

奄美大島の猫におけるトキソプラズマ感染状況の解明

松鶴 彩¹、横田伸一²

1) 鹿児島大学 共同獣医学部附属越境性動物疾病制御研究センター
〒890-0065 鹿児島市郡元一丁目 21-24 電話：099-285-3611

2) 東京大学医科学研究所奄美病害動物研究施設
〒894-1531 鹿児島県大島郡瀬戸内町手安須手 802 電話：0997-72-0373

要旨

多くの固有動物が生息する奄美大島において、近年猫の増加による生態系への影響が問題視されている。猫が希少哺乳動物やヒトへ病原体を媒介する可能性も危惧されるが、これに関する学術的な情報は乏しい本研究では奄美大島に棲息する野良猫におけるトキソプラズマ原虫 (*Toxoplasma gondii*) 感染状況を解明することを目的とした。

血清診断のために *Gaussia* Luciferase Immunoprecipitation system (GLIP) 法を新たに確立した。検体は2013年から2017年にかけて奄美大島全域で採取された野良猫の血液1,363検体と、対照として全国13県の動物病院に来院した飼育猫の血液123検体を用いた。その結果、奄美大島の野良猫の123検体(9.0%)で抗体陽性が認められた。全国の飼育猫は4検体(3.3%)が陽性で、奄美大島の陽性率は全国の飼育猫に比べて有意に高かった ($P<0.05$)。島内でも特に森林部に生息する猫の抗体陽性率が高い傾向にあったことから、猫と野生動物の間での感染環が成立し、この地域の感染リスクを高めている可能性が疑われた。希少動物や家畜、人への感染リスクを考慮するとやはり猫の適正飼育の重要性を再認識する必要があると考えられた。

1. 緒言

奄美大島は鹿児島県と沖縄の間に位置する奄美群島の中で最大の島であり、多くの固有動物が生息している。近年この島では外来種としての猫の増加が問題視されている。市街地において騒音や糞尿被害等の公衆衛生上の問題を引き起こすだけでなく、野生動物を捕食することで、固有かつ希少動物の天敵となるなど生態系を維持する上で大きな問題となっている(1, 2)。奄美大島には現在数千頭以上の猫が生息していると推定されており、自治体やボランティアによる TNR 事業や里親募集など数を減らすための様々な取り組みが行われている。

猫が希少哺乳動物やヒトへ病原体を媒介する可能性も危惧されるが、これに関する学術的な情報は乏しい。我々は猫科動物を終宿主とし、ヒトや野生動物等多くの温血動物に感染するトキソプラズマ原虫 (*Toxoplasma gondii*) に注目している。猫の増加によりヒトや野生動物におけるトキソプラズマ感染のリスクが高まる可能性があるが、奄美大島における猫の感染状況は不明である。

本研究では猫におけるトキソプラズマ抗体検出法を新たに確立し、これを用いて奄美大島に棲息する猫における感染状況を解明することを目的とした。

2. 方法

2.1 血液検体：

2013 年から 2017 年にかけて奄美大島全域で行われた TNR 事業の際に採取された野良猫の血液 1,363 検体を用いた。これらの検体は島内 7 地域で捕獲された野良猫由来であり、内訳は名瀬 (371)、瀬戸内町 (210)、笠利町 (110)、龍郷町 (252)、住用町 (133)、大和村 (215) および宇検村 (72) である (Fig. 1)。対照として同時期に全国 13 県の動物病院に来院した飼育猫の血液 123 検体も用いた。

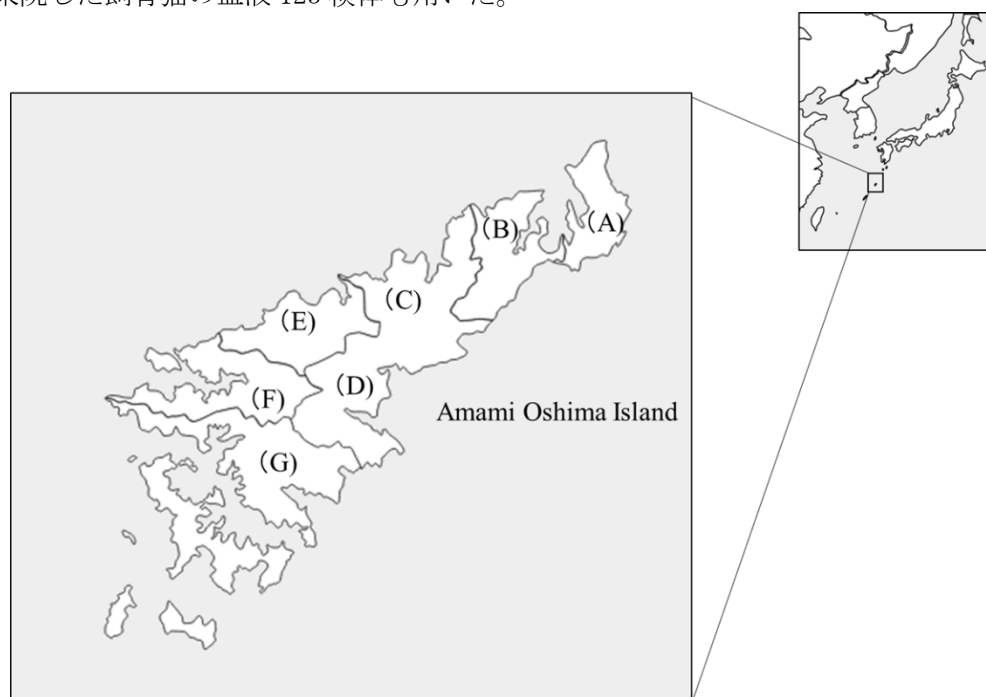


Fig. 1 Geographical locations at which serum were collected in this study. (A) Kasari, (B) Tatsugo, (C) Naze, (D) Sumiyo, (E) Yamato, (F) Uken, (G) Setouchi area.

2.2 *T. gondii* 特異抗体測定系の確立と測定：

動物種を問わず多検体を検査できる新たな方法として *Gaussia* Luciferase Immunoprecipitation system (GLIP) 法を確立した。カイアシ由来ルシフェラーゼ (*Gaussia* Luciferase) および *T. gondii* 由来 Gra7 蛋白 (TgGra7) (3) をコードする遺伝子を哺乳動物細胞発現ベクターに挿入、293T 細胞に導入し TgGra7-luciferase 蛋白を発現した。細胞溶解液を猫の血清検体と反応させた後、Protein A/G セファロースに結合した IgG 複合体中のルシフェラーゼ活性を測定した。TgGra7 を含まない発現蛋白も準備しこれを対照とした。GLIP 法におけるカットオフ値は対照のルシフェラーゼ活性およびウェスタンブロッティング法による結果と比較し決定した。

GLIP 法の精度を評価するためにランダムに選んだ猫血清検体 200 検体について、市販のラテックス凝集試薬 (栄研、東京) による評価を行い、上記 GLIP 法で得られた結果と比較した。

3. 結果

3.1 GLIP 法の評価：

猫血清を用いた GLIP 法ではカットオフ値を 5.0×10^4 LU とした (感度 81.8% および特異度 77.8%)。ランダムに選択した 200 検体の猫血清を用いた GLIP 法と市販のラテックス凝集法の結果を比較したところ、 κ 係数は 0.75 (95% 信頼区間 0.57~0.75) と高い一致度が認められた。

3.2 猫の血清陽性率：

奄美大島の野良猫由来 1,363 検体のうち 123 検体 (9.0%) で GLIP 法による抗体陽性が認められた。全国の飼育猫は 123 検体のうち 4 検体 (3.3%) が陽性で、奄美大島の陽性率は全国の飼育猫に比べて有意に高かった ($P < 0.05$) (Fig. 2)。奄美大島における猫の陽性率について年齢および性別による違いは認められなかった。一方、地域による有意な違いが認められた ($P < 0.01$)。住用町の猫は最も抗体陽性率が高く (19.6%)、笠利町 (5.5%)、名瀬市街 (5.1%)、大和村 (8.8%)、瀬戸内町 (6.7%) に比べて有意に高かった ($P < 0.01$)。また龍郷地区の陽性率も高く、名瀬市街 ($P < 0.01$)、笠利および瀬戸内 ($P < 0.05$) に比べて有意な高値を示した (Table 1)。

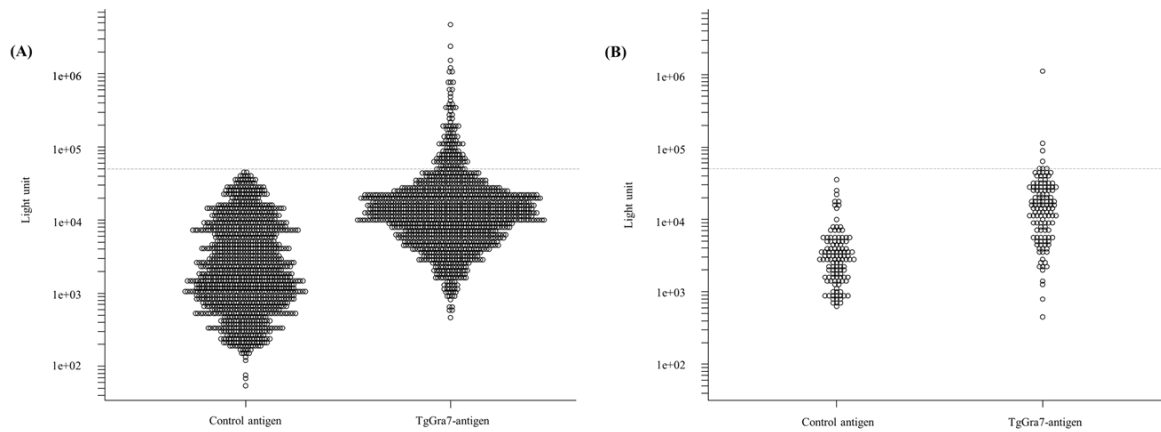


Fig. 2 Sera from a total 1363 free-ranging domestic cats in Amami Oshima Island (A) and 123 owner owned cats in JAPAN mainland (B) were screened for the presence of anti-TgGra7 antibodies using a TgGra7-GLIP antigen by GLIPS assay. All sera were additionally analyzed for antibodies against a control antigen to determine the cutoff limit (dashed line).

Table 1. The number of cats positive for TgGra7 in Amami Oshima Island.

Parameter		Tested number	Positive number	Positive rate
gender	male	545	45	8.3%
	female	543	52	9.6%
	unkwon	275	26	9.5%
age	juvenile	29	3	10.3%
	young	142	8	5.6%
	adult	852	84	9.8%
	unknown	340	28	8.2%
area	Kasari (A) ¹	110	6	5.5%
	Tatsugo (B)	252	31	12.3% †**
	Naze (C)	371	19	5.1%
	Sumiyo (D)	133	26	19.6% ‡
	Yamato (E)	215	19	8.8%
	Uken (F)	72	8	11.1%
	Setouchi (G)	210	14	6.7%
Total		1363	123	9.0%

¹ alphabet in parentheses is corresponded to Fig.1.

†P<0.05 vs. Kasari and Setouchi

**P<0.01 vs. Naze

‡P<0.01 vs. Kasari, Naze, Yamato, and Setouchi

4. 考察

本研究では新たに確立した GLIP 法を用いて奄美大島の野良猫における *T. gondii* 感染状況について調査を行った。奄美大島全体の *T. gondii* 抗体陽性率は本土の飼育猫に比べて3倍と高い傾向を示し、さらに島内において明らかな地域差が認められた。島内7地域のうち、名瀬および瀬戸内町は市街地であり、笠利町は北部の比較的平坦な地形である。これらに比べて大和村、宇検村、龍郷町、住用町は森林部にあたり、野生動物の生息が多く見られる地域でもある(2)。このような森林部で捕獲された猫の *T. gondii* 抗体陽性率は高い傾向にあり、特に龍郷町および住用町では名瀬市街地に比べると2~4倍程度高かった。過去の研究によって猫の *T. gondii* 感染リスクは野生動物の捕食によって高まることが指摘されている(4, 5)。本研究で得られた結果から、奄美大島では森林地域の猫と野生動物の間で *T. gondii* 感染環が成立していることが疑われた。

調査期間中に奄美大島において保護された15例の野生動物(ケナガネズミ2頭、アマミノクロウサギ13頭)の血清抗体価についても確認したところ(データ非表示)、2例の抗体陽性例を確認した。また過去の研究で野生のアマミノクロウサギの病理学的解析によってトキソプラズマの全身感染が死因に関連が示唆された論文(6)が報告されている。このことから希少種を含む奄美大島の野生動物が実際に *T. gondii* 感染リスクに直面しているものと考えられる。

奄美大島を含む奄美群島は、ユーラシア大陸から分離して以降、肉食動物がいない隔離された環境において独自の進化を遂げた種や、日本本土や大陸ではすでに絶滅した遺存固有種が生息する貴重な環境を有している。*T. gondii* の終宿主である猫が存在しないことから、野生動物(草食動物)の感染リスクは本来存在しない環境であるが、現在ヒトによって家畜として持ち込まれた猫が、捕食だけでなく病原体の伝播にも関与していることが明らかとなった。特に森林部の猫の感染率が高いことから、猫→野生動物→猫の感染環が成立し、この地域の感染リスクを高めているものと思われる。このような環境においては畜産動物への感染リスクを高め、最終的には人への感染リスクも高まる可能性が危惧される。また猫自身の発症リスクも高まることを考えると、猫の適正飼育の重要性を再認識する必要があると思われる。

5. 謝辞

本研究を助成いただきましたサンケイ科学振興財団に深く感謝いたします。

6. 引用文献

1. Mameno Kota KT, Suzuki Mariko. 2017. Social challenges of spatial planning for outdoor cat management in Amami Oshima Island, Japan. *Global Ecology and Conservation* **10**:184-193.
2. Shionosaki Kazumi YF, Ishikawa Takuya, Shibata Shozo. 2015. Feral cat diet and predation on endangered endemic mammals on a biodiversity hot spot (Amami-Oshima Island, Japan). *Wildlife Research* **42**:343-352.
3. Terkawi MA, Kameyama K, Rasul NH, Xuan X, Nishikawa Y. 2013. Development of an immunochromatographic assay based on dense granule protein 7 for serological detection of *Toxoplasma gondii* infection. *Clin Vaccine Immunol* **20**:596-601.
4. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol* **30**:1217-1258.

5. **Afonso E, Thulliez P, Gilot-Fromont E.** 2010. Local meteorological conditions, dynamics of seroconversion to *Toxoplasma gondii* in cats (*Felis catus*) and oocyst burden in a rural environment. *Epidemiol Infect* **138**:1105-1113.
6. **Kubo M, Nakashima T, Honda T, Kochi T, Ito Yui, Hattori S, Kuraishi T.** 2012. Histopathological examination of spontaneous lesions in Amami Rabbits (*Pentalagus furnessi*): a preliminary study using formalin-fixed archival specimens. *Jpn J Zoo Wildl Med* **18**:65-70.

Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in free-ranging cats on Amami Oshima Island, Japan

Aya Matsuu¹, Shin-ichi Yokota²

1) Transboundary Animal Diseases Research center, Joint Faculty of Veterinary, Kagoshima University, Korimoto, Kagoshima, Japan

2) Amami Laboratory of Injurious Animals, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Setouchicho, Kagoshima, Japan

In Amami Oshima Island, free-ranging domestic cats are increasing and harmful to wild life populations. In this study, seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in free-ranging and in this island were examined using newly established *Gaussia* luciferase immunoprecipitation system (GLIPS) assay. As an antigen, recombinant dense granule antigen 7 proteins derived from *T. gondii* (TgGra7) protein was used. Among 1,363 cats obtained from free-ranging cats across the island between 2013 and 2017, 123 cats (9.0%) were positive for TgGra7 protein, the overall seroprevalence showed significantly higher than client-owned cats in Japan mainland (3.3%).

The prevalence were significantly different in area; cats in the rural area where many wild animals live including endangered species such as Amami rabbit (*Pentalagus furnessi*) and Ryukyu long haired rat (*Diplothrix legata*), are significantly higher than urban area in the island. This suggests a possible risk of infection from free-ranging cats to wild life, the management of domestic cats is important for wild life conservation.