

2025年9月17日

牛コクシジウム症の理解を深める アイメリア原虫学

大阪公立大学大学院 獣医学研究科
獣医学専攻 獣医免学教室
松林 誠

本日の流れ

1. アイメリアとは？
2. 病態や免疫機構
3. 治療および予防、対策
4. 今後の課題

まずは寄生虫を取り巻く国内の状況

現在の寄生虫事情

- ・他の重要感染症(致死性/伝播力)へ重点強化
⇒寄生虫専門の検査員(経験者)は激減
- ・研究者の激減
⇒獣医(医学)系大学でも寄生虫研究室が無い
人獣共通感染症に移行傾向?
- ・家畜衛生環境の向上により昔よりは減少
⇒やっかいなものだけが残っている
(対策が容易であれば根絶できている)

寄生虫学は、生活環が基本

寄生虫が動物の体内に入り、複数のステージを経て成長して、次世代を産出し、再度、動物に感染する一連のサイクルのこと

1. 症状が分かる

⇒ どこに寄生し、発育するのか？

2. 検査法が分かる

⇒ 基本は虫体の検出

どの材料でどの検査をすれば良いのか？

3. 防除法が分かる

⇒ 生活環を遮断する

アイメリアの概要

(*Eimeria*)

1. 世界的には1,500種以上いる
2. 感染する動物種域は限られる（宿主特異性）
3. 寄生する部位も決まっている（部位特異性）
4. 主に消化管に寄生する
5. 『オーシスト』の環境 & 薬剤抵抗性は極めて高い

アイメリアの主な症状

寄生部位はおおよそ消化管

⇒ 基本は異常便、消化器症状など

| 異常便 | 臨床症状 | ニワトリのアイメリア種 (全7種) | |
|----------------|------------------------------------|---|---|
| 異常便なし 軟便や下痢 | 増体や体重減少 脱水、消瘦 沈鬱など (2次感染) | <i>E. praecox</i> , <i>E. mitis</i> | 低 |
| | | <i>E. acervulina</i> , <i>E. brunetti</i> , <i>E. maxima</i> | 中 |
| 粘血便 / 血便 | 死亡 | <i>E. necatrix</i> , <i>E. tenella</i> | 高 |

なぜアイメリア種により病原性が異なるのか？

生活環を詳細に理解すれば納得
解析が進んでいるニワトリで説明

Eimeria の生活環 (テキスト記載)

経口摂取

スポロシスト

外界
で成熟

オーシスト
(糞便中)

スポロ
ゾイト

シゾン

無性生殖
(2-4回)

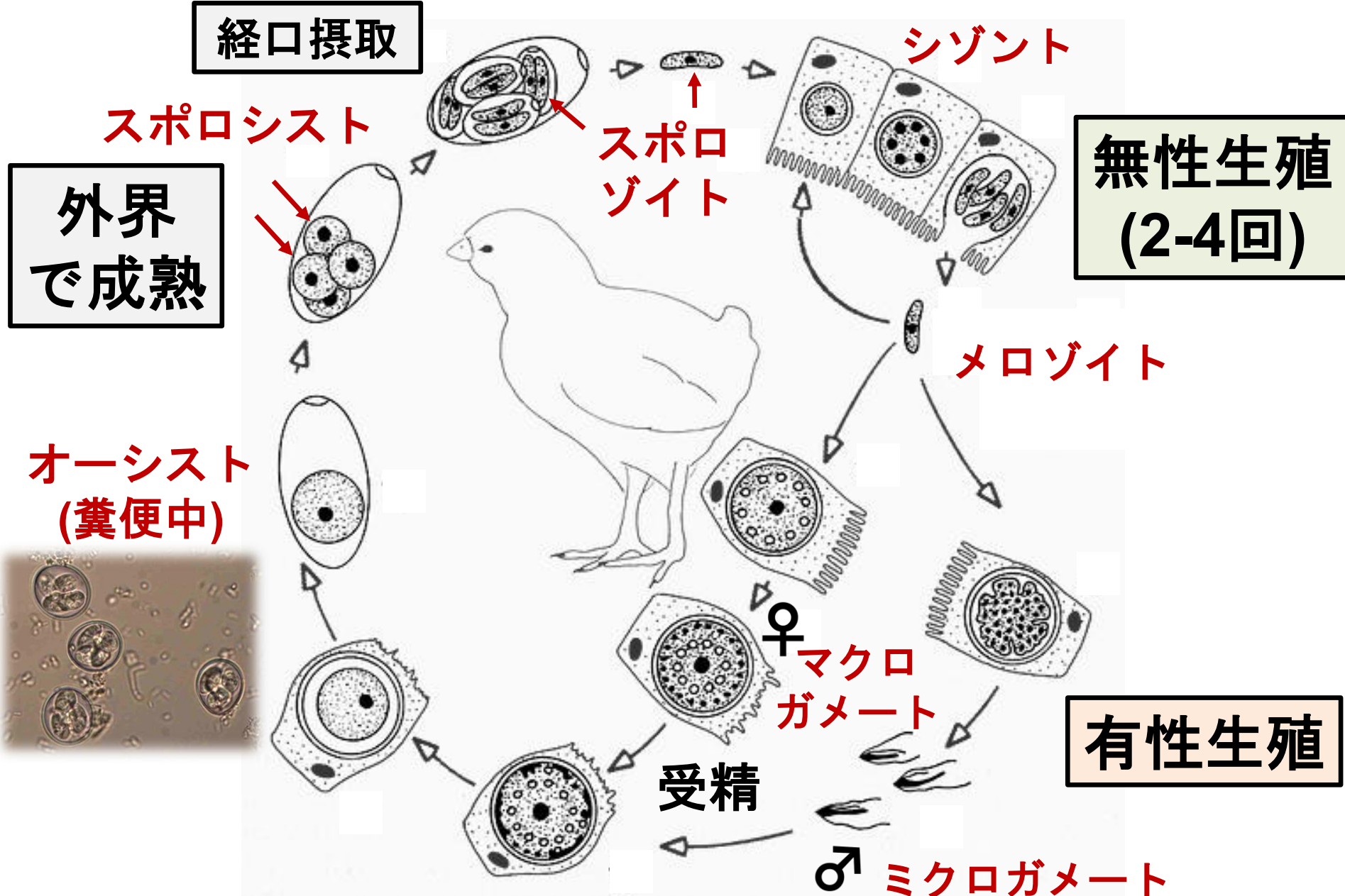
メロゾイト

♀ マクロ
ガメート

受精

♂ ミクロガメート

有性生殖



E. tenella はなぜ致死性なのか？

基本情報；盲腸寄生

幼雛で感受性高く、血便を呈し、
重症例では致死する

解析方法：

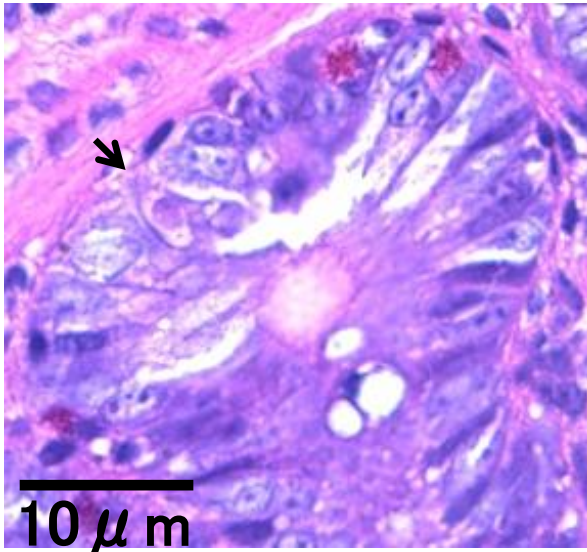
経口投与後、**6時間**おきに組織切片を観察

E. tenella ポリクローナル抗体作製

(何回か繰り返して、実施)

1代目シゾント

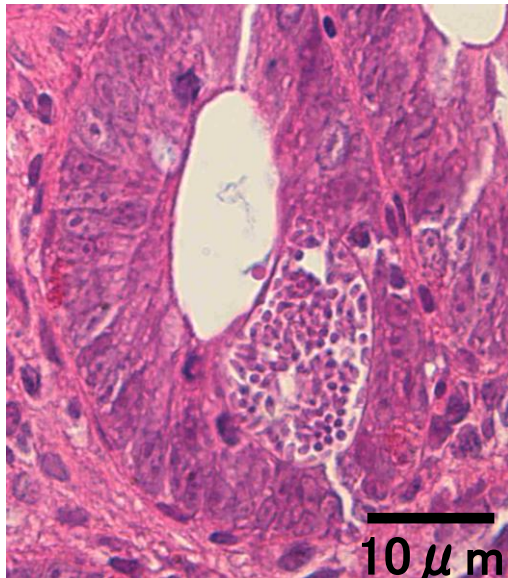
上皮細胞



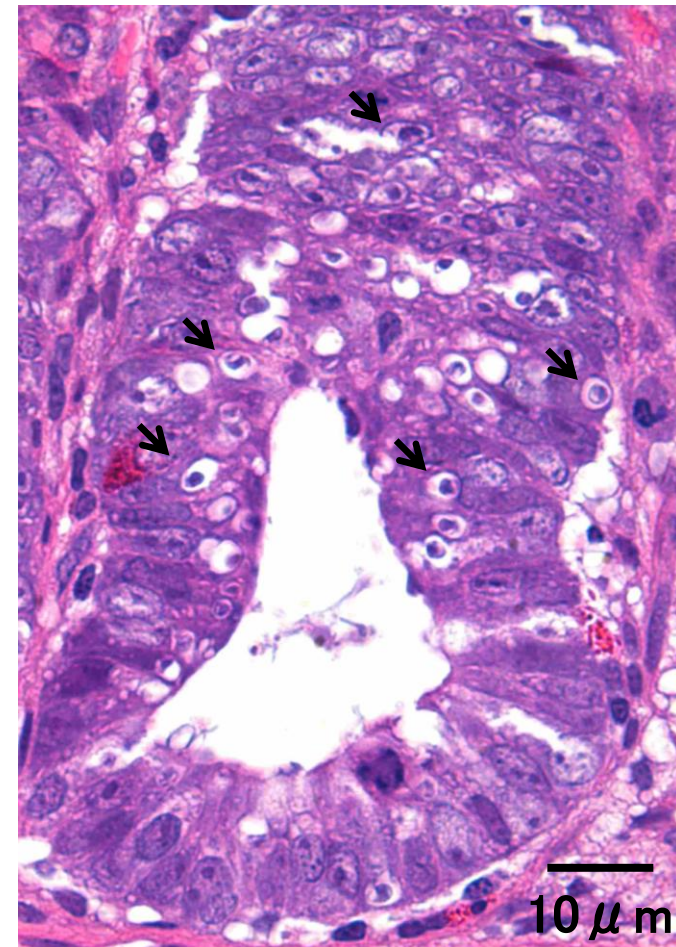
侵入直後
(非常に少ない)



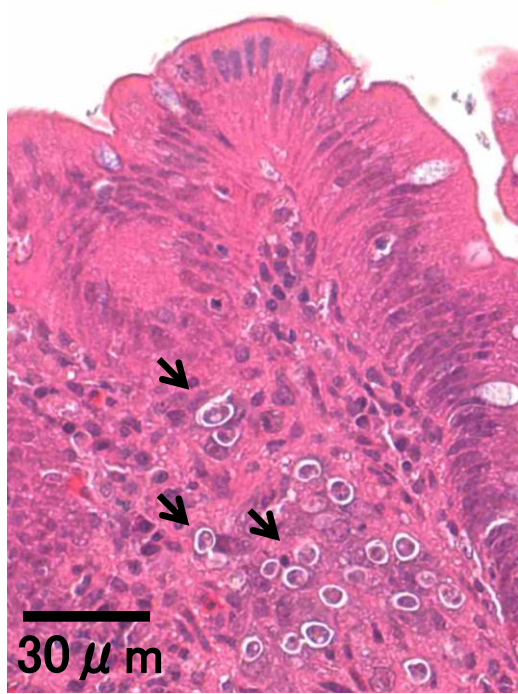
成熟第1代
シゾント



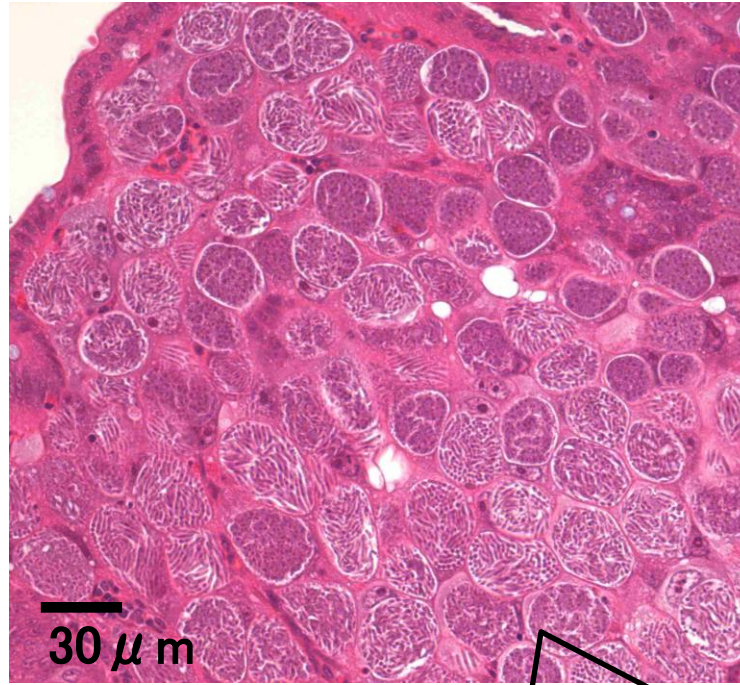
第2代へと...



第2代目シゾント

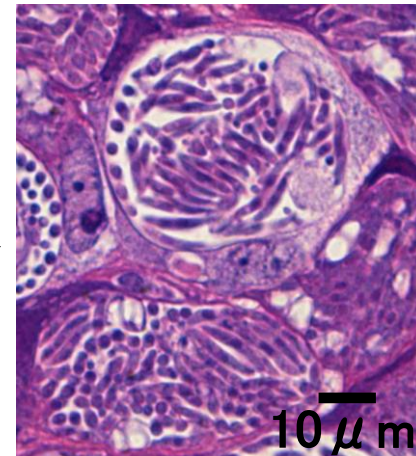
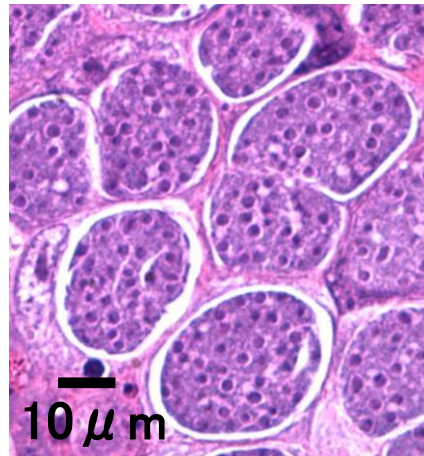


第2代シゾント



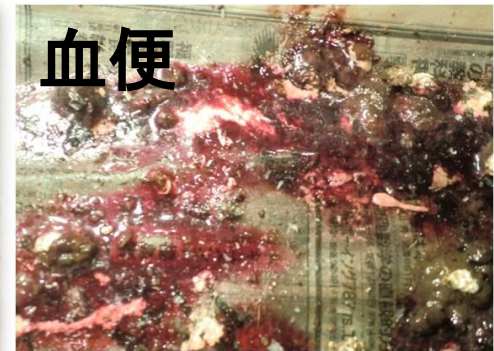
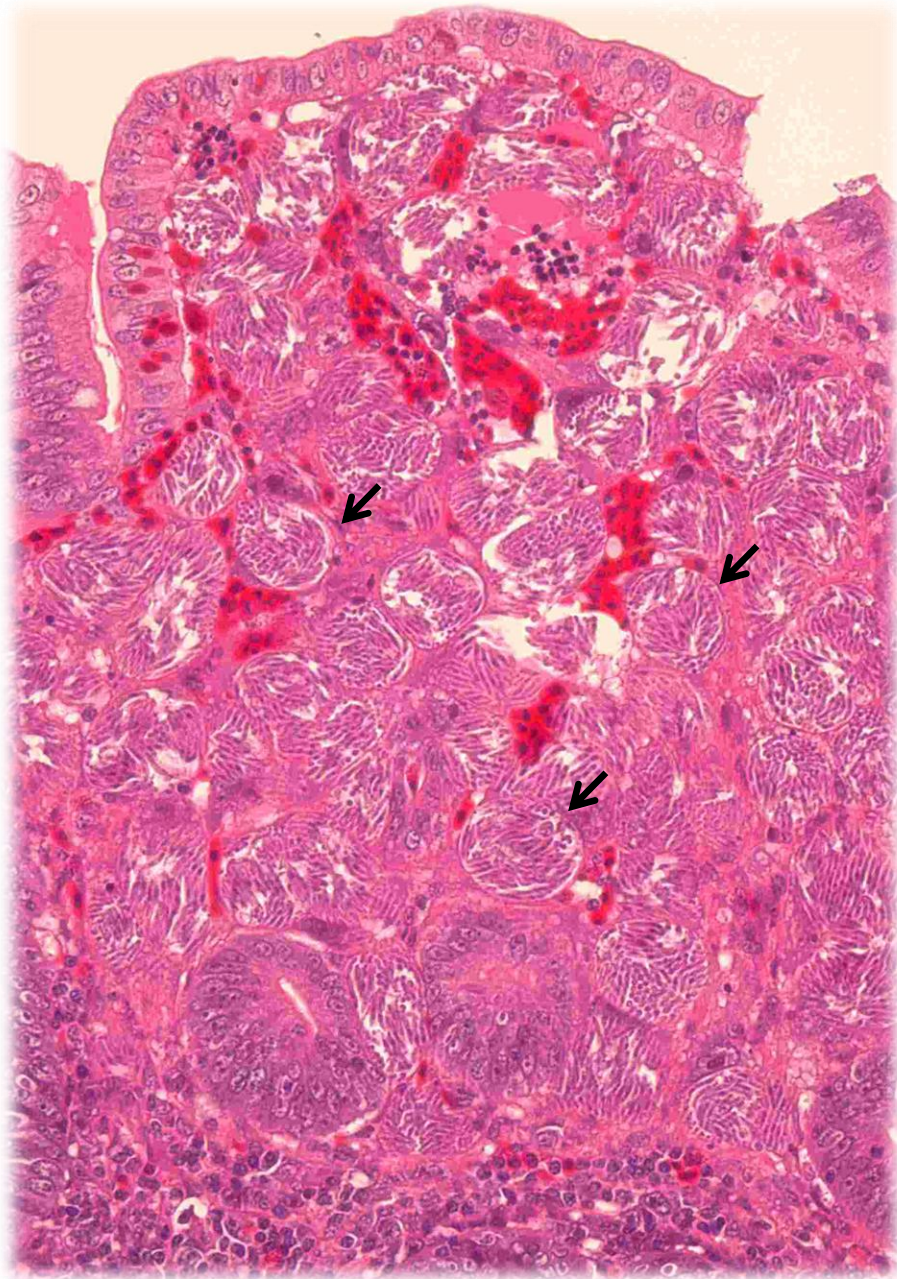
爆発的に大きく
発育する
(内部に2,000個)

粘膜固有層
で増殖



2,000個の
メロゾイト

第2代目シゾント

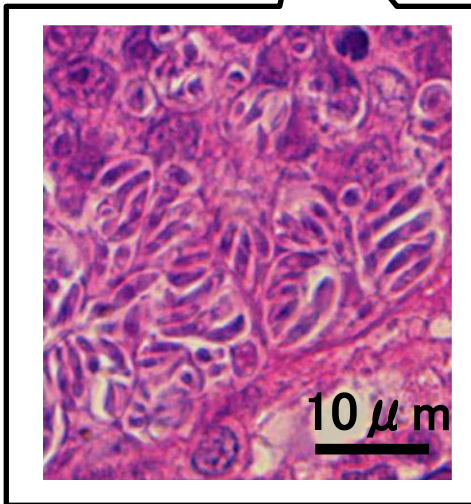
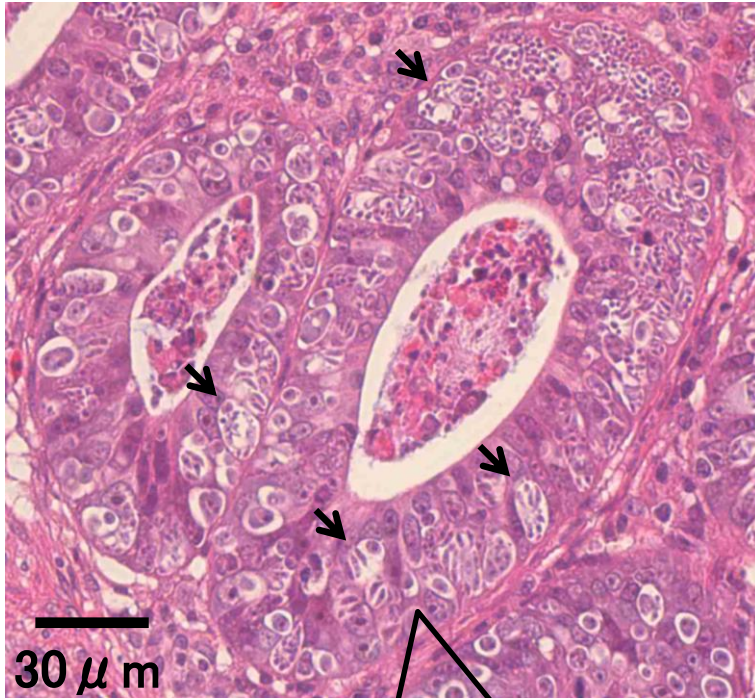


4日目



3日目

第3代目シゾント



上皮細胞に寄生

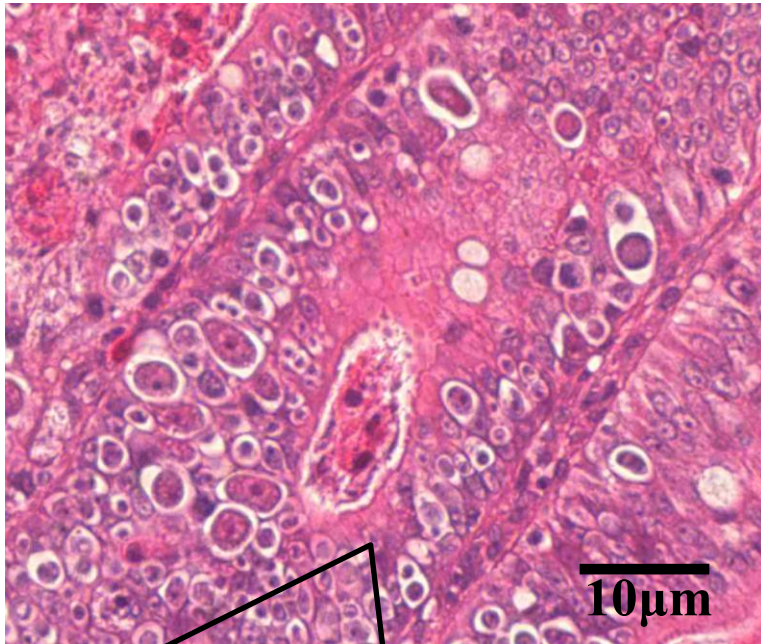


5日目

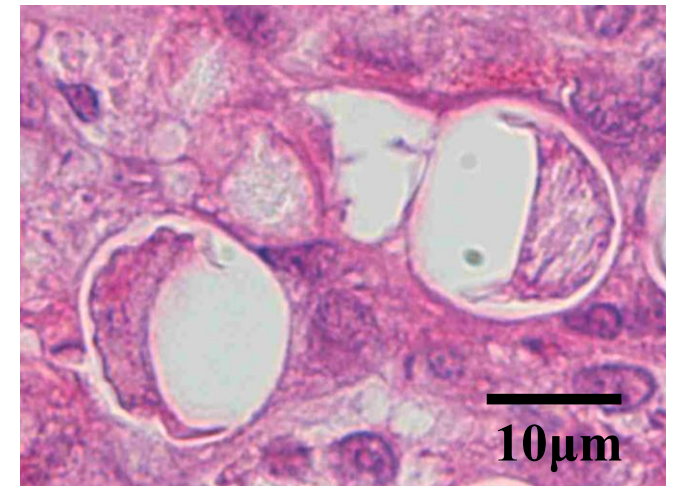
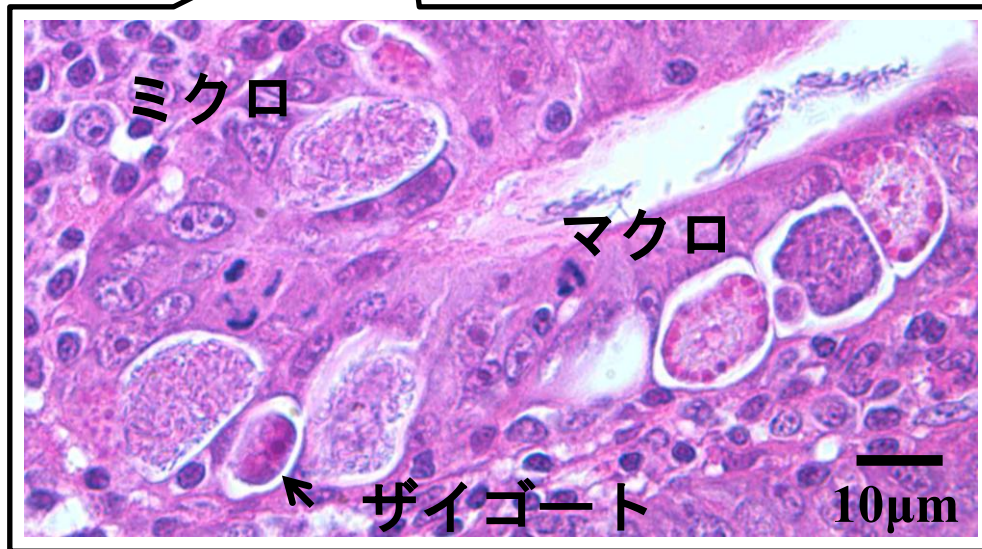
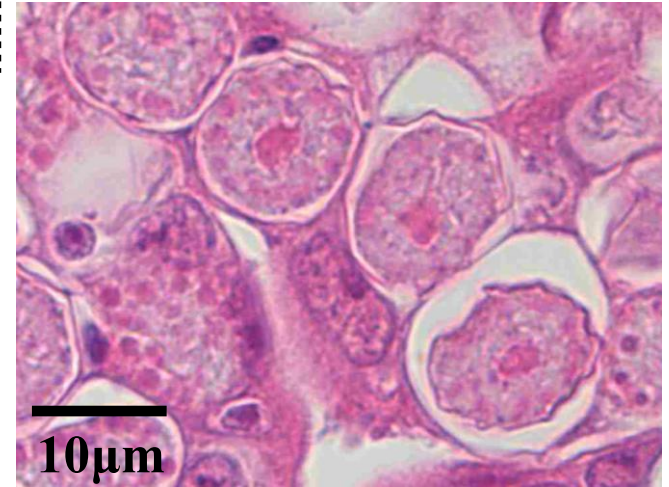
出血は改善
盲腸は委縮

有性生殖 (マクロ・ミクロ)

上皮細胞



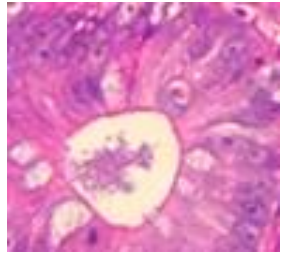
虫体の周辺が
へしゃげている



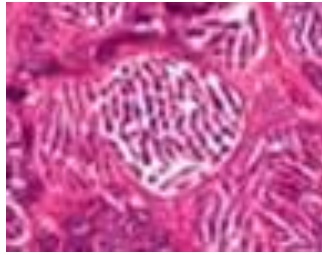
オーシスト

要 約

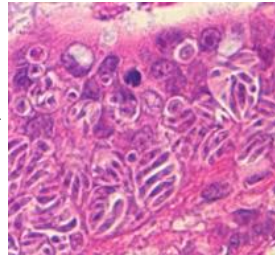
無性生殖



1 代目
シizont



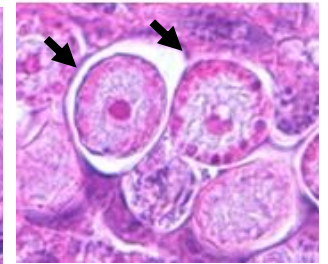
2 代目
シizont



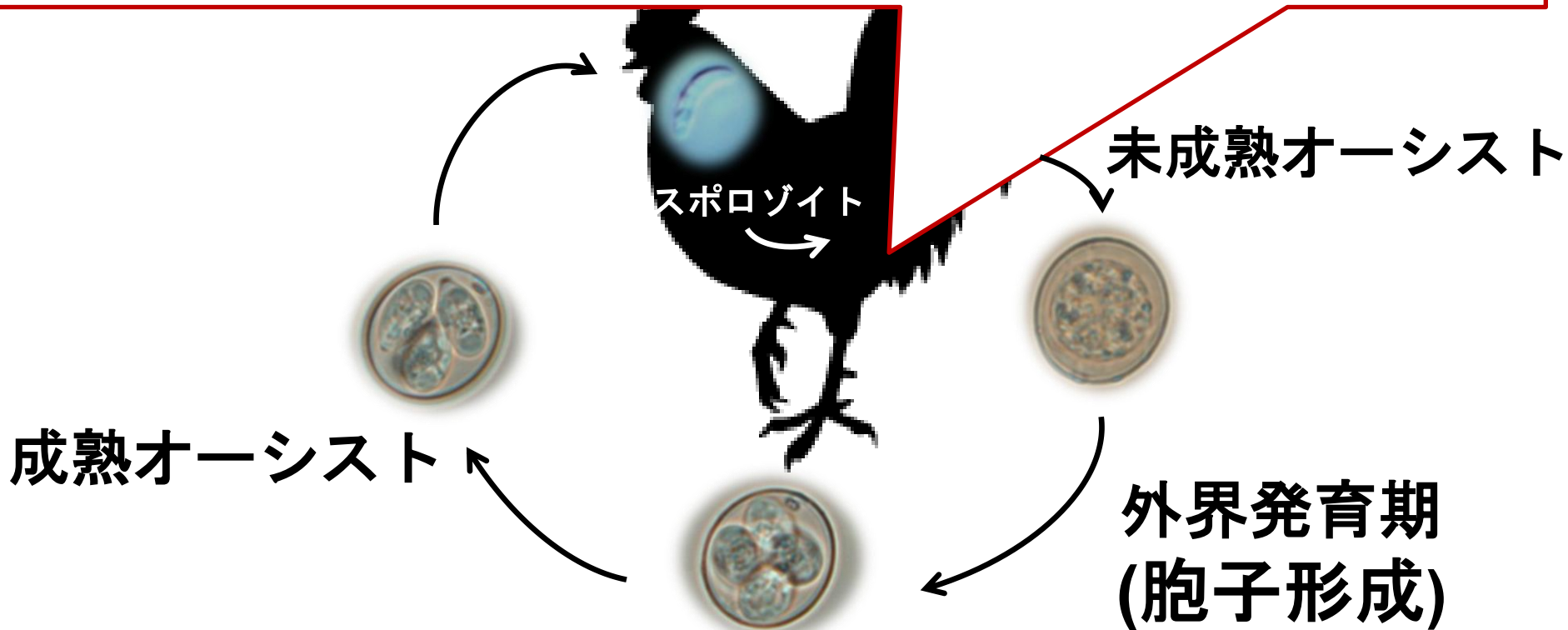
3 代目
シizont



ミクロガメト
サイト(♂)



マクロガメト
サイト(♀)



まとめ

| 日目 | 無性生殖期 | | | 有性生殖期 | |
|----|-------|-----|-----|--------|-------|
| | 1代目 | 2代目 | 3代目 | ガメトサイト | オーシスト |
| 1 | | | | | |
| 2 | + | | | | |
| 3 | + | ++ | | | |
| 4 | | +++ | ++ | | |
| 5 | | + | +++ | +++ | + |
| 6 | | | + | ++ | +++ |
| 7 | | | | ++ | ++ |

血便

粘膜固有層



深部

中部

浅部

(軽度, 3代目から)

その他の*Eimeria* 種については？

| 異常便 | 臨床症状 | ニワトリの アイメリア種 (全7種) | シゾントの大きさと 寄生部位 (μm) |
|----------|---------------|--|---|
| 異常便排出なし | 増体や 体重減少 | <i>E. praecox</i> <i>E. mitis</i> | 不明 11.3 (上皮細胞) |
| 軟便や下痢 | 脱水、消瘦 沈鬱など | <i>E. acervulina</i> <i>E. brunetti</i> <i>E. maxima</i> | 10.3 (上皮細胞) 30.0 (粘膜深層か) 9.4 (上皮細胞) |
| 粘血便 / 血便 | 死亡 | <i>E. necatrix</i> <i>E. tenella</i> | 65.9 (粘膜深層か) 54.0 (粘膜深層か) |

本当にそうなのか？
(免疫のはなし)

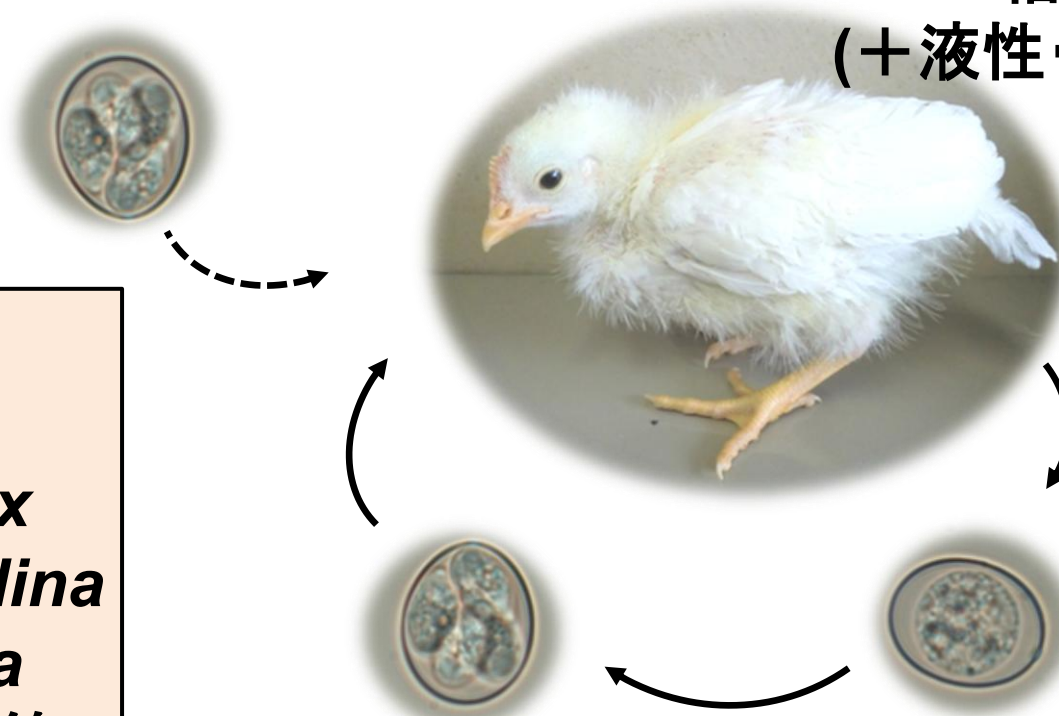
生ワクチン

(ブロイラー等の平飼鶏を対象)

粘膜免疫
(+液性・細胞性免疫)

生ワクチン

- *E. tenella*
- *E. necatrix*
- *E. acervulina*
- *E. maxima*
- *E. mitis* 等

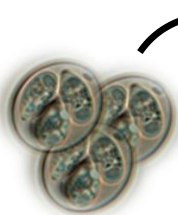


早熟化した弱毒株

免疫賦与のため再度の感染が必要
(*この間、抗コクシジウム剤の使用不可)

早熟化弱毒株について

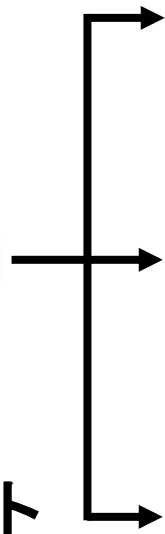
早熟化方法



強毒株



プレパテント
ピリオド



6日目



7日目



8日目

パテント
ピリオド

早期排出オーシストのみ
選択的に回収



.....
.....

数十代継代



早熟弱毒株

弱毒株の特徴（生活環）

無性生殖期

強毒株

| | | | | |
|------------|-----|-----|-----|----------|
| スポロ ゾイト | 1st | 2nd | 3rd | 有性 生殖 |
|------------|-----|-----|-----|----------|

→ オーシ
スト

弱毒株
仮説①

| | | | | |
|--|------|--|------|----------|
| | 1st? | | 3rd? | 有性 生殖 |
|--|------|--|------|----------|

弱毒株
仮説②

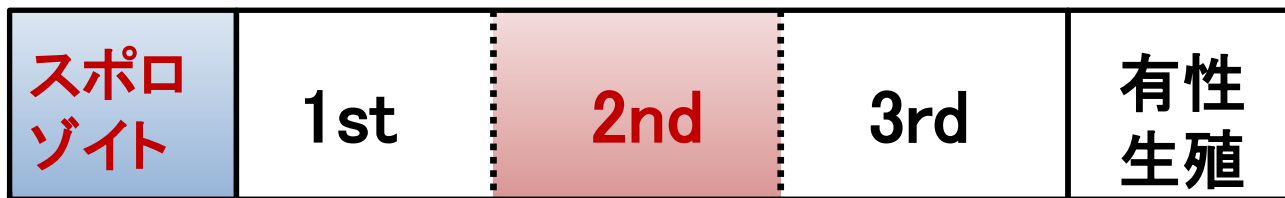
| | | | | |
|--|---|--|---|----------|
| | ? | | ? | 有性 生殖 |
|--|---|--|---|----------|



弱毒株の特徴（生活環）

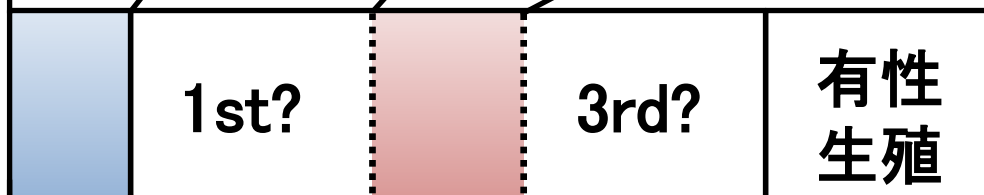
無性生殖期

強毒株



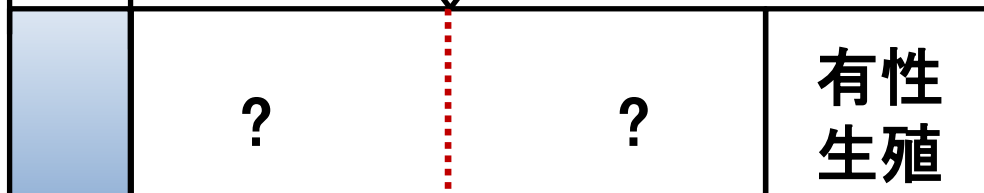
→ オーシスト

弱毒株
仮説①



短縮?

弱毒株
仮説②



欠落?

?

【材料と方法】

E. tenella 強毒株 (0代目)

1-2週齢の雛 8-10 羽に投与
⇒ 早期排出オーシスト
⇒ 雛に投与

繰り返す



0～20代まで継代

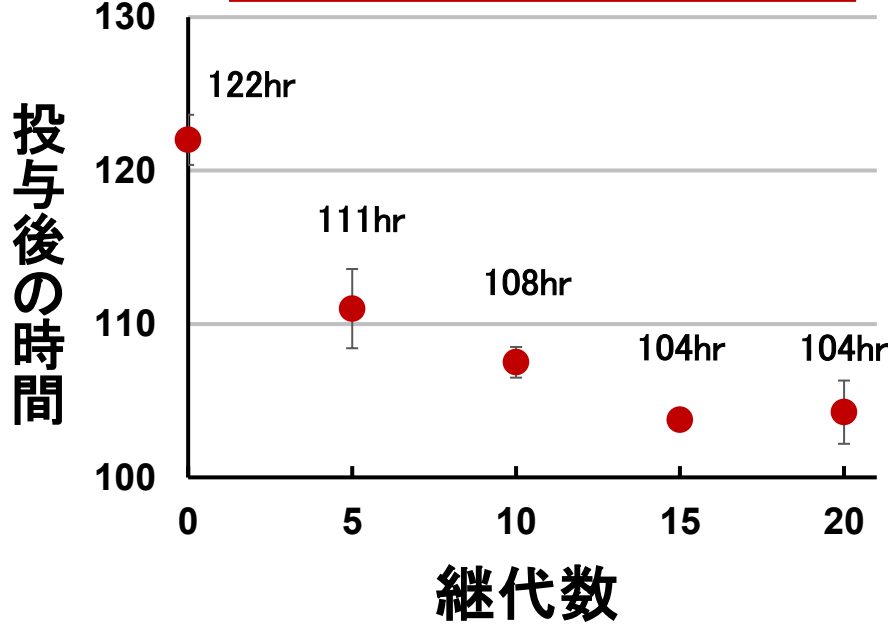
{ 排出までの期間 (プレパテント)
1g当たりのオーシスト数(OPG)
盲腸の組織切片を観察



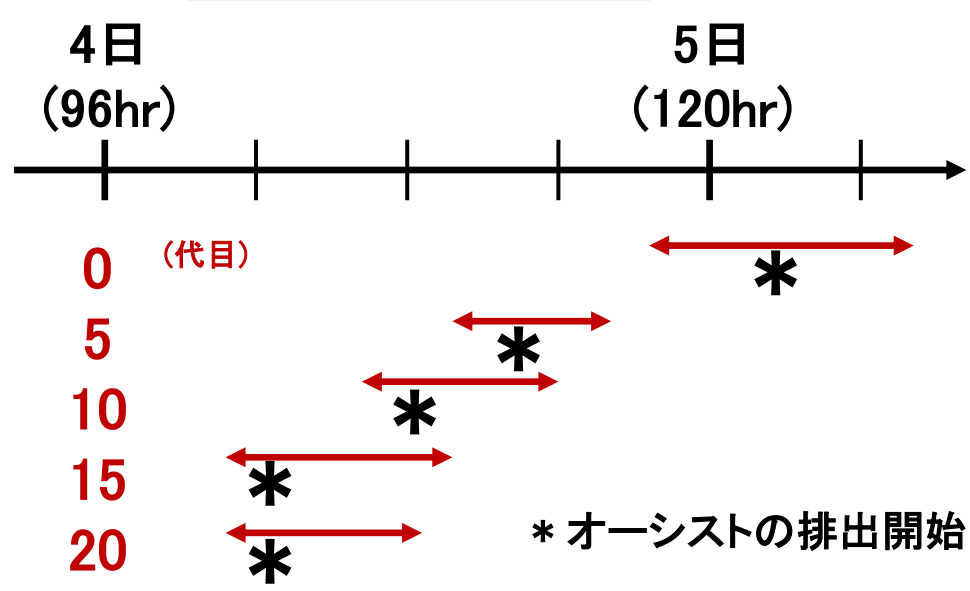
感染鶏舎

結果

排出期間の推移
(プレパテントピリオド)

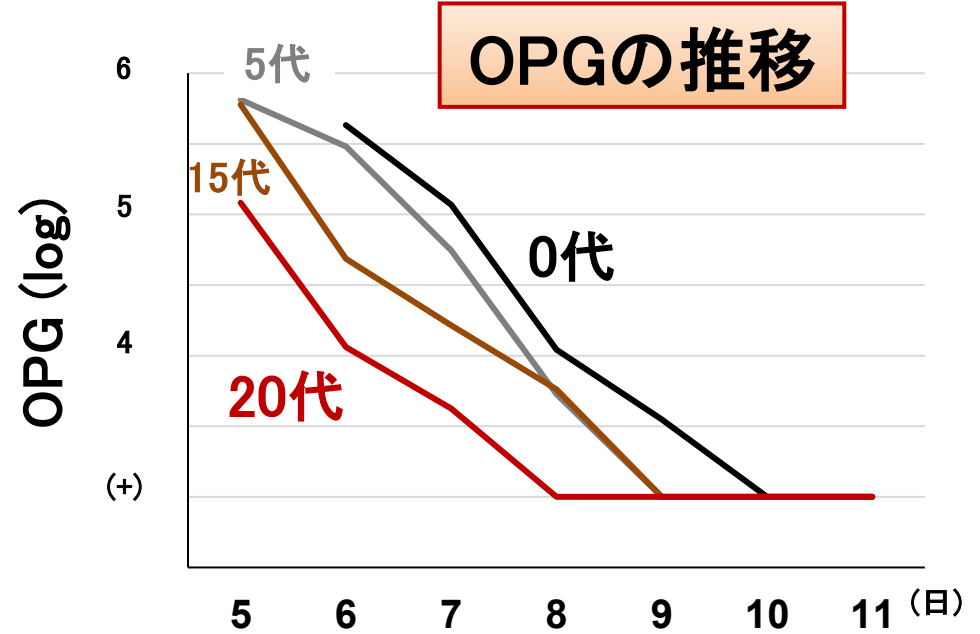


糞便回収期間



臨床症状
10代目以降血便は消失
死亡鶏の出現なし

OPGの推移



生活環の比較

| 時間 | 無性生殖期 | | | | | | | | | 有性生殖期 | | |
|------------|--------|-----|-----|--------|-----|-----|--------|-----|-----|----------------|-------------|-------------|
| | 1代目シゾン | | | 2代目シゾン | | | 3代目シゾン | | | ガメート/ オーシスト | | |
| | 強毒 | 10代 | 20代 | 強毒 | 10代 | 20代 | 強毒 | 10代 | 20代 | 強毒 | 10代 | 20代 |
| 48 | + | + | +++ | | | | | | | | | |
| 60 | + | ++ | ++ | + | ++ | +++ | | | | | | |
| 72 | + | + | + | ++ | ++ | +++ | | | + | | | |
| 84 | | + | | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ | +++ | | | |
| 96 | | | | +++ | + | + | +++ | +++ | +++ | | | |
| 120 | | | | + | + | | + | + | + | +++/ + | +++/ +++ | +++/ +++ |
| 炎症 (hr) | | | | 96 | 96 | 72 | | | | | | |

【1切片あたりの虫体群数をカウント】

+ ; 1~10、++ ; 10 ~ 30、+++ ; 30以上

【炎症】偽好酸球やリンパ球等の浸潤

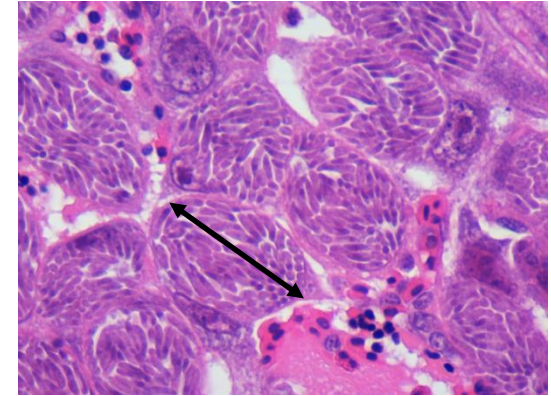
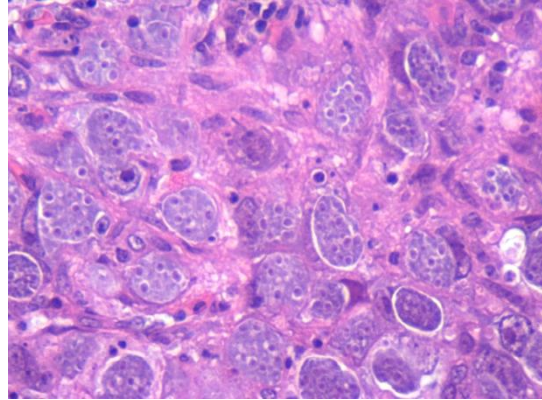
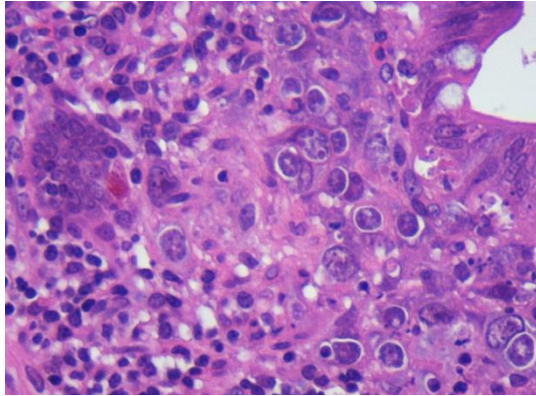
第2代シゾントの形態変化

72hr

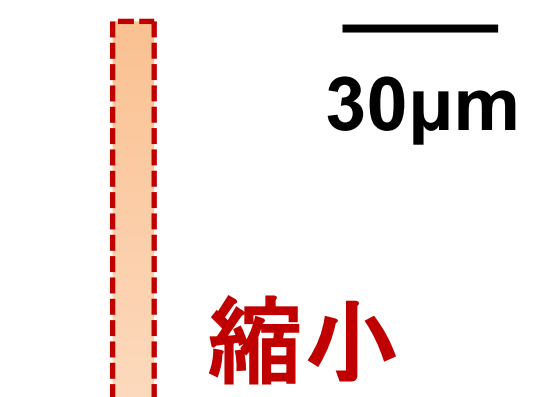
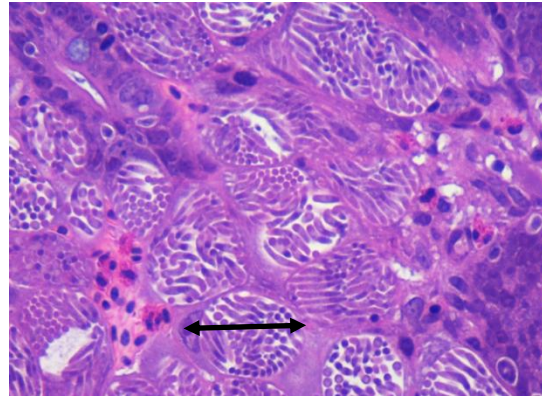
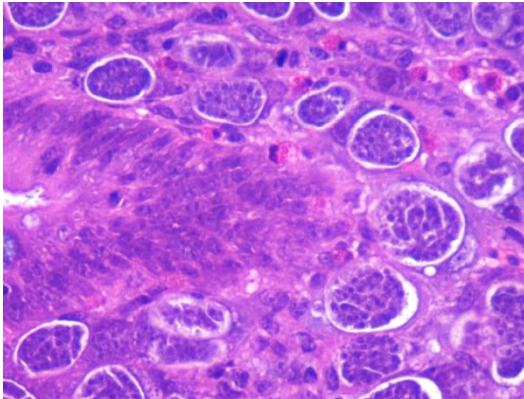
84hr

96hr

強毒



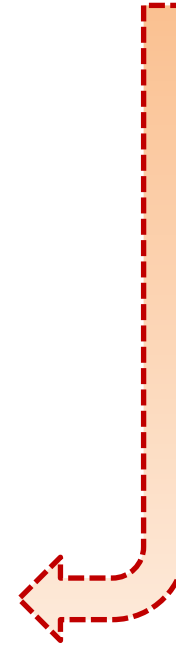
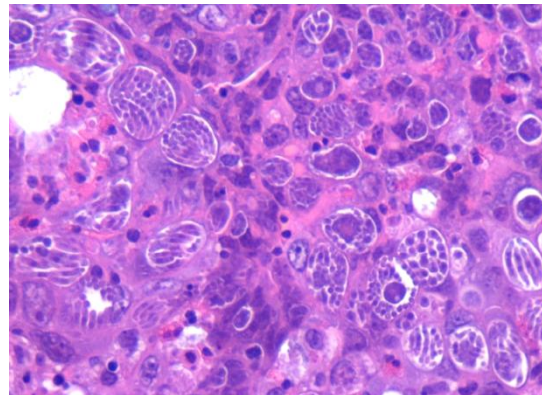
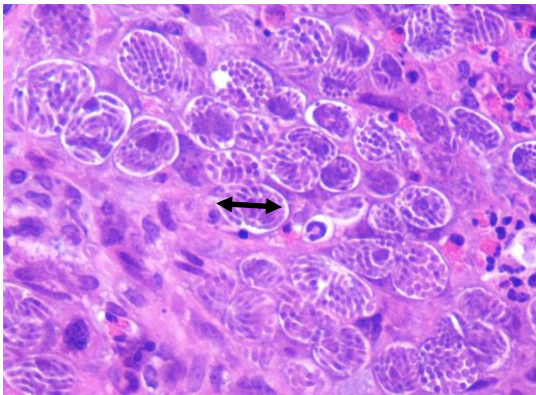
10代



30μm

縮小

20代



弱毒株の特徴 (生活環)

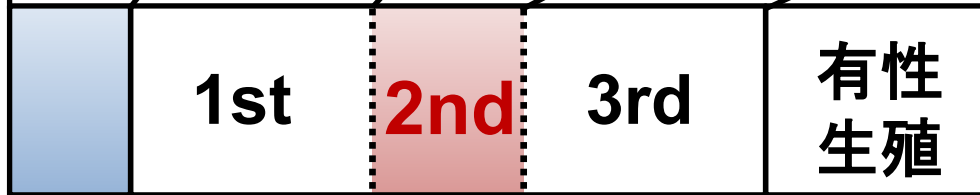
無性生殖期

強毒株



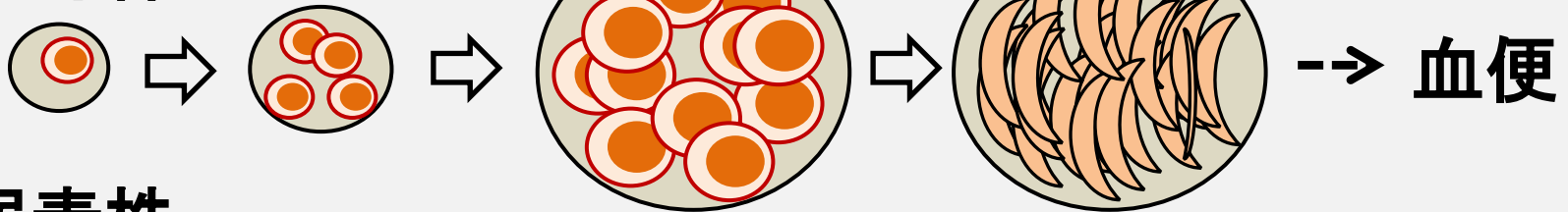
→ オーシスト

弱毒株

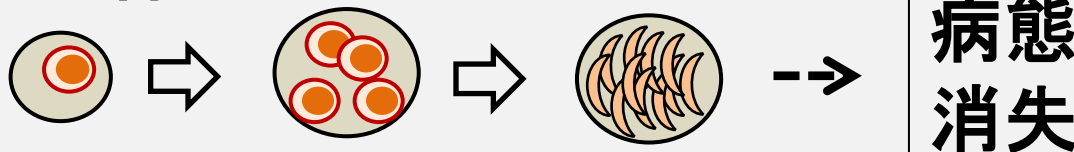


早熟かつ
虫体が縮小

強毒株



弱毒株



ウシのアイメリア種 について

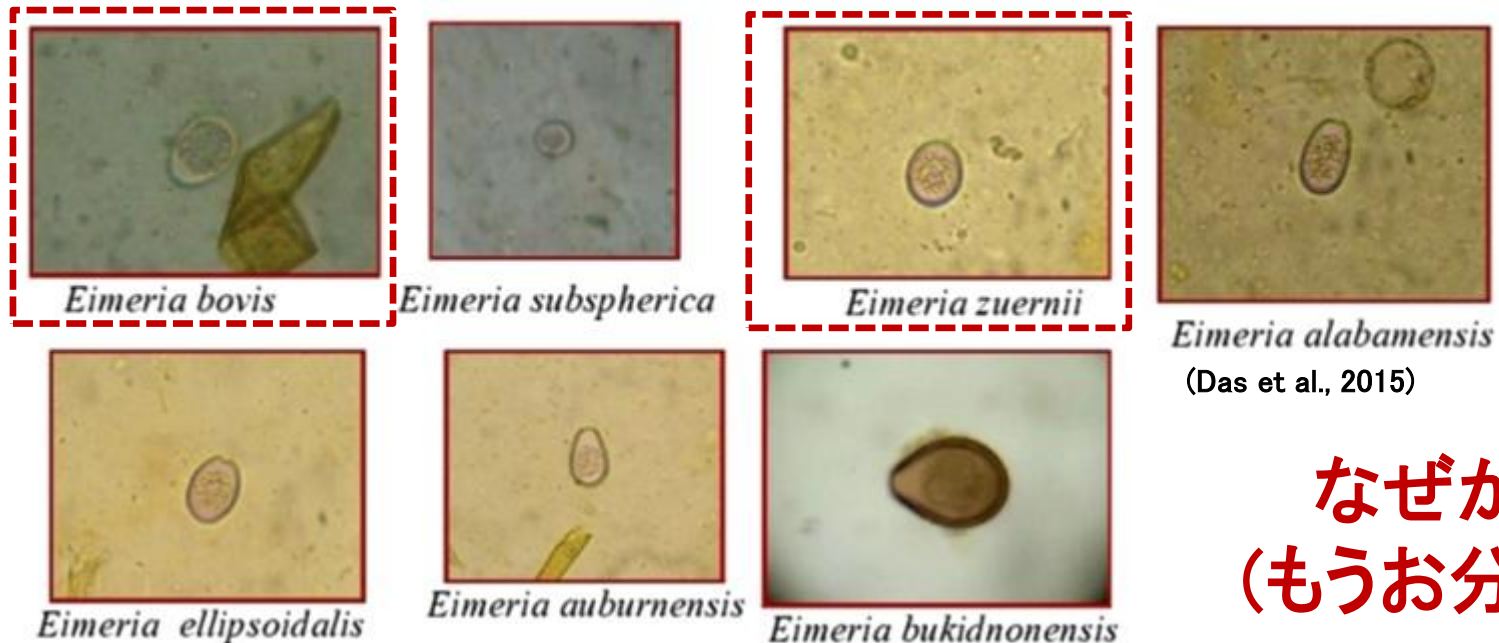
(ニワトリ程よく分かっていない)

ウシのアイメリア種は？

教科書的には14種類（世界的には20種以上）

2013年の我が国での報告 10種 (Kokuzawa et al.)

(一例)



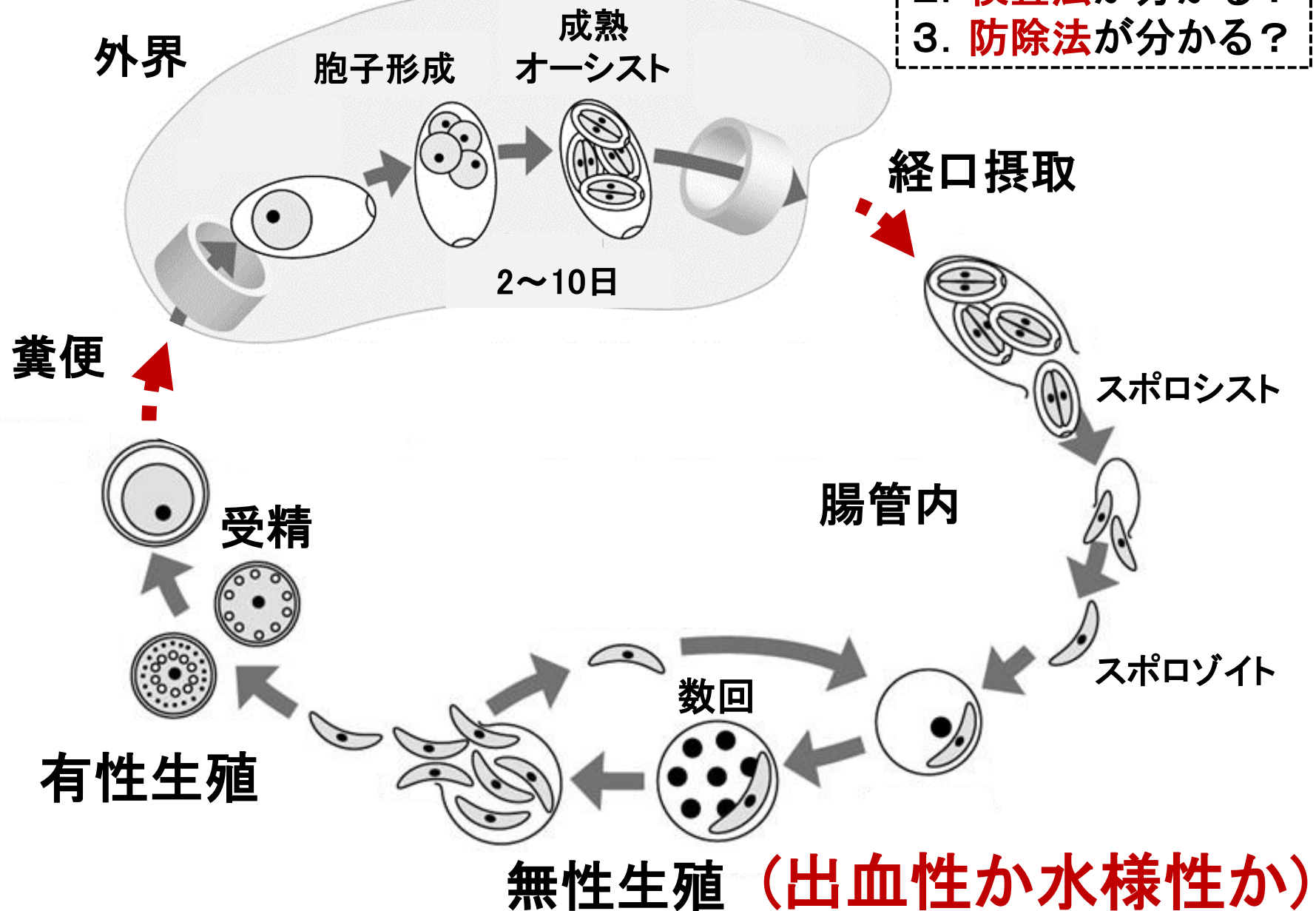
なぜか？
(もうお分かり)

大型種 *E. bovis* と小型種 *E. zuernii* が病原性が高い

(13種は高低はあるが病原性を有するとされる？)

ウシのアイメリア の生活環

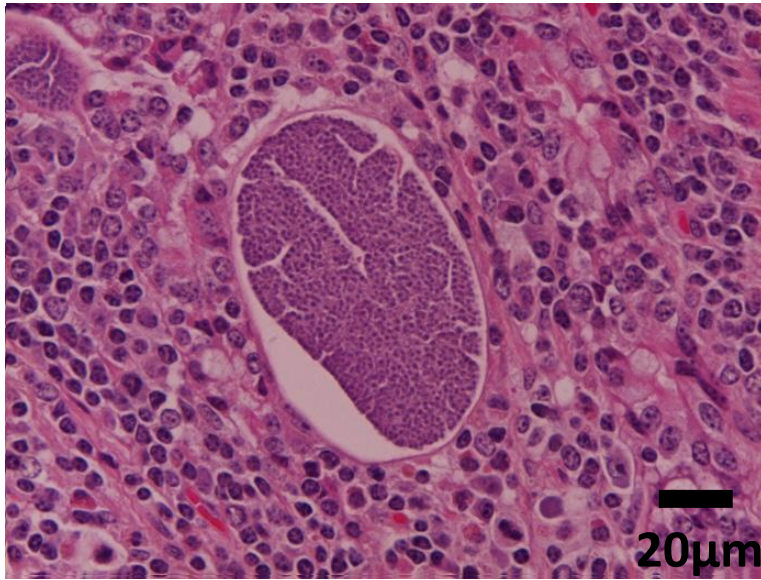
1. **症状**が分かる？
2. **検査法**が分かる？
3. **防除法**が分かる？



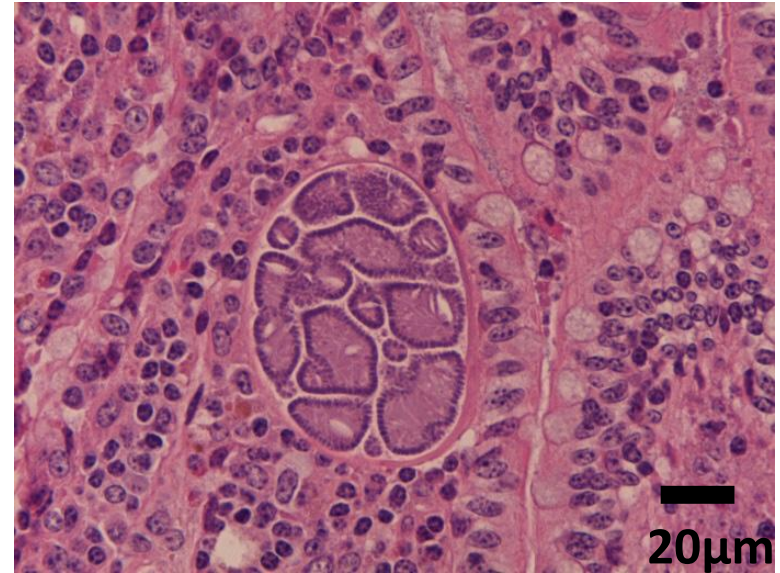
E. bovis の検出事例 (島根県)

(原ら, 家畜診療, 2017)

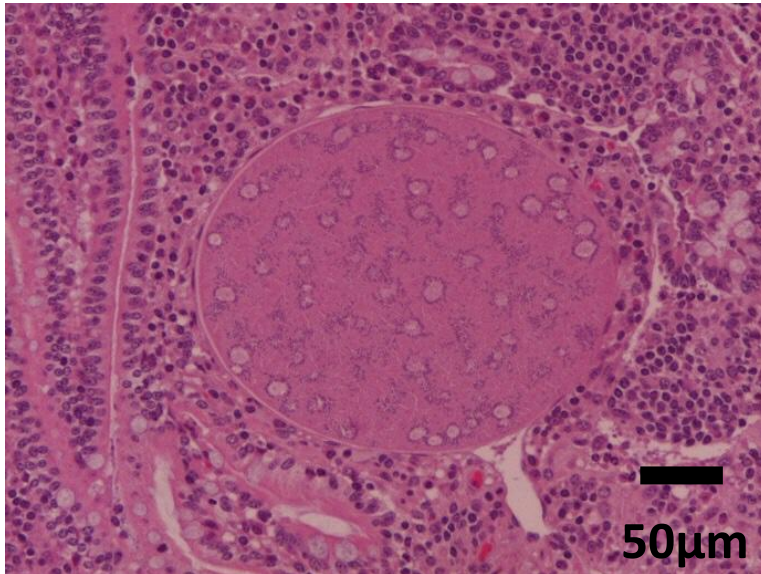
注意; 病態の発現期は
オーシストの排出時期ではない



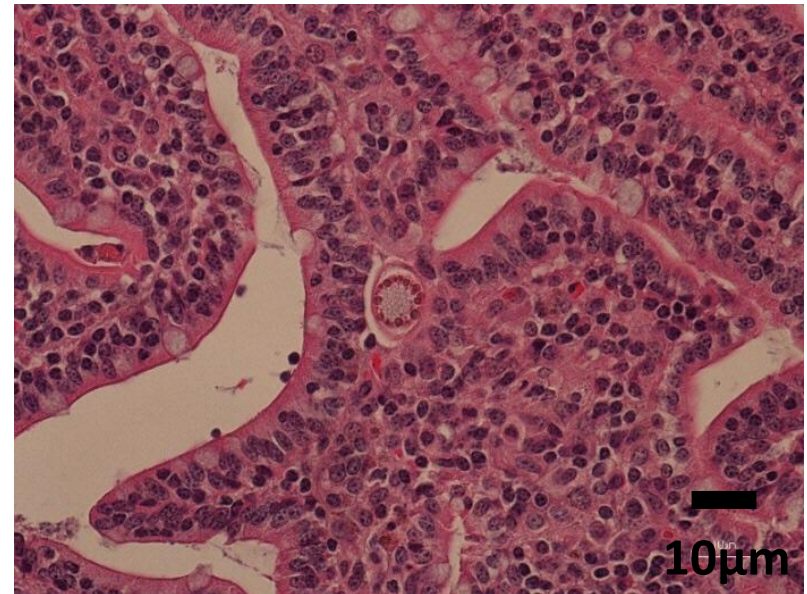
第一代無性生殖世代 (核分裂)



第一代無性生殖世代 (核分裂)

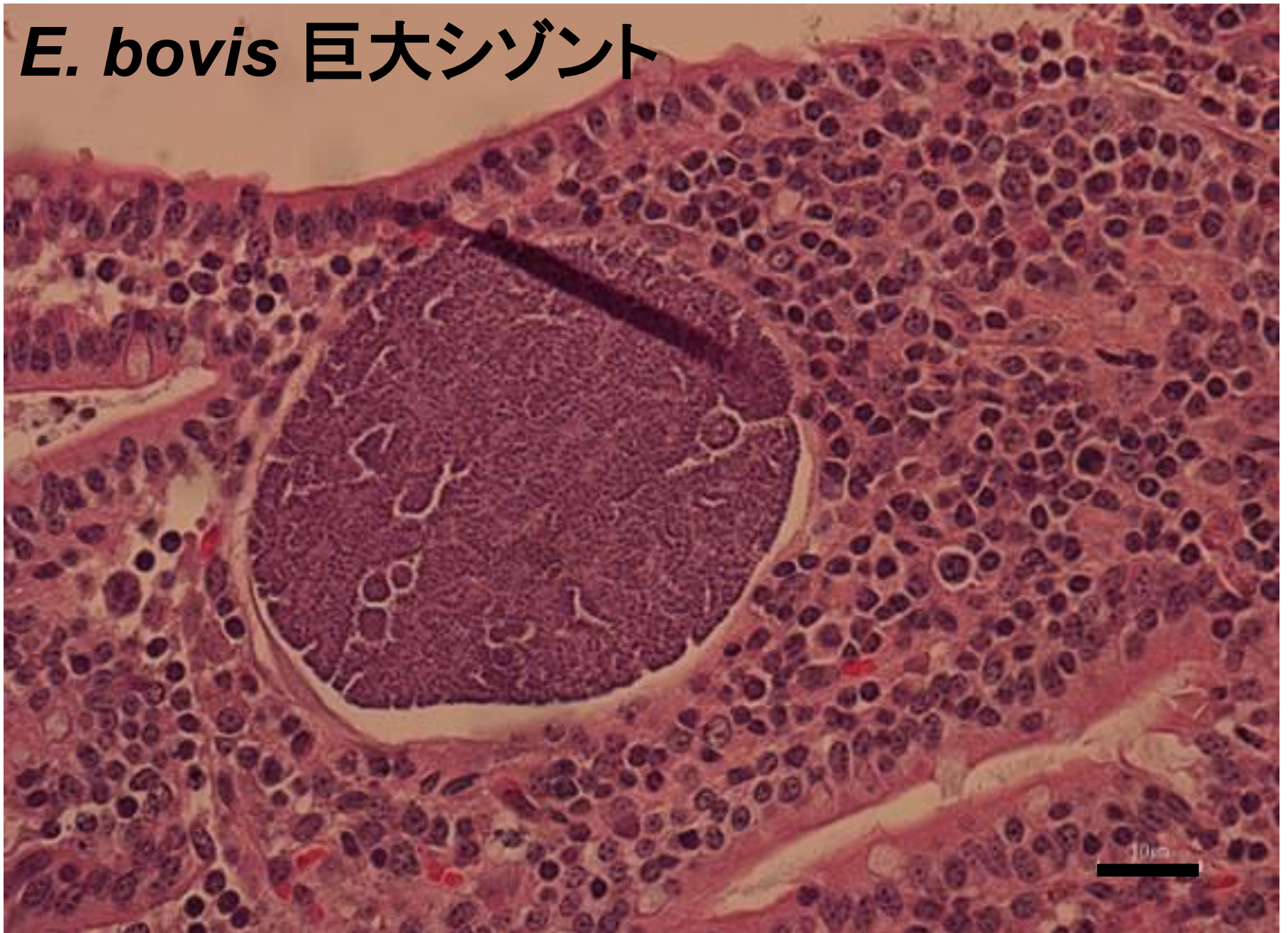


第一代無性生殖世代 (メロゾイト形成)



有性生殖世代 (マクロガメトサイト)

E. bovis 巨大シゾント



10μm

ウシのアイメリア種 (14種)

| <i>Eimeria</i> 種 | プレパテント ピリオド | オーシストの大きさ | | 病原性 |
|--------------------------|----------------|-----------|---------|-----|
| | | 長径 | 短径 | |
| <i>E. bovis</i> | 15 – 20 | 23 – 34 | 17 – 26 | +++ |
| <i>E. zuernii</i> | 15 – 17 | 15 – 22 | 13 – 18 | +++ |
| <i>E. subspherica</i> | 7 – 15 | 9 – 14 | 8 – 13 | ? |
| <i>E. alabamensis</i> | 6 – 11 | 13 – 24 | 11 – 16 | + |
| <i>E. auburnensis</i> | 18 | 32 – 46 | 20 – 25 | ++ |
| <i>E. brasiliensis</i> | ? | 34 – 43 | 24 – 30 | + |
| <i>E. bukidnonensis</i> | 15 | 47 – 50 | 33 – 38 | + |
| <i>E. canadensis</i> | ? | 28 – 37 | 20 – 27 | ? |
| <i>E. cylindrica</i> | ? | 16 – 27 | 12 – 15 | + |
| <i>E. ellipsoidallis</i> | 8 | 20 – 26 | 13 – 17 | ? |
| <i>E. illinoisensis</i> | ? | 24 – 29 | 19 – 22 | ? |
| <i>E. pellita</i> | ? | 36 – 41 | 26 – 30 | ? |
| <i>E. wyomingensis</i> | 14 – 15 | 37 – 45 | 26 – 31 | ++ |
| <i>E. mundaragi</i> | 比較的長い | 36 – 38 | 25 – 38 | ? |

牛舎の位置関係と*Eimeria* 陽性牛

林/
竹藪

道
路

乾乳牛舎

| | |
|------|--|
| 8778 | |
| 0669 | |
| 6528 | |
| 1115 | |

仔牛ハッチ

| | |
|------|--|
| 1222 | |
| 1226 | |
| | |
| | |
| 和牛 | |

| | | |
|------|--|-------|
| 1113 | | |
| 2997 | | 1153 |
| 4872 | | 1110 |
| 9165 | | |
| 4877 | | 1088 |
| 4900 | | 1130 |
| 1059 | | 9137 |
| 1148 | | 1070 |
| 1051 | | 1514 |
| 1069 | | 1052 |
| 1068 | | |
| 1083 | | |
| 1826 | | |
| 9147 | | 0813 |
| 1106 | | |
| 9146 | | 1832 |
| 9150 | | |
| 1096 | | 13323 |
| 1081 | | 9164 |
| 1811 | | 7183 |
| 4701 | | 1053 |
| 0536 | | 1062 |
| 3106 | | 1831 |
| 1031 | | 8778 |
| 4707 | | 9867 |
| 4481 | | |

| | |
|------|------|
| 1170 | 育成牛舎 |
| 1178 | |
| 1181 | |
| 1190 | |
| 1187 | |
| 1157 | |
| 1178 | |
| 1185 | |
| 1179 | |
| 1169 | |

搾乳牛舎

牛舎の位置関係と*Eimeria* 陽性牛

林/
竹藪

道
路

乾乳牛舎

| | |
|------|--|
| 8778 | |
| 0669 | |
| 6528 | |
| 1115 | |

仔牛ハッチ

| | |
|------|--|
| 1222 | |
| 1226 | |
| | |
| | |
| 和牛 | |

| | | |
|------|--|-------|
| 1113 | | |
| 2997 | | 1153 |
| 4872 | | 1110 |
| 9165 | | |
| 4877 | | 1088 |
| 4900 | | 1130 |
| 1059 | | 9137 |
| 1148 | | 1070 |
| 1051 | | 1514 |
| 1069 | | 1052 |
| 1068 | | |
| 1083 | | |
| 1826 | | |
| 9147 | | 0813 |
| 1106 | | |
| 9146 | | 1832 |
| 9150 | | |
| 1096 | | 13323 |
| 1081 | | 9164 |
| 1811 | | 7183 |
| 4701 | | 1053 |
| 0536 | | 1062 |
| 3106 | | 1831 |
| 1031 | | 8778 |
| 4707 | | 9867 |
| 4481 | | |

| | |
|------|------|
| 1170 | 育成牛舎 |
| 1178 | |
| 1181 | |
| 1190 | |
| 1187 | |
| 1157 | |
| 1178 | |
| 1185 | |
| 1179 | |
| 1169 | |

搾乳牛舎

近年の話題;ウシの核内コクシジウム症

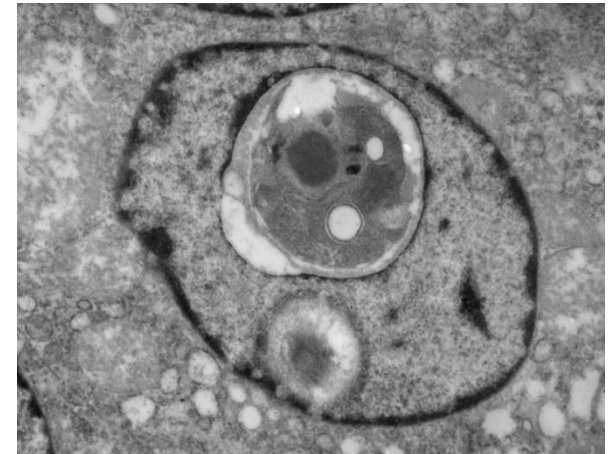
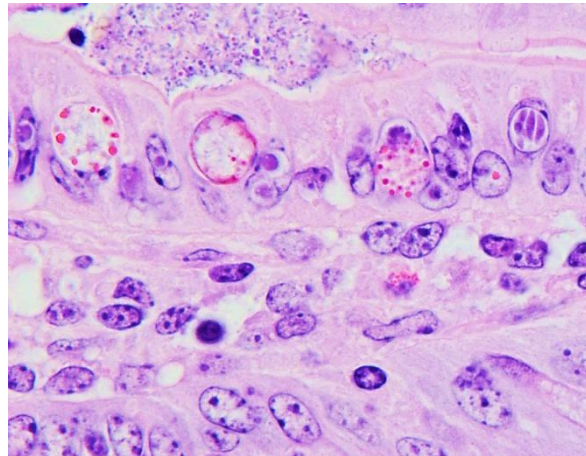
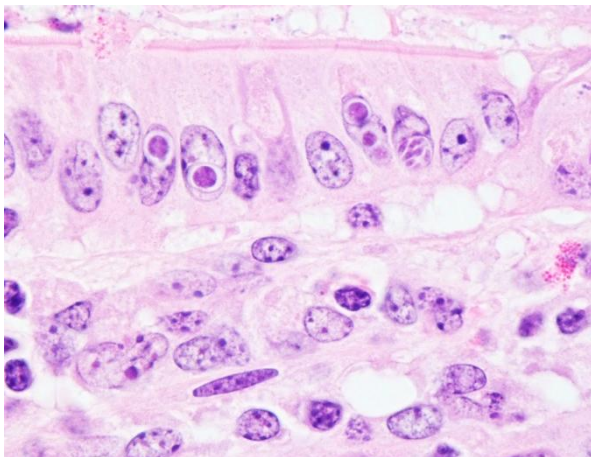
鹿児島県

10カ月齢子牛。体重約200kgと削瘦、
被毛粗剛、緑色水様性便を呈する

小腸はゴムホース状に腫脹。
腸管膜リンパ節(矢印)は腫大

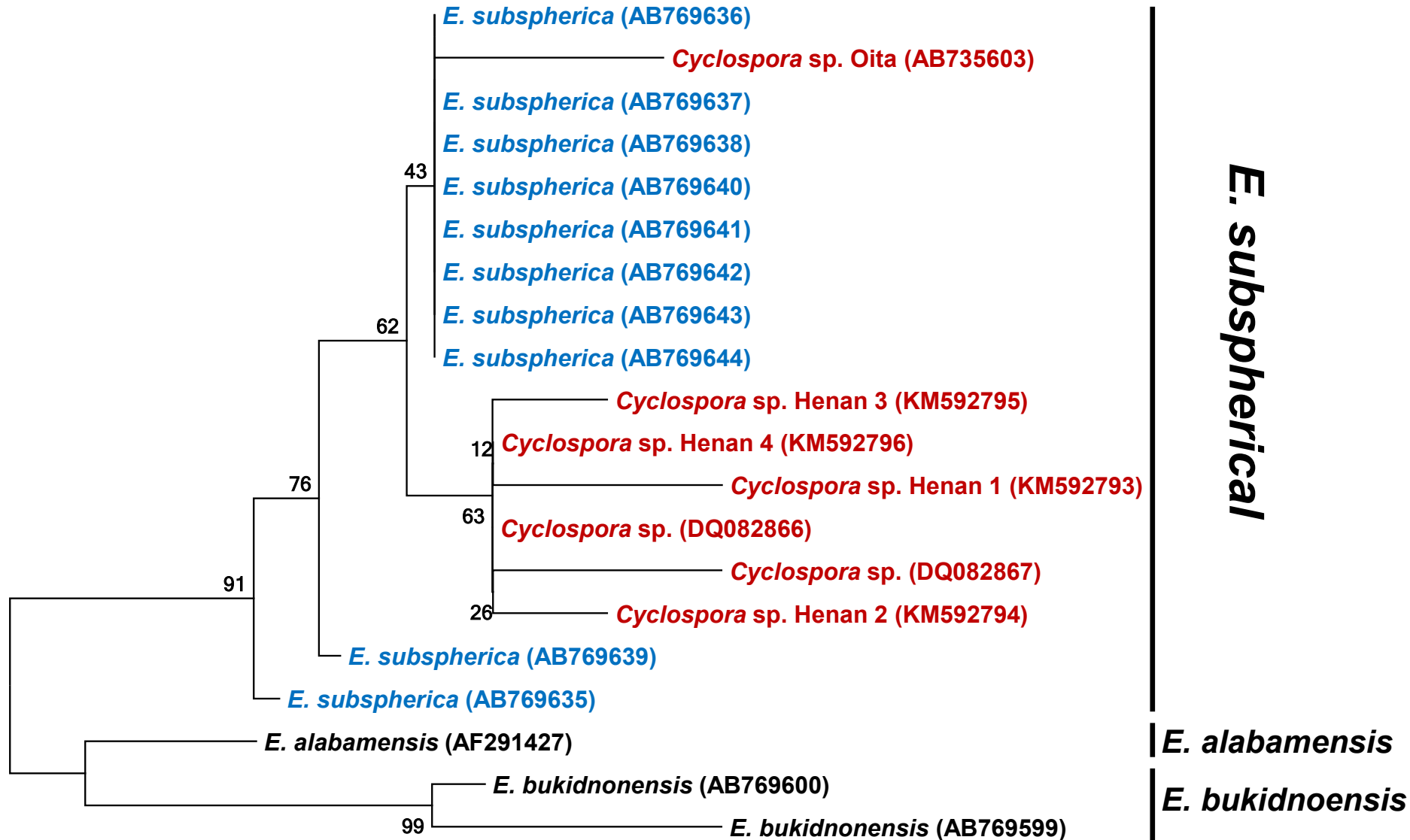
ウシの核内コクシジウム症

核内コクシジウム



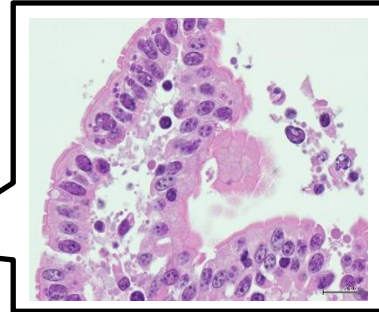
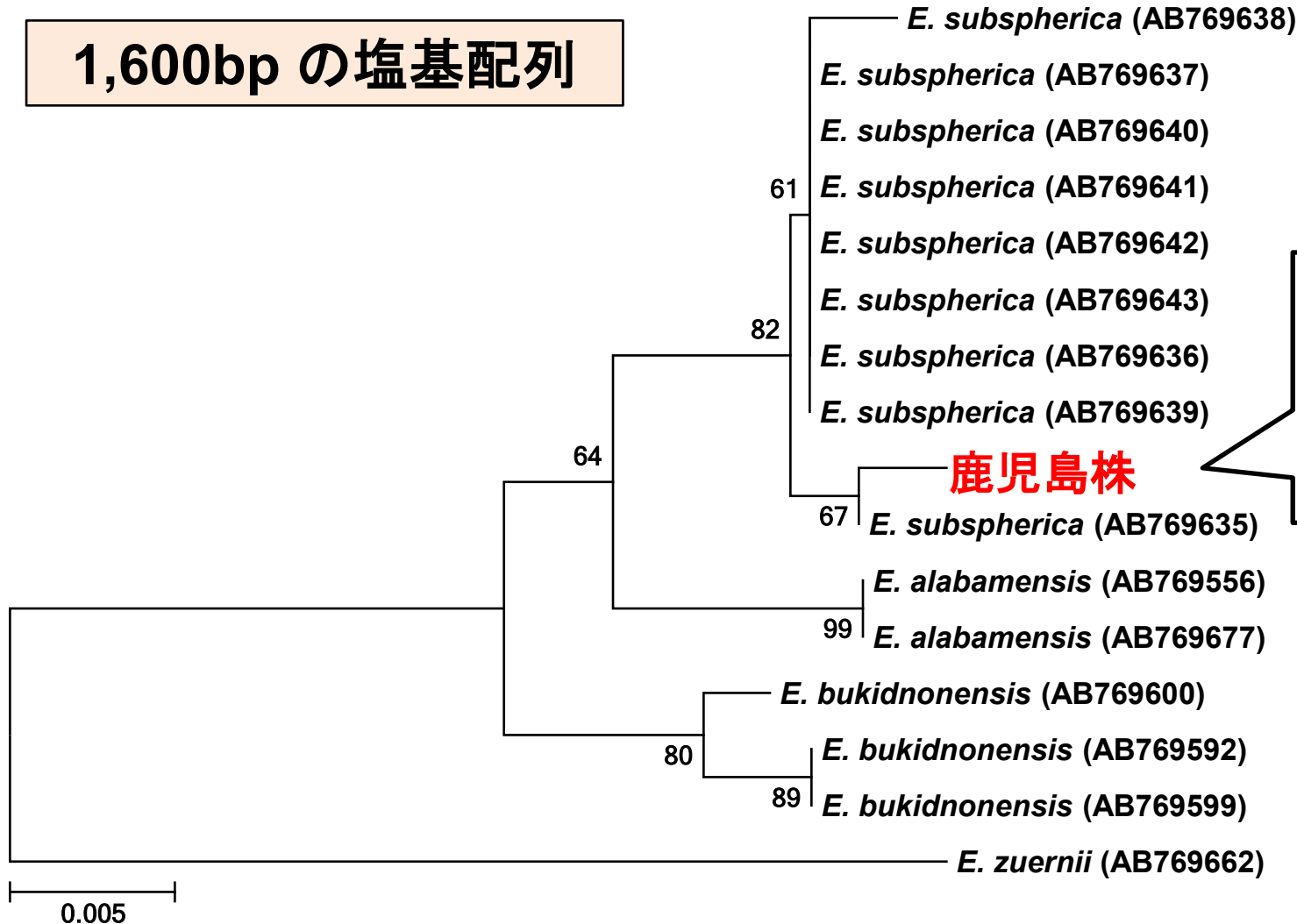
電顕写真

(500bp の塩基配列) 系統樹解析 1



系統樹解析 2

1,600bp の塩基配列



E. subspherica は新たな核内コクシジウムである牛
Cyclospora は、*E. subspherica* である可能性

ウシの核内コクシジウム症

【核内コクシジウムの特徴（現時点）】

- ・病変は小腸
- ・慢性下痢；水様性下痢、軟便が3週間～半年以上繰り返す
- ・発育不良（6-15ヶ月齢で多発か？九州地方が多い？）
- ・難治性であり、消瘦を呈する
- ・家保で実施される慢性下痢症等の原因となる細菌やウイルスは陰性
- ・死亡事例はないが、殺処理が行われる場合が多い
- ・肺炎、腎炎、水頭無脳症の合併が報告

牛の *Eimeria* オーシスト模式図

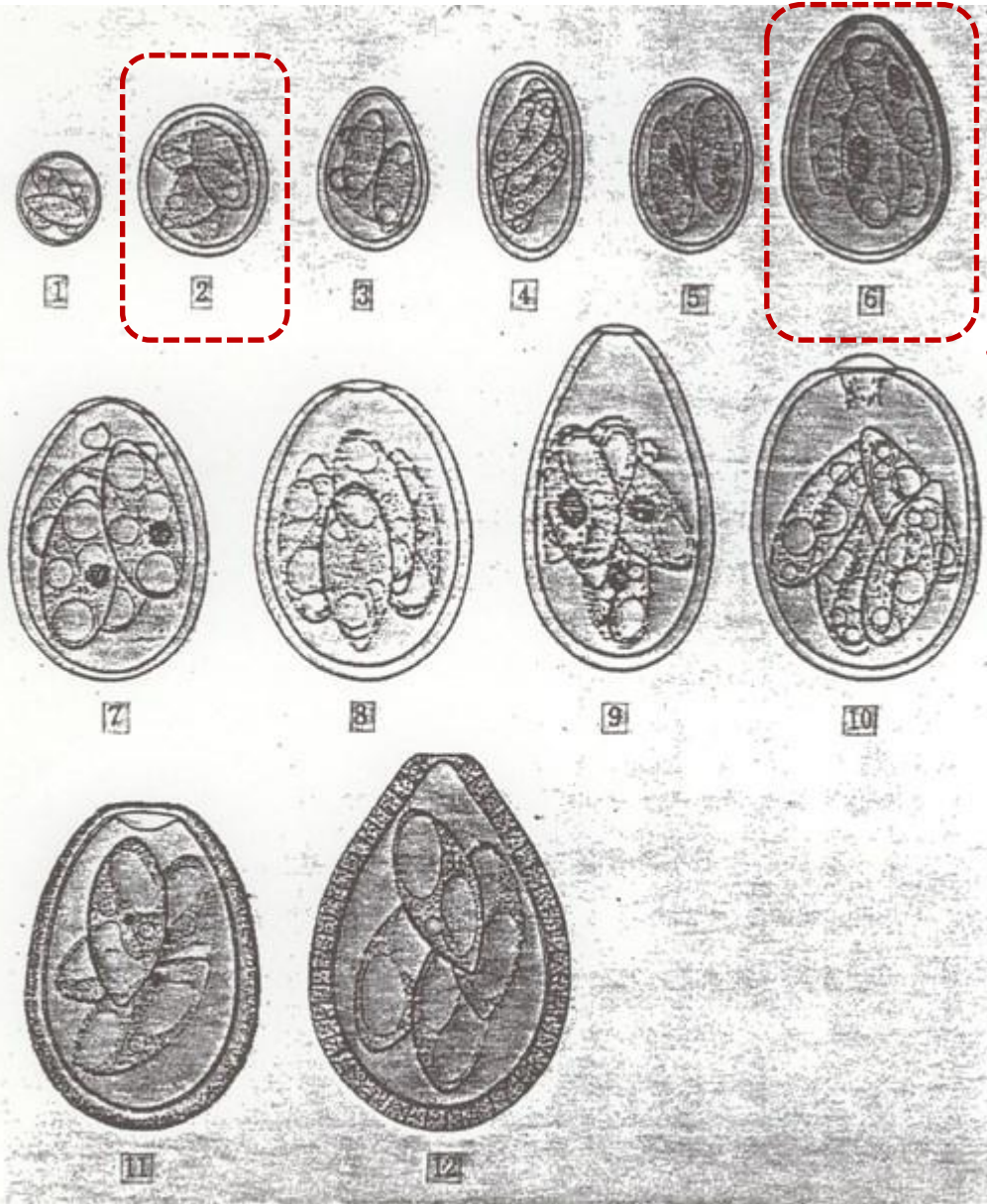


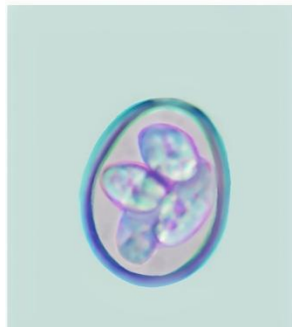
図 1 牛の各種コクシジウムのオーシスト

- | | | |
|--------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| 1. <i>E. subspherica</i> | 5. <i>E. ellipsoidalis</i> | 9. <i>E. auburnensis</i> |
| 2. <i>E. zuernii</i> | 6. <i>E. bovis</i> | 10. <i>E. brasiliensis</i> |
| 3. <i>E. alabamensis</i> | 7. <i>E. canadensis</i> | 11. <i>E. pellita</i> |
| 4. <i>E. cylindrica</i> | 8. <i>E. wyomingensis</i> | 12. <i>E. bukidnonensis</i> |

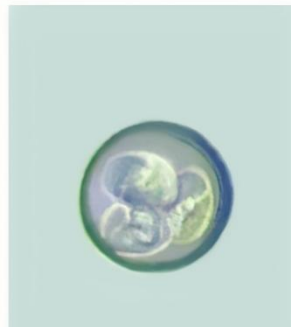
Eimeria bovis



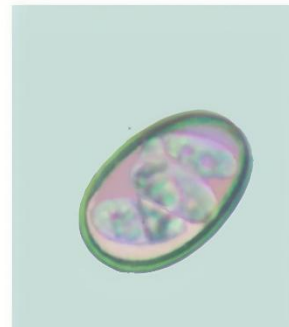
牛の *Eimeria* オーシスト模式図



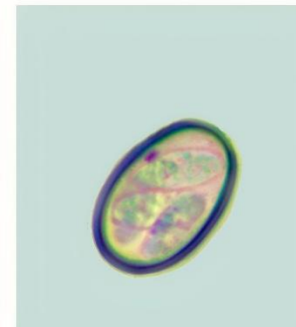
E. bovis



E. zuernii



E. ellipsoidalis



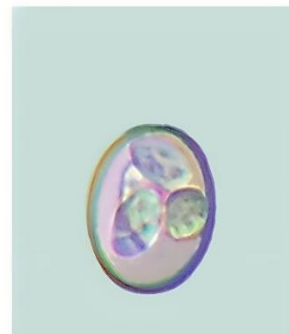
E. cylindrica



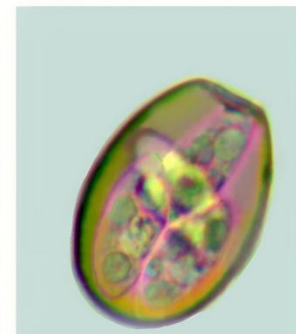
E. subspherica



E. auburnensis



E. alabamensis



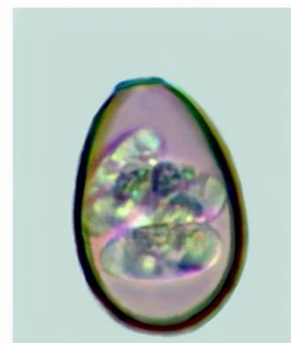
E. canadensis



E. bukidnonensis



E. wyomingensis



E. brasiliensis

(Santos et al., 2022)

オーシストの形態だけで種の鑑別は可能か？

理由；

1. 混合感染が多い
2. 常に横向きとは限らない
3. 形態的に幅があり、
種内でも完全に同一でない
4. 別種間でも類似する

過去に形態で判別できると言った先生はいらしたが・・・

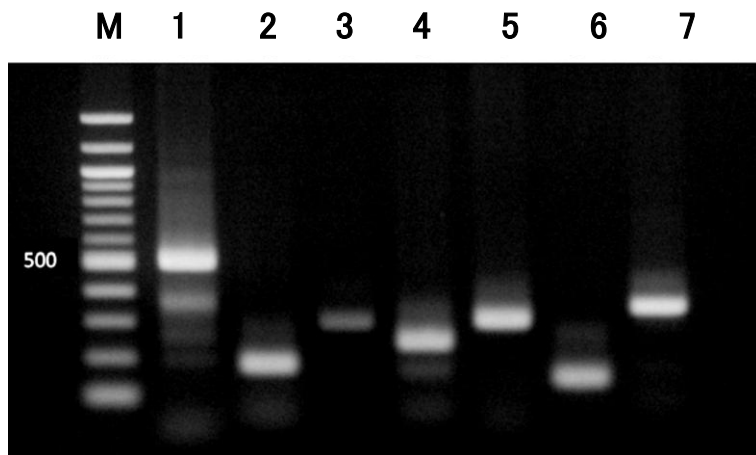
5. 未成熟オーシストではさらに困難

では、どうすれば良いのか？

遺伝子解析の一例

| Species | Primer sequences (5'–3') | | Expected product size (bp) |
|--------------------------|--------------------------|-------------------------|----------------------------|
| | Forward | Reverse | |
| 1. Genus-common | gcaaaagtcgtaacacggtttccg | ctgcaattcacaatgcgtatcgc | 348–546 |
| 2. <i>E. alabamensis</i> | cattcacacattgttctttcag | gcttccaaactaatgttctg | 184 |
| 3. <i>E. auburnensis</i> | taaattggtgcatgagggga | gcaatggagaaagatttaata | 295 |
| 4. <i>E. bovis</i> | tcataaaacatcacctccaa | ataattgcatgataaggagaca | 238 |
| 5. <i>E. cylindrica</i> | gacatttaaaaaaccgattggt | ggctgcaataagatagacata | 304 |
| 6. <i>E. ellipsoidal</i> | caacgttttcttttcttatca | actgcatgagagagagacg | 148 |
| 7. <i>E. zuernii</i> | aacatgtttctaccactac | cgataaggaggaggacaac | 344 |

(Kawahara et al., 2010)



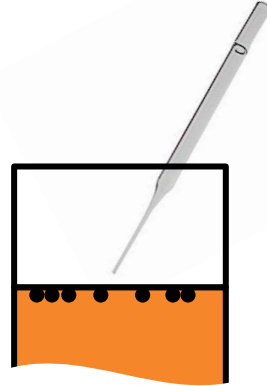
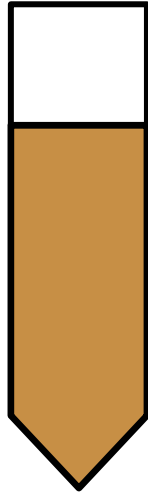
それぞれの特異Primer でPCR
(1検体6種以上のチューブが必要; 面倒?)

遺伝子検査には、
実はコツがいる

遺伝子解析: 鋳型DNAの調整



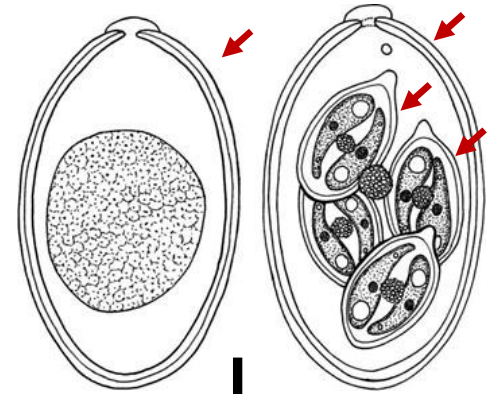
オーシストを濃縮



ショ糖等を加えて遠心し、
上清を回収する



・DWでの浮遊より
PBSが好ましい



オーシスト壁を破壊
凍結融解法
ビーズ破碎方 etc.

($>10^3$ 以上)

直接、便からDNAを精製
(キアゲンやDNAzol等)
ただし、オーシスト含量が少ない

手技により常にPCRで陽性とは限らない
(検出感度は浮遊法が一番高い?)

種の鑑別の利点は？

オーシストが検出された場合
その牛（農家）でどのような症状を起こす
Eimeria 種が存在しているかを特定できる

○ *E. bovis*、*E. zuernii*

⇒ 病原性が高い原虫種が感染している
またはその農場内に存在する。

○ *E. subspherical* (*E. alabamensis*)

⇒ 難治性核内コクシジウム

○ 他の *Eimeria* 種

⇒ 高病原性が高い種は含まれない？

解析例を紹介（ちょっと小休憩）

ウシでのアイメリアの症状

【症状】

- ・ **急性**コクシジウム症
重度の下痢、粘血便、腹痛 (痙攣)、
貧血、元氣消失、食欲不振、衰弱、死亡
- ・ **慢性**コクシジウム症
軟便、下痢、元氣消失、食欲不振、
体重減少、発育不良、自然回復もある

【経済的ダメージ】

- ・ 診療および治療費、増体不良、致死など
治療後のディスバイオシス?(腸内細菌叢の乱れ)

コクシジウムの診断方法

『虫体』の検出

①糞便

シヨ糖浮遊法等によるオーシストの検出

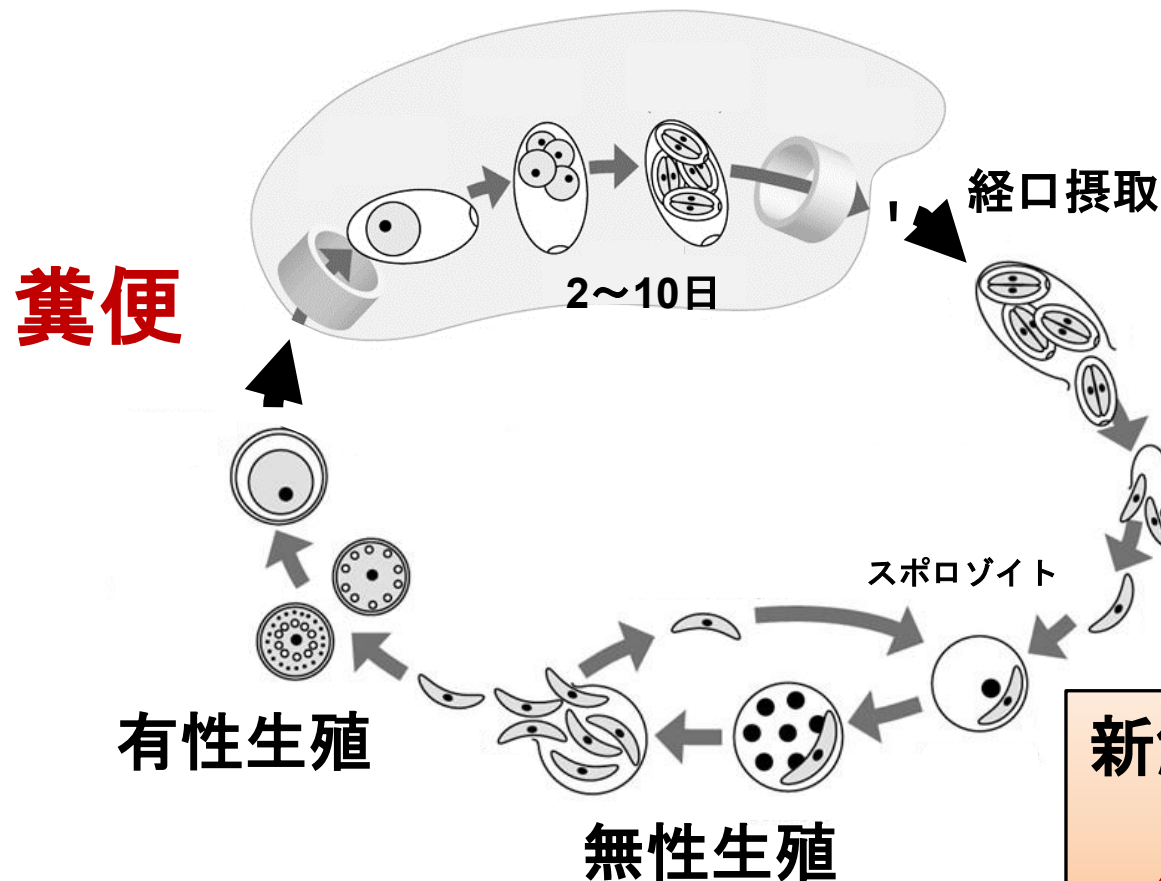
注意；個体が感染してても、発育途中のため
オーシストが検出されない場合もある

②組織切片

発育期虫体 (有性・無性生殖期)

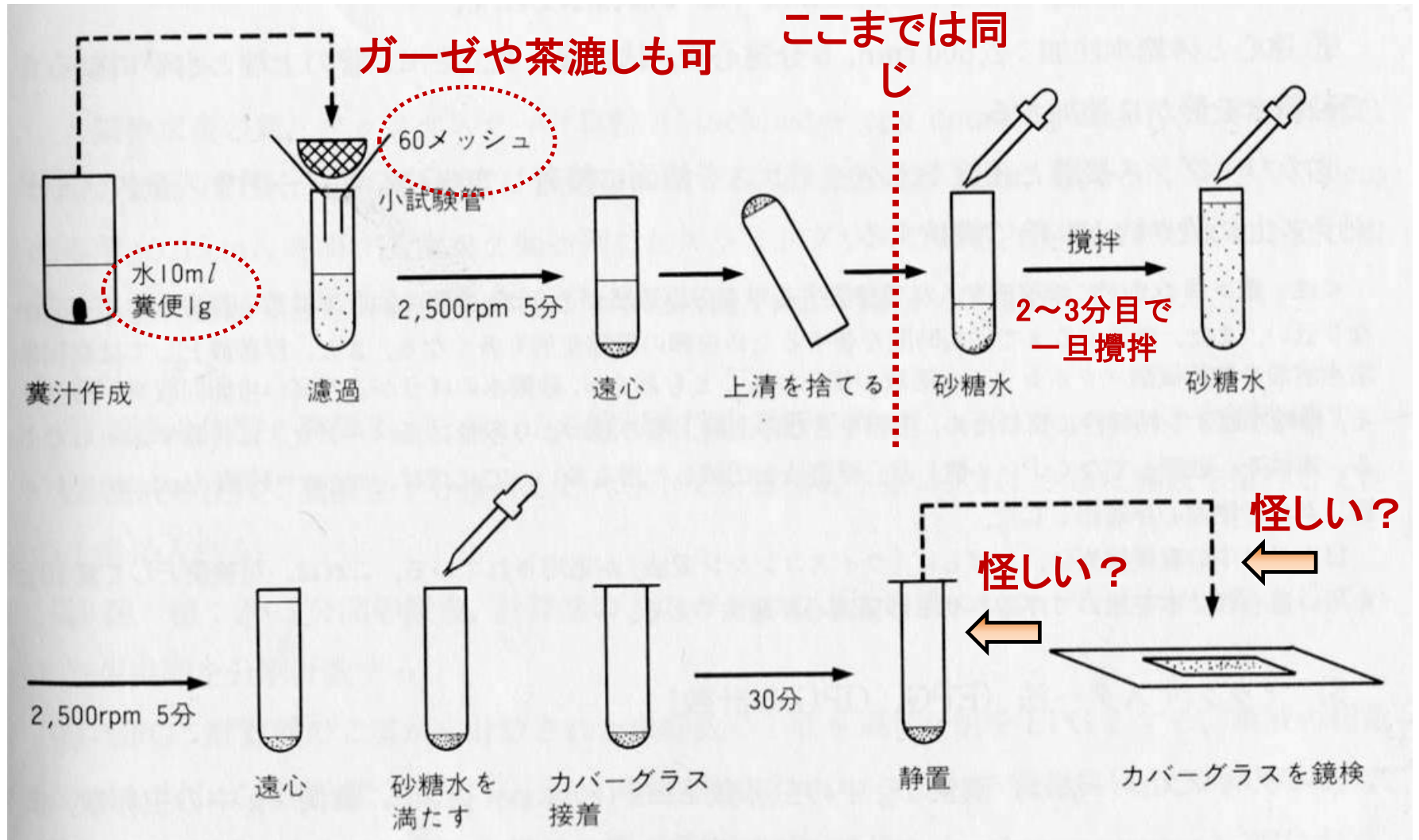
コクシジウムの診断方法

個体が感染してても、発育途中のため
オーシストが検出されない場合もある



新鮮便の直接塗抹で
メロゾイトや
シゾント等を検出

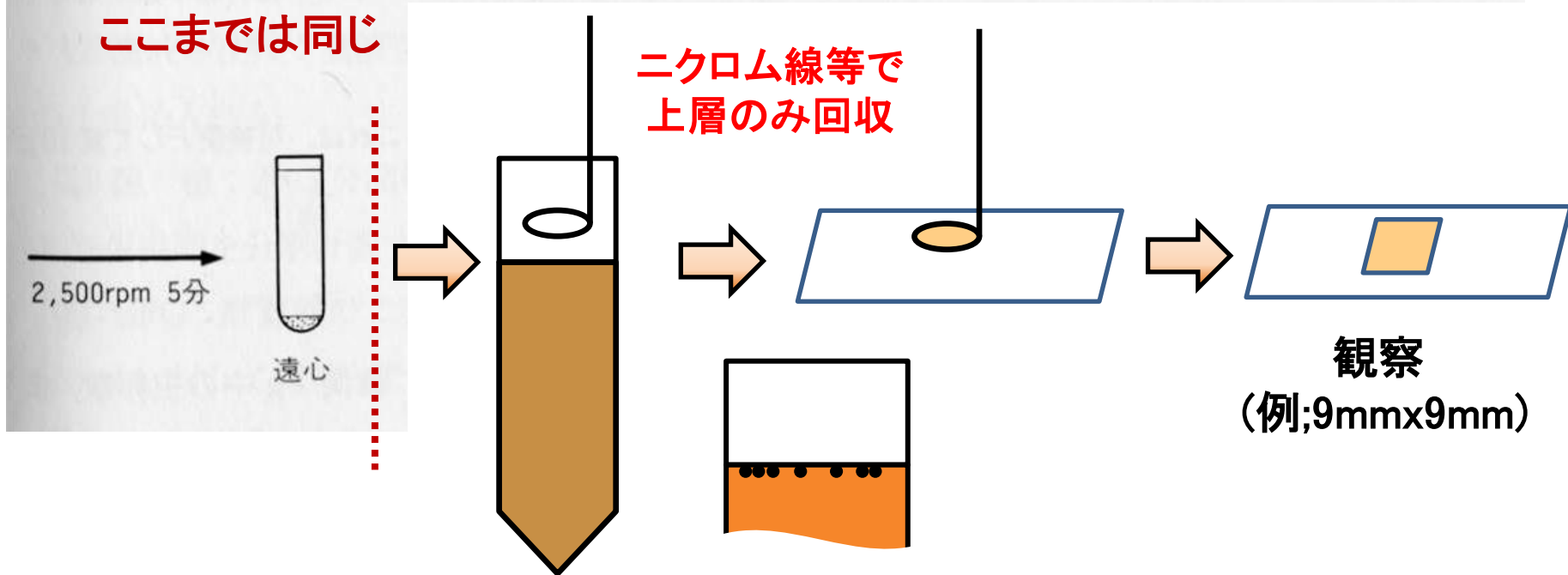
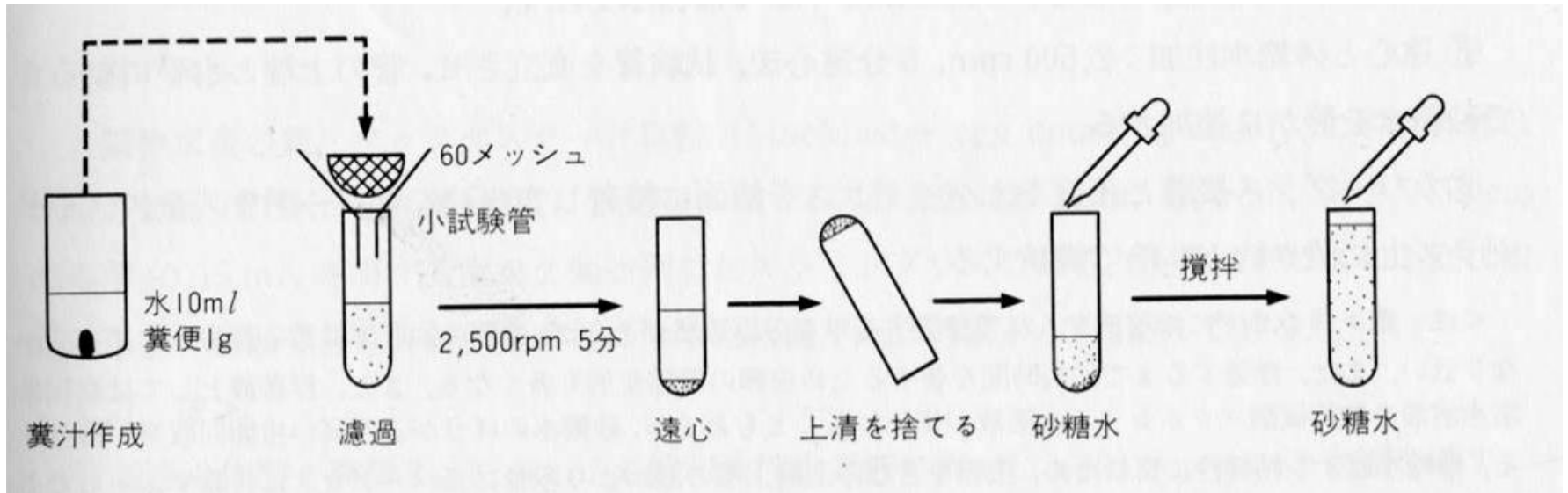
③飽和食塩水 / 砂糖遠心浮遊法（一例）



浮遊させる際の遠心は
アクセル/ブレーキ無し

子牛の場合、脂質が多いので、メッシュ後に酢
酸エチル処理&水で遠心洗浄をする

シヨ糖遠心浮遊法（当ラボ）

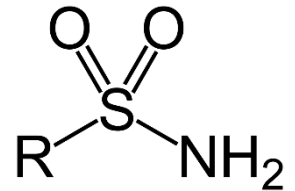


コクシジウムの治療について

【治療】

□サルファ剤

- ・スルホンアミド ($-\text{S}(=\text{O})_2-\text{NR}_2$) 部位を有する合成抗菌剤
(生物由来ではないため、抗生物質ではない)
- ・葉酸生合成系の競争阻害物質となり、DNAの複製に必要な葉酸の合成を阻害。
ただし、**無性生殖のみ**に効果があるとされる



- ・細菌等も葉酸合成系を有するため、
細菌に加えて真菌や原虫にも効果を示す。
(ヒトは葉酸の生合成系を欠く)

「スルファモノメトキシ」や「スルファジメトキシ」がある

コクシジウムの治療について

『スルファモノメトキシン』

「ディスバイオシス？」

抗コクシジウム効果に加え、抗菌性を有する
肺炎や細菌性下痢症にも効果がある。(安価との情報も?)
飼料に均一に混じて経口投与する。

『エクテシン』

スルファモノメトキシンにオルメトプリム(葉酸合成阻害)を加えたもの。1日1回、0.1-0.2mlを3-5日間、強制経口投与する。

* 複数回の投与が必要。搾乳牛は使用不可。

休薬はいずれも7日間。例;3日間の投与を10日おきに3回

『スルファジメトキシン』

細菌性腎盂腎炎、子宮内膜炎、乳房炎にも効果

2日間の静脈または筋肉内投与(2日目は半量)

(静脈注射できるので使用頻度は高め?)。休薬は14日間

コクシジウムの予防(治療)について

【予防 & 治療】

『トルトラズリル』

予防的に使用する。持効性あり。

単回の経口投与で効果がある。休薬59日。

無性 & 有性生殖期に効果がある。

コクシジウム症が多発する日齢の1週間前に投与する。

ただし、投与は3ヶ月齢まで、結果的に生涯1回の投与
(育成期等には投与できない)

作用は原虫の核分裂、ミトンドリア活性(呼吸代謝)の阻害

コクシジウムの治療について

【治療 & 予防】

『ジクラズリル（ベコクサン）』

予防 & 治療的に使用可能

単回の経口投与で効果がある。

作用は**第1-2無性生殖期 & 有性生殖期**に変性を起こす

休薬は**1日**。再投与可能、ただし、3日間は再投与不可
コクシジウム症が多発する日齢の1週間前に投与する。
抗菌性はないため、輸液療法や抗菌剤の使用も考慮
投与は3ヶ月齢まで

腸管局所で作用し、牛体内に吸収されない。
本剤は感染を阻害せず、獲得免疫を誘導する。

「免疫獲得能を持続させる」 との記載がちらほら？

ジクラズリルについて

【作用】

メロゾイトのミトコンドリアの膜電位を変化させ外膜の透過性を変化させたり、アミロペクチンのような多糖類の合成を阻害し、原虫のアポトーシスを引き起こす。

これはミトコンドリアや原虫の特異的な細胞器官における mRNA の発現のダウンレギュレーションによると考えられる。ミクロネームやロプトリーを含むこれらの先端にある細胞器官は原虫の運動性や宿主細胞への侵入に関与する。ヒートショックタンパク質を含むミクロネームタンパク質は原虫細胞の恒常性維持や宿主細胞への侵入及び宿主細胞環境内における原虫細胞の保護に重要な役割を果たすと考えられている。そのため、原虫細胞におけるこれらのタンパク質の変化は原虫の機能障害を引き起こし、ミトコンドリア依存性の細胞死に発展すると考えられる。

原虫側への作用

E. tenella 強毒株・弱毒株のスプロゾイト
網羅的な発現遺伝子の比較解析

強毒株
スプロゾイト

弱毒株 (ワクチン株)
スプロゾイト

FPKM 値算出(= 強毒/弱毒)

(fragments per kilobase of exon per million fragments)

①

GO 機能
分類解析

②

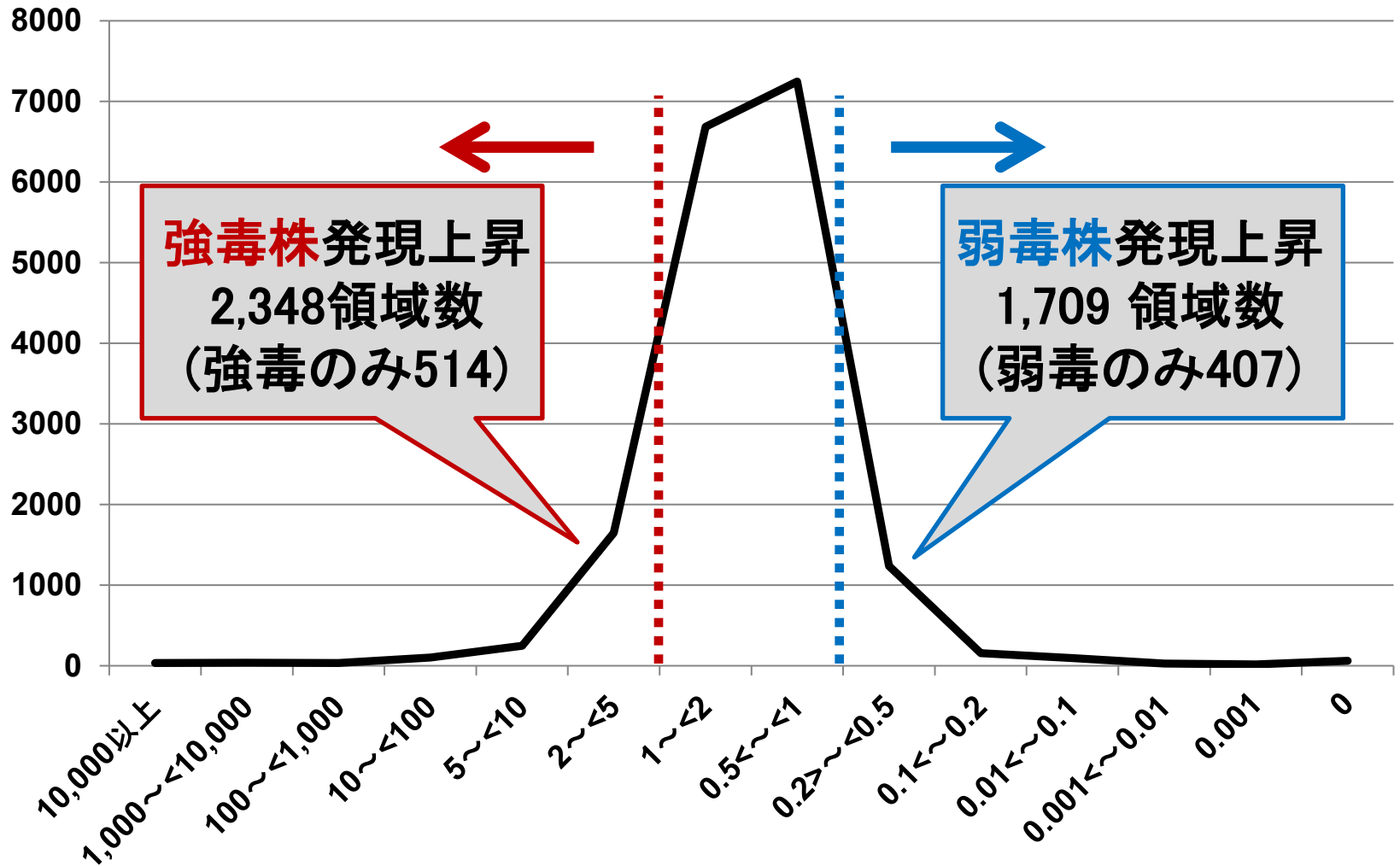
Pathway 解析
(KEGG)

③

個々の変動遺伝子
の集計 & pick up

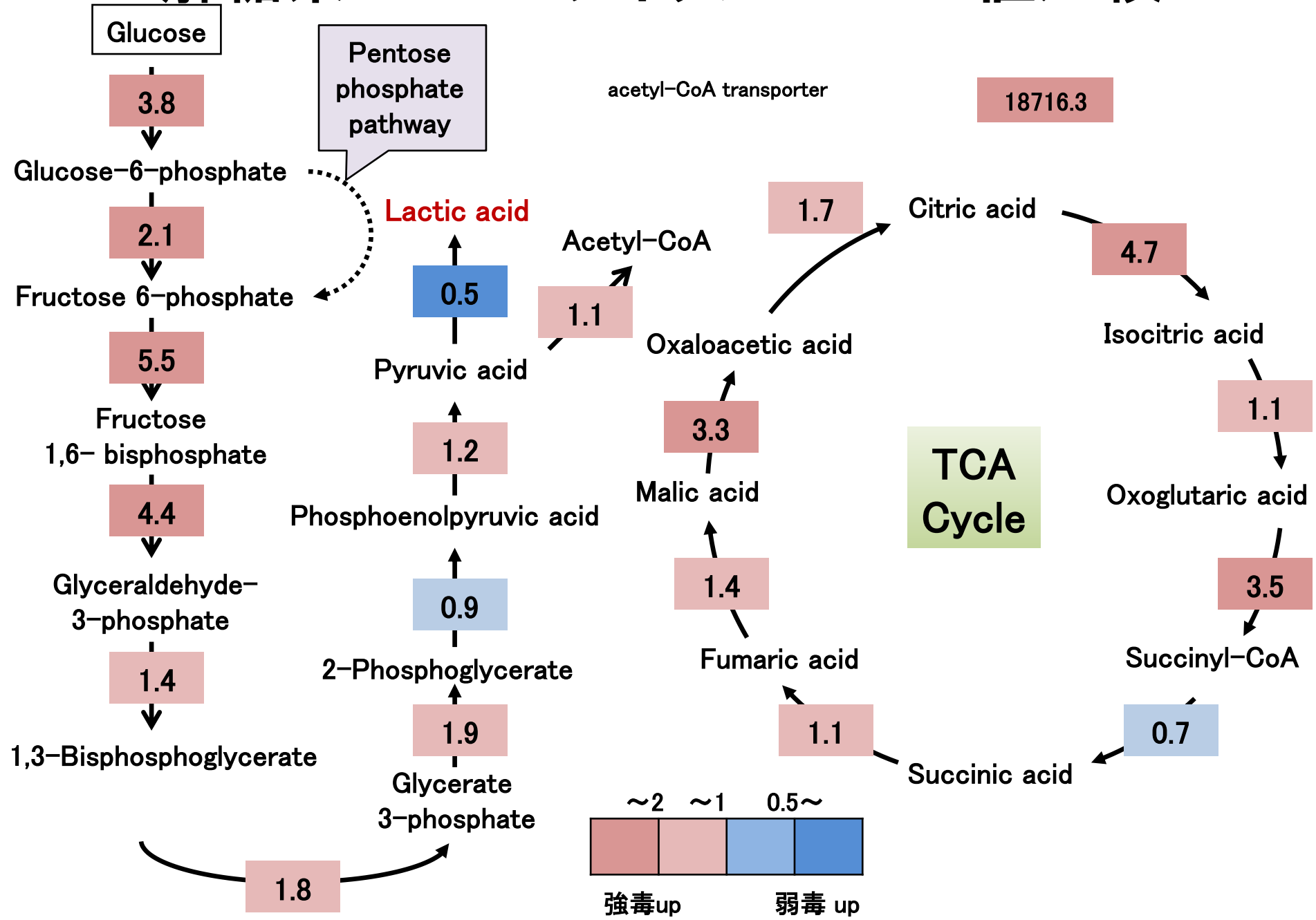
発現量比の分布

推定遺伝子発現領域数

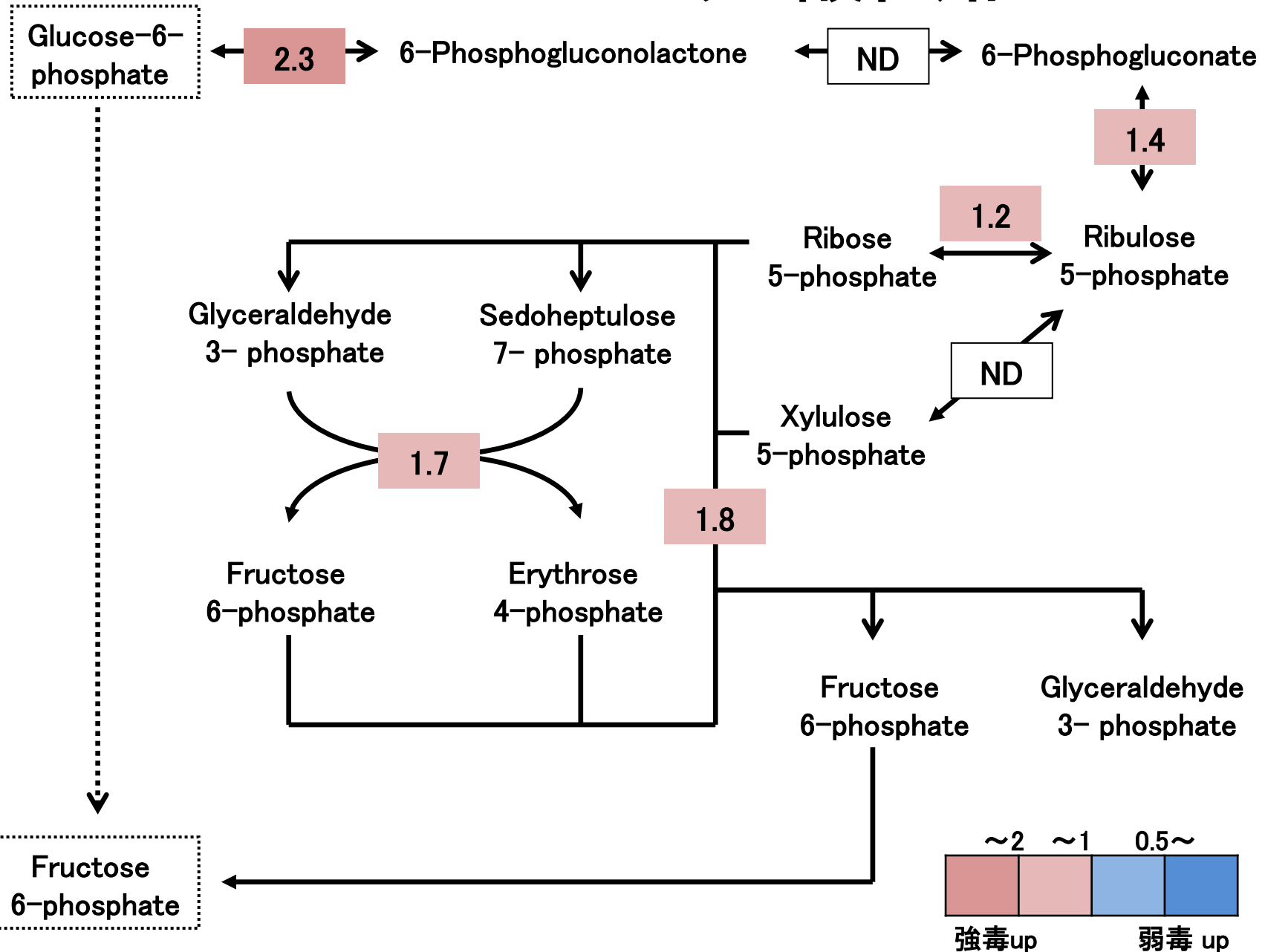


FPKM値比 (強毒/弱毒)

解糖系 & TCA サイクル FPKM 値比較



ペントースリン酸経路



強毒株で発現が上昇していた遺伝子

| 遺伝子名 | 弱毒FPKM | 強毒FPKM | FPKM比 | 日 | 各種プロテアーゼ | |
|---|--------|--------|-------|------------|-----------------------------|--|
| Asparaginase | 0.334 | 1.929 | 5.78 | | | |
| Serine protease inhibitor dipetalogastin precursor | 1.627 | 6.053 | 3.72 | 4.05E-66 | <i>Neospora caninum</i> | |
| Putative methionine aminopeptidase | 0.090 | 0.285 | 3.16 | 1.74E-99 | <i>Neospora caninum</i> | |
| Peptidase M16 family protein | 0.216 | 0.545 | 2.52 | 9.14E-06 | <i>Caldilinea aerophila</i> | |
| Aspartyl aminopeptidase | 1.863 | 4.296 | 2.31 | 6.48E-88 | <i>Toxoplasma gondii</i> | |
| Putative subtilisin-like protease | 0.195 | 0.448 | 2.30 | 0 | <i>Neospora caninum</i> | |
| Alpha-aminoacylpeptide hydrolase aminopeptidase | 0.855 | 1.947 | 2.28 | 1.59 E -20 | <i>Babesia equi</i> | |
| Putative cathepsin C2 | 1.303 | 2.745 | 2.11 | 1.57E-50 | <i>Neospora caninum</i> | |
| Metalloprotease | 1.074 | 2.200 | 2.05 | 1.85E-45 | <i>Toxoplasma gondii</i> | |
| Putative trypsin 1 | 0.048 | 0.100 | 2.09 | 9.02E-130 | <i>Eimeria tenella</i> | |
| Aspartyl proteinase (eimepsin) | 0.120 | 0.240 | 2.00 | 1.97E-152 | <i>Eimeria tenella</i> | |
| Putative rhoptry neck protein | 0.020 | 0.194 | 9.64 | 0 | <i>Eimeria tenella</i> | |
| Rhoptry neck protein 5 | 0.050 | 0.396 | 7.86 | 1.51E-30 | <i>Toxoplasma gondii</i> | |
| Microneme protein | 1.486 | 3.598 | 2.42 | 3.72E-23 | <i>Toxoplasma gondii</i> | |
| Rhoptry neck protein 11 | 0.112 | 0.267 | 2.38 | | | |
| Sporulation protein RMD1, related | 0.483 | 1.166 | 2.42 | | | |

侵入関連タンパク質

弱毒株で発現が上昇していた遺伝子

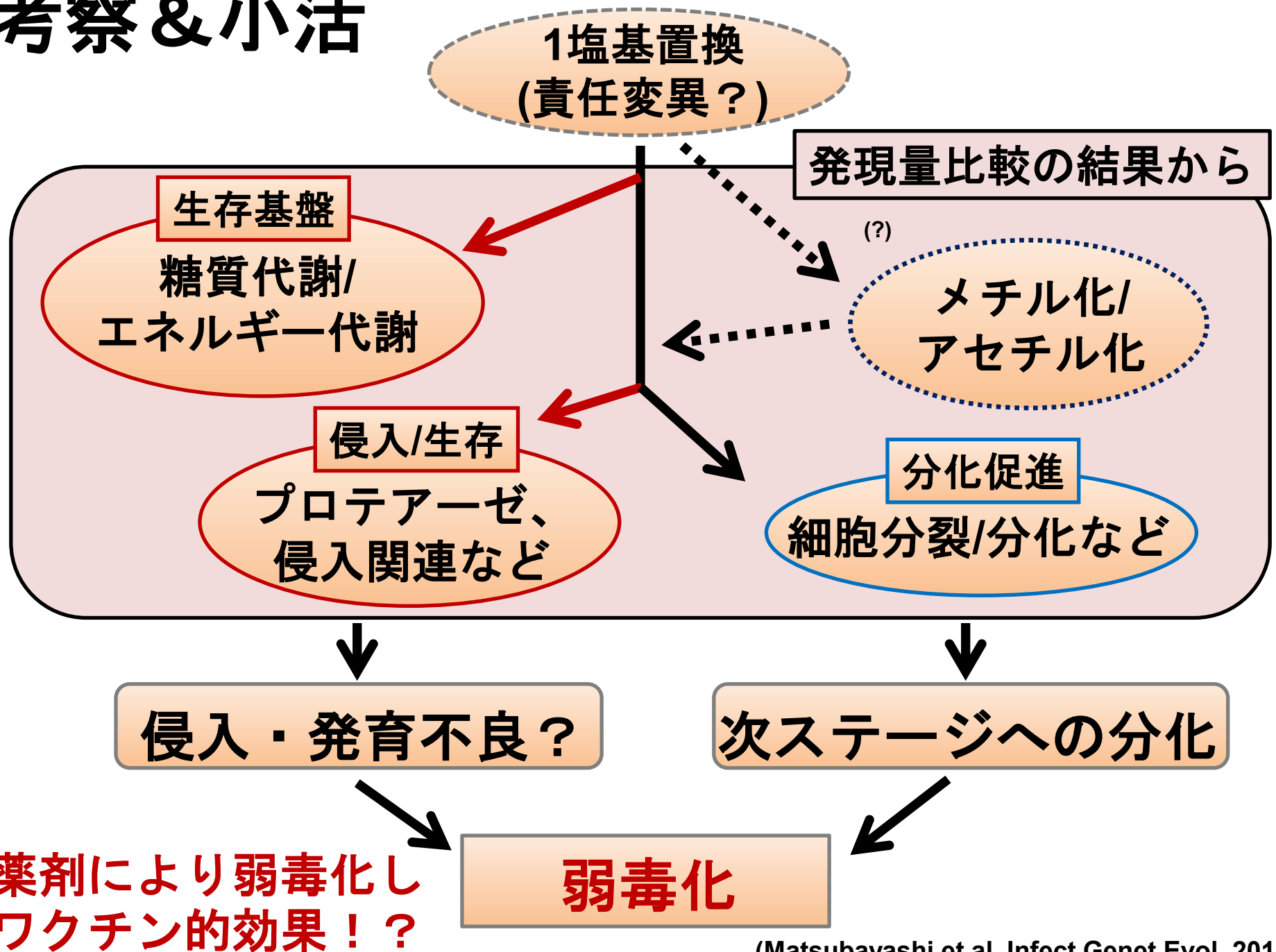
| 遺伝子名 | 弱毒 FPKM | 強毒 FPKM | FPKM比 | E-Value | Derived host |
|--|------------|------------|------------|-----------|--------------------------------|
| Perforin-like protein 1 | 0.302 | 0 | Precocious | 1.76E-143 | <i>Toxoplasma gondii</i> |
| Proliferating cell nuclear antigen 1 | 0.232 | 2.04E-04 | 0.001 | 2.13E-39 | <i>Toxoplasma</i> |
| Multidrug resistance protein | 0.156 | 0.015 | 0.098 | 9.81E-26 | <i>Toxoplasma</i> |
| Anaphase-promoting complex | 0.311 | 0.040 | 0.128 | 9.06E-30 | <i>Toxoplasma</i> |
| MORN repeat-containing protein (membrane occupation and recognition nexus protein) | 11.039 | 4.019 | 0.364 | 3.12E-51 | <i>Neospora caninum</i> |
| Generative cell specific-1 | 0.531 | 0.109 | 0.205 | 6.48E-72 | <i>Eimeria tenella</i> |
| Cell cycle control protein | 0.471 | 0.163 | 0.345 | 5.66E-179 | <i>Neospora caninum</i> |
| Kelch motif domain-containing protein | 2.960 | 0.591 | 0.200 | 4.46E-68 | <i>Toxoplasma</i> |
| POM1 (Pfprex) | 0.759 | 0.261 | 0.344 | 9.72E-07 | <i>Plasmodium cynomolgi</i> |
| Proteophosphoglycan 5 | 5.094 | 1.636 | 0.321 | 8.95E-12 | <i>Leishmania major</i> |
| Glucose-inhibited division protein A | 1.562 | 0.616 | 0.394 | 1.62E-33 | <i>Acidobacteria bacterium</i> |
| Exodeoxyribonuclease III | 0.073 | 0.035 | 0.476 | 4.56E-07 | <i>Plasmodium falciparum</i> |
| Mtogen-activated protein kinase 2 | 4.448 | 1.814 | 0.408 | 7.53E-125 | <i>Toxoplasma gondii</i> |
| Cysteine repeat modular protein 2 homologue | 3.299 | 1.651 | 0.500 | 1.31E-67 | <i>Eimeria tenella</i> |

弱毒株で発現が上昇していた遺伝子

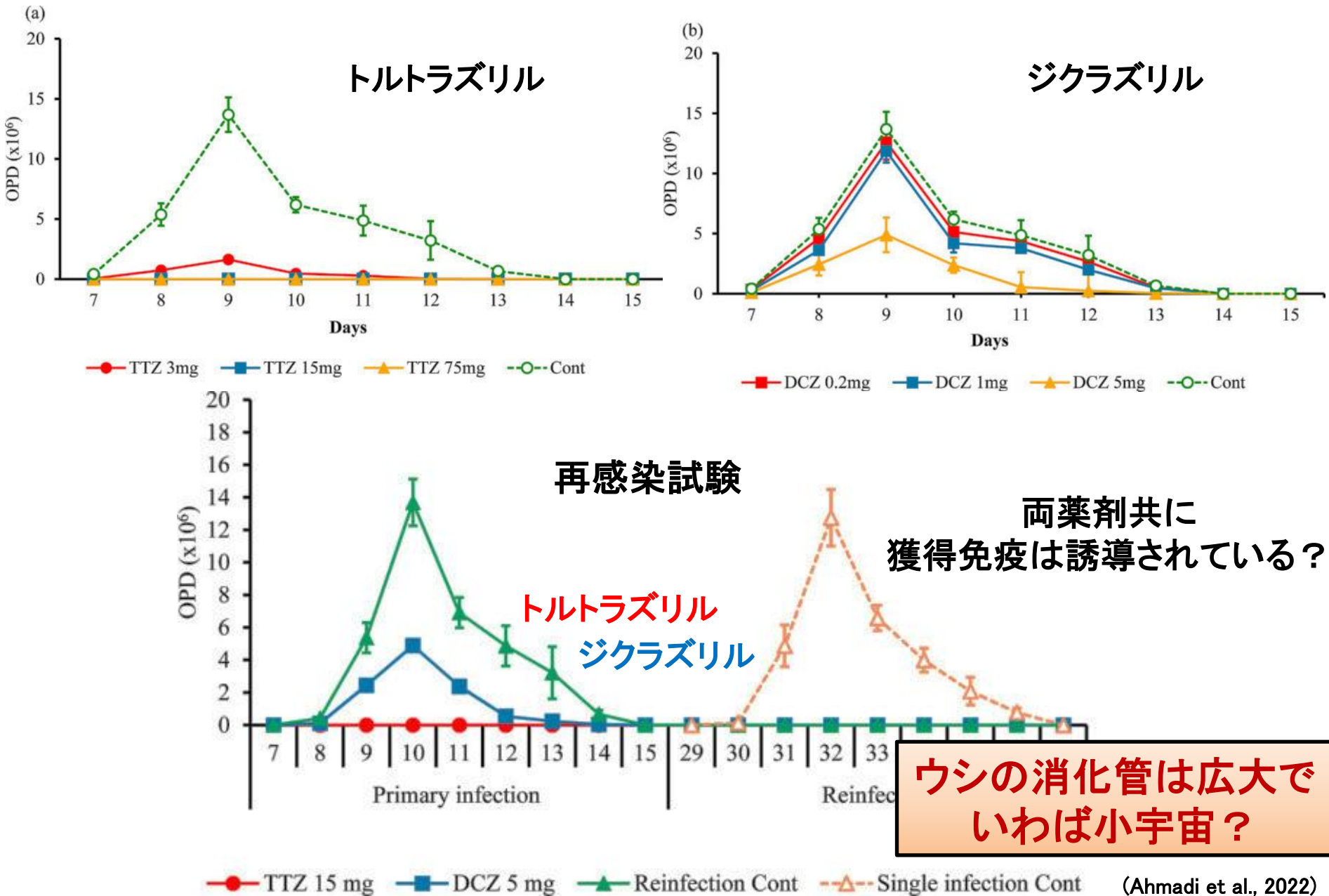
| 遺伝子名 | 弱毒 FPKM | 強毒 FPKM | FPKM比 | Derived host |
|---|------------|------------|------------|------------------------|
| Perforin-like protein 1 | 0.302 | 0 | Precocious | rapid host cell egress |
| Proliferating cell nuclear antigen 1 | 0.232 | 2.04E-04 | 0.001 | <u>有糸分裂</u> |
| Multidrug resistance protein | | | 0.098 | 多剤耐性タンパク質 |
| Anaphase-promoting complex | | | 0.128 | <u>有糸分裂制御</u> |
| MORN repeat-containing protein (membrane occupation and recognition nexus protein) | | | 0.364 | <u>アピコプラスト分裂</u> |
| Generative cell specific-1 | 0.531 | 0.109 | 0.205 | 有性生殖受精関連 |
| Cell cycle control protein | 0.471 | 0.163 | 0.345 | <u>細胞分裂</u> |
| Kelch motif domain-containing protein | 2.960 | 0.591 | 0.200 | 細胞形態発生 |
| POM1 (Pfprex) | 0.759 | 0.261 | 0.344 | 色素体ゲノム複製 |
| Proteophosphoglycan 5 | 5.094 | 1.636 | 0.321 | <u>Vacuoleの形成</u> |
| Glucose-inhibited division protein A | 1.562 | 0.616 | 0.394 | <u>細胞分裂</u> |
| Exodeoxyribonuclease III | 0.073 | 0.035 | 0.476 | <u>DNA 分裂</u> |
| Mtogen-activated protein kinase 2 | 4.448 | 1.814 | 0.408 | <u>細胞分化/生存</u> |
| Cysteine repeat modular protein 2 homologue | 3.299 | 1.651 | 0.500 | 生活環関連因子 |

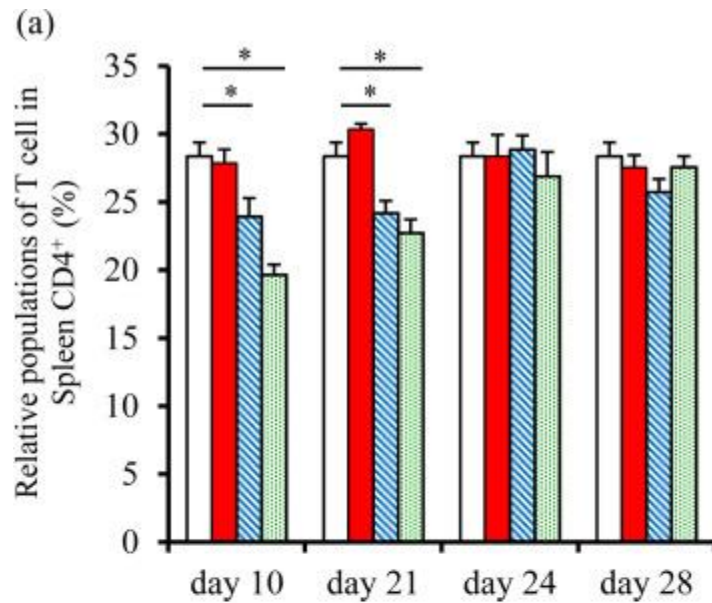
虫体の発育や分化
に係る遺伝子

考察 & 小活

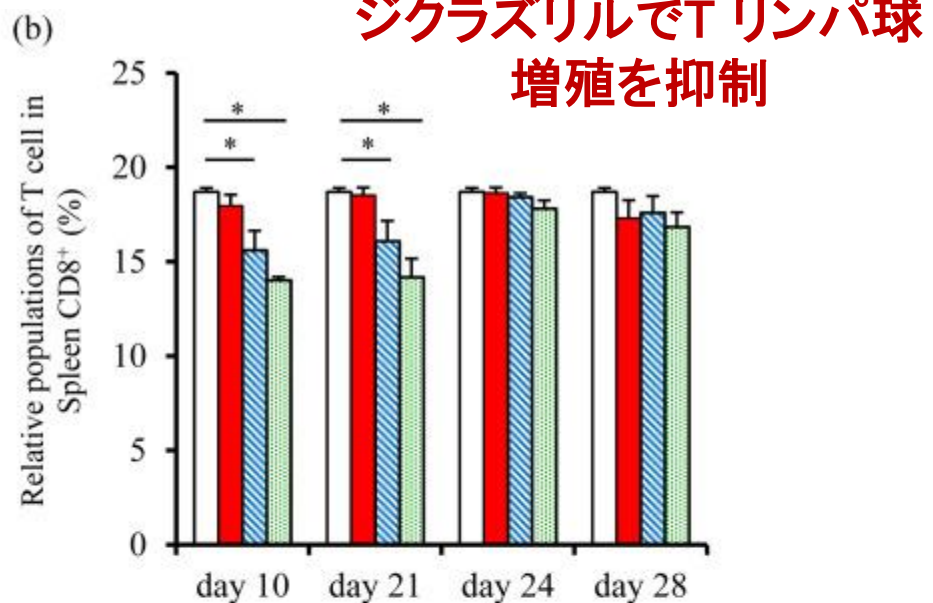


しかし、マウスのアイメリアでの解析結果

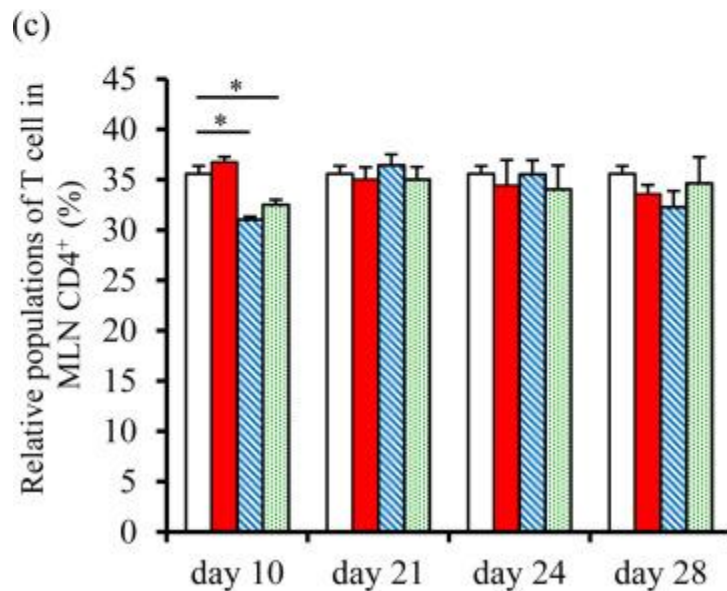




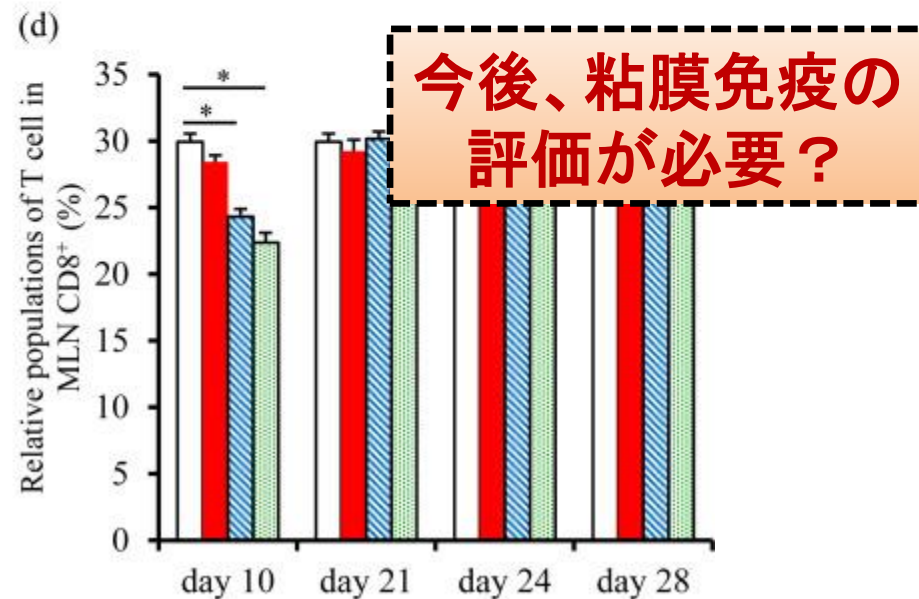
CD4⁺ T cell (脾臓)



CD8⁺ T cell (脾臓)



CD4⁺ T cell (腸間膜リンパ節)



CD8⁺ T cell (腸間膜リンパ節)

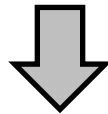
□Healthy ■TTZ ▨DCZ ■Reinfection Cont

まとめ

□アイメリア原虫、特に牛では、未だ不明な点が多い

- ・種の正確な鑑別法
- ・接着、侵入、増殖メカニズム
- ・ワクチンや効果的な予防および駆虫薬の開発
- ・オーダーメイド的な農家毎の個別清浄化対策か

原虫側としては、必死に生きている
研究材料としては、『大変』だが興味深い微生物



研究者側としても、今後も研究対象として
生産現場に貢献できる成果を！

謝辞

○鳥取県 倉吉家畜保健衛生所
岡田 綾子 様

○鹿児島 県農政部畜産課
是枝 輝紀 様

○福島県 県南家畜保健衛生所
今井 直人 様

○千葉県 農業共済組合連合会 東部家畜診療所
松浦 優 様、額田 聡子様、鮎川 理 様、近藤 寧子 様

○国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構
動物衛生研究部門 芝原 友幸 研究領域長

○大阪公立大学大学院 獣医学研究科
笹井 和美 教授、関口 理香 様