



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Molecular investigation of tick-borne diseases in Hokkaido wildlife [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Moustafa, Mohamed Abdallah Mohamed
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第12178号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/62077
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Mohamed_Abdallah_Mohamed_Moustafa_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称:博士(獣医学) 氏名:Mohamed Abdallah Mohamed Moustafa

審査委員	主査	教授	坪	田	敏	男
	副査	教授	杉	本	千	尋
	副査	准教授	今	内		寛
	副査	准教授	下	鶴	倫	人

学位論文題名

Molecular investigation of tick-borne diseases in

Hokkaido wildlife

(北海道の野生動物におけるダニ媒介性感染症の分子疫学研究)

近年、世界でダニ媒介性感染症を含む新興・再興感染症の発生がみられているが、その多くが野生動物由来である。ダニは、人獣共通感染症の重要なベクターの一つと考えられており、多くの人獣共通感染症で家畜および野生動物に感染を媒介する。人は、ヒト顆粒球性アナプラズマ症やヒト単球性エーリキア症などのように、偶発的にダニ媒介によって感染を受けることがある。本研究では、北海道の野生動物におけるダニ媒介性人獣共通感染症の生態を明らかにすることを目的として、種特異的な nested PCR によりダニ媒介性感染症の感染率を求めた。また、Reverse line blot hybridization (RLB) 法により病原体遺伝子の特異的検出を試みた。

第1章では、これまでシカ、ウシおよびダニで検出されながら明確に分類できなかった *Anaplasma* sp. (AP-sd) の感染率を調べた。本研究では、北海道の野生動物における AP-sd を特異的に検出する方法を新たに開発し、その感染率を調べることに成功した。2010～2015 年にかけて北海道のエゾシカ (*Cervus nippon yezoensis*) 250 頭、エゾヒグマ (*Ursus arctos yezoensis*) 13 頭およびげっ歯類 252 頭を採集した。げっ歯類には、138 頭のアカネズミ (*Apodemus speciosus*)、45 頭のヒメネズミ (*Apodemus argenteus*)、42 頭のタイリクヤチネズミ (*Myodes rufocanus*) および 27 頭のミカドネズミ (*Myodes rutilus*) が含まれた。これら動物の血液から nested PCR によって AP-sd の 16S rRNA および *gltA* 遺伝子について、各々 770 塩基および 382 塩基を増幅した。その結果を、PCR 産物のクローニングおよびシーケンスによって確認した。さらに、16S rRNA 遺伝子について RLB を行った。Nested PCR

によるエゾシカでの AP-sd の感染率は 51% (128/250) であった。また、エゾヒグマおよびげっ歯類で初めて AP-sd が検出され、その感染率は各々 15% (2/13) および 2.4% (6/252) であった。AP-sd の 16s rRNA および *gltA* PCR 産物シークエンスの結果、GeneBank に登録された *Anaplasma phagocytophilum* からの分枝が確かめられた。新しく設計した AP-sd プローブを使って RLB を行った結果、AP-sd を特異的に検出することができた。本研究により、エゾシカ、エゾヒグマおよびげっ歯類が AP-sd の保菌宿主である可能性が示唆された。また、AP-sd を特異的に検出するための RLB 法を確立した。

第 2 章では、北海道の小型哺乳類 6 種について、13 種類のダニ媒介性感染症の感染率を調べた。本研究の目的は、北海道における小型哺乳類でのダニ媒介性感染症の感染率を調べ、これら病原体の感染率に影響を与える要因との関連を考察することである。本研究では、2010～2012 年に北海道の 2 地域（富良野および斜里）において、アカネズミ 219 頭、ヒメネズミ 86 頭、タイリクヤチネズミ 85 頭、ミカドネズミ 51 頭、ムクゲネズミ (*Myodes rex*) 11 頭およびオオアシトガリネズミ (*Sorex unguiculatus*) 7 頭の小型哺乳類 459 頭が採集された。*Anaplasma* spp. および *Ehrlichia* spp. 16s rRNA 遺伝子 460～520 塩基ならびに *Babesia* spp. 18s rRNA 遺伝子 460～540 塩基のフラグメントを multiplex PCR により増幅した。また、*Anaplasma* spp.、*Ehrlichia* spp. および *Babesia* spp. 検出用に新たに設計したプローブを用いて RLB を行った。RLB の結果を、ランダムに選んだ *Anaplasma* spp. / *Ehrlichia* spp. および *Babesia* spp. 各々 6 および 12 の PCR 産物についてクローニング／シークエンスによって確認した。AP-sd、*E. muris*、*C. N. mikurensis* および *B. microti* の感染率は、各々 4.1%、1.1%、12.2% および 20.7% であった。*B. microti* および *C. N. mikurensis* の感染率は、メスよりオスで、また幼獣より成獣で有意に高かった。2 種および 3 種の病原体による重複感染は、各々 22 頭および 2 頭の合計 24 頭 (5.2%) で認められた。最も多くみられた重複感染の組合せは、*C. N. mikurensis* と *B. microti* であった (重複感染の 66.7%)。本研究により、北海道の小型哺乳類におけるダニ媒介性感染症の感染率が求められ、感染率に影響を与える要因との関連についての知見が得られた。

以上より、本研究は、北海道の野生動物における 13 種類のダニ媒介性感染症の感染率および感染に影響を及ぼす要因について明らかにした。また、各々の病原体を特異的に検出する分子手法を開発した。さらに、今後日本におけるアナプラズマ症、エーリキア症、ネオエーリキア症およびバベシア症の生態や人に対する潜在的脅威を調べる上で有用な知見を提供している。よって審査員一同は、上記学位論文提出者 Mohamed Abdallah Mohamed Moustafa 氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。