

モンゴル産イヌ科野生動物の消化管寄生性蠕虫検査に関する技術移転

紀 俊明¹⁾, Gantigmaa Chuluunbaatar²⁾, Battulga Sumiya²⁾, Abmed Davaajav³⁾,
Anu Davaasuren³⁾, 岡本宗裕⁴⁾, 柳田哲矢⁵⁾, 伊藤 亮⁵⁾, 浅川満彦¹⁾

¹⁾酪農学園大学 獣医学群 感染・病理学分野 〒069-8501 北海道江別市

²⁾モンゴル科学アカデミー モンゴル国ウランバートル市

³⁾モンゴル厚生省国立感染症センター モンゴル国ウランバートル市

⁴⁾京都大学霊長類研究研究所 人類進化モデル研究センター 〒484-8506 愛知県犬山市

⁵⁾旭川医科大学 医学部 寄生虫学教室 〒078-8510 北海道旭川市

[抄録] モンゴル国では野生イヌ科動物の *Echinococcus* 属条虫成虫を含む消化管寄生性蠕虫類の侵淫状況の調査がなされていなかった。その理由は、野生哺乳類の蠕虫研究自体が、当該国の研究者により実施されていないことと、海外研究者も関心を寄せなかったことが大きな理由とされている。腸絨毛に類似した 2 ないし 3mm 程度の *Echinococcus* 属条虫を大量の腸内容物から分別するには、適切な検出方法の手法が必要となる。そこで、国際貢献の一環として、検査作業方法の技術移転を兼ね、捕獲動物のサンプルを用いた蠕虫検査の指導を行った。虫種確認は肉眼と実体・光学顕微鏡で実施した。用いたサンプルは当該国内数カ所で毛皮原料を得る目的で銃猟されたタイリクオオカミ *Canis lupus*、コサックギツネ *Vulpes corsac* およびアカギツネ *V. vulpes* の 3 種計 420 個体分の内臓および消化管であった。その結果、*Echinococcus* 属はオオカミから単包条虫 *E. granulosus* が、また、アカギツネから多包条虫 *E. multilocularis* がそれぞれ見つかった (Ito et al., 2013)。ほかの蠕虫としては、条虫 *Taenia* (おそらく、胞状条虫 *T. hydatigena*)、瓜実条虫 (犬条虫) *Dipilidium caninum*、*Mesocestoides* sp.、吸虫 *Alaria* sp.、鉤頭虫 *Macracanthorhynchus* sp.、線虫 *Toxocara* sp.、*Ancylostoma* sp.、*Rictularia* sp.が見出された。さらに興味深い事例として、ウマバエ類 *Gasterophilus* sp. 幼虫がギツネ類の腸内容物から見つかったことである。おそらく、斃死したウマの胃を食べた個体か、あるいはウマの糞と共に排泄されたものを食べた事による偽寄生であろう。これまで検出された蠕虫は、すでに欧州や中近東のオオカミで報告されているものと大きく異なることはないものの、モンゴル国では初めての記録であった。

キーワード ; 蠕虫類、タイリクオオカミ、コサックギツネ、アカギツネ、モンゴル

Investigation of intestinal helminthes obtained from wild canids in Mongolia - Its materials, methods and preliminary results

Toshiaki Ki¹⁾, Gantigmaa Chuluunbaatar²⁾, Battulga Sumiya²⁾, Abmed Davaajav³⁾, Anu Davaasuren³⁾,
Munehiro Okamoto⁴⁾, Tetsuya Yanagida⁵⁾, Akira Ito⁵⁾, Mitsuhiko Asakawa¹⁾

¹⁾Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

²⁾Mongolian Academy of Science, Ulaanbaatar, Mongolia

³⁾National Center for Communicable Diseases, Ministry of Health, Ulaanbaatar, Mongolia

⁴⁾Center for Human Evolution Modeling Research, Primate Research Institute, Kyoto University, Inuyama, Aichi 484-8506, Japan

⁵⁾Department of Parasitology, Asahikawa Medical University, Asahikawa, Hokkaido 078-8510, Japan

Abstract There is no data on intestinal helminths including the genus *Echinococcus* in wild canids in Mongolia. So, the direct evidence of infections of the genus in the definitive host animals in Mongolia at least. Through our network with hunters and others, we could finally examine these animal intestines in Ulaanbaatar. A total of 420 individuals including wolves, corsac and red foxes were examined for detection of the helminths from small intestines. Among them, *E. granulosus* was obtained from wolves, and *E. multilocularis* was obtained from red foxes, respectively (Ito et al., 2013). Furthermore, the other helminths including *Taenia hydatigena*, *Dipilidium caninum*, *Mesocestoides* sp., *Alaria* sp., *Macracanthorhynchus* sp., *Toxocara* sp., *Ancylostoma* sp., *Rictularia* sp. etc. were detected. And, a larva of *Gasterophilus* sp. was found. Probably, this case was pseudoparasitism due to eating a horse stomach.

Key Words; Helminths, red fox, corsac, wolf, Mongolia

[はじめに]

ロシア共和国（旧ソビエト連邦時代を含む）のウラル山脈から東部地域と中華人民共和国におけるヒトの包虫症研究あるいは症例報告は相当数の蓄積がある（Abuladze, K. I. 1964; Ito et al., 2006; 伊藤ら, 2006）。しかし、両国に挟まれたモンゴル国では、古来よりエキノコックス *Echinococcus* 症に悩まされていたと想像されるが、その研究は緒についたばかりである（Ito et al., 2010; Nakao et al., 2009）。

なぜ、モンゴル国での研究・対策が遅れているのであろうか。エキノコックス症のコントロールに到る具体的な重要項目の一つが、終宿主における基盤情報、すなわち広汎な地域に生息おけるイヌ科 *Canidae* に所属する野生動物の消化管寄生性蠕虫相の把握である。イヌ科動物は *Echinococcus* 属条虫成虫の好適宿主である（今井ら, 2007）。しかし、この国では飼い犬や野犬含めイヌ科動物を対象にしたこの条虫の侵淫状況調査がなされなかった。野生哺乳類の蠕虫研究自体、当該国研究者によりほぼ実施されなかったこと、海外研究者も関心を寄せなかったことが大きな理由であろう。野生動物の消化管から大型蠕虫類を見出したとしても、2~3mm の *Echinococcus* 属条虫成虫を大量の腸内容物から分別するには、適切な検出方法の手法が必要である。当該国には、これが確立されていなかった。

繰り返しになるが、エキノコックス症対策のため継続的なモニタリングを行う人材養成が急務である。今回、検査作業方法の技術移転を兼ね、野生動物の蠕虫検査を担う予定の現地・生態学者と共に蠕虫検査を行ったので紹介する。

[材料と方法]

期間は 2011 年 5 月 1 日から 7 日、技術研修者はモンゴル科学アカデミー（Mongolian Academy of Science）の Gantigmaa Chuluunbaatar および Battulga Sumiya で、専門分野が昆虫（特に、鱗翅目）の野外生態および形態・分類の専門家であった。なお、本文には新知見も含まれるので、両氏も共著者として加わっている。蠕虫検査研修で用いた材料は、2011 年 3 月に、モンゴル国内数カ所で毛皮原料を得る目的で銃猟されたタイリクオオカミ *Canis lupus*、コサックギツネ *Vulpes corsac* およびアカギツネ *V. vulpes* の 3 種計 50 個体分の内臓および消化管であった。これらは、前述の当該国が運営する動物学の専用施設内冷凍庫で -20℃ で保存されていた。これらを解凍し、特に、腸内容物と腸粘膜について検査した(図 1 左上)。

日本人チームが帰国後、現地研究者が、2012 年 7 月および 9 月に、前述と同様な動物種、計 243 個体分のサンプルからも、蠕虫を採集し、70%エタノール液に保存した。しかし、多数個体のため大部分のものが、消化管内容物ごと保存された。これは、*Echinococcus* 属虫卵を不活化することと、腐敗防止のため、70%の濃度になるように 99.9%エタノール液を注ぎ調整された。保存された蠕虫類は、一部大型のものを除きラクトフェノール液で透徹され、実体および光学顕微鏡を用い、デジタルカメラで写真撮影を実施し、その記録

類とともに送付された。送付された情報をもとに同定分析を試みた。なお、2011 年 2 月に捕獲キツネ（種不明）20 個体も、Chuluunbaatar および Sumiya が独自に採集したデータ類も比較検討を試みたが、読み取り不可能であったので除外した。

以上の検査で検出された *Echinococcus* 属条虫については、Nakao et al. (2009)の方法に準じ、分子生物学的分類が実施され、その結果は Ito et al. (2013)で報告された。

[結果]

研究施設が昆虫生態学ラボであったため、基本的な蠕虫検査のための器具が欠落していた。腸内容物は水に溶解し、観察の妨げになる夾雑物を除去しなければならない。まず、そのための沈澱管がなかった。50 サンプル処理を短期間に行うためには、最低、10 本ほどの沈澱管（1000 ml 程度）が必要であると見積もった。そこで、施設内外で廃棄物とされた飲料水などが入っていたペットボトルを収集し、これを切断し、急速、簡易沈澱管を作製した(図 1 右上)。腸粘膜の絨毛内に寄生する *Echinococcus* 属、粘膜下織に寄生する微細な蠕虫では周りの組織が邪魔をして、虫体を発見しにくい。このためには 2 枚の厚ガラス板に挟んで検査をするが、通常、この作業ではトリヒナスコープも、二枚の大型ガラス製シャーレを代用した。30 個体ほどは時間的制約のため、沈澱のみ行い、ある程度精製された沈澱を、*Echinococcus* 属虫卵を不活化することと、腐敗防止のため、70%の濃度になるように 99.9%エタノール液を注ぎ調整した。そのために、デスポーザブルタイプの沈澱管(100 ml)の多数、使用したが、そのために、段階的にエタノール濃度を高めるため、試験管立てを発泡スチロールで自作した(図 1 下)。



図 1 材料と自作器具 -右上: 腸と内容物, -右上: 廃棄されたペットボトルを用いた沈澱管, -下: 同じく廃棄物であった発泡スチロール容器を改造し自作した簡易沈澱管立て(左下側手前のもの)と検査風景

虫を分別できるようになった段階で、30 ml バイアル瓶に、肉眼判断で一種ごと保存するようにした。分別では剣先ピンセットが一人に2本必要となるのだが、途中で大学院生3名も参加したところから、足りなくなった。実体顕微鏡も昆虫の形態観察仕様で、光源を鏡筒上方に設置し落射するタイプのものしかなく、希釈したものであっても、濁った内容物検査をすることは困難であった。これも下方に移動した透過式に改造した(図2)。



図2 光源を下方に移動し透過式にした実体顕微鏡で内容物を検査している状態

以上のような準備で、第一日目の半日は費やされることになった。本来ならば、日本を出発する前に、研究室の状況を把握すべきであったが、交信がスムーズにいかなかったことからこれが不可能であった。もっとも、もし、交信可能であったとしても、昆虫学の専門家にメールだけで以上のような内容を伝えるのは、やはり難しかったであろう。

準備はとても難航したが、*Echinococcus* 属(図10)は、検査を開始して約30分後、4検体目のオオカミから単包条虫 *E. granulosus* が、さらに10検体目のアカギツネから多包条虫 *E. multilocularis* がそれぞれ見つかった(図3)。なお、この多包条虫は mDNA の COX1 領域を分析した結果は Ito et al. (2013)が報告したように「モンゴル型」であった。



図3. 今回の検査で初めて見つかった *Echinococcus granulosus* (左)と *E. multilocularis* (中;検査で用いた光学顕微鏡では専用の撮影装置は無く、接眼レンズにスナップ用デジタルカメラを装着して撮影。これら虫体をすべて採取し、70%エタノール液で固定した状態(右))

Echinococcus 属以外の条虫としては *Taenia* (おそらく

く胞状条虫 *T. hydatigena*)、瓜実条虫(犬条虫) *Dipilidium caninum* および *Mesocestoides* sp.が見つかった(図4)。



図4. 今回の調査で見出された *Taenia* 属(おそらく胞状条虫 *T. hydatigena*、-左上:腸管から取り出された状態、-右上:頭節、-左下:老熟片節)および瓜実条虫(犬条虫) *Dipilidium caninum* (右下:小腸に詰まった塊状)

また、ほかの蠕虫としては、吸虫 *Alaria*、鉤頭虫 *Macracanthorhynchus*、線虫 *Toxocara*、*Ancylostoma*、*Rictularia* 各属見出された。特に、*Macracanthorhynchus* sp.の濃厚寄生が顕著であった(図5)。



図5. 今回検出された吸虫 *Alaria* sp.および鉤頭虫 *Macracanthorhynchus* sp.(腸に寄生した状態)

日本チームが帰国後、現地の研究者が独自に行った240個体分の写真データのうち、180検体のものが読み取れることができた。*Echinococcus* 属も確実に採集され、その寄生率は Ito et al. (2013)で報告された。ほかの蠕虫も、大まかな種ごとにきちんと整理され、現地

指導時には遭遇しなかった鉤頭虫も見出されていたことが判明した。さらに興味深い事例として、ウマバエ類の幼虫がキツネの腸内容物から見つかった。おそらく、斃死したウマの胃を食べた個体か、あるいはウマの糞と共に排泄されたものを食べた事による偽寄生と考えられた(図 6)。

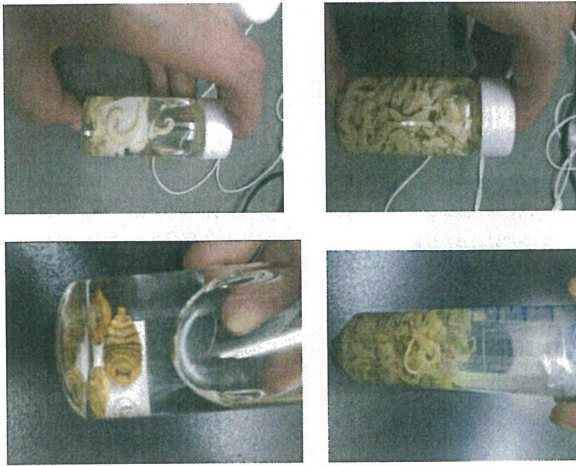


図 6. 日本人チームが帰国後、現地研究者が独自調査で検出した蠕虫。－左上:鉤頭虫(前回の調査では見出されなかった *Corynosoma* 様未同定種,－右上:鉤頭虫 *Macracanthorhynchus* sp.,－左下:ウマバエ幼虫 *Gasterophilus* sp.,－右下: *Toxocara* sp.

[考察]

今回、モンゴル国で初めてとなる、*Echinococcus* 属条虫成虫が得られた(Ito et al., 2013)。そして、その場に現地研究者に準備の段階から協力していた。さらに、彼ら独自の検査でも、第三者に理解しやすい標本採集とデータの整理を実施することができた。彼らによる継続的なモニタリング調査が期待された。当初の目的である技術移転は完結できたと結論したい。これまで検出された蠕虫は、すでに欧州や中近東のオオカミで報告されているものと大きく異なる種ではないと考えられるもの(Aydenizöz, 1997; Dalimi & Mobedi, 1992; Dalimi et al., 2006; Meshgi et al., 2009; Nashiruddullah & Chakraborty, 2001; Papadopoulos et al., 1997; Pavolvić, et al., 2006; Zvegintsova et al., 2007)、モンゴル国では初めての記録であった。

この科学的な価値を彼ら、現地研究者がどのように評価し、学問的な関心をひくかが、当該国の蠕虫研究の今後に関わることである。そのためには、学問的背景となる野生動物医学の基盤形成も並行して形成しなければ、「野生動物蠕虫学」(浅川, 2013)の進展は望めない。今後は、このような視点からの息の長い学術交流が期待された。

[謝辞]

本研究は伊藤が代表となる文科省・科学技術戦略推進費「アジア・アフリカ科学技術協力の戦略的推進」(2010-2012年度)および日本学術振興会・基盤研究A(海外)(2009-2012年度)の一環で行われた。

[文献]

1. Abuladze, K. I. 1964. [Taeniata of animals and man and diseases caused by them.] In: Essentials of cestodology. Vol. IV. (Ed. Skrjabin, K. I.), Izdatz. A kad. Nauk SSR, Moscow. (translated from Russian by Israel Prog. Sci. Trans., 1970. Jerusalem, pp. 23-32).
2. 浅川満彦. 2013. 野生動物の疾病と病理－寄生虫。(村田浩一・坪田敏男 編) 獣医学・応用動物科学系学生のための野生動物学, 文永堂, 東京: 149-157.
3. Aydenizöz, M. 1997. Helminthological investigations of dogs in Konya Province. Acta Parasitologica Turcica, 21: 429-434.
4. Batsaikhan, N. (ed.). 2010. Field Guide to the Mammals of Mongolia. Mongolian Ornithological Society, Mongolia: 307.
5. Dalimi, A., Mobedi, I. 1992. Helminth parasites of carnivores in northern Iran. Ann. Trop. Med. Parasitol., 86: 395-397
6. Dalimi, A., Sattari, A., Motamedi, G. 2006. A study on intestinal helminthes of dogs, foxes and jackals in the western part of Iran. Vet. Parasitol., 142: 129-133
7. 今井壮一・板垣 匡・藤崎幸蔵(編). 2007. 最新家畜寄生虫病学. 朝倉書店, 東京.
8. 伊藤 亮. 2006. アジアにおけるエキノコックス症、囊虫症流行拡大に関する免疫・分子疫学調査. 平成 14 年度～平成 17 年度科学研究補助金(基盤研究・海外(A)(2)) 研究成果報告書, 旭川医科大学: pp. 483.
9. Ito, A., Agvaandaram, G, Bat-Ochir, O. E., Chuluunbaatar, B, Gonchigsenghe, N, Yanagida, T., Sako, Y., Myadagsuren, N., Dorjsuren, T., Nakaya, K., Nakao, M., Ishikawa, Y., Davaajav, A., Dulmaa, N. 2010. Histopathological, serological, and molecular confirmation of indigenous alveolar echinococcosis cases in Mongolia. Am. J. Trop. Med. Hyg., 82: 266-269.
10. Ito, A., Chuluunbaatar, G., Yanagida, T., Davaasuren, A., Sumiya, B., Asakawa, M., Ki, T., Nakaya, K., Davaajav, A., Dorjsuurn, T., Nakao, M., Sako, Y. 2013. Confirmation of *Echinococcus* species from red foxes and wolves in Mongolia. Parasitology 140: in press.
11. Ito, A., Craig, P. C., Schantz, P. M. (eds.) 2006. Taeniasis/cysticercosis and echinococcosis with focus on Asia and the Pacific. Parasitol. Int., 55 (Suppl.): s1-s308.
12. Meshgi, B., Eslami, A., Bahonar, A., Kharratian-Moghadam, M., Gerami-Sadeghian, A. 2009. Prevalence of parasitic infections in the red fox (*Vulpes vulpes*) and golden Jackal (*Canis aureus*) in Iran. Iran. J. Vet. Res., 10: 387-391.
13. Nakao M, Xiao N, Okamoto M, Yanagida T, Sako Y, Ito A. 2009. Geographic pattern of genetic variation in the fox tapeworm *Echinococcus multilocularis*. Parasitol. Int. 58: 384-389.
14. Nashiruddullah, N., Chakraborty, A. 2001. Parasites of captive wild carnivores of Assam State Zoo. Int. Polivet., 2: 173-181.
15. Papadopoulos, H., Himonas, C., Papazahariadou, M., Antoniadou-Sotiriadou, K. 1997. Helminths of foxes and

- other wild carnivores from rural areas in Greece. J. Helminthol., 71: 227-231.
16. Pavolvić, I., Kulić, Z., Stanojević, S. 2006. The nematode of red foxes *Vulpes vulpes* L. hunted in Belgrade area. Lucrări. Științifice-Medicină Veterinară, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară "Ion Ionescu de la Brad" Iași, 49: 396-399.
17. Zvegintsova, N. S., Dumenko, V. P., Varodi, E. I. 2007. Helminths of the red fox (*Vulpes vulpes*) in the Askania Nova Biosphere Reserve (Ukraine). Ves. Zool., 41: 153-157.