

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 周 洵

猛禽類はタカ目、フクロウ目、ハヤブサ目の総称で、日本国内にはタカ目 26 種、フクロウ目 11 種、ハヤブサ目 8 種が生息している。現在、「絶滅のおそれのある野生動植物の種の保存に関する法律（種の保存法）」および「鳥獣の保護と管理並びに狩猟の適正化に関する法律（鳥獣保護管理法）」に基づき国内の野生猛禽類全種の捕獲・飼育は原則禁止されている。一方、海外で繁殖された猛禽類が日本に輸入され、ペットとして一般家庭で飼育される機会が年々増加傾向にある。日本国内において、猛禽類は特定動物に指定されている一部のタカ目を除き、一般家庭での飼育に関しては許可の必要はなく、そのほとんどを海外より輸入しているのが現状である。この背景には、小説や映画の影響によるフクロウ目の認知度の高まりや、動物を展示する小規模施設（いわゆる鳥カフェや動物カフェ）の増加が挙げられる。海外より猛禽類を日本に輸入する際は、届出書と衛生証明書を日本の検疫所に提出する必要があるが、衛生証明書ではウエストナイルウイルス感染症や鳥インフルエンザに関する証明が必要ではあるが、その他病原体に関しては届出の義務はない。実際に輸入された鳥類において人獣共通感染症を引き起こす病原体の検出例も報告されている。

以上のように、日本では社会情勢により猛禽類の輸入が増加し、飼育動物診療施設等に訪れる機会が増加していることが想定されるが、それらが保有する病原体の知見については不明なものが多い。本研究では日本に輸入される猛禽類の寄生虫について調査を行い、その過程において見出したコクシジウム類について形態学的ならびに分子系統学的特徴について調べ、系統分類学的位置について再検討を行い、さらに既知のコクシジウム類との比較検討を行った。

1 猛禽類由来寄生虫の感染状況の調査

輸入猛禽類の糞便内寄生虫検査の結果、10 種の猛禽類が陽性となった。ハヤ

ブサ、セーカーハヤブサ、およびアカトビから回虫卵が、ミミヒダハゲワシより吸虫卵が検出された。一方、フクロウ目 5 種（アフリカオオコノハズク、カラフトフクロウ、コキンメフクロウ、シロフクロウ、メガネフクロウ）とハヤブサ目 1 種（コチョウゲンボウ）から大きさの異なる 2 種類のコクシジウムのオーシストを検出した。メガネフクロウから検出された小型の成熟オーシストは形態学的特徴より *Eimeria* 属と同定した。一方、大型の成熟オーシストは 1 つのスポロシスト、そのスポロシスト内に 8 つのスポロゾイトを備え、スポロシストにスチーダボディは確認できなかった。これらのことよりこのコクシジウムはオーシストの形態学的特徴から *Avispora* 属と同定した。*Avispora* 属コクシジウムの検出は日本国内で初めてのことで、またアフリカオオコノハズクとメガネフクロウについては初宿主報告となった。コクシジウムは一般的に伝播力が強いため、これまで日本国内で報告のなかったコクシジウムが日本における野生の猛禽類に感染する恐れもあり、注意深く様子を観察する必要があると考えられた。

2 猛禽類由来コクシジウムの形態学のおよび分子系統学的解析

2018 年にフクロウ 5 種より検出した *Avispora* 属コクシジウムはそのオーシストの形態学特徴から *Avispora henryae* と同定した。一方で文献調査の際、2016 年に提唱された *Avispora* 属の、(1) オーシスト内に 1 つのスポロシストを有し、(2) そのスポロシストにスチーダボディがない、という形態学的特徴はすでに 1933 年に *Eumonospora* 属の分類形質で提唱されており、*Avispora* 属は明らかな新参シノニムとなる。よってここに *Eumonospora* 属を再提唱し、*Avispora* 属は *Eumonospora* 属に再編する必要があると考えられた。更に *Eumonospora henryae* の 18S、28S、および *cox 1* 遺伝子配列の解読および解析から、遺伝子の塩基配列を決定した。2019 年にコチョウゲンボウより検出されたコクシジウムオーシストの形態も *Eumonospora* 属と一致し、DNA 解析した結果、*E. henryae* と一致した。今回、*E. henryae* がフクロウ目およびハヤブサ目に感染することが判明し、そのことによって *Eumonospora* 属は定説で

あった属レベルの宿主特異性ではなく、その種によって宿主特異性が異なることが示唆された。

3 猛禽類由来 *Eumonospora* 属コクシジウムの分子系統解析による分類

従来、コクシジウムのオーシスト内に1つのスポロシストと8つのスポロゾイトを形成する *Caryospora* 属や *Eumonospora* 属の様なコクシジウムはアイメリア科に分類されていた。しかし複数の研究で *Eumonospora* 属はサルコシステイス科と系統学的に近縁であることが示唆されている。従って、本研究では *Eumonospora* 属のアイメリア亜目内での系統分類学的位置を解明することを目的に研究を行った。*Eumonospora* 属の18S配列とアイメリア亜目の18Sデータセットを系統解析した結果、*Eumonospora* 属はサルコシステイス科に属し、トキソプラズマ亜科、シストイソスポラ亜科、*Hyaloklossia* 属、および *Nephroisospora eptesici* と単系統群となった。更に *Sarcocystis* 属を外群とした18S、28S、*cox1* 領域、およびそれぞれの領域を結合した結合配列の計6つのデータセット(18S、28S、*cox1*、18S+28S、18S+*cox1*、28S+*cox1*)を使用し、最尤法とベイズ推定にて系統樹を作成した。その結果全ての解析にて類似した系統樹が作成され、*Eumonospora* 属はトキソプラズマ亜科と姉妹群を形成した。一方、*Eumonospora* 属の系統樹トポロジーは宿主猛禽類系統樹と大きく類似する事も判明した。そして *E. henryae* が異なる目の鳥類から検出されたことは、本種に宿主転換が起きた可能性を示唆していた。サルコシステイス科は現在大きくトキソプラズマ亜科、シストイソスポーラ亜科、およびサルコシステイス亜科の3つの亜科に分類することができるが、本研究では *Eumonospora* 属の1つのスポロシストに8つのスポロゾイトという、明確に他亜科と区別がつく形態学的特徴を鑑別根拠とし、新亜科エウモノスポーラ (*Eumonosporinae*) を提唱した。更にこれまでのサルコシステイス科に関するオーシスト形態の定義についても再考する必要があることを示唆していた。

本研究は日本国内より連続して海外輸入猛禽類から *E. henryae* が検出され

たことを報告するものである。コクシジウムは環境耐性および化学耐性が高く、一旦環境に広まると根絶が難しい病原体である。*Eumonospora* 属は鳥類に対して病原性を有しており、この原虫が誤って輸入猛禽類から野外に分布した場合、日本在来鳥類は重症化または死亡する恐れがある。検疫をすり抜けて病原体が日本に侵入していると仮定すると、輸入動物検疫規定の抜本的な見直しも必要であると思われた。

本研究成果は今後における *Eumonospora* 属の分類学的およびサルコシステイス科の分子系統学的な基盤知見となると思われる。更なる知見を得るため日本在来および輸入鳥類の定期的寄生虫調査、*Eumonospora* 属の宿主域、寄生部位の確認、生活環、中間宿主または待機宿主の特定、シストの形成能力、および生物特性などの研究が必須であると思われる。しかし本属の病原性や病態解析および治療法については、終宿主が主に猛禽類であり、1 個体が高額で SPF 個体が入手できないことから感染実験による証明が困難である。従って、今後も宿主情報、臨床症状、および死亡個体の病理組織検査に関する情報を継続して収集していくことが望まれる。

以上のように、本論文は輸入猛禽類に感染している病原体、特にコクシジウムに的を絞った研究で、輸入猛禽類由来のコクシジウムが日本の野生猛禽類に伝播することがないように注意を促す上で、さらにコクシジウム類の分類体系の見直しに関しても、学術上、応用上貢献するところが少なくない。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。