

審査の結果の要旨

氏名 梅田 剛佑

国内のアサリ *Ruditapes phillipinarum* には *Perkinsus* 属原虫が広く感染しており、アサリの資源量減耗の一因と考えられている。国内では *P. olseni* と *P. honshuensis* の2種が報告されており、*P. olseni* は世界に広く分布し宿主範囲も広いことが知られているが、*P. honshuensis* は2006年に三重県産のアサリから分離され新種記載されたのち、ほとんど研究がおこなわれていない。近年の研究から、本属原虫のアサリの資源量減耗への関与が明らかになってきたが、その生物学には不明な部分が多い。そこで、本属原虫と宿主との相互作用に関する知見の集積を目指して、アサリに対して異なる病原性を持つ *P. olseni* と *P. honshuensis*、ならびに *P. olseni* に対して異なる感受性を有するアサリとホンビノスガイ *Mercenaria mercenaria* を用いて宿主-病原体関係を比較した。

【第1章】アサリに寄生する *Perkinsus* 属原虫2種の分布と環境要因の影響

これまでの調査では *P. olseni* と *P. honshuensis* の寄生は全く区別されてこなかった。このため、どちらがよりアサリ資源の減耗に関与しているのか不明であった。そこで本章では、両種を種特異的に定量する、Real-time PCR 検査法を開発し、国内各地での2種の分布を調査した。その結果、天然アサリにおいて *P. olseni* の寄生率・寄生強度は *P. honshuensis* より著しく高く、*P. honshuensis* の感染は無視できるレベルであることを明らかにした。

水温や塩分が寄生レベルの違いを生じさせた可能性を検討するため、原虫の増殖・発達に対する温度・塩分の影響を比較した。その結果、*P. olseni* の方がやや低塩分に適性を持つ傾向が見られたが、アサリが生息する環境条件下では、2種間の寄生率・寄生強度の違いを説明できるほどの違いは認められなかった。

【第2章】*Perkinsus* 属原虫2種とアサリの生体防御機構

第1章で示した両種の寄生状況の違いは宿主生体防御機構への抵抗性の違いによるものと仮定し、アサリに対する攻撃試験によって、アサリに対する感染性を比較した。その結果、アサリ体内での増殖や病害性には種間の違いは認められなかったが、*P. olseni* の方が攻撃直後の寄生強度が高く、宿主への侵入・定着段階における種間の違いの存在が示唆された。

また、アサリから切り出した唇弁に遊走子を曝露し攻撃したところ、組織への接触後ごく短時間で栄養体への変態が開始することが明らかになった。さらに、*P. olseni* と異なり、*P. honshuensis* では検出される栄養体数が時間とともに減少する傾向が見られ、侵入後の定着能力に差がある可能性が示された。

二枚貝類では血リンパが主に生体防御機構を担っている。そこで、アサリの血リンパ漿・血球が栄養体の生残・増殖に及ぼす影響を比較した。その結果、血球に貪食された後でも *P. olseni* は増殖したのに対し、*P. honshuensis* は増殖を抑制された。また、細胞内消化酵素の働きには貪食胞内の酸性化が重要であることから、これを指標にして比較を行った。その結果、対照に用いた酵母、および固定栄養体に対して貪食胞の酸性化が明確に観察されたのに対し、両種の生きた栄養体では酸性化が見られず、*P. olseni*, *P. honshuensis* ともに栄養体が血球の細胞内消化能を阻害することが示唆された。

【第3章】*P. olseni* とアサリおよびホンビノスガイの生体防御機構

アサリとホンビノスガイの比較から、*P. olseni* の宿主特異性に関する研究を行った。第2章と同様の方法で、攻撃試験により両宿主種の感受性を比較した結果、ホンビノスガイの方が侵入後の増殖が低く、*P. olseni* への感受性が低いことが示された。そこで栄養体に対する血リンパの影響についても第2章と同様の方法を用いて血球の *P. olseni* 栄養体の貪食能ならびに貪食後の栄養体の生残と増殖を宿主種間で比較した結果、アサリの血球は *P. olseni* の栄養体を貪食しても効率的に排除できないことが示唆された。

【総合考察】

本研究により、野外のアサリ個体群において *P. olseni* が *P. honshuensis* より大きく優占することが初めて示された。この違いは *P. olseni* の方が宿主組織への侵入・定着能力が高いためであることが示唆され、血球に貪食された後の栄養体の生残・増殖効率と関係がある可能性も示された。また、貪食胞の酸性化を阻害していたことから、*Perkinsus* 属原虫が血球による貪食を利用し、宿主体内で拡散・増殖している可能性が示された。さらに、宿主特異性に関しては、ホンビノスガイよりアサリの方が *P. olseni* への感受性が高く、細胞レベルでも原虫の排除能力が低い傾向が示された。以上のように、アサリと *Perkinsus* 属原虫2種との宿主-病原体相互作用の一端が解明された。

これらの研究成果は、学術上・応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。