

話題の感染症

両生類のツボカビ症

Chytridiomycosis in Amphibians

くろ き とし ろう う ね ゆ み
 黒 木 俊 郎¹⁾: 宇 根 有 美²⁾
 Toshiro KUROKI Yumi UNE

はじめに

世界中で両生類、特にカエルの個体数が減少あるいは特定の地域の個体群の絶滅、さらには種そのものが絶滅していると報告されている。その原因として、生息地の環境の破壊、外来動物の影響、商用目的の売買、気候の変化、紫外線の増加、化学物質の環境汚染、疾病あるいは奇形の発生と、これらの要因の相乗効果が挙げられている。このうち原因の1つとされている疾病として、ツボカビ症が注目されている。

両生類のツボカビ症は1990年代末に発見された新興感染症であり、原因微生物はアフリカが起源であるとされている。生活環中に遊走子のステージがある、ツボカビ類のうち脊椎動物に寄生する唯一の種であるといった種々の興味深い生物学的特徴を有している。また、国際自然保護連合 (IUCN) の下部組織である ISSG (Invasive Species Specialist Group) が作成した世界ワースト100外来種 (100 of the World's Worst Invasive Alien Species) の1つに挙げられている。世界各地で感染したカエルが報告されているが、2006年12月末にわが国で初めて、アジアにおいても最初の感染が、飼育下の外国産のカエルで確認された。

両生類のツボカビ症は世界中で発生し、致死率が高く、多くの両生類の個体数の減少や絶滅に関与していると推測されることから、その存続を脅かす感染症として、もっとも関心が寄せられている。さら

に、ツボカビ症によるカエル種の絶滅と地球の温暖化との関連が指摘され、将来における生態系のバランスの崩壊を原因とする感染症の発生や地球環境の悪化の前兆的現象であるとみなす意見もある。

2007年1月13日に爬虫類・両生類の臨床と病理のための研究会、日本野生動物医学会、日本両棲爬虫類学会、WWF ジャパンなどの16団体が「ツボカビ症侵入緊急事態宣言」を発表し、これがマスコミで大きく取り上げられた。SARS、鳥インフルエンザ、ノロウイルス、狂犬病あるいは口蹄疫と、公衆衛生や家畜衛生分野で問題となる感染症が新聞や雑誌、テレビで取り上げられることはあっても、カエルの感染症がこれほどまでに人々の注目を集めることはこれまでになかったと思われる。

I. 両生類のツボカビ症の生物学

両生類のツボカビ症の原因は *Batrachochytrium dendrobatidis* である。*B. dendrobatidis* はツボカビ門、ツボカビ目に属する1属1種の新属、新種として1999年に記載された¹⁾。この感染症は1998年にオーストラリア、カナダ、米国および英国の研究チームによって初めて報告され²⁾、パナマやオーストラリアの手付かずの自然環境が残る地域における大規模な両生類の絶滅に関与していることが明らかになり、それ以来世界各地で両生類の個体数の減少との関係が調査されている。

属名 *Batrachochytrium* の“Batracho”はギリシャ語

1) 神奈川県衛生研究所 微生物部

〒253-0087 神奈川県茅ヶ崎市下町屋1-3-1

2) 麻布大学 獣医学部 病理学研究室

〒229-8501 神奈川県相模原市淵野辺1-17-71

1) Department of Microbiology, Kanagawa Prefectural Institute of Public Health

(1-3-1 Shimomachiya, Chigasaki-shi, Kanagawa)

2) Laboratory of Veterinary Pathology, School of Veterinary Medicine, Azabu University

(1-17-71 Fuchinobe, Sagami-hara-shi, Kanagawa)

でカエルを、ツボカビを意味する“chytrium”（あるいはツボカビの chytrid）はギリシャ語の“chytridion”または chutridion：陶器製の小型のツボ”に由来する。したがって、直訳すればカエルツボカビ属となる。種名の“*dendrobatidis*”はヤドクガエル属 (*Dendrobates*) の1種 (blue poison dart frog) からの分離株を用いて種の記載を行ったことによる。しかし、*B. dendrobatidis* の宿主はヤドクガエルに限られているわけではなく、宿主域は非常に幅広く、100種以上の両生類に感染することが確認されている。

B. dendrobatidis によるツボカビ症は無尾類だけではなく、有尾類でも少数ながら報告されている。トラフサンショウウオ (*Ambystoma tigrinum*) やオオミットサンショウウオ (*Bolitoglossa dofleini*)、ファイアーサラマンダー (*Salamandra salamandra*)、アイダホジャイアントサラマンダー (*Dicamptodon aterimus*)、アホロートルが紹介されている。

B. dendrobatidis の生活環は単純で、遊走子 (zoospore) と遊走子嚢 (zoosporangium) の2形態からなっている (図1～3)。*B. dendrobatidis* の遊走子嚢は表面が平滑で、球形から長球形であり、乳頭状の放出管 (discharge tube) がある。遊走子嚢は径10～40 μ mの大きさで、内部に遊走子が最大300個入っている。遊走子嚢は皮膚の表面から放出管だけを突出させ、遊走子が成熟すると突起の蓋が取れて

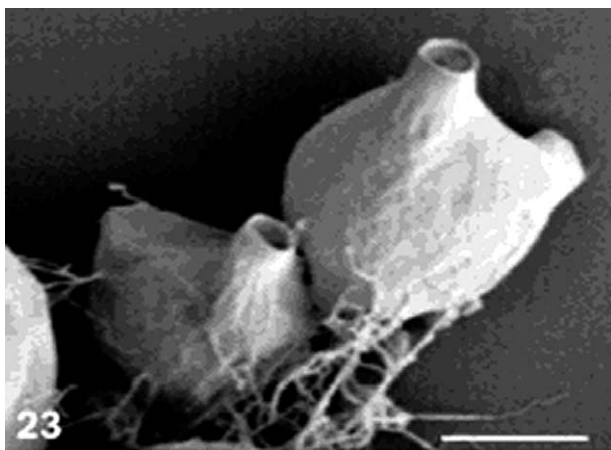


図1 *Batrachochytrium dendrobatidis* の遊走子嚢 (走査電顕像)

2つの放出管がある壺状の形態を示す。遊走子嚢から仮根が伸びている。

(Dr. Berger および Dr. Speare のご好意による)

出典：Berger L, Hyatt AD, Speare R, Longcore JE. Life cycle stages of *Batrachochytrium dendrobatidis* Longcore et al. 1999, the amphibian chytrid. *Diseases of Aquatic Organisms* 2005 ; 68 : 51-63.

放出する。遊走子は径0.7～6 μ mで後方に伸びる鞭毛があり、水中を遊走する。遊走子嚢から泳ぎ出した遊走子が宿主に到達すると皮膚の表面の角質層に侵入して寄生し、徐々に径が大きくなり、遊走子嚢を形成する。感染は100個程度の遊走子により成立

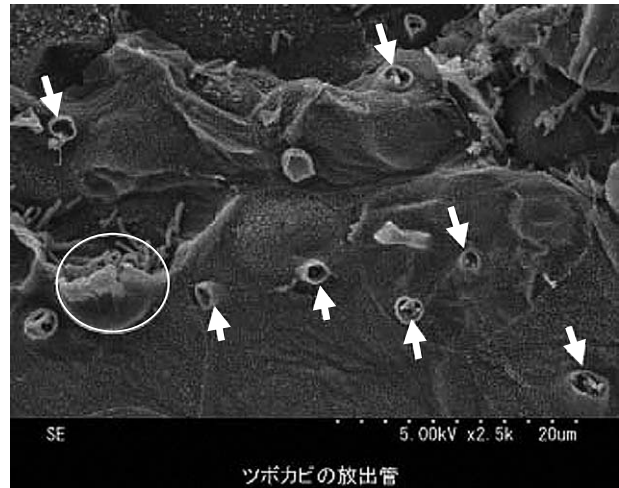


図2 *Batrachochytrium dendrobatidis* が寄生するカエルの皮膚 (走査電顕像)

日本で初めて確認されたカエルのツボカビ症の走査電顕像 (日立ハイテクノロジー撮影)。ツノガエルの体幹部の皮膚の表面を示す。*B. dendrobatidis* の遊走子嚢に形成される放出管が皮膚の表面に突出している (矢印)。この放出管には、蓋があって、遊走子嚢内の遊走子が成熟すると、蓋が開いて、そこから外界に遊走子が放出される。遊走子が放出された後の遊走子嚢の中にはしばしば、細菌が増殖する。サークルは細菌を含んだ遊走子嚢が破裂したものを示す。

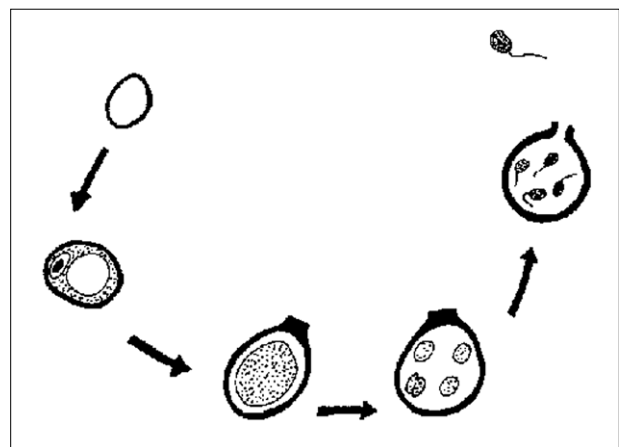


図3 *Batrachochytrium dendrobatidis* の生活環

遊走子 (右上端) が両生類の皮膚に到達すると角質層を貫通し、ほぼ球形の遊走子嚢 (左上端) を形成する。遊走子嚢内で遊走子が形成されるとともに、放出管ができる。やがて放出管の蓋がはずれ遊走子が遊出する。

(Dr. Berger および Dr. Speare のご好意による)

出典：http://www.jcu.edu.au/school/phtm/PHTM/frogs/chpr1/chyps1.htm

するとされている。

B. dendrobatidis の遊走子は鞭毛で遊泳して宿主に到達することから、発育や感染には水が必須であり、淡水中や水分の多い土壤中に生息している。発育温度は17～25℃で、至適温度は23℃とされている。高温には弱く、28℃で発育が止まり、30℃以上になると死滅する。遊走子は水道水では3週間、精製水では4週間、湖水ではさらに長く、7週間生存することができる。しかし、遊走子は乾燥により死滅してしまう。

ツボカビ類は一般的に土壌や淡水中に生息し、分解菌、腐生菌あるいは寄生菌としてキチン、セルロース、ケラチンといった生難分解性物質を利用する。したがって、ツボカビ類の真菌は花粉粒、昆虫の外骨格、原生生物や微小無脊椎動物、両生類の皮膚、他種の真菌、草木や果実、水に浸かった枝などの小片に付着あるいは寄生して栄養を吸収する。*B. dendrobatidis* は脊椎動物に寄生する、ツボカビ類では唯一の種である。利用するのはケラチンであり、生きたあるいは死んだ両生類の皮膚の角質層や顆粒層に寄生し、そこに含まれているケラチンを利用して発育する。しかし、ケラチンを含まないトリプトンとゼラチンを含む寒天培地で培養することができる。

ケラチンはカエルの成体の全身の皮膚に分布している。したがって、*B. dendrobatidis* は全身に寄生することができる。しかし、オタマジャクシではケラチンは口器にのみ分布しているため、*B. dendrobatidis* は口器にだけ寄生する³⁾。そのため、*B. dendrobatidis* が感染してもほとんど症状が顕れない。オタマジャクシは変態とともにケラチンの分布が増えてくるが、それに伴って*B. dendrobatidis* の感染が広がり、症状が顕れるようになり、重篤な場合は死に至る。

B. dendrobatidis が淡水性のエビ (*Caridina zebra* : ヤマトヌマエビ属の1種および *Macrobrachium* spp. : テナガエビ属) に寄生できることが明らかになっている⁴⁾。したがって、*B. dendrobatidis* はたとえカエルが絶滅しても種を維持することができることと、*B. dendrobatidis* の伝播はカエルの成体やオタマジャクシのみならず、淡水性エビもその役割を果たすことが推測されている。

II. 臨床症状と病理学的所見

1. 症状

ツボカビ症に対する感受性はカエル種によって異なり、アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) やウシガエル (*Rana catesbeiana*) は感染しても発症しないことが知られている。しかし、多くのカエル種では症状が現れ、致死率も90%を超える場合がある。

感染すると食欲不振、沈鬱などの非特異的の症状で発症し、症状は進行し、縮腫、筋協調不能、異常な姿勢、立ち直り反射の消失などが現れ、発症してから2～5週で死亡する。発症後4～5日以内に死に至る急性症もある。皮膚病変は表皮における角質増殖症と過形成によって特徴付けられる。角質層は不規則になり、表皮の表面直下にある細胞が消失し、遊走子嚢と表皮細胞の残骸を含む空隙ができる。その結果として、皮膚の表層が剥がれ落ちる。

組織学的変化として、ほとんどのカエルに病原体に隣接する表皮角化層部分に限局性の表皮の過形成、角化亢進や糜爛がみられる。表皮の不規則な肥厚および表皮細胞の軽度の限局性壊死も認められることがある。角質層の標準の厚さは2～5μmであるが、*B. dendrobatidis* による重度の感染では、厚さが最大60μmにまでなる。病巣部下層に炎症細胞浸潤がみられるが概して軽度である。

ツボカビ症による死の機序として、1) 表皮の過形成により不可欠な皮膚呼吸または浸透圧調整の阻害、2) 真菌の毒素の吸収、3) これらの要因の複合の3つが考えられている。

2. 診断

B. dendrobatidis の診断は組織学的に行われる。感染皮膚の湿潤押捺標本や皮膚の病理組織標本を観察する。迅速診断法としては、皮膚を搔爬し、塗抹後、無染色で鏡検する方法があるが、診断には専門的技術が必要である。生きているカエルでは、先述の皮膚搔爬あるいは肢端(爪先)(Toe clips)を摘み、組織学的に診断する。オタマジャクシでは、口器を含む頭部の組織標本作製する。

診断法として培養法もあるが、検出感度が低い、操作が煩雑、日数がかかるなどの問題がある。研究

レベルでは遺伝学的手法 (PCR、リアルタイム PCR) が用いられる。

Ⅲ. *B. dendrobatidis*の起源と世界的分布

現在、世界中に広がっている *B. dendrobatidis* の起源に関するデータは乏しい。その中で、*B. dendrobatidis* の保有の記録、保有率の動向などのデータから、南アフリカにもともと分布していた *B. dendrobatidis* がアフリカツメガエルとその近縁種 (*Xenopus* spp.) を保有動物として世界中に広がっていったという説が有力となっている。

南アフリカの複数の博物館に保存されている *Xenopus* spp. の標本の皮膚を採取し、1871～2001年における保有率の動向を調査したところ⁵⁾、ツボカビ症の最初の記録は、the South African Museum の標本の中から検出されたアフリカツメガエル (1938年)、次いで南アフリカの the National Museum に保存されていたケープツメガエル (*Xenopus gilli*) (1943年) から得られた。その後の検出率は0～6.3%で推移し、大きな変化や上昇する傾向はみられなかった。

アフリカツメガエルが起源である理由として、①アフリカツメガエルにおける保有率が長期間にわたり大きく変化していない、②アフリカツメガエルは感染しても顕著な症状が顕れない、③最も古い感染の記録がアフリカにある、④生息地域でのカエルの個体数の減少はみられない、⑤アフリカでの地理的な分布の拡大がみられない、⑥貿易によるアフリカツメガエルの地球規模の拡散により説明がつく、が挙げられている。

アフリカ以外ではカナダの *Rana clamitans* (1961年)、米国の Yosemite Toads (*Bufo canorus*) (1976年)、オーストラリアのキアシアメガエル (*Litoria gracilentia*) (1978年)、中央アメリカ (メキシコ) のタラフマラガエル (*Rana tarahumarae*) (1983年)、南アメリカ (ベネズエラ) の *Atelopus cruciger* (1986年)、スペインのサンバガエル (*Alytes obstetricans*) (1997年)、ニュージーランドの Green and Gold Frog (*Litoria raniformis*) (1999年)、ドイツのヤドクガエルおよびフキヤガエル (1999年)、イギリスのウシガエル (*Rana catesbeiana*) (2004年) などの記録がある。1961年以降、アフリカ以外の地域で

ツボカビ症が発見される頻度が徐々に増えており、これは感染が拡大していった状況を反映しているとされている。*B. dendrobatidis* はこれまでのところ、北中南米、アフリカ、オーストラリア、ニュージーランド、欧州に分布している。

オーストラリアでは1978年に初めて確認されて以来、各地に感染が拡大し、クイーンズランド沿岸では年に100kmの速さで広がったと試算されている。カエルの219種中49種で感染が確認され、北部の雨林地域などで多くのカエル種の個体数が減少した、あるいは絶滅したと推測されている。

中央アメリカでは1980年代に感染が確認され、国境を越えて感染地域が広がった。パナマでは隣国コスタリカから西から東に向かって年に約28km以上の速さで感染が拡大した。Lipsらによるパナマの El Copé での調査では、2004年9月に初めてツボカビ症が発見され、数カ月後には個体数の90%以上が失われ、監視地域に生息するカエル種の60%以上が絶滅したと推測された⁶⁾。

日本とアジアではツボカビ症は確認されていなかった。しかし、2006年12月に都内の飼育者が所有する外国産のカエルに、ツボカビ症を疑う症状がみられた。直ちに病理組織学的検査とPCR法による特異遺伝子の検出を試みたところ、典型的な組織所見とPCR産物が得られ、12月25日にツボカビ症が確定された。この事例はアジアにおいて最初のカエルのツボカビ症の確認となった。年が明けて、さらに埼玉県のカ所のペットショップのカエルでもツボカビ症を確認している。現在、全国から主として外国産のペット用・餌用のカエルの検査試料が集められ、*B. dendrobatidis* 感染の確認検査が進められている。

Ⅳ. 疫学

1. 流行株

B. dendrobatidis の多型性を multilocus sequence typing (MLST) により解析した報告がある⁷⁾。この調査は、ツボカビ症の流行は、①原因菌がこれまでに発生の無い地域に持ち込まれたためか、②既に分布しているが気候の変化等の何らかの要因により宿主-病原体関係が崩れたことによるかを明らかにす

ることを目的に実施された。米国で分離された株を中心に、オーストラリアやパナマ、アフリカに由来する35株を対象にして、10カ所の標的遺伝子の塩基配列を比較したところ、変異はわずかであったが、10タイプに分けられた。アフリカ、パナマおよびオーストラリアの分離株の変異は類似しており、一方で北米分離株は異なっていた。この結果はパナマとオーストラリアにアフリカから特定の遺伝子変異を有する *B. dendrobatidis* が移入され、それぞれの地域のカエル種に感染したことで劇的な個体数の減少と種の絶滅を惹き起こしていることを暗示していた。ただし、この解析の対象とした株は35株に過ぎず、由来も米国に偏っている。今後さらに広い地域から多くの株を収集してデータを蓄積する必要がある。

2. 感染拡大の担い手

(1) 地球規模の拡大

伝播の役割を果たした動物として、いずれも種々の目的で世界中に移入されているアフリカツメガエルおよび近縁種 (*Xenopus* spp.) およびウシガエル (*Rana catesbeiana*) が疑われている。これらのカエルは *B. dendrobatidis* に感染してもほとんど症状が現われないうちで無症状でありながら、体表からは病原体が検出される状態で経過する。

アフリカツメガエルは1934年に妊娠診断のアッセイとしての使用が可能であることが明らかとなり、1970年代には科学的研究などの目的で大量に世界中に送り込まれた。次いでウシガエルなどの別の両生類に *B. dendrobatidis* が移り、ベクターとしての役割を果たすことになったとされている。ウシガエルは食用として養殖用に世界各地に移入された。上記のカエル以外に、ペットとしてあるいは展示動物として種々の両生類が国際的に取引されている。これらの両生類が伝播の役割を果たしている可能性も否定できない。

(2) 地域的な拡大

海外からカエルとともに *B. dendrobatidis* が移入された地域では、種々の経路によって拡散することが推測されている。分布域の拡大の速さは、少ないデータに基づいて計算された数値ではあるが、パナマでは年に約28km、オーストラリアでは約100kmと算出されている。

ツボカビ症の地域的な拡大では、カエル以外の動物が運ぶことも懸念されている。例えば、ウシの蹄に付いた土壤に遊走子が含まれている場合や水禽類に付着していることが想定されている。当然、ヒトの種々の活動において、遊走子を含む土壤や水を運ぶ可能性もある。カエルの観察者の靴などに付着した土壤などや自動車やオートバイといった車両を介して伝播される可能性があることも指摘されている。

V. 地球温暖化とツボカビ症発生の関連性

地球温暖化がツボカビ症によるカエルの個体数の劇的な減少や絶滅に関連すると結論した論文が散見される^{9,10}。感染症発生のダイナミクスが地球規模で急激に変化した証拠を示したとして、高く評価する意見がある。一方で、気候の変化を過大にあるいは誤って評価しているとした気象学者の意見も散見される。これらの論文は、ツボカビ症が新興感染症であり、汚染されていない地域に広がったことでカエルの個体群が多大な影響を受けていることをほとんど論じていない点に問題があるようにも思われる。

ツボカビ症の突然の出現に対し、新たに世界中に広がったとする説と、もともと世界中に分布していたとする説の、2つの仮説が論じられている¹¹。ツボカビ症がアメリカ大陸やオーストラリアあるいは欧州の土着の感染症ではないことは、*B. dendrobatidis* の起源に関する調査⁶ や Lips らによるパナマでのモニタリング調査⁷ あるいは MLST 解析⁸ 等により明らかである。また、アフリカツメガエルやウシガエルあるいはヒトによりアフリカから世界各地に広げられた可能性が極めて高い。その結果、これまでに感染の経験がない感染症に対して高感受性のカエル種においては90%以上という極めて高い致死率に達したと推測される。地球の温暖化とツボカビ症による個体数の減少は、ツボカビ症の侵入によるカエルの急激な減少と気候の変化(温暖化)の時期が偶然重なっただけであるという可能性も考えられる。地球温暖化により感染症のダイナミクスが変化する可能性は十分に推測されるが、ツボカビ症とカエルの個体数の減少がその1例となるか否かは、今後さらに慎重な解析が必要である。

おわりに

全世界の5,743種の両生類のうち少なくとも2,469種(43%)の個体数が減少し、1,856種(32%)が絶滅の危機に瀕している。さらに、劇的な減少が顕著となった1980年以降、9種が絶滅し、113種が絶滅した恐れがあるとされている。地球の温暖化とツボカビ症発生の関連性は今後の解析が必要であるが、多くのカエル種がさまざまな原因により絶滅に瀕しているのは事実である。

日本には固有種を含む42種・亜種の無尾類(カエル)と22種・亜種の有尾類(イモリ、サンショウウオ)が生息している。これらの動物を守ることは、わが国の生物多様性を保つためにも、人知のおよばない生態系の仕組みを維持するためにも極めて重要なことである。現時点では飼育下だけで確認されている*B. dendrobatidis*が野外に生息する両生類に広がり、個体数の減少に拍車をかけ、絶滅を招くことだけは絶対に避けなければならない。発見されてからまだ日の浅い*B. dendrobatidis*の多方面からの調査・研究は不可欠であるが、同時に両生類の飼育者や販売業者、その他の関連する人々に対する啓発を行い、野外に広げないようにするための協力を呼びかけることも強力に進めなければならない。

文 献

- 1) Longcore JE, Pessier AP, Nichols DK.: *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia*, **91** : 219-227, 1999.
- 2) Berger L, et al: Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. *Proc Natl Acad Sci USA*, **95** : 9031-9036, 1998.
- 3) Fellers GM, Green DE, Longcore JE.: Oral chytridiomycosis in the mountain yellow-legged frog (*Rana muscosa*). *Copeia*, **4** : 945-953, 2001.
- 4) Marantelli G, Berger L, Speare R, Keegan L.: Distribution of the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis* and keratin during tadpole development. *Pacific Conservation Biol*, **10** : 173-179, 2004.
- 5) Rowley JJJ, Alford RA, Skerratt LF.: The amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis* occurs on freshwater shrimp in rain forest streams in Northern Queensland, Australia. *EcoHealth*, **3** : 49-52, 2006.
- 6) Weldon C, du Preez LH, Hyatt AD, Muller R, Speare R.: Origin of the amphibian chytrid fungus. *Emerg Infect Dis*, **10** : 2100-2105, 2004.
- 7) Lips KR, et al.: Emerging infectious disease and the loss of biodiversity in a Neotropical amphibian community. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **103** : 3165-70, 2006.
- 8) Morehouse EA, et al.: Multilocus sequence typing suggests the chytrid pathogen of amphibians is a recently emerged clone. *Mol Ecol*, **12** : 395-403, 2003.
- 9) Pounds JA et al.: Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature*. **439** : 143-4, 2006.
- 10) Bosch J, Carrascal LM, Duran L, Walker S, Fisher MC.: Climate change and outbreaks of amphibian chytridiomycosis in a montane area of Central Spain; is there a link? *Proc Biol Sci*. **274** : 253-60, 2007.
- 11) Rachowicz LJ, et al.: The novel and endemic pathogen hypotheses: competing explanations for the origin of emerging infectious diseases of wildlife. *Conservation Biol*, **19** : 1441-1448, 2005.