

氏名(本籍)	小林 益子(東京都)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	甲第77号
学位授与年月日	令和3年3月15日
学位授与の要件	学位規則第3条第2項該当
学位論文題名	ゴキブリにおける線虫感染に関する研究
論文審査委員	(主査) 平 健 介 (副査) 塚 田 英 晴 黄 鴻 堅

論文内容の要旨

【はじめに】

世界で約3500種存在するゴキブリの中で、人の生活環境にかかわる屋内棲息性のゴキブリは数種類であり、その中でもワモンゴキブリ、クロゴキブリ、チャバネゴキブリの3種は衛生害虫として重要であり、特に飲食店や食品工場における衛生管理上の重要な指標とされている。また家畜の飼育現場においては、家畜による捕食も日常的に観察される。これらは公衆衛生学、獣医衛生学および衛生動物学において重要な昆虫であり、その生態を明らかにすることは意義がある。一方、これらのゴキブリは、実験動物として古くから継代飼育され、研究に供試されてきた。しかし、ゴキブリの内部寄生虫についての研究は少なく、寄生種、寄生率および、感染状況が宿主ゴキブリに及ぼす影響等についてほとんど知られていない。哺乳類実験動物の内部寄生虫の存在が、研究目的によっては障害になることが知られており、実験昆虫として用いられるゴキブリについても、内部寄生虫の状況を把握することは重要である。

第1章 国内棲息3種ゴキブリに寄生する線虫の感染状況

国内に棲息している屋内生息性の3種類のゴキブリに寄生する線虫の感染状況をまとめた。チャバネゴキブリ *Blattella germanica* については3飼育個体群(WAT、NIIDおよびNK群)と野生個体320匹(26都道府県79ヶ所の飲食店や宿泊施設等で捕獲)、ワモンゴキブリ *Periplaneta americana* については3飼育個体群(NKC、NIIDおよびNK群)と5匹の野生個体(畜舎で捕獲)、クロゴキブリ *Periplaneta fuliginosa* については2飼育個体群(NKCおよびNK群)と40匹の野生個体(畜舎で捕獲)を用いて、それぞれの寄生線虫種および寄生率を調べた。その結果、3種すべてのゴキブリ

の後腸前部に *Thelastomatoidae* 上科の蟻虫が確認された。形態及び分子同定の結果、それらは *Blatticola blattae*、*Thelastoma bulhoesi*、*Hammerschmidtella diesingi* および *Leidynema appendiculata* であることが確認された。チャバネゴキブリでは *B. blattae* が単一種で感染しており、個体群によっては非感染群が存在したことから、感染が生命維持に直接影響を与えないことと、非感染状態を通常の飼育管理で長期間維持できることが分かった。また、野外で捕獲されたチャバネゴキブリの 67%(213/320 匹)に *B. blattae* の単一種感染が確認された。以上の結果から、*B. blattae* はチャバネゴキブリに寄生して、日本各地に広範に棲息していることが明らかになった。チャバネゴキブリにおける *B. blattae* 感染は国内初報告になる。また、ワモンゴキブリ飼育個体群からは 3 種の蟻虫が検出され、2 種蟻虫の混合感染、あるいは *T. bulhoesi* の単独感染がみられた。野生個体からは全て *L. appendiculata* の単一種感染が確認された。クロゴキブリでは飼育個体群と野生個体から *L. appendiculata* の単一種感染がみられた。

第 2 章 チャバネゴキブリ *Blattella germanica* に寄生する蟻虫 *Blatticola blattae* の暴露感染

チャバネゴキブリの蟻虫 *Blatticola blattae* について、感染経路の解明を目的として、感染ゴキブリの糞を非感染ゴキブリの飼育槽に混在させることによる暴露感染実験を行った。その結果、感染糞の混在 10 日後には非感染個体群ゴキブリから *B. blattae* の幼虫が検出され、感染糞混在 20 日後には蟻虫の未成熟雌が検出された。さらに感染糞混在 30 日後には蟻虫の成熟雌成虫が検出された。以上の結果から、*B. blattae* の感染経路として、感染糞の暴露が実証された。さらにチャバネゴキブリの近縁在来種で完全屋外生息型であるモリチャバネゴキブリ *Blattella nipponica* については、国内 4 か所で捕獲された野生個体に蟻虫の感染はみられなかったが、実験室飼育系のモリチャバネゴキブリの 10% (3/30 匹) に *B. blattae* の感染が認められた。

第 3 章 チャバネゴキブリ *B. germanica* の蟻虫 *B. blattae* に対する駆虫薬の効果

蟻虫非感染個体群の確立を目的として、飼育個体群の蟻虫自然感染チャバネゴキブリを用いて動物用駆虫薬による駆虫効果を検討した。市販されているパモ酸ピランテル (Pyrantel pamoate)、パモ酸ピルビニウム (Pyrvinium pamoate)、イベルメクチン (Ivermectin) およびクエン酸ペペラジン (Piperazine citrate) を飲水に溶かして蟻虫感染ゴキブリに摂取させ、投与後 3~35 日に消化管内の寄生蟻虫数を調べ、駆虫薬の有効性を評価した。その結果、パモ酸ピルビニウムとパモ酸ピランテルはゴキブリへの影響が低く、今回用いた濃度でゴキブリに死亡や衰弱はみられず、飲水として設置後 10 および 17 日で蟻虫が検出されなくなった。しかしながら、設置後 30 日にゴキブリの 1 個体から蟻虫の幼虫が検出されたことから、完全駆虫のためには、投薬の継続または追加が必要なことが示唆された。イベルメクチンでは 0.5ppm 投与区でゴキブリは生存したが、蟻虫の生存も確認され、5ppm 以上ではほぼ 100% のゴキブリが死亡した。クエン酸ペペラジンでは 200ppm 投与区で蟻虫の生存が確認され、同じ濃度で 50% のゴキブリが死亡した。以上の結果から、パモ酸ピランテルとパモ酸ピルビニウムは、

宿主を死亡させることなく、チャバネゴキブリに寄生する *B. blattae* の駆虫に有効であることがわかった。また、イベルメクチンやクエン酸ピペラジンなどが宿主ゴキブリに対して殺虫性を示したことから、ゴキブリの駆虫においては駆虫薬の選択が重要であることが示された。

第4章 ゴキブリ用殺虫剤の効果に及ぼすチャバネゴキブリ *B. germanica* の蟻虫感染の影響

実験昆虫としてのゴキブリの蟻虫感染が、殺虫剤の効果に及ぼす影響について検討した。有効成分ヒドラメチルノンを含む毒餌剤をゴキブリに与え、死亡するまでに排泄された糞を毒餌剤を食していないゴキブリに餌として与えたときの致死効果について、蟻虫感染群と非感染群のチャバネゴキブリで比較した。その結果、ヒドラメチルノン含有糞の糞食または糞への接触によると考えられる二次的殺虫効果は、蟻虫感染群が非感染群に比べて有意に高くなった。ヒドラメチルノン含有食毒剤の二次効果に蟻虫感染が影響したことから、食毒効果（帰巢後の二次的殺虫効果を含む）を有する殺虫剤の評価試験において、ゴキブリの蟻虫感染の有無が試験結果に影響する可能性が示唆された。この成績は、実験の種類によっては、実験昆虫の蟻虫感染を管理することも視野に入れる必要があることを示唆している。

第5章 チャバネゴキブリ *B. germanica* の生存に及ぼす *B. blattae* 感染の影響

飢餓時のゴキブリの生存における蟻虫感染の影響を調べることを目的に、チャバネゴキブリの蟻虫自然感染個体群と非感染個体群を用いて、無給餌（通常の固型飼料を給餌しない条件）の場合の糞食嗜好性と生存率の関係を調べた。その結果、糞給餌区（固型飼料の代わりに餌として糞を与える）において、感染個体群の生存日数は非感染個体群に比べて長くなった。さらに、蟻虫非感染個体群と人為的に作成した感染個体群の無給餌の場合における生存率を同じ個体群内で比較した。その結果、蟻虫感染群の生存率は有意に高くなることが明らかになった。以上の結果から、感染個体群はより多くの糞を食して栄養源としたことで生存期間が長くなる可能性が考えられ、蟻虫感染が飢餓時のゴキブリの生存に有利にはたらく可能性が示唆された。

【総括】

- 1) 国内棲息ゴキブリから蟻虫 *Leidyneia appendiculata*、*Hammerschmidtella diesingi*、*Thelastoma bulhoesi* および *Blatticola blattae* が検出されその宿主特異性が示された。
- 2) チャバネゴキブリにおける *B. blattae* の寄生を国内で初めて報告し、全国に分布していることが示された。飼育個体群では非寄生群が存在したことから、本種感染は生存維持には影響せず、非感染状態の維持も可能なことがわかった。
- 3) *B. blattae* 感染糞のゴキブリ飼育環境への暴露による感染の成立を確認した。
- 4) 野外生息型モリチャバネゴキブリについて野生個体は非感染であるが、飼育個体群では *B. blattae* の感染を確認した。

- 5) パモ酸ピルビニウムとパモ酸ピランテルが、チャバネゴキブリの蟯虫を駆虫するのに有効であることを実証した。
- 6) 実験用ゴキブリの蟯虫感染は、ゴキブリ用食毒殺虫剤の二次的殺虫効果の試験結果を変動させる可能性が示唆された。
- 7) 蟯虫感染が飢餓時のゴキブリの生存に有利にはたらく可能性が示唆された。

【終わりに】

本研究により、国内のゴキブリに寄生する蟯虫種、寄生率、分布および駆虫法が明らかとなり、ゴキブリ宿主と寄生虫相互関係に関する新しい知見が得られた。これらの成績は、実験動物としての昆虫およびその他の無脊椎動物の管理手法の改善に貢献する。また、宿主寄生虫相互関係の解明においてゴキブリ-蟯虫感染モデルは、比較的制御しやすく、生物間の相互関係における寄生現象の解明において、ユニークかつ有用なモデルであり、今後の寄生虫学の発展に寄与するものと考えられる。

【公表論文】

1. Kobayashi M., N. Komatsu, H. K. Ooi and K. Taira. 2021.
Prevalence of *Blatticola blattae* (Thelastomatidae) in German cockroaches *Blattella germanica* in Japan. J. Vet. Med. Sci. 83(2) : 174-179
<https://doi.org/10.1292/jvms.20-0617>
The Journal of Veterinary Medical Science
2. Kobayashi M, Ooi H.K. and Taira K. 2020. Effects of anthelmintics on the pinworm *Blatticola blattae* in laboratory-reared German cockroaches *Blattella germanica*. Parasitol. Res. 119(9):3093-3097 DOI: 10.1007/s00436-020-06778-1 PMID: 32591863
<https://doi.org/10.1007/s00436-020-06778-1>

論文審査の結果の要旨

本学位論文は、ゴキブリに寄生する線虫の種と寄生率を把握し、さらに、ゴキブリと線虫の宿主寄生虫相互関係を調べることを研究目的としている。ワモンゴキブリ *Periplaneta americana*、クロゴキブリ *P. fuliginosa*、およびチャバネゴキブリ *Blattella germanica* の3種は、公衆衛生、家畜衛生および昆虫科学において重要な昆虫であることから、これらのゴキブリの生態を把握することは意義がある。

しかしながら、ゴキブリの線虫感染に関する報告はほとんどない。そこで小林益子氏は、これらの3種ゴキブリの寄生線虫の種および寄生率を明らかにするための研究計画を立てた。さらに、ゴキブリの寄生線虫をコントロールするための感染実験と駆虫試験を設計し、確立された手法を応用して、宿主寄生虫相互関係を調べるための実験を試みた。

本論文は5つの章から成っている。第1章ではゴキブリに寄生する線虫の種および寄生率について述べている。第2章ではチャバネゴキブリを用いた蟻虫卵暴露による感染実験について、第3章ではゴキブリに寄生する蟻虫に対する駆虫薬の効果について述べている。そして、第4章では蟻虫感染とゴキブリ用殺虫剤の二次的効果の関係、第5章では蟻虫感染が飢餓時のゴキブリの生存に及ぼす影響について述べている。

第1章では国内の屋内生息性の3種ゴキブリに寄生する蟻虫の種を同定し、寄生率を調べた。概して、ゴキブリの腸管には蟻虫類が普通に寄生していることを示した。これらの成績の中で、国内のチャバネゴキブリに *Blatticola blattae* が寄生していることを初めて明らかにし、この蟻虫がチャバネゴキブリとともに国内に広く分布していることを明確にしたことは特筆に値する。一方、実験昆虫として30年以上研究機関で飼育継代されてきたチャバネゴキブリ個体群の一つに、蟻虫感染が無いものがあつたことから、チャバネゴキブリにおける蟻虫の感染は宿主の生存維持に大きく関わるものではないと推察している。

第2章ではチャバネゴキブリにおける蟻虫 *B. blattae* の感染経路を明確にするために、感染実験を行い、感染を成立させた。蟻虫非感染ゴキブリの飼育容器内に蟻虫感染ゴキブリの糞を撒いて混在させ、非感染ゴキブリに蟻虫卵を暴露した。その結果、暴露後10日にゴキブリから蟻虫幼虫が検出され、30日後には蟻虫の成熟雌成虫が検出された。このことから、チャバネゴキブリの蟻虫感染は、ゴキブリの生息環境が感染ゴキブリの糞に汚染されることによって拡大すると推察している。

第3章ではゴキブリの蟻虫を駆虫することを目的に投薬実験を行い、パモ酸ピランテルまたはパモ酸ピルビニウムがチャバネゴキブリの蟻虫の駆虫に有効であることを示した。駆虫薬を飲水に溶かして蟻虫感染ゴキブリの飼育容器内に8日間設置すると、パモ酸ピルビニウムとパモ酸ピランテルではゴキブリに死亡や衰弱はみられず、駆虫薬設置後3~17日には蟻虫が検出されなくなった。しかしながら、設置後30日のゴキブリから蟻虫幼虫が検出されている。このことから、蟻虫フリーコロニーの作成には、より長期間の投薬が必要であると考察している。他方、イベルメクチンやクエン酸ピペラジンを与えると、ゴキブリが死亡した。クエン酸ピペラジンの殺虫効果は今回初めて報告された。

第4章では蟻虫感染の殺虫剤効果への影響を調べることを目的として、食毒剤を用いて実験を行い、蟻虫感染がゴキブリの食毒剤の二次効果に影響することを示した。ヒドラメチルノン製剤を摂取させたゴキブリの糞を、蟻虫感染チャバネゴキブリと非感染チャバネゴキブリに与えると、蟻虫感染ゴキブリの死亡率が非感染ゴキブリのそれに比べて有意に高くなった。この成績は、食毒効果（帰巢後の二次的殺虫効果を含む）を有する殺虫剤の評価試験において、蟻虫感染の有無が試験結果に影響することを示唆している。

第 5 章では蟯虫感染とゴキブリの生存の関係を調べることを目的として、無給餌におけるチャバネゴキブリの生存率を比較し、飢餓時では蟯虫感染ゴキブリの生存率が非感染ゴキブリに比べて高くなることを示した。この成績から、蟯虫感染が飢餓時のゴキブリの生存に有利に働く可能性があると考えられている。線虫感染の宿主への有益性を示したデータは珍しく、貴重な知見と考えられた。

以上のように、本研究は、主要ゴキブリに寄生する蟯虫種と寄生率についての新知見を提供した。また、チャバネゴキブリにおける蟯虫の実験感染法および駆虫法を確立し、さらに、これらの手法を応用して、感染群と非感染群を作出し、蟯虫感染と殺虫剤効果の関係、および蟯虫感染と飢餓時のゴキブリ生存率の関係について、基礎的な新知見を提供した。本研究が提供した知見は、公衆衛生、家畜衛生および昆虫科学の向上に貢献するものである。また、本研究によって確立されたゴキブリと蟯虫の実験系は、寄生虫病学において新しい道を開く可能性を有する。よって、本研究は博士の学位を授与するにふさわしいものと評価された。