

学位論文要旨

日本国内の飼育犬・猫由来 *Giardia duodenalis* の
分子疫学的研究

Molecular epidemiological study of *Giardia duodenalis*
isolated from domestic dogs and cats in Japan

北里大学大学院獣医学系研究科
獣医学専攻 博士課程

飯島 裕子

IIJIMA YUKO

指導教授 伊藤 直之

G. duodenalis は、世界中に分布し、幅広い範囲の哺乳類に感染し、下痢を引き起こす可能性がある消化管内寄生原虫である。この寄生虫は 1 つの種複合体であり、現在、8 つの遺伝子学的 *assemblage* に分けられ、それぞれ宿主特異性が異なる。現在、*G. duodenalis* 株の人獣共通感染リスクを評価するための遺伝子学的解析手法として、多遺伝子座での遺伝子型別 (Multi-locus genotyping : MLG) が、最も情報量に優れ、型別決定に適していると考えられている。国内の飼育犬・猫において *G. duodenalis* は最も蔓延している寄生虫の 1 つであるにもかかわらず、過去の分子疫学的な調査報告は限られている。本研究は、国内の飼育犬・猫由来の *G. duodenalis* を MLG により解析することで、犬・猫における *G. duodenalis* *assemblage* の分布を明らかにし、人獣共通感染のリスクを評価した。また、得られた *G. duodenalis* の DNA 配列の比較解析を行い、各 *assemblage* 内における遺伝子学的多様性および犬・猫における伝播について考察した。

第 1 章では日本で初めて犬由来の *G. duodenalis* 株を MLG により遺伝子型を決定することで、各 *assemblage* の分布を明らかにし、人獣共通感染のリスク評価を行った。ELISA キットで *Giardia* 特異抗原陽性となった計 210 検体 (一般家庭から 48 検体、ペットショップから 87 検体、繁殖施設から 46 検体、専門学校から 17 検体、犬の訓練施設から 12 検体) を解析した。*G. duodenalis* の 4 つの遺伝子座 18S rRNA、GDH、BG、TPI を標的とする各 nested PCR に加え、犬特異的 *assemblage* の検出に優れた TPI を標的とする nested PCR を行い、増幅産物のシーケンス解析より遺伝子型別を行った。その結果、計 170 検体 (一般家庭から

39 検体、ペットショップから 69 検体、繁殖施設から 37 検体、専門学校から 13 検体、犬の訓練施設から 12 検体)で *G. duodenalis* の遺伝子型が決定可能であった。83 検体は PCR 間での結果に矛盾を生じず、単一の *assemblage* として同定されたのに対し、87 検体は、複数の異なる *assemblage* を含んでいた。犬特異的な *assemblage* が全体の 81.8% (139/170)を占め、*assemblage* C が 15.3% (26/170)、D が 30.0% (51/170)、mixed *assemblage* C+D が 36.5% (62/170)となった。30 検体(17.6%)は人獣共通感染性とされる *assemblage* A あるいは B を含み、*assemblage* A が 2.9% (5/170)、A+D が 9.4% (16/170)、A+C+D が 2.9% (5/170)、B が 0.6% (1/170)、B+D が 1.8% (3/170)であった。1 検体は猫特異的な遺伝子型である *assemblage* F を含んでいた(D+F: 0.6%)。一般家庭、ペットショップ、繁殖施設、専門学校、犬の訓練施設のいずれからでも、人獣共通感染性の *assemblage* A が検出され、国内の飼育犬由来 *G. duodenalis* における人獣共通感染リスクの存在が明らかとなった。また、ペットショップ、繁殖施設の店舗あるいは繁殖施設ごとに分布をみると、人獣共通感染性 *assemblage* の分布が飼育施設ごとに偏っていた。従って、繁殖施設ごとの感染コントロールの重要性が示唆された。

第 2 章では、未調査であり、かつ人との密接な接触が予想される一般家庭飼育猫およびペットショップ飼育猫に由来する *G. duodenalis* 株について MLG により遺伝子型別を行い、各 *assemblage* の分布を明らかにすることで、人獣共通感染リスクを評価した。

ELISA キットで *Giardia* 陽性となった計 57 検体(一般家庭から

13 検体、ペットショップから 44 検体)を解析した。*G. duodenalis* の 4 つの遺伝子座 18S rRNA、GDH、BG、TPI を標的とする各 nested/semi-nested PCR を行い、増幅された PCR 産物の配列解析より遺伝子型別を実施した。計 44 検体(一般家庭から 11 検体、ペットショップから 33 検体)で型別が可能であった。猫特異的な assemblage F が 75%を占め(33/44)、次いで assemblage A が 13.6%検出された(6/44)。1 検体は assemblage B であった(2.3%)。4 検体は遺伝子座間での矛盾を生じ、検体中に assemblage A と F が含まれていた(9.1%)。全体で人獣共通感染性 assemblage の A または B を含む検体の割合(25.0%)は犬よりも高い傾向が見られ、複数の異なる地域の一般家庭飼育猫および 5 店舗のペットショップの飼育猫から assemblage A が検出された。人獣共通感染性である assemblage A の幅広い分布が明らかとなり、国内の飼育猫由来の *G. duodenalis* の人獣共通感染リスクが明らかとなった。

第 3 章では、第 1 章と第 2 章で得られた *G. duodenalis* の DNA 配列を用いて系統発生的な解析を行い、飼育犬・猫由来 *G. duodenalis* の遺伝子学的な近似や多様性を明らかにし、各株の犬・猫における伝播について考察した。

飼育犬・猫での調査で得られた合計 649 の DNA 配列(18S rRNA: 112, GDH: 123, BG: 133, TPI: 281)を遺伝子座ごとにアラインメント処理し、比較した。配列内に double peak を示したものを除き、最終的に合計 104 (18S rRNA: 6, GDH: 15, BG: 24, TPI: 58) の異なる配列を用いて最尤法により系統樹を作成した。その結果、assemblage A と B では、検出された検体数に限りがあるものの、遺伝子学的な多様性が乏しく、いくつかの犬由来株と猫由来株で

は配列が完全に一致した。従って、これらの *assemblage* A 株あるいは B 株が幅広く分布し、犬－猫間でも伝播する可能性あることが示唆された。*assemblage* C、D、F は系統樹において遺伝子学的多様性が認められたが、検体提供元や検体採取地域による偏りが見られなかった。人の手による動物の移動と共に、遺伝子学的に異なる株が拡散している可能性が考えられた。

以上の成績から、日本国内の飼育犬・猫由来の *G. duodenalis* が潜在的な人獣共通感染リスクを有していること、これらの人獣共通感染性 *G. duodenalis* が犬－犬あるいは猫－猫間のみならず犬－猫の種間においても伝播、維持される可能性が示された。本研究の成果は、*G. duodenalis* の疫学的な動態や遺伝子学的特徴に対する理解を深め、小動物臨床現場において獣医師が飼育犬・猫由来 *G. duodenalis* の人獣共通感染リスクを認識し、飼い主へ適切なインフォームを行うために役立つと考えられる。