

野生鳥類における血液原虫症研究の現状と課題 —ニホンライチョウのロイコチトゾーン感染に関する研究を例に—*

村 田 浩 一**

キーワード ①血液原虫症 ②ロイコチトゾーン ③ニホンライチョウ ④野生鳥類

1. はじめに

鳥類に寄生する血液原虫の主なものとしては、*Plasmodium* 属、*Haemoproteus* 属、*Leucocytozoon* 属、*Trypanosoma* 属などがある。この中で、*Plasmodium* 属原虫による感染症は鳥マラリア (avian malaria) と総称されるが、本症の病原体に *Haemoproteus* 属原虫を含める場合もある²⁵⁾。この2属には形態的に判別が困難な種があり、遺伝子解析による分類の見直しがなされているためである¹⁸⁾。養鶏業界では、鶏マラリアの病原体として *P. gallinaceum* や *P. juxtanucleare* が古くから知られている。*P. gallinaceum* はニワトリに対して高病原性を示すが、国内侵入は確認されていない。*L. caulleryi* 感染による鶏のロイコチトゾーン症は、鶏群に甚大な健康被害を及ぼす場合があるため、家畜伝染病予防法による届出伝染病に指定されている。ほかにも、*Atoxoplasma* 属、*Lankesterella* 属、*Babesia* 属、*Hepatozoon* 属などの血液原虫感染例が多種の野鳥で報告されているが、先に記した原虫類に比べるとそれほど事例は多くない。なお、*Atoxoplasma* 属原虫については、*Isospora* 属に分類するのが妥当という研究もある²⁾。

一般的に、野鳥の血液原虫感染は不顕性であると考えられている。長い進化の過程で、鳥類と血液原虫との間に比較的安定した宿主-寄生体関係が成立しているのであろう。しかし一方で、血液

原虫感染による野鳥の散発的もしくは集団的な死亡が起こっているのも事実である(図1)。とくにヒナや免疫不全個体は感受性が高い。2005年から2006年にかけて北海道内でスズメの集団死が見られ、その一部から *Atoxoplasma* 属原虫が検出されている¹²⁾。抵抗力の弱い幼鳥などでは、直接的な死因にならなくとも豪雨や餌不足が誘因となって発症するとも考えられている⁷⁾。新たに血液原虫が侵入した島嶼などの隔離生態系では、その地域の固有鳥類が原虫感染によって被る悪影響は甚大となる。ハワイ諸島では、ミツスイ類(*Drepani-*

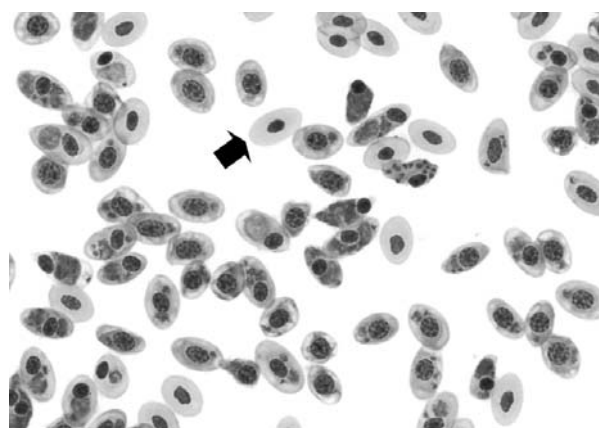


図1 鳥マラリア感染で死亡したハシボソガラス (*Corvus corone*) 幼鳥の血液塗抹標本。矢印は非感染赤血球。十数個の赤血球を除いて、すべての細胞が *Plasmodium* SP. に感染している。Bar = 10 μ m。

*The Present Status and Issues of Study on Haemosporidian Parasites in Wild Birds—A Research on *Leucocytozoon* Infection in the Japanese Rock Ptarmigan as an Example Case—

**Koichi MURATA (日本大学生物資源科学部) College of Bioresource Sciences, Nihon University

didae)やハワイガラス(*Corvus hawaiiensis*)が鳥マラリア感染により、絶滅もしくは絶滅の危機に陥っている^{29,30)}。飼育下鳥類では、とくにペンギン類やシロフクロウ(*Nyctea scandiaca*)など極地性鳥類が血液原虫に対して感受性が高く、感染による致死率は高い¹⁹⁾。本来、彼らの生息地には血液原虫を媒介する昆虫がいないか、生息していたとしても極めて密度が低いため、遺伝的に免疫能を獲得していないためと推察される。鳥マラリアの分布域に生息する鳥類種であっても、傷病鳥や飼育下鳥類では感染による死亡例が観察される²⁷⁾。飼育下に関しては、各種ストレスや任意交配が限られた空間での遺伝的背景が関与しているのかもしれない。野外で鳥類の大量死が起きると、農薬などによる中毒、ウイルスや細菌感染が原因としてまず疑われるが、血液原虫感染も侮れない死因もしくは背景因子になっていると考ええる。

近年、鳥類血液原虫の研究は、単に系統分類学の領域に止まらず行動生態学や保全生物学分野へも展開しつつある。行動生態学分野では血液原虫感染が鳥の生存率や繁殖適応度に与える影響について検証がなされ⁸⁾、保全生物学分野では島嶼における希少種保全の観点から多様な研究が行われている^{5,24,28)}。つまり、血液原虫そのものに対する学問的興味のみならず、宿主である鳥類やその生理・生態・行動との関係、媒介昆虫を含めた血液原虫の生活環に関わる有機的および無機的環境なども研究対象になっている。後者については、血液原虫を環境異変の指標生物として用い、気候変動との関連をシミュレートした報告がある⁴⁾。私たちの研究グループも、環境指標生物としての鳥類血液原虫に着目した応用研究に取り組んでいる。そのひとつに、鳥マラリアを指標生物とした希少鳥類におけるウエストナイルウイルス感染のリスク評価に関する研究がある²²⁾。今号で、本推進費の代表者である桑名貴博士がその概要を報告しているので、そちらも参考にさせていただきたい。本報では、別の研究課題であるニホンライチョウ(*Lagopus mutus japonicus*)のロイコチトゾーン感染に関する調査研究と成果を紹介し、血液原虫研究が生物多様性保全に果たす役割を理解していただきたい。

2. ニホンライチョウと血液原虫感染と環境

ニホンライチョウは、わが国の標高2,400m以上の高山地帯に生息するキジ目の鳥で、ユーラシア大陸に広く分布するライチョウ(*L. mutus*)の亜種である(図2)。本種は、本州中部山岳地帯の頸城山脈、飛騨山脈および赤石山脈に分布し、現存個体数は約3,000羽と推定されている。1955年には国の特別天然記念物に指定され、環境省レッドデータの絶滅危惧Ⅱ類(VU)にも記載されている希少種である¹⁷⁾。近年、個体数の減少傾向が認められているが、減少要因の詳細については明らかでない。

2001年に実施したニホンライチョウの健康調査で、本種が孢子虫綱真コクシジウム目の血液原虫である *Leucocytozoon* sp.に感染していることが確認された(図3)。当初、この原虫がニワトリに対して病原性を示す *L. caulleryi* である可能性も考えられ、ライチョウ個体群への影響が心配された。しかし、詳細な形態観察と遺伝子解析の結果、*L. caulleryi* とは系統分類学的に異なる *L. lovati* であることが明らかになった^{13,26)}。ライチョウの *L. lovati* 感染は海外で報告されているが³³⁾、国内においては初報告であった。*Leucocytozoon* 属原虫は、ブユ(*Simulium* spp.)などの吸血昆虫によって媒介され¹¹⁾、通常、感染鳥は不顕性感染を示すとされている¹⁰⁾。しかし、エリマキライチョウ(*Bonasa umbellus*)では、ヒナにおける感染死亡例が報告されている⁶⁾。ニホンライチョウのヒナ



図2 国の特別天然記念物であるニホンライチョウ(*Lagopus mutus japonicus*)。環境省のレッドリストでは、絶滅危惧Ⅱ類に掲載されている希少鳥類である。

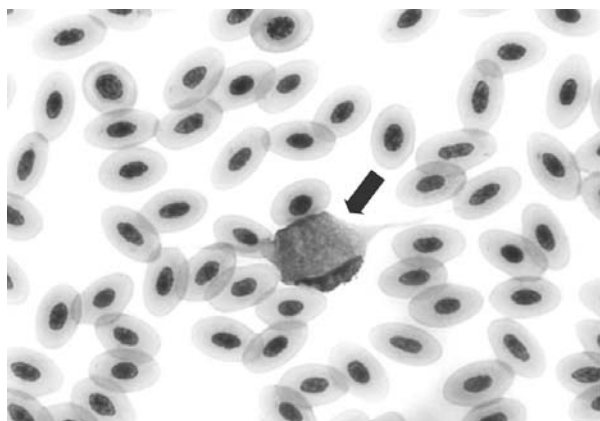


図3 ニホンライチョウに認められた血液原虫の一種 (*Leucocytozoon lovati*) (矢印)。ニワトリでは健康被害が知られているが、ライチョウに対する病原性については明らかではない。Bar = 10 μ m。

の生存率は10%と低く、本原虫感染と個体数減少との関連が示唆されている¹³⁾。

ニホンライチョウの保全に役立つ感染症情報は少ない^{15, 16, 31)}。そこで、南北アルプスにおけるニホンライチョウの *L. lovati* 感染状況調査を行うとともに、その地域性や寄生率の季節的変動を調べ、*L. lovati* がニホンライチョウの個体群に与える影響と環境との関連を評価するための研究および情報収集を開始した。なお、ここで紹介する研究成果の一部は、すでに報告済みであることをご了解いただきたい^{21, 26)}。

3. 材料および方法

3.1 血液試料

頸城山脈、飛騨山脈(北アルプス)および赤石山脈(南アルプス)において、個体標識を主目的とした捕獲調査の際に73個体から試料採取した。捕獲に当たっては、文化庁および環境省の許可を受けた。捕獲個体は用手保定下で脚帯番号を確認もしくは装着し、体重計測および体部測定を行った後、翼下静脈から採血した。

3.2 顕微鏡観察による感染率(prevalence)の算定

血液薄層塗沫染色標本を、低倍率($\times 100$)で約100視野観察して感染血球細胞の有無を調べ、感染率(調査個体数に対する感染個体数の割合)を算定した。感染細胞が認められた場合は高倍率($\times 400 \sim \times 1,000$)で原虫細胞および宿主細胞の形態を観察した。

3.3 感染強度(intensity)の算定

感染強度の評価には、Ashford Scale¹⁾を用いた。各値(Scale)が示す感染強度は以下のとおりである。0：低倍率($\times 100$)で塗沫全体に感染細胞が認められない、1：中倍率($\times 400$)で100視野中感染細胞が1個未満、2：中倍率($\times 400$)で100視野中感染細胞が1～10個、3：中倍率($\times 400$)で100視野中感染細胞が11～100個、4：中倍率($\times 400$)で100視野中感染細胞が100個より多い。

3.4 感染率の季節性と地域性

山域間および季節間の感染率を評価した。頸城山脈、飛騨山脈および赤石山脈の間ならびに季節間の感染率の差の有無について、分散分析(ANOVA)を用いて統計的に検討した。分散分析で有意な差が認められた場合は、Tukey-Kramer's HSD 検定により多重比較を行った。 $p < 0.05$ を統計的に有意とした。

4. 結 果

4.1 感染率と感染強度

これまでに捕獲調査した全個体の感染率は78.1% (57/73個体)であり、他の野鳥の感染率に比べると高率であった^{20, 23)}。一方、感染強度は $0.02 \pm 0.019\%$ (0～0.1%)と低率であった。感染強度を山脈別に見ると、頸城山脈で捕獲された4個体の感染強度は $0.013 \pm 0.01\%$ (平均 $\pm$ 標準偏差)(範囲：0～0.02%)、飛騨山脈の42個体は

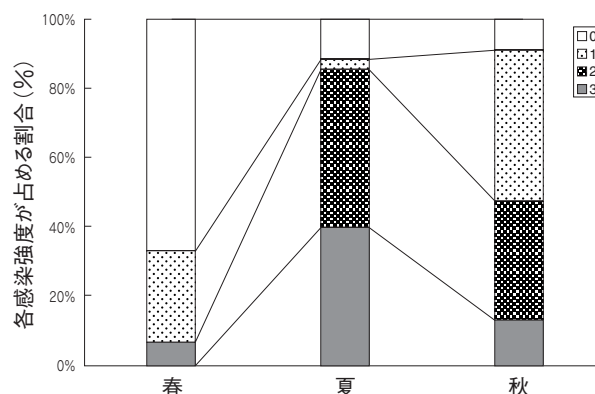


図4 ニホンライチョウにおける *Leucocytozoon lovati* 感染の季節性。春には半数以上の個体が非感染状態であった。夏になると高い感染強度 (Ashford scale: 3) の個体が増加し、秋になると再び少なくなる傾向が認められた。季節間の感染率の差は統計的に有意であった ($p < 0.01$)。

0.015±0.012% (0~0.04%), 赤石山脈の27個体は0.036±0.027% (0~0.1%)となり, 赤石山脈で高くなっていた。

4.2 感染の地域性および季節性

山脈ごとの感染率は, 頸城山脈が75.0%, 飛騨山脈が66.7%, 赤石山脈が96.3%であり, 赤石山脈における感染率が有意に高かった(図4)。季節ごとの感染率の比較では, 赤石山脈において高くなる傾向が認められたが, 赤石山脈および飛騨山脈の季節ごとの寄生率に有意な差は認められなかった。飛騨山脈の常念岳および前常念岳の個体群では, 感染個体が認められなかった。

春季は非感染個体が半数以上を占めていた。夏季になると感染強度の高い個体(Ashford scale: 3)が増加し, 秋季には再び少なくなる傾向が認められた(図5)。季節間における感染率の差は統計的に有意であった($p<0.01$)。

5. ま と め

常念岳および前常念岳を除くすべての調査山域で *L. lovati* 感染が認められた(図4)。海外のライチョウでは, 広範囲な生息域で感染が確認されている^{9,14)}。国内における *L. lovati* の分布は, おそらくニホンライチョウの祖先が約14,000年前の最終氷期にユーラシア大陸から南下し日本の高山地

帯に適応放散する際, すでに *L. lovati* を保有していたことを示唆している。山脈ごとの感染率および感染強度では, 赤石山脈の個体群が高値を示した。赤石山脈における感染率の高さが, どのような地域的特性によるものなのかを知ることは, 本原虫の感染動態を知る上で重要である。一方, 飛騨山脈の常念岳および前常念岳の個体群では, 感染個体が認められなかった。その理由として, この山域には, *L. lovati* の媒介昆虫がいないか, 感染個体が極めて少ないか, もしくは地域的隔離後に感染個体がいなくなった可能性が考えられた。しかし, 最近の調査では, 両山域にブユの生息が確認されているため(未発表), 感染個体が存在しないか少ないためであると思われる。また, 隣接する横通岳の個体群では, 感染個体が認められていることから, 両山域のライチョウやブユは周辺個体群との交流が制限されているとも考えられる。常念岳および前常念岳の個体群に減少傾向が認められず安定したものであれば, *L. lovati* 感染が個体群に与える影響の証左となる可能性があり, 今後更なる調査と検討が望まれる。

ニホンライチョウにおける *L. lovati* の感染率および感染強度は春季から夏季にかけて上昇し, 夏季から秋季にかけて減少する傾向が認められた(図5)。媒介昆虫の繁殖活動が主に気温に依存し

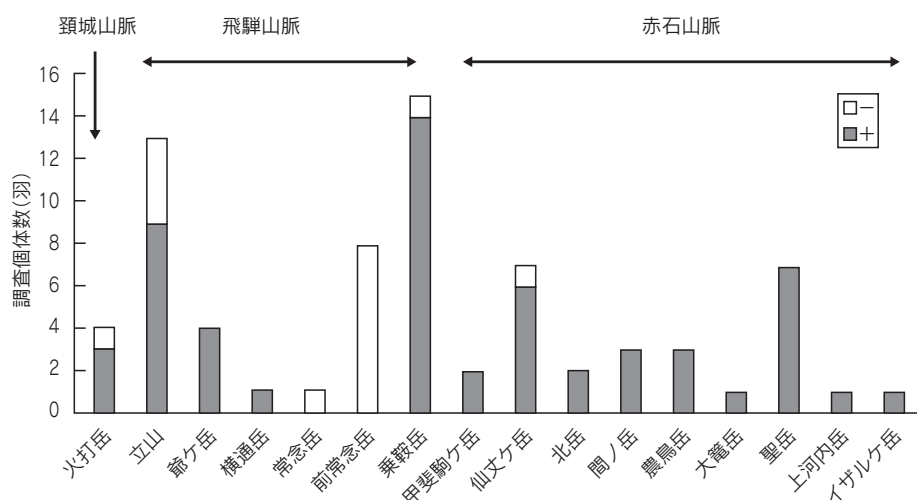


図5 ニホンライチョウにおける *Leucocytozoon lovati* 感染の地域性。山脈ごとの感染率では, 赤石山脈の個体群が高い割合を示した。常念岳および前常念岳(飛騨山脈)の個体群には, 感染個体を認めなかった。

ていることを考えると、媒介昆虫の活動が盛んになる夏季に *L. lovati* の血中出現率が高くなるのは理の当然といえる。近年、高山地帯においても温暖化の影響が懸念されているが、気候変動に伴い吸血昆虫の活動期間が延長すれば、ニホンライチョウ個体群内で *L. lovati* 感染のリスクが高まることが予想される。そのことを念頭に置いて、現在、*L. lovati* の媒介昆虫であると思われるブユの出現時期やブユ体内からの本原虫遺伝子検出による媒介種の特定に関する調査研究を進めている。希少種保全計画の上で本原虫症に対する予防処置が必要となった際、夏季における媒介昆虫の制御が重要課題になると考えるためである。ニホンライチョウは国の特別記念天然物に指定された希少種であるため、頻繁な捕獲を必要とする経時的検査は容易ではない。そのことから、ニホンライチョウ個体群における *L. lovati* の感染動態を知るためには、当該地域のブユから本原虫を検出する方法が有用である。私たちは、消化管内寄生原虫である *Eimeria* spp. を対象として、高山地帯における局所環境温度変化がオーシストの孢子形成時間(感染能獲得)に及ぼす影響についても研究している。*Eimeria* 属原虫のオーシストは糞便中に排泄されるため、鳥を捕獲しなくても検査は可能である。将来的には、ブユの *L. lovati* 保有率や糞便中の原虫オーシストを調べることで、ニホンライチョウに対して非侵襲的な病原体感染のリスク評価法を開発したいと考えている。

野生鳥類を対象とした血液原虫の研究では、原虫のみならず鳥類の生理や生態さらにその生息環境を正確に理解しておく必要がある。しかし、宿主である鳥類と寄生体である血液原虫との関係(Host-Parasite Interaction)については未だ不明な部分が多い。これら未知の部分の解明して生物多様性保全に役立てるため、専門領域を越えた研究者間の協力が求められる。

謝 辞

鳥類血液原虫に関する研究は、日本大学生物資源科学部獣医学科の佐藤雪太博士、国立感染症研究所昆虫医科学部の津田良夫博士および沢辺京子博士、全国の動物園・水族館、鳥獣保護施設、日本大学生物資源科学部野生動物学研究室および実

験動物学研究室の学生および院生諸氏の協力を得て実施されている。ブユの採集および同定については、渡辺護博士(元富山衛生研究所)のご指導を賜った。また、地球環境研究総合推進費(F-062)、文部科学省学術フロンティア推進事業、科学研究費補助金、日本大学生命科学研究センター研究助成および日本大学学術研究助成金による研究支援により行われている。ここに記して感謝いたします。

—参考文献—

- 1) Ashford, R.W., Wyllie, I., and Newton, I.: *Leucocytozoon toddi* in British sparrowhawks *Accipiter nisus*: observations on the dynamics of infection. *Journal of Natural History*, 24, 1101-1107, 1990.
- 2) Barta, J.R., Schrenzel, M.D., Carreno, R. and Rideout, B.A.: The genus *Atoxoplasma* (Garnham 1950) as a junior objective synonym of the genus *Isospora* (Schneider 1881) species infecting birds and resurrection of *Cystoisospora* (Frenkel 1977) as the correct genus for *Isospora* species infecting mammals. *Journal of Parasitology*, 91, 726-727, 2005.
- 3) Bennett, G.F., Earle, R.A., Peirce, M.A., Huchzermeyer, F.W., and Squires-Parsons, D.: Avian *Leucocytozoa*: the leucocytozoids of the phasianidae sensu lato. *Journal of Natural History*, 25, 1407-1428, 1991.
- 4) Benning, T.L., LaPointe, D., Atkinson, C.T. and Vitousek, P.M.: Interactions of climate change with biological invasions and land use in the Hawaiian Islands: Modeling the fate of endemic birds using a geographic information system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 14246-14249, 2002.
- 5) Bunbury, N., Barton, E., Jones, C.G., Greenwood, A.G., Tyler, K.M. and Bell, D.J.: Avian blood parasites in an endangered columbid: *Leucocytozoon marchouxi* in the Mauritian Pink Pigeon *Columba mayeri*. *Parasitology*, 134, 797-804, 2007.
- 6) Clarke, C.H.D.: Blood parasites of ruffed grouse (*Bonasa umbellus*) and spruce grouse (*Canachites canadensis*), with description of *Leucocytozoon bonasae* n. sp. *Canadian Journal of Research*, 12, 646-650, 1935.
- 7) Cooper, J.E. and Sainsbury, A.W.: *Self-Assessment Picture Tests in Veterinary Medicine-Exotic Species*. Mosby-Wolfe, London, 1995.
- 8) Cosgrove, C.L., Knowles, S.C., Day, K.P., Sheldon, B.C.: No evidence for avian malaria infection during the nestling phase in a passerine bird. *Journal of Parasitology*, 92, 1302-1304, 2006.
- 9) Dunbar, M.R., Tornquist, S., and Giordano, M.R.: Blood parasites in sage-grouse from Nevada and Oregon. *Journal of Wildlife Diseases*, 39, 203-208, 2003.
- 10) Fallis, A.M. and Bennet, G.F.: Transmission of *Leucocytozoon bonasae* Clarke to ruffed grouse (*Bonasa umbellus* L.) by the blackflies *Simulium latipes* Mg. and *Simulium aureum* Fries. *Canadian Journal of Zoology*, 36, 533-539,

- 1958.
- 11) Fallis, A.M. and Bennet, G.F.: Sporogony of *Leucocytozoon* and ceratopogonids and revised classification of the Haemosporidiida. Canadian Journal of Zoology, 39, 215–228, 1961.
- 12) 福井大祐, 坂東元, 横田高志, 芝原友幸, 門田耕一, 浅川満彦, 小菅正夫: 7年間のスズメ(*Passer montanus*)救護症例の保全医学的研究～特に大量死を引き起こしたアトキソプラズマ症とその治療試験について, 第12回日本野生動物医学大会抄録, 2006.
- 13) Hagihara, M., Yamaguchi, T., Kitahara, M., Hirai, K., Murata, K.: *Leucocytozoon lovati* infections in wild rock ptarmigan (*Lagopus mutus*) in Japan. Journal of Wildlife Diseases, 40, 804–807, 2004.
- 14) Holmstad, P.R., Anwar, A., Iezhova, T., and Skorping, A.: Standard sampling techniques underestimate prevalence of avian hematozoa in willow ptarmigan (*Lagopus lagopus*). Journal of Wildlife Diseases, 39, 354–358, 2003.
- 15) Ishihara S, Shiibashi T, Sato Y, Murata K, Nogami S.: Two *Eimeria* species isolated from wild Japanese rock ptarmigans (*Lagopus mutus japonicus*) in Japan. Journal of Veterinary Medical Science, 68, 991–993, 2006.
- 16) Kamimura, K. and Kodama, H.: *Eimeria uekii* sp. n. from *Lagopus mutus japonicus* (Clark) in Mts. Tateyama, the Japan Alps. Japanese Journal of Parasitology, 30, 467–470, 1981.
- 17) 環境省「改訂・日本の絶滅の恐れのある野生生物 鳥類」(環境省自然環境局野生生物課)pp. 162～167, 財団法人自然環境研究センター, 東京都, 2002.
- 18) Martinsen, E.S., Paperna, I., Schall, J.J.: Morphological versus molecular identification of avian Haemosporidia: an exploration of three species concepts. Parasitology, 133, 279–288, 2006.
- 19) McConkey GA, Li J, Rogers MJ, Seeley DC Jr, Graczyk TK, Cranfield MR, McCutchan TF.: Parasite diversity in an endemic region for avian malaria and identification of a parasite causing penguin mortality. Journal of Eukaryot Microbiol, 43, 393–399, 1996.
- 20) Murata, K.: Prevalence of Blood Parasites in Japanese Wild Birds. Journal of Veterinary Medical Science, 64, 785–790, 2002.
- 21) Murata, K., Tamada, A., Ichikawa, Y., Hagihara, M., Sato, Y., Nakamura, H., Nakamura, M., Sakanakura, T., Asakawa, M.: Geographical distribution and seasonality of the prevalence of *Leucocytozoon lovati* in Japanese rock ptarmigans (*Lagopus mutus japonicus*) found in the alpine regions of Japan. Journal of Veterinary Medical Science, 69, 171–176, 2007.
- 22) 村田浩一: 日本産野鳥の血液原虫感染に関する研究, 動物の原虫病, 22, 2007. (in press)
- 23) Nagata, H.: Reevaluation of the prevalence of blood parasites in Japanese Passerines by using PCR based molecular diagnostics. Ornithological Science, 5, 105–112, 2006.
- 24) Parker, P.G., Whiteman, N.K. and Miller, R.E.: Conservation medicine on the Galapagos Islands: Partnerships among behavioral, population, and veterinary scientists. Auk, 123, 625–638, 2006.
- 25) Pérez-Tris, J., Hasselquist, D., Hellgren, O., Krizanauskiene, A., Waldenström, J. and Bensch, S.: What are malaria parasites? Trends in Parasitology, 21, 209–11, 2005.
- 26) Sato, Y., Hagihara, M., Yamaguchi, T., Yukawa, M. and Murata, K.: Phylogenetic comparison of *Leucocytozoon* spp. from wild birds of Japan. Journal of Veterinary Medical Science, 69, 55–59, 2007.
- 27) Shannon, T.F., Karen Snowden, Annajane B. Marlar, Michael Garner and Nancy P. Lung: Fatal hemoprotozoal infections in multiple avian species in a zoological park. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 38, 309–316, 2007.
- 28) Tompkins, D.M. and Gleeson, D.M.: Relationship between avian malaria distribution and an exotic invasive mosquito in New Zealand. Journal of Royal Society of New Zealand, 36, 51–62, 2006.
- 29) van Riper III, C.: The impact of introduced vectors and avian malaria on insular passeriform bird populations in Hawaii. Bulletin of the Society for Vector Ecology, 16, 59–83, 1991.
- 30) Warner, R.E.: The role of introduced diseases in the extinction of the Hawaiian avifauna. Condor, 70, 101–120, 1968.
- 31) Yu Mi H.H., Yamaguchi, T., Miyano, N., Shimizu, H., Murai, A., Yanai, T., Masegi, T., Ohya, K., Fukushi, H.: Fowlpox Virus Infection in a Captive Japanese Rock Ptarmigan (*Lagopus mutus japonicus*) Japanese journal of zoo and wildlife medicine, Japanese Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 12, 77–80, 2007.