

アジアの生物多様性ホットスポット地域において新たな人獣共通感染症の発生を予測する
Prospecting outbreaks of emerging zoonotic diseases in the biodiversity hotspots of Asia



坪田 敏男
Toshio Tsubota

近年、エボラ出血熱、新型インフルエンザ、デング熱、SARS・MARS など新興・再興感染症が世界規模でみられている。その多くは、元来野生動物が自然宿主として保有していた病原体が、土地開発や森林伐採、さらに商取引など人間活動の拡大によって人や家畜に広まったものである。本研究の目的・目標は、アジアの生物多様性ホットスポット地域において新興・再興人獣共通感染症の実態を把握し、将来の発生を予測することであった。マレーシア・サラワク州における野生ネズミ類でのマダニ媒介性感染症、北海道におけるヒグマおよびシカでのマダニ媒介性感染症ならびにネパールにおけるアジアゾウでの結核感染症について研究を進めた。

In recent years, emerging and re-emerging infectious diseases such as Ebola, H1N1 influenza, dengue fever, SARS and MARS have been observed on a global scale. Many of these pathogens, which were originally carried by wild animals as natural hosts, have spread to humans and livestock due to the expansion of human activities such as land development, deforestation and commercial trade. The aim of this study was to understand the actual situation of emerging and re-emerging zoonoses in Asian biodiversity hotspot areas and to predict future outbreaks. Studies were conducted on tick-borne infections in wild rodents in Sarawak, Malaysia, tick-borne infections in brown bears and deer in Hokkaido, Japan, and tuberculosis infections in Asian elephants in Nepal.

研究の背景と目的

近年、エボラ出血熱、新型インフルエンザ、デング熱、SARS・MARS など新興・再興感染症が世界規模でみられている。その多くは、元来野生動物が自然宿主として保有していた病原体が、土地開発や森林伐採、さらに商取引など人間活動の拡大によって人や家畜に広まったものである。近年の環境変化がその発生傾向を増大させている。

北海道大学大学院獣医学研究院獣医学専攻 教授
Faculty of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Professor
Email : tsubota@vetmed.hokudai.ac.jp

一度パンデミック感染が起こると、社会的および経済的に甚大なダメージを受けることは COVID-19 を見ても明らかである。このような感染拡大を防ぐためには、自然界とくに野生動物が保有している人獣共通感染症の実態を掴むことが肝要である。一方、希少動物がその数を減らす一因として致死感染症の蔓延が挙げられる。ゴリラやチンパンジーにおけるエボラ出血熱や、ライオン、トラおよびアザラシにおけるジステンパーなどがその例である。日本を含むアジアは生物多様性の宝庫とされるが、その重要な構成要素である大型哺乳類（アジアゾウやインドサイなど）が絶滅に瀕しており、その個体数減少要因の一つである致死感染症（結核やジステンパーなど）の実態について学術的研究が必要とされている。アジアのホットスポット地域では多様な野生動物が生息しているにも拘らず、人間活動の拡大に伴って絶滅に瀕する野生動物が増えている。これらの地域において感染症の侵淫状況を把握することは、生物多様性の保全のみならず人と野生動物の適切な関係を考える上で重要である。本研究の目的・目標は、アジアの生物多様性ホットスポット地域において新興・再興人獣共通感染症の実態を把握し、将来の発生を予測することである。とくに日本（北海道）、ネパール、マレーシアなどアジア地域におけるマダニ媒介性感染症（ボレリア、アナプラズマ、エーリキア、バベシアなど）や結核、鳥インフルエンザ等といった人獣共通感染症の野生動物およびベクター（マダニ、シラミ、ノミなど）への侵淫状況を明らかにする。また、同地域において、絶滅に瀕する希少動物（国際自然保護連合（IUCN）レッドリストに掲載されている絶滅危惧種）に致死感染症が侵淫しているか、既に侵淫している場合には感染率および伝播ルートを明らかにすることも研究目的の一つであった。

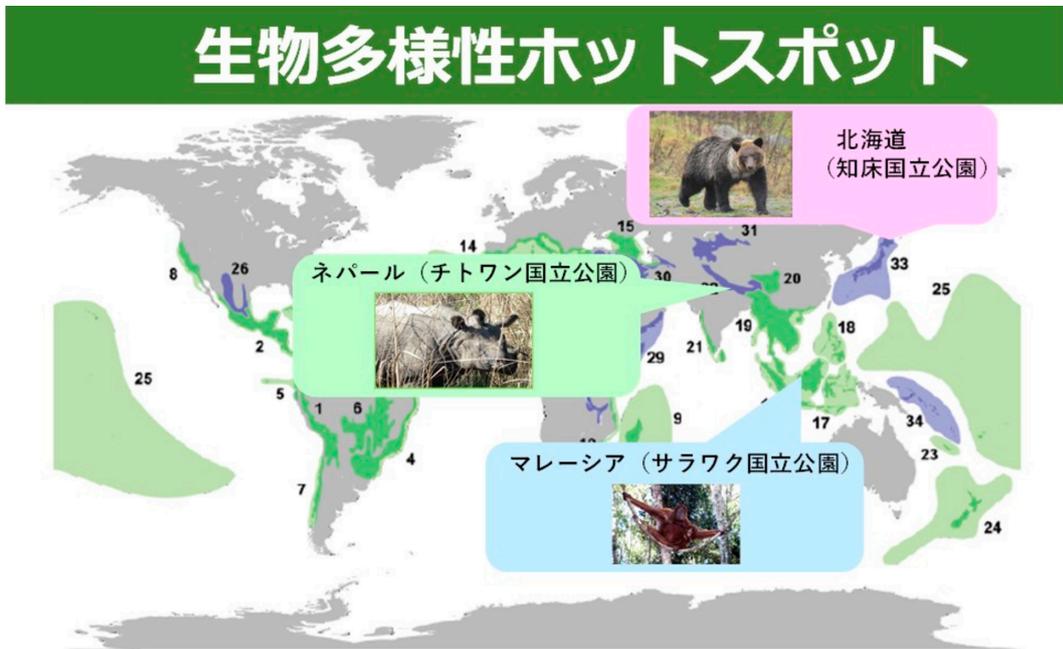


図1. 本研究を実施した3地点（マレーシア、北海道およびネパール）
 Fig.1. Three study sites (Malaysia, Hokkaido in Japan and Nepal)

研究経過

3年間で、マレーシア・サラワク州における野生ネズミ類でのマダニ媒介性感染症、北海道におけるヒグマおよびシカでのマダニ媒介性感染症、およびネパールにおけるアジアゾウでの結核症について研究を進めた。以下にその方法を記す。

1) マレーシア・サラワク州における野生ネズミ類でのマダニ媒介性感染症について

マレーシア・サラワク州の2つの原生林（Gunung Gading National Park および Kubah National Park）およびアブ

ラヤシ植林地 (Oil Palm Plantation) において、トラップによりネズミ類を捕獲し、さらにネズミ類に寄生したマダニを採取した。その後、各々 DNA を抽出して PCR およびシーケンスによりマダニ媒介性病原体の検出を試みた。

2) 北海道におけるヒグマおよびシカでのマダニ媒介性感染症について

これまでに北海道の野生動物（ヒグマ、シカ、ネズミ類など）におけるマダニ媒介性感染症の実態把握のための研究を行ってきた [1-3 など]。そこで今回は、野生動物に感染するマダニ媒介性感染症の地域による相違点や共通点を明らかにするために、北海道北部（道北）、東部（道東）および南部（道南）地域において、ヒグマおよびシカより血液、肝臓および寄生マダニを、さらにフラグgingにより自然マダニを採取した。その後、ヒグマおよびシカ、ならびにマダニから DNA を抽出し、PCR 法により病原体の検出を試みた。さらに、道東・知床半島においてシカにおけるマダニ種毎の寄生部位の詳細について調べた。

3) ネパールにおけるアジアゾウでの結核について

これまでにネパール・チトワン国立公園などで飼育されているアジアゾウに感染した結核について研究を行ってきた [4-6 など]。とくに、死亡したアジアゾウの結核病巣から結核菌を採取し、培養分離菌株より DNA を抽出して、遺伝子型別を行ってきた。その研究を継続し、今回はアジアゾウから分離した結核菌のゲノム DNA の総塩基配列を決定するとともに、新たに結核で死亡したアジアゾウより結核菌を分離同定して遺伝子型別を行った。

4) その他（野生動物の生態と感染症の関係について）

ネパール・チトワン国立公園に生息するナメケグマおよびアンナプルナ保護区に生息するヒグマの生態学的情報を得るために、ナメケグマおよびヒグマの生息状況を環境要因との関係に基づいて調べた。

研究成果及び考察

1) マレーシア・サラワク州における野生ネズミ類でのマダニ媒介性感染症について

とくにネズミ類とマダニにおいて *Borrelia* spp. をスクリーニングした結果、*Ixodes* 科マダニおよびネズミ類から *Borrelia yangtzensis* が検出された。また、原生林で採取したネズミ類 1 匹から、回帰熱ボレリアである *B. miyamotoi* が同定された。これは、マレーシア・サラワク州での *B. yangtzensis* と *B. miyamotoi* の存在を初めて示したものである [7]。また、*Haemophysalis shimoga* マダニより、過去にカンガルーから検出されたことのある *Babesia* spp. が検出された。さらに、*Ixodidae* 属のダニにおける DNA の網羅的解析により微生物叢の特徴を明らかにした。このうち *B. miyamotoi* は人獣共通感染症であり、今後人への伝播の可能性もあり、その拡大を注視していく必要がある。

2) 北海道におけるヒグマおよびシカでのマダニ媒介性感染症について

ヒグマおよびシカから、道北ではマダニ属のヤマトマダニとシュルツェマダニが、道東ではヤマトマダニのみが採取された。一方、道南ではヤマトマダニとシュルツェマダニ以外にオオトゲチマダニ、ヤマトチマダニおよびキチマダニといったチマダニ属のダニも多数採取された。一般的にチマダニ属は本州に多く分布しており、道南の環境が本州のそれと似ていることがこのような分布に反映されたものと考えられる。現在、これらのヒグマおよびシカ、さらにはマダニにおける病原体の検出を進めている。さらに、地域による感染率の違いや寄生および自然マダニにおける病原体の感染率を求める予定である。

3) ネパールにおけるアジアゾウでの結核について

これまでに、飼育アジアゾウと人の結核菌遺伝子型が共通していることを明らかにしてきた。今回新たに 2 つの培養分離菌株より抽出された DNA のゲノム解析を行った結果、ゲノム DNA の全長は 4,475,258 bp および 4,398,381 bp であった。この知見は、今後アジアゾウと人との間で結核が伝播する可能性を推測する上で重要な基礎データとなる。

4) その他 (野生動物の生態と感染症の関係について)

ネパール・チトワン国立公園に生息するナマケグマの生息状況を環境要因との関係に基づいて明らかにした。その結果、ナマケグマが多く生息する場所は、シロアリおよび果実の分布が多い、そして険しく開けた、人の活動が少ない場所であることが判明した。

北海道におけるヒグマおよびシカに感染するマダニ媒介性感染症



ヒグマの捕獲・GPS首輪装着および寄生マダニ採取



シカの捕獲・GPS首輪装着および寄生マダニ採取

図2. ヒグマとシカからのマダニ採取

Fig.2. Tick collection from brown bears and deer

人とアジアゾウの間で感染環が成立？



図3. ネパールにおける人とアジアゾウでの結核の感染環

Fig.3. Infection circulation of tuberculosis between human and Asian elephants

今後の展望

マレーシア・サラワク州における野生ネズミ類でのマダニ媒介性感染症研究は終了した。北海道におけるヒグマおよびシカでのマダニ媒介性感染症研究は、道北、道東および道南でのヒグマ、シカおよびマダニから各地域での特徴的な病原体を検出し、何故そのような特徴的な病原体を保有しているのか、宿主側とベクター側の両面から考察する計画である。また、道東・知床において、捕獲したシカに寄生するマダニ種別と数を精査して論文にする計画である。また、ヒグマについても捕獲を試み、同様にマダニ寄生と病原体の存在を調査する。一部のヒグマとシカにはカメラ付き GPS 首輪を装着して行動追跡するとともに、ヒグマとシカの行動のインターアクションを捉える計画である。最後に、ネパール・チトワン国立公園におけるアジアゾウでの結核研究では、野生アジアゾウより結核菌または結核菌 DNA を検出し、野生アジアゾウにおける結核の感染状況を把握することを計画している。さらに、アジアゾウの結核研究をスリランカのアジアゾウにも拡大し、今後その実態把握と人への伝播の有無を検証する計画である。以上の研究を進めながら、今後の野生動物における感染症、特に人獣共通感染症の拡大予測をする計画である。

謝辞

マレーシア・サラワク大学の生物多様性および環境保全研究所、ネパール・自然保護ナショナルトラスト (NTNC)、ネパール・国立公園および野生生物保全課、ドイツ・ネパール結核プロジェクト、財団法人知床財団、北海道総合研究機構、サロベツベニソン、北海道産ファーム、ソバージュド函館ならびに七飯町役場の皆様に研究材料採取等でご協力いただきました。厚く感謝申し上げます。

引用文献

- [1]K. R. Taylor, A. Takano, S. Konnai, M. Shimozuru, H. Kawabata and T. Tsubota, 2013. Vector-Borne and Zoonotic Diseases 13 (2): 92-97.
- [2]M. A. M. Moustafa, K. Lee, K. R. Taylor, R. Nakata, M. Sashika, M. Shimozuru, and T. Tsubota, 2015. Infection, Genetics and Evolution 36: 268-274.
- [3]M. A. M. Moustafa, S. Sasaki, M. Shimozuru, R. Nakao, M. Sashika, K. Yamazaki, S. Koike, J. Tanaka, H. Tamatani, M. Yamanaka, T. Ishinazaka and T. Tsubota, 2020. Parasitology Research 119(11): 3739-3753.
- [4]S. Paudel, S. K. Mikota, C. Nakajima, K. P. Gairhe, B. Maharjan, J. Thapa, A. Poudel, M. Shimozuru, Y. Suzuki and T. Tsubota, 2014. Tuberculosis 94(3): 287-292.
- [5]S. Paudel, C. Nakajima, S. K. Mikota, K. P. Gairhe, B. Maharajan, N. Subedi, A. Poudel, M. Sashika, M. Shimozuru, Y. Suzuki, and T. Tsubota, 2019. Emerg. Inf. Dis. 25(5): 1031-1032.
- [6]S. Paudel, S. K. Mikota and T. Tsubota, 2019. Science 363(6425), 356.
- [7]A. C. C. Lau, Y. Qui, M. A. M. Moustafa, R. Nakao, M. Shimozuru, M. Onuma, J. Mohd-Azlan and T. Tsubota, 2020. Pathogens 9: 846-862.

本助成研究にかかわる成果

〔論文発表〕

- 1.S. Paudel, E. Brenner, S. Hadi, Y. Suzuki, C. Nakajima, T. Tsubota, K. Gairhe, B. Maharjan and S. Sreevatsan, 2021. Microbiology Resource Announcements 10(36): e00614-21.
- 2.R. P. Paudel, R. Kadariya, B. R. Lamichhane, N. Subedi, M. Sashika, M. Shimozuru and T. Tsubota, 2022. Ecology and Evolution 12: e8699.
- 3.A. C. C. Lau, Y. Qiu, M. A. M. Moustafa, R. Nakao, M. Shimozuru, M. Onuma, N. Nakajima, M. Sashika, J. Mohd-Azlan and T. Tsubota, 2022. J. Vet. Med. Sci. 84(11): 1469-1473.

- 4.A. C. C. Lau, M. A. M. Mohamed, R. Nakao, M. Onuma, Y. Qiu, N. Nakajima, M. Shimozuru, J. Mohd-Azlan, M. A. M. Moustafa, and T. Tsubota, 2023. *Microbial Genomics* 9(2): 000954, 2023.

〔口頭／ポスター発表〕

- 1.R. P. Paudel, R. Kadriya, B. Lamichhane, N. Subedi, M. Shimozuru, M. Sashika, and T. Tsubota. Habitat occupancy of sloth bears in Chitwan National Park, Nepal. The 14th Asian Society of Conservation Medicine/The 27th Japanese Society of Zoo and Wildlife Medicine 2021 Joint Conference, 2021. 9. 22.
- 2.R. P. Paudel, M. Shimozuru, R. Kadriya, N. Subedi, M. Sashika and T. Tsubota. Ecology and genetic diversity of Sloth bear (*Melursus ursinus*) in Nepal. The 27th International Bear Association Conference, 2021. 9. 21-23.
3. 清水, 下鶴, 佐鹿, 中尾, 坪田. 北海道のエゾシカに寄生するシカシラミバエの病原体の保有状況. 第165回日本獣医学会学術集会, 2022. 9. 6-8.
4. 清水, 山中, 伊藤, 中尾, 佐鹿, 下鶴, 坪田. エゾシカに寄生するマダニ種構成の季節変化. 第70回日本生態学会大会, 2023. 3. 17-21.
- 5.T. Tsubota (招待講演). Infectious diseases and conservation medicine in wildlife. The 3rd Joint Meeting of Veterinary Science in East Asia, 2023. 5. 2.
- 6.K. Shimizu, M. Shimozuru, R. Nakao, M. Yamanaka, G. Ito and T. Tsubota. Seasonal changes in the attachment site preference of ticks on sika deer. 13th International Mammalogical Congress and 102nd Annual Meeting of the American Society of Mammalogists. (2023. 7. 14-20.
- 7.R. Baral, R. Paudel, B. Adhikari, R. Kadariya, N. Subedi, M. Shimozuru and T. Tsubota. Predicting the potential habitat of bears under changing climate in Nepal. RThe 11th SaSSOH (Sapporo Summer Symposium for One Health), 2023. 9. 14-15.