

鶏コクシジウム症：アイメリア・テネラ感染メカニズムの解明に向けて

Avian coccidiosis: Toward the understanding of pathophysiology in *Eimeria tenella* infection

畑生 俊光

Toshimitsu Hatabu

岡山大学大学院環境生命科学研究科農生命科学専攻
Graduate school of Environmental and Life Sciences, Okayama University

Summary

Avian coccidiosis is most important entero-parasitic disease in the world. *Eimeria* parasite is causative agent of this disease. In Japan, this parasite species were widely spread and the positive rates are about 50 in layer and 70 % in broiler. The symptoms of coccidiosis are diarrhea, bloody excretion, weight loss, and die. *Eimeria tenella* is the most pathogenic protozoa. The sporozoites, infection form of this parasite, entry to epithelial cells around the crypt of cecum in early infection. After infection, parasites proliferate in epithelial cells, and form to sexual stage finally. However, we have less information about the pathophysiology, especially invasive mechanisms and infection route, by *E. tenella* infection. We have focused to analyze the invasive mechanism and route of this parasite because this phenomenon is first event to cause the pathophysiological changes in the infection. I would like to inform about *Eimeria* parasite and introduce our research in this paper.

はじめに

食料需要の世界的高まりを受けて、ニワトリを含む家禽類は産業動物としての重要性が増している。2007年の統計によると、日本国内における飼養農家戸数は、集約化が進み、肉養鶏（孵化後3か月未満の肉養若鶏）農家2,583戸、採卵鶏（成鶏羽数1,000羽以上）農家3,610戸である^[1,2]。一方ニワトリの飼養形態として、低ストレスを意識した開放飼育や安全性を意識した無薬飼育、地鶏や銘柄鶏の商品・高付加価値化といった差別化養鶏も増加している^[3]。無薬飼育は、一般的な感染症予防ワクチンは投与されているが、全飼育期間にわたり抗生物質、抗菌剤を投与しない養鶏という定義の下飼育されたものであり、このような飼養形態で衛生管理の最も重要な事項がコクシジウム症対策である^[3]。コクシジウム症は、家禽産業において最も注意を要する感染症の一つとして知られている。特に鶏コクシジウム症は、肉養鶏農家で問題となる。

コクシジウム症の病原体の分類学上の位置を示す（図1）。コクシジウムは、アピコンプレクス門胞子虫綱コクシジウム亜綱に属する原虫の総称である。獣医畜産領域で重要なコクシジウムは、真コクシジウム目アイメリア亜目アイメリア科に属するアイメリア属とイソスポラ属の原虫である^[4]。鶏コクシジウム症は、盲腸や小腸など腸管に寄生するアイメリア属原虫を病原体とする。アイメリア属原虫は、外界に存在する成熟オーシストの経口摂取により感染する。オーシストは、乾燥や消毒薬に対

し高度な耐性を持つため、一度飼育場へ侵入を許すとその排除は困難である。またアイメリア属原虫に感染したニワトリは、衰弱することで飼料の摂取量が減少するため、増体抑制や飼料効率の悪化が生じる。このようなことから、養鶏業では飼育環境の清浄化などの日常的な感染症対策だけでなく、感染症が発生してからの経済的損失も非常に大きい^[5]。

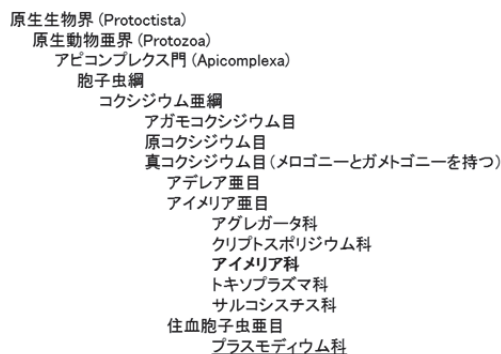


図1 アイメリア属原虫の分類学上の位置
(寄生性原虫コクシジア(中井裕編)より引用改変)

1990年以降の国内の鶏コクシジウム症発生は、年間数十戸で推移しているが、1994年以降本症の浸潤状況調査は行われていなかった。2007年に行われた動物衛生研究所による調査結果では、オーシスト検出率は、日本全体として肉養鶏で約70%、産卵鶏で約50%と報告された^[6]。同報告によると、飼養方法別では、ケージ飼いで0~14%、平飼いにおいては肉養鶏と産卵鶏および屋内飼育と屋外飼育に関わらず約60~70%とケージ飼いと比べて高い陽性率を示したと報告されている。このように、

鶏コクシジウム症は、日本の養鶏場において既に広く蔓延しており、また感染初期でない薬剤治療が困難であることから抗コクシジウム剤の予防投与やワクチンによる予防が行われている。

アイメリア・テネラ (*Eimeria tenella*; Et)

アイメリア属原虫の中でも、Et を原因とする盲腸コクシジウム症は、血便・下痢を主症状とし、症状が激しい場合はニワトリが死亡する。しかしながら、Et 感染を耐過したニワトリは防御免疫を獲得することが知られている。

Et を含むアイメリア属原虫の生活環は以下のとおりである (図2)。原虫の感染は、前述

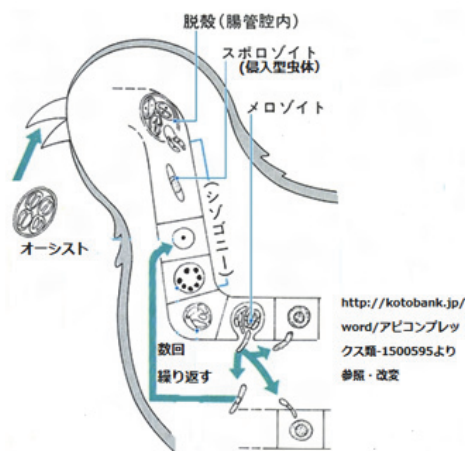


図2 アイメリア属原虫の生活環

したように成熟オーシストを経口的に水や飼料とともに摂取することで起きる。成熟オーシストは、胃腸を通過する間に外殻が破壊され、内含されていた侵入型虫体 (スポロゾイト) を放出する。スポロゾイトは、盲腸へ到達すると盲腸上皮細胞へ侵入し、寄生胞を形成して分裂増殖しメロゾイトを内含するメロントを形成する。成熟したメロントは、メロゾイトを放出し、メロゾイトは新しい上皮細胞へ侵入、分裂増殖し新たなメロントを形成する。原虫は、この成長ステップを3世代繰り返した後、最終的に雌雄の生殖母体を形成する。これらの生殖母体は接合し、オーシストを形成する。形成されたオーシストは、上皮細胞と共に糞便中へ脱落し、糞便と共に外界へ排出される。この際のオーシストは、未成熟であるが、外界で適切な温度・空気があると内部に2つのスポロゾイトを内含する4つのスポロシストを内包する成熟オーシストとなる。

アイメリア属原虫は、宿主特異性が強いことで知られるが、原虫種による寄生部位特異性も

強いことが知られている。Et は、盲腸上皮細胞にのみに寄生し、感染初期は特に盲腸陰窩部の上皮細胞に感染・寄生することが知られている。Et のスポロゾイトがどのように盲腸陰窩部上皮細胞に到達するかについては未解明であり、以下の3つのルートが提唱されている

(図3): ①直接かつ自律的に盲腸陰窩部へ到達後、上皮細胞へ侵入、②上皮間リンパ球に原虫が侵入・感染し、感染上皮間リンパ球が原虫キャリアーとして利用される、③粘膜下単核貪食細胞 (マクロファージや樹状細胞) に原虫が侵入・感染後、これら原虫感染細胞がキャリアーとして利用される。

これらの仮説は、1990年代までの病理組織学的観察・研究の結果に基づいて提唱されたものである。しかしながら、現在に至るまでこれらの仮説を検証した研究成果は発表されておらず、病態形成に重要なテネラ感染初期の原虫侵入・感染機構の詳細は不明のままである。

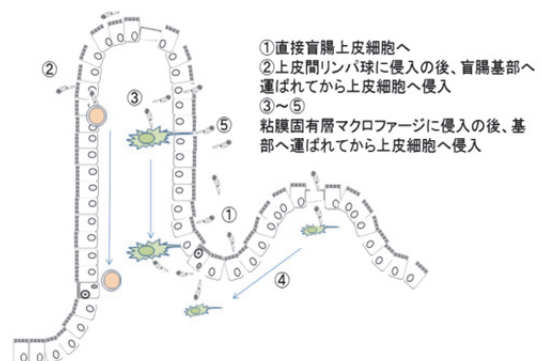


図3 想定されている盲腸上皮細胞へのEt侵入ルート

このようなことから、我々は、Et 感染による病態形成における分子基盤を明らかにすることで、原虫-宿主相互作用を理解することを最終目的として研究を行っている。特に、①Et の上皮細胞侵入機構に関わる宿主分子、②スポロゾイトの上皮細胞侵入ルート、③感染に伴う盲腸病態生理、に焦点を当て研究を進めている。

Et オーシスト投与量がニワトリ病態に与える影響の評価

研究を行うに当たり、著者らはオーシスト感染量の違いが鶏に与える病理学的差違について検討することから始めた。(株)アキタより購入した有精卵を孵化させた後の白色レグホン種2週齢幼雛を感染実験に用いた。原虫は、動物衛生研究所より供与された *E. tenella* NIAH 株について我々の研究室で白色レグホン幼雛にて継代・維持した。継代用の感染鶏糞便より回収したオーシストは、定法に従い回収・成熟させた後、使用するまで4℃冷蔵庫内

で保存した。また感染に使用したオーシストは継代鶏糞便より回収した後 6 か月以内のものを用いた。実験群は、Et オーシスト投与量により 4 群 (G1 群 : 3.13×10^2 オーシスト/羽、G2 群 : 1.25×10^3 オーシスト/羽、G3 群 : 2.0×10^4 オーシスト/羽、G4 群 : 8.0×10^4 オーシスト/羽) を設定し、感染ニワトリの生存率、感染後 4 日以降の糞便 1 g 中のオーシスト数の観察を行った。また、感染 5、10、15 日目のニワトリより盲腸を摘出し、盲腸中部についてパラフィン切片を作製、HE 染色した後組織学的観察を行った。

図 4 に Et 感染ニワトリにおける症状の有無、生存率および糞便 1 g 中のオーシスト数の変化を示す。

1 羽当たりのオーシスト排出総数は、実験群間で差は認められなかった (データ未掲載)。

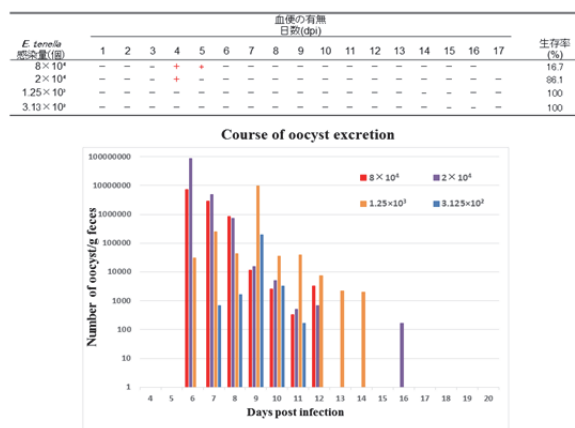


図4 Et感染後の糞便1g中のオーシスト数と症状

感染 7 日であった以外、全ての群で感染 5 日目であった。G1 群以外のプレパテントピリオドは、教科書的な Et のそれに比べて 2 日早かった。オーシスト排出のピークは、G1 および G2 群で感染 9 日目、G3 および G4 群で感染 5 日目であった。

一方、Et 感染の主症状である血便は、G3 群で感染 4 日目に、G4 群では感染 4 および 5 日目に観察されたが、G1 および G2 群では観察されなかった。各感染群におけるニワトリの生存率は、G1 および G2 群で 100%、G3 群で 86.1%、G4 群で 16.7% であり、死亡個体は全て感染 4 日目に死亡した。

Et 感染ニワトリ盲腸の組織学的観察の結果、オーシスト感染量依存的に感染初期の組織内原虫数が増加した。また、免疫細胞浸潤について、オーシスト投与量に関わらず感染 10 日以降に組織内への好酸球浸潤が観察された。図 4 において、オーシストの排出が終了後に一過性のオーシスト排出が観察されている。この際、組織学的には盲腸上皮細胞内にオーシストは

観察されなかったが、盲腸内容物にオーシストが確認されたことから、盲腸内に残存したオーシストが排出されたと考えることが適当であると思われた。

一方、教科書的には、Et の有性生殖世代は上皮細胞内で観察されると記載されている。本実験の結果において、オーシスト投与量が多い G3 および G4 群では、感染 10 日以降の粘膜固有層に多数のオーシストが観察された (データ未掲載)。これは、組織内において多量の原虫が増殖したことで組織破壊が進行した結果、原虫が侵入可能な細胞が限定されたためではないかと考えられた。なお粘膜固有層内オーシストの運命は不明であるため、今後の研究が必要である。

以上、総体的には過去研究報告あるいは教科書的な感染病態を示した。組織内原虫の分布に関しては、オーシスト投与量が少ないほど組織内原虫を観察できない傾向にあった。今回の実験では、組織観察のために用いた盲腸は盲腸中間部であり、盲腸尖部および盲腸基部は観察していないため、これらの部位においても観察する必要があると考えられた。一方で、本実験の結果から、盲腸における原虫の寄生部位に関して、いまだ知られていない盲腸の組織学的な部位特性あるいは原虫の好寄生部位があることを示唆しているのかも知れず、さらなる検討が必要であろう。

おわりに

鶏コクシジウム症は、抗コクシジウム薬あるいはワクチンが開発された現在でも広く国内に分布している。また鶏コクシジウム症は、我が国においても依然高水準で流行していることは前述した。管理されているとはいえ、食肉への残留薬剤のリスクなどを考慮したより安心安全な鶏肉を提供する上で、薬剤に頼らない予防策・対策の開発が急務である。そのためには、アイメリア属原虫感染における病態生理学的知見を集積する必要がある。

参考文献

- 1) 農林水産省：平成 18 年畜産物流通統計、(2008)
- 2) 農林水産省：平成 19 年畜産統計、(2008)
- 3) 鶏病研究会：差別化養鶏の現状と衛生対策。鶏病研報、43、189-199 (2007)
- 4) 寄生性原虫コクシジア 中井裕編、東北大学出版会、仙台 (2005)
- 5) 細貝祐太郎、松本昌雄：食品安全セミナー 4 動物用医薬品・飼料添加物。中央法

規出版、東京（2001）

- 6) 中村義男、金平克史、磯部 尚、神尾次彦：
鶏コクシジウム浸潤状況の全国調査（2007
年1～3月）動衛研研究報告第117号、1-
10（2011）