

学位論文審査の結果の要旨

氏名	縄田 暁
審査委員	主査 北村 真一 副査 村上 安則 副査 高田 裕美 副査 広瀬 裕一

論文名 マボヤ被囊軟化症の原因鞭毛虫 *Azumiobodo hoyamushi* の感染環に関する研究

審査結果の要旨

マボヤ (*Halocynthia roretzi*) は、東北地方や韓国において重要な水産資源となっている。特に、宮城県では養殖が盛んで、我が国の生産量の 8 割を生産している。しかしながら、2007 年に、当時韓国で流行していた原因不明の被囊(外被)が軟化し、大量死する現象が宮城県でも確認された。本病はその症状から「被囊軟化症」と命名された。原因は長い間不明であったが、申請者が勤務する宮城県水産技術総合センター、愛媛大学および琉球大学の共同研究によって、キネトプラスト綱ネオボド目の新属新種の鞭毛虫 *Azumiobodo hoyamushi* が原因であることが明らかにされた。本鞭毛虫は、宿主の被囊内では 2 本の鞭毛を持つ紡錘形の虫体として存在することが知られているが、養殖環境における感染環は解明されていない。本虫の生態を明らかにすることは、本症の予防の観点からも重要となる。

本学位論文は原因鞭毛虫の培養株を用いた実験による知見をもとに、世界に先駆けて本虫の感染環を提案している。以下に、論文で述べられている内容と得られた結論を要約する。まずは、環境中に存在する *A. hoyamushi* がどのようにして、健康なマボヤに感染するのかについて、本虫の走化性に注目し実験を行っている。これまでに、マボヤの水管内壁の被囊にはクチクラ層が損傷している箇所があり、これが感染門戸になっていることが示唆されていた。そこで、申請者はクチクラ層の傷口から水溶性の物質が染み出ており、これが誘因物質となり、感染が成立すると仮説を立てた。具体的な実験としては、被囊抽出液を作製し、*A. hoyamushi* の抽出液に対する走化性を調べている。その結果、本虫は抽出液に正の走化性を示すことが明らかになった。また、被囊抽出液に含まれる走化性因子は、3 kDa 以上の分子であることなど、走化性因子の特徴も明らかにしている。

次に、20℃以上の高水温では死滅する *A. hoyamushi* がどのようにして環境中で越夏するかという疑問を解明するための研究を行っている。本課題にとりかかる以前に申請者は、継代培養中の鞭毛虫を滅菌人工海水へ移したところ、一部が球形のシスト様細胞に変形することを見出していたことから、シストに注目し実験を行った。シスト化の条件を調べたところ、培養液 (pH7.4) を海水と同程度 (pH8.4) にアルカリ化することでもシスト化が誘導されたため、pH の上昇がトリガーになっていることが明らかになった。また、シスト様細胞を被囊抽出液中で培養すると、9割以上が脱シストして再び鞭毛

虫形態に戻った。シスト様細胞の生存期間は温度に依存するが、10°Cの場合、90日後でも2割弱が生存し、被囊抽出液で処理すると9割以上が脱シストすることが明らかにされた。一方で、シスト様細胞の高温耐性は鞭毛虫形態と変わらず、25°Cで培養すると7日後には死滅した。シスト様細胞の微細構造や細胞膜の構造は鞭毛虫形態とほぼ同じであることがわかっており、本研究で明らかになった生理的な特徴と合わせて考察したところ、このシスト様細胞は、突発的な環境ストレスなどによって引き起こされる一時シストに該当すると述べられている。これらの研究で明らかになった知見をもとに、申請者は本鞭毛虫の感染環を以下のように提案した。

1. マボヤが、海水と一緒に *A. hoyamushi* を取り込む。
2. 水管内壁のクチクラ層損傷部からは、水溶性の走化性因子が拡散している。鞭毛虫は、マボヤに取り込まれた際に走化性因子を感知し、正の走化性を示して移動することで、クチクラ層損傷部に辿り着き、被囊内に感染する。
3. 鞭毛虫が被囊内で増殖するにともない、被囊は軟化する。病状が進行すると、最終的に感染個体は、被囊が裂けて死亡する。その際に、鞭毛虫は海水中に放出される。
4. 一部の鞭毛虫は、直ちに周囲のマボヤに海水と取り込まれ、新たな個体に感染する。マボヤに取り込まれなかった鞭毛虫の一部は一時シストとなり、養殖施設等への付着や海底に沈降するなど、周囲の環境中に潜伏する。宮城県のマボヤ養殖漁場は夏季に表層の水温が20°Cを超えるが、水深が30 m以上あるため水温躍層が形成され、海底の水温は20°C以下に保たれる。従って、海底に沈降した一時シストは越夏可能と考えられる。
5. 一時シストはマボヤに取り込まれると、水溶性の被囊成分に反応して脱シストして、鞭毛虫形態に戻る。その後、クチクラ層損傷部へ走化的に移動し、感染する。宮城県の養殖漁場では、秋季から冬季にかけて鉛直混合により海底に沈降した一時シストが表層へ供給されるため、夏季に一旦終息した被囊軟化症が冬季に再発すると考えられる。

本研究により、これまで未解明であった *A. hoyamushi* の感染環が初めて提案された。本研究は原生生物学において重要な新知見を提供している。さらに、魚病学、寄生虫学分野の観点からも高く評価できる。加えて、提案された感染環は感染症対策を検討する上で重要な基盤情報となる。本論文の公聴会は、平成31年2月1日に愛媛大学理学部講義棟 S21 講義室において開催され、論文発表と質疑応答が行われた。発表および質疑への応答は明快かつ的確で、申請者が高い学識と専門的知識・技術を有することを確認した。公聴会後の学位論文審査委員会において審議を行った結果、本論文は理工学研究科の定める学位審査基準を満たしており、学位を授与するに相応しい内容であると判定された。