提条件を満たさない集団においても、統計解析を行った事例が存在する（Rasero *et al.* 2010 ; Rutledge *et al.* 2010）。加えて、このような HWE 成立を前提とする解析手法では、前提条件を満たさないデータに対する頑健性が評価されていない（Jombart *et al.* 2008）。そこで、本研究においても、HWE からの逸脱が認められたものの（表 7-2）、STRUCTURE ver. 2.3.4.ソフトウェアにより遺伝構造解析を行った。

STRUCTURE ver. 2.3.4. ソフトウェアによるベイズ推定の結果、平均対数尤度; $\text{LnP} (D)$ も ΔK もともに $K = 3$ のときに最大値となった（表 7-4）。そのため、本調査地におけるタヌキは 3 つの分集団（集団 A, B, C とする）から構成される遺伝的構造であることが明らかとなった（図 7-4）。捕獲地点をもとに地図上にプロットしたところ、3 つの遺伝的分集団は、北西、南西、南東にそれぞれまとまって分布する傾向が認められた（図 7-5）。それぞれの分集団間の遺伝的分化を示す F_{ST} 値は分集団 A-B 間、A-C 間では 0.05-0.15 の値を取っており、中程度の遺伝的分化が認められ、分集団 B-C では 0.15-0.25 の値を取っており、大きな遺伝的分化が認められた（表 7-5）（井鷲・陶山 2013）。一世代あたりに分集団に移入

する有効個体数は、分集団 A-B 間では 1.59 頭、分集団 A-C 間では 2.18 頭、分集団 B-C 間では 1.08 頭と推定された。

7-4. 考察

mtDNA は母系遺伝をし、組み換えがなく進化速度が大きいという特性を示すことから(川本 2008 ; 増田ら 2009b) 、ニホンザルやニホンツキノワグマのようにメスの定住性が高い動物種では、個体群の地域特性の評価や分散距離の指標として用いられている (Kawamoto *et al.* 2007 ; Sato *et al.* 2011) 。本調査地におけるタヌキにおいては、ハプロタイプは 6 つ検出され、その構成に雌雄差は認められなかった。タヌキのテレメトリー調査の報告において、分散距離に雌雄差は認められないとされていることから (Kauhala *et al.* 1993) 、mtDNA の構成に雌雄差が認められなかったのは、雌雄による分散距離に相違がないことが影響したと考えられる。

STR 領域のヘテロ接合度の観察値は期待値より有意に低い値となった。集団内で任意交配が行われていれば観察値=期待値となり、近親交配が行われている集団では観察値は期待値よりも低値を示す (井鷲・陶山 2013) 。そのため、本調査地に生息するタヌキは近親交配が進んでおり、遺伝的多様性の低下が引き起こされている可能性が示唆された。また、タヌキの里山的環境での行動域は 1km²程度とされており (Saeki *et al.* 2007) 、分散距離は 1-10km 程度とされていること (山本ら 1994 ; Saeki 2001) を考慮しても、今回の調査範囲は 100km²程度とそれほど広くはないにもかかわらず、タヌキは 3 つの遺伝的分集団から構成され、比較的まとまって分布していた。さらに、一世代あたりに移入する有効個体数も 1-2 頭程度であると推定され、各分集団は分散距離内に分布しているにもかかわらず、各分集団における遺伝的交流はあまり多くはないことが推察された。この 3 つの分集団間には、河川といった物理的に生息地を分断する要素は特に認められない。Saito *et al.* (2016) は、本調査範囲よりも狭い調査範囲であるにもかかわらず、東京都の都市地域に生息するタヌキの

分集団数は2つまたは3つであると報告し、行動域が制限されていることが遺伝的分化の要因であるとしている。そのため、本調査地においても、物理的に分断する要素は特に認められないものの、行動域の狭さや、分散距離の短さがタヌキの遺伝的分化を引き起こしている可能性が示唆された。また、分集団間で移入する有効個体数も1-2頭程度であることから、定住性が高い傾向にあることが示された。このような定住性の高さが、遺伝的多様性の低下を招いているとともに、特定の地域に留まりやすい行動生態が局所的な疥癬の流行を引き起こす要因となっている可能性が示唆された。

タヌキの疥癬の流行により個体群の減少が危惧されているが（Shibata and Kawamichi 1999；Kido *et al.* 2013）、タヌキの定住性の高さが疥癬の局所的な発生を助長しているのであれば、地域個体群の絶滅にも影響しかねない。日本において、遺伝子解析技術を用いてタヌキの個体群構造を解明した研究はまだ少数しか行われていない（Iwasa *et al.* 2014；Saito *et al.* 2016）。タヌキの行動域面積は生息環境によって大きく変動することからも（山本ら 1994；Saeki *et al.* 2007；金子ら 2008；Mitsubishi *et al.* 2018）、その地域におけるタヌキの個体群構造を把握することが、疥癬の発生状況を理解する上でも重要となるだろう。

TypeA (No.130)	1	ACCTGCTCCACCATCAGCACCCAAAGCTGAAATTCTTCTTAAACTATTCCCTGATACCTC	60
TypeC (No.024)	1T.....	60
TypeR (No.26)	1	60
TypeS (No.009)	1	G.....	60
TypeT (No.131)	1	60
TypeU (No.002)	1	60
TypeA (No.130)	61	ACCACCTTCTATTTATATATTACAGCTACCTCCTGTGCCATGTCGGCACGTCCACCCCC-	119
TypeC (No.024)	61-	119
TypeR (No.26)	61-	119
TypeS (No.009)	61C.....G..ATC.....-	119
TypeT (No.131)	61-	119
TypeU (No.002)	61C	120
TypeA (No.130)	120	-TATGTACGTCGTGCATTAATGGCTTGCCCATGCATATAAGCAGGTACATATCCATGTA	178
TypeC (No.024)	120	-.....	178
TypeR (No.26)	120	-.....G.....	178
TypeS (No.009)	120	-.....A.....T.....	178
TypeT (No.131)	120	-.....	178
TypeU (No.002)	121	-.....	179
TypeA (No.130)	179	TTGTCACAATAGACATAAACTACTTAATCATAACGGTATTTTACTTCAAGGACATGCTCAA	238
TypeC (No.024)	179	238
TypeR (No.26)	179	238
TypeS (No.009)	179AA..CC...TC.....A.....	238
TypeT (No.131)	179	238
TypeU (No.002)	180	239
TypeA (No.130)	239	GTTGCATATCACCTAGTCCAATAAGGGATTAATCACCATGCCTCGAGAAACCATCAATCC	298
TypeC (No.024)	239	298
TypeR (No.26)	239	298
TypeS (No.009)	239	A.....C.....C..	298
TypeT (No.131)	239	298
TypeU (No.002)	240	299
TypeA (No.130)	299	TTGCCTGAAGTGTACCTCTTCTCGCTCCGGGCCATATTAACGTGGGGTTTCTATCGTG	358
TypeC (No.024)	299C.....	358
TypeR (No.26)	299	358
TypeS (No.009)	299C.....A..	358
TypeT (No.131)	299	358
TypeU (No.002)	300	359
TypeA (No.130)	359	AAACTATACCTGGCATCTGGTTCTTACCTCAGGGCCATGAACTCTCTCCATCCAATCCTA	418
TypeC (No.024)	359	418
TypeR (No.26)	359	418
TypeS (No.009)	359	G.....	418
TypeT (No.131)	359A.....A.....A.....T.....	418
TypeU (No.002)	360	419

図 7-1. 群馬県高崎市のタヌキにおける mtDNA d-loop 領域の塩基配列

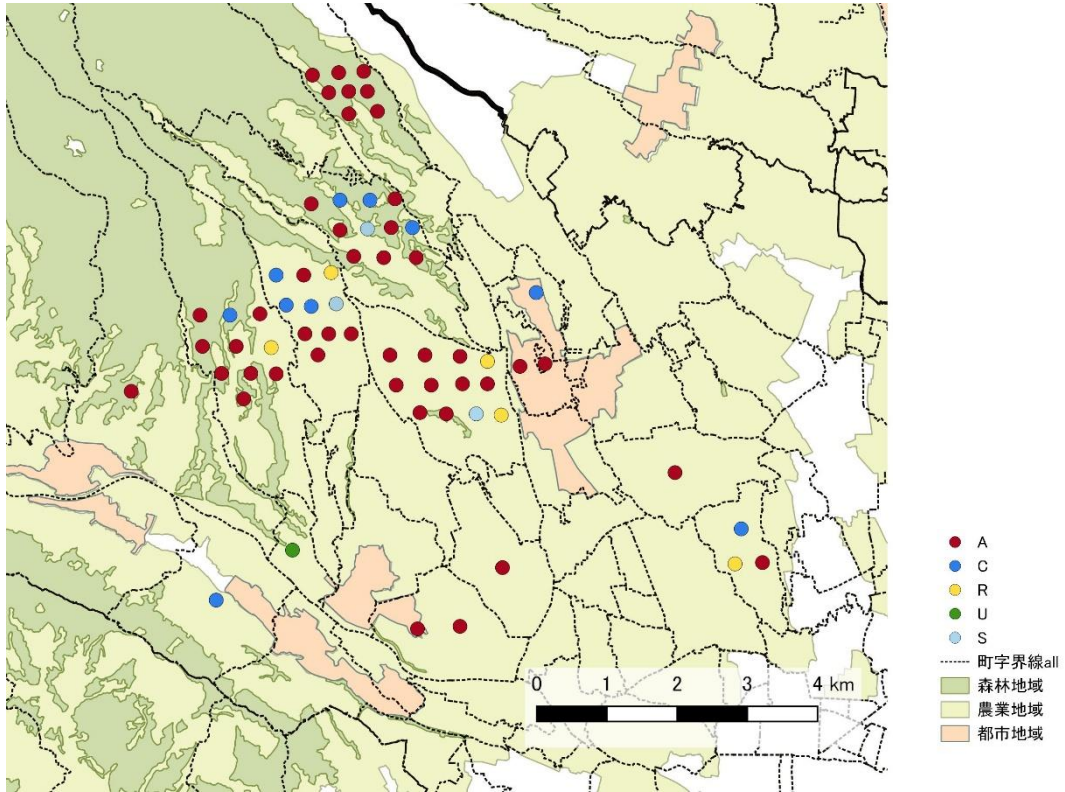


図 7-2. タヌキの捕獲地点と mtDNA のハプロタイプ

75 頭中 10 頭は捕獲地点が不明であったため、記載していない。また、HaplotypeT は 1 頭のみであり、且つ捕獲地点が不明であったため、記載していない。

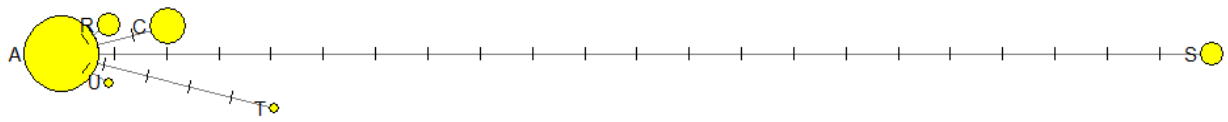


図 7-3. 群馬県高崎市のタヌキの mtDNA d-loop 領域によるハプロタイプネットワーク図
 円の大きさは、そのハプロタイプに属する個体数を表す。

	mtDNA のハプロタイプ						計
	A	C	R	S	T	U	
オス	24	9	1	3	0	0	27
メス	27	3	4	2	1	1	38
計	51	12	5	5	1	1	75

表 7-1. mtDNA のハプロタイプの雌雄別の構成

表 7-2. 群馬県高崎市のタヌキ 75 頭による STR 領域の遺伝子解析結果

遺伝子座	アレル数	アレル 範囲	ヘテロ接合度		Hardy- Weinberg 平衡 検定	Null-allele 確率
			観察値	期待値		
AHTk211	14	73-98	0.676	0.873	0.000*	0.206
CXX279	5	111-138	0.070	0.569	0.000*	0.747
REN169O18	13	157-170	0.680	0.840	0.019	0.139
INU055	11	205-219	0.268	0.799	0.000*	0.440
REN54P11	12	224-269	0.429	0.875	0.000*	0.905
INRA21	8	73-93	0.342	0.592	0.014	0.583
AHT137	17	98-166	0.458	0.735	0.002*	0.634
REN169D01	7	203-211	0.507	0.593	0.000*	0.059
AHTk253	14	283-298	0.733	0.851	0.000*	0.126
INU005	10	107-117	0.413	0.717	0.000*	0.341
INU030	13	136-150	0.649	0.869	0.000*	0.189
FH2848	13	230-245	0.625	0.865	0.000*	0.205
AHT121	19	77-116	0.383	0.865	0.000*	0.527
FH2054	19	138-168	0.760	0.901	0.004	0.065
REN162C04	19	197-216	0.743	0.887	0.000*	0.514
AHTH171	13	224-242	0.587	0.839	0.000*	0.183
REN247M23	13	265-291	0.592	0.877	0.000*	0.302
平均	12.941		0.524	0.797	0.002	

* : Bonferroni 法 (危険率: 5%) による補正後で有意差あり

表 7-3. 各遺伝子座におけるアリル頻度

遺伝子座	遺伝子型 (bp)	アリル頻度	遺伝子座	遺伝子型 (bp)	アリル頻度	遺伝子座	遺伝子型 (bp)	アリル頻度	遺伝子座	遺伝子型 (bp)	アリル頻度	遺伝子座	遺伝子型 (bp)	アリル頻度	
AHTK211	73	0.007	RENS4P11	224	0.023	REN169D01	203	0.053	INU030	136	0.014	FHZ054	138	0.073	
	86	0.033		227	0.047		204	0.013		137	0.081		139	0.007	
	87	0.040		229	0.081		205	0.600		139	0.007		142	0.007	
	88	0.033		230	0.023		206	0.093		141	0.243		146	0.080	
	89	0.027		242	0.058		207	0.193		142	0.034		147	0.067	
	90	0.093		243	0.128		208	0.040		143	0.014		148	0.013	
	91	0.153		244	0.116		211	0.007		144	0.142		151	0.133	
	92	0.267		247	0.035					145	0.054		152	0.060	
	93	0.100		249	0.128	AHTK253	195	0.008		146	0.068		153	0.013	
	94	0.067		250	0.081		283	0.108		147	0.101		155	0.127	
	95	0.087		251	0.244		284	0.042		148	0.169		156	0.200	
	96	0.033		252	0.023		287	0.108		149	0.054		157	0.053	
	97	0.020		269	0.012		288	0.008		150	0.041		159	0.007	
	98	0.040					289	0.017		160	0.080		160	0.080	
	CXX279	111	0.021	INRA21	73	0.574		290	0.017	FHZ848	230	0.021		162	0.013
		115	0.223		74	0.257		291	0.125		232	0.007		163	0.020
		116	0.617		80	0.101		292	0.100		233	0.096		164	0.013
		125	0.096		84	0.007		293	0.083		234	0.164		165	0.013
128		0.021		85	0.007		294	0.050		235	0.233		168	0.020	
138		0.021		91	0.034		295	0.308		236	0.137		197	0.029	
				92	0.014		296	0.008		237	0.151		198	0.207	
				93	0.007		298	0.017		238	0.048		199	0.007	
										240	0.055		200	0.014	
										241	0.034		201	0.021	
REN169018	138	0.007		111	0.007		110	0.027		243	0.007		202	0.207	
	157	0.027		114	0.021		112	0.107		245	0.007		203	0.021	
	159	0.060		115	0.181		113	0.020		242	0.041		204	0.021	
	160	0.047		116	0.465		115	0.040		243	0.007		205	0.093	
	161	0.060		117	0.007		116	0.053		244	0.007		206	0.093	
	162	0.240		119	0.014		117	0.013		245	0.007		207	0.007	
	163	0.027		128	0.007					77	0.017		208	0.064	
	164	0.033		135	0.118					79	0.067		209	0.036	
	165	0.133		137	0.014					80	0.008		210	0.014	
	166	0.040		139	0.035					80	0.008		212	0.007	
REN169018	168	0.047		148	0.007					95	0.033		213	0.050	
	170	0.007		149	0.063					98	0.008		214	0.029	
				150	0.028					99	0.058		215	0.071	
				166	0.014					101	0.075		216	0.007	
										102	0.008				
										103	0.025				
										104	0.033				
										105	0.025				
										106	0.033				
										107	0.317				
INU055	205	0.384		166	0.014					108	0.083				
	206	0.071								109	0.017				
	207	0.018								111	0.017				
	208	0.009								113	0.017				
	211	0.027								115	0.042				
	212	0.125								116	0.117				
	213	0.161													
	215	0.045													
	216	0.054													
	217	0.089													
219	0.018														

表 7-4. STRUCTURE による遺伝的分集団の推定結果

K	平均対数尤度	標準偏差(±)	ΔK
1	-4681.29	2.85	—
2	-4294.72	1.83	100.61
3	-4092.69	1.67	167.31
4	-4170.11	34.55	3.79
5	-4116.43	45.74	—

K=3 の時に最大値をとっているため、分集団は 3 つと推定された



図 7-4. STRUCTURE によるタヌキの遺伝構造解析結果 (K = 3)

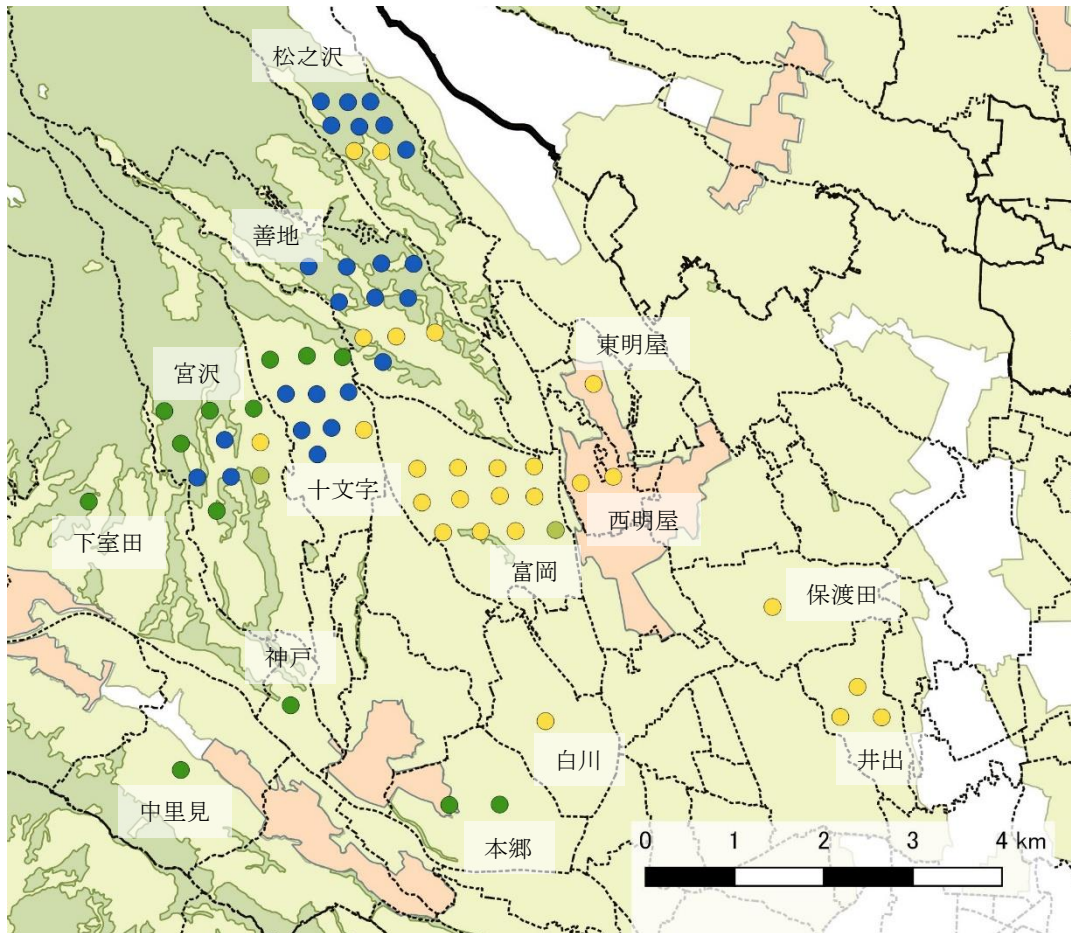


図 7-5. タヌキの捕獲地点と STRUCTURE により推定された遺伝的分集団

黄色の丸が分集団 A、青い丸が分集団 B、緑の丸が分集団 C を示す。黄緑は A と C の中間の性質を示した個体である。3 つの遺伝的分集団は、北西、南西、南東にまとまって分布する傾向が認められた。なお、75 頭中 10 頭は捕獲地点が不明であったため、記載していない。

表 7-5. 各分集団間における固定指数 F_{ST} 及び N_m

$F_{ST} \setminus N_m$	分集団 A	分集団 B	分集団 C
分集団 A		1.587	2.182
分集団 B	0.136		1.076
分集団 C	0.103	0.189	

第 8 章

ヒゼンダニの遺伝子解析による疥癬の伝播様式の検討

8-1. 序論

寄生虫などの病原体の遺伝的構造には、宿主動物の行動生態や環境などが影響し、様々な構造が認められる。例えば、ミツユビカモメとニシツノメドリに寄生するマダニ類の *I. uriae* においては、ミツユビカモメの移動能力が高いという影響を受け、ミツユビカモメに寄生する *I. uriae* の方が遺伝的分化が大きいと報告されている (McCoy *et al.* 2003)。一方で、ヒラマキガイ科の一種である *Bulinus globosus* とそれに寄生するビルハルツ住血吸虫 (*Schistosoma haematobium*) の遺伝的構造は、宿主と寄生虫で遺伝的分化の程度が一致せず、宿主のほうが遺伝的分化が大きいと報告されている (Davies *et al.* 1999)。また、オオグンカンドリ (*Fregata minor*) 及びナスカカツオドリ (*Sula granti*) と、それらに寄生するシラミバエ科の *Olfersia spinifera* 及び *O. aenescens* の宿主-寄生体の遺伝的構造は、シラミバエ科の 2 種のほうが宿主よりも高い遺伝子流動が認められている (Levin and Parker 2013)。このような宿主-寄生体によって様々な遺伝的構造の関係性が認められ、この違いには宿主の移動能力などの生態が関係するとされる (Davies *et al.* 1999 ; Levin and Parker 2013)。

第 7 章において、本調査地におけるタヌキは分散距離の短さや行動域の狭さから、遺伝的分化が大きく、定住性が高い生態である可能性が示唆された。これにより、疥癬が局所的に発生している可能性が示唆された。そのため、ヒゼンダニの遺伝的構造にはタヌキの行動生態が大きく影響している可能性がある。

ヒゼンダニの集団遺伝学的解析は、近年の遺伝子技術の発展を受け、盛んに行われており、疥癬の宿主動物を超えた交差感染の検討や、ヒゼンダニの遺伝子流動を検討することを目的に行われてる (Walton *et al.* 2004 ; Rasero *et al.* 2010 ; Oleaga *et al.* 2013 ; Matsuyama *et al.* 2015 ; Peltier *et al.* 2017 ; Matsuyama *et al.* 2019)。特に、従来、ヒゼンダニは宿主特異性が高いとされてきたが (Fain 1968)、ヒゼンダニの遺伝子解析により野生動物や愛玩動物の間

で交差感染が成立する可能性が示唆されている (Rasero *et al.* 2010 ; Oleaga *et al.* 2013 ; Matsuyama *et al.* 2015 ; Matsuyama *et al.* 2019) 。タヌキも例外ではなく、イヌやニホンテン、アライグマ、ニホンカモシカといった動物種との交差感染が疑われている (Matsuyama *et al.* 2015 ; Matsuyama *et al.* 2019) 。そのため、本調査地におけるタヌキの疥癬においても、タヌキだけではなく他種も交えて複雑な伝播様式が成立している可能性がある。

タヌキ同士での接触伝播のみでヒゼンダニの伝播が成立していた場合、タヌキの遺伝的構造とヒゼンダニの遺伝的構造がリンクすることが予想される。遺伝的構造が異なっており、且つヒゼンダニが同一な遺伝的集団しか検出されなかった場合は、近年起きた疥癬の流行により近縁なヒゼンダニが分布を拡大させた可能性が考えられる。一方、ヒゼンダニの遺伝的集団が複数あり、且つタヌキの遺伝的構造とはリンクしない場合、タヌキ以外の宿主動物種との交差感染の影響を受けている可能性が考えられる。他の宿主動物の影響を評価するのであれば、タヌキと同所的に生息する野生動物から採取したヒゼンダニの遺伝子解析も合わせて行う必要がある。そこで、本章では、タヌキと同所的に生息していたアカギツネに寄生していたヒゼンダニの遺伝構造解析を行うことで、ヒゼンダニの遺伝的構造を明らかにし、タヌキの疥癬の伝播様式の解明の一助とすることを目的とした。

8-2. 材料及び方法

供試個体

第2章で対象としたタヌキのうち、疥癬に重度感染しており、且つサンプルの保存状態が良好であった14頭からヒゼンダニの採取を行った。それぞれのタヌキから4-5匹のヒゼンダニを採取し、計66個体を対象とした(表8-1)。

また、同調査地において疥癬様の皮膚症状を示すアカギツネ1頭の死体を入手した。第2章の手法を用いてダニ虫体の検出を試みたところ、ヒゼンダニが検出されたことから(図8-1)、アカギツネは疥癬に罹患していたと判断し、このアカギツネも本章の対象個体とした。アカギツネからは5匹のヒゼンダニを採取した(表8-1)。

DNA 抽出

冷凍保存していた皮膚病変を解凍後、皮膚を搔把し、70%エタノール液が入ったシャーレに皮膚病変を液浸し、ダニ虫体を固定後、実体顕微鏡下でパスツールピペットを用いてダニ虫体 4-5 匹を検出した。Matsuyama *et al.* (2015) に倣い、ヒゼンダニ 1 匹ずつから DNA を抽出するために、ヒゼンダニを 1 匹ずつ 1.5ml エッペンドルフチューブに入れ、21G の注射針を用いてヒゼンダニを破砕した後、DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) を用いて DNA の抽出を行った。DNA の抽出方法は概ね本キットのプロトコールに従ったが、Proteinase K を添加した際のインキュベーションは一晩行い、DNA を溶出する際の Buffer AE の添加量は 50 μ l に変更した。抽出した DNA は解析まで冷蔵状態で保存した。

mtDNA 解析

Makouloutou *et al.* (2015) に倣い、Navajas *et al.* (1994) が開発したプライマー 772 (5'-TGATTTTTTGGTCACCCAGAAG-3') / 773 (5'-TACAGCTCCTATAGATAAAAC-3') を用いて mtDNA のシトクロム *c* オキシダーゼ I (*cox-I*) 領域の増幅を行った。PCR 反応液の組成は、DNA テンプレート 2.0 μ l、プライマー (10 μ M) 各 1.0 μ l、5U/l Ex Taq Hot-Start Version (タカラバイオ株式会社, 滋賀) 0.125 μ l、10 \times PCR buffer 2.5 μ l、2.5mM dNTPs 2.0 μ l に滅菌水を加え総量を 25 μ l とした。T100TM Thermal Cycler (BIO RAD, Hercules, California, U. S.) を使用し、反応条件は、初期熱変性 : 98 $^{\circ}$ C 5 秒、熱変性 : 94 $^{\circ}$ C 30 秒、アニーリング : 51 $^{\circ}$ C 45 秒、伸長反応 : 72 $^{\circ}$ C 60 秒を 40 サイクル、最終伸長反応 : 72 $^{\circ}$ C 60 秒とした。

PCR 産物は、NucleoSpin $^{\circ}$ Gel and PCR Clean-up (タカラバイオ株式会社, 滋賀) により精製した後、プライマー 772, 773 により、Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer または Applied Biosystems 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, California, U. S.) を用いて、ダイレクトシーケンスを行った。シーケンス解析はユーロフィンジェノミクス株式会社の DNA シーケンス解析サービスを利用した。シーケンスデータは、遺伝情報処理ソフトウェア GENETYX Ver. 12 を用いてアライメントを行い、塩基配列を決定した。また、同

領域を解析した Makouloutou *et al.* (2015) の配列情報を DDBJ/EMBL/GenBank データベースから入手し (AB821004–AB821012) 、本結果で得られた配列と比較した。

STR 領域における遺伝構造解析

Walton *et al.* (2004) が開発したマイクロサテライト (Short Tandem Repeat, 以下、STR) 領域 10 座位 (Sarms33, 34, 35, 36, 37, 38, 40, 41, 44, 45) を用いて、マルチプレックス PCR を行った (表 8-2) 。反応液の組成は、抽出した DNA サンプル 1.0 μ l、各プライマー (10 μ M) 各 0.375 μ l、5U/ μ l Ex Taq Hot-Start Version (タカラバイオ株式会社, 滋賀) 0.15 μ l、10 \times PCR buffer 1.5 μ l、2.5mM dNTPs 1.2 μ l に滅菌水を加え総量を 15 μ l とした。PCR 増幅は、T100TM Thermal Cycler (BIO RAD, Hercules, California, U. S.) により、初期熱変性：95 $^{\circ}$ C 15 分、熱変性：94 $^{\circ}$ C 30 秒、アニーリング：55 $^{\circ}$ C 45 秒、伸長反応：72 $^{\circ}$ C 90 秒を 40 サイクル、最終伸長反応：72 $^{\circ}$ C 7 分の反応条件で行った。PCR 産物は冷蔵状態で保存した。

PCR 産物 1 検体につき、Hi-Di Mix (Hi-DiTM ホルムアミド (Applied Biosystems, Foster City, California, U. S.) 11 μ l、GeneScan 500 LIZ Size Standard (Applied Biosystems, Foster City, California, U. S.) 0.3 μ l) を作成した。Hi-Di Mix 10 μ l に、予め混合した同一検体の PCR 産物 1.5 μ l を添加し、95 $^{\circ}$ C で 3 分間インキュベートした後、3 分間氷冷した。その後、ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, California, U. S.) によりキャピラリー電気泳動を行った。フラグメント解析データは、Peak Scanner Software v1.0 (Applied Biosystems, Foster City, California, U. S.) により各遺伝子座の波形を読み取り、遺伝子型を判定した。

得られた遺伝子型をもとに、アレル数、ヘテロ接合度観察値と期待値、Null-allele 確率を Cervus ver. 3.0.7 (Marshall *et al.* 1998) を用いて算出した。ヘテロ接合度観察値及び期待値の比較には、統計ソフト R 3.1.2 を用い、t 検定により比較した。また、HWE からの逸脱に関する検定は、ML-Relate (Kalinowski *et al.* 2006) と、Bonferroni 補正法を用いて解析した。

ヒゼンダニの遺伝的分集団を推定するために、STRUCTURE ver. 2.3.4. ソフトウェア (Pritchard *et al.* 2000) を用い、ベイズ推定により遺伝構造解析を行った。解析は第 7 章と同様の条件下で行った。

STRUCTURE ver. 2.3.4. ソフトウェアにより推定された分集団ごとに、集団遺伝的分化の程度を示す F_{ST} 値を GENEPOP ver. 4.2 (Rousset 2008) により求めた。また、 F_{ST} 値を用いて、一世代あたりに移入している有効個体数 N_m を下記の式から算出した。

$$N_m \text{ (一世代あたりに移入した有効個体数)} = \frac{1 - F_{ST}}{4F_{ST}}$$

集団の構成・分布状況を把握するために、地理情報システム QGIS 2.14.3 ソフトウェアを用いてタヌキの捕獲地点に重ねるようにプロットした。プロットする際は、タヌキに寄生していたヒゼンダニ 4-5 匹の結果をプールし、STRUCTURE ver. 2.3.4. ソフトウェアにより分けられた各分集団に属する確率を円グラフで示した。

8-3. 結果

mtDNA 解析

対象としたタヌキ由来のヒゼンダニ 66 匹及びアカギツネ由来のヒゼンダニ 5 匹の mtDNA の *cox-I* 領域の 410bp をダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定したところ、全てのヒゼンダニが同じ塩基配列を示した (図 8-1)。この配列は、Makouloutou *et al.* (2015) が和歌山県に生息するタヌキから採取したヒゼンダニ及びイヌから採取したヒゼンダニの塩基配列と 100% の相同性を示した (図 8-1)。

STR 領域における遺伝構造解析

各個体において、4-10 座位 (平均 8.56 座位) の遺伝子型を判定した。アリル数、ヘテロ接合度観察値及び期待値、HWE からの逸脱に関する検定結果、及び Null-allele 確率は表 8-3 にまとめた。各遺伝子座におけるアリル頻度は表 8-4 にまとめた。ヘテロ接合度の観察値の平均は 0.477、期待値の平均は 0.644 であり、有意な差は認められなかった (t 検定: $P >$

0.05)。10 座位中 9 座位は HWE からの逸脱が認められたものの、第 7 章と同様の理由から STRUCTURE ver. 2.3.4. ソフトウェア (Pritchard *et al.* 2000) を用いて解析を行った。

判定した遺伝子型の結果を用いて遺伝構造解析を行ったところ ΔK の値が $K = 2$ の時に最大値を取った (表 8-5)。よって、本調査地に生息するタヌキ及びアカギツネに寄生していたヒゼンダニは 2 つの異なる分集団に由来すると推定された (図 8-2)。分集団に属する確率をみても中間の性質である個体が多い傾向にあり、同一宿主内であっても、2 つの分集団が混在していた (図 8-2, 3)。また、タヌキとアカギツネに寄生していたヒゼンダニの分集団は混在して分布していた (図 8-2, 3)。集団遺伝的分化の程度を示す F_{ST} 値は 0.048 であり、小さな遺伝的分化を示す値となった (井鷲・陶山 2013)。また、一世代あたりに移入した有効個体数 N_m は 4.89 となった (表 8-6)。

8-4. 考察

mtDNA は母系遺伝することからハプロタイプの起源を推定することが可能な遺伝子領域である (増田ら 2009b)。本章におけるヒゼンダニの mtDNA 解析では、タヌキ由来及びアカギツネ由来のヒゼンダニにおいて同一なハプロタイプが 1 つしか検出されず、母系は同一である可能性が高いことが示唆された。Makouloutou *et al.* (2015) は本章と同領域を用いて、和歌山県に生息する野生動物のヒゼンダニの遺伝子解析を試みているが、タヌキ由来及びイヌ由来のヒゼンダニの塩基配列と、本結果で得られた塩基配列は完全に一致した。Makouloutou *et al.* (2015) では、ニホンカモシカとニホンテン由来のヒゼンダニも同領域での解析をしているが、この 2 種由来の塩基配列とは 99% の相同性を示した (図 8-2)。複数の宿主動物に寄生するヒゼンダニの mtDNA 解析を行った既存研究において、オーストラリアのウォンバット (*Vombatus ursinus*)、ワラビー類、アカギツネ及びイヌ由来のヒゼンダニの mtDNA *cox-I* 領域は高い相同性を示すものの、完全には一致しなかった (Walton *et al.* 2004)。インドネシアにおけるヤギ (*Capra hircus*) とウサギ由来のヒゼンダニの mtDNA *cox-I* 領域においても 99% の相同性を示すに留まっている (Lastuti *et al.* 2019)。一方で、北東イ

タリアにおけるアカギツネとシャモア由来のヒゼンダニの mtDNA 16S リボソーム RNA 領域は 100%の相同性を示した (Berrilli *et al.* 2002)。異なる地域に生息するアカギツネやシャモアでは異なる塩基配列を示し、このような遺伝的な相違は地域個体群の構造が関係していると示唆されている (Berrilli *et al.* 2002)。本研究においても、タヌキとアカギツネ由来のヒゼンダニの塩基配列が完全に一致した要因として、同所的に生息していることが大きく影響した可能性が示唆された。一方で、Makouloutou *et al.* (2015) の報告では、タヌキ由来のヒゼンダニは、イヌ由来のヒゼンダニと 100%の相同性を示している。イヌ、タヌキ、アカギツネはいずれもイヌ科動物であり、遺伝的に近い動物種といえる。そのため、遺伝的に近い関係にあることが影響した可能性も考えられた。今回は mtDNA の一部の領域しか解析していないため、より多くの領域を解析し、比較する必要があるだろう。

STR 領域による遺伝構造解析の結果、本調査地におけるヒゼンダニは遺伝的分化は小さいものの 2 つの分集団から構成されると推定された。さらに 2 つの分集団は同一宿主内においても混在していた (図 8-3)。スペインアイベックスの疥癬において、同一宿主内で 2 つのヒゼンダニの遺伝的集団が混在しており、2 集団の宿主上での分布も宿主個体ごとに異なっていたと報告されている (Alasaad *et al.* 2008)。この要因として、一度感染した後に、局所的にコロニーごとの繁殖が進むにつれて遺伝的に分化していった可能性や、複数回に渡りヒゼンダニに感染した可能性が示唆されている (Alasaad *et al.* 2008)。詳細な要因は不明であるが、本調査地におけるタヌキにおいても同様な要因により 2 集団が混在していた可能性が示唆された。また、ヒゼンダニにおける STR 領域における遺伝構造解析はいくつかの先行研究で行われており (Rasero *et al.* 2010 ; Oleaga *et al.* 2013 ; Matsuyama *et al.* 2015 ; Matsuyama *et al.* 2019)、いずれの研究でも異なる宿主動物種から同じ遺伝的集団に属するヒゼンダニが検出されており、ヒゼンダニが単一の宿主動物種にのみ寄生するわけではなく、交差感染が成立していることを示唆している (Rasero *et al.* 2010 ; Oleaga *et al.* 2013 ; Matsuyama *et al.* 2015 ; Matsuyama *et al.* 2019)。本研究においてもタヌキ及びアカギツネ由来のヒゼンダニの遺伝的分集団が混在していたこと、mtDNA のハプロタイプも完全に一致

していたことから、タヌキ及びアカギツネ間でヒゼンダニの交差感染が成立していることが示唆された。これにより、タヌキの疥癬の伝播様式には様々な野生動物種が関わり、複雑な伝播様式が成立している可能性が示唆された。交差感染が成立する要因として、宿主動物の地理的分断 (Rasero *et al.* 2010) や、捕食-被食者という関係性 (Oleaga *et al.* 2013) などが示唆されているが、いずれにしても宿主動物の行動生態が大きく関わっていると言える。そのため、本調査地における疥癬の伝播様式を検討するには、タヌキだけではなく、アカギツネやその他の交差感染しうる野生動物の行動生態にも着目して検討する必要があるだろう。

表 8-1. 本章の対象となったヒゼンダニ

宿主	捕獲地点	ヒゼンダニの数
		5
	宮沢	5
		5
	十文字	5
		5
		5
タヌキ n=14	富岡	4
		5
		4
	本郷	4
	白川	5
	井出	5
		4
	不明	5
キツネ n=1	中野	5

表 8-2. STR 領域プライマー配列及び蛍光色素

STR マーカー	塩基配列 (5'→3')	蛍光色素	マルチプレックス PCR
Sarms35	F: CTGTCACTCTCTTTCGCTATCC	6-FAM	Mix1
	R: GGAGCCTAAGGTCCTAACC		
Sarms37	F: CGGTCCTCATCTTATCATCACC	VIC	Mix1
	R: CTGGAAGACCTCGTGACCATC		
Sarms41	F: CTACGAATCTGTCGGGATC	NED	Mix2
	R: CTATTGCCATTCAGCAGCAC		
Sarms45	F: ATGGTATGGATGCGGAAGAG	PET	Mix2
	R: GGATTCTGGTAAGGATCGAGTG		
Sarms33	F: GGTGTGTGGTTCTGAGTAC	6-FAM	Mix3
	R: GAGGTTGAGAATAGGTTTAC		
Sarms40	F: CGCGCCAATGATTTCTGTC	VIC	Mix3
	R: GGAAATGCGCGTATTCCG		
Sarms44	F: CAATCATCTCATCGGCGAA	PET	Mix3
	R: CGAAGCGCATCACAACATC		
Sarms34	F: CACCTCCATCATCCAGTAG	6-FAM	Mix4
	R: GCTGCTGCTTTGGATTCAG		
Sarms36	F: CCAGTGGACTGTGGATCTTC	VIC	Mix4
	R: CTCGATGAAAAGTGAGGAGTG		
Sarms38	F: CACCAAAGGGTTACGGTGAG	PET	Mix4
	R: GCGATCCTTTTGAGCTGTTC		

```

Gunma.verRD      1 TTTACATTCTTATTATTCCCTGGATTTGGGATAAATTTCTCATATTATTACTTATTCAAGTA 60
Makouloutou.Rd135 1 ..... 60

Gunma.verRD      61 ATAAAAGAGAACCATTTGGATCTTTAGGTATAAATTTATGCTATGATTTCTATTGCAACTT 120
Makouloutou.Rd135 61 ..... 120

Gunma.verRD      121 TAGGTTTTATTGTATGAGCTCATCATATATTTACTGTTGGATTAGATGTTGATACTCGAG 180
Makouloutou.Rd135 121 ..... 180

Gunma.verRD      181 CTTATTTTACTTCAGCTACTATAAATTATCGCTGTCCCTACGGGAGTAAAAATTTTATAGTT 240
Makouloutou.Rd135 181 ..... 240

Gunma.verRD      241 GATTATCTACAATATTAGGAGGAAAATTAGATTTTAACCCTTCTATGTATTGAGCAATTG 300
Makouloutou.Rd135 241 ..... 300

Gunma.verRD      301 GCTTTGTGTTTCTATTTAGAAATGGGAGGTCTCACGGGTATTATTTTATCCAACCTTCTCTT 360
Makouloutou.Rd135 301 ..... 360

Gunma.verRD      361 TAGATGTTAGATTACACGATACTTACTATGTTGTAGCTCACTTTCATTAT 410
Makouloutou.Rd135 361 ..... 410

```

図 8-1. 群馬県高崎市のタヌキに寄生するヒゼンダニの mtDNA cox-I 領域の塩基配列

本章で対象としたヒゼンダニは全て同じ塩基配列を示した。また、Makouloutou *et al.* (2015) による和歌山県のタヌキ由来のヒゼンダニとも同じ塩基配列を示した。

表 8-3. 群馬県高崎市のヒゼンダニの STR 領域の遺伝子解析結果

遺伝子座	アリル数	アリル 範囲	ヘテロ接合度		Hardy- Weinberg 平衡 検定	Null-allele 確率
			観察値	期待値		
Sarrms35	11	120-167	0.22	0.757	0.000*	0.5549
Sarrms34	9	182-202	0.986	0.720	1.000	-0.1672
Sarrms33	15	245-264	0.583	0.828	0.000*	0.1667
Sarrms37	10	174-182	0.774	0.843	0.000*	0.0376
Sarrms40	12	215-273	0.656	0.691	0.000*	-0.0019
Sarrms36	6	236-274	0.043	0.326	0.000*	0.7671
Sarrms41	8	226-236	0.440	0.564	0.000*	0.0796
Sarrms45	5	176-198	0.300	0.468	0.000*	0.217
Sarrms38	8	216-225	0.643	0.626	0.000*	-0.0396
Sarrms44	6	268-276	0.122	0.621	0.000*	0.6768
平均	9.000		0.477	0.644	0.100	

* : Bonferroni 法 (危険率: 5%) による補正後で有意差あり

表 8-4. 各遺伝子座におけるアリル頻度

遺伝子座	遺伝子型 (bp)	アリル 範囲	遺伝子座	遺伝子型 (bp)	アリル 範囲	遺伝子座	遺伝子型 (bp)	アリル 範囲		
Sarms33	245	0.008	Sarms36	236	0.014	Sarms40	215	0.016		
	246	0.025		270	0.014		216	0.008		
	249	0.008		271	0.007		228	0.008		
	251	0.017		272	0.050		230	0.023		
	252	0.033		273	0.814		231	0.016		
	253	0.325		274	0.100		232	0.039		
	254	0.133		Sarms37	173		0.009	233	0.289	
	255	0.208			174		0.019	234	0.086	
	256	0.050			175		0.094	235	0.469	
	259	0.025			176		0.179	236	0.031	
	260	0.017			177		0.245	237	0.008	
	261	0.042			178		0.160	Sarms41	226	0.020
	262	0.050			179		0.179		227	0.030
	263	0.050			180		0.047		228	0.040
264	0.008	181	0.057		229	0.620				
Sarms34	182	0.014	182		0.009	230	0.230			
	184	0.007	Sarms38	216	0.014	232	0.020			
	194	0.007		218	0.007	235	0.020			
	196	0.264		220	0.014	236	0.020			
	197	0.014		221	0.286	Sarms44	268		0.012	
	198	0.293		222	0.086		272		0.024	
	199	0.029		223	0.536		273	0.049		
	200	0.357		224	0.043		274	0.049		
	202	0.014		225	0.014		275	0.488		
	Sarms35	120		0.025	Sarms45				276	0.378
121		0.203		176					0.014	
130		0.034	177	0.021						
132		0.119	189	0.679						
133		0.009	190	0.271						
147		0.009	198	0.014						
156		0.009								
160		0.009								
165		0.017								
166		0.161								
167	0.407									

表 8-5. STRUCTURE による遺伝的分集団の推定結果

K	Mean LnP(K)	Stdev LnP(K)	Delt K
1	-1718.41	1.94	-
2	-1648.63	9.21	6.94
3	-1642.8	25.88	0.99
4	-1611.16	69.2	3.94
5	-1852.63	590.77	-

K = 2 の時に ΔK が最大値を取ったため、遺伝的分集団は 2 つと推定された。

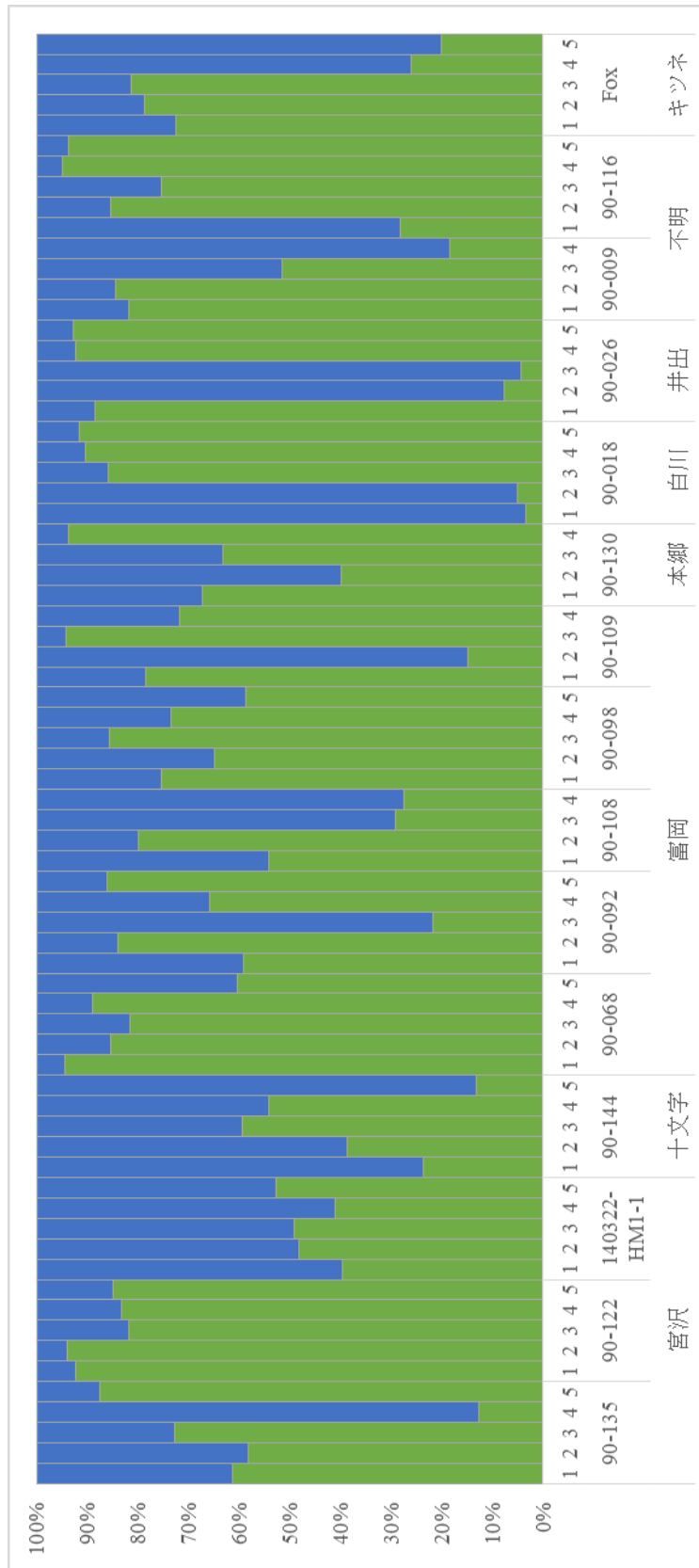


図 8-2. STRUCTURE によるヒゼンダニの遺伝構造解析結果 (K = 2)

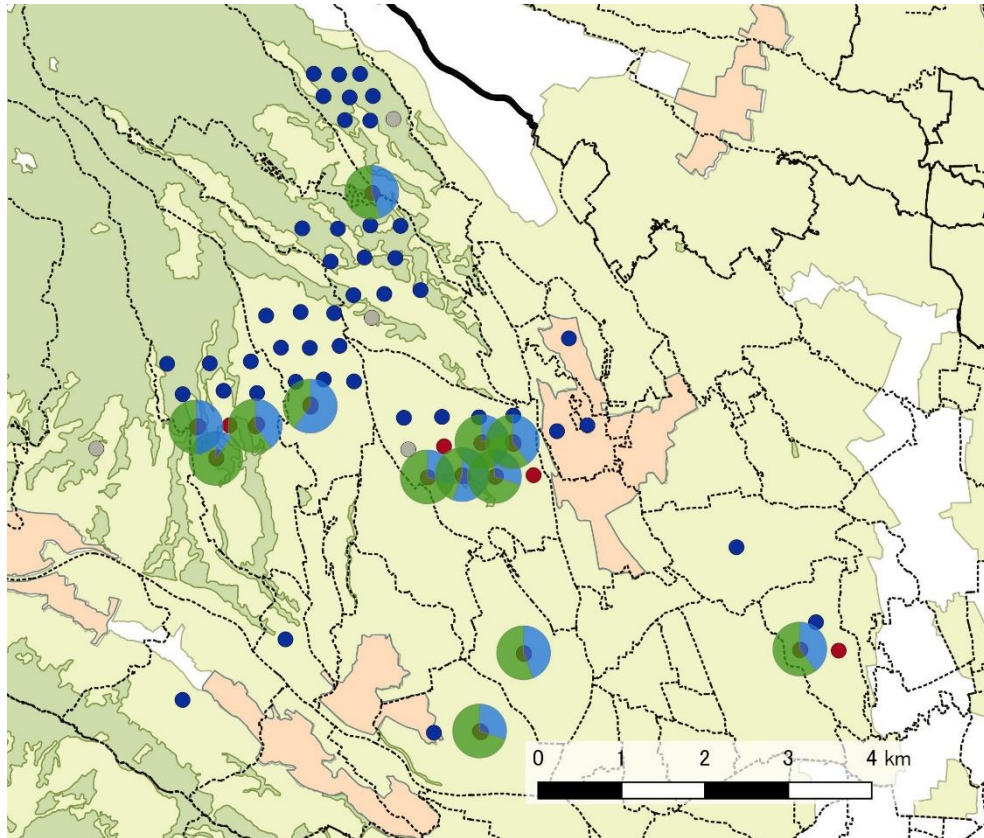


図 8-3. STRUCTURE により推定されたヒゼンダニの遺伝的分集団

丸印はタヌキの捕獲地点を示し、青は健常、赤が疥癬罹患、灰色は疥癬疑い個体であることを示す。ヒゼンダニの遺伝的分集団は疥癬罹患個体上に円グラフで示した。

表 8-6. ヒゼンダニの各分集団間における固定指数 F_{ST} 及び N_m

$F_{ST} \setminus N_m$	分集団 A	分集団 B
分集団 A		4.894
分集団 B	0.0486	

第9章

神奈川県三浦半島に生息するタヌキとヒゼンダニの遺伝構造解析

9-1. 序論

第3章の研究結果により、タヌキの生息密度が通常時の3倍以上にまで上昇した際に疥癬の流行が引き起こされる可能性が高いことが示唆された。また、第4章の研究結果では、疥癬は血縁関係のない個体同士で多く伝播しており、血縁関係のある個体間での接触伝播は疥癬流行の重要な要因ではない可能性が示唆された。第7章の研究結果では、遺伝的分集団がまとまって分布しており、行動域の狭さ (Saeki *et al.* 2007) や分散距離の短さ (山本ら, 1994 ; Saeki 2001) の影響により定住性が高いことが明らかとなり、それにより疥癬が局所的に発生している可能性が示唆された。

これまでの研究結果から、タヌキの疥癬の発生にはタヌキの行動生態が深く関わっていることが予想されるが、タヌキの行動域は都市地域の場合は 0.1km² 前後 (Mitsuhashi *et al.* 2018)、里山的環境では 1km² 程度 (Saeki *et al.* 2007)、亜高山帯では 6km² 程度 (山本ら, 1994) と、生息環境によって大きく変化する。そのため、群馬県高崎市に生息するタヌキから得られた結果が他の地域においても当てはまるとは限らない。また、都市地域は人や愛玩動物の密度が高いことから、野生動物の感染症が人あるいは愛玩動物へと伝播する機会が多い (Bradley and Altizer 2007 ; Mackenstedt *et al.* 2015 ; Soulsbury and White 2016)。つまり、都市地域という環境は野生動物の感染症へのリスクが高い。タヌキは都市地域でも生息しており (Saito and Sonoda 2017 ; Mitsuhashi *et al.* 2018 ; Tsunoda *et al.* 2018)、そのような地域でもタヌキの疥癬発生が確認されていることから (Saito and Sonoda 2017)、都市地域やその周辺地域においてタヌキの疥癬の流行要因やタヌキの行動生態からヒゼンダニの伝播様式を明らかにすることは必要性が高いと言える。そのため、今回得られた結果がタヌキの疥癬の流行要因として普遍的な結果であるのか検証するとともに、群馬県高崎市と異なり、よ

り人口密度が高く、都市地域に近い環境である地域において、同様な調査を行う必要があると考えた。

神奈川県三浦半島は、横須賀市、逗子市、三浦市、鎌倉市及び葉山町からなり、2019年における人口は5市町を合わせて約70万人（神奈川県 2019a）、面積は約207km²である（神奈川県 2019b）。人口約374万人にもなる横浜市が隣接しており（神奈川県 2019a）、群馬県高崎の人口が約37万人、面積は約459km²（群馬県 2019）であることから、神奈川県三浦半島は群馬県高崎市よりも人口密度が高く、より都市的な環境であると言える。神奈川県は、野生動物の救護業務を自然環境保全センター及び各動物園や獣医師会へ委託している（加藤 2012）。神奈川県三浦半島では、1991年にはタヌキの疥癬の発生が確認されており（Kido *et al.* 2013）、疥癬罹患により救護されるタヌキは毎年見受けられ、2010年にはタヌキの救護理由の約70%が疥癬の罹患が占めている（Kido *et al.* 2013）。また、当初は疥癬により救護される個体は横浜市南西部に集中していたが、1997年には横浜市全域で救護されるようになった（Kido *et al.* 2013）。このように、30年以上に渡り救護活動を行っているが、タヌキの疥癬の流行が続いている地域である。救護活動は野生動物の生息密度にも影響を与えることから（Estades 2001）、救護活動によってタヌキの行動生態が変化している可能性も考えられる。しかし、都市周辺地域であるため、人や愛玩動物への疥癬の伝播リスクが高く、且つ長期にわたり疥癬の流行が続いている地域であることから、群馬県高崎市と同様な調査により伝播様式の検討を試みる必要性は高い地域であると考えた。

そこで本章では、群馬県高崎市での研究により得られた結果から考察された疥癬の流行要因は、異なる地域でも該当する普遍的な結果であるのか検証すること、及び都市周辺地域におけるタヌキの疥癬の伝播様式を解明することを目的に、神奈川県三浦半島において疥癬罹患により救護されたタヌキと寄生していたヒゼンダニを対象に、遺伝子解析を行った。

9-2. 材料及び方法

供試サンプル（タヌキ及びヒゼンダニ）

神奈川県からの委託により県内の傷病鳥獣の救護活動を行っている横浜市立金沢動物園の御協力のもと、金沢動物園において疥癬罹患により救護されたタヌキ 54 頭を対象とした。いずれの個体も横浜市を含む三浦半島の周辺地域において、2018 年 11 月 1 日から 2019 年 9 月 3 日までに救護されている（表 9-1）。救護時に DNA サンプルとして被毛を採取し、冷凍状態で保存した。

ヒゼンダニは、疥癬に罹患したタヌキ 54 頭のうち、サンプルの保存状態が良好であった 35 頭からヒゼンダニの採取を行った。それぞれのタヌキから 2-3 匹のヒゼンダニを採取し、計 104 個体を対象とした（表 9-2）。

タヌキの遺伝子解析

神奈川県三浦半島のサンプルについては、被毛をアルコールで洗浄後、毛根部のみを切り取り、DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) を用いて DNA 抽出を行った。なお、DNA の抽出方法は本キットのプロトコールに従ったが、Proteinase K を添加した際のインキュベーションは一晩に変更した。

タヌキの mtDNA の解析では、第 7 章と同様に、mtDNA の d-loop 領域の増幅を行った。PCR 条件や解析は全て第 7 章と同様に行った。

また、第 4 章及び第 7 章と同様に、マイクロサテライト (Short Tandem Repeat, 以下、STR) 領域 18 座位を増幅した。PCR 条件や解析方法は全て第 7 章と同様に行った。また、疥癬の罹患と血縁関係の多さに関係性があるのか検討するために、第 4 章と同様の手法で血縁関係にある個体数をカウントし、頭数の差を χ^2 検定を用いて解析した。有意差があった場合は、二項検定を用いて期待値との比較も行った。タヌキの遺伝的分集団を推定するために、第 7 章と同様な手法で解析を行った。遺伝的分集団ごとに地図上にプロットする際に、捕獲

地点は捕獲地域の字まで明らかな個体は字の代表地点、市までしかわからない個体は市の代表地点にプロットした。

ヒゼンダニの遺伝子解析

DNA 抽出は、第 8 章と同様な手法で行い、ヒゼンダニ 1 匹ずつから DNA を抽出した。

mtDNA 解析は、第 8 章と同様に、mtDNA *cox-I* 領域の増幅を行った。PCR 条件や解析方法は第 8 章と同様に行った。ハプロタイプの分布状況を把握するために、地理情報システム QGIS 2.14.3 ソフトウェアを用いて地図上にプロットした。プロットする際は、タヌキに寄生していたヒゼンダニ 2-3 匹の結果をプールし、円グラフを用いて寄生していたタヌキの捕獲地点上にプロットした。

STR 領域における遺伝構造解析においても、第 8 章と同様に、STR 領域 10 座位の増幅した。PCR 条件は第 8 章と同様に行った。PCR 産物は検体ごとにプールし、3130xl Genetic Analyzer、3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, California, U. S.) によりフラグメント解析を行った。サイズスタンダードは GeneScan 500 LIZ Size Standard (Applied Biosystems, Foster City, California, U. S.) を使用した。なお、フラグメント解析は株式会社ファスマックの DNA シーケンス解析サービスに委託した。得られたフラグメント解析データを用いて、第 8 章と同様に遺伝構造解析し、地図上へプロットした。

9-3. 結果

タヌキの mtDNA 解析

対象としたタヌキ 54 頭の mtDNA の d-loop 領域の 420bp をダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定したところ、9 つのハプロタイプが検出された。このうち 4 つは *Iwasa et al.* (2014) により検出された Haplotype A, I, K 及び O と一致した (図 9-1)。残りのハプロタイプについては、1 つは第 7 章で群馬県のタヌキから検出された Haplotype U と一致した。残りの 4 つのハプロタイプはいずれも一致するものがなかったため、Haplotype V, W, X, Y

とした（図 9-1）。検出されたハプロタイプでは Haplotype W が 54 頭中 14 頭と最も多く、次いで Haplotype U が 13 頭検出された（図 9-2, 表 9-3）。

ハプロタイプを基に作成したネットワーク図は図 9-3 に示した。雌雄ごとの mtDNA のハプロタイプの構成については表 9-2 に示した。オスでは 8 つ、メスでは 8 つのハプロタイプが検出され、mtDNA のハプロタイプの構成に雌雄差は認められなかった（Fisher の正確率検定： $P > 0.05$ ）。

タヌキの STR 領域による遺伝構造解析

各個体から 13-17 座位（平均 15.28 座位）の遺伝子型が判定でき、アレル数、ヘテロ接合度観察値及び期待値、HWE からの逸脱に関する検定結果、及び Null-allele 確率は表 9-4 にまとめた。各遺伝子座におけるアレル頻度は表 9-5 にまとめた。ヘテロ接合度の観察値の平均は 0.570、期待値の平均は 0.749 であり、有意な差が認められた（t 検定： $P < 0.05$ ）。

対象個体 54 頭による総当りでの血縁関係の推定の結果、PO 0 組、FS 10 組、HS 125 組、U 1296 組となった。PO 及び FS にあたる関係の個体の頭数は、0-3 頭となり、血縁関係にあたる個体数に有意な差が認められた（ χ^2 検定： $\chi^2 = 68.37, df = 3, P < 0.05$ 、表 9-6）。血縁関係にあたる個体が 0 頭であった個体は 39 頭と全体の 72% を占めており、期待値を比較し有意に多かった（二項検定： $P < 0.05$ ）。

17 座位のうち 10 座位で HWE からの逸脱が確認されたが、第 7 章と同様な理由により、STRUCTURE ver. 2.3.4. ソフトウェアにより遺伝構造解析を行った。遺伝構造解析の結果、 ΔK が $K = 3$ のときに最大値となった（表 9-7）。そのため、神奈川県の大井町半島に生息するタヌキは 3 つの分集団（分集団 A, B, C とする）から構成される遺伝的構造であることが明らかとなった（図 9-4）。捕獲地点をもとに地図上にプロットしたところ、3 つの遺伝的分集団は、混在して分布していた（図 9-5）。それぞれの分集団間の遺伝的分化を示す F_{ST} 値は分集団 A-B 間では 0.035、B-C 間では 0.027 と、0.05 以下の値を取っていることから遺伝的分化が小さいことが明らかとなり、分集団 A-C 間では $F_{ST} = 0.11$ であり、中程度の遺

伝的分化が認められた（表 9-8）（井鷲・陶山 2013）。一世代あたりに分集団に移入する有効個体数は、分集団 A-B 間では 6.86 頭、分集団 B-C 間では 9.03 頭、分集団 A-C 間では 2.03 頭と推定された。

ヒゼンダニの mtDNA 解析

対象としたタヌキ由来のヒゼンダニ 104 匹の mtDNA の *cox-I* 領域の 410bp をダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定したところ、3 つのハプロタイプが検出された（Haplotype 1, 2, 3 とする）（図 9-6）。Makouloutou *et al.* (2015) が和歌山県の野生動物から採取したヒゼンダニの塩基配列と比較したところ、Haplotype 1 は和歌山県のタヌキ由来のヒゼンダニと 99% の相同性を示した。Haplotype 2 は和歌山県のタヌキ由来のヒゼンダニと 100% の相同性を示した。また、Haplotype 3 については、和歌山県のニホンカモシカ、ニホンテン、タヌキ由来のヒゼンダニと 100% の相同性を示した（図 9-6）。また、対象としたタヌキ 35 頭中 14 頭（40%）は、2 つのハプロタイプのヒゼンダニが混在して寄生していた（図 9-7）。

ヒゼンダニの STR 領域における遺伝構造解析

各個体において、6-10 座位（平均 9.30 座位）の遺伝子型を判定した。アリル数、ヘテロ接合度観察値及び期待値、HWE からの逸脱に関する検定結果、及び Null-allele 確率は表 9-9 にまとめた。各遺伝子座におけるアリル頻度は表 9-10 にまとめた。ヘテロ接合度の観察値の平均は 0.599、期待値の平均は 0.623 であり、有意な差は認められなかった（t 検定： $P > 0.05$ ）。10 座位中 6 座位は HWE からの逸脱が認められたものの、第 7 章と同様の理由から STRUCTURE ver. 2.3.4. ソフトウェアを用いて解析を行った。

判定した遺伝子型の結果を用いて遺伝構造解析を行ったところ ΔK の値が $K = 2$ の時に最大値を取った（表 9-11）。よって、神奈川県に生息するタヌキに寄生していたヒゼンダニは、2 つの分集団から構成されると推定された（図 9-8）。タヌキ 35 頭中 16 頭（45.7%）に

において、2つの分集団に属するヒゼンダニが混在して寄生していた（図 9-8, 9）。集団遺伝的分化の程度を示す F_{ST} 値は 0.0034 であり、小さな遺伝的分化を示す値となった（井鷲・陶山 2013）。また、一世代あたりに移入した有効個体数 N_m は 73.87 となった（表 9-12）。

9-4. 考察

本章では、群馬県高崎市での研究により得られた結果から考察された疥癬の流行要因は、異なる地域でも該当する普遍的な結果であるのか検証すること、及び都市周辺地域におけるタヌキの疥癬の伝播様式を解明することを目的に、群馬県よりも人口密度が高くより都市的な環境である神奈川県三浦半島において、疥癬罹患により救護されたタヌキと寄生していたヒゼンダニを対象に、遺伝子解析を行った。

mtDNA 解析では、ハプロタイプは9つ検出された。今回検出されたハプロタイプのうちの4つは *Iwasa et al.* (2014) の報告と一致したが、そのうち2つ (Haplotype I, K) は神奈川県のタヌキから検出され、残りはそれぞれ埼玉県や新潟県 (Haplotype A) と福島県 (Haplotype O) から検出されている。そのため、本調査地におけるタヌキの母系は、関東地方を中心に分布する様々な母系のタヌキが生息する地域であると推測された。また、mtDNA のハプロタイプの構成に雌雄差は認められなかったが、タヌキのテレメトリー調査の報告において、分散距離に雌雄差は認められないとされていることから (*Kauhala et al.* 1993)、雌雄による分散距離に相違がないことが影響したと考えられる。

STR 解析では、ヘテロ接合度の観察値が低値を示していることから、近親交配による多様性の低下が疑われた。しかし一方で、血縁関係の推定結果では、多くの個体が血縁関係を持たないという結果を得た。タヌキの行動生態として、親子や兄弟間でねぐらやため糞場の共有、行動域の重複などが認められることから (谷地森ら 1997; *Saeki* 2001; 佐伯 2008; 田中 2009)、タヌキの疥癬の流行要因の一つとして、親子間での直接的な接触伝播が考えられてきた (鈴木ら 1981; *Shibata* 2004)。この仮説が正しい場合、血縁関係にあたる個体が多い方が多くの個体と行動域の重複やため糞場の共有を行うため、血縁関係にあたる個

体が多いと疥癬に罹患しやすいと考えられる。しかしながら、本章で対象とした疥癬罹患個体の7割がいずれの個体とも血縁関係を示さなかった。そのため、血縁関係のある個体間による疥癬の接触伝播の頻度はそれほど多くないか、そのような接触伝播は疥癬の流行に重要な要因ではない可能性が示唆された。群馬県高崎市においても同様な結果が得られていることから、タヌキの疥癬の流行には、いずれの地域においても血縁関係のない個体同士での接触伝播が重要な要因となっている可能性が考えられた。

遺伝構造解析の結果からは、本調査地のタヌキは3つの分集団から構成されることが明らかとなった。これらの分集団は F_{ST} の結果から遺伝的分化はそれほど大きくなく、いずれの分集団も三浦半島全域に混在して分布している傾向が認められた(図9-5)。都市地域である東京都の皇居内に生息するタヌキの遺伝構造解析では、堀によって移動が制限されている影響から周辺に生息するタヌキとは異なる遺伝的構造を示している(Saito *et al.* 2016)。また、南関東に生息するニホンジカ(*C. nippon*)においても、道路網の発達や都市化、狩猟による生息地の分断化が、遺伝構造の空間的な分布に影響している可能性が報告されている(Yuasa *et al.* 2006)。そのため、本調査地が都市的な環境であることを踏まえると、神奈川県三浦半島に生息するタヌキは都市化の影響を受け、遺伝的交流の低下が予想された。さらに、研究対象としたタヌキが救護された三浦半島の面積は207km²である(神奈川県 2019b)。タヌキの分散距離は1-10km程度とされていること(山本ら 1994; Saeki 2001)を考慮すると、207km²での面積内では遺伝的交流は少ないことが予想されたが、いずれの分集団間も遺伝的交流が確認された。既存研究よりもタヌキの移動能力が高く、生息地を分断化する要素が少なかったのであれば、本研究の調査範囲を移動することは可能であると考えられるが、他の要因が関連したことも予想される。

そこで考えられるのが救護活動の影響である。神奈川県では、野生動物の救護活動を行っており(加藤 2012)、横浜市にある金沢動物園、野毛山動物園、よこはま動物園ズーラシアでは救護活動を1972年から行っている(Kido *et al.* 2013)。野生動物の救護や保護活動は対象となった野生動物の個体数増加の効果がある。例えば、我が国に生息するニホンカモシ

カは、1955年に特別天然記念物に指定後、密猟の取り締まりが行われたことで、個体群は増加に転じた（常田 2007）。また、ハンガリーに生息するカタシロワシ (*Aquila heliaca*) も、保護活動を行うことにより、3年間で35%の個体数増加が確認されている（Kovács *et al.* 2008）。このように、野生動物の救護活動によって、生存率の上昇や個体数増加といった影響がある。さらに、神奈川県において救護されたタヌキが野生復帰した際、安定した環境に落ち着くまでに野生復帰後約3ヶ月を要すると報告されている（加藤 2012）。そのため、救護活動を行っていない状況よりも、個体の移動が盛んであった可能性があり、それにより遺伝的交流も多かったことが予想される。このように、救護活動がタヌキの生息数や行動といった生態に影響を与えたことも考えられ、救護活動によってタヌキの遺伝的構造が変化した可能性が考えられた。救護活動がタヌキの遺伝的構造に与える影響を評価するためにも、今後は疥癬に罹患したタヌキだけではなく、健常な個体の遺伝子解析も合わせて行っていく必要があるだろう。

ヒゼンダニの mtDNA 解析では、タヌキから3つのハプロタイプが検出され、3つの母系から構成されている可能性が高いことが示唆された。いずれのハプロタイプも Makouloutou *et al.* (2015) の報告で、タヌキ由来のヒゼンダニから検出された塩基配列と高い相同性を示していることから、神奈川県三浦半島ではタヌキによく寄生する系統のヒゼンダニが浸淫している可能性が示唆された。しかし、今回検出されたヒゼンダニのうち、1つのハプロタイプは Makouloutou *et al.* (2015) の報告において、和歌山県のニホンカモシカ、ニホンテン由来のヒゼンダニと100%の相同性を示した。ヒゼンダニの mtDNA の 16S リボソーム RNA 領域の解析では、異なる宿主動物から同一系統のヒゼンダニが検出された要因として、宿主が同所的に生息しており、地域的な要因が大きかったと示唆している（Berrilli *et al.* 2002）。そのため、神奈川県内の野生動物において、3つの母系からなるヒゼンダニによる疥癬が浸淫していることが影響したと考えられた。神奈川県内ではニホンテンの生息も確認されており（関・鈴木 2018）、この仮説を検討していくためにも、今後は他の宿主動物種も対象としたヒゼンダニの遺伝子解析を進める必要があるだろう。

STR 領域による遺伝構造解析の結果、神奈川県のコウモリに寄生するヒゼンダニは 2 つの分集団から構成されていた。この 2 つの分集団間は、一世代あたりに移入した有効個体数 N_m が 73.87 匹であり、遺伝的交流が盛んに行われている関係であることが示唆された。mtDNA 解析の結果では、母系は 3 系統であり、異なる mtDNA ハプロタイプのヒゼンダニが同一宿主内で混在して寄生していた割合は 40%にも登った。また、STR 領域による遺伝的構造解析の結果からは、同一宿主内で 2 つの分集団が混在して寄生していた割合は約 46%であった。STR 領域の方が mtDNA よりも進化速度は速いため (Haag-Liautard *et al.* 2008 ; Guichoux *et al.* 2011) 、STR 領域のほうがより近年の遺伝的構造を表している。つまり、タヌキに寄生していたヒゼンダニは、もともと 3 つの母系から構成されたものが、近年は遺伝的交流が盛んに行われる 2 集団へと構成が変化したとも言える。Alasaad *et al.* (2008) は、同一宿主内でのヒゼンダニで異なる遺伝子集団が検出された要因として、一度感染した後に、局所的にコロニーごとの繁殖が進むにつれて遺伝的に分化していった可能性や、数回にわたりヒゼンダニに感染した可能性を挙げている。前者の場合、mtDNA の母系は同じ宿主内では同一のものが検出されるはずであるが、本研究では異なる母系のヒゼンダニが同一宿主から検出されている。そのため、神奈川県に生息するタヌキは数回にわたりヒゼンダニに感染している可能性が高いことが示唆された (Alasaad *et al.* 2008) 。

ヒゼンダニが数回に渡って感染しているということは、疥癬罹患個体が複数回に渡り接触する機会があるということである。一般に、接触頻度とそれに伴う感染症の伝播には、生息密度が関係しているとされている (McCallum *et al.* 2001) 。Saito and Sonoda (2017) は、タヌキの疥癬が都市化した環境で発生することが多い要因として、都市化による生息密度の上昇が個体間の接触機会を助長させていると示唆されていることから、本調査地でも同様な要因が影響した可能性が考えられた。また、一般に救護活動を受けることにより個体数は増加することが多いことから (常田 2007 ; Kovács *et al.* 2008) 、救護活動によりタヌキの個体数増加が引き起こされ、タヌキ同士の接触機会も増加した可能性も考えられた。

一方で、タヌキの疥癬は、ニホンテン、アライグマ、ニホンカモシカといった野生動物との交差感染が疑われている (Matsuyama *et al.* 2015 ; Matsuyama *et al.* 2019) 。これらの野生動物は神奈川県でも生息が確認されていることから (Hayama *et al.* 2006 ; 關・鈴木 2018) 、タヌキ同士だけではなく、タヌキと同所的に生息する野生動物種との接触により、ヒゼンダニの接触伝播の機会も増加した可能性が示唆された。また、群馬県高崎市に比べ人口密度が高い神奈川県ではイヌの登録頭数は 46 万頭であり、群馬県の約 4 倍の登録頭数となっている (厚生労働省) 。このことから、神奈川県三浦半島においても多くのイヌが飼育されていたことが予想される。タヌキに寄生するヒゼンダニはイヌに寄生するヒゼンダニと遺伝的に近縁であることから、両種間での交差感染が成立するとされている (Matsuyama *et al.* 2015) 。そのため、野生動物だけでなく、愛玩動物との接触伝播の機会も多く、様々な宿主動物種間で交差感染が引き起こされ、複雑な伝播様式が成立している可能性が示唆された。調査地内に生息する野生動物及び愛玩動物といった複数の宿主動物で疥癬の流行が維持され続けていることにより、タヌキにおけるヒゼンダニの感染機会も高まった可能性が考えられる。そのため、今後は他の宿主動物種も対象として、ヒゼンダニの伝播様式を検討していく必要があるだろう。

表 9-1. 神奈川県において救護されたタヌキの救護地域と性別

	藤沢	鎌倉	横浜	逗子	葉山	横須賀	三浦	不明	計
オス	4	8	2	6	4	7	1	0	32
メス	1	8	1	1	1	9	0	1	22
計	5	16	3	7	5	16	1	1	54

表 9-2. タヌキの救護地点別のヒゼンダニのサンプリング数

ヒゼンダニ採取数	横須賀	横浜	鎌倉	逗子	藤沢	葉山	計
3匹	12	2	9	5	5	1	34
2匹	0	0	0	0	0	1	1
計	12	2	9	5	5	2	35

基本的に3匹ずつ採取したが、葉山の1頭においては2匹しか採取できなかった。

TypeA	1	ACCTGCTCCACCATCAGCACCCAAAGCTGAAATTCCTTCTTAACTATTCCCTGATACCTC	60
TypeI	1	60
TypeK	1	60
TypeO	1	60
TypeU	1	60
TypeV	1	60
TypeW	1	60
TypeX	1N.....N.....	60
TypeY	1	G.....	60
TypeA	61	ACCACCTTCTATTTATATATTACAGCTACCTCCTGTGCCATGTCGGCAGTCCA--CCCC	118
TypeI	61--.....	118
TypeK	61C.....--.....	118
TypeO	61C.....C.....--.....	118
TypeU	61-C.....	119
TypeV	61--.....	118
TypeW	61C.....C.....--.....	118
TypeX	61-C.....	119
TypeY	61C.....G..ATC.....T.....--.....	118
TypeA	119	CTATGTACGTCGTGCATTAATGGCTTGCCCCATGCATATAAGCAGGTACATATCCATGTA	178
TypeI	119G.....	178
TypeK	119	178
TypeO	119T.....A.....	178
TypeU	120	179
TypeV	119	178
TypeW	119T.....A.....	178
TypeX	120	179
TypeY	119A.....T.....	178
TypeA	179	TTGTCACAATAGACATAAACTACTTAATCATACGGTATTTTACTTCAAGGACATGCTCAA	238
TypeI	179A.....C.....	238
TypeK	179	238
TypeO	179C.....C.....	238
TypeU	180	239
TypeV	179A.....	238
TypeW	179C.....C.C.....	238
TypeX	180	239
TypeY	179AA..CC..TC.....A.....	238
TypeA	239	GTTGCATATCACCTAGTCCAATAAGGGATTAATCACCATGCCTCGAGAAACCATCAATCC	298
TypeI	239	298
TypeK	239	298
TypeO	239	A.....	298
TypeU	240	299
TypeV	239	298
TypeW	239	A.....	298
TypeX	240	299
TypeY	239	A.....C.....	298
TypeA	299	TTGCCTGAAGTGTACCTCTTCTCGCTCCGGGCCATATTAACGTGGGGTTTCTATCGTG	358
TypeI	299	358
TypeK	299	358
TypeO	299	358
TypeU	300	359
TypeV	299	358
TypeW	299	358
TypeX	300	359
TypeY	299C.....A.....	358
TypeA	359	AAACTATACCTGGCATCTGGTCTTACCTCAGGGCCATGAACTCTCTCCATCCAATCCTA	418
TypeI	359	418
TypeK	359	418
TypeO	359	418
TypeU	360	419
TypeV	359	418
TypeW	359	418
TypeX	360	419
TypeY	359	G.....	418

図 9-1. 神奈川県の大ヌキにおける mtDNA d-loop 領域のシーケンス結果

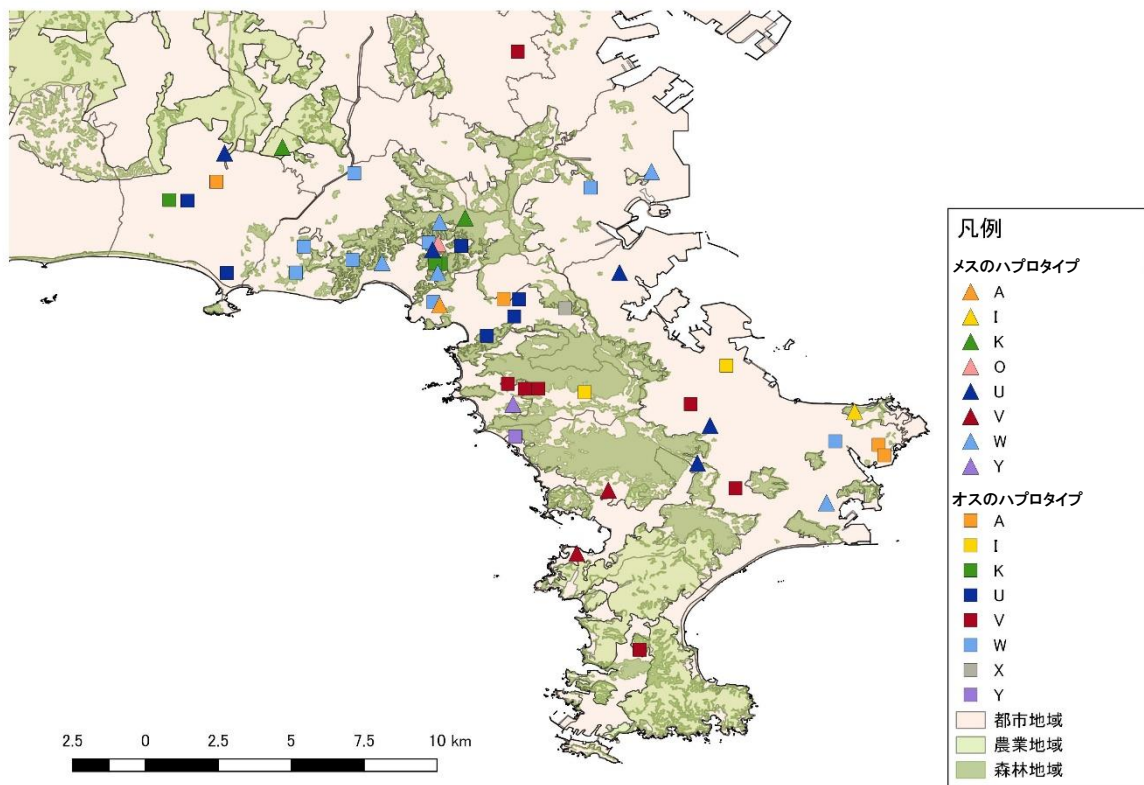


図 9-2. 神奈川県三浦半島におけるタヌキの mtDNA ハプロタイプの分布
四角形がオス、三角形がメスであり、ハプロタイプは色別で示している。

表 9-3. 神奈川県三浦半島におけるタヌキの mtDNA ハプロタイプの雌雄別の構成

	mtDNA のハプロタイプ									計
	A	I	K	O	U	V	W	X	Y	
オス	4	2	3	0	6	7	8	1	1	32
メス	1	2	2	1	7	2	6	0	1	22
計	5	4	5	1	13	9	14	1	2	54

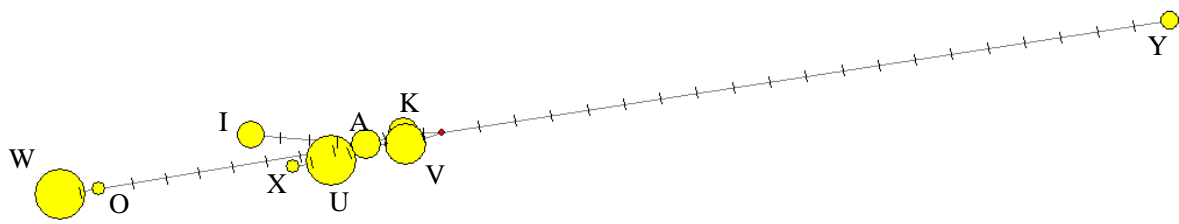


図 9-3. 神奈川県三浦半島のタヌキの mtDNA_{Ad-loop} 領域ハプロタイプネットワーク図
 円の大きさはそのハプロタイプに属する個体数を表す。

表 9-4. 神奈川県三浦半島のタヌキにおける STR 領域の遺伝子解析結果

遺伝子座	アレル数	アレル 範囲	ヘテロ接合度		Hardy- Weinberg 平衡 検定	Null-allele 確率
			観察値	期待値		
AHTk211	8	88-95	0.679	0.762	0.053	0.048
CXX279	3	115-117	0	0.573	0.000*	1.000
REN169O18	10	157-168	0.722	0.772	0.014	0.018
INU055	8	186-208	0.321	0.71	0.000*	0.384
REN54P11	11	241-252	0.714	0.881	0.002*	0.100
INRA21	9	73-98	0.259	0.5	0.000*	0.322
AHT137	12	102-143	0.491	0.661	0.000*	0.144
REN169D01	8	182-208	0.556	0.724	0.000*	0.134
AHTk253	15	278-299	0.667	0.838	0.000*	0.111
INU005	8	94-118	0.519	0.549	0.009	0.018
INU030	10	136-150	0.519	0.71	0.000*	0.159
FH2848	13	229-248	0.519	0.773	0.011	0.208
AHT121	13	92-116	0.556	0.809	0.000*	0.179
FH2054	18	143-155	0.796	0.903	0.000*	0.055
REN162C04	15	196-215	0.815	0.859	0.201	0.022
AHTH171	12	224-242	0.778	0.859	0.195	0.048
REN247M23	15	262-276	0.778	0.85	0.108	0.043
平均	11.059		0.570	0.749	0.035	

*: Bonferroni 法 (危険率: 5%) による補正後で有意差あり

表 9-5. 各遺伝子座におけるアリル頻度

遺伝子座	遺伝子型 (bp)	アリル頻度	遺伝子座	遺伝子型 (bp)	アリル頻度	遺伝子座	遺伝子型 (bp)	アリル頻度	遺伝子座	遺伝子型 (bp)	アリル頻度	遺伝子座	遺伝子型 (bp)	アリル頻度		
AHTk211	88	0.057	REN54P11	241	0.095	REN169D01	182	0.019	INU030	136	0.019	FH2054	143	0.204		
	89	0.085		242	0.060		202	0.019		137	0.435		144	0.019		
	90	0.283		243	0.226		203	0.111		139	0.056		146	0.009		
	91	0.028		244	0.131		204	0.037		141	0.306		147	0.056		
	92	0.368		246	0.024		205	0.472		143	0.019		148	0.056		
CXX279	93	0.038	247	0.107	206	0.074	145	0.046	151	0.130	REN247M23	228	0.019			
	94	0.132	248	0.083	207	0.176	147	0.083	152	0.111		229	0.222			
	95	0.009	249	0.131	208	0.093	148	0.019	153	0.009		231	0.093			
	115	0.438	250	0.107	278	0.010	149	0.009	154	0.019		233	0.009			
	116	0.500	251	0.024	283	0.031	150	0.009	155	0.120		234	0.056			
REN169018	117	0.063	252	0.012	284	0.063	AHTk253	229	0.019	156	0.065	241	0.056			
	157	0.102	73	0.694	287	0.063		FH2848	231	0.009	157	0.019	242	0.019		
	158	0.009	74	0.102	288	0.052			232	0.009	158	0.009	262	0.009		
	159	0.241	75	0.019	289	0.052			233	0.009	159	0.019	263	0.037		
	160	0.093	80	0.102	290	0.052			234	0.361	160	0.046	264	0.009		
161	0.009	90	0.028	291	0.365	235	0.278		161	0.019	265	0.185				
INU055	162	0.056	92	0.009	292	0.052	236	0.065	165	0.074	266	0.019				
	164	0.037	93	0.009	293	0.063	237	0.130	169	0.019	267	0.019				
	165	0.046	97	0.019	294	0.031	238	0.009	REN162C04	196	0.009	272	0.009			
	166	0.389	98	0.019	295	0.104	239	0.028		197	0.009	274	0.139			
	168	0.019	102	0.009	296	0.010	241	0.009		198	0.213	275	0.009			
186	0.018	114	0.009	297	0.010	244	0.009	201		0.009	276	0.065				
192	0.036	115	0.009	299	0.042	248	0.065	202		0.083	277	0.046				
AHTk211	197	0.018	INU005	94	0.009	AHT121	92	0.033	AHT137	102	0.009	REN162C04	203	0.009		
	201	0.054		107	0.620		98	0.344		204	0.194		206	0.185	278	0.065
	203	0.107		108	0.019		99	0.022		205	0.046		207	0.065	279	0.287
	205	0.500		109	0.009		100	0.056		206	0.139		280	0.093	284	0.019
	207	0.143		111	0.259		102	0.044		208	0.139					
	208	0.125	115	0.019	106	0.056	211	0.009								
			116	0.056	107	0.244	212	0.037								
			142	0.019	108	0.022	213	0.009								
			143	0.057	109	0.011	214	0.028								
					110	0.011	215	0.019								
				111	0.011											
				115	0.078											
				116	0.067											

表 9-6. 血縁関係にある個体数

	血縁関係にあたる個体の頭数				計
	0	1	2	3	
疥癬罹患	39	11	3	1	54

第 4 章と同様に ML-Relate により PO または FS と区分された個体数をカウントしている。

表 9-7. STRUCTURE による遺伝的分集団の推定結果

K	平均対数尤度	標準偏差(±)	ΔK
1	-3098.45	2.32	—
2	-3097.23	5.35	13.19
3	-3046.6	11.23	20.68
4	-3288.2	128.05	1.49
5	-3338.85	144.32	—

K = 3 の時に最大値をとっていることから、遺伝的分集団は 3 つと推定された。

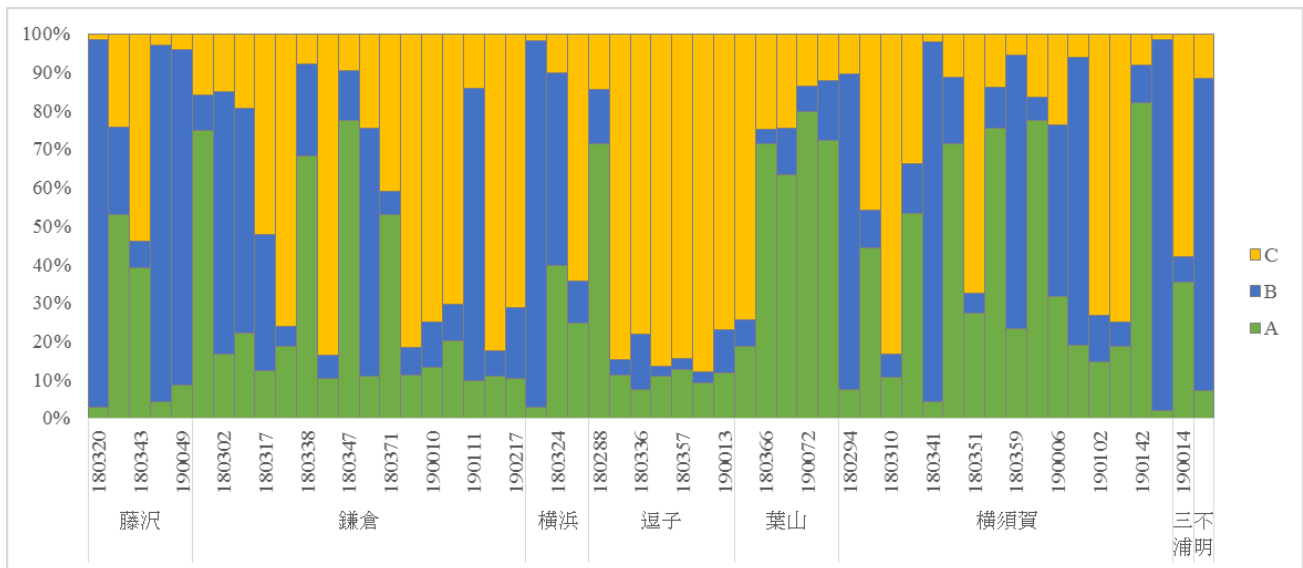


図 9-4. STRUCTURE による神奈川県の大ノキの遺伝構造解析結果 (K = 3)

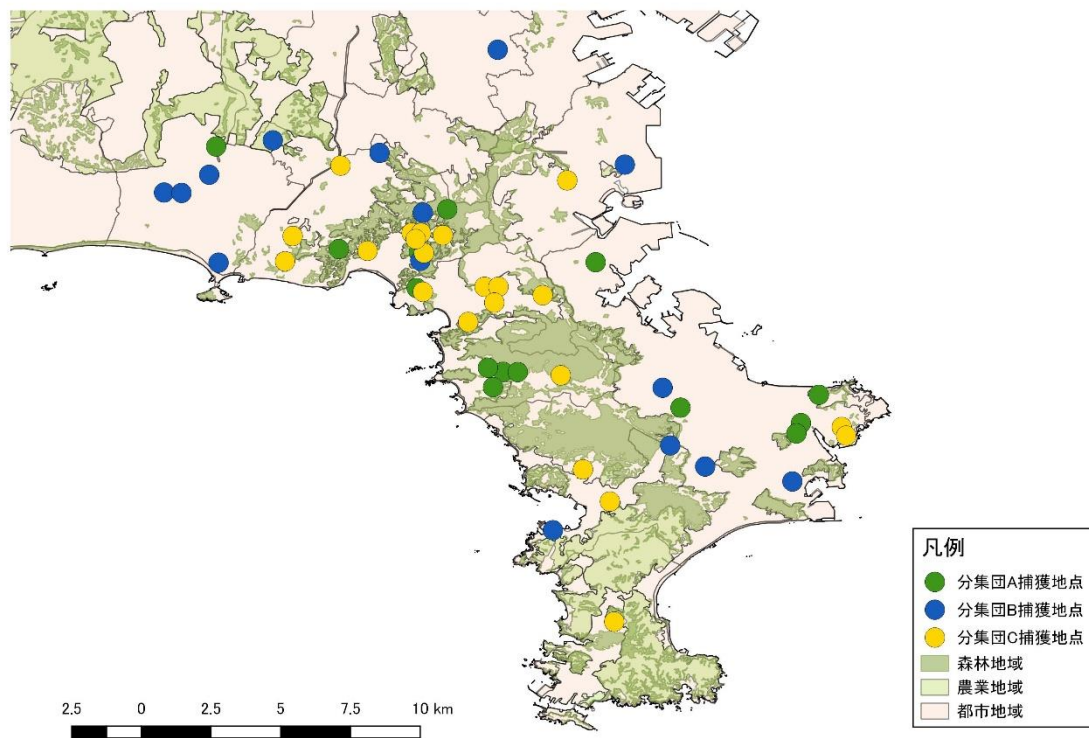


図 9-5. 神奈川県三浦半島のタヌキにおける遺伝的分集団の分布状況
 いずれの分集団も広域に渡って混在して分布している。

表 9-8. 神奈川県内のタヌキの各分集団間における固定指数 F_{ST} 及び Nm

$F_{ST} \setminus Nm$	分集団 A	分集団 B	分集団 C
分集団 A		6.855	2.027
分集団 B	0.035		9.031
分集団 C	0.027	0.110	

Kanagawa.Rd1 (180288A)	1	TTTACATTCTTATTATTCTCGGATTGGGATAATTTCTCATATTACTTATTCAAGTA	60
Kanagawa.Rd2 (180300B)	1	60
Kanagawa.Rd3 (180343B)	1	60
Makouloutou.Marten40	1	60
Makouloutou.Rd18	1	60
Makouloutou.Rd20	1	60
Makouloutou.serow78	1	60
Kanagawa.Rd1 (180288A)	61	ATAAAAGAGAACCATTTGGATCTTTAGGTATAATTTATGCTATGATTTCTATTGCAATTT	120
Kanagawa.Rd2 (180300B)	61C..	120
Kanagawa.Rd3 (180343B)	61A.....C..	120
Makouloutou.Marten40	61a.....c..	120
Makouloutou.Rd18	61c..	120
Makouloutou.Rd20	61a.....c..	120
Makouloutou.serow78	61a.....c..	120
Kanagawa.Rd1 (180288A)	121	TAGGTTTTATTGTATGAGCTCATCATATATTTACTGTTGGATTAGATGTTGATACTCGAG	180
Kanagawa.Rd2 (180300B)	121	180
Kanagawa.Rd3 (180343B)	121	180
Makouloutou.Marten40	121	180
Makouloutou.Rd18	121	180
Makouloutou.Rd20	121	180
Makouloutou.serow78	121	180
Kanagawa.Rd1 (180288A)	181	CTTATTTACTTCAGCTACTATAATTATCGCTGTCCCTACGGGAGTAAAAATTTTGT	240
Kanagawa.Rd2 (180300B)	181	240
Kanagawa.Rd3 (180343B)	181T.....	240
Makouloutou.Marten40	181t.....	240
Makouloutou.Rd18	181	240
Makouloutou.Rd20	181t.....	240
Makouloutou.serow78	181t.....	240
Kanagawa.Rd1 (180288A)	241	GATTATCTACAATATTAGGAGGAAAATTAGATTTTAACCCCTTCTATGTATTGAGCAATTG	300
Kanagawa.Rd2 (180300B)	241	300
Kanagawa.Rd3 (180343B)	241	300
Makouloutou.Marten40	241	300
Makouloutou.Rd18	241	300
Makouloutou.Rd20	241	300
Makouloutou.serow78	241	300
Kanagawa.Rd1 (180288A)	301	GCTTTGTGTTTCTATTTAGAAATGGGAGGTCTCACGGGTATTATTTTATCCAACCTCTTCTT	360
Kanagawa.Rd2 (180300B)	301	360
Kanagawa.Rd3 (180343B)	301T.....T.....	360
Makouloutou.Marten40	301t.....t.....	360
Makouloutou.Rd18	301	360
Makouloutou.Rd20	301t.....t.....	360
Makouloutou.serow78	301t.....t.....	360
Kanagawa.Rd1 (180288A)	361	TAGATGTTAGATTACACGATACTTACTATGTTGTAGCTCACTTTCATTAT	410
Kanagawa.Rd2 (180300B)	361	410
Kanagawa.Rd3 (180343B)	361	410
Makouloutou.Marten40	361	410
Makouloutou.Rd18	361	410
Makouloutou.Rd20	361	410
Makouloutou.serow78	361	410

図 9-6. 神奈川県の大ヌキに寄生するヒゼンダニの mtDNA cox-I 領域のシーケンス結果

上から 1-3 番目が神奈川県の大ヌキ由来のヒゼンダニの塩基配列である。上から 4-7 番目は Makouloutou *et al.* (2015) のニホンテン、大ヌキ、ニホンカモシカ由来のヒゼンダニの解析結果である。

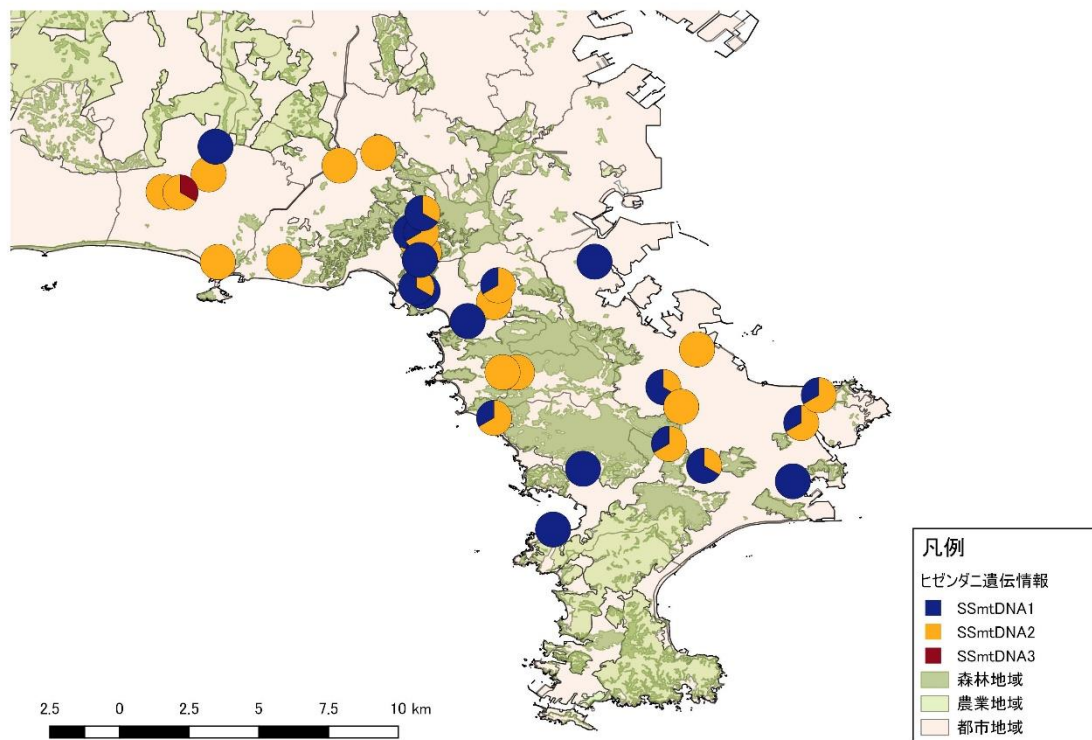


図 9-7. 神奈川県のアヌキに寄生していたヒゼンダニの mtDNA はプロタイプの分布
 1 頭のタヌキに寄生していた 2-3 匹のヒゼンダニのハプロタイプを円グラフで示してい
 る。同一宿主内でも異なるハプロタイプのヒゼンダニの寄生が確認された。

表 9-9. 神奈川県の大ヌキに寄生するヒゼンダニの STR 領域における遺伝子解析結果

遺伝子座	アリル数	アリル 範囲	ヘテロ接合度		Hardy- Weinberg 平衡 検定	Null-allele 確率
			観察値	期待値		
Sarrms35	6	123-135	0.74	0.577	1.000	-0.127
Sarrms34	12	168-203	0.850	0.753	0.915	-0.080
Sarrms33	13	244-276	0.964	0.799	0.949	-0.105
Sarrms37	6	176-188	0.330	0.340	0.000*	0.021
Sarrms40	9	208-237	0.541	0.653	0.000*	0.104
Sarrms36	6	271-282	0.354	0.580	0.000*	0.259
Sarrms41	15	230-265	0.547	0.661	0.003*	0.089
Sarrms45	6	178-204	0.641	0.669	0.037	0.011
Sarrms38	8	216-235	0.660	0.575	0.000*	-0.087
Sarrms44	7	269-282	0.365	0.619	0.000*	0.255
平均	8.800		0.599	0.623	0.290	

* : Bonferroni 法 (危険率: 5%) による補正後で有意差あり

表 9-10. 各遺伝子座におけるアリル頻度

遺伝子座	遺伝子型 (bp)	アリル頻度	遺伝子座	遺伝子型 (bp)	アリル頻度	遺伝子座	遺伝子型 (bp)	アリル頻度	
Sarrms33	244	0.012	Sarrms36	271	0.0505	Sarrms41	230	0.0789	
	252	0.048		273	0.3485		236	0.0053	
	253	0.018		277	0.0101		238	0.0158	
	254	0.066		278	0.0354		242	0.0053	
	256	0.006		280	0.5455		244	0.0947	
	258	0.006		282	0.0101		246	0.0053	
	260	0.036		Sarrms37	176		0.0146	249	0.0211
	262	0.006			178		0.1359	251	0.1579
	266	0.208			180		0.801	253	0.5474
	268	0.310			181		0.0097	255	0.0421
	270	0.238			182		0.034	257	0.0053
	272	0.042			188		0.0049	259	0.0053
	276	0.006			Sarrms38		216	0.0194	261
Sarrms34	168	0.005	219	0.0146		263	0.0053		
	176	0.005	220	0.0097		265	0.0053		
	178	0.205	221	0.4903		Sarrms44	269	0.3824	
	179	0.005	223	0.432			271	0.0118	
	189	0.005	225	0.0049			273	0.0706	
	191	0.010	229	0.0194			275	0.0235	
	192	0.015	235	0.0097			276	0.0059	
	197	0.150	Sarrms40	208			0.0102	280	0.4824
	198	0.005		227			0.0051	282	0.0235
	199	0.220		228		0.0102	Sarrms45	178	0.1699
	201	0.370		229		0.5		192	0.5
	203	0.005		231		0.0459		198	0.0146
	Sarrms35	123		0.365	233	0.1276		200	0.0631
132		0.005		235	0.2857	202		0.2233	
134		0.534	236	0.0102	204	0.0291			
147		0.005	237	0.0051					
149		0.087							
153		0.005							

表 9-11. STRUCTURE による遺伝的分集団の推定結果

K	平均対数尤度	標準偏差(±)	ΔK
1	-2528.99	0.47	—
2	-2290.54	0.59	440.77
3	-2312.61	13.74	4.38
4	-2274.49	11.64	12.99
5	-2387.66	78.21	—

K = 2 のときに最大値をとっているため、遺伝的分集団は 2 つと推定された。

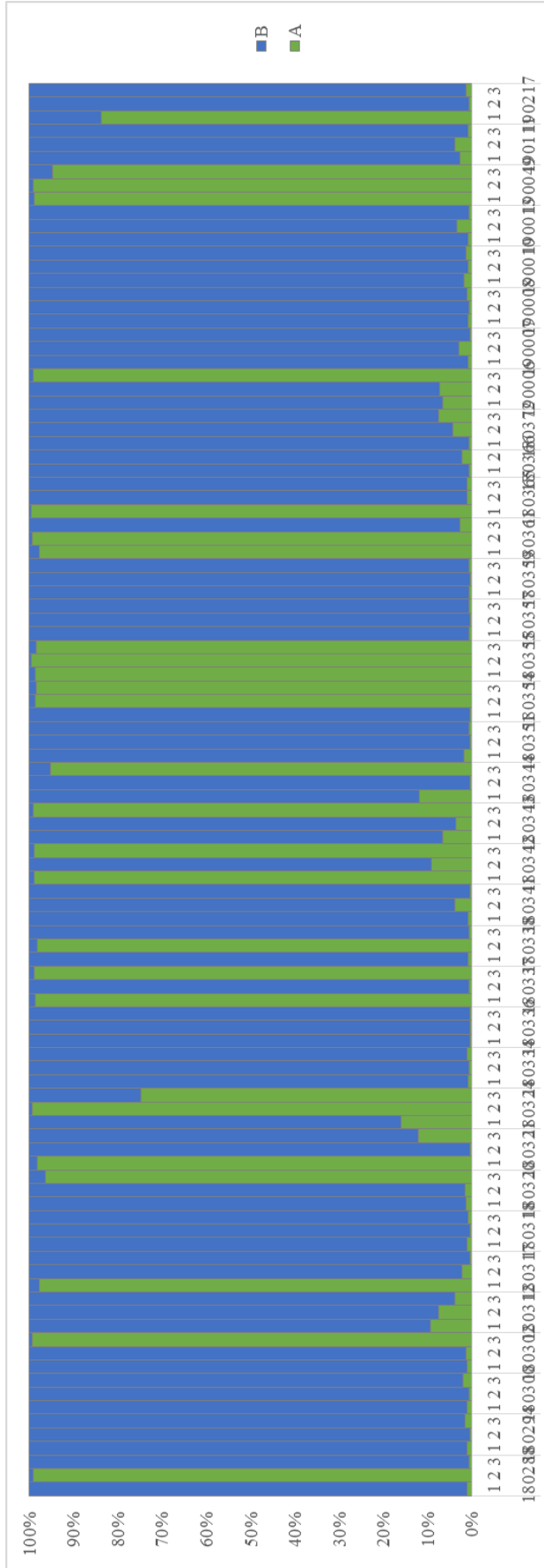


図 9-8. STRUCTURE による神奈川県ヒゼンダニの遺伝構造解析結果 (K = 2)

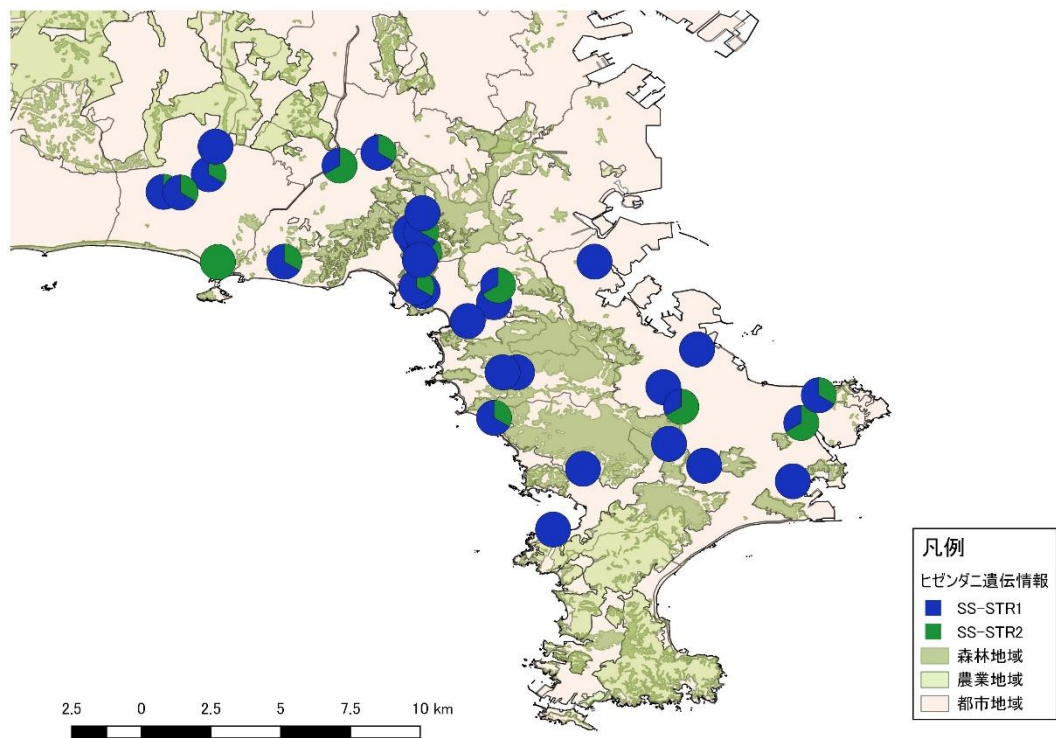


図 9-9. 神奈川県の大ノキに寄生するヒゼンダニにおける遺伝的分集団の分布状況
 緑が分集団 A、青が分集団 B を示している。STR 領域を用いた遺伝構造解析結果においても、同一宿主内で異なる遺伝的分集団に属するヒゼンダニが混在して寄生していた。

表 9-12. 神奈川県の大ノキのヒゼンダニの固定指数 F_{ST} 及び N_m

$F_{ST} \setminus N_m$	分集団 A	分集団 B
分集団 A		73.87
分集団 B	0.0034	

第 10 章

タヌキの主要組織適合遺伝子複合体遺伝子の多様性

10-1. 序論

疥癬は、ヒゼンダニの刺咬による機械的刺激及び唾液中に含まれる搔痒性物質が寄与因子となり、アレルギー性過敏症反応が起こり、非常に強い痒みを伴う (Pence and Ueckermann 2002 ; 今井 2006)。このアレルギー性過敏症反応により、角質層は著しく錯角化し、痂皮形成や脱毛といった症状が現れる (Pence and Ueckermann 2002 ; 今井 2006)。重症化する疥癬の場合、ヒゼンダニに特異な IgE 及び IgG の抗体産生が有意に高くなるといった免疫反応が起こる (Arlan *et al.* 1996 ; Arlian and Morgan 2000 ; Bhat *et al.* 2017)。しかし、タヌキに寄生していたヒゼンダニは、抗体を体内に取り込んでいるにもかかわらず障害を受けていなかったことから、ヒゼンダニに対して産生された抗体は感染防御の役割を果たしていない可能性が示唆されている (Shibata 2004)。さらに、炎症反応が起こるまでに感染から 4-6 週間を要するが、ヒゼンダニが様々な免疫反応を遅延化させる特性があるのではないかと予想されており (Morgan *et al.* 2013 ; Bhat *et al.* 2017)、タヌキの疥癬の重症化には免疫系が大きく携わっていると言える。

免疫や疾患の抑制に関わる遺伝子領域は様々なものが存在するが、その一つに主要組織適合遺伝子複合体 (Major Histocompatibility Complex, 以下、MHC) 遺伝子が存在する。MHC 遺伝子は常染色体上に存在し、MHC 遺伝子の産物である MHC 分子は、細胞内で抗原ペプチドと結合し、これを T 細胞に提示する膜タンパクであり、免疫系における中心的な役割を果たす (McDevitt 2000)。このような抗原提示を行うタンパク質であり、様々な病原体へ対応する必要があるため、MHC 遺伝子は核 DNA の中でも高い多様性を示す領域である (Aguilar *et al.* 2004)。一方で、MHC 遺伝子の多様性の低下が報告されている動物種も存在する。例えば、我が国に生息する希少種であるツシマヤマネコ (*Prionailurus bengalensis euptilurus*) とイリオモテヤマネコ (*P. bengalensis iriomotensis*) は、MHC class II 領域及び同

領域とリンクした STR 領域の解析により、同領域の多様性の低下が報告されている。また、オーストラリアのタスマニア島に生息するタスマニアデビル (*Sarcophilus harrisii*) では MHC class I, II 領域における多様性の低下が報告されており (Siddle *et al.* 2010; Cheng *et al.* 2012)、ある特定の MHC 遺伝子を持つか否かによりデビル顔面腫瘍性疾患 (Devil Facial Tumour Disease, DFTD) の感受性が異なることが示唆されている (Siddle *et al.* 2010)。さらに、イヌにおけるニキビダニの一種である *Demodex canis* の寄生によるニキビダニ症の発症には、MHC class II 領域の特定の遺伝子が関連している可能性が示唆されている (It *et al.* 2010)。このように、MHC 遺伝子の多様性や個体が保有する遺伝子のパターンは、野生動物の疾患に大きく影響すると言える。つまり、タヌキの疥癬においても、MHC 遺伝子の多様性の低下などの影響を受け、タヌキ個体群内において流行が引き起こされている可能性もある。

そこで本章では、タヌキの MHC 遺伝子が疥癬の罹患に与える影響について評価することを目的に、MHC class II 領域とリンクした STR 領域の解析を試みた。

10-2. 材料及び方法

供試動物と DNA 抽出

第 4, 8 章で対象とした群馬県のタヌキ 75 頭及び第 9 章で対象とした神奈川県タヌキ 54 頭を対象とした。群馬県の個体は、疥癬罹患有無にかかわらず全ての個体を対象とした。神奈川県のタヌキは全て疥癬罹患のため救護された個体である。

群馬県の個体は第 4, 8 章、神奈川県の個体は第 9 章と同様な手法で DNA を抽出した。

遺伝子解析

It *et al.* (2010) がイヌの MHC class II 領域の STR 領域のために開発したプライマーをもとに、タヌキの MHC class II 領域の STR 領域 3 座位 (FH2054, FH2202, FH2975) の増幅を試みた。FH2054 については It *et al.* (2010) が開発したプライマー (表 10-1) を使用した。FH2054 の反応液の組成は、抽出した DNA サンプル 1.0 μ l (1ng/ μ l)、FH2054F/R プライマ

ー (10 μ M) 各 1.0 μ l、Go TaqG2 Hot Start Master Mixes (Promega, Madison, Wisconsin, U. S.) 10 μ l に滅菌水を加え総量を 20 μ l とした。PCR 増幅は、T100TM Thermal Cycler (BIO RAD, Hercules, California, U. S.) により、初期熱変性：95 $^{\circ}$ C 5 分、熱変性：94 $^{\circ}$ C 30 秒、アニーリング：61 $^{\circ}$ C 60 秒、伸長反応：72 $^{\circ}$ C 60 秒を 35 サイクル、最終伸長反応：72 $^{\circ}$ C 10 分の反応条件で行った。FH2202, FH2975 においては、It *et al.* (2010) が開発したプライマーのみを用いると非特異領域も増幅されてしまったため、ダイレクトシーケンスを行った後に、新たにプライマーの開発し (表 10-1)、それらプライマーを用いて nested-PCR を行った。1st PCR の反応液の組成は、DNA サンプル 1.0 μ l (1ng/ μ l)、FH2202F/R あるいは FH2975F/R プライマー (10 μ M) 各 1.0 μ l、Go TaqG2 Hot Start Master Mixes (Promega, Madison, Wisconsin, U. S.) 10 μ l に滅菌水を加え総量を 20 μ l とした。PCR 増幅は、T100TM Thermal Cycler (BIO RAD, Hercules, California, U. S.) により、初期熱変性：95 $^{\circ}$ C 5 分、熱変性：94 $^{\circ}$ C 30 秒、アニーリング：57 $^{\circ}$ C 30 秒、伸長反応：72 $^{\circ}$ C 60 秒を 25 サイクル、最終伸長反応：72 $^{\circ}$ C 10 分の反応条件で行った。2nd PCR は、滅菌水により 100 倍希釈した 1st PCR 産物 1.0 μ l、Rd-FH2202F/FH2202R あるいは Rd-FH2975F/FH2975R プライマー (10 μ M) 各 1.0 μ l、Go TaqG2 Hot Start Master Mixes (Promega, Madison, Wisconsin, U. S.) 10 μ l に滅菌水を加え総量を 20 μ l とした。PCR 増幅は、T100TM Thermal Cycler (BIO RAD, Hercules, California, U. S.) により、初期熱変性：95 $^{\circ}$ C 5 分、熱変性：94 $^{\circ}$ C 30 秒、アニーリング：61 $^{\circ}$ C 30 秒、伸長反応：72 $^{\circ}$ C 60 秒を 30 サイクル、最終伸長反応：72 $^{\circ}$ C 10 分の反応条件で行った。

PCR 産物は検体ごとにプールし、3130xl Genetic Analyzer、3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, California, U. S.) によりフラグメント解析を行った。サイズスタンダードは GeneScan 500 LIZ Size Standard (Applied Biosystems, Foster City, California, U. S.) を使用した。なお、フラグメント解析は株式会社ファスマックの DNA シーケンス解析サービスに委託した。フラグメント解析データは、Peak Scanner Software v1.0 (Applied Biosystems, Foster City, California, U. S.) により各遺伝子座の波形を読み取り、遺伝子型を判定した。

得られた遺伝子型をもとに、群馬県と神奈川県地域ごとにアレル数、ヘテロ接合度観察値及び期待値、Null-allele 確率を Cervus ver. 3.0.7 (Marshall *et al.* 1998) を用いて算出した。ヘテロ接合度観察値及び期待値の比較は、統計ソフト R 3.1.2 を用いて t 検定により比較した。HWE からの逸脱に関する検定は、ML-Relate (Kalinowski *et al.* 2006) を用いて算出した。また、群馬県の個体においては、疥癬罹患個体と健常個体のアレル頻度を Statistical package Stata ver. 14 により Fisher の正確確率検定を用いて比較した。神奈川県個体においては、アレル頻度に偏りが認められるか χ^2 検定を用いて比較した。有意差が認められた場合、二項検定を用いて期待値と比較を行った。

11-3. 結果

群馬県のタヌキ（健常個体・疥癬罹患個体・疥癬疑い個体）

MHC class II 領域にリンクする STR 領域 3 座位のうち、1-3 座位（平均 2.79 座位）の遺伝子型を判定した。アレル数、ヘテロ接合度観察値、ヘテロ接合度期待値、HWE からの逸脱に関する検定結果、Null-allele 確率は表 10-2 にまとめた。タヌキ 75 頭におけるヘテロ接合度の観察値の平均は 0.70、期待値の平均は 0.82 であり、有意な差は認められなかった（t 検定： $P > 0.05$ ）（表 10-2）。健常個体 52 頭におけるヘテロ接合度の観察値の平均は 0.70、期待値の平均は 0.81 であり、有意な差は認められなかった（t 検定： $P > 0.05$ ）（表 10-3）。また、疥癬罹患個体 18 頭におけるヘテロ接合度の観察値の平均は 0.68、期待値の平均は 0.83 であり、こちらも有意な差は認められなかった（t 検定： $P > 0.05$ ）（表 10-4）。

遺伝子型の構成については、いずれの遺伝子座位においても、健常個体と疥癬罹患個体で構成に差は認められなかった（Fisher の正確確率検定, FH2054 : $P = 0.244$, FH2202 : $P = 0.304$, FH2975 : $P = 0.273$ ）（表 10-5, 6, 7）。

神奈川県のみ (疥癬罹患個体のみ)

神奈川県で疥癬により救護された個体において、MHC class II 領域にリンクする STR 領域 3 座位のうち、1-3 座位 (平均 2.83 座位) の遺伝子型を判定した。アレル数、ヘテロ接合度観察値、ヘテロ接合度期待値、HWE からの逸脱に関する検定結果は表 10-8 にまとめた。タヌキ 54 頭におけるヘテロ接合度の観察値の平均は 0.74、期待値の平均は 0.80 であり、有意な差は認められなかった (t 検定: $P > 0.05$) (表 10-8)。アレル頻度は 3 座位全てにおいて有意な差が認められた (FH2054: $\chi^2 = 39.68$, $df = 6$, $P < 0.05$, FH2202: $\chi^2 = 67.44$, $df = 6$, $P < 0.05$, FH2975: $\chi^2 = 101.01$, $df = 8$, $P < 0.05$ 、表 10-9)。FH2202 においては、7 つのアレルのうち 220 と 224 が期待値よりも有意に高い値を示し (二項検定: $P < 0.05$)、FH2975 においては 9 つのアレルのうち 167 と 171 が期待値よりも有意に高い値となった (二項検定: $P < 0.05$)。

11-4. 考察

本章で用いたイヌの MHC class II 領域にリンクする STR マーカーを用いた。イヌの MHC 遺伝子は DLA (Dog Leukocyte Antigen system) 遺伝子とも呼ばれ、第 12 染色体及び第 18 染色体に位置し、第 12 染色体に DLA class II 領域である DLA-DRA, DLA-DRB1, DLA-DQA1, DLA-DQB1 の 4 座位が存在している (Debenham *et al.* 2005 ; Lindblad-Toh *et al.* 2005)。使用した STR マーカーのうち、FH2202 と FH2975 は DLA-DQB1 の近くに存在し、FH2054 はそれよりも少し遠くに存在する領域である (Neff *et al.* 1999 ; It *et al.* 2010)。タヌキにおける遺伝学的研究はまだ少なく、MHC 遺伝子に関する研究は行われていないが、ダイレクトシーケンスでは数塩基の繰り返しを確認されており、STR 領域のプライマーは近縁種での汎用性も高いことから (井鷲・陶山 2013)、イヌで開発されたプライマーを応用し (It *et al.* 2010)、タヌキの MHC class II 領域にリンクした STR 領域を解析できたと考えた。

群馬県に生息するタヌキも、神奈川県におけるタヌキにおいても、ヘテロ接合度の観察値と期待値には有意な差は認められなかった。集団内で近親交配が行われている集団ではホ

モ接合の割合が高まることから、ヘテロ接合度の観察値は期待値よりも低値を示すとされており、遺伝的多様性を評価する指標の一つとされる（井鷲・陶山 2013）。今回の結果では、観察値は期待値よりも有意な低値を示さなかったことから、MHC 遺伝子の多様性が低下しているわけではないと考えられた。疥癬の症状である脱毛や痂皮形成はアレルギー性過敏症反応の結果であり、免疫反応が起きたことにより認められる症状である（今井 2006）。そのため、タスマニアデビルでは、MHC 遺伝子の多様性低下が DFTD 発生との関連が疑われているが（Siddle *et al.* 2010 ; Cheng *et al.* 2012）、タヌキの疥癬はアレルギー性過敏症反応であることから、このような事例とは異なり、疥癬という疾患が蔓延している個体群であっても MHC 遺伝子の多様性低下は認められなかったと考えられた。

人においては、*Aspergillus* 属真菌によるアレルギー反応でおこるアレルギー性気管支肺アスペルギウス症（Allergic bronchopulmonary aspergillosis, 以下、ABPA）という疾患が存在する（Chauhan *et al.* 2000）。人における MHC 遺伝子である HLA（Human Leukocyte Antigen）class II 遺伝子のうち、HLA-DR 及び HLA-DQ の対立遺伝子が ABPA 患者と健常者と異なるとされており、対立遺伝子の違いにより ABPA の感受性が影響を受けると報告されている（Chauhan *et al.* 2000）。また、イヌにおけるニキビダニの一種である *D. canis* の寄生によるニキビダニ症は、疥癬と同様にダニ虫体の寄生による感染症である。幼犬におけるニキビダニ症において、罹患個体と健常個体では MHC class II 遺伝子にリンクした STR 領域の遺伝子型の構成が異なっており、罹患個体が多く持つ遺伝子型が認められたことから、ニキビダニ症と MHC class II 遺伝子型に関連が疑われており、MHC class II 遺伝子の遺伝子型が免疫反応の重要因子となっている可能性があることが報告されている（It *et al.* 2010）。そのため、タヌキの疥癬においても、MHC 遺伝子の遺伝子型の相違が影響している可能性が予想された。しかし、群馬県のタヌキにおいて健常個体と疥癬罹患個体のアليل頻度を比較したが、有意な差は認められず、疥癬罹患の有無により MHC 遺伝子の遺伝子型に相違はないことが予想された。一方で、神奈川県サンプルにおいては、健常個体のサンプルがなく、罹患有無による比較ができていないものの、疥癬罹患個体のアليل頻度は特定のいくつかの遺伝

子型に偏っていると示唆された。そのため、MHC 遺伝子において特定の遺伝子型を持つことにより、過剰な免疫反応が引き起こされ、疥癬が重症化しやすくなっていることが予想された。しかし、健常個体との比較ができていないため、疥癬罹患有無に関係なく神奈川県三浦半島に生息するタヌキの遺伝的集団構成がいずれかの遺伝子型に偏っている可能性も考えられる。そのため、MHC 遺伝子の構成と疥癬の重症化の関係性を検証するためには、今後よりサンプルサイズを大きくし、健常個体と疥癬罹患個体でアレル頻度を比較する必要がある。また、MHC 遺伝子にリンクした STR 領域の解析対象とする遺伝子座位を増やし、より精度を上げた解析を行う必要がある。さらに、MHC 遺伝子のシーケンス解析 (Cheng *et al.* 2012 ; Amaike *et al.* 2018) といった、より詳細な調査を進めることで、疥癬と MHC 遺伝子の関連を把握する必要があるだろう。

表 10-1. MHC 遺伝子の STR 領域プライマー配列及び蛍光色素

STR	nested	塩基配列 (5'→3')	蛍光色素
FH2054		F: GCCTTATTCATTGCAGTTAGGG	6-FAM
		R: ATGCTGAGTTTTGAACTTTCCC	
FH2202	1st	F: GTTGAGTGGTTGCCTTTAGC	6-FAM
		R: CAGGATCTTCATATGTCACC	
	2nd	F: TGGGATTGAGTCTCACATCG	
		R: 1st PCR と同じ	
FH2975	1st	F: TGAACCAATTGAGGAACACA	VIC
		R: TGGGGTCTTGAGTTTGAGTC	
	2nd	F: TTGAACCAATTGAGGAACAC	
		R: TTTGGGGTCTTGAGTTTGAG	

表 10-2. 群馬県のタヌキ 75 頭における遺伝子解析結果

遺伝子座	アレル数	アレル 範囲	ヘテロ接合度		Hardy- Weinberg 平衡 検定	Null- allele 確率
			観察値	期待値		
FH2054	8	137-167	0.789	0.802	0.3876	0.004
FH2202	9	212-248	0.672	0.869	0.0000	0.123
FH2975	9	157-189	0.634	0.792	0.0103	0.107

ヘテロ接合度の観察値と期待値に有意差は認められなかった (t 検定: $P > 0.05$)。

表 10-3. 群馬県の健常なタヌキにおける遺伝子解析結果

遺伝子座	アレル数	ヘテロ接合度	
		観察値	期待値
FH2054	7	0.833	0.784
FH2202	9	0.667	0.866
FH2975	8	0.604	0.780

ヘテロ接合度の観察値と期待値に有意差は認められなかった (t 検定: $P > 0.05$)

表 10-4. 群馬県の疥癬に罹患したタヌキにおける遺伝子解析結果

遺伝子座	アレル数	ヘテロ接合度	
		観察値	期待値
FH2054	8	0.667	0.824
FH2202	8	0.706	0.873
FH2975	6	0.667	0.803

ヘテロ接合度の観察値と期待値に有意差は認められなかった (t 検定: $P > 0.05$)

表 10-5. 群馬県のタヌキの FH2054 遺伝子座のアリル頻度

遺伝子型	アリル頻度		
	疥癬	健常	全体 (疑い含む)
137	0.19	0.10	0.13
142	0.03	0.00	0.01
146	0.14	0.25	0.22
151	0.14	0.18	0.18
155	0.33	0.33	0.31
159	0.08	0.06	0.08
163	0.03	0.06	0.05
167	0.06	0.01	0.02

健常個体と疥癬罹患個体でアリル頻度に差は認められなかった。

(Fisher の正確確率検定 : $P = 0.244$)

表 10-6. 群馬県のタヌキの FH2202 遺伝子座のアリル頻度

遺伝子型	アリル頻度		
	疥癬	健常	全体 (疑い含む)
212	0.12	0.11	0.10
216	0.09	0.09	0.08
220	0.15	0.09	0.10
224	0.18	0.04	0.10
228	0.09	0.18	0.16
232	0.24	0.19	0.19
236	0.12	0.20	0.18
240	0.00	0.02	0.01
248	0.03	0.08	0.07

健常個体と疥癬罹患個体でアリル頻度に差は認められなかった。

(Fisher の正確確率検定 : $P = 0.304$)

表 10-7. 群馬県のタヌキの FH2975 遺伝子座のアリル頻度

遺伝子型	アリル頻度		
	疥癬	健常	全体 (疑い含む)
212	0.00	0.00	0.01
216	0.00	0.04	0.03
220	0.00	0.01	0.01
224	0.28	0.25	0.25
228	0.19	0.35	0.32
232	0.14	0.13	0.12
236	0.28	0.13	0.15
240	0.08	0.08	0.09
248	0.03	0.01	0.01

健常個体と疥癬罹患個体でアリル頻度に差は認められなかった。

(Fisher の正確確率検定 : $P = 0.273$)

表 10-8. 神奈川県 of タヌキにおける遺伝子解析結果

遺伝子座	アリル数	アリル 範囲	ヘテロ接合度		Hardy- Weinberg 平衡検定	Null- allele 確率
			観察値	期待値		
FH2054	7	143-168	0.774	0.811	0.1235	0.015
FH2202	7	208-232	0.700	0.768	0.1106	0.043
FH2975	9	155-184	0.740	0.806	0.0358	0.034

ヘテロ接合度の観察値と期待値に有意差は認められなかった (t 検定 : $P > 0.05$) 。

表 10-9. 神奈川県の大ヌキにおける各遺伝子座位のアリル頻度

遺伝子座位	遺伝子型	アリル頻度
FH2054	143	0.236
	147	0.132
	151	0.264
	155	0.208
	159	0.076
	164	0.066
	168	0.019
FH2202	208	0.010
	212	0.090
	216	0.100
	220	0.360
	224	0.280
	228	0.070
	232	0.090
FH2975	155	0.020
	159	0.070
	163	0.090
	167	0.290
	171	0.290
	175	0.030
	179	0.070
	183	0.120
	184	0.020

アリル頻度は3座位全てにおいて有意な差が認められた。

(χ^2 検定 : FH2054 : $\chi^2 = 39.68$, $df = 6$, $P < 0.05$, FH2202 : $\chi^2 = 67.44$, $df = 6$, $P < 0.05$, FH2975 : $\chi^2 = 101.01$, $df = 8$, $P < 0.05$)

第 11 章

総括

疥癬は、100 種以上の哺乳類で発生が報告されており（Bornstein *et al.* 2001 ; Pence and Ueckermann 2002）、特に我が国においてはタヌキにおける疥癬の発生が多く報告されている（鈴木ら 1981 ; Shibata and Kawamichi 1999 ; Shibata 2004 ; Ninomiya and Ogata 2005 ; Kido *et al.* 2013 ; Saito and Sonoda 2017）。さらに、ヒゼンダニの遺伝子解析から、タヌキとイヌや、タヌキとニホンカモシカなど動物種を超えた交差感染が成立している可能性が示唆されている（Matsuyama *et al.* 2015 ; Matsuyama *et al.* 2019）。そのため、タヌキにおける疥癬の流行がタヌキ個体群だけではなく、同所的に生息する野生動物や愛玩動物、産業動物といった他種にまで影響が及ぶ可能性がある。

感染症の伝播様式を理解する上で、宿主動物の生態との関連は不可欠であり、宿主動物－ベクター－病原体の相互作用についての生態学的研究が重要視されており（Kilpatrick and Altizer 2010 ; 松山ら 2016 ; 坪田 2016）、野生動物における感染症においても、病原体にのみ着目するのではなく、野生動物の行動生態を合わせて総合的に検討するべきであるとされる。そこで、本研究では、タヌキの行動生態に着目し、タヌキの疥癬の流行要因ならびに伝播様式を明らかにすることを目的とした。

第 2 章では、第 3 章の予備調査として、本調査地におけるタヌキの疥癬の発生状況の把握、及び肉眼的所見から疥癬罹患が判断可能であるか検討することを目的に、本調査地で捕獲されたタヌキからヒゼンダニ類の検出を行った。

その結果、本調査地に生息していたタヌキ全 75 頭のうち、疥癬様個体は 23 頭であり、そのうち 18 頭からヒゼンダニが検出され、本調査地においてヒゼンダニによる疥癬が浸淫していたことが明らかとなった。また、疥癬様個体 23 頭中 18 頭（78.2%）が疥癬に罹患しており、本調査地に生息するタヌキが脱毛を引き起こす要因は、疥癬である可能性が高いこと

が判明した。よって、肉眼的所見から高い確率で疥癬罹患を判断できることが明らかとなった。

本調査地のタヌキの疥癬の発生状況として、雌雄や年齢による差は認められなかった。群れを形成する動物種の場合は、群れの構成が疥癬の罹患状況に影響すると考えられていることから (Shibata 2004 ; Oleaga *et al.* 2008) 、タヌキの群れの形成をしない生態が影響した可能性が示唆された。

第3章では、タヌキの疥癬の発生状況と個体群動態の長期的なモニタリング、及び疥癬の発生と生息密度の関連を検討することを目的に、群馬県高崎市にカメラを設置し、自動撮影調査から、疥癬の肉眼的所見である脱毛を指標に映像解析を行い、相対的な密度指標としての撮影頻度を算出した。また、カメラを用いて絶対個体数を推定する **Random Encounter Model** (以下、**REM**) から生息密度を算出した。

REM から推定された生息密度は、撮影頻度との間に正の相関を認めたことから、比較的妥当な値を示していると判断した。生息密度の上昇が疥癬の流行を引き起こした可能性が示唆され、生息密度が通常時の3倍以上となった場合に、疥癬の流行が引き起こされる可能性が高いと考えられた。また、一度疥癬が流行した個体群はヒゼンダニの感染が5年以上に渡って維持される可能性が高く、そのため収束にも長期間の時間を要する可能性が示唆された。タヌキ個体群内で疥癬は常に維持されており、これにより長期的にもタヌキの個体群へ影響を与えている可能性も考えられた。

第4章では、タヌキの疥癬の流行要因として提唱されてきた、親子や兄弟といった血縁関係のある個体同士の接触による影響を評価した。一方で、近年は生息地の分断化が個体同士の接触を高めているとの報告もある。そこで、タヌキの捕獲地点から生息地域による疥癬発生の影響評価も行った。

70 頭のタヌキにおいて血縁関係の推定を行ったところ、多くの疥癬罹患個体同士に血縁関係は認められなかった。さらに、疥癬の罹患には血縁関係にあたる個体の多さは影響がなく、むしろ健常個体のほうが血縁関係にあたる個体が多く認められた。よって、血縁関係のある個体間での疥癬の接触伝播の頻度はそれほど多くないか、そのような接触伝播は疥癬の流行に重要な要因ではない可能性が示唆された。

一方で、疥癬は生息地域によって発生状況が異なり、疥癬の流行は局所的に起こっていた。よって、近接して生息する個体同士での接触伝播が、局所的な疥癬の流行を引きおこす重要な要因となっている可能性が示唆された。

第 5 章では、通年繁殖ペアで行動するタヌキの行動生態から、繁殖ペアにおける疥癬の接触伝播の影響を評価することを目的に、自動撮影調査を行い、2 頭で撮影されている個体同士は繁殖ペアであると仮定し、単独撮影された場合と複数頭で撮影されている場合の疥癬の発生状況を比較した。

その結果、単独で撮影された場合であっても、複数頭で撮影された場合であっても疥癬に罹患している比率には差が認められず、疥癬様個体は単独で撮影されている場合が多かった。つまり、繁殖ペアによるヒゼンダニの感染経路は成立しているものの、その感染経路がタヌキの疥癬の流行の重要な要因ではない可能性が示唆された。

第 6 章では、交尾期が、繁殖ペアだけでなく、複数頭のオスと交尾を行い、より多くの個体と接触する機会になりうるのか検討することを目的に、妊娠したタヌキ 3 頭を対象に遺伝子解析を行った。母体と胎子の遺伝子型を比較し、同腹子に複数の父系が存在する **Multiple paternity** が成立している可能性があるか検討した。

妊娠個体 3 頭中 1 頭において、遺伝子解析を行った STR 領域 17 座位中、5 座位で父系由来の対立遺伝子が 3 つ以上想定される結果を得た。さらにもう 1 頭においても 17 座位中 1 座位のみであるが、父系由来の対立遺伝子が 3 つ想定された。父系が 1 頭であった場合、父

系の対立遺伝子は2つであり、これらの結果から父系が複数頭いたことが予想される。STR領域は突然変異がおこりやすい遺伝子領域であるものの (Guichoux *et al.* 2011)、今回のように17座位中1座位で突然変異が起こる確率は0.1%以下である。よって、日本に生息するタヌキにおいて Multiple paternity が成立する可能性が示唆された。これらの結果から、複数頭のオスと交尾を行っていた可能性があり、交尾期が複数のタヌキが接触する機会となることで、ヒゼンダニの伝播の重要な機会となっている可能性が示唆された。

第7章では、タヌキの遺伝的な個体群構造からタヌキの行動域や分散距離、定住性の程度といった行動生態を把握し、疥癬の流行との関連を検討することを目的に、タヌキの mtDNA 及び核 DNA の STR 領域の遺伝子解析を行い、群馬県高崎市におけるタヌキの個体群構造を検討した。

mtDNA 解析では、ハプロタイプは6つ検出され、その構成に雌雄差は認められなかった。雌雄による分散距離に相違がないことが影響したと考えられる。

STR 領域による遺伝構造解析では、タヌキは3つの遺伝的分集団から構成され、比較的にまとまって分布していた。一世代あたりに移入する有効個体数も1-2頭程度であると推定され、各分集団は分散距離内に分布しているにもかかわらず、各分集団における遺伝的交流はあまり多くはないことが推察された。よって、本調査地におけるタヌキは定住性が高い生態となっており、このような生態が遺伝的多様性の低下を招いているとともに、局所的な疥癬の流行を引き起こす要因となっている可能性が示唆された。

第8章では、ヒゼンダニの遺伝的な個体群構造から、疥癬の伝播様式を検討することを目的に、群馬県高崎市のタヌキとアカギツネから採取されたヒゼンダニを用いて、mtDNA 及び核 DNA の STR 領域の遺伝子解析を行った。

mtDNA 解析では、タヌキ由来のヒゼンダニもアカギツネ由来のヒゼンダニも同一なハプロタイプしか検出されず、母系は同一である可能性が高いことが示唆された。

STR 領域による遺伝構造解析の結果からは、本調査地におけるヒゼンダニは 2 つの分集団から構成されると推定された。さらに 2 つの分集団は同一宿主内においても混在していた。さらに、タヌキ及びアカギツネ由来のヒゼンダニの遺伝的分集団も混在していた。mtDNA の結果も合わせると、タヌキとアカギツネの間でヒゼンダニの交差感染が成立していることが示唆された。よって、様々な野生動物種が関わることで、タヌキの疥癬の伝播様式は複雑化している可能性が高いことが示唆された。

第 9 章では、群馬県高崎市での研究から考察された疥癬の流行要因が、異なる地域でも該当する普遍的な結果であるのか検証すること、及び都市周辺地域におけるタヌキの疥癬の伝播様式を解明することを目的に、神奈川県三浦半島において疥癬罹患により救護されたタヌキと寄生していたヒゼンダニを対象に、遺伝子解析を行った。

タヌキの mtDNA 解析では、ハプロタイプは 9 つ検出された。神奈川県三浦半島におけるタヌキの母系は、関東地方を中心に分布する様々な母系のタヌキが生息する地域であると推測された。疥癬に罹患したタヌキの血縁関係の推定では、7 割の個体がいずれの個体とも血縁関係を持たないという結果を得た。よって、群馬県高崎市での解析と同様な結果が得られたことから、タヌキの疥癬の流行には、血縁関係のない個体同士での接触伝播が重要な要因となっている可能性が考えられた。遺伝構造解析の結果から、本調査地のタヌキは 3 つの分集団から構成されることが明らかとなった。これらの分集団の遺伝的分化の程度はそれほど大きくなく、いずれの分集団も三浦半島全域に混在して分布している傾向が認められた。救護活動がタヌキの行動生態に影響した結果、救護活動を行っていない状況から遺伝的構造が変化した可能性が示唆された。

ヒゼンダニの mtDNA 解析では、3 つのハプロタイプが検出され、そのうち 1 つのハプロタイプは和歌山県のニホンカモシカ、ニホンテン由来のヒゼンダニと 100% の相同性を示した (Makouloutou *et al.* 2015)。STR 領域による遺伝構造解析の結果、神奈川県のタヌキに寄生するヒゼンダニは 2 つの分集団から構成されていた。この 2 つの分集団間は、一世代あ

たりに移入した有効個体数 N_m が 73.87 匹であり、遺伝的交流が盛んに行われている関係であることが示唆された。mtDNA 解析では、異なるハプロタイプのヒゼンダニが同一宿主内で混在して寄生しており、STR 領域による遺伝的構造解析においても、同一宿主内で 2 つの分集団が混在していた。これにより、神奈川県に生息するタヌキの多くは複数回に渡りヒゼンダニに感染している可能性が高く、感染機会が多いことが予想された。これには、都市化による高密度化が個体間の接触機会を増加させている可能性や、タヌキ以外の野生動物や愛玩動物といった複数の宿主動物で疥癬の流行が維持され続けていることにより、タヌキにおいてヒゼンダニの感染機会も高まった可能性が考えられた。

第 10 章では、タヌキの疥癬の流行要因として、免疫系の関与の可能性を検討することを目的に、MHC 遺伝子にリンクする STR 領域の遺伝子型を判定し、遺伝的多様性の評価を行った。

群馬県に生息するタヌキも、神奈川県におけるタヌキにおいても、ヘテロ接合度の観察値と期待値には有意な差は認められず、MHC 遺伝子の多様性が低下しているわけではないと考えられた。これは、疥癬の症状はアレルギー性過敏症反応の結果であり、免疫反応が起きたことにより認められる症状であることが影響したと考えられる。

MHC 遺伝子の遺伝子型の構成は、群馬県のサンプルでは健常個体と疥癬罹患個体でアレル頻度に差は認められなかった。一方、健常個体との比較ができていないが、神奈川県のサンプルでは、疥癬罹患個体のアレル頻度は特定の遺伝子型に偏っていた。そのため、MHC 遺伝子において特定の遺伝子型を持つことにより、過剰な免疫反応が引き起こされ、疥癬が重症化しやすくなっていることが推測された。

今回の自動撮影調査の結果から、タヌキの生息密度が上昇した際に疥癬が流行したことが示唆された。一般に接触頻度とそれに伴う感染症の伝播には、生息密度が関係しているとされている (McCallum *et al.* 2001)。タヌキの疥癬の流行も、生息密度の上昇に伴い、個体

間の接触頻度が増加し、それよりヒゼンダニの接触伝播の機会も増加したことが示唆された。個体同士が接触する機会の一つとして、交尾期があげられる。交尾期はオスとメスが繁殖のために接触するため、その際に感染症伝播のリスクも伴う (Ramsey *et al.* 2002)。加えて、様々な哺乳類で Multiple paternity が報告されており (Roemer *et al.* 2001 ; Baker *et al.* 2004 ; Nielsen and Nielsen 2007 ; Glenn *et al.* 2009 ; Yamamoto *et al.* 2013)、野生動物において交尾期は複数個体と接触が可能な機会となっていると言える。特に、Multiple paternity は生息密度が上昇した状況下で起こりやすいと考えられている (Roemer *et al.* 2001 ; Baker *et al.* 2004)。本研究結果から、これまで飼育下 (Ślaska and Jezewska 2008) しか報告がなかったタヌキの Multiple paternity が、野生のタヌキにおいても成立する可能性が見出された。タヌキは一夫一妻制であるとされてきたが (Kauhala *et al.* 1993)、交尾期には複数頭と交尾をする、つまり複数頭と接触している可能性が示唆された。高密度化という条件が整った状況で交尾期を迎えた場合、複数頭と接触することで、ヒゼンダニの接触伝播が頻発し、疥癬の蔓延が助長される可能性が示唆された。

疥癬に罹患する個体の関係性として、群馬県高崎市においても神奈川県三浦半島においても血縁関係はない場合が多いことが明らかとなった。さらに、疥癬の罹患には血縁関係にあたる個体の多さは影響がなく、むしろ健常個体のほうが血縁関係にあたる個体が多く認められた。さらに、繁殖ペア同士での感染経路も成立はしているものの、その感染経路がタヌキの疥癬の流行の重要な要因とはならないことが示唆された。タヌキは親子で同じねぐらやため糞場を共有して使用する生態をもつことから (谷地森ら 1997 ; 田中 2009)、従来、親子間での直接的な接触伝播の多さが疥癬蔓延の要因と考えられてきた (鈴木ら 1981 ; Shibata 2004)。しかし、本研究結果から、血縁や繁殖ペアといった個体間の関係性の薄い個体同士での接触伝播がタヌキの疥癬蔓延に大きな影響を与えている可能性が示唆された。

群馬県高崎市に生息するタヌキの行動生態の特徴としては、比較的大きく分化している遺伝的分集団が一部混在する地域もあるものの、それぞれの分集団ごとに約 10-30km² の範囲内にまとまって分布していたことから、タヌキの定住性が高いことが予想された。さらに、

疥癬は地域ごとに局所的に発生していたことから、タヌキの定住性の高さにより、遺伝的分集団単位で疥癬の発生が起きる可能性が高いことが予想された。ヒゼンダニの遺伝子解析により、シャモアとアカギツネに派生した疥癬は地域ごとにヒゼンダニの遺伝的集団が異なっていたことが報告されている (Berrilli *et al.* 2002)。そのため、群馬県高崎市におけるタヌキの疥癬においても個体間の血縁といった関係性よりも、生息域が近接している個体同士での接触が重要であり、このような接触がタヌキの疥癬の局所的な流行を引き起こしている可能性が示唆された。

また、感染力における遺伝的差異と宿主の遺伝的構造における差異は、感染症の罹患に影響を及ぼし、それにより個体群の存続に大きな影響がでるとされる (Anacleto *et al.* 2019)。タヌキの疥癬においても、MHC 遺伝子にリンクする STR 領域のアリル頻度は特定の遺伝子型に偏っていた。そのため、宿主の遺伝的構造の差異により、疥癬が重症化しやすくなっている可能性が推測された。また、平均的な感受性を持つ個体群と比較し、感受性の高い個体を含む個体群の方が感染症の感染リスク及び重症化するリスクは高いとされている (Doeschl-Wilson *et al.* 2011)。STR 領域 17 座位におけるヘテロ接合度の観察値の低下から、群馬県高崎市においても神奈川県においてもタヌキの STR 領域の遺伝的多様性は低下している可能性が示唆されている。さらに、群馬県高崎市の個体においては、遺伝的分集団ごとにまとまって分布する傾向が見られている。遺伝的多様性の低下により、疥癬に重症化しやすい遺伝的構造を持つタヌキが分集団内で増加してしまい、遺伝的分集団単位で疥癬の局所的な発生が引き起こされている可能性も示唆された。

病原体の遺伝的構造には、宿主動物の移動能力といった生態が関係する (Davies *et al.* 1999 ; Levin and Parker 2013)。群馬県高崎市に生息するタヌキは定住性が高く、遺伝的分集団単位で局所的に疥癬の発生が起こっていると示唆された。そのため、ヒゼンダニの遺伝的分集団もタヌキの分集団とリンクすると予想されたが、ヒゼンダニは 2 集団からなり、かつ 2 集団が調査地内で広く混在して分布していた。さらに、アカギツネに寄生していたヒゼン

ダニはタヌキに由来するヒゼンダニと遺伝的集団が一致していた。ヒゼンダニの遺伝子解析により、タヌキやイヌ、ニホンカモシカ、アライグマといった動物種間でヒゼンダニの遺伝的構造が近縁であることが判明しており、交差感染の可能性が示唆されている (Matsuyama *et al.* 2015 ; Matsuyama *et al.* 2019) 。本研究からも、タヌキとアカギツネ間でのヒゼンダニの交差感染の成立を支持する結果を得た。さらに、群馬県高崎市で実施した自動撮影調査から、ニホンカモシカやアライグマといったタヌキとヒゼンダニの交差感染が成立するとされる動物種 (Matsuyama *et al.* 2019) の生息が確認されている。そのため、群馬県においても、タヌキやアカギツネだけではなく、ニホンカモシカやアライグマといった様々な野生動物種によって、ヒゼンダニの交差感染が成立している可能性が示唆された。アライグマの行動域は 0.85-10km² 程度とされており (Gehrt and Frtzell 1997 ; Suzuki *et al.* 2003) 、タヌキよりも移動能力が高いといえる。タヌキの定住性の高さの影響を受けて疥癬の発生は局所に留まっているが、他の野生動物種の移動能力の高さにより、ヒゼンダニも広域に蔓延していくのではないかと考えられた。

神奈川県三浦半島におけるタヌキの遺伝的構造は、遺伝的分化がそれほど大きくない3つの分集団が混在して分布していた。ヒゼンダニにおいては、遺伝的分化が小さい2つの分集団から構成されていた。異なる母系からなるヒゼンダニは同一宿主内で混在して寄生しており、STR 領域による遺伝的構造解析においても、同一宿主内で2つの分集団が混在していたことから、神奈川県に生息するタヌキの多くは複数回にわたりヒゼンダニに感染している可能性が高いことが示唆された。神奈川県は群馬県よりも都市地域が占める面積が多く、都市地域の場合タヌキの行動域は狭くなる傾向にあるため (Mitsuhashi *et al.* 2018) 、群馬県よりもよりさらに遺伝的分化の大きい遺伝的構造を示すことが考えられたが、神奈川県三浦半島のタヌキの遺伝的分化はそれほど大きくなく、分集団は広域で混在していた。神奈川県では、野生動物の救護活動を行っており、救護された個体の約3割程度が野生復帰している (加藤 2012) 。野生復帰した個体は、安定した環境に落ち着くまでに3ヶ月も要するとされており (加藤 2012) 、生息環境を求めて積極的な移動を行っていることが推測さ

れる。そのため、救護活動の影響を受け、タヌキの行動生態が変化し、遺伝的構造にも変化が生まれた可能性が示唆された。

一方で、タヌキの遺伝的構造は群馬県高崎市と神奈川県三浦半島で異なる分布を示していたが、ヒゼンダニにおいてはどちらの地域においても異なる遺伝的集団が混在して分布し、同一宿主内においても混在して寄生していた。つまり、タヌキに寄生していたヒゼンダニの遺伝的構造は、宿主であるタヌキ以外の様々な影響を受けて個体群を維持していると言える。タヌキの疥癬は様々な野生動物との交差感染の成立が示唆されている (Makouloutou *et al.* 2015 ; Matsuyama *et al.* 2019) 。さらに、タヌキ-家庭犬間での交差感染も成立するとされており (Matsuyama *et al.* 2015) 、家庭犬の飼育頭数の多い都市地域では、野生動物よりも家庭犬によるヒゼンダニの接触伝播のリスクが高まると考えられる。つまり、タヌキの生息環境は関係なく、ヒゼンダニの伝播には様々な宿主動物が関わっている可能性が高く、タヌキの疥癬が他の宿主動物へと伝播するだけでなく、他の宿主動物からタヌキへとヒゼンダニが伝播するといった相互的な関係が構築されていると考えられた。

群馬県では、1995-1997年に高崎市より南西に位置する富岡・甘楽地方でタヌキの疥癬が初めて報告されている (山本ら 1998) 。その後、同地方において 1998年にタヌキ (Takahashi *et al.* 2001b) 、2009年にはハクビシン (姉崎ら 2010) において疥癬の発生が報告されている。また、1990年代後半からイノシシの平地部への分布拡大が確認されており、現在ではイノシシは県全域で生息が確認されている (姉崎ら 2009) 。つまり、1990年代後半には群馬県内の野生動物の分布状況が大きく変化し、平地部へと拡大した可能性がある。高崎市におけるタヌキの疥癬の発生状況については、本研究が初報告であるため、2011年以前の発生状況は不明である。しかし、隣接する富岡・甘楽地方で局所的に流行していた疥癬が、同時期に野生動物の分布拡大が起きたことで、高崎市へとヒゼンダニの分布も拡大した可能性も考えられる。つまり、本研究では、近年起きたタヌキの疥癬の流行を観察した可能性がある。一方で、神奈川県三浦半島の北に位置する横浜市は、1991年にタヌキの疥癬の発生が確認されており (Kido *et al.* 2013) 、2010年にはタヌキの救護理由の約70%を疥癬罹患が

占め (Kido *et al.* 2013)、長期的に疥癬が流行している地域である。また、本研究でのサンプリング期間は1年に満たなかったにもかかわらず、三浦半島全域から54頭のタヌキが救護されていることから、広域に渡って疥癬が蔓延している地域と言える。そのため、群馬県高崎市よりも、より長期的にかつ広域に疥癬の流行が続いている地域と考えられる。また、タヌキの疥癬発生とほぼ同時期に、鎌倉市でアライグマの野生化が確認され (中川 1991)、その10年後には三浦半島全域へ急速に分布を拡大させている (Hayama *et al.* 2006)。アライグマはタヌキと疥癬の交差感染が成立すると報告されており (Matsuyama *et al.* 2019)、そのような関係性の野生動物が疥癬の流行と同時期に急速に分布を拡大させた状況が、タヌキの疥癬の蔓延に何らかの影響を与えた可能性も考えられる。このように、両地域とも疥癬の蔓延が起きる時期には、タヌキに限らず野生動物の分布拡大が影響した可能性が示唆された。加えて、群馬県高崎市では近年になって疥癬の流行が起き、神奈川県三浦半島では、約30年前から長期的に疥癬が流行していた地域であるため、両地域でタヌキやヒゼンダニの遺伝的構造に違いが確認された可能性も考えられた。

他の野生動物間でのヒゼンダニの交差感染が成立する場合、他種同士が直接的に接触することは考えにくい。ヒゼンダニは、生存可能である温度範囲は狭いが、湿度が十分であれば13°Cで2週間は生存可能であり (内川 2001)、室温であれば24-36時間は生存可能である (McCarthy *et al.* 2004)。人においては寝具を介した間接伝播が成立している (Skerratt and Beveridge 1999) ことから、温度や湿度の条件が整えば野生動物においてもヒゼンダニの間接的な伝播が成立する可能性は十分にありうる。タヌキのジステンパーウイルス感染症はハクビシンを介して蔓延したことが疑われているが、この要因の一つとして獣道をハクビシンとタヌキで共有していることがあげられている (Machida *et al.* 1993 ; Takayama *et al.* 2009)。また、フィンランドでは、タヌキとヨーロッパアナグマ (*M. meles*) が冬季に巣穴を共有することが確認されており、このような食肉目のコミュニティにより種間で感染症が伝播していると示唆されている (Kauhala and Holmala 2006 ; Kauhala *et al.* 2007)。冬季

の北海道において、最低気温が -18°C を記録するような気候でも、タヌキの利用する巣穴内の温度は -2.4°C から $+1.8^{\circ}\text{C}$ と、周囲の環境よりも巣穴内は高い温度を保つことが報告されている (Kitao *et al.* 2009)。ヒゼンダニの生存可能温度を考慮すると (内川 2001; McCarthy *et al.* 2004)、冬季の巣穴内温度では生存は難しいと言えるが、冬季よりも気温が高い夏季を中心に、巣穴内でのヒゼンダニの間接伝播は成立することは十分に考えられる。このように、タヌキとその他の野生動物において、獣道やねぐらの共有がヒゼンダニの間接伝播の機会となっており、このような間接伝播が主要な伝播様式となって種を超えた交差感染が成立していると考えられる。

人や愛玩動物への野生動物由来感染症の蔓延には、野生動物と人や産業動物、愛玩動物との接触機会の増加が影響する (岡部ら 2019)。つまり、タヌキと人や愛玩動物におけるヒゼンダニの交差感染についても、接触機会を無くすことが蔓延防止に繋がる。タヌキは都市地域にも生息しており (Saito *et al.* 2016; Mitsuhashi *et al.* 2018)、住居の庭など人の生活圏に出没する (川村・大西 2000)。そして、田畑での農作物の採食 (佐伯・竹内 2008) や、畜舎侵入での産業動物の捕食や住み着いたことによる施設汚染 (出口ら 2001; 佐伯・竹内 2008)、餌資源としてのゴミの利用 (Hirasawa *et al.* 2006) といった被害が報告され、これらが人や産業動物、愛玩動物との接触機会に繋がってしまう。さらには、個人の愛護などを目的として餌付けが行われている場合もある (福井 2013)。餌付けによりタヌキを誘引してしまうことで、タヌキとの接触機会が増加し、疥癬が家庭犬、さらに人へと感染した事例も存在する (松尾ら 2015)。人や愛玩動物、産業動物への疥癬の伝播を成立させないためには、人がタヌキとの不用意な接触を避け、人の生活圏へ侵入させないような対策を行っていくことが、タヌキの疥癬の蔓延防止に繋がるだろう。

今回の研究により、タヌキの疥癬は長期に渡って個体群内で維持されており、さらにヒゼンダニの伝播には、他の野生動物や愛玩動物といった様々な宿主動物が関与し、タヌキの疥癬の蔓延が引き起こされている可能性が示唆された。都市地域は、人口密度の増加と直接関

係の深く、野生動物の生息地の分断化や媒介動物の増加によって人への感染機会の増加を招くなど、重要な感染症拡大要因であると考えられている (Weaver 2013 ; Neiderud 2015 ; Hassell *et al.* 2017 ; 岡部ら 2019) 。近年、我が国において、野生動物の市街地出没が増加していることから (川村・大西 2000 ; 浦口 2015 ; 立木 2015) 、疥癬に限らず様々な野生動物由来感染症の蔓延が危惧される。一方で、接触機会が増加した場合、産業動物や愛玩動物由来の感染症が野生動物へ伝播してしまう恐れもある。これ以上の感染症の蔓延を防止するために、人が感染症に対する正しい知識を持ち、どのように対策すれば自身が感染せず、また病原体の拡散を防げるのか知識を身につけていくことが必要となるだろう。また、農耕地や畜舎では野生動物の被害を防止することを目的に、電気柵による防除が行われているが、適切な設置や管理が行われず、十分な効果が得られていない場合もある (山田・難波 2017) 。そのため、農家へ向けた野生動物への防除意識と知識を高めるための普及啓発が必要である (山田・難波 2017) 。さらに、愛護目的の餌付けや、出荷できずに田畑に放置される不要野菜、市街地での家庭ゴミの廃棄など、野生動物に意識的・無意識的な餌付けが野生動物の誘引へと繋がり (藤井ら 2004 ; 福井 2013 ; Flint *et al.* 2016) 、人と野生動物あるいは野生動物同士の接触機会に繋がる。人や愛玩動物、産業動物においても、野生動物との接触を避け、生息環境の棲み分けを進めていくことが感染症対策としても重要となるだろう。

野生動物の感染症が問題となっている中で、サーベイランスの重要性が高まっている (Spalding and Forrester 1993 ; Morner *et al.* 2002 ; Belant and Deese 2010 ; Grogan *et al.* 2014 ; Lawson *et al.* 2015) 。我が国においても、タヌキにおける疥癬だけでなく、野鳥と家禽における高病原性鳥インフルエンザウイルス (Yamane 2006 ; 伊藤 2011 ; 高見ら 2012) 、イノシシと豚における豚コレラウイルス (農林水産省 2019) の感染拡大など、様々な野生動物を取り巻く感染症が問題となっている。高病原性鳥インフルエンザにおいては、生息域の減少や給餌により生息密度が高まることで、集団越冬地での感染が問題視されている (高見ら 2012) 。本研究においても、タヌキの行動生態と疥癬の流行には関係性が認められたことか

ら、野生動物における感染症や、野生動物が媒介する人と動物の共通感染症には、野生動物の行動生態を踏まえて対策を進めていくことが重要である。本研究において、タヌキの疥癬は一度流行すると、ヒゼンダニの感染が5年以上に渡って個体群内で維持される可能性が高く、そのため収束にも長期間の時間を要する可能性が示唆されている。また、我が国は狂犬病の洗浄国であるが、野生動物におけるサーベイランスを行っていないため、台湾のように野生動物（シナイタチアナグマ, *Melogale moschata*) (Chiou *et al.* 2014) によって維持されている可能性も否定はできない。今後の生物多様性保護のためにはシステマチックなサーベイランス体制への改善が必要であるとされている (Grogan *et al.* 2014)。そのため、複数の宿主が複雑に絡み合い、野生動物の感染症の蔓延が懸念されたことから、タヌキの疥癬だけでなく、我が国における野生動物の感染症対策において、長期的にサーベイランスを行う管理体制の構築が必要不可欠だろう。

謝辞

本論文をまとめるにあたり、終始懇切なる御指導御鞭撻を賜りました日本獣医生命科学大学獣医学部獣医保健看護学科基礎部門の近江俊徳教授に深甚なる謝意を表します。

本研究を遂行するにあたり、同大学同学部獣医学科野生動物学研究室の羽山伸一教授には、数多くの御指導御鞭撻を賜りました。また、同大学同学部獣医学科野生動物学研究室の川本芳客員教授、同大学同学部獣医保健看護学科基礎部門の青木博史准教授、同大学同学部獣医保健看護学科応用部門の山本俊昭准教授には、本学位論文を御査読いただいたうえ、様々な御助言を賜りました。謹んで御礼申し上げます。

遺伝子解析を行うにあたり、同大学同学部獣医保健看護学科基礎部門の落合和彦准教授には御指導及び実験機材を御提供いただきました。ヒゼンダニの検出をするにあたり、同大学同学部獣医学科獣医寄生虫学研究室の森田達志准教授に御指導いただきました。また、同大学同学部獣医学科野生動物学研究室の加藤卓也講師ならびに田中亜紀助教には現地調査の御協力及び統計解析に関する御指導など数多くの御助言をいただきました。御指導くださいました先生方に深く御礼申し上げます。

現地調査の実施に当たり、群馬県農政部鳥獣被害対策支援センター、群馬中央地区猟友会、高崎市農林課、同市箕郷支所産業課、同市榛名支所産業観光課ならびに群馬県立農林大学校の皆様には情報提供や宿泊設備の管理を含め、多大な御協力を賜りました。また、金沢動物園の木戸伸英博士及び金沢動物園の皆様には、金沢動物園で救護されたタヌキ及びヒゼンダニのサンプリングに多大なるご協力を賜りました。厚く御礼申し上げます。

そして、統計解析を始め、様々な御助言をいただきました同大学同学部獣医学科ポストドクターの關義和博士（現・玉川大学農学部生物環境システム学科准教授）、同大学大学院獣医学専攻博士課程の宇野太基氏（現・宇野獣医科病院）、現地調査ならびに解剖作業でご協力賜りました同大同学部同学科野生動物学研究室研究補助員の若澤英明氏、同大学同学部同学科同研究室研修生の山崎文晶氏に深く御礼申し上げます。研究に関わる様々な調査や

作業に際して数多くの御協力をいただきました同大学同学部同学科野生動物学研究室の室員の皆様ならびに同大学同学部獣医保健看護学科基礎部門比較遺伝研究分野の室員の皆様に厚く御礼申し上げます。

最後に、終始温かく御支援くださいました家族と友人に深く感謝申し上げます。

引用文献

- Aguilar, A., Roemer, G., Debenham, S., Binns, M., Garcelon, D. and Wayne, A. K. 2004. High MHC diversity maintained by balancing selection in an otherwise genetically monomorphic mammal. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **101**: 3490-3494.
- Alasaad, S., Soglia, D., Sarasa, M., Soriguer, R. C., Perez, J. M., Granados, J. E., Rasero, R., Zhu, X. Q. and Rossi, L. 2008. Skin-scale genetic structure of *Sarcoptes scabiei* populations from individual hosts: empirical evidence from Iberian ibex-derived mites. *Parasitology Research* **104**: 101-105.
- Amaike, Y., Nishita, Y., Uruguchi, K. and Masuda, R. 2018. Genetic Diversity of MHC Class II DRB1 Exon 2 in the Red Fox (*Vulpes vulpes*) on Hokkaido, Japan. *Zoological Science* **35**: 402-410.
- Anacleto, O., Cabaleiro, S., Villanueva, B., Saura, M., Houston, R. D. and Woolliams, J. A. 2019. Genetic differences in host infectivity affect disease spread and survival in epidemics. *Scientific Reports* **9**: 4924.
- 姉崎智子・坂庭浩之・小野里光・戸塚正幸・中嶋薫・竹内忠義・富田正則・木滑大介. 2009. 群馬県におけるイノシシの分布拡大と繁殖状況. *群馬県自然誌博物館研究報告* **13**: 119-128.
- 姉崎智子・坂庭浩之・田中義朗・黒川奈都子. 2010. 群馬県のハクビシンの疥癬について. *群馬県自然誌博物館研究報告* **14**: 141-144.
- Arlian, L., Runyan, R., Achar, S. and Estes, S. 1984. Survival and infestivity of *Sarcoptes scabiei* var. *canis* and var. *hominis*. *Journal of the American Academy of Dermatology* **11**: 210-215.
- Arlian, L. G. 1989. Biology, host relations, and epidemiology of *Sarcoptes scabiei*. *Annual review of entomology* **34**: 139-159.
- Arlian, L. G. and Morgan, M. S. 2000. Serum antibody to *Sarcoptes scabiei* and house dust mite prior to and during infestation with *S. scabiei*. *Veterinary Parasitology* **90**: 315-326.

- Arlian, L. G., Morgan, M. S., Rapp, C. M. and Vyszynski-Moher, D. L. 1996. The development of protective immunity in canine scabies. *Veterinary Parasitology* **62**: 133-142.
- 浅川満彦. 2013. 野生動物の疾病と病理. 獣医学・応用動物科学系学生のための野生動物学 (村田浩一, 坪田敏男, 編), pp. 143-190. 文栄堂出版, 東京.
- Baker, P. J., Funk, S. M., Bruford, M. W. and Harris, S. 2004. Polygynandry in a red fox population: implications for the evolution of group living in canids? *Behavioral Ecology* **15**: 766-778.
- Belant, J. L. and Deese, A. R. 2010. Importance of wildlife disease surveillance. *Human-Wildlife Interactions* **4**: 165-169.
- Berrilli, F., D'Amelio, S. and Rossi, L. 2002. Ribosomal and mitochondrial DNA sequence variation in Sarcoptes mites from different hosts and geographical regions. *Parasitology Research* **88**: 772-777.
- Bhat, S. A., Mounsey, K. E., Liu, X. and Walton, S. F. 2017. Host immune responses to the itch mite, *Sarcoptes scabiei*, in humans. *Parasites and Vectors* **10**: 385.
- Bornstein, S., Mörner, T. and Samuel, W. M. 2001. *Sarcoptes scabiei* and sarcoptic mange. *Parasitic diseases of wild mammals* **2**: 107-119.
- Bradley, C. A. and Altizer, S. 2007. Urbanization and the ecology of wildlife diseases. *Trends in Ecology and Evolution* **22**: 95-102.
- Caravaggi, A., Zaccaroni, M., Riga, F., Schai-Braun, S. C., Dick, J. T. A., Montgomery, W. I., Reid, N., Williams, R. and Chauvenet, A. 2016. An invasive-native mammalian species replacement process captured by camera trap survey random encounter models. *Remote Sensing in Ecology and Conservation* **2**: 45-58.
- Carricondo-Sanchez, D., Odden, M., Linnell, J. D. C. and Odden, J. 2017. The range of the mange: Spatiotemporal patterns of sarcoptic mange in red foxes (*Vulpes vulpes*) as revealed by camera trapping. *PLoS One* **12**: e0176200.
- Chauhan, B., Santiago, L., Hutcheson, P. S., Schwartz, H. J., Spitznagel, E., Castro, M., Slavin, R. G.

- and Bellone, C. J. 2000. Evidence for the involvement of two different MHC class II regions in susceptibility or protection in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **106**: 723-729.
- Cheng, Y., Sanderson, C., Jones, M. and Belov, K. 2012. Low MHC class II diversity in the Tasmanian devil (*Sarcophilus harrisii*). *Immunogenetics* **64**: 525-533.
- Chiou, H. Y., Hsieh, C. H., Jeng, C. R., Chan, F. T., Wang, H. Y. and Pang, V. F. 2014. Molecular characterization of cryptically circulating rabies virus from ferret badgers, Taiwan. *Emerging infectious diseases* **20**: 790-798.
- Clay, C. A., Lehmer, E. M., Previtali, A., St. Jeor, S. and Dearing, M. D. 2009. Contact heterogeneity in deer mice: implications for Sin Nombre virus transmission. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **276**: 1305-1312.
- Coulon, A., Guillot, G., Cosson, J. F., Angibault, J. M., Aulagnier, S., Cargnelutti, B., Galan, M. and Hewison, A.J. 2006. Genetic structure is influenced by landscape features: empirical evidence from a roe deer population. *Molecular Ecology* **15**: 1669-1679.
- Cusack, J. J., Swanson, A., Coulson, T., Packer, C., Carbone, C., Dickman, A. J., Kosmala, M., Lintott, C. and Rowcliffe, J. M. 2015. Applying a random encounter model to estimate lion density from camera traps in Serengeti National Park, Tanzania. *The Journal of Wildlife Management* **79**: 1014-1021.
- Cutler, T. L., and Swann, D. E. 1999. Using remote photography in wildlife ecology: a review. *Wildlife Society Bulletin* **27**: 571-581.
- Dahl, F. and Åhlén, P. A. 2018. Nest predation by raccoon dog *Nyctereutes procyonoides* in the archipelago of northern Sweden. *Biological Invasions* **21**: 743-755.
- Daszak, P., Cunningham, A. A. and Hyatt, A. D. 2000. Emerging infectious diseases of wildlife-threats to biodiversity and human health. *Science* **287**: 443-449.
- Davidson, R. K., Bornstein, S. and Handeland, K. 2008. Long-term study of *Sarcoptes scabiei*

- infection in Norwegian red foxes (*Vulpes vulpes*) indicating host/parasite adaptation. *Veterinary Parasitology* **156**: 277-283.
- Davies, C., Webster, J., Krüger, O., Munatsi, A., Ndamba, J. and Woolhouse, M. 1999. Host–parasite population genetics: a cross-sectional comparison of *Bulinus globosus* and *Schistosoma haematobium*. *Parasitology* **119**: 295-302.
- Debenham, S. L., Hart, E. A., Ashurst, J. L., Howe, K. L., Quail, M. A., Ollier, W. E. and Binns, M. M. 2005. Genomic sequence of the class II region of the canine MHC: comparison with the MHC of other mammalian species. *Genomics* **85**: 48-59.
- 出口善隆・佐藤衆介・三枝正彦. 2001. ホンドタヌキ (*Nyctereutes procyonoides viverrinus*) による小羊の摂食. *哺乳類科学* **41**: 195-200.
- Deyoung, R. W. and Honeycutt, R. L. 2005. The molecular toolbox: genetic techniques in wildlife ecology and management. *The Journal of Wildlife Management* **69**: 1362-1384.
- Doeschl-Wilson, A. B., Davidson, R., Conington, J., Roughsedge, T., Hutchings, M. R. and Villanueva, B. 2011. Implications of host genetic variation on the risk and prevalence of infectious diseases transmitted through the environment. *Genetics* **188**: 683-693.
- Drygala, F., Stier, N., Zoller, H., Mix, H. M., Bögelsack, K. and Roth, M. 2008. Spatial organisation and intra-specific relationship of the raccoon dog *Nyctereutes procyonoides* in Central Europe. *Wildlife Biology* **14**: 457-466.
- Drygala, F. and Zoller, H. 2013. Spatial use and interaction of the invasive raccoon dog and the native red fox in Central Europe: competition or coexistence? *European Journal of Wildlife Research* **59**: 683-691.
- Drygala, F., Zoller, H., Stier, N. and Roth, M. 2010. Dispersal of the raccoon dog *Nyctereutes procyonoides* into a newly invaded area in Central Europe. *Wildlife Biology* **16**: 150-161.
- Dugdale, H. L., Macdonald, D. W., Pope, L. C. and Burke, T. 2007. Polygynandry, extra - group paternity and multiple - paternity litters in European badger (*Meles meles*) social groups.

- Molecular Ecology* **16**: 5294-5306.
- Earl, D. A. and Vonholdt, B. M. 2011. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* **4**: 359-361.
- Ellegren, H. 2000. Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference. *Trends in genetics* **16**: 551-558.
- Estades, C. F. 2001. The effect of breeding-habitat patch size on bird population density. *Landscape Ecology* **16**: 161-173.
- Evanno, G., Regnaut, S. and Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* **14**: 2611-2620.
- Fain, A. 1968. Etude de la Variabilite de *Sarcoptes scabiei* avec une Revision des Sarcoptidae. *Acta Zoologica et Pathologica* **47**: 1-196.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* **39**: 783-791.
- Fernández-Morán, J., Gómez, S., Ballesteros, F., Quirós, P., Benito, J., Feliu, C. and Nieto, J. 1997. Epizootiology of sarcoptic mange in a population of cantabrian chamois (*Rupicapra pyrenaica parava*) in Northwestern Spain. *Veterinary Parasitology* **73**: 163-171.
- Flint, B. F., Hawley, D. M. and Alexander, K. A. 2016. Do not feed the wildlife: associations between garbage use, aggression, and disease in banded mongooses (*Mungos mungo*). *Ecology and Evolution* **6**: 5932-5939.
- 藤井和美・江口祐輔・植竹勝治・田中智夫. 2004. 野生獣による農作物被害において問題とされる無意識的な餌付けに関する調査. *日本家畜管理学会誌* **40**: 16-17.
- 福江佑子. 1996. エサ場におけるタヌキの社会グループの変遷と社会関係について. *金沢大学理学部附属植物園年報* **19**: 13-18.
- 福井大祐. 2013. 人と野生動物の関わりと感染症—野鳥大量死と餌付けを例に. *日本野生動*

- 物医学会誌 **18**: 41-48.
- Gehrt, S. D. and Fritzell, E. K. 1997. Sexual differences in home ranges of raccoons. *Journal of Mammalogy* **78**: 921-931.
- Glenn, J. L. W., Civitello, D. J. and Lance, S. L. 2009. Multiple paternity and kinship in the gray fox (*Urocyon cinereoargenteus*). *Mammalian Biology* **74**: 394-402.
- Gonzalez-Candela, M., Leon-Vizcaino, L. and Cubero-Pablo, M. J. 2004. Population effects of sarcoptic mange in Barbary sheep (*Ammotragus lervia*) from Sierra Espuna Regional Park, Spain. *Journal of Wildlife Diseases* **40**: 456-465.
- Goszczyński, J. 1999. Fox, raccoon dog and badger densities in North Eastern Poland. *Acta Theriologica* **44**: 413-420.
- Gray, G. G. and Simpson, C. D. 1982. Group dynamics of free-ranging Barbary sheep in Texas. *The Journal of Wildlife Management* **46**: 1096-1101.
- Grogan, L. F., Berger, L., Rose, K., Grillo, V., Cashins, S. D. and Skerratt, L. F. 2014. Surveillance for emerging biodiversity diseases of wildlife. *PLoS Pathogens* **10**: e1004015.
- Guichoux, E., Lagache, L., Wagner, S., Chaumeil, P., Leger, P., Lepais, O., Lepoittevin, C., Malausa, T., Revardel, E., Salin, F. and Petit, R. J. 2011. Current trends in microsatellite genotyping. *Molecular Ecology Resources* **11**: 591-611.
- 群馬県 . 2019. 平成 30 年度群馬県市町村要覧 , 高崎市 .
<https://www.pref.gunma.jp/contents/100083752.pdf>, 2019 年 11 月 18 日確認.
- Haag-Liautard, C., Coffey, N., Houle, D., Lynch, M., Charlesworth, B. and Keightley, P. D. 2008. Direct estimation of the mitochondrial DNA mutation rate in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Biology* **6**: e204.
- Hahm, J. E., Kim, C. W. and Kim, S. S. 2018. The efficacy of a nested polymerase chain reaction in detecting the cytochrome *c* oxidase subunit 1 gene of *Sarcoptes scabiei* var. *hominis* for diagnosing scabies. *British Journal of Dermatology* **179**: 889-895.

- Hassell, J. M., Begon, M., Ward, M. J., Fevre, E. M. 2017. Urbanization and Disease Emergence: Dynamics at the Wildlife-Livestock-Human Interface. *Trends in Ecology and Evolution* **32**: 55-67.
- 畑礼子. 1973. タヌキの犬歯セメント質を用いた年齢鑑定. *解剖学雑誌* **48**: 155-156.
- Hayama, H., Kaneda, M. and Tabata, M. 2006. Rapid range expansion of the feral raccoon (*Procyon lotor*) in Kanagawa Prefecture, Japan, and its impact on native organisms. *Assessment and control of biological invasion risks*: 196-199.
- Hayama, H., Kaneda, M. and Tabata, M. 2006. Rapid range expansion of the feral raccoon (*Procyon lotor*) in Kanagawa Prefecture, Japan, and its impact on native organisms. pp. 196-199. In: *Assessment and control of biological invasion risks* (Koike, F., Clout, M. N., Kawamichi, M., De Poorter, M. and Iwatsuki, K., eds), SHOUKADOH Book Seller, Kyoto, Japan and the World Conservation Union.
- 早崎峯夫・大石勇・小林茂雄. 1984. 犬の原発性甲状腺機能低下症と甲状腺機能検査の応用と評価. *日本獣医師会雑誌* **37**: 10-15.
- Helle, E. and Kauhala, K. 1995. Reproduction in the raccoon dog in Finland. *Journal of Mammalogy* **76**: 1036-1046.
- 平川浩文. 2003. 自動撮影が切り開く新しい哺乳類研究のアプローチ. *森林総合研究所北海道支所研究レポート* **69**: 1-8.
- 平川浩文. 2004. 自動撮影調査から動物の密度が分かるか—密度推定の問題を考える—. *哺乳類科学* **44**: 103-105.
- Hirasawa, M., Kanda, E. and Takatsuki, S. 2006. Seasonal food habits of the raccoon dog at a western suburb of Tokyo. *Mammal Study* **31**: 41-46.
- Hudson, P. J., Rizzoli, A., Grenfell, B. T., Heesterbeek, J. and Dobson, A. P. 2002. Ecology of wildlife diseases. Oxford University Press, Oxford, U. K.
- Ichikawa, Y., Takagi, K., Tsumagari, S., Ishihama, K., Morita, M., Kanemaki, M., Takeishi, M. and

- Takahashi, H. 2001. Canine parentage testing based on microsatellite polymorphisms. *The Journal of Veterinary Medical Science* **63**: 1209-1213.
- Ikeda, H. 1983. Development of young and parental care of the raccoon dog, *Nyctereutes procyonoides viverrinus* TEMMINCK, in captivity. *Journal of the Mammalogical Society of Japan* **9**: 229-236.
- Ikeda, H. 1984a. Raccoon dog scent marking by scats and its significance in social behaviour. *Journal of Ethology* **2**: 77.
- Ikeda, H. 1984b. Raccoon dog scent marking by scats and its significance in social behaviour. *Journal of Ethology* **2**: 77-84.
- 今井壯一. 2006. 疥癬の原因. *ViVeD* **2**: 7-10.
- 井鷲裕司・陶山佳久. 2013. 生態学者が書いた DNA の本: メンデルの法則から遺伝情報の読み方まで. 文一総合出版., 東京, 200pp.
- It, V., Barrientos, L., Lopez Gappa, J., Posik, D., Diaz, S., Golijow, C. and Giovambattista, G. 2010. Association of canine juvenile generalized demodicosis with the dog leukocyte antigen system. *Tissue Antigens* **76**: 67-70.
- 板垣博・大石勇. 1984. 家畜寄生虫病学. 朝倉書店, 東京, 406pp.
- 伊藤英之・須藤明子・岸本真弓・磯井達也・森本直樹・和田晴太郎. 2014. 野生動物の管理と救護を考える. *日本野生動物医学会誌* **19**: 69-78.
- 伊藤壽啓. 2011. 最近発生の高病原性鳥インフルエンザの家禽への伝播要因. *鶏病研究会報* **47**: 23-30.
- Iwasa, M. A. and Nakata, K. 2011. A Note on the Genetic Status of the Dark Red-Backed Vole, *Myodes rex*, in Hokkaido, Japan. *Mammal Study* **36**: 99-103.
- Iwasa, M. A., Takayama, T., Ogo, T. and Kawada, S. 2014. Genetic relationships of the raccoon dog: A special reference to the individuals from the Imperial Palace and the Akasaka Detached Palace, Tokyo Metropolis, Japan. *Memoirs of the National Museum of Nature and Science*,

Tokyo **50**: 575-583.

Iwasaki, K., Saito, M., Sako, T., Koizumi, R., Teduka, M. and Kaneko, Y. 2017. Population estimation of raccoon dogs in the Akasaka Imperial Grounds using camera trap. *Journal of Field Science* **15**: 49-55.

Jombart, T., Devillard, S., Dufour, A. B. and Pontier, D. 2008. Revealing cryptic spatial patterns in genetic variability by a new multivariate method. *Heredity* **101**: 92-103.

Kalinowski, S. T., Wagner, A. P. and Taper, M. L. 2006. ML-RELATE: a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. *Molecular Ecology Notes* **6**: 576-579.

神谷三千緒. 2006. 在宅療養者に発生したノルウェー疥癬事例 地域での疥癬蔓延の背景を考える. *公衆衛生* **70**: 998-1001.

環境省. 2007. 人と動物の共通感染症に関するガイドライン. http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/2_data/pamph/infection/guideline.pdf, 2019年11月19日確認.

環境省. 2019. 環境省レッドリスト2019. <https://www.env.go.jp/press/files/jp/110615.pdf>, 2019年11月19日確認.

神奈川県. 2019a. 神奈川県の人口と世帯 令和元年10月1日現在. <https://www.pref.kanagawa.jp/docs/x6z/tc30/jinko/documents/geppou1910.pdf>, 2019年11月18日確認.

神奈川県. 2019b. 平成30年度市町村要覧, 第2部 資料編, 行政区域面積等一覧 <https://www.pref.kanagawa.jp/docs/v2x/cnt/f6833/30youran.html>, 2019年11月18日確認.

金子賢太郎・丸山将吾・永野治. 2008. 国立昭和記念公園周辺に生息するタヌキの生息地利用について. *ランドスケープ研究* **71**: 998-1001.

加藤千晴. 2012. 野生動物救護施設で働く獣医師~ 神奈川県における野生動物救護について ~. *日本野生動物医学会誌* **17**: 7-8.

- Kauhala, K., Helle, E. and Taskinen, K. 1993. Home range of the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) in southern Finland. *Journal of Zoology* **231**: 95-106.
- Kauhala, K. and Holmala, K. 2006. Contact rate and risk of rabies spread between medium-sized carnivores in southeast Finland. *In Proceedings: Annales Zoologici Fennici*. JSTOR. pp. 348-357.
- Kauhala, K., Holmala, K. and Schregel, J. 2007. Seasonal activity patterns and movements of the raccoon dog, a vector of diseases and parasites, in southern Finland. *Mammalian Biology* **72**: 342-353.
- Kawamoto, Y., Shotake, T., Nozawa, K., Kawamoto, S., Tomari, K., Kawai, S., Shirai, K., Morimitsu, Y., Takagi, N., Akaza, H., Fujii, H., Hagihara, K., Aizawa, K., Akachi, S., Oi, T. and Hayaishi, S. 2007. Postglacial population expansion of Japanese macaques (*Macaca fuscata*) inferred from mitochondrial DNA phylogeography. *Primates* **48**: 27-40.
- 川本芳. 2008. サル地域個体群の保全・管理にむけた遺伝的モニタリング. *哺乳類科学* **48**: 149-154.
- 川村誠・大西一郎. 2000. 中山間地域の環境変化と野生動物. *鳥取大学農学部演習林研究報告* **26**: 63-78.
- Kempf, F., De Meeus, T., Vaumourin, E., Noel, V., Taragel'ova, V., Plantard, O., Heylen, D.J., Eraud, C., Chevillon, C. and McCoy, K. D. 2011. Host races in *Ixodes ricinus*, the European vector of Lyme borreliosis. *Infection, Genetics and Evolution* **11**: 2043-2048.
- Kido, N., Itabashi, M., Takahashi, M. and Futami, M. 2013. Epidemiology of sarcoptic mange in free-ranging raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) in Yokohama, Japan. *Veterinary Parasitology* **191**: 102-107.
- Kilpatrick, A. M. and Altizer, S. 2010. Disease ecology. *Nature Education Knowledge* **3**: 55.
- Kim, S.-I., Oshida, T., Lee, H., Min, M.-S. and Kimura, J. 2015. Evolutionary and biogeographical implications of variation in skull morphology of raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*,

- Mammalia: Carnivora). *Biological Journal of the Linnean Society* **116**: 856-872.
- Kim, S. I., Park, S. K., Lee, H., Oshida, T., Kimura, J., Kim, Y. J., Nguyen, S. T., Sashika, M. and Min, M. S. 2013. Phylogeography of Korean raccoon dogs: implications of peripheral isolation of a forest mammal in East Asia. *Journal of Zoology* **290**: 225-235.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of molecular evolution* **16**: 111-120.
- 岸本真弓. 1997. 飼育下のタヌキにおける体重・皮下脂肪厚および摂食量の季節変動. *哺乳類科学* **36**: 165-174.
- Kitao, N., Fukui, D., Hashimoto, M. and Osborne, P. G. 2009. Overwintering strategy of wild free-ranging and enclosure-housed Japanese raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides albus*). *International Journal of Biometeorology* **53**: 159-165.
- 小泉璃々子・酒向貴子・手塚牧人・小堀睦・斎藤昌幸・金子弥生. 2017. 東京都心部の赤坂御用地におけるタヌキのタメフン場における個体間関係. *フィールドサイエンス* **15**: 7-13.
- 小菅正夫・坂東元. 2003. ゴリラのエキノコックス症発症とその対策を振り返る. *日本獣医師会雑誌* **56**: 46-51.
- 小堤知行・伊藤敦・田中廣・粕谷光. 1988. 宮城県の野生動物とくにタヌキにおける疥癬の流行とその発生被害. *獣医畜産新報* **803**: 366-368.
- 厚生労働省. 2019. 都道府県別の犬の登録頭数と予防注射頭数等（平成 25 年度～平成 30 年度）. <https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou10/01.html>, 2019 年 11 月 18 日確認.
- Kovács, A., Demeter, I., Fatér, I., Bagyura, J., Nagy, K., Szitta, T., Firmánszky, G. and Horváth, M. 2008. Current Efforts to Monitor and Conserve the Eastern Imperial Eagle *Aquila heliaca* in Hungary. *AMBIO: A Journal of the Human Environment* **37**: 457-459.
- Lastuti, N.D.R., Rohman, A., Handiyatno, D., Chrismanto, D. and Desiandura, K. 2019. Sequence

analysis of the cytochrome *c* oxidase subunit 1 gene of *Sarcoptes scabiei* isolated from goats and rabbits in East Java, Indonesia. *Veterinary World* **12**: 959-964.

Lawson, B., Petrovan, S. O. and Cunningham, A. A. 2015. Citizen Science and Wildlife Disease Surveillance. *Ecohealth* **12**: 693-702.

Levin, I. I. and Parker, P. G. 2013. Comparative host-parasite population genetic structures: obligate fly ectoparasites on Galapagos seabirds. *Parasitology* **140**: 1061-1069.

Lindblad-Toh, K., Wade, C. M., Mikkelsen, T. S., Karlsson, E. K., Jaffe, D. B., Kamal, M., Clamp, M., Chang, J. L., Kulbokas, E. J., 3rd, Zody, M. C., Mauceli, E., Xie, X., Breen, M., Wayne, R. K., Ostrander, E. A., Ponting, C. P., Galibert, F., Smith, D. R., DeJong, P. J., Kirkness, E., Alvarez, P., Biagi, T., Brockman, W., Butler, J., Chin, C. W., Cook, A., Cuff, J., Daly, M. J., DeCaprio, D., Gnerre, S., Grabherr, M., Kellis, M., Kleber, M., Bardeleben, C., Goodstadt, L., Heger, A., Hitte, C., Kim, L., Koepfli, K. P., Parker, H.G., Pollinger, J.P., Searle, S. M., Sutter, N. B., Thomas, R., Webber, C., Baldwin, J., Abebe, A., Abouelleil, A., Aftuck, L., Ait-Zahra, M., Aldredge, T., Allen, N., An, P., Anderson, S., Antoine, C., Arachchi, H., Aslam, A., Ayotte, L., Bachantsang, P., Barry, A., Bayul, T., Benamara, M., Berlin, A., Bessette, D., Blitshteyn, B., Bloom, T., Blye, J., Boguslavskiy, L., Bonnet, C., Boukhgalter, B., Brown, A., Cahill, P., Calixte, N., Camarata, J., Cheshatsang, Y., Chu, J., Citroen, M., Collymore, A., Cooke, P., Dawoe, T., Daza, R., Decktor, K., DeGray, S., Dhargay, N., Dooley, K., Dooley, K., Dorje, P., Dorjee, K., Dorris, L., Duffey, N., Dupes, A., Egbiremolen, O., Elong, R., Falk, J., Farina, A., Faro, S., Ferguson, D., Ferreira, P., Fisher, S., FitzGerald, M., Foley, K., Foley, C., Franke, A., Friedrich, D., Gage, D., Garber, M., Gearin, G., Giannoukos, G., Goode, T., Goyette, A., Graham, J., Grandbois, E., Gyaltzen, K., Hafez, N., Hagopian, D., Hagos, B., Hall, J., Healy, C., Hegarty, R., Honan, T., Horn, A., Houde, N., Hughes, L., Hunnicutt, L., Husby, M., Jester, B., Jones, C., Kamat, A., Kanga, B., Kells, C., Khazanovich, D., Kieu, A. C., Kisner, P., Kumar, M., Lance, K., Landers, T., Lara, M., Lee, W., Leger, J.

P., Lennon, N., Leuper, L., LeVine, S., Liu, J., Liu, X., Lokyitsang, Y., Lokyitsang, T., Lui, A., Macdonald, J., Major, J., Marabella, R., Maru, K., Matthews, C., McDonough, S., Mehta, T., Meldrim, J., Melnikov, A., Meneus, L., Mihalev, A., Mihova, T., Miller, K., Mittelman, R., Mlenga, V., Mulrain, L., Munson, G., Navidi, A., Naylor, J., Nguyen, T., Nguyen, N., Nguyen, C., Nguyen, T., Nicol, R., Norbu, N., Norbu, C., Novod, N., Nyima, T., Olandt, P., O'Neill, B., O'Neill, K., Osman, S., Oyono, L., Patti, C., Perrin, D., Phunkhang, P., Pierre, F., Priest, M., Rachupka, A., Raghuraman, S., Rameau, R., Ray, V., Raymond, C., Rege, F., Rise, C., Rogers, J., Rogov, P., Sahalie, J., Settipalli, S., Sharpe, T., Shea, T., Sheehan, M., Sherpa, N., Shi, J., Shih, D., Sloan, J., Smith, C., Sparrow, T., Stalker, J., Stange-Thomann, N., Stavropoulos, S., Stone, C., Stone, S., Sykes, S., Tchuinga, P., Tenzing, P., Tesfaye, S., Thoulutsang, D., Thoulutsang, Y., Topham, K., Topping, I., Tsamla, T., Vassiliev, H., Venkataraman, V., Vo, A., Wangchuk, T., Wangdi, T., Weiland, M., Wilkinson, J., Wilson, A., Yadav, S., Yang, S., Yang, X., Young, G., Yu, Q., Zainoun, J., Zembek, L., Zimmer, A. and Lander, E. S. 2005. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature* **438**: 803-819.

Lindström, E.R., Andrén, H., Angelstam, P., Cederlund, G., Hörnfeldt, B., Jäderberg, L., Lemnell, P.A., Martinsson, B., Sköld, K. and Swenson, J. E. 1994. Disease reveals the predator: sarcoptic mange, red fox predation, and prey populations. *Ecology* **75**: 1042-1049.

Lowenstein, M., Kahlbacher, H. and Peschke, R. 2004. On the substantial variation in serological responses in pigs to *Sarcoptes scabiei* var. *suis* using different commercially available indirect enzyme-linked immunosorbent assays. *Parasitology Research* **94**: 24-30.

Lower, K.S., Medleau, L.M., Hnilica, K. and Bigler, B. 2001. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the serological diagnosis of sarcoptic mange in dogs. *Veterinary Dermatology* **12**: 315-320.

Lucas, T. C., Moorcroft, E. A., Freeman, R., Rowcliffe, J. M. and Jones, K. E. 2015. A generalised

- random encounter model for estimating animal density with remote sensor data. *Methods in Ecology and Evolution* **6**: 500-509.
- Machida, N., Kiryu, K., Oh-Ishi, K., Kanda, E., Izumisawa, N. and Nakamura, T. 1993. Pathology and epidemiology of canine distemper in raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*). *Journal of Comparative Pathology* **108**: 383-392.
- Mackenstedt, U., Jenkins, D. and Romig, T. 2015. The role of wildlife in the transmission of parasitic zoonoses in peri-urban and urban areas. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* **4**: 71-79.
- Måkinen, A., Kuokkanen, M. T. and Valtonen, M. 1986. A chromosome - banding study in the Finnish and the Japanese raccoon dog. *Hereditas* **105**: 97-105.
- Makouloutou, P., Suzuki, K., Yokoyama, M., Takeuchi, M., Yanagida, T. and Sato, H. 2015. Involvement of two genetic lineages of *Sarcoptes scabiei* mites in a local mange epizootic of wild mammals in Japan. *Journal of Wildlife Diseases* **51**: 69-78.
- Marshall, T., Slate, J., Kruuk, L. and Pemberton, J. 1998. Statistical confidence for likelihood - based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology* **7**: 639-655.
- Martin, R., Handasyde, K. and Skerratt, L. 1998. Current distribution of sarcoptic mange in wombats. *Australian Veterinary Journal* **76**: 411-414.
- 増田隆一・福江佑子・谷地森秀二・浦口宏二. 2009a. タヌキとキツネの多様性科学. *哺乳類科学* **49**: 137-141.
- 増田隆一・嶋谷ゆかり・大石琢也・合田直樹・田島沙羅・佐藤丈寛. 2009b. 食肉目の遺伝子分析を目的としたサンプリング法, 遺伝子分析技術, 遺伝情報の解析法および研究事例. *哺乳類科学* **49**: 283-302.
- 松林尚志・石坂真悟・中川徹・中村幸人. 2009. 多摩川源流域の中大型哺乳類相:-食害予防のためのセンサーカメラによる事前調査. *東京農業大学農学集報* **54**: 110-115.
- 松木吏弓・竹内亨・阿部聖哉・梨本真. 2006. タヌキにおけるマイクロサテライト DNA によ

- る個体識別. *DNA 多型* **14**: 188-192.
- 松本郁実・高島一昭・山根剛・山根義久・岡野司・浅野玄. 2011. 鳥取県中西部における疥癬に罹患したタヌキの保護頭数の推移. *Journal of Animal Clinical Medicine* **20**: 13-17.
- 松尾典子・谷口裕子・大滝倫子. 2015. 動物疥癬の1家族例 タヌキから感染した飼いイヌとの接触により発症. *臨床皮膚科* **69**: 431-434.
- 松山亮太・浅野玄・鈴木正嗣. 2016. データを目の前にして感じる Disease Ecology の必要性 -タヌキの疥癬を事例として. *日本野生動物医学会誌* **21**: 59-63.
- Matsuyama, R., Yabusaki, T., Kuninaga, N., Morimoto, T., Okano, T., Suzuki, M. and Asano, M. 2015. Coexistence of two different genotypes of *Sarcoptes scabiei* derived from companion dogs and wild raccoon dogs in Gifu, Japan: The genetic evidence for transmission between domestic and wild canids. *Veterinary Parasitology* **212**: 356-360.
- Matsuyama, R., Yabusaki, T., Senjyu, N., Okano, T., Baba, M., Tsuji-Matsukane, T., Yokoyama, M., Kido, N., Kadosaka, T., Kato, T., Suzuki, M. and Asano, M. 2019. Possible transmission of *Sarcoptes scabiei* between herbivorous Japanese serows and omnivorous Caniformia in Japan: a cryptic transmission and persistence? *Parasit Vectors* **12**: 389.
- McCallum, H., Barlow, N. and Hone, J. 2001. How should pathogen transmission be modelled? *Trends in Ecology and Evolution* **16**: 295-300.
- McCarthy, J. S., Kemp, D. J., Walton, S. F. and Currie, B. J. 2004. Scabies: more than just an irritation. *Postgraduate Medical Journal* **80**: 382-387.
- McCoy, K. D., Boulinier, T., Tirard, C. and Michalakis, Y. 2003. Host - dependent genetic structure of parasite populations: differential dispersal of seabird tick host races. *Evolution* **57**: 288-296.
- McDevitt, H. O. 2000. Discovering the Role of the Major Histocompatibility Complex in the Immune Response. *Annual Review of Immunology* **18**: 1-17.
- Mitsuhashi, I., Sako, T., Teduka, M., Koizumi, R., Saito, M. U. and Kaneko, Y. 2018. Home range of

- raccoon dogs in an urban green area of Tokyo, Japan. *Journal of Mammalogy* **99**: 732-740.
- Moll, R. J., Millspaugh, J. J., Beringer, J., Sartwell, J., He, Z., Eggert, J. A. and Zhao, X. 2009. A terrestrial animal-borne video system for large mammals. *Computers and Electronics in Agriculture* **66**: 133-139.
- Morgan, M. S., Arlian, L. G. and Markey, M. P. 2013. *Sarcoptes scabiei* mites modulate gene expression in human skin equivalents. *PLoS One* **8**: e71143.
- 森光由樹. 2012. 捕獲と標識技術. 野生動物管理—理論と技術— (羽山伸一・三浦慎悟・梶光一・鈴木正嗣, 編), pp. 171-201. 文永堂出版, 東京.
- Morner, T. 1992. Sarcoptic mange in Swedish wildlife. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)* **11**: 1115-1121.
- Morner, T. and Christensson, D. 1984. Experimental infection of red fox (*Vulpes vulpes*) with *Sarcoptes scabiei* var. *vulpes*. *Veterinary Parasitology* **15**: 159-164.
- Morner, T., Obendorf, D., Artois, M. and Woodford, M. 2002. Surveillance and monitoring of wildlife diseases. *Revue Scientifique et Technique-Office international des epizooties* **21**: 67-76.
- 中川一恵. 1991. 神奈川県におけるアライグマの野生化. *神奈川自然誌資料* **12**: 17-19.
- 中島理紗子・三輪田祥江・濱野佐代子・福江佑子・金子弥生. 2008. 食肉目調査に関わる動物福祉面の現況調査—野生動物の安楽死の実態と研究調査者に与える影響. *哺乳類科学* **48**: 281-291.
- Nakatani, J. and Ono, Y. 1994. Social groupings of Japanese wild boar *Sus scrofa leucomystax* and their changes in the Rokko Mountains. *Journal of the Mammalogical Society of Japan* **19**: 45-55.
- Navajas, M., Gutierrez, J., Bonato, O., Bolland, H. and Mapangou-Divassa, S. 1994. Intraspecific diversity of the cassava green mite *Mononychellus progresivus* (Acari: Tetranychidae) using comparisons of mitochondrial and nuclear ribosomal DNA sequences and cross-breeding. *Experimental and Applied Acarology* **18**: 351-360.

- Neff, M. W., Broman, K. W., Mellersh, C. S., Ray, K., Acland, G. M., Aguirre, G. D., Ziegle, J. S., Ostrander, E. A. and Rine, J. 1999. A second-generation genetic linkage map of the domestic dog, *Canis familiaris*. *Genetics* **151**: 803-820.
- Neiderud, C. J. 2015. How urbanization affects the epidemiology of emerging infectious diseases. *Infection Ecology and Epidemiology* **5**: 27060.
- Nie, W., Wang, J., Perelman, P., Graphodatsky, A. S. and Yang, F. 2003. Comparative chromosome painting defines the karyotypic relationships among the domestic dog, Chinese raccoon dog and Japanese raccoon dog. *Chromosome Research* **11**: 735-740.
- Nielsen, C. L. R. and Nielsen, C. K. 2007. Multiple paternity and relatedness in southern Illinois raccoons (*Procyon lotor*). *Journal of Mammalogy* **88**: 441-447.
- Ninomiya, H. and Ogata, M. 2005. Sarcoptic mange in free-ranging raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) in Japan. *Veterinary Dermatology* **16**: 177-182.
- 野口和恵. 2002. 香川県におけるタヌキ *Nyctereutes procyonoides* の精巢の季節的变化. *哺乳類科学* **42**: 167-170.
- 農林水産省. 2018. 野生鳥獣被害防止マニュアルーアライグマ、ハクビシン、タヌキ、アナグマ（中型獣類編）. http://www.maff.go.jp/j/seisan/tyozyu/higai/h_manual/H29_manual_tyuugata_jyuurui/attaca/pdf/180330-4.pdf, 2019年11月18日確認.
- 農林水産省. 2019. 豚コレラ及びアフリカ豚コレラ対策について. <https://www.kantei.go.jp/jp/singi/toncholera/20191004/siryoku.pdf>, 2019年11月21日確認.
- 小原巖. 1983. 岡山県中部および北部におけるタヌキの年齢構成. *The Journal of the Mammalogical Society of Japan* **9**: 204-207.
- O'Brien, T. G., Kinnaird, M. F. and Wibisono, H. T. 2003. Crouching tigers, hidden prey: Sumatran tiger and prey populations in a tropical forest landscape. *Animal Conservation* **6**: 131-139.
- Ogden, R. and Linacre, A. 2015. Wildlife forensic science: A review of genetic geographic origin assignment. *Forensic Science International: Genetics* **18**: 152-159.

- 岡部貴美子・亘悠哉・矢野泰弘・前田健・五箇公一. 2019. マダニが媒介する動物由来新興感染症対策のための野生動物管理. *保全生態学研究* **24**: 109-124.
- 岡野司・大沼学. 2015. ツシマテン (*Martes melampus tsuensis*) における精巢および陰茎骨形態の経時的変化と陰茎骨を用いた齢査定. *日本野生動物医学会誌* **20**: 1-7.
- Oleaga, A., Alasaad, S., Rossi, L., Casais, R., Vicente, J., Maione, S., Soriguer, R. C. and Gortazar, C. 2013. Genetic epidemiology of *Sarcoptes scabiei* in the Iberian wolf in Asturias, Spain. *Veterinary Parasitology* **196**: 453-459.
- Oleaga, A., Casais, R., Balseiro, A., Espi, A., Llana, L., Hartasanchez, A. and Gortazar, C. 2011. New techniques for an old disease: sarcoptic mange in the Iberian wolf. *Veterinary Parasitology* **181**: 255-266.
- Oleaga, A., Casais, R., Gonzalez-Quiros, P., Prieto, M. and Gortazar, C. 2008. Sarcoptic mange in red deer from Spain: improved surveillance or disease emergence? *Veterinary Parasitology* **154**: 103-113.
- 大滝倫子. 1998. 疥癬の流行. *Medical Entomology Zoology* **49**: 15-26.
- 大東-伊藤絵理子・神崎伸夫. 1998. 近・現代のニホンイノシシの個体群トレンド. *野生生物保護* **3**: 95-105.
- Paetkau, D., Amstrup, S. C., Born, E., Calvert, W., Derocher, A., Garner, G., Messier, F., Stirling, I., Taylor, M. and Wiig, Ø. 1999. Genetic structure of the world's polar bear populations. *Molecular Ecology* **8**: 1571-1584.
- Peltier, S. K., Brown, J. D., Terner, M., Niedringhaus, K. D., Schuler, K., Bunting, E. M., Kirchgessner, M. and Yabsley, M. J. 2017. Genetic Characterization of *Sarcoptes scabiei* from Black Bears (*Ursus americanus*) and Other Hosts in the Eastern United States. *Journal of Parasitology* **103**: 593-597.
- Pence, D. B. and Ueckermann, E. 2002. Sarcoptic mange in wildlife. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)* **21**: 385-398.

- Pence, D. B. and Windberg, L. A. 1994. Impact of a sarcoptic mange epizootic on a coyote population. .
The Journal of Wildlife Management **58**: 624-633.
- Perez-Barberia, F.J., Olivan, M., Osoro, K. and Nores, C. 1997. Sex, seasonal and spatial differences
in the diet of Cantabrian chamois *Rupicapra pyrenaica parva*. *Acta Theriologica* **42**: 37-46.
- Perez, J. M., Ruiz-Martinez, I., Granados, J. E., Soriguer, R. C. and Fandos, P. 1997. The dynamics
of sarcoptic mange in the ibex population of Serra Nevada in Spain—Influence of climatic
factors. *Journal of Wildlife Research* **2**: 86-89.
- Pritchard, J.K., Stephens, M. and Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus
genotype data. *Genetics* **155**: 945-959.
- Ramsey, D., Spencer, N., Caley, P., Efford, M., Hansen, K., Lam, M. and Cooper, D. 2002. The effects
of reducing population density on contact rates between brushtail possums: implications for
transmission of bovine tuberculosis. *Journal of Applied Ecology* **39**: 806-818.
- Rasero, R., Rossi, L., Soglia, D., Maione, S., Sacchi, P., Rambozzi, L., Sartore, S., Soriguer, R.C.,
Spalenza, V. and Alasaad, S. 2010. Host taxon-derived *Sarcoptes* mite in European wild
animals revealed by microsatellite markers. *Biological Conservation* **143**: 1269-1277.
- Raza, N., Qadir, S. and Agha, H. 2009. Risk factors for scabies among male soldiers in Pakistan: case-
control study. *Eastern Mediterranean Health Journal* **15**: 1105-1110.
- Roemer, G. W., Smith, D. A., Garcelon, D. K. and Wayne, R. K. 2001. The behavioural ecology of
the island fox (*Urocyon littoralis*). *Journal of Zoology* **255**: 1-14.
- Rousset, F. 2008. GENEPOP'007: a complete re-implementation of the genepop software for
Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* **8**: 103-106.
- Rowcliffe, J. M., Field, J., Turvey, S. T. and Carbone, C. 2008. Estimating animal density using
camera traps without the need for individual recognition. *Journal of Applied Ecology* **45**:
1228-1236.
- Rutledge, L. Y., Garroway, C. J., Loveless, K. M. and Patterson, B. R. 2010. Genetic differentiation

- of eastern wolves in Algonquin Park despite bridging gene flow between coyotes and grey wolves. *Heredity* **105**: 520-531.
- Saeki, M. 2001. Ecology and conservation of the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) in Japan. PhD dissertation. Oxford. UK. pp. 294.
- 佐伯緑. 2008. 里山の動物の生態－ホンダタヌキ. 日本の哺乳類学②－中型哺乳類・霊長類 (高槻成紀・山極寿一, 編), pp. 321-345. 東京大学出版会, 東京.
- Saeki, M. and Macdonald, D. 2004. The effects of traffic on the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides viverrinus*) and other mammals in Japan. *Biological Conservation* **118**: 559-571.
- 佐伯緑・竹内正彦. 2008. タヌキによる農作物被害の現状とその対策 (1) タヌキの生態と農作物被害の現状. *農業および園芸* **83**: 657-665.
- Saeki, M., Johnson, P. J. and Macdonald, D.W. 2007. Movements and habitat selection of raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) in a mosaic landscape. *Journal of Mammalogy* **88**: 1098-1111.
- Saito, M. U. and Sonoda, Y. 2017. Symptomatic Raccoon Dogs and Sarcoptic Mange Along an Urban Gradient. *Ecohealth* **14**: 318-328.
- Saito, W., Amaike, Y., Sako, T., Kaneko, Y. and Masuda, R. 2016. Population Structure of the Raccoon Dog on the Grounds of the Imperial Palace, Tokyo, Revealed by Microsatellite Analysis of Fecal DNA. *Zoological Science* **33**: 485-490.
- Saitou, N and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution* **4**: 406-425.
- 佐鹿万里子・森田達志・的場洋平・岡本実・谷山弘行・猪熊壽・浅川満彦. 2009. 野生アライグマ *Procyon lotor* にみられた疥癬の 1 例. *Japanese journal of zoo and wildlife medicine* **14**: 125-128.
- Sato, Y., Itoh, T., Mori, Y., Satoh, Y. and Mano, T. 2011. Dispersal of male bears into peripheral

- habitats inferred from mtDNA haplotypes. *Ursus* **22**: 120-132.
- Schnabel, Z. E. 1938. The estimation of the total fish population of a lake. *The American Mathematical Monthly* **45**: 348-352.
- Scott, D. W. and Miller, W. H., Jr. 2013. A retrospective study of 350 dogs suspected of having scabies (1988-1998). *The Japanese Journal of Veterinary Dermatology* **19**: 3-9.
- Seki, Y. and Koganezawa, M. 2017. Does sika deer overabundance exert cascading effects on the raccoon dog population? *Journal of Forest Research* **18**: 121-127.
- 關義和・鈴木貴大. 2018. 神奈川県箱根町南部におけるツキノワグマの生息確認. *哺乳類科学* **58**: 247-252.
- Shibata, A. 2004. Studies on mange of wildlife in Japan. PhD dissertation. Nippon Veterinary and Life Science University.
- Shibata, F. and Kawamichi, T. 1999. Decline of raccoon dog populations resulting from sarcoptic mange epizootics. *Mammalia* **63**: 281-290.
- 柴田久美子・永田雅彦. 2002. 犬の医原性および自然発生クッシング症候群における臨床徴候の比較. *獣医臨床皮膚科* **8**: 87-92.
- Siddle, H. V., Marzec, J., Cheng, Y., Jones, M. and Belov, K. 2010. MHC gene copy number variation in Tasmanian devils: implications for the spread of a contagious cancer. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **277**: 2001-2006.
- Skerratt, L. F. and Beveridge, I. 1999. Human scabies of wombat origin. *Australian Veterinary Journal* **77**: 607.
- Ślaska, B. and Jeżewska, G. 2008. Bi-paternal Litter in Finn Raccoon (*Nyctereutes procyonoides*, Gray 1834) Detected by Polymorphic DNA Markers. *Folia Biologica* **56**: 193-195.
- Ślaska, B., Zięba, G. and Jeżewska-Witkowska, G. 2007. Raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*, Gray) parentage testing based on STR markers. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities* **10**: 16.

- Soga, M. and Koike, S. 2013. Large forest patches promote breeding success of a terrestrial mammal in urban landscapes. *PLoS One* **8**: e51802.
- Soglia, D., Rasero, R., Rossi, L., Sartore, S., Sacchi, P. and Maione, S. 2016. Microsatellites as markers for comparison among different populations of *Sarcoptes scabiei*. *Italian Journal of Animal Science* **6**: 214-216.
- 園田陽一・倉本宣. 2008. 多摩丘陵および関東山地における非飛翔性哺乳類の種組成に対する森林の孤立化の影響. *応用生態工学* **11**: 41-49.
- Sorin, A. B. 2004. Paternity assignment for white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*): mating across age classes and multiple paternity. *Journal of Mammalogy* **85**: 356-362.
- Soulsbury, C. D. and White, P. C. 2016. Human-wildlife interactions in urban areas: a review of conflicts, benefits and opportunities. *Wildlife research* **42**: 541-553.
- Spalding, M. G. and Forrester, D. J. 1993. Disease monitoring of free-ranging and released wildlife. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **24**: 271-280.
- Stoehr, A. M. and Hill, G. E. 2000. Testosterone and the allocation of reproductive effort in male house finches (*Carpodacus mexicanus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* **48**: 407-411.
- Sue, P. 2010. 犬と猫の皮膚病治療マニュアル. インターズー, 東京. 392pp.
- Sugg, D. W. and Chesser, R. K. 1994. Effective population sizes with multiple paternity. *Genetics* **137**: 1147-1155.
- 杉浦晃介・佐藤謙・藤井純一・水尾君尾・吉田剛司. 2014. 夕張岳の高山帯における自動撮影カメラを用いたエゾシカ侵入状況の把握. *酪農学園大学紀要* **38**: 111-117.
- Sugiura, N., Doi, K., Kato, T., Morita, T. and Hayama, S. 2018. Epizootic of sarcoptic mange in raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) in relation to population density. *The Journal of Veterinary Medical Science* **80**: 544-548.
- Sutor, A. 2007. Dispersal of the alien raccoon dog *Nyctereutes procyonoides* in Southern Brandenburg, Germany. *European Journal of Wildlife Research* **54**: 321-326.

- Sutor, A. and Schwarz, S. 2011. Home ranges of raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*, Gray, 1834) in Southern Brandenburg, Germany. *European Journal of Wildlife Research* **58**: 85-97.
- 鈴木正嗣. 2010. 成熟期に入った野生動物獣医学に求められること: 生態学的・保全生物学的な知識と洞察の必要性. *Journal of the Japan Veterinary Medical Association* **63**: 390-394.
- Suzuki, T., Aoi, T. and Maekawa, K. 2003. Spacing pattern of introduced female raccoons (*Procyon lotor*) in Hokkaido, Japan. *Mammal Study* **28**: 121-128.
- 鈴木義孝・杉村誠・金子清俊. 1981. 岐阜県下の野生タヌキにおける疥癬症の蔓延について. *岐阜大学農学部研究報告* **45**: 151-156.
- 立木靖之. 2015. 市街地に出没するヒグマ・エゾシカの状況と対応. *森林野生動物研究会誌* **40**: 41-44.
- Takahashi, M., Nogami, S., Misumi, H., Maruyama, S., Shiibashi, T., Yamamoto, Y. and Sakai, T. 2001a. Mange caused by *Sarcoptes scabiei* (Acari: Sarcoptidae) in wild raccoon dogs *Nyctereutes procyonoides*, in Kanagawa prefecture, Japan. *The Journal of Veterinary Medical Science* **63**: 457-460.
- Takahashi, M., Misumi, H., Nogami, S., Takahama, M. and Hirayama, K. 2001b. Severe sarcoptic mange in the raccoon dog, *Nyctereutes procyonoides*, in Saitama and Gunma Prefecture, Japan. *Medical Entomology and Zoology* **52**: 67-71.
- 高見一利・渡邊有希子・坪田敏男・福井大祐・大沼学・山本麻衣・村田浩一. 2012. 野生動物の感染症管理にどのように取り組むべきか. *日本野生動物医学会誌* **17**: 33-42.
- Takayama, I., Kubo, M., Takenaka, A., Fujita, K., Sugiyama, T., Arai, T., Yoneda, M., Sato, H., Yanai, T. and Kai, C. 2009. Pathological and phylogenetic features of prevalent canine distemper viruses in wild masked palm civets in Japan. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* **32**: 539-549.
- Takeuchi, M. and Koganezawa, M. 1992. Home range and habitat utilisation of the red fox *Vulpes*

- vulpes in the Ashio Mountains, central Japan. *Journal of the Mammalogical Society of Japan* **17**: 95-110.
- 田中浩. 2009. 山口県山口市におけるホンダヌキの育児行動. *山口県立山口博物館研究報告* **35**: 25-32.
- 谷健二. 2006. 毛包虫症の臨床徴候・検査・診断と免疫. *ViVeD* **2**: 299-303.
- 常田邦彦. 2007. カモシカ保護管理の四半世紀—文化財行政と鳥獣行政—. *哺乳類科学* **47**: 139-142.
- Tompkins, D. M., Dunn, A. M., Smith, M. J. and Telfer, S. 2011. Wildlife diseases: from individuals to ecosystems. *Journal of Animal Ecology* **80**: 19-38.
- 坪田敏男. 2016. 北海道の野生動物におけるマダニ媒介性感染症の宿主—ベクター—病原体の関係. *日本野生動物医学会誌* **21**: 47-51.
- 辻知香・横山真弓. 2012. 都市に侵入する野生動物に対応するための体制づくりを考える. *ワイルドライフ・フォーラム* **16**: 16-17.
- 塚田英晴・岡田秀明・山中正実・野中成晃・奥祐三郎. 1998. 知床半島のキタキツネにおける疥癬の発生と個体数の減少について. *哺乳類科学* **39**: 247-256.
- Tsunoda, M., Kaneko, Y., Sako, T., Koizumi, R., Iwasaki, K., Mitsuhashi, I., Saito, M. U., Hisano, M., Newman, C., Macdonald, D. W. and Buesching, C. D. 2018. Human disturbance affects latrine - use patterns of raccoon dogs. *The Journal of Wildlife Management* **83**: 728-736.
- 内川公人. 2001. ヒゼンダニの生物学. *病原微生物検出情報* **22**: 246-247.
- 浦口宏二. 2015. 市街地に出没するキタキツネの実態とエキノコックス症. *森林野生動物研究会誌* **40**: 45-49.
- Valenzuela, D., Ceballos, G. and García, A. 2000. Mange epizootic in white-nosed coatis in western Mexico. *Journal of Wildlife Diseases* **36**: 56-63.
- Valtonen, M.H., Rajakoski, E. and Mäkelä, J. 1977. Reproductive features in the female raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*). *Reproduction* **51**: 517-518.

- Van Doornik, D.M., Parker, S.J., Millard, S.R., Berntson, E.A. and Moran, P. 2008. Multiple paternity is prevalent in Pacific ocean perch (*Sebastes alutus*) off the Oregon coast, and is correlated with female size and age. *Environmental Biology of Fishes* **83**: 269-275.
- Varshney, R. K., Graner, A. and Sorrells, M. E. 2005. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *Trends Biotechnol* **23**: 48-55.
- Walton, S. F., Dougall, A., Pizzutto, S., Holt, D., Taplin, D., Arlian, L. G., Morgan, M., Currie, B. J. and Kemp, D. J. 2004. Genetic epidemiology of *Sarcoptes scabiei* (Acari: Sarcoptidae) in northern Australia. *International Journal for Parasitology* **34**: 839-849.
- Ward, O. G. and Wurster-Hill, D. H. 1989. Ecological Studies of Japanese Raccoon Dogs, *Nyctereutes procyonoides viverrinus*. *Journal of Mammalogy* **70**: 330-334.
- Weaver, S. C. 2013. Urbanization and geographic expansion of zoonotic arboviral diseases: mechanisms and potential strategies for prevention. *Trends in Microbiology* **21**: 360-363.
- Wobeser, G. 2002. Disease management strategies for wildlife. *Revue Scientifique et Technique-Office international des epizooties* **21**: 159-178.
- 谷地森秀二・山本裕治・高田豊行・吉川欣亮・今井清. 1997. 「休息場」利用状況および分子生物学的技術による野生ホンダヌキの家族関係と推定. *哺乳類科学* **36**: 153-164.
- 山端輝一・広池忠夫・岩渕功・金子晋・島田健次郎. 1982. 豚の疥癬症とその治験例. *日本獣医師会雑誌* **60**: 249-264.
- 山田雄作・難波有希子. 2017. カモシカによる農作物被害に対する電気柵による防除: 群馬県嬭恋村の事例. *群馬県立自然史博物館研究報告* **21**: 97-100.
- Yamamoto, I. 1984. Latrine utilization and feces recognition in the raccoon dog, *Nyctereutes procyonoides*. *Journal of Ethology* **2**: 47-54.
- 山本貞司・高橋守・野上貞雄. 1998. 群馬県富岡・甘楽地方の野生のタヌキにみられた疥癬について. *Medical Entomology Zoology* **49**: 217-222.
- Yamamoto, T., Tamatani, H., Tanaka, J., Kamiike, K., Yokoyama, S., Koyama, M. and Kajiwara, M.

2013. Multiple paternity in Asian black bear *Ursus thibetanus* (Ursidae, Carnivora) determined by microsatellite analysis. *Mammalia* 77: 215-217.
- 山本祐治・寺尾晃二・堀口忠恭・森田美由紀・谷地森秀二. 1994. 長野県入笠山におけるホンダヌキの行動圏と分散. *自然環境科学研究* 7: 53-61.
- Yamane, I. 2006. Epidemics of emerging animal diseases and food-borne infection problems over the last 5 years in Japan. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1081: 30-38.
- 安田雅俊・栗原智昭・緒方俊輔. 2012. 宮城県北部におけるカモシカの生息記録の分布の特徴. *哺乳類科学* 52: 41-45.
- Yuasa, T., Nagata, J., Hamasaki, S., Tsuruga, H. and Furubayashi, K. 2006. The impact of habitat fragmentation on genetic structure of the Japanese sika deer (*Cervus nippon*) in southern Kantoh, revealed by mitochondrial D-loop sequences. *Ecological Research* 22: 97-106.