

奈良公園におけるニホンジカ *Cervus nippon* の肝蛭症および 消化管内寄生虫相

小林朋子¹⁾・鳥居春己²⁾・川渕貴子¹⁾・辻 正義¹⁾・谷山弘行¹⁾
遠藤大二¹⁾・板垣 匡³⁾・浅川満彦¹⁾

¹⁾ 酪農学園大学獣医学部 (現：京都大学医学研究科)

²⁾ 奈良教育大学自然環境教育センター・³⁾ 岩手大学農学部

A Survey of Gastrointestinal Parasites and Fascioliasis of Sika Deer, *Cervus nippon*, from Nara Park, Japan

Tomoko KOBAYASHI¹⁾, Harumi TORII²⁾, Takako KAWABUCHI¹⁾,
Masayoshi TSUJI¹⁾, Hiroyuki TANIYAMA¹⁾, Daiji ENDOH¹⁾, Tadashi ITAGAKI³⁾
and Mitsuhiko ASAKAWA¹⁾

¹⁾ School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, ²⁾ Center for
Natural Environment Education, Nara University of Education, ³⁾ Faculty of
Agriculture, Iwate University

要旨：2005年と2006年に奈良公園およびその周辺地域に生息する天然記念物ニホンジカ (*Cervus nippon*, 以後、シカとする) における、人獣共通寄生虫の感染状況、感染個体の栄養状態に関する調査を実施した。奈良公園内のシカ15頭の第四胃から結腸までの消化管内寄生蠕虫検査では、日本の他地域に生息するシカから得られた寄生虫と同属種が検出された。また、奈良公園内において40頭のシカの排泄直後に採取した糞における吸虫卵調査では、87.5%の個体から肝蛭卵が検出された。また、14頭のシカの剖検において肝蛭の虫体が見つかった8頭の病理学的検査と寄生状況の調査では、肝臓表面に赤紫の小斑点あるいは蛇行状の病巣などが観察され、割面では胆管の拡張、壁の肥厚がみられた。得られた肝蛭のNADH脱水素酵素サブユニット遺伝子 (ND1) およびチトクロームcオキシダーゼサブユニット I 遺伝子 (CO I) の配列は *Fasciola hepatica* と97% (ND1) と99% (CO I) 一致し、*F. gigantica* と95% (ND1) と100% (CO I) 一致した。1976年の調査でも奈良公園の肝蛭による汚染が指摘されていたが、シカ個体数が約300頭増加した今日も大幅な寄生率の変化はなく高度な汚染が維持されていることが明らかとなった。シカから排泄された肝蛭虫卵はメタセルカリアとなり、ヒトや家畜への感染源になり得ることをふまえて、早急に十分な対策を講じる必要がある。

キーワード： *Cervus nippon*, 肝蛭, 人獣共通寄生虫症, 奈良公園, ニホンジカ

Abstract : The population of sika deer (*Cervus nippon*) in Nara Park has been gradually increased and malnourished deer become recognized. There has been no epidemiological survey on parasite of sika deer from the report of Fascioliasis in 1976. In the current study, we collected carcasses and fecal samples of sika deer in Nara Park from March 2005 to April 2006, to evaluate the relationship between nutritional condition of deer and metazoan parasites.

The fauna of the gastrointestinal parasites was examined and there were no significant difference between sika deer in Nara Park and that in other areas. Prevalence of *Fasciola* sp. in fecal samples of 40 deer was 87.5%. We compared nucleotide sequences of mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 1 (ND1) and cytochrome c oxidase subunit I (CO I) genes of liver flukes collected from three deer. The ND1 and CO I sequences of these flukes were nearly identical to *Fasciola hepatica*.

Key words : *Cervus nippon*, *Fasciola* sp., Nara Park, sika deer, zoonosis

I. はじめに

奈良公園およびその周辺地域に生息するニホンジカ *Cervus nippon* は、古くから春日大社の”神鹿”としての信仰の対象とされ、長い歴史を有している。戦後に個体数を激減させたが、昭和32年に天然記念物に指定されたことや、奈良の鹿愛護会による保護などにより増加を続け、平坦部ではおよそ1200頭が生息している（奈良の鹿愛護会, 2011）。これは、平坦部の面積が約60 haであることを考慮すると過剰とみられる。その一方、大腿骨骨髓の色と質、骨髓内脂肪含有率による栄養診断により、野生状態では死亡しているような貧栄養状態にある個体が、奈良公園では棲息していることが明らかとなっている（鳥居・高野, 2009）。

奈良公園とその周辺において死亡したシカは、奈良の鹿愛護会により回収され、体重や頭胴長の統計値や死亡原因などが、死亡個体の基礎資料として蓄積されている。また、1972年に富村らにより大規模な肝蛭の調査が行われ、奈良公園のシカに高率に肝蛭が寄生しているという結果が報告された（Tomimura et al., 1976）。しかし、その後は寄生虫学的な調査は行われていない。奈良公園に生息するシカはヒトと接触する機会がきわめて多いことから、人獣共通感染症の有無は公衆衛生上からも重要である。

そこで、著者らは奈良公園における人獣共通寄生虫の感染状況を明らかにするための疫学調査を行った。

II. 材料と方法

1) 死亡個体の消化管内寄生虫調査

2005年3月から4月にかけて奈良公園およびその周辺地域で衰弱、交通事故、捕獲時の麻酔事故等で死亡したシカ15頭（♂8頭 ♀7頭）を病理解剖した後、第4胃から結腸までの消化管を採材し、寄生虫検査を実施した。消化管内から検出された蠕虫は、ラクトフェノール液で透徹し、形態分類を行い、同時に顕微鏡写真撮影装置にて写真撮影を行った。

2) 糞便検査

2005年8月に公園内の5地点（興福寺、博物館、春日野、南大門、東大寺）において、計40頭の糞便を採取した。糞便の採取に関しては、同一個体の重複検査を避けるために、シカの排泄を目視し、直後に糞便を採取するように心掛けた。糞便検査は、5グラムの糞便を用いて沈殿法により検査し、実体顕微鏡下で肝蛭卵が検出された場合を陽性とした。

3) 肝蛭調査

2006年3月から4月にかけて奈良公園およびその周辺で死亡した14頭のシカから肝臓を採取し、肝蛭を中心に肝蛭の寄生状況を調査した。剖検においては、まず、肝外胆管を切開して、虫体の有無を確認し、ついで、肝表面の状態を観察した後、断面における肝蛭性病変並びに虫体の

分布状況を調べた。このほかに、肝臓以外の臓器、組織についても、肝蛭に起因する病変が存在するか否かを入念に観察した。

4) 肝蛭の遺伝子型

前記の剖検の際に得られた肝蛭虫体のうち、3頭のシカからそれぞれ得られた肝蛭3個体について、70%エタノールで固定した後、ミトコンドリア由来酵素であるNADH脱水素酵素サブユニット遺伝子 (ND1) およびチトクロームcオキシダーゼサブユニット I 遺伝子 (COI) の配列を決定し、既知の配列 (ACCESSION: X15613, Itagaki et al. 1998) との相同性に基づき遺伝子型を識別した (Garey & Wolstenholme, 1989)。肝蛭DNAはQIAamp DNA Kitを用いて抽出し、PCRの鋳型として用いた。プライマーの塩基配列は、以下のようにItagaki et al.(2005) に従った。

(ND1) 5'-AAGGATGTTGCTTTGTCGTGG-3' (sense)
 5'-AGGCCCTTACGAATCTGCAT-3' (antisense)
 (COI) 5'-TTGGTTTTTTGGGCATCCT-3' (sense)
 5'-ATAACCAGTCACAACAGG-3' (antisense)

反応溶液はテンプレートDNA; 0.5 μ lおよび TaKaRa rTaq (TaKaRa Co.); 0.625 Uを Tris-HCl; 10 mM, KCl; 50 mM, MgCl₂; 1.5 mM, dNTP; 200 μ M, 各Primer; 0.5 μ Mの溶液24 μ lに加えた。PCRには PCR Thermal Cycler MP (TaKaRa Co.)を使用し、94° C 1分の熱変性を行った後、94° C 15秒, 55° C~47° C 20秒, 72° C 20秒を45サイクル繰り返し、最後に72° 2分の伸長反応を行った。

III. 結果

1) 死亡個体の消化管内寄生虫調査

消化管内寄生虫調査において、表1に示したように第四胃からは毛様線虫*Spiculopteria houdemeri*(=*Rinadia andreevae*)、小腸からは毛細線虫*Capillaria* sp., 盲腸から腸結節虫*Oesophagostomum sikae*および鞭虫*Trichuris* sp.が得られた。8頭からは肝蛭*Fasciola* sp. が検出された。さらに、1頭からは膵蛭*Eurytrema pancreaticum* (寄生数 7) が検出された。なお、盲腸から鞭虫が検出された2頭はいずれも0歳であった。

表-1 奈良公園のシカの消化管と肝臓内寄生虫

寄生虫	主な検出部位	調査個体数	検出個体数	検出虫体数 最小~最大
毛様線虫 <i>Spiculopteria houdemeri</i> (= <i>Rinadia andreevae</i>)	第四胃	13	11	5~483
毛細線虫 <i>Capillaria</i> sp.	小腸	15	1	437
腸結節虫 <i>Oesophagostomum sikae</i>	盲腸	15	15	11~624
鞭虫 <i>Trichuris</i> sp.	盲腸	15	2	11~223
膵蛭 <i>Eurytrema pancreaticum</i>	盲腸	15	1	7
肝蛭 <i>Fasciola</i> sp.	肝臓	15	8	1~54

2頭の第四胃は分析できなかった

2) 糞便検査

シカの糞便の検査総数は40頭であり、肝蛭虫卵陽性のシカは35頭(87.5%)であった。糞便内より得られた肝蛭虫卵は、短楕円形で黄金色を帯び、一端に小蓋を有した(図1)。また、糞便内には無色透明で卵細胞が中央に位置する双口吸虫卵(Paramphistomatidae gen. sp.)も見られ、その寄生率は42.5%であった。

3) 肝蛭調査

表1に示したように検査した14頭のうち8頭から肝蛭虫体が認められた。肝蛭虫体が検出された個体の性別、推定年齢、Riney腎脂肪指数(Riney, 1955)および検出虫体数は表2の通りである。虫体の認められた肝臓では、肝臓表面に出血点と思われる赤紫の小斑点、絨毛状結合組織の増生を伴う蛇行状の小陥没病巣などが観察された。これらの肝臓の断面では、びまん性に胆管の拡張や肥厚が認められた。また、表面に白斑が見られた個体もあり、白斑直下の断面においては、肥厚した胆管内に多数の肝蛭虫体が観察された。肝蛭の寄生は肝臓の左葉に多くみられた(図2~5)。また、腎脂肪指数はすべての個体とも鳥居・高野(2009)から貧栄養状態と判断された(表2)。そのため、肝蛭と栄養状態との関係は明白にはならなかった。

表-2 肝蛭陽性シカの肝臓部位別の虫体検出数

番号	性	年齢	死因	検出部位				合計	腎脂肪指数 ¹⁾
				総肝管	左葉	右葉	尾状葉		
1	雄	0	不明	34	22	7	1	64	14.5
2	雌	成獣	不明	6	7	3	0	16	9.2
3	雌	成獣	交通事故	3	0	0	0	3	ND ²⁾
4	雄	成獣	不明	1	3	0	0	4	18.3
5	雌	0	不明	11	11	3	0	25	5.2
6	雄	0	不明	1	2	1	0	4	28.8
7	雌	成獣	麻酔事故	1	15	2	0	18	17.1
8	雌	1	麻酔事故	2	17	4	0	23	25.8

1)腎脂肪指数はRiney(1995)による。

2) ND: not detected 交通事故により腎臓が破壊され、計測できなかった

4) 遺伝子型の識別

Fasciola hepatica (X15613) と *F. gigantica* (Itagaki et al, 1998), および奈良公園のシカから得られた肝蛭3個体において、ND1と、CO I 配列を比較した。その結果、肝蛭3検体は *F. hepatica* と97% (ND1) と99% (CO I) 一致し、*F. gigantica* と95% (ND1) と100% (CO I) 一致した(図6, 7)。

IV. 考察

第4胃から結腸までの消化管内寄生虫調査で検出された寄生虫はニホンジカにおいてKitamura et al. (1997)あるいは山口他(1977)が報告したものと概ね同属種であった(*Spiculopteragia* sp., *Capillaria* sp., *Trichuris* sp., *Fasciola* sp.)。消化管を精査中、8頭から肝蛭 *Fasciola* sp. が、1頭から膀胱が検出された。これは死後変化によって肝臓や膀胱から流出したものであろう。

糞便検査では、肝蛭虫卵陽性のシカは35頭(87.5%)であった。肝蛭は、感染シカの糞便に含まれる虫卵からミラシジウムが孵化→ヒメモノアラガイ(*Lymnaea ollula*)に侵入→スポロシトカ

らレジアを経てセルカリアになり、ヒメモノアラガイから遊出→水草の茎などに被囊→シカなどの終宿主に摂食されることにより、感染が成立する。奈良公園内のシカの肝蛭卵検査についてはすでに富村ら（1978）の調査があり、214頭の分析で肝蛭卵陽性が182頭（陽性率86.1%）という結果であったが、それ以来追跡調査は行われていなかった。今回は富村ら（1978）の調査と同様の方法で実施したが、30年後にシカの個体数は約300頭増加したとされるが、肝蛭の陽性率に変化はないことが明らかとなった。肝蛭寄生による肝臓の病理学的所見は、富村ら（1978）の記載に類似していたが、今回の調査では、シカの年齢、直接の死因、腎脂肪指数（Riney, 1955）などとの関連性は見出されなかった。なお、肝蛭はセリ、ミョウガ等の生鮮または浅漬、二次的にメタセルカリアが付着した食物の経口ルートなどによる人体寄生例もあるので（石井, 1998）、観光客や住民への情報提供も重要であろう。

日本における肝蛭は形態的に多様であることから、種は未決定である（板垣他, 2004; Itagaki et al., 2005）。しかし、DNAによる遺伝子型から日本産肝蛭には*F. hepatica*に類似する虫体（遺伝子型Fsp1）、*F. gigantica*に類似する虫体（遺伝子型Fsp2）および両者の中間型（遺伝子型Fsp1/2）が識別されている（板垣他, 2004; Itagaki et al., 2005）。今回、奈良公園のシカから得られた虫体は遺伝子型Fsp1と認められ、板垣他, (2004) や Itagaki et al., (2005) によるこれまでの報告と一致した。

V. 謝辞

調査に当たり、財団法人・奈良の鹿愛護会の全面的な協力を得た。また、ふるさと自然公園センター鈴木和男氏にはサンプルの収集でご協力頂いた。これらの方々に改めてお礼申し上げます。本研究は文部科学省科学研究費（14560271, 18510205, 20380163）および同省私立大学学術研究高度化推進事業研究助成（酪農学園大学大学院獣医学研究科）の一部を受けた。

引用文献

- Garey J. R. & Wolstenholme D. R. (1989) Platyhelminth mitochondrial DNA : Evidence for early evolutionary origin of a tRNA^{ser}AGN that contains a dihydrouridine arm replacement loop, and of serine-specifying AGA and AGG codons. *J. Mol. Evolution* 28 : 374-387.
- 石井俊雄 (1998) 獣医寄生虫学・寄生虫病学 2 蠕虫他. 429pp. 講談社, 東京
- Itagaki T. & Tsutsumi K. (1998) Taxonomic status of the Japanese triploid forms of *Fasciola*: comparison of mitochondrial ND1 and COI sequences with *F. hepatica* and *F. gigantica*. *J. Parasitol.* 84(2) : 445-448.
- Itagaki T., Kikawa M., Sakaguchi K., Shimo J., Terasaki K., Shibahara T. & Fukuda K. (2005) Genetic characterization of parthenogenic *Fasciola* sp. in Japan on basis of the sequences of ribosomal and mitochondrial DNA. *Parasitology* 131 : 679-685.
- 板垣 匡・紀川将之・坂口圭介・寺崎邦生・柴原壽行・福田孝一 (2004). 日本産肝蛭の遺伝的特徴および起源についてーリボゾームDNAおよびミトコンドリアDNAからみた一考察. 獣医寄生虫学会誌 3(1) : 29-36.
- Kitamura E., Yokohata Y., Suzuki M. & Kamiya M. (1997) Metazoan parasites of sika deer from east Hokkaido, Japan and ecological analyses of their abomasal nematodes. *J. Wildl. Dis.* 33 : 278-284.
- 奈良の鹿愛護会 (2011) 奈良の鹿愛護会ホームページ, 頭数調査表 (<http://naradeer.com/images/22census.pdf>. アクセス 2011.1.17)
- Riney T. (1955) Evaluating condition of free-ranging red deer (*Cervus elaphus*) with special

reference to New Zealand. J Sci & Tech Sect B 36 : 426-463.

富村保・平川公昭・吉房寛人・西谷康信（1978）奈良公園のシカにおける肝蛭症に関する研究Ⅲ
肝の病理学的変化について. 天然記念物「奈良のシカ」調査報告 春日顕影会 : 61-82.

Tomimura T., Yoshida H. & Yokota M. (1976) Studies on fascioliasis in Japanese deer, *Cervus nippon*, at Nara park. I. On the results of faecal examination of deer and incidence of *Fasciola larvae* in the snail, *Bakerlymnaea viridis*. Jpn. J. Parasitol. 25 : (2, Suppl.) : 58.

鳥居春己・高野彩子（2009）大腿骨骨髄による奈良公園シカの栄養診断, 奈良教育大学自然環境
教育センター紀要 9 : 5-9.

山口敬治・神谷晴夫・工藤規雄（1977）エゾシカ *Cervus nippon yezoensis* (HEUDE) の寄生蠕虫
について. 北獣会誌 21 : 167-170.



図1 シカの糞便から検出された肝蛭卵
(縮尺目盛り: 20 μ)



図2 シカの肝臓にみられた肝蛭に起因する
白斑



図3 肝臓表面の白斑の切開部分
拡張し、肥厚した胆管内に複数の肝蛭虫体
がみられる



図4 シカから検出された肝蛭
(目盛り: 5mm \times 5mm)



図5 肝蛭寄生により肥厚した胆管
(目盛り1mm)

<i>F. hepatica</i>	1	CATATTTGTGTGACTCTAACTAATAATGATTCTTTGTTGGTTATTATGGTCTTATTTTAGCTATGGCTGCTATAGTATGTTTAGGTAGTGTGTTTGGG	100
A01_CO	1T.....	100
A02_CO	1T.....	100
A03_CO	1T.....	100
<i>F. gigantica</i>	1T.....	100
<i>F. hepatica</i>	101	CTCATCATATGTTTATGGTGGGTTTGGATGTCATACTGCTGTTTTTTTTAGTTCTGTACTATGGTATTGGTATTCCTACGGGTATTAAGGTCTTTTC	200
A01_CO	101A.....	200
A02_CO	101A.....	200
A03_CO	101A.....	200
<i>F. gigantica</i>	101A.....	200
<i>F. hepatica</i>	201	CTGGTTGATAATGTTGGGGGGGGTAGTTCTGCTTCGTATATGGGATCCTGTTGTGGTGAATTATAGGGTTATTGTTTTATTACTATTGGTGGGTT	300
A01_CO	201	300
A02_CO	201	300
A03_CO	201	300
<i>F. gigantica</i>	201	300
<i>F. hepatica</i>	301	ACTGGTATTATGCTTTCTGCTTCTCTTTTGGATACTTTGCTTCATGATACATGGTTTGTGGTGTCTCATTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGATCTTATA	400
A01_CO	301G.....	400
A02_CO	301G.....	400
A03_CO	301G.....	400
<i>F. gigantica</i>	301G.....	400
<i>F. hepatica</i>	401	GAAGTGTGTTATCTCTTTTATTGGTGGCCTGTTGTGACTGGTTATA	441
A01_CO	401	441
A02_CO	401	441
A03_CO	401	441
<i>F. gigantica</i>	401	441

図6 シカから得られた肝蛭3検体と*F. hepatica*と*F. gigantica*のCO I 配列の比較

<i>F. hepatica</i>	1	TTTATTTGGGTTTAAGTAGGTTTTTGGCTTTTGTGTTATAATTATGGTTTTTGTTCATTTTTTATACTTGGTGAGCGTAAGGTGTTGGGTTATATGCAGAT	100
A01_ND	1G.....	100
A02_ND	1G.....	100
A03_ND	1G.....	100
<i>F. gigantica</i>	1G..T..G.....T.....A..	100
<i>F. hepatica</i>	101	TCGTAAGGGCCTA	114
A01_ND	101	A.....A.....	114
A02_ND	101	.A.....	114
A03_ND	101	114
<i>F. gigantica</i>	101T....	114

図7 シカから得られた肝蛭3検体と*F. hepatica*と*F. gigantica*のND1配列の比較