

令和4年4月25日

## 令和3年度 共同研究報告書

研究代表者： 山崎 朗子

1. 研究課題名	日本語表記：九州産野生獣肉に潜む寄生虫性食中毒リスクの評価 英語表記:Evaluation of food-poisoning agents from parasite in wild animal meat in Kyushu		
2. 研究期間	令和3年4月1日～令和4年3月31日		
3. 共同研究者	氏名	機関・所属部署名	
	松本 七海	岩手大学・農学部	
	入江 隆夫	宮崎大学・農学部	
職名			
4. 研究目的	<p>近年、シカやイノシシなど野生獣による生態系や農林水産業等への被害の大きさから、環境省や農林水産省が抜本的捕獲強化対策に取り組んでおり、駆除された野生動物を食肉利用する地域振興事業が盛んである。これまでの疫学調査の結果、このような野生獣がE型肝炎ウイルス、志賀毒素産生大腸菌、サルモネラ、肝蛭、住肉包子虫、ジアルジア、クリプトスポリジウム等の様々な病原微生物を保有することが示されたが、多くについては内臓内に存在することから、その適切な廃棄により食中毒危害および経済被害を回避できる。しかし、住肉包子虫に関しては、可食部位である筋肉組織に寄生することと、保有率はシカでほぼ100%、イノシシで10-50%であること、既にシカ肉の生食により食中毒事例を起こしていることから、ジビエ産業振興への大きな障害となる。</p> <p>ところが、いわゆる「ジビエ」と総称される野生獣肉は、一般的な家畜の食肉処理とは異なりと畜検査の対象とはならず、自治体や各処理施設の基準に基づいた処理過程を経て販売がされている。加えて、ジビエの肉質は脂肪分の少ない馬肉に似た性質であることから、半生やときに生食嗜好される傾向もあり、多くのジビエが食中毒リスクの高い状態で流通・提供されている実情である。しかし、ジビエの食中毒リスク、特に住肉包子虫を含む寄生虫の種およびその病原性については解明されておらず、早急な食中毒危害性の理解と排除策の立案が求められている。</p> <p>九州地域では、ニホンジカ（キュウシュウジカ）、イノシシ、アナグマなどの野生獣肉が食用利用されており、中でも宮崎県は農林水産省の許可を有するジビエ処理加工施設が全国第3位と多く（令和元年度）、宮崎県産の野生獣肉の流通・消費は盛んである。本研究では、これらの獣肉における寄生虫を組織学的、分子学的、そして毒性学的に評価し、安全なジビエの供給に貢献するための基礎的データの蓄積に取り組む。</p>		

## 5. 研究内容・成果

宮崎県内のジビエ処理施設から、検査試料（横隔膜）としてキュウシュウジカ 63 検体、イノシシ 11 検体を得た。キュウシュウジカは 63 検体すべて（100%）に住肉胞子虫の寄生を認めた。形態学的には複数種の存在が示唆されているが、検体収集の時期が遅れてしまったこともあり、現時点では分子学的解析は完了していない。引き続き解析をすすめ、エゾシカおよびホンシュウジカに寄生する種との比較を行う。

シカ肉の食中毒原性の評価について、本研究期間内に入手したキュウシュウジカ検体では、ウサギを用いた生体実験可能な量の寄生を認める検体を得られなかったため、本州産のホンシュウジカ由来に住肉胞子虫を用いた腸管毒性の検討を行った。まず、ニホンジカの骨格筋から住肉胞子虫シスト 300 個程度をピンセットで回収した。評価に用いたシストは、Abe ら(2019)の方法による分子同定により *S. cf. tarandi* と *S. japonica* の混合であると同定された。これらのシストをホモジナイズした後、水溶性タンパク質を抽出した。ゲルろ過クロマトグラフィーにて分子量依存的に分画した 15~250kDa の各タンパク質分画（図 1）をウサギの空腸ループ試験に供したところ、二つの分画投与ループに液体貯留を認め（図 2）、これらの分画に含まれる 17~50kDa、15~37kDa のタンパク質が毒性因子候補と考えられた。ループ内腔を実体顕微鏡で観察したところ、液体貯留を示した T2, T3 ループに顕著な炎症や出血は認めず、この毒性因子の作用は非出血非炎症性下痢と考えられた（図 3）。今後はこの分画に含まれるタンパク質をさらに細かく分離して毒性因子を特定する。併せて、キュウシュウジカにおいて十分な量の住肉胞子虫の寄生を認める検体を得られた場合、その毒性の評価と、ホンシュウジカ由来の住肉胞子虫との比較検討も実施する。

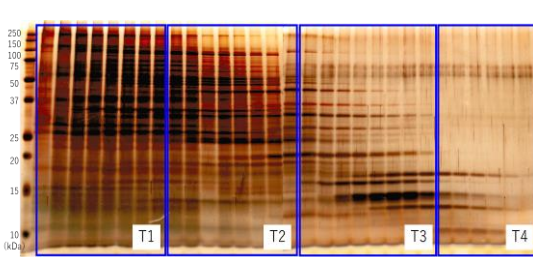


図 1. 住肉胞子虫由来水溶性タンパク質の分画像

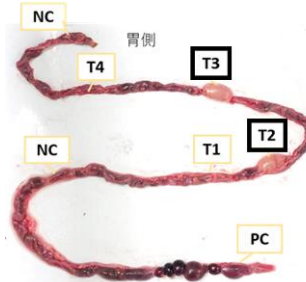


図 2. 住肉胞子虫分画タンパク質を用いた腸管ループ像

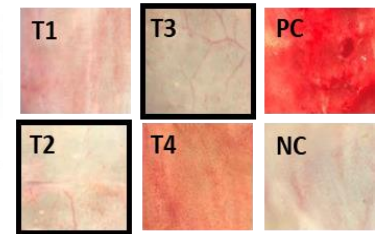


図 3. ループ内腔観察像

イノシシは 5 検体（45.5%）が陽性であり、寄生種はいずれも *S. miesheriana* 単独であった。本種については既下痢原性因子とされるタンパク質、アクチン脱重合因子の保有が知られていること、ならびに本州での調査においても同様に約半数のイノシシが *S. miesheriana* 陽性であったという報告から、九州においても同程度の流行があり、喫食に際しては十分な凍結もしくは加熱処理が必要であることが示された。

アナグマについては、宮崎市および周辺自治体の有害駆除個体もしくは交通事故個体を検査し、このうち評価に利用できる横隔膜検体として 7 検体を入手した。国内のアナグマにおいても過去に住肉胞子虫の検出報告が知られるが、今回検査した筋肉内には住肉胞子虫の寄生は認めなかった。

一方で、アナグマからは人獣共通寄生虫である宮崎肺吸虫が検出され、また並行して検査していたタヌキからはウエステルマン肺吸虫が検出されたことから、感染源動物である淡水産カニの調査も実施し、これらの結果を合わせ学術誌に発表した。

表 1. 九州産野生獣肉における *Sarcocystis* 属原虫の検出状況と同定種

	検体数	形態学的検査 陽性数 (%)	分子学的解析 同定種
キュウシュウジカ	63	63 (100)	評価途中
イノシシ	11	5 (45.5)	<i>S. miesheriana</i>
アナグマ	7	0	-

※ 必要に応じて、枠を広げて記載してください。

6. 成果となる論文・学会発表等

(※参考となる資料を添付してください。)

野生生物の *Sarcocystis* 属原虫、特にシカ科動物寄生種について  
入江隆夫

第 35 回 生態学・疫学談話会, 2021 年 04 月 15 日, オンライン (招待あり)

添付資料 1 : プロシーディング

シカ肉に寄生する *S. japonica* および *S. cf. tarandi* の腸管毒性解析

大森香葉、松本七海、白藤由紀子、寺嶋淳、山崎朗子

第 164 回日本獣医学会学術集会, 2021 年 9 月 7 日(火)~13 日(月) オンライン

添付資料 2 : 要旨 FO-21 P.227-228

馬肉およびシカ肉に寄生する住肉胞子虫の腸管毒性比較解析

大森香葉、松本七海、白藤由紀子、寺嶋淳、山崎朗子

第 42 回日本食品微生物学会学術総会, 2021 年 9 月 21 日 (火) ~10 月 20 日 (水) オンライン

添付資料 3 : 要旨 A-12 P.VII

シカ肉に寄生する *S. japonica* および *S. cf. tarandi* の腸管毒性解析

松本七海、大森香葉、白藤由紀子、寺嶋淳、山崎朗子

令和 3 年度獣医学術東北地区学会, 2021 年 10 月 11 日(月) ~令和 3 年 10 月 31 日(日) オンライン

添付資料 4 : <https://confit.atlas.jp/guide/event/tohokujuishi2021/session/c-3/category> 演題番号 3-10

Sporadic endemicity of zoonotic *Paragonimus* in raccoon dogs and Japanese badgers from Miyazaki Prefecture, Japan.

Ishida M, Kaneko C, Irie T, Maruyama Y, Tokuda A, Yoshida A.

Journal of Veterinary Medical Science, 2022, 84: 454-456.

添付資料 5 : 誌面掲載原稿

7. 産業動物防疫リサーチセンターへ訪問した回数

氏名	職名等	国籍	訪問回数・合計日数	訪問時期
山崎 朗子	助教	日本	1回・6日	3月
松本 七海	学生	日本	1回・3日	3月

8. 利用した設備・施設等 ※必要に応じ様式の追加・削除可。

施設

室名	動物種	飼育数	期間
BSL 3 施設			
獣医棟 P 2 動物実験室			
教育棟 P 2 動物実験室			

設備・機器類

(I) 獣医棟 3 階

部屋名	機器名	使用した延日数	
P 2 実験室	V301	フローサイトメーター (ライテクノロジーズジャパン)	
		マイクロプレートリーダー(BioRad)	
		マイクロプレート洗浄装置 (Thermo WellWash)	
		NanoDrop 分光光度計(Thermo ND-1000)	
		冷却遠心機(KUBOTA 7780)	
		冷却遠心機(Thermo)	
		卓上型冷却遠心機 (HITACHI)	
		安全キャビネット(AIRTEC)	
		ハイブリオープン(タイテック)	
		オートクレーブ(平山製作所 HG-50)	
		自動核酸抽出装置(magLead 12gC)	
		V304	ヒートブロック (アステック)
	安全キャビネット(AIRTEC)		
	卓上遠心機(HITACHI)		
	MALDI Biotyper (BRUKER)		
	V308	アイソレーター (マウス/ラット用) (Tokiwa T-BCC-Micro-M25)	
		安全キャビネット(AIRTEC)	
		オートクレーブ(トミー精工、LSX-700)	
	V310	アイソレーター (マウス/ラット用) (Tokiwa T-BCC-Micro-M25)	
		オートクレーブ(HIRAYAMA HV-110)	
		安全キャビネット(AIRTEC)	
	V313	安全キャビネット(AIRTEC)	
	V314	デジタルカメラ付蛍光顕微鏡 (OLYMPUS DP74-SET-A)	
		CO <sub>2</sub> インキュベーター (ASTECS SCI-165D/APC)	
		倒立位相差顕微鏡(OLYMPUS CKX41)	
		安全キャビネット(AIRTEC)	
		オートクレーブ(平山製作所 HG-50)	
		卓上遠心機(KUBOTA 5520)	
	V319	卓上冷却遠心機(eppendorf 5415R)	
		CO <sub>2</sub> インキュベーター (Thermo F370)	
		安全キャビネット(AIRTEC)	
		倒立蛍光顕微鏡(KEYENCE BZ-9000)	

遺伝子実験室	V323	位相差顕微鏡 (OLYMPUS CK2)	
		超遠心機 (HITACHI CP80WX)	
		安全キャビネット (AIRTEC)	
		スイングローター付遠心機 (HIRASAWA TE-HER)	
		インキュベーター (SANYO MIR-153)	
		卓上冷却遠心機 (eppendorf 5415R)	
		紫外・可視分光光度計 (GE Healthcare GeneQuant100)	
		ヒートブロック (アステック)	
	V303	ゲル・メンブラン撮影装置 (BioRad)	
		PCR 装置 (BioRad, Applied Biosystems)	
		多標識測定用プレートリーダー (ワラック社)	
		リアルタイム濁度測定装置 (テラメックス LoopampEXIA)	
		リアルタイム PCR 装置 (ABI, Quant Studio 3)	
		デジタル PCR (日本バイオラッド)	
V306	卓上遠心機 (HITACHI CT6E)		
	卓上冷却遠心機 (HITACHI CT15RE)		
V307	細菌検査用ホモジナイザー (オルガノ EXNIZER400)		
	シークエンサー (ABI3130, SeqStudio)	1 日	
試薬調製室	V305	pH メーター (HORIBA)	
		デシケーター (ASONE)	
病理標本作製室	V316	パラフィン包埋ブロック作製装置 (SAKURA)	
		手動回転式ミクロトーム (Leica MR2235)	
		密閉式自動固定包埋装置 (SAKURA)	
		卓上型ドラフト (明光メディカル)	
洗浄室	V318	超純水製造装置 (Milli-Q Advantage)	
		オートクレーブ (TOMY SX-500)	
		全自動洗浄機 (Miele PG858)	
滅菌室	V322	オートクレーブ (TOMY、平山製作所)	
		高純水製造装置 (Merck)	
		全自動血球計数器 (日本光電工業)	
微生物保存室	V324	液体窒素保存容器 (太陽日酸株, アステック)	
		超低温槽 (Thermo REVC0 TSX400G)	

(II) 獣医寄生虫病学研究

部屋名	機器名	使用した延日数
獣医寄生虫病学研究室	H212 核酸抽出自動化装置 (QIAcubr)	

(III) 産業動物教育研究センター

部屋名	機器名	使用した延日数
大中動物検査実験室	大中動物検査実験室	
	全身麻酔装置	
	埋込式回転診療台	
中動物陽圧実験室	手術台、無影灯 (2 機)、麻酔装置、生体情報モニター、X 線投下装置 (C アーム) 一式	

MRI 室	3T MRI、MRI 用生体情報モニター、MRI 用麻酔装置一式	
	MRI オペレーター	
P2 検査実験室	アイソレーター	
	安全キャビネット	
	オートクレーブ	
器具・薬品庫	ウサギ飼育用ケージ	
滅菌リネン庫	高圧蒸気滅菌装置	
	カートリッジ式酸化エチレンガス滅菌器	
動物飼育	動物飼育費	
	飼育管理員	

その他の装置・データ等

分類	名称	使用した延日数
データベース		
バイオリソース		
データ・文献		
装置	(寄生虫病学研究室) 実体顕微鏡、双眼顕微鏡 サーマルサイ클ラー、ヒートブロック ほか	1 日