

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 松尾 史朗

本論文は兵庫県におけるホンシュウジカに寄生する *Sarcocystis* 属原虫に関する研究成果をまとめたもので、内容は序論、第 1 章では寄生状況の調査を、第 2 章では形態学的検討を、第 3 章ではその遺伝学的位置の決定を、そして第 4 章では感染実験による終宿主の解明を行っている。研究成果を要約すると以下の通りとなる。

サルコシスティス (*Sarcocystis*) 属原虫はアピコンプレックス門 (Apicomplexa) に属する孢子虫綱コクシジウム目サルコシスティス科に属する原虫で、中間宿主の筋肉中に肉眼でもみられるような大型のシストであるサルコシストを形成する。本属の原虫は生活環を完遂するために終宿主と中間宿主となる 2 種類の宿主を必要とする。終宿主はヒトを含む霊長類と肉食動物、中間宿主は草食性や雑食性動物、ウサギやげっ歯類や鳥類も含まれる。中間宿主および終宿主とも宿主特異性が比較的高いと考えられている。中間宿主から終宿主への感染はサルコシストを摂食することにより、また終宿主から中間宿主への感染は終宿主の糞便中に排泄されるスポロシストを摂食することによる。

わが国では、中山間部におけるニホンジカおよびイノシシによる獣害がクローズアップされてきており、狩猟と有害駆除によって捕獲が行われている。食肉家畜の普及が西洋に較べて劣っていたわが国では、これら野生獣肉は古来より重要な蛋白源として供給されてきたが、ニホンジカは十数年前まで捕獲数も僅かで食用としてはイノシシほど一般的ではなかった。しかしこの十数年で全国的に飛躍的に生息数を増やし、狩猟獣は狩猟家とその周辺の人々によって消費されてきたが、最近ではニホンジカに対して民間や行政による肉の有効利用が提唱されている。しかしニホンジカの *Sarcocystis* の現状に関する報告は未だ十分なものとは言えない。今回兵庫県におけるニホンジカの狩猟の機会を得たのでその実態について調査研究を行った。

1. 兵庫県のホンシュウジカにおける *Sarcocystis* の寄生状況

狩猟および有害駆除を目的として兵庫県中部山岳地帯の宍粟市福知下三方地区で捕獲されたホンシュウジカ (*Cervus nippon centralis*) 64 頭を年齢別 (1 歳未満～5 歳) および部位別 (心筋、横隔膜筋、大腿二頭筋、および最背長筋) に材料を採取し、そこに見られたサルコシストの寄生率を調査した。調査したホンシュウジカにおける寄生率は 81.3% と高率を示した。年齢別では 1 歳以降の個体の感染率に明瞭な差異は見られなかったが、1 歳未満の子ジカには寄生が認められなかった。部位別の調査では心筋、横隔膜筋、後肢大腿二頭筋、および背最長筋間での感染率にはほぼ有意差が認められなかったものの、寄生密度は心筋で有意に高い結果が得られた。この結果が、調査したホンシュウジカに複数の種が寄生しているのか、単一種である程度の心臓嗜好性があるのかは明らかにできなかった。得られたサルコシストはいずれの部位に寄生するものも長円形を呈し、大きさにはかなりの変異 ($445.5 \sim 1064.3 \times 99.0 \sim 247.5 \mu\text{m}$; 平均 $678.6 \times 174.2 \mu\text{m}$) が見られた。今回の調査で観察された *Sarcocystis* はこれまでわが国で報告されている種とは形態学的に異なっていることが示唆された。本章の内容をまとめた投稿論文は獣医疫学会 2014 年度の最優秀論文賞を受賞している。

2. 兵庫県のホンシュウジカからの *Sarcocystis* の形態学的検討

兵庫県のホンシュウジカの *Sarcocystis* 種の寄生状況を調べるために筋肉中のサルコシストを確認していたところ、そのサイズや形態に差異が見られた。そこでサルコシストの形態を調べるために光学顕微鏡と電子顕微鏡を用いて形態学的特徴を調べた。サルコシストとブラディゾイトの総数の関連性を求めた結果、サルコシストの大きさとブラディゾイトの数については正の相関がみられ、サルコシストのサイズの違いは発育程度によるものであることが示唆された。サルコシストの形態学的検討では、シストの壁構造の比較が有用とされており、異種間のサルコシストの形態学的差異の比較についてはシスト壁の外側に見られる絨毛状突起の形態比較が有用であることからこれを利用し、世界各地で報告されているシカ由来種のなかではトナカイ (*Rangifer tarandus*) およびアカシカ (*Cervus elaphus*) から記載されている *S. grueneri* に今回検出されたサルコシストが最も類似していたが、検討したいずれの

種とも異なった未記載種である可能性を示唆するものであった。

3. 兵庫県のホンシュウジカ由来 *Sarcocystis* の分子分類学的検討

兵庫県に生息するホンシュウジカに寄生する *Sarcocystis* のサルコシストは第2章における形態学的検討から形の異なる針型、唐辛子型、卵円型の3つの型に分けられた。しかしこれら3つの型は *18S rDNA* 遺伝子解析から全て同じ種であることが判明した。この *Sarcocystis* の分類学的位置を *18S rDNA* および *cox1* 遺伝子を用いて検討した。その結果、シカ由来 *Sarcocystis* 属原虫の *cox1* 遺伝子による分類から今回の研究種である *Sarcocystis* はこれまで報告されてきた種とは独立したクレードに分類されることが明らかとなった。このことから遺伝子解析からは本種はこれまでに報告されていない単一種である可能性を示唆するものであった。

4. 兵庫県のホンシュウジカからの *Sarcocystis* のイヌへの感染試験

兵庫県のホンシュウジカの筋肉内から検出されたサルコシストを含有するホンシュウジカ心筋を2頭の犬に与えて感染試験をする機会を得た。目的としては感染が成立するかどうか、およびそのプレパテントピリオドは何日であるのかを確認することである。サルコシスト投与前には検出されなかったスポロシストが投与後5ないし6日目に排泄が確認された。このことにより本種はイヌが終宿主となることが証明され、そして本種のプレパテントピリオドは5～6日であることが判明した。これらのことから、形態学的、遺伝子学的、およびプレパテントピリオドの違いから兵庫県から検出された *Sarcocystis* は既知種とは異なった新種であることが示唆され、さらに本種は終宿主がイヌ科動物—中間宿主がシカで生活環が維持されていることが判明した。

本研究の結果から兵庫県に生息するニホンジカの *Sarcocystis* は80%を超える感染率を示し、ニホンジカには濃厚に感染していることが判明した。またわが国の他の地域から検出される種とは異なる種が主に生息していることが判明した。その生活環はイヌ科動物を終宿主に、シカが中間宿主になることが明らかになり、狩猟における狩猟犬のあり方やジビエとして食用肉としてのシカ肉の活用には十分な注意が払われる必要性を示すものであった。

以上のように、論文は従来シカの *Sarcocystis* の研究はその食文化から欧米が中心となり行われてきたものに対する日本のホンシュウジカの *Sarcocystis* 寄生の実態を映し出したものである。現在厚生労働省や環境省ではジビエ肉としてシカやイノシシの肉を積極的に食するように推奨している。

本論文はホンシュウジカの肉をジビエ肉として食するための注意点を提起する観点からもきわめて重要な知見であり、学術上、応用上貢献することが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として十分な価値を有するものと認め、合格と判定した。