



図 8

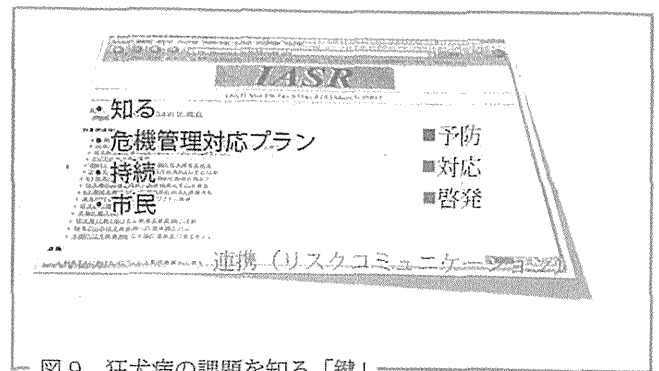


図 9 狂犬病の課題を知る「鍵」



図 10 狂犬病の予防は市民とともに

重要なズーノーシス（人獣共通感染症，動物由来感染症）と言える。将来，国内で狂犬病と言う悲惨な感染症が二度と起きないために，また，風評被害による不必要な社会的混乱を未然に防ぐために，国や自治体と医師・獣医師等専門家が連携した，有事に備えた現実的な現場対応マニュアルの作成と実地訓練による効果的なリスク認知・低減といった危機管理の継続が期待される。（図 9，図 10）。

参考文献

- 1) WHO (2004) : WHO Expert Consultation on Rabies: First Report, WHO (WHO Technical Report Series, No. 931).
- 2) 井上 智 (2010) : モダンメディア別冊 56, 25-31.
- 3) WHO (1998) : World Survey of Rabies: No. 32 for the year 1996, WHO (WHO/EMC/ZDI/98.4; accessed 16 August 2007).
- 4) 井上 智 (2005) : MVM 82, 6-10.
- 5) Galperine,T., Neau,D., Moiton,M.P. et al. (2004) : Presse. Med. 33. 791-792.

- 6) 厚生労働省 (2007) : 病原体微生物検出情報 28, 64-65.
- 7) 井上 智 (2010) : モダンメディア別冊 56, 25-31.
- 8) Gould,K.L, Gooch,J.M. & Oda,A. (1969) : *Hawaii Med. J.* 28, 277-282.
- 9) Sasaki,D.M., Middleton,C.R., Sawa,T.R. et al. (1992) : *Hawaii Med. J.* 51, 181-185.
- 10) Constantine,D.G. (2003) : *Emerg. Infect. Dis.* 9, 17-21.
- 11) 井上 智 (2008) : 獣畜新報 61, 901-907.
- 12) 中嶋健介 (2005) : 小児科 46, 515-523.
- 13) 井上 智 (2005) : 日本臨床 63, 2180-2186.
- 14) 井上 智 (2008) : MVM 110, 6-7.
- 15) 井上 智 (2009) : ウイルス 狂犬病, ズーノーシスハンドブック: 医療関係者・獣医療関係者のための診断・治療ガイド (岸本寿男, 山田章雄 監修), 41-43, メディカルサイエンス社.
- 16) 日本学術会議生産農学委員会獣医学分科会 (2008) : 提言: 狂犬病対策システムの構築に向けて (平成 20 年 8 月 28 日).

THE JOURNAL OF THE JAPANESE ASSOCIATION
FOR INFECTIOUS DISEASES
May, 2011, p238—243
0387—5911

1950年代に東京都内で分離された動物由来の
狂犬病ウイルスの分子疫学解析

東京都健康安全研究センター微生物部

畠山 薫 貞升 健志 甲斐 明美

感染症学雑誌 第85巻 第3号 別刷

1950年代に東京都内で分離された動物由来の 狂犬病ウイルスの分子疫学解析

東京都健康安全研究センター微生物部

畠山 薫 貞升 健志 甲斐 明美

(平成22年11月17日受付)

(平成23年1月18日受理)

Key words: rabies virus, phylogenetic analysis

要 旨

1950年代に東京都内で分離された狂犬病ウイルス10株と日本の狂犬病固定毒株である小松川株、高免株、西ヶ原株ならびに動物用ワクチン株RC-HL株および世界各地の狂犬病ウイルス86株の核タンパク(N)遺伝子領域における系統樹解析を行った。東京都で分離された株は、2グループ(Tokyo 1, Tokyo 2)に分類された。2グループとも、ヨーロッパ、アフリカ、アジア、アメリカからなる広域クラスターに属していた。Tokyo 1グループは、1930年代、40年代にアメリカ合衆国西海岸のイヌから分離された株とサブクラスターを形成し、Tokyo 2グループはロシアハバロフスクのraccoon dogやバイカル湖地域のstepped foxから分離されたウイルスと同じクラスターを形成する小松川株と近縁であった。これらのことから、1950年代に東京都内で流行していた狂犬病ウイルスは、ロシアおよびアメリカ由来のウイルスと関連性があったものと推測された。

(感染症誌 85: 238~243, 2011)

序 文

狂犬病は、ラブドウイルス科(Rhabdoviridae)リッサウイルス属(Genus *Lyssavirus*)に属する狂犬病ウイルス(*Rabies virus*)を原因とする動物由来感染症であり、発症すると有効な治療法が無く、ほぼ100%死亡する危険な感染症である。本ウイルスに対して、哺乳動物のほとんどが感染可能であり、ヒトをはじめ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマなどの家畜や、キツネ、オオカミ、ジャッカルの、アライグマ、スカンク、マンダース、コウモリなどの野生動物が感受性動物として知られている。

狂犬病の流行を媒介している動物は、国や地域により異なっている。アジア諸国では、イヌで狂犬病が流行しており、ヒトは主にイヌからの咬傷で感染する。一方、イヌの狂犬病の制御がされているヨーロッパや北米では、コウモリ、アライグマ、スカンク、キツネ等で流行しており、これら野生動物からの咬傷や接触により、ヒトへの感染が報告されている。

現在でも、全世界で年間3~5万人が、狂犬病で亡くなっており、狂犬病は、今なお世界規模で流行している感染症であるといえる。

日本では、1950(昭和25)年に制定された狂犬病予防法により狂犬病対策が推進され、1956(昭和31)年のイヌ6頭を最後に国内での狂犬病の発生は報告されてない¹⁾。しかしながら、1970年に日本人1名がネパールで、2006年には日本人2名がフィリピンで狂犬病ウイルスに感染し、帰国後発症し死亡した輸入症例の報告があり²⁾、日本において狂犬病は、輸入感染症として注意すべき疾患となっている。

1950年代に日本で流行していた狂犬病ウイルスの解析情報は乏しく、わずかに1940年代にヒト患者もしくはイヌから分離されfixed virus(固定毒)と定義付される西ヶ原株、小松川株および高免株および動物用ワクチン株であるRC-HL株についての核タンパク(N)遺伝子の解析が行われた報告のみである³⁻⁶⁾。

我々は、1950年代に東京都内で動物から分離され、凍結乾燥保存されていた狂犬病ウイルス野外株について、N遺伝子を解析し、当時都内に存在していた狂犬病ウイルスの型別を行うとともに、海外から都内への

別刷請求先: (〒169-0073) 東京都新宿区百人町3-24-1
東京都健康安全研究センター微生物部

畠山 薫

Table 1 Rabies virus strains isolated in Tokyo

Strain	Date isolated	Animal	Gender, Age*	Site
RSV- 40	Feb. 1954	Dog	M, 3M	Suginami city
RSV- 41	Feb. 1954	Dog	M, -	Kita city
RSV- 57	Mar. 1954	Dog	F, 6M	Adachi city
RSV- 58	Apr. 1953	Dog	M, 6M	Itabashi city
RSV- 70	Mar. 1954	Dog	M, 2Y	Suginami city
RSV-121	May. 1954	Dog	F, 2M	City of Fuchu
RSV-125	May. 1954	Dog	F 1Y	Shibuya city
RSV-145	Jun. 1954	Dog	M -	Katsushika city
RSV-170	Ju. 1954	Dog	- -	City of Fuchu
RSV-208	Sep. 1954	Lama	F -	Taito city

*M: Male, F: Female, - : unknown

Table 2 Primer pairs used for RT-nested PCR

Target gene	Primer	Sequence (5'-3')	Length of PCR products (bp)
N	10g-2 F	CTACAATGGATGCCGACAAG	510
	R11-2 R	TCTATCCTATCTGCRATGTTTG	
	F12 F	TTGTATTTCAGAGCTAATAATCAG	490
	R13-2 R	TTTTATAGTTACCRGTGTTTG	

侵入ルートに関して考察を行ったので報告する。

材料と方法

1. 供試材料

1950年代に都内で発生した、動物における狂犬病検体由来の脳またはマウス接種後の脳乳剤として、東京都健康安全研究センターで凍結乾燥し保存されていた10株 (Table 1) を供試し、ウイルスRNAの抽出を行った。RNA抽出試薬は、セバジーンRVR (三光純薬) を使用して行った。また、PCR陽性コントロールとして、動物用狂犬病TCワクチン (化血研) を使用した。

2. RT-nested PCR法による狂犬病ウイルスN遺伝子の検出

抽出した狂犬病ウイルスのN遺伝子を検出し、解析する目的で、Table 2に示したプライマーを用いRT-nested PCR法を行った⁹⁾。

PCR反応は、10g-2プライマーを用いた逆転写反応によりcDNAを作成後、R11-2プライマーを加えPCR反応を行い、ついで、F12、R13-2のプライマーペアで2回目のPCR (nested PCR) 反応を行った。PCR反応の条件は、94°C1分後、94°C30秒、53°C30秒、72°C90秒を30サイクル行い、最後に72°C7分の反応を行った。

3. 狂犬病ウイルスN遺伝子の比較と系統樹解析

PCR反応終了後、2%アガロースゲル電気泳動により、490bpの特異バンドを確認し、特異バンドが認められた検体については、さらに2.5%低融点アガロー

スゲル (NuSieve GTG Agarose) で電気泳動後、特異バンドを切り出し精製し、Applied Biosystems 3130 ジェネティックアナライザーを用いた dye terminator cycle sequencing 法で遺伝子配列を決定した⁹⁾。得られた遺伝子配列はアミノ酸に変換して比較するとともに、NCBIに登録されている世界各地の狂犬病ウイルス株86株の遺伝子情報¹⁰⁻¹²⁾とあわせ、Mega 3を用いたNeighbor-Joining法¹³⁾により系統樹解析を行った。

結果

1. N遺伝子の塩基配列の比較

RT-nested PCR法により、凍結保存株10株ならびに陽性コントロールすべての遺伝子増幅が可能であった。増幅されたN遺伝子領域の塩基配列300bpにおいて比較を行ったところ、10株は塩基配列またはアミノ酸配列により、RSV57、58、70、121のグループ (Tokyo 1) とRSV40、41、125、145、170、208のグループ (Tokyo 2) に分類された (Fig. 1, 2)。Tokyo 1グループ4株の塩基配列は同一であり、Tokyo 2グループでは、RSV41、125、145、170、208の5株の塩基配列は同一であったが、RSV40は1カ所異なっていた。また、2つのグループのアミノ酸配列による比較を行ったところ、各グループ間で、5カ所のアミノ酸配列が異なっていた。RSV40のアミノ酸配列は他のTokyo 2グループ株と同じであったが、39番目のアミノ酸である、バリンでGTTからGTCへの変異が認められた (Fig. 1, 2)。

Fig. 1 Comparison of nucleoprotein (N) gene sequences produced by RT-nested PCR

Tokyo1	RSV-57	1:AGG CCT GAG ATT ATC GTG GAT CAA TAT GAG TAC AAG TAC CCT GCT ATG AAA GAT TTG AAA	60
	RSV-58	1:.....	60
	RSV-70	1:.....	60
	RSV-121	1:.....	60
Tokyo2	RSV-40	1:A.....A.....G.....G..C.....	60
	RSV-41	1:A.....A.....G.....G..C.....	60
	RSV-125	1:A.....A.....G.....G..C.....	60
	RSV-145	1:A.....A.....G.....G..C.....	60
	RSV-170	1:A.....A.....G.....G..C.....	60
	RSV-208	1:A.....A.....G.....G..C.....	60
Tokyo1	RSV-57	61:AAG CCT TGT ATA ACT GTA GGG AAA GCC CCC GAG TTA AAC AAA GCA TAC AAA TCA GTT TTA	120
	RSV-58	61:.....	120
	RSV-70	61:.....	120
	RSV-121	61:.....	120
Tokyo2	RSV-40	61:.....CA...T..C.....T..G..T..G.....T..G.....C..G	120
	RSV-41	61:.....CA...T..C.....T..G..T..G.....T..G.....G	120
	RSV-125	61:.....CA...T..C.....T..G..T..G.....T..G.....G	120
	RSV-145	61:.....CA...T..C.....T..G..T..G.....T..G.....G	120
	RSV-170	61:.....CA...T..C.....T..G..T..G.....T..G.....G	120
	RSV-208	61:.....CA...T..C.....T..G..T..G.....T..G.....G	120
Tokyo1	RSV-57	121:TCA GGC ATG AAT GCC GCC AAA CTT GAT CCG GAT GAT GTA TGC TCC TAC TTG GCA GCA GCA	180
	RSV-58	121:.....	180
	RSV-70	121:.....	180
	RSV-121	121:.....	180
Tokyo2	RSV-40	121:.....TT.....T.....G.....T.....T.....A.....C.....	180
	RSV-41	121:.....TT.....T.....G.....T.....T.....A.....G.....	180
	RSV-125	121:.....TT.....T.....G.....T.....T.....A.....C.....	180
	RSV-145	121:.....TT.....T.....G.....T.....T.....A.....C.....	180
	RSV-170	121:.....TT.....T.....G.....T.....T.....A.....C.....	180
	RSV-208	121:.....TT.....T.....G.....T.....T.....A.....C.....	180
Tokyo1	RSV-57	181:ATG CAG TTC TTT GAG GGG ATA TGT CCG GAA GAC TGG ACC AGC TAT GGA ATC CTG ATT GCA	240
	RSV-58	181:.....	240
	RSV-70	181:.....	240
	RSV-121	181:.....	240
Tokyo2	RSV-40	181:.....C.....T.....	240
	RSV-41	181:.....C.....T.....	240
	RSV-125	181:.....C.....T.....	240
	RSV-145	181:.....C.....T.....	240
	RSV-170	181:.....C.....T.....	240
	RSV-208	181:.....C.....T.....	240
Tokyo1	RSV-57	241:CGG AAA GGA GAC AAG ATC ACC CCG AAC TCT CTA GTG GAG ATA AAG CGT ACT GAT GTA GAA	300
	RSV-58	241:.....	300
	RSV-70	241:.....	300
	RSV-121	241:.....	300
Tokyo2	RSV-40	241:A.A.....T.....G.T.....T.....	300
	RSV-41	241:A.A.....T.....G.T.....T.....	300
	RSV-125	241:A.A.....T.....G.T.....T.....	300
	RSV-145	241:A.A.....T.....G.T.....T.....	300
	RSV-170	241:A.A.....T.....G.T.....T.....	300
	RSV-208	241:A.A.....T.....G.T.....T.....	300

2. N 遺伝子の系統樹解析

高免株, 西ヶ原株, 小松川株, RC-HL 株および NBCI に登録されている世界各地の狂犬病ウイルス 86 株の

遺伝子配列を選択し, 凍結保存株 10 株の塩基配列を加えた 96 株について, N 遺伝子領域 (490bp) の系統樹解析を行った (Fig. 3). その結果, 狂犬病ウイ

Fig. 2 Comparison of N protein amino acid sequences from nucleotide sequences

Tokyo1	RSV-57	1:RPEIIVDQYE YKYPAIKDLK KPGITLGKAP DLNKAYKSVL SGMNAAKLDP	50
	RSV-58	1:.....	50
	RSV-70	1:.....	50
	RSV-121	1:.....	50
Tokyo2	RSV-40	1:K.....S.....L.....	50
	RSV-41	1:K.....S.....L.....	50
	RSV-125	1:K.....S.....L.....	50
	RSV-145	1:K.....S.....L.....	50
	RSV-170	1:K.....S.....L.....	50
	RSV-208	1:K.....S.....L.....	50
Tokyo1	RSV-57	51:DDVGSYLA AA MQFFEGIOPE DWTSYGILIA RKGDKITPNS LVEIKRTOVE	100
	RSV-58	51:.....	100
	RSV-70	51:.....	100
	RSV-121	51:.....	100
Tokyo2	RSV-40	51:.....T.....D.....	100
	RSV-41	51:.....Y.....D.....	100
	RSV-125	51:.....T.....D.....	100
	RSV-145	51:.....T.....D.....	100
	RSV-170	51:.....T.....D.....	100
	RSV-208	51:.....T.....D.....	100

ルスは、大きく3つのクラスターに分かれた。クラスター1は、ヨーロッパ・中近東、アフリカI~III、日本・中国、北米、メキシコ、南米、ロシアI、ロシアII・日本型のサブクラスターを含む世界的に流行がみられるウイルスで、クラスター2は、中国、東南アジアに分布するウイルス、クラスター3は、北米に分布するウイルスであった。保存10株はすべて、クラスター1に属していた (Fig. 3)。

さらに、クラスター1の中でTokyo 1グループの4株はアメリカ合衆国西海岸で1930年代、1940年代にイヌから分離されたウイルス株と近縁のサブクラスターを形成した。また、Tokyo 2グループの6株は小松川株と極めて近縁なサブクラスターを形成した。両グループとも、1940年代に日本で分離された高免株、西ヶ原株および動物用ワクチン株であるRC-HL株とは、同じサブクラスターを形成しなかった。

考 察

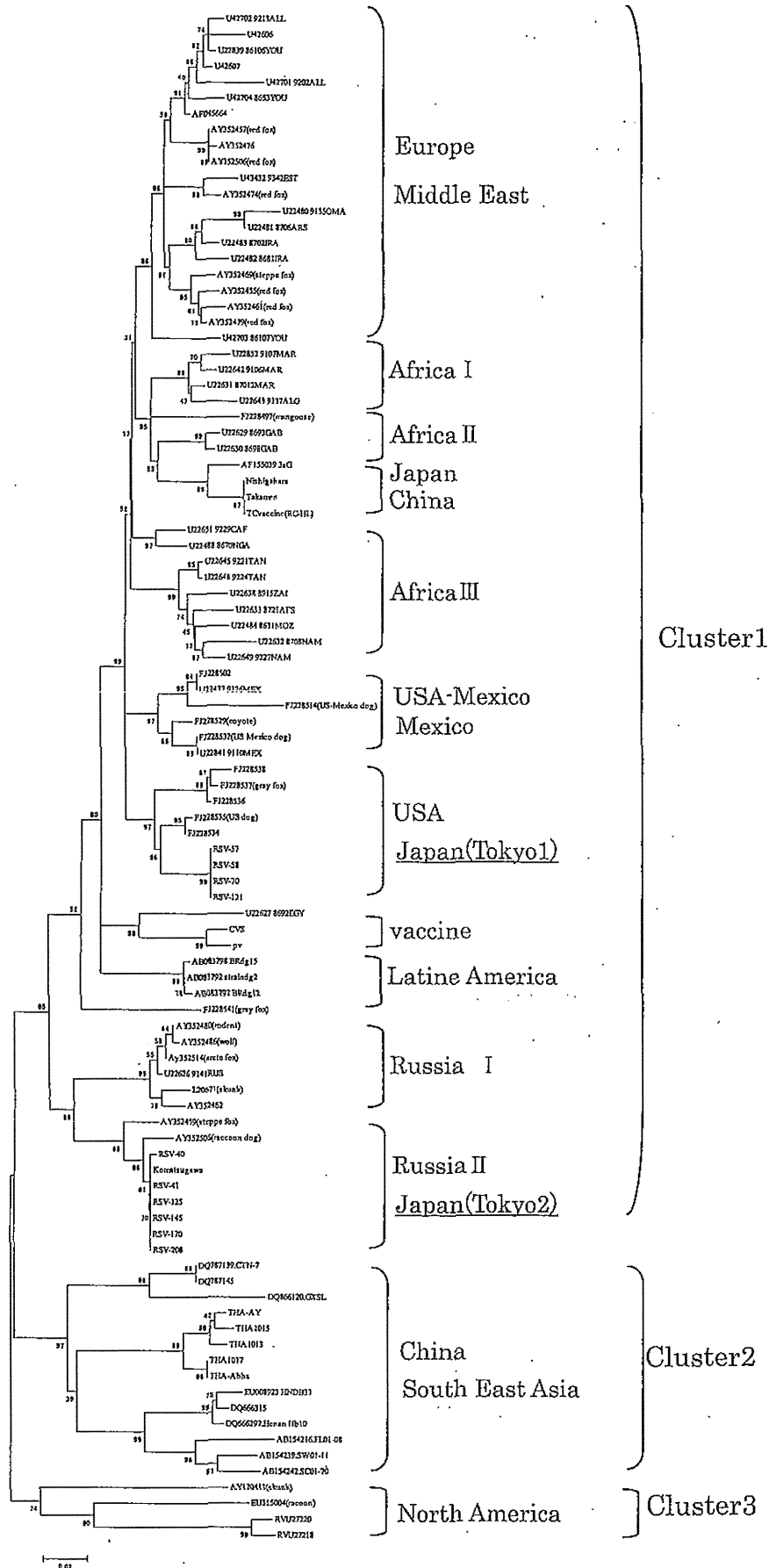
我が国の狂犬病ウイルスの伝播由来については、Araiら⁴⁵⁾やIto⁵⁾らが1940年代に日本で分離された西ヶ原株、高免株、小松川株および動物用ワクチン株RC-HL株のN遺伝子の解析結果を報告している。このうち、西ヶ原株、高免株およびRC-HL株は、99%の相同性があり、ほぼ同一株由来と推測されている。また、これら3株は中国3aG株と97.2%の相同性を示し、中国3aG株はヨーロッパの犬から分離された狂犬病ウイルス株にも近いことから、西ヶ原株、高免株およびRC-HL株は、ヨーロッパから中国、そして日本に伝

播したものとのものと推測されている⁴⁾。Smithら¹³⁾の報告でも、系統樹解析でクラスター1に属する狂犬病ウイルスは、18世紀から19世紀にかけて、ヨーロッパ各国が、アジア、アフリカ、アメリカへの植民地政策や貿易などの経済活動も盛んに行い、これによりヨーロッパから狂犬病に感染した犬が各国に運ばれ、世界中に伝播したと考えられている。一方、小松川株は、ロシアのハバロフスク地域のraccoon dogならびにバイカル湖地域のstepped foxから分離されたウイルスと塩基配列が近縁であることから、ロシア極東のウイルスの一部が日本へ伝播したものと推測されており⁴⁶⁾、我々の系統樹解析でも同様の結果が得られた。以上のことから1940年代に日本に分布していた狂犬病ウイルスは、ヨーロッパから中国を経由して日本に伝播したルート、ロシア極東から伝播したルートがあると結論づけられてきた⁴⁷⁻⁵⁾。

今回の我々の解析では、1950年代に都内で分離された狂犬病ウイルスは、N遺伝子のアミノ酸配列が5ヶ所で明らかに異なる2種類のグループ(Tokyo 1, 2)に分類された。Tokyo 2グループは、小松川株と塩基配列がほぼ同一であることから、小松川株同様にロシア極東から伝播した株と推測された。

一方、Tokyo 1グループは、クラスター1に属するものの、西ヶ原株、高免株や小松川株とは異なるクラスターに属し、1930年代および1940年代にかけてアメリカ合衆国西海岸のイヌ等から分離された狂犬病ウイルスとサブクラスターを形成した。したがって、1950

Fig. 3 Phylogenic nucleoprotein (N) gene tree (490bp fragment) from 96 rabies viruses



年代に東京都内で流行していた狂犬病ウイルスは、ロシア極東ルート以外に北米大陸で発生していた狂犬病ウイルスと遺伝子学的に関連のあるウイルスが存在していたと推測された。当時、ヨーロッパ・中国ルート、ロシア極東ルート以外に、これまで報告されていなかった第3のルート、すなわち、北米大陸と日本をつなぐ伝播経路があったのではないかと推測される。

以上のことにより、1950年代以前の日本国内には、少なくとも起源が異なる3種類の狂犬病ウイルスが存在していたと推測された。

しかしながら、今回われわれが行った狂犬病ウイルスの解析は、1953年、1954年の2年間に分離された狂犬病ウイルス10株のみであり、それ以前の株は保存されていないため、Tokyo 1グループの狂犬病ウイルス株が1930年代、1940年代から国内に存在したか、それとも1950年代の限定された期間のみに国内に存在していたかは不明である。また、遺伝子解析においても、N遺伝子領域の一部の結果でしかないため、今後も他の領域を解析していくことで、さらに詳細な情報を明らかにしていきたいと考えている。

文 献

- 1) 上木英人：東京狂犬病流行誌（復刻版）。時空出版、東京、2007。
- 2) 山本舜悟、岩崎千尋、大野博司、二宮 清：本邦36年ぶりの狂犬病輸入症例の報告—京都の事例。病原微生物検出情報（国立感染症情報センター）2007；28：63—4。
- 3) 高橋華子、相楽裕子、藤田せつ子、林 宏行、吉田幸子、井上 智、他：本邦36年ぶりの狂犬病輸入症例の報告—横浜の事例。微生物検出情報（国立感染症情報センター）2007；28：64—5。
- 4) 新井陽子：1940年代に分離された日本の狂犬病ウイルス（高免株と小松川株）の系統樹解析。感

染症誌 2004；78：818—21。

- 5) Ito N, Sugiyama M, Oraveerakul K, Piyaviriyakul P, Lumlerdacha B, Arai YT, *et al.* : Molecular epidemiology of rabies in Thailand. *Microbiol Immunol* 1999 ; 43 : 551—9.
- 6) Arai YT, Yamada K, Kameoka Y, Horimoto T, Yamamoto K, Yabe S, *et al.* : Nucleoprotein gene analysis of fixed and street rabies virus using RT-PCR. *Arch Virol* 1997 ; 142 : 1787—96.
- 7) 畠山 薫, 内谷友美, 奥野ルミ, 貞升健志, 保坂三継, 甲斐明美：狂犬病診断のための遺伝子検査法の改良。東京都健安研年報 2009 ; 49—54.
- 8) Herve B, Bachir K, Laurent A, Marchin S, Malgorzata S, Katariina K, *et al.* : Ecology and evolution of rabies virus in Europe. *J Gen Virol* 1999 ; 80 : 2545—57.
- 9) Ivan VK, Alexandr DB, Lorraine MM, Jean SS, Lillian AO, Gareth JH, *et al.* : Molecular epidemiology of terrestrial rabies in the former Soviet union. *J Wildl Dis* 2004 ; 40 (4) : 617—31.
- 10) Andres VV, Serena AR, Lillian AO, Pamela AY, Richard F, Jesse DB, *et al.* : Enzootic Rabies Elimination from Dogs and Reemergence in wild terrestrial carnivores, US. *Emerg Infect Dis* 2008 ; 14 (12) : 1849—54.
- 11) Shoufeng Z, Aing T, Xianfu W, Ye L, Fei Z, Charles ER, *et al.* : Rabies in ferret badgers, Southeastern China *Emerg Infect Dis* 2009 ; 15 (6) : 946—9.
- 12) Naruya S, Masatoshi N : The Neighbor-joining Method. *Mol. Biol. Evol* 1987 ; 4 (4) : 406—25.
- 13) Jean SS, Lillian AO, Pamela AY, H David S, Cynthia KW : Epidemiologic and historical relationships among 87 rabies virus isolates as determined by limited sequence analysis. *J Infect Dis* 1992 ; 166 : 296—307.

Phylogenetic Analysis of Rabies Viruses Isolated from Animals in Tokyo in the 1950s

Kaoru HATAKEYAMA, Kenji SADAMASU & Akemi KAI

Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

Molecular epidemiological analysis of 96 rabies viruses isolated from animals in Tokyo in the 1950s involves Japanese fixed virus, Komatsugawa, Takamen, and Nishigahara strains.

Strains isolated in Tokyo were divided into Tokyo 1 and Tokyo 2, and grouped into a worldwide distribution cluster differing from Takamen and Nishigahara. Tokyo 1 was grouped into the same cluster as viruses isolated from United States west coast dogs in the 1930s and 1940s. Tokyo 2 was grouped into the same cluster as the Komatsugawa strain, also known as a cluster of viruses from the Khabarovsk raccoon dog, and the Lake Baikal stepped fox in Russia.

These findings suggest that 1950s Tokyo rabies viruses were related to those in Russia and the USA.

資料 7

第一回 翼手目専門家と 公衆衛生専門家の 合同会議（仮）

会議資料

日時：平成 24 年 1 月 28 日（土）、14-17 時

場所：国立感染症研究所共用第二会議室

プログラム (案)

1) あいさつ・概要説明 (10分)

井上智 (国立感染症研究所 獣医科学部 第二室長)

2) 公衆衛生事例の紹介 (アンケートまとめ) (10分)

加来義浩 (国立感染症研究所 獣医科学部 第二室)

3) 翼種目に関する発表 (各 30分)

・コウモリ類の生活史

船越公威 (鹿児島国際大学 国際文化学部 生物研究室)

・哺乳類の染色体研究と公衆衛生学的研究協力の可能性

原田正史 (大阪市立大学大学院 医学研究科
基礎医科学専攻 分子生体医学大講座)

・分類と分子系統および移動の可能性

河合久仁子 (北海道大学北方生物圏フィールド科学センター)

4) 公衆衛生事例の紹介 (20分、自治体関係者の皆さま)

5) 合同会議で継続したいコウモリに関する調査・研究の提案、等

出席者（順不同、敬称略）

◇翼手目専門家

船越公威

鹿児島国際大学 国際文化学部生物研究室

原田正史

大阪市立大学大学院 医学研究科基礎医科学専攻 分子生体医学大講座

河合久仁子

北海道大学北方生物圏フィールド科学センター

◇公衆衛生専門家

木上照子

京都府保健環境研究所 細菌・ウイルス課

小野敏夫

群馬県高崎市 保健医療部 生活衛生課（環境衛生担当）

浦口宏二

札幌市・北海道立衛生研究所・感染症部・医動物 G

井上智

国立感染研究所 獣医科学部 第二室 室長

加来義浩

国立感染症研究所 獣医科学部 第二室 主任研究官

コウモリ類の分類、分子系統および移動の可能性

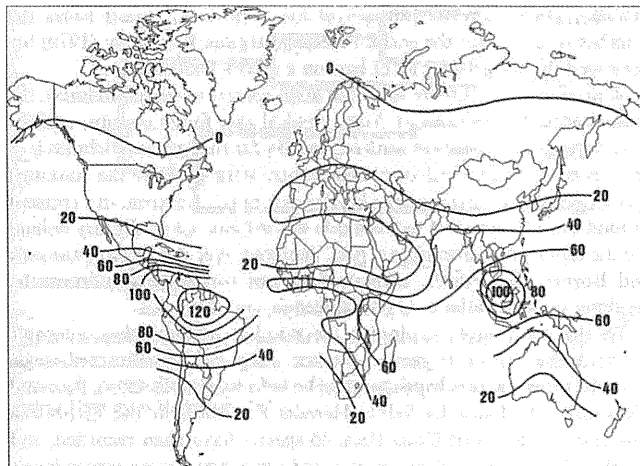
北海道大学北方生物圏フィールド科学センター
研究員 河合久仁子

本日のトピック

1. コウモリ類の分類
2. 日本産コウモリ類の分類と分子系統
3. 日本産コウモリ類の移動について
 - ①日本産コウモリ類の長距離移動の実例
 - ②ヒメヒナコウモリ *Vespertilio murinus*について
～長距離移動の可能性～

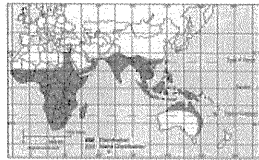
1. コウモリ類の分類

500km²における翼手目の種数

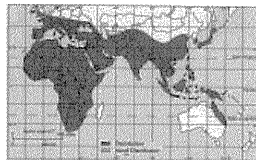


Findley(1993)より

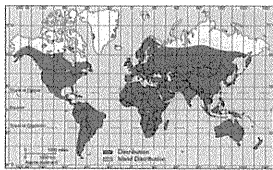
各科の分布域



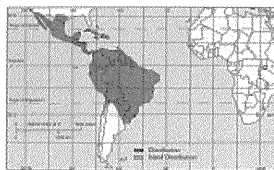
Pteropodidae
オオコウモリ科



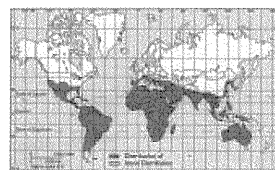
Rhinolophidae
キクガシラコウモリ科



Vespertilionidae
ヒナコウモリ科



Phyllostomidae
ヘラコウモリ科



Mollosidae
オヒキコウモリ科

伝統的な分類

Chiroptera (翼手目)

・Megachiroptera (大翼手亜目)
基本的にエコロケーション能力を持たない



・Microchiroptera (小翼手亜目)
エコロケーション能力を持つ
4つの上科に分類される

キクガシラコウモリ上科 (Rhinolophoidea)

サシオコウモリ上科 (Emballonuroidea)

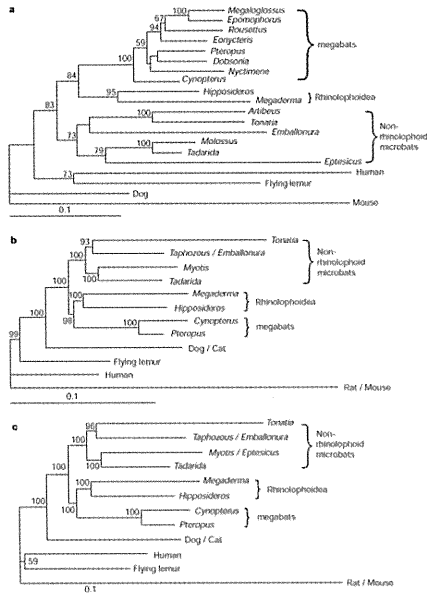
ヘラコウモリ上科 (Noctilionoidea)

ヒナコウモリ上科 (Vespertilionoidea)



Form Bats in question
Photoby Merlin D. Tuttle

オオコウモリ科・キクガシラコウモリ上科・小翼手亜目



大翼手亜目

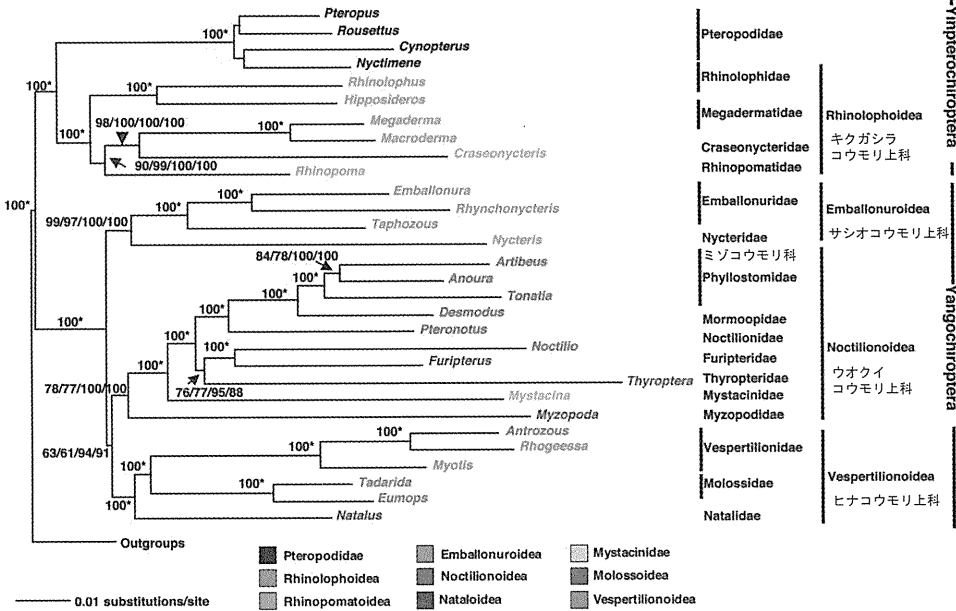
小翼手亜目

近縁

小翼手亜目であるキクガシラコウモリ上科は他の小翼手亜目よりもオオコウモリ科に近縁である。

Teeling et al. Nature 403, 188 - 192 (2000)より

分子系統樹から提唱される新しい分類群



Teeling et al. 2005より

コウモリ類の新種記載が現在でも頻繁な理由

1. これまで調査されていなかった地域から新種が発見され記載される (たとえば、パプアニューギニア、ベトナムの山岳地帯、ミャンマーなど)
2. 分類の見直し (亜種が種として認められる、または一つの地域個体群と見なされていたグループが種として認められるなど)

エコロケーション音の違いから指摘された cryptic species

Bimodal echolocation in pipistrelle bats: are cryptic species present?

GARETH JONES¹ AND SOFIE M. VAN PARIJS²

¹ Department of Zoology, University of Bristol, Woodland Road, Bristol BS8 1UG, U.K.
² Guiton College, University of Cambridge, Cambridge CB3 0HU, U.K.

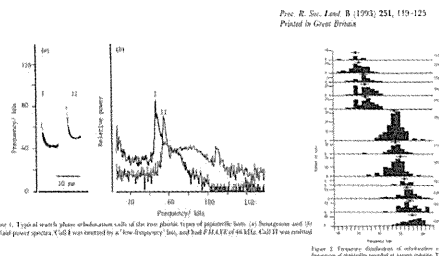


Figure 1. Type of search phase echolocation calls of the two phenetic types of pipistrelle bats: (1) *Pipistrellus pipistrellus* and (2) *Pipistrellus hesperus*. Call 1 was recorded at a low frequency (50 kHz) and call 2 at a high frequency (100 kHz). Call 2 was recorded at a high frequency (100 kHz).

Figure 2. Frequency distribution of echolocation call duration of pipistrelle recorded at various habitats. The

DNA answers the call of pipistrelle bat species

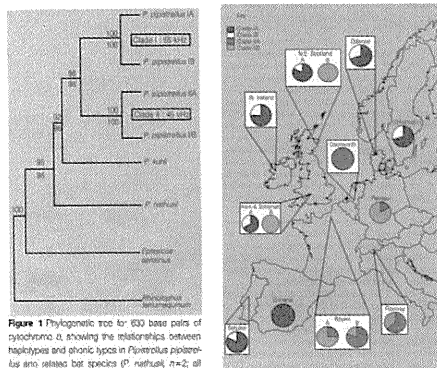


Figure 1. Phylogenetic tree for 630 base pairs of cytochrome *b*, showing the relationships between haplotypes and phenetic types in *Pipistrellus pipistrellus* and related bat species (*P. nathusii*, *n*=2; all

同じ種内で音声の違いが見つかる(2タイプの音声)。
 音声が変わったものが同所的にコロニーを作ることはない。
 同所的に採餌することもある。
 →音声の違う2グループは、遺伝的にも離れたグループであることがわかる。その後、2グループはそれぞれ種として認識されるようになる。

2. 日本産コウモリ類の分類と分子系統

日本産コウモリ類37種 (うち3種は絶滅種)

科		属	
オオコウモリ科	Pteropodeidae	<i>Pteropus</i>	3(1)
キクガシラコウモリ科	Rhinolophidae	<i>Rhinolophus</i>	4
カグラコウモリ科	Hipposideridae	<i>Hipposideros</i>	1
ヒナコウモリ科	Vespertilionidae	<i>Eptesicus</i>	2
		<i>Nyctalus</i>	2
		<i>Pipistrellus</i>	3(1)
		<i>Barbastella</i>	1
		<i>Plecotus</i>	1
		<i>Hypsugo</i>	1
		<i>Vespertilio</i>	2
		<i>Myotis</i>	9
		<i>Murina</i>	4(3)
		<i>Miniopterus</i>	2
オヒキコウモリ科	Molossidae	<i>Tadarida</i>	2

Sano et al. 2009

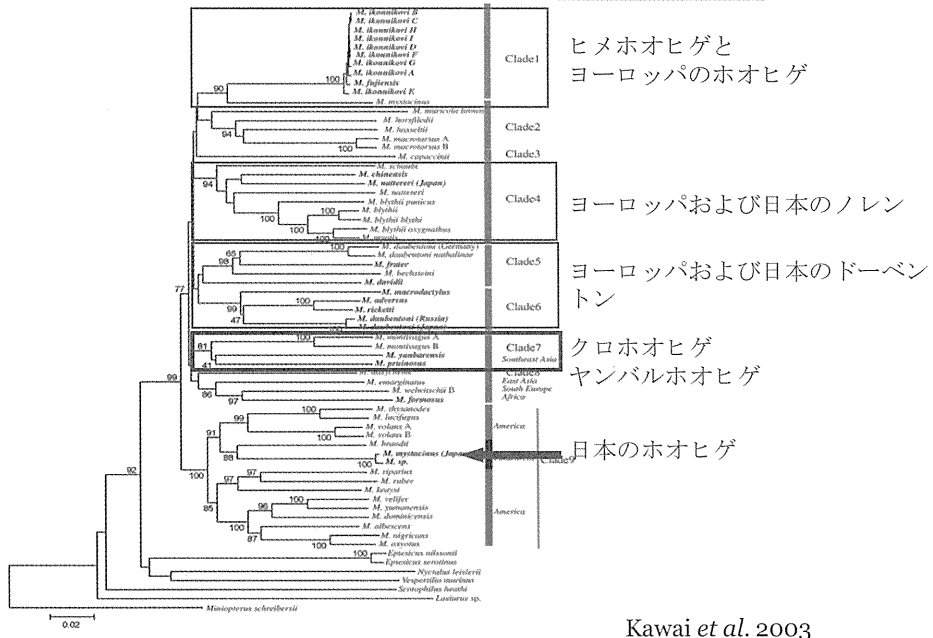
日本産ホオヒゲコウモリ属の学名の変遷

	Sano et al. 2009	Maeda 2005	Maeda 1996	Yoshiyuki 1989
ヒメホオヒゲコウモリ	<i>Myotis ikonnikovi</i>	<i>Myotis ikonnikovi</i>	<i>Myotis ikonnikovi</i>	<i>Myotis hasonoi</i> (Nagano Pref.) <i>Myotis ozensis</i> (Oze) <i>Myotis yesoensis</i> (Hokkaido) <i>Myotis ikonnikovi</i> (Toya-lake) <i>Myotis fujienensis</i> (Honsyu)
ウスリ-ホオヒゲコウモリ	<i>Myotis gracilis</i>	<i>Myotis gracilis</i>	<i>Myotis mystacinus</i>	<i>Myotis gracilis</i> (Hokkaido)
カグヤコウモリ	<i>Myotis frater</i>	<i>Myotis frater</i>	<i>Myotis frater</i>	<i>Myotis frater kaguyae</i>
クロアカコウモリ	<i>Myotis formosus</i>	<i>Myotis formosus</i>	<i>Myotis formosus</i>	<i>Myotis formosus tuensis</i>
モモジロコウモリ	<i>Myotis macrodactylus</i>	<i>Myotis macrodactylus</i>	<i>Myotis macrodactylus</i>	<i>Myotis macrodactylus</i>
ドーベントンコウモリ	<i>Myotis petax</i>	<i>Myotis daubentoni</i>	<i>Myotis daubentoni</i>	<i>Myotis daubentoni</i>
クロホオヒゲコウモリ	<i>Myotis pruinus</i>	<i>Myotis pruinus</i>	<i>Myotis pruinus</i>	<i>Myotis pruinus</i>
ノレンコウモリ	<i>Myotis nattereri</i>	<i>Myotis nattereri</i>	<i>Myotis nattereri</i>	<i>Myotis nattereri bombinus</i>

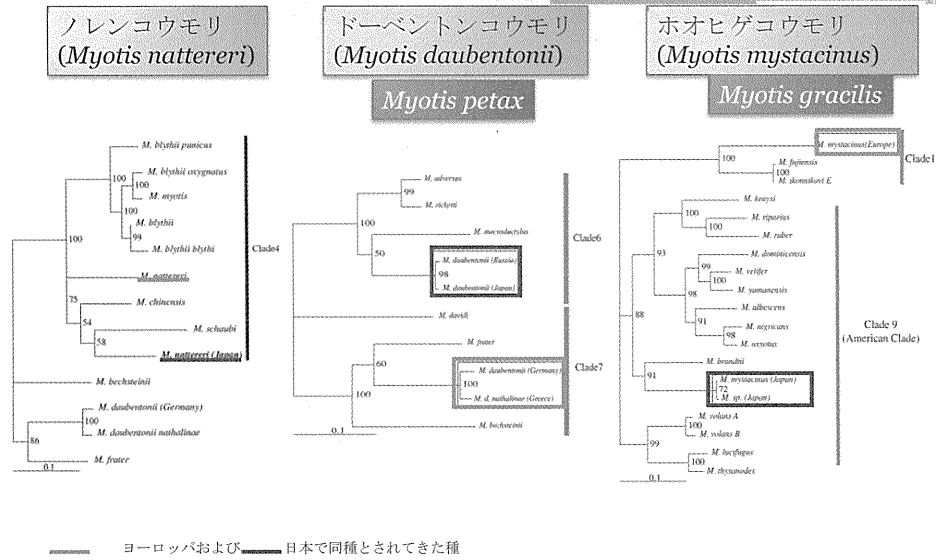
北海道産小コウモリ類の学名に対するロシア研究者と日本の研究者の見解の違い

	Sano et al. 2009	Трунов 2011	Трунов 1997	前田 2005
キクガシラコウモリ科	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	-	-	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>
	<i>Rhinolophus cornutus</i>	-	-	<i>Rhinolophus cornutus</i>
ヒナコウモリ科	<i>Myotis macrodactylus</i>	<i>Myotis macrodactylus</i>	<i>Myotis macrodactylus</i>	<i>Myotis macrodactylus</i>
	<i>Myotis petax</i>	<i>Myotis petax</i>	<i>Myotis daubentoni</i>	<i>Myotis daubentoni</i>
	<i>Myotis gracilis</i>	<i>Myotis gracilis</i>	<i>Myotis brandii</i>	<i>Myotis gracilis</i>
	<i>Myotis ikonnikovi</i>	<i>Myotis ikonnikovi</i>	<i>Myotis ikonnikovi</i>	<i>Myotis ikonnikovi</i>
	<i>Myotis frater</i>	<i>Myotis frater</i>	<i>Myotis frater</i>	<i>Myotis frater</i>
	<i>Myotis nattereri</i>	<i>Myotis bombinus</i>	<i>Myotis bombinus</i>	<i>Myotis nattereri</i>
	<i>Pipistrellus abramus</i>	<i>Pipistrellus abramus</i>	<i>Pipistrellus abramus</i>	<i>Pipistrellus abramus</i>
	<i>Hypsugo alaschanicus</i>	<i>Hypsugo alaschanicus</i>	<i>Hypsugo alaschanicus</i>	<i>Pipistrellus savii</i>
	<i>Eptesicus nilssonii</i>	<i>Amblyotus nilsoni</i>	<i>Amblyotus nilsoni</i>	<i>Eptesicus nilssonii</i>
	<i>Nyctalus aviator</i>	-	-	<i>Nyctalus aviator</i>
	<i>Vespertilio sinensis</i>	<i>Vespertilio sinensis</i>	<i>Vespertilio superans</i>	<i>Vespertilio sinensis</i>
	<i>Vespertilio murinus</i>	<i>Vespertilio murinus</i>	<i>Vespertilio murinus</i>	-
	<i>Barbastella leucomelas</i>	<i>Barbastella sp. nov.?</i>	<i>Barbastella leucomelas</i>	<i>Barbastella leucomelas</i>
	<i>Plecotus sacrimontis</i>	<i>Plecotus sacrimontis</i>	<i>Plecotus auritus</i>	<i>Plecotus auritus</i>
	<i>Murina hilgendorfi</i>	<i>Murina hilgendorfi</i>	<i>Murina leucogaster</i>	<i>Murina hilgendorfi</i>
	<i>Murina ussuriensis</i>	<i>Murina ussuriensis</i>	<i>Murina ussuriensis</i>	<i>Murina ussuriensis</i>
オヒキコウモリ科	<i>Tadarida insignis</i>	-	-	<i>Tadarida insignis</i>

日本産*Myotis*属を含む近隣結合法による系統樹



ヨーロッパおよび日本で同種とされてきた種の単系統性の検討 (ML法による)



いずれの種もヨーロッパ産と日本産のものは単系統群を組まなかった。
Kawai et al. 2003

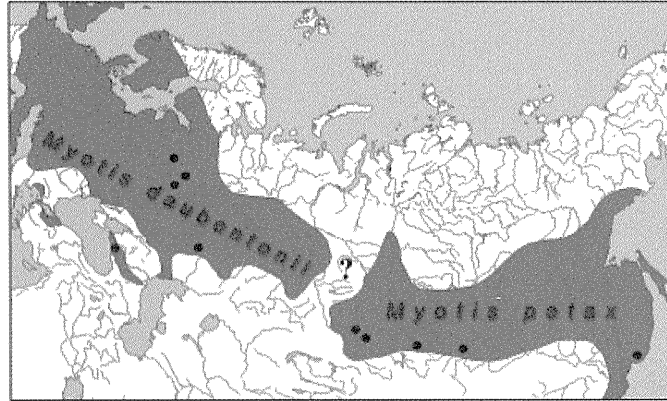


FIG. 5. The vast transpalearctic range, thought to be occupied by one single species, Daubenton's bat, in fact should be divided into two parts: between *M. daubentonii* in the west and *M. petax* in the east. The geographical 'border' between both species, or areas of their possible sympatry are not known, but are likely to occur in the Omsk region. Genetic material was sampled from the areas marked with dots

Matveev et al. 2005より

3. 日本産コウモリ類の移動について

①日本産コウモリ類の長距離移動の例