多摩川における生態系多様性の評価 : 寄生虫を指標とし、地理情報システムを活用 した方法の開発

2009年

杉山 広 国立感染症研究所寄生動物部

共同研究者:森嶋 康之(国立感染症研究所寄生動物部)

多摩川における生態系多様性の評価:寄生虫を指標とし、 地理情報システムを活用した方法の開発

杉山 広・森嶋康之 (国立感染症研究所寄生動物部)

1. 研究の目的

河川は水の流路として「治水」に役立ち、また農業用水・工業用水や飲料水を供給する「利水」でも、我々の役に立ってきた。しかし治水や利水だけが河川の機能ではない。特に昨今の日本の大都市では、河川は水路や河川敷という場に、量的にまとまった自然を提供することで、「親水」という重要な役割を果たしている。河川が我々に提供する自然が十分に保全されていれば、国土交通省の河川環境データベース(河川水辺の国勢調査)や関連資料(国土交通省,2001)でも示されている様に、水路や河川敷で生存・繁殖する生物種は、多様多彩となる。この「生物種の多様性」は、従来から各種の生物を実際に検出するという方法で評価されてきた。これに替えて我々は、「寄生虫」という生物を利用することで、この「生物種の多様性」が簡便に評価できないかと考えた。

「寄生虫」とは、他の動物に侵入し、栄養や住みかを横取りして生活する動物と定義される (Miyazaki、1991)。従って寄生虫が居れば、そこには必ず寄生される動物が存在する。これを「宿主(しゅくしゅ)」と呼ぶ。また寄生虫の中には、次々と宿主を取り替えることで発育していく種類もある。このような寄生虫が存在すれば、そこには「その寄生虫の宿主である多種類の生物が生存して繁殖している」と考えることも可能となる。例えば、肺吸虫という寄生虫を考えてみる。この肺吸虫は、その一生を完結させるために、3種類の異なる宿主、すなわち、貝という第1中間宿主、カニという第2中間宿主、哺乳動物という終宿主を必要とする。しかも前2者の動物、すなわち貝とカニに関しては、種の選択性が極めて高い(特定の種にだけ感染して発育する)。肺吸虫が持つこのような特徴は、回虫のような1種類の宿主だけで生存・繁殖が可能な寄生虫とは大きく異なる点である。つまり、例えば肺吸虫が1つの宿主動物から検出できる地域では、わざわざ調べるまでもなく、3つの全く異なる動物(群)が、宿主として総て存在していると推察できるのである。

多摩川においては、多摩川河川環境管理計画(国土交通省関東地方整備局京浜河川事務所、2004)の下、「貴重な生態系を保持するスペース」として「生態系保持空間」が設定されている。本研究では、先ずこの様な空間(地域群)を調査の場所として、寄生虫の宿主となり得る動物を捕獲し、実際に寄生虫が検出されるかを検討した。次にその寄生虫の生存・繁殖に必要な他の宿主が、本当にその場所に検出されるのかを調べた。このような方法を採ることで、我々が考えた「生態系の多様性を寄生虫の存在で評価する」というアイデアが、妥当なものか検証することに努めた。

近年のリモートセンシング技術の発達に伴い、地理情報に関しては、各種の資料が容易に手に入る様になった。そこで地理情報データ(地形データ・土地利用データ)と寄生虫の感染状況とを相互に比較・オーバーレイ解析し、両者に相関する環境要因の特定を試みた。その上で、寄生虫の分布に影響を与える様な環境要因の抽出に努める事にした。寄生虫の存否を介して特定し、また抽出された環境要因の有無が生態系多様性を判定するための指標になるか、問題点があるならどの様なことかについても、考察に努めた。

2. 研究の方法

A. 多摩川におけるカニの捕獲と寄生虫の感染状況に関する検討

(1)カニの捕獲

寄生虫の検出を試みる動物として、本研究では、汽水産のカニを選択した。汽水産のカニは陸に住み、繁殖と成長の時期に、必要に応じて川と海とを行き来するため、陸圏・水圏(淡水圏・汽水圏)の環境保全の状況を広く反映する動物種として期待された。これが汽水産のカニを検討対象の動物に選択した第一の理由である。しかも汽水産のカニからは、多種類の寄生虫(幼虫)が既に検出されており、その中には鳥類・哺乳類を宿主として、その体内で成熟する寄生虫が含まれることが記録されている(Komiya, 1965)。これも汽水産のカニを選択した理由である。そこで後述の方法で多摩川の下流域(汽水圏となる感潮域)に調査地点を選定し、代表研究者・共同研究者が現地傭役者と手分けをして、汽水産のカニを捕獲した(図 1)。各地点で捕獲したカニは、総て生きたまま研究室に持ち帰り、以下の方法で寄生虫(幼虫)の検出を試みた。

なお本研究では、クロベンケイが主たる検索対象となったが、それ以外の汽水産 カニも捕獲し(死体を含む)、寄生虫の検出を試みた。

(2) 寄生虫の検出

圧平法および人工消化法によって (Sugiyama *et al.*, 2004)、カニにおける各種 寄生虫の感染状況 (感染の有無と寄生強度) を調べた。

(3) 寄生虫の種同定と遺伝的多型の検出

カニから検出した寄生虫(幼虫)は、先ず形態を精査し、種同定を試みた。一部はラットに実験感染させ、成虫を得て、幼虫の形態による同定を確実なものとした。さらに各虫体(幼虫)から常法に従い DNA を調整し、リボゾーム DNA の ITS2 領域(種の同定に汎用される遺伝子領域)あるいはミトコンドリア DNA の cox1 遺伝子(部分配列:種内変異の検出に汎用されてきた遺伝子領域)をターゲットとして PCR 増幅し、得られた産物の遺伝子配列を解読して、各寄生虫の分子同定と遺伝的多型の検出に努めた (Blair et al., 1997; Sugiyama et al., 2002)。

(4) 貝 (大平肺吸虫の第一中間宿主) の採集と寄生虫の検出

大平肺吸虫の第一中間宿主貝となるムシヤドリカワザンショウを採集し(Miyazaki, 1991)、総て生きたまま研究室に持ち帰り、本虫の幼虫(セルカリアという発育期)を検出した。検出されたセルカリアは形態を精査し、また遺伝子配列を解読して、種同定を試みた。

B. 寄生虫の感染状況と環境要因との関係解析

(1) 既存データを用いた環境要因に関する解析

寄生虫にとって生存・繁殖に望ましい多摩川の環境条件とはどのようなものかを検討した。この為に、「多摩川河川環境管理計画(国土交通省)」を資料として利用した。本計画では、多摩川の河川敷を8つの機能空間に区分している(後述)。この中のどの機能空間において、実際に寄生虫が高い寄生率を持って検出されるかを検討した。

(2) 環境要因に関する新規データの獲得

寄生虫感染の有無・寄生率に影響を及ぼす環境要因を検討するため、衛星画像から各調査地点のピクセル値及び NDVI 等の指数に関するデータセットを作成した。解析に用いた衛星画像は Landsat 7 である。なお、現地でカニの採集を行った時期は2004 年及び 2005 年のそれぞれ 8 月あるいは 9 月であるが、これら採集時期以外も解析可能な衛星画像を利用し、画像取得時期によるピクセル値及び NDVI 等の指数の変化について、比較・検討を加えた(図 2)。

3. 研究の場所

多摩川本流の下流域 (河口から 15km を目途とした汽水圏の感潮域) に調査地点を選び、河川敷で汽水産のカニの捕獲に努めた。前述の様に、国土交通省は「多摩川河川環境管理計画」において、多摩川の河口から源流までを 5 つのゾーンに分類し、さらに各ゾーン内の土地を 8 種類の機能空間の何れかに区分している。そして、人為的に改変された空間と自然のままで放置された空間とを混在させることで、流域の生物多様性の回復を図ることを謳っている。この河川敷における 8 つの機能空間とは、①避難空間、②地先施設レクリェーション空間、③広域施設レクリェーション空間、④運動・健康管理空間、⑤自然レクリェーション空間、⑥文教空間、⑦情操空間、⑧生態系保持空間、の各空間である。そこで、この管理区分の設定図を参照し、複数の異なる機能空間に調査地点を設定するよう方針を立てた。特に、「本来の生態系の回復に努めて貴重な生態系を保持しようとする空間」と定義付けられた「生態系保持空間」に注目した。

この様な背景情報を前提としながら、カニに関する捕獲手順として当初は、地図

上に 50m×50m のメッシュを作成し、ランダムに抽出したメッシュを捕獲地点とすることを原則とした(約 250 箇所)。この原則でカニを採集できなかった場合は、捕獲が容易な近接地区でカニを捕獲することで成績を得るなど、代替の方策を用いることで、予定地点でのデータ収集を断念した。

4. 結果

A. 汽水産カニの捕獲と寄生虫の検出

多摩川下流の東京都大田区・世田谷区と神奈川県川崎市に約 250 の調査地点を設定し、1 地点あたり 20 匹以上の汽水産のカニを採集して、寄生虫を検出することを計画した。しかしながら実際の河川敷では、進入禁止の地区や到達困難な箇所、材料捕獲が不可能な箇所などが極めて多く、1 箇所あたりカニを 20 匹以上捕獲できた地点の数は 41 に留まった。

予備調査の段階で判明したことは、カニを捕獲できた何れの地点おいても、クロベンケイが圧倒的な優占種であることであった。そこで、クロベンケイを第一選択の検索材料とした。しかも検出された寄生虫の幼虫(メタセルカリアという発育期)は、総て大平肺吸虫であることが判明した(クロベンケイはこの大平肺吸虫の第二中間宿主となる)。しかしながら検出した大平肺吸虫には遺伝的多型が検出できなかった(後述)。そこでカニを捕獲した41地点を見直し、15の地区に整理統合した。この15地区は、「多摩川河川環境管理計画」でいう機能空間に関して、同一の機能空間に属する地点のみを含む様に配慮した。その結果、調査地区は、大田区の鵜の木、矢口、東六郷、南六郷、本羽田の5地区、川崎市では川崎区の殿町、中瀬、幸区の戸手、小向町、小向仲町、中原区の上平間、中丸子の7地区、合計12地区となった(図1;各地区がどの機能空間に属するかは後述)。

この12地区で捕獲されたクロベンケイの総計は、842匹であった。このうち258匹(31%)から肺吸虫のメタセルカリアが検出された(表1)。寄生率を調査地区別に見ると、最も高かったのは大田区東六郷地区:98%で、次いで南六郷地区:97%、更に本羽田地区:92%、川崎市川崎区中瀬地区:56%、幸区小向仲野町地区:54%、川崎区殿町地区:49%、幸区小向町地区:14%、大田区矢口地区:2%、幸区戸手地区:1%の順であった。陽性カニは何れも河口に近い地区で採集され、多摩川大橋(河口から約8.5km)より上流の4地区は、矢口地区を除き陰性であった。

B. カニから検出された肺吸虫の種同定(形態同定・分子同定)

検出された肺吸虫のメタセルカリアを観察したところ、楕円形を呈するものが大部分で、その大きさ(内嚢の外径)は 290mm x 230mm (60 個平均)、口吸盤背縁に穿刺棘を、体肉内に赤色顆粒を認めた。3 箇所の陽性地区(東六郷・南六郷・殿町の各地区)で得たメタセルカリアを、各々ラットに実験感染させ、84 日から 105 日に剖検した。その結果、何れのラットからも成虫が肺より検出された。成虫の染色封

入標本を作製して、生殖器と体表の観察に努めたところ、卵巣は複雑に分岐し、皮棘は群生であることが分かった。以上の形態学的特徴、すなわちメタセルカリアと成虫に認められた種別標徴から、今回得た肺吸虫は、何れも大平肺吸虫 *Paragonimus ohirai* Miyazaki, 1939 であると同定した。

各陽性地区に由来するメタセルカリアを出発材料として、塩基配列を解読した。その結果、リボソーム DNA・ITS2 領域の塩基配列(463bp)は、何れの地区に由来する材料でも同一で、しかも既報の大平肺吸虫の配列と完全に一致した。ミトコンドリア DNA・coxI 遺伝子の部分配列(396bp)も解読したが、メタセルカリアの由来地区にかかわらず、今回の検索材料は総て同一の配列であった。

C. 第一中間宿主貝の採集と大平肺吸虫の検出

大平肺吸虫の第一中間宿主である貝(ムシヤドリカワザンショウ)を採集し、本虫セルカリアの検出を試みた。採集地区は、クロベンケイにおけるメタセルカリアの寄生率が最も高かった東六郷地区(98%)と、その対岸に近接しながら寄生率が極めて低い戸手地区(1%)を選んだ。まず東六郷地区で、ムシヤドリカワザンショウ1,892 個を採集した。研究室に持ち帰り、1 個ずつ破砕して幼虫(セルカリアという発育期)の寄生状況を調べたところ、3 個体(0.2%)から短尾セルカリアが検出された。形態を精査し、さらに短尾セルカリアを出発材料に、リボソーム DNA・ITS2 領域の塩基配列(463bp)を解読した。その結果、形態は大平肺吸虫の記載に一致した。また遺伝子配列は、何れの材料から得たものでも同一で、しかもその配列は既報の大平肺吸虫のものと完全に一致した。従って、検出されたセルカリアは、総て大平肺吸虫と同定した。一方、戸手地区でもムシヤドリカワザンショウの採集を試みた。しかしながら結局は、中間宿主貝を一個も見つけることができなかった。

D. 既知データを用いた環境要因に関する解析

クロベンケイにおける大平肺吸虫の陽性地区・陰性地区を、「多摩川河川環境管理計画(国土交通省)」による管理区分の設定図にプロットした。その結果、大田区の鵜の木地区・矢口地区は「運動健康管理空間」、また太田区の東六郷地区・南六郷地区・本羽田地区は「生態系保持空間」に属した。また川崎市では、川崎区の殿町地区・中瀬地区は「生態系保持空間」、幸区の戸手地区は「地先施設レクリェーション空間」、小向町地区・小向仲町地区は「文教・情操空間」、中原区の上平間地区は「広域施設レクリェーション空間」、また中丸子地区は「運動健康管理空間」に属することが分かった。

クロベンケイにおける大平肺吸虫の寄生率が40%を越えた6地区のうち、5地区(東 六郷・南六郷・本羽田・殿町・中瀬の各地区)は何れも「生態系保持空間」に属し た。寄生率が40%を越えた残りの1地区、すなわち小向仲野町地区は「文教・情操 空間」に属した。「運動健康管理空間」にある矢口地区や「地先施設レクリェーショ ン空間」にある戸手地区でも陽性カニは捕獲されたが、大平肺吸虫は殆ど検出できず、寄生率は一桁(2%以下)に留まった。

さらに大平肺吸虫と衛生画像から得られた地理情報データとのオーバーレイ解析を行い、肺吸虫の分布状況に影響を与える環境要因の抽出を目指した。しかしながら、明瞭な結果を得ることはできなかった(図 2)。

F. クロベンケイ以外の汽水産カニの捕獲と寄生虫の検出

本研究では、クロベンケイ以外の汽水産カニも捕獲し、寄生虫の有無を調べた。まずアシハラガニが河口に極めて近い地区(川崎市川崎区殿町地区)で見つかった。捕獲して寄生虫を探査した。その結果、大平肺吸虫は検出されなかったが、他の寄生虫の幼虫(Microphaloides japonicus)が検出された。このメタセルカリアを出発材料として、リボソーム DNA・ITS2 領域の塩基配列を解読した。この寄生虫も指標生物として、生態系多様性の評価に活用できると考えた。

モクズガニの死体(複数個)を多摩川大橋より上流で見つけた(大田区等々力地区:今回の調査地区ではクロベンケイが捕獲できなかった上流域)。生存個体が確認でき、何らかの寄生虫が検出できれば、モクズガニも生態系多様性の評価に資する指標生物になると考えられた。

5. 論議

大平肺吸虫のメタセルカリアは、主に西日本の汽水産カニから見出されてきた。 関東地方でも、千葉県内を流れて太平洋に注ぐ河川で陽性カニが検出されていたが (畑ら,1987)、東京湾に注ぐ河川では報告がなかった。そこで荒川(埼玉県・東京 都を流れて東京湾に注ぐ)において調査したところ、本虫陽性のクロベンケイが見 つかった(杉山ら,2004)。今回は多摩川下流にある東京都大田区・世田谷区と神奈 川県川崎市に調査地区を設定し、クロベンケイを採集して本虫メタセルカリアの検 出を試みた。その結果、検査したクロベンケイ 842 匹のうち、258 匹(寄生率:31%)が大平肺吸虫のメタセルカリア陽性であることが分かった。カニからの大平肺吸虫 検出は、神奈川県では多摩川が初めての記録となる。東京都でも荒川に次ぐ2番目 の記録となる。

検出された大平肺吸虫について、遺伝的多型の検出を試みた。しかしながら予想外なことに、メタセルカリアの由来地区にかかわらず、配列は総て同一であった(ITS2 領域および cox1 遺伝子)。しかも ITS2 領域の配列は、荒川(東京都)から検出された大平肺吸虫集団の配列と完全に一致した。東京湾に注ぐ河川に分布する大平肺吸虫は、変異に乏しい集団であるとも考えられた。肺吸虫の遺伝的多型の検出には、最近では 16S リボゾーム DNA (ミトコンドリア DNA) をターゲットとした検討も積極的に活用され始めた(Agatsuma et al., 2003)。標的とする配列領域を変更して、改めて多型の検出に努めたい。多型の解析により、例えば環境への適応に

優れた集団が判別できるのではないかと考えている。

本研究では、衛星画像から得られた地理情報データにもとづいて大平肺吸虫の分布状況を解明することを試み、オーバーレイ解析による肺吸虫の分布状況に影響を与える環境要因の抽出を目指した。しかし残念ながら、明快な結果を得ることができなかった。この原因として、肺吸虫の分布が狭い地点に限られており、現在の衛星画像から得られるデータセットでは、空間分解能が不足していたことがあげられる。この問題を解決するためには、より分解能の高い衛星画像を利用するとともに、調査地点における植生構造や土壌水分等の計測項目を増やす必要がある。

一方で、クロベンケイにおける大平肺吸虫の陽性地区・陰性地区を、「多摩川河川環境管理計画(国土交通省)」による管理区分の設定図にプロットしてみた。その結果、寄生率の高い6地区のうち、5地区は「生態系保持空間」に、残りの1地区が「文教・情操空間」に属することが分かった。「生態系保持空間」は、本来の生態系の回復に努めて貴重な生態系を保持しようとする空間と定義付けられ、多様な生物およびその生息・生息環境の保全を目的に設定された空間とされる。また、「文教・情操空間」は、自然をそのままの状態に残した空間とされる(国土交通省関東地方整備局京浜河川事務所、2004)。従って大平肺吸虫という寄生虫は、「自然をそのままの状態で残すなど、生物多様性の確保を目的として本来の生態系の回復に努める空間」に存在したことになる。この様な観点から捉えると、本研究は「生態系多様性を寄生虫の存在で評価する」ことを可能にした具体的な例証になると考えられた。

現在我々は、衛星画像で解読できる環境要因のうち、護岸の状況・河川の流速・ 底質・河川敷や水路の植生・土壌水分などが、肺吸虫の分布状況に関連していると 予想している。この様な環境要因の有無が、生態系多様性を判定するための指標に なるのか、今後の詳細な検討・検証が必要である。

寄生虫の存否を介して特定・抽出された環境要因の有無が、生態系多様性を判定するための指標になるかについては、大平肺吸虫を用いて本研究で例証した。また本研究では、アシハラガニに他の寄生虫の幼虫(Microphaloides japonicus)を見出した。この寄生虫も指標生物として、生態系多様性の評価に活用できるものと考えられたので、この点についても、更に検討を進めたい。

6. 要約

多摩川下流の東京都大田区と神奈川県川崎市の12地区で汽水産のカニであるクロベンケイ842匹を捕獲し、258匹(31%)から大平肺吸虫の幼虫(メタセルカリア)を検出した。カニにおける大平肺吸虫の寄生率が最も高かったのは、大田区東六郷地区(寄生率:98%)で、1匹のカニから最高329個のメタセルカリアが検出された。また汽水産の貝であるムシヤドリカワザンショウが1,892個も採集でき、そのうち3個体(0.2%)から大平肺吸虫の幼虫(セルカリア)が検出された。カニにおける大平肺吸虫の寄生率が低い地区では、貝は全く検出できなかった。東六郷地

区は国土交通省の「多摩川河川環境管理計画」で「生態系保持空間」に指定され、 多様な生物が生息できる環境の保全が図られている。このような生物多様性の確保 が図られた地区に、大平肺吸虫という寄生虫が検出されることを、今回の研究で例 証した。併せて、大平肺吸虫の分布状況と地理情報データとのオーバーレイ解析を 通じ、肺吸虫の分布状況に影響を与える環境要因を検討した。

引用文献

Agatsuma T. *et al.* (2003): The origin of the triploid in *Paragonimus westermani* on the basis of variable regions in the mitochondrial DNA. Journal of Helminthology: 77, 279-285.

Blair D. *et al.* (1997): Geographical genetic structure within the human lung fluke, *Paragonimus westermani*, detected from DNA sequences. Parasitology: 115, 411-417.

Hata H, et al. (1987): Survey for the second intermediate host of Paragonimus ohirai Miyazaki, 1939, in Kujukuri, Chiba Prefecture. Japanese Journal of Parasitology: 36, 287-289.

国土交通省(2001):平成 13 年度版河川水辺の国勢調査(河川版),監修:国土交通省河川局河川環境課,発行:リバーフロント整備センター;河川環境データベース(河川水辺の国勢調査):http://www3.river.go.jp/

国土交通省関東地方整備局京浜河川事務所 (2004): 多摩川河川環境管理計画 http://www.ktr.mlit.go.jp/keihin/tama/project/environment/index.htm

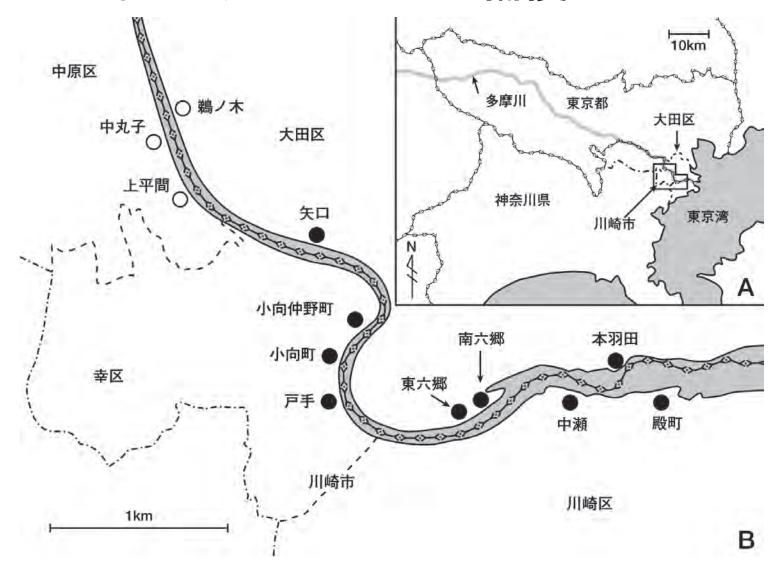
Komiya Y. (1965): Metacercariae in Japan and adjacent territories. Progress of Medical Parasitology in Japan: 2, 1-328.

Miyazaki I. (1991): An Illustrated Book of Helminthic Zoonoses. International Medical Foundation of Japan (Miyazaki I, ed.).

Sugiyama H, et al. (2002): Polymerase chain reaction (PCR)-based molecular discrimination between *Paragonimus westermani* and *P. miyazakii* at the metacercarial stage. Molecular and Cellular Probes: 16, 231-236.

Sugiyama H, et al. (2004): Paragonimus ohirai Metacercariae in Crabs Collected along the Arakawa River in Tokyo, Japan. Journal of Veterinary Medical Science: 66, 927-931.

図1. クロベンケイの捕獲地区



A: 多摩川の下流域(枠で囲んだ地域)でクロベンケイを捕獲した

B:クロベンケイの捕獲地区(12箇所)を示す. ●:陽性地区;○:陰性地区

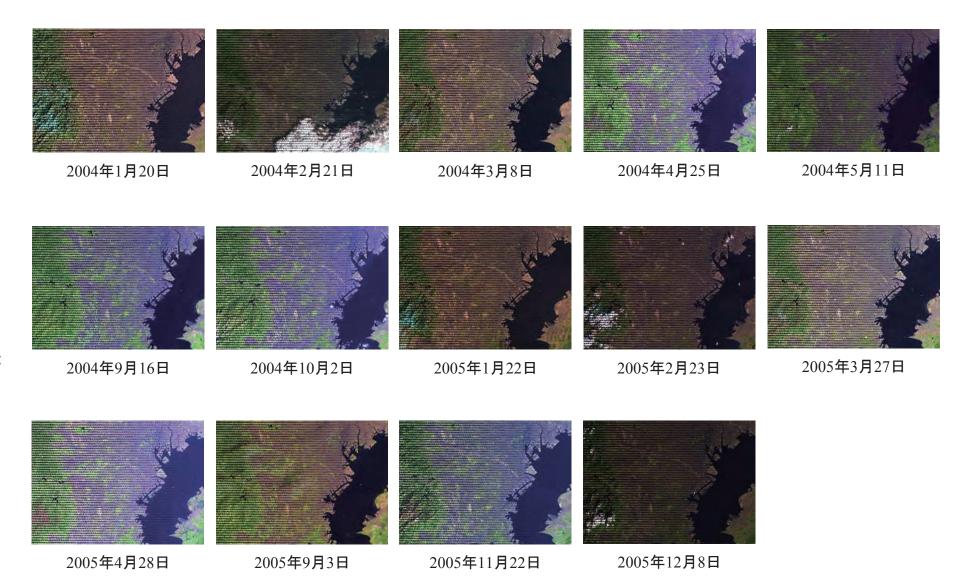


図 2 研究対象とした地域の衛星画像

14ヶ月分の衛星画像を用いて本研究実施期間(2004~2005年)の解析を行なった。

15

表1. クロベンケイにおける大平肺吸虫メタセルカリアの寄生状況:地区別の成績

東京都

神奈川県川崎市

調査地区		陽性数 / 検査数 (寄生率)	検出 Mc数	調査地区		陽性数/ 検査数 (寄生率)	検出 Mc数
	鵜の木	0/65	_	川崎区	殿町	56/114 (49%)	1 – 14
	矢口	1/52 (2%)	4		中瀬	28/50 (56%)	1 - 112
大田区	東六郷	47/48 (98%)	2 – 238	幸区	戸手	2/138 (1%)	1
	南六郷	58/60 (97%)	2 - 329		小向町	9/63 (14%)	1 – 13
	本羽田	23/25 (92%)	1 – 17		小向仲野町	34/63 (54%)	1 – 82
総計 258/842 (31%)		()	中原区	上平間	0/101	-	
		200/ 072 (01/0)		中丸子	0/63	_	

Mc:メタセルカリア

を 多摩川における生態系多様性の評価:寄生 虫 を指標とし、地理情報システムを かつよう ほうほう かいはつ 活用した方法の開発

(研究助成·学術研究VOL. 38—NO. 279)

著者 杉山 広

発行日 2010年3月31日

発行者 財団法人 とうきゅう環境浄化財団

T150-0002

東京都渋谷区渋谷1-16-14 (渋谷地下鉄ビル内)

TEL (03) 3400-9142

FAX (03) 3400-9141

http://home.q07.itscom.net/tokyuenv/