



Title	Studies on genetic diversity and transmission dynamics of Spiroplasma in ixodid ticks [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	小方, 昌平
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(感染症学)
Dissertation Number	甲第15039号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/86032
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	OGATA_Shohei_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（感染症学）

氏名：小方 昌平

審査委員	主査	教授	荻和	宏明
	副査	准教授	今内	覚
	副査	准教授	山岸	潤也
	副査	准教授	中尾	亮
	副査	教授	野中	成晃

学位論文題名

Studies on genetic diversity and transmission dynamics of *Spiroplasma* in ixodid ticks

(マダニにおける *Spiroplasma* の遺伝的多様性と伝播動態に関する研究)

世界に約 700 種が分布するマダニは脊椎動物の吸血性外部寄生虫で、多種多様な病原体を媒介するため、公衆衛生学上および獣医学上の重大な問題を世界的に引き起こしている。一方で、媒介する病原体だけでなく、マダニは多種の共生生物を保有することが知られてきた。共生とは、1879 年に Bary が定義したもので、2 つ以上の異なる種が互いに密接に関連して生活していることを示す用語である。この共生関係を支える分子・生化学的なメカニズムの解明は、外部寄生虫の防除法開発にもつながるため、新たな研究領域として期待されている。

小方昌平氏は、マダニの共生生物として近年報告された *Spiroplasma* 属細菌に着目した。本細菌は細胞壁をもたないグラム陽性細菌であり、昆虫、クモ類、甲殻類、植物など幅広い宿主に共生しており、高度な環境適応能力と感染戦略を持つと考えられている。いくつかの種は、ハエ、チョウ、テントウムシなどの宿主のオス殺しを誘発することで宿主の性比に影響を与え、別の種は、ミツバチなどの節足動物に病気を引き起こすことが知られている。一方で、本細菌に感染したハエの中には、他の病原体に対する耐性を獲得することも報告されている。このように宿主に多大な影響を与える *Spiroplasma* のマダニにおける特性を解明することは、マダニの感染制御とマダニ媒介性疾病の伝播制御に繋がる可能性がある。

そこで、小方氏は、まず、*Spiroplasma* のマダニにおける保有状況と遺伝的多様性を評価するための調査研究を実施した。日本の 19 道県 112 ヲ所で採取した合計 20 種 712 個体のマダニを対象に、16S rDNA を標的とした PCR による *Spiroplasma* の検出を行い、さらに 16S rDNA、ITS、*dnaA* および *rpoB* 遺伝子の配列に基づいて *Spiroplasma* の遺伝的特徴と宿主種との関係を調べた。その結果、8 種 109 個体が

Spiroplasma 陽性であり、感染率はマダニ種によって 0%から 84%であった。また、マダニの採取地や時期、さらにはマダニの性などの外因的および内因的因子の *Spiroplasma* 感染との関係を一般線形混合モデルで分析し、マダニの種が感染に関連する主要な因子であることを示した。さらに、得られた *Spiroplasma* 遺伝子型とその宿主マダニ種の比較から、マダニ種間の *Spiroplasma* の水平伝播は頻繁に起こるものではないことも示した。特に、*Spiroplasma* の高い感染率が認められた *Ixodes ovatus* と *Haemaphysalis kitaokai* の 2 種のマダニにおいては、これらのマダニ種に高度に適応した *Spiroplasma* 遺伝子型が存在することを示した。これらの知見は、自然界におけるマダニ集団内の *Spiroplasma* の感染サイクルと宿主マダニにおける役割を理解する手がかりとなる。

さらに小方氏は、マダニにおける *Spiroplasma* の垂直伝播の可能性を検証した。具体的には、マダニから分離した *Spiroplasma ixodetis* と *Spiroplasma mirum* を、実験室内で継代している *Haemaphysalis longicornis* にインジェクション法を用いて実験的に接種した。その後、接種したマダニ個体が産出した卵、および孵化後の幼ダニにおける *Spiroplasma* 感染の有無を PCR 法により検査した。その結果、*S. ixodetis* を 5×10^{11} 菌体/個体で接種したマダニが産出した卵および幼ダニで *Spiroplasma* の感染が確認され、*Spiroplasma* が垂直伝播することを確認した。非接種対象群と比較して、*Spiroplasma* 接種群の飽血時体重、卵重量、孵化率に有意な差が見られなかったことから、*Spiroplasma* のマダニ生殖機能における影響は観察されなかった。この結果は、*Spiroplasma* がマダニにおいて垂直伝播することを実験的に証明した最初の報告となる。

以上、小方昌平氏の研究成果は、マダニの生態や生存に影響を与える可能性を持つ共生細菌 *Spiroplasma* の、我が国のマダニ集団との相互関係や集団内での維持機構の解明に寄与するものであり、ひいてはマダニを含む外部寄生虫の新規防除法開発につながるものと考えられる。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者小方昌平氏の学位論文は、北海道大学大学院国際感染症学院規程第 10 条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。