

一般講演

ポスター発表

(P-1～P-73)

8月31日(土) 10:00～12:00

国際交流ホール III

P-1 ケープペンギンにおける線維肉腫の 1 例

○明石富美子¹, 大島由子¹, 吉澤聡吾¹, 下村実¹, 伊藤このみ², 伊東隆臣², 岡本匡道³, 大冶和久³, 可知正行⁴, 渡邊奈津美⁴, 岡本実⁴ (¹京都水族館, ²海遊館, ³オオジ動物病院, ⁴酪農学園大学)

Fibrosarcoma in an African penguin

○Fumiko Akashi¹, Yuko Oshima¹, Sougo Yoshizawa¹, Minoru Shimomura¹, Konomi Ito², Takaomi Ito², Tadamichi Okamoto³, Kazuhisa Oji³, Masayuki Kachi⁴, Natsumi Watanabe⁴, Minoru Okamoto⁴ (¹Kyoto Aqualium, ²Kaiyukan, ³Ohji Animal Hospital, ⁴Rakunougakuen University)

[動物種]

ケープペンギン (*Spheniscus demersus*) オス 推定年齢 20 歳

[臨床経過]

定期採血にて捕獲後摂餌意欲の低下が認められ、嘔吐が見られるようになった。流動食および皮下点滴を 3 日間実施したが、排便が確認されなかったため、精密検査実施。レントゲンにおいて、腸管の拡張およびガスの部分的貯留が認められた。バリウム検査および内視鏡検査において食道に腫瘤および腸管の部分的閉塞、エコー検査において腹部に高エコー物を認めた。そのため、試験開腹実施。開腹により腹腔諸臓器を巻き込む腫瘤および腹膜に直径 5mm 大の白色腫瘤を確認。外科的切除が困難と判断し、そのまま閉腹。翌日より内科的対症療法を開始。約 20 後に死亡確認。その間、少量であるが排便が認められ、死亡 3 日前には自力摂餌を認めた。

[病理所見]

肉眼的に認められて腫瘤は、食道下部・筋胃・腺胃近傍に位置し、肝臓および腎臓を除く腹腔諸臓器を巻き込みながら癒着して見られた。腫瘤断面は、白色充実性腫瘤として観察された。組織学的に腫瘤は、主に漿膜面・漿膜下結合組織に間葉系細胞の増殖を認め、特に腺胃では内・外筋層、粘膜下組織、粘膜固有層に間浸潤性増殖を認めた。また腫瘍細胞は類円形、多角形、紡錘形、星型で束状～不規則な配列を認め、核は楕円形～紡錘形と異型性が顕著であった。病理組織学的ならびに免疫組織化学的検索結果から線維肉腫と診断された。

[考察]

外科処置を実施した際に血様腹水が認められたことより、定期採血の保定時に腫瘍の一部が破綻した可能性が示唆される。また腹腔臓器巻き込んだ腫瘍が約 600g もあったが、血液検査においてはヘマトクリット値のやや低値が認められたのみだった。本症例により、摂餌カロリーに対しての体重の増減を見ていくこと、高齢時に定期的な採血検査を実施していくことの重要性を改めて実感すると共に、今回のような症例においてバリウム造影によるレントゲン検査が有用であることを実感した。

P-2 イルカにおけるハプトグロビン簡易測定法の評価

○鈴木憲人¹, 瀬川太雄¹, 伊藤琢也¹, 鈴木美和¹, 小林由紀¹, 遠藤智子², 柳澤牧央³, 酒井健夫¹ (¹日本大学生物資源, ²しながわ水族館, ³美ら海水族館)

Evaluation of commercially available methods for haptoglobin in dolphins.

○Kento Suzuki¹, Takao Segawa¹, Takuya Itou¹, Miwa Suzuki¹, Yuki Kobayashi¹, Tomoko Endo², Makio Yanagisawa³, Takeo Sakai¹ (¹College of Bioresource Sciences, Nihon University, ²Shinagawa Aquarium, ³Churaumi Aquarium)

[目的] 第18回本学会にて、我々はイルカにおけるハプトグロビン(Hp)の測定が炎症診断の一助になることを報告した。Hpの簡易測定法にはELISAおよびHp-ヘモグロビン(Hb)結合試験がある。そこで本研究は、イルカにおけるHpの簡易測定法の正確性および有用性を評価するために、これらの測定法の分析精度、臨床検査としての評価、および抗凝固剤や溶血が測定に与える影響を検討した。

[材料と方法] サンプルは、臨床上健常なハンドウイルカ(n=10, samples=49;白血球3,000-8,000個/μl, 血液沈降速度 <2cm, 体温 36.0-36.9°C)および炎症兆候を示したハンドウイルカ(n=3, samples=53;白血球数 >10,000個/μl, 血液沈降速度 >2cm, 体温 >37.0°C)の血清を用いた。Hp濃度の簡易測定は、ELISAとしてブタHp ELISA kitおよびHp-Hb結合試験としてPHASE Hp assay kitを用いた。分析精度は、アッセイ内およびアッセイ間変動係数およびBland-Altman difference plotを用いて評価した。臨床検査としての評価は、健常群および炎症群のHp値をMann-Whitney testを用いて比較することによって行った。簡易測定法により決定されるイルカHp値に対する抗凝固剤(EDTA・2K, クエン酸三Na二水和物およびヘパリンNa)および溶血(Hb)の影響は、所定濃度になるようにそれぞれの抗凝固剤またはHbを混和した血清を用いて評価した。

[結果] イルカのHp測定のアッセイ内およびアッセイ間変動係数は、ELISAでそれぞれ3.2-3.8%および9.7-15.8%, Hp-Hb結合試験で3.3-3.5%および10.4-21.7%であった。健常群および炎症群の血清中イルカHp濃度はELISAでそれぞれ 0.59 ± 0.62 mg/mlおよび 3.96 ± 1.35 mg/ml, Hp-Hb結合試験で 0.58 ± 0.55 mg/mlおよび 3.52 ± 1.17 mg/mlであった。抗凝固剤は両測定法の値に影響しなかった。HbはELISAの測定値に大きな影響を与えなかったが、Hp-Hb結合試験では測定値を上昇させた。

[考察] ELISAとHp-Hb結合試験の測定値間で差がなかったことから、イルカのHpは両測定法により、同等の精度で測定できることが明らかとなった。炎症群の血清中Hp濃度は、健常群より有意に高値であったことから、Hpはイルカにおける炎症指標になることが明らかとなった。抗凝固剤はELISAおよびHp-Hb結合試験の測定値に影響しなかったため、血漿サンプルにおいても正確なHp値の測定が可能であることが示唆された。一方、Hb存在下では、Hp-Hb結合試験で決定されるHp値に影響が認められたため、溶血した血清のHp値の測定は推奨できないと思われた。

P-3 アムールヤマネコの電気刺激法によって採取した精液性状

- 田島日出男¹, 吉澤 円¹, 佐々木真一¹, 山本藤生¹, 成島悦雄¹, 小川由華², 織間博光^{2,3}, 筒井敏彦^{2,4}, 堀 達也²(¹井の頭自然文化園,²日本獣医生命科学大学,³株式会社 ORM,⁴株式会社 AHB)

Semen qualities collected by electroejaculatory stimulation from the Amur leopard cat (*Prionailurus bengalensis euptilura*).

- Hideo Tajima¹, Madoka Yoshizawa¹, Shinichi Sasaki¹, Fujio Yamamoto¹, Etsuo Narushima¹, Yuka Ogawa², Hiromitsu Orima^{2,3}, Toshihiko Tsutsui^{2,4}, Tatsuya Hori² (¹Inokashira zoological park, ²Nippon Veterinary and Life Science University, ³ORM Co. Ltd., ⁴AHB Inc.)

[目的] 絶滅危惧種であるツシマヤマネコの域外保全として、いくつかの動物園に分散飼育をし、飼育下での繁殖に取り組んでいる。しかし、自然繁殖は困難であり、人工繁殖技術の導入の検討が必要であると考えられる。人工繁殖において、雄動物ではいかに良好な精液を採取できるかが大きな問題となってくる。イエネコでは人工繁殖に関する研究が数多く行われているが、そのデータはツシマヤマネコに必ずしもあてはまらない。そこで今回、ツシマヤマネコの人工繁殖への応用を想定し、ベンガルヤマネコの同亜種とされるアムールヤマネコを用いて精液採取を実施し、様々な条件が精液性状に与える影響について検討を行った。

[材料及び方法] 供試動物として、井の頭自然文化園にて2003年に生まれた雄アムールヤマネコ1頭を使用した。実験期間は2006～2011年までの約5年間で、約2ヶ月に1回の頻度にて計21回の精液採取を実施した。当園にて、全身麻酔下で体重測定、血中テストステロン測定のための採血、精巣の大きさの測定を行った後、2種類の電気刺激装置および4種類の直腸プローブを用い、様々な電圧の条件下で直腸電気刺激法による精液採取を行った。その後、日本獣医生命科学大学にて精液性状検査を行い、精液性状から各種電気刺激法の条件、季節性および加齢に伴う造精機能の影響について検討した。

[結果] 各種条件の電気刺激法にて精液採取を行ったが、今回の条件では精液性状に大きな差はみられなかった。体重は、夏(6～8月)から秋(9～11月)にかけて有意な増加が認められた($p < 0.05$)が、体重と精液性状の間には有意な関係は認められなかった。また、精液性状に季節間で有意な差は認められなかった。血中テストステロン値は、0.13～13ng/mlと実験日より大きな幅がみられ、季節的には夏が低く、冬に最も高値を示し、冬と他の季節の間に有意差が認められた($p < 0.01$)。

[考察] 今回用いた電気刺激法による精液採取において、アムールヤマネコから精子活力が高く、精子奇形率の低い良好な性状の精子を採取することができた。しかし、総精子数は実施日によってばらつきがみられ、イエネコのそれと比較すると少なかった。この精子数をイエネコの人工授精に必要な精子数から検討すると、新鮮精液の子宮内授精に用いる以外は困難であることが明らかとなった。精液性状には有意な季節性は認められず、1年中の精液採取が可能であると考えられたが、夏は精液性状がやや低下する傾向がみられたため、精液採取はその他の季節に実施するのがよいと考えられた。今後は、他の個体での精液採取を実施し個体差を検討し、さらにより多くの精子が採取できるような精液採取方法の検討が必要であると考えられた。

P-4 カテーテル法と電気刺激法によって採取されたアムールヤマネコ 精液の凍結保存

○小川由華¹, 堀 達也¹, 田島日出男², 佐々木真一², 山本藤生², 成島悦雄², 筒井敏彦^{1,3}
(¹日本獣医生命科学大学, ²井の頭自然文化園, ³株式会社 AHB)

Cryopreservation of semen collected by catheter method and electroejaculatory stimulation from the Amur leopard cat (*Prionailurus bengalensis euptilura*)

○Yuka Ogawa¹, Tatsuya Hori¹, Hideo Tajima², Shinichi Sasaki², Fujio Yamamoto², Etsuo Marushima², Toshihiko Tsutsui^{1,3} (¹Nippon Veterinary and Life Science University, ²Inokashira zoological park, ³AHB Inc.)

[目的] 絶滅の危機に瀕しているツシマヤマネコの飼育下での繁殖が試みられているが、自然繁殖は難しく、繁殖を成功させるためには人工繁殖技術の導入の検討が必要であると考えられる。人工繁殖技術において、生殖子の保存は重要な技術である。そこで、ツシマヤマネコへの応用を想定し、モデル動物としてアムールヤマネコを用いて、精液の凍結保存における検討を行った。

[材料及び方法] 供試動物は、井の頭自然文化園にて 2003 年に生まれた雄アムールヤマネコ 1 頭である。2006 年から 2011 年までに、合計 12 回採取された精液について凍結保存を実施した。なお、10 回は直腸電気刺激法にて、2 回は直腸電気刺激法に加えてカテーテル法にて採取した精液について凍結保存を実施した。精液の凍結・融解方法は、演者らがイエネコで行っている方法に準じて行った。

[結果] 電気刺激法で採取したアムールヤマネコ精液の凍結融解前後の精子活力は 50~90%、平均 68%であったのに対し、融解後は 0~60%、平均 27%に低下した。特に、5 回目、17 回目はともに凍結前の精子活力がそれぞれ 60%、80%と高かったのに対し、融解後は 0%であった。凍結前の精子奇形率は 2.1~19.1%、平均 6.8%であったのに対し、融解後は 3.0~34.0%と大きな幅がみられ、平均 15.8%と高値を示した。カテーテル法によって採取した精液の精子活力は、電気刺激法と同じかやや高値を示したが、融解後はカテーテル法で採取した精液では著しい精子活力の低下がみられた。

[考察] イエネコと同様の方法で作成した凍結精液の融解後の性状は比較的良好であったが、実験日によってばらつきがみられた。特に、春~秋に採取した精液は凍結融解後の精子奇形率が増加し、冬に作成された凍結精液の融解後の性状が他の季節に比較して良好であったため、凍結融解後の性状は、季節の影響を受ける可能性が示唆された。また、電気刺激法だけでなく、カテーテル法でも精子を回収することができたが、凍結前の精液性状が良好であったにもかかわらず、電気刺激法と比較して凍結融解後の性状が低値を示す傾向があり、凍結保存には適していない可能性が示唆された。今回のアムールヤマネコの 1 回の精液採取で回収した総精子数は平均 1,300 万であり、イエネコと同様の授精精子数を必要とする場合、凍結精液での人工授精に使用することは困難であるが、体外受精、顕微授精には使用することができると考えられた。今回用いた精液の凍結保存方法は、アムールヤマネコの生殖子を保存する方法としては有用であり、ツシマヤマネコにも十分に応用できるものと考えられた。

P-5 ガラス化低温保存したホンモロコ (*Gnathopogon caerulescens*) 精

巢細胞からの *in vitro* における精子生産

○檜垣彰吾¹, 島田愛美², 小野友梨子², 藤岡康弘³, 酒井則良⁴, 高田達之^{1,2,5} (¹立命館大 R-GIRO, ²立命館大院生命, ³琵琶湖博物館, ⁴国立遺伝研, ⁵立命館大薬)

***In vitro* production of functional sperm from vitrified testicular cells of Honmoroko (*Gnathopogon caerulescens*).**

○Shogo Higaki¹, Manami Shimada², Yuriko Ono², Yasuhiro Fujioka³, Noriyoshi Sakai⁴, Tatsuyuki Takada^{1,2,5} (¹R-GIRO, Ritsumeikan University, ²Graduate School of Life Science, Ritsumeikan University, ³Lake Biwa Museum, ⁴Genetic Strains Research Center, National Institute of Genetics, ⁵Department of Pharmaceutical Sciences, Ritsumeikan University)

〔目的〕琵琶湖は世界で最も古い湖の一つであり、多くの貴重な固有種の生息が確認されている。しかし、近年の気候変動や環境汚染、護岸工事等により、その個体数が激減している。特に固有魚種の一つであるホンモロコにおいては養殖や放流等の資源量回復のための処置が行われているにも関わらず、生息数が著しく減少し、絶滅危惧 IA 類に指定されるまでに至っている。本研究では種および遺伝資源の保存、また将来的な資源量の回復を目標とし、低温保存したホンモロコ精巢細胞からの *in vitro* における精子生産を試みた。

〔材料及び方法〕繁殖期および非繁殖期のホンモロコ雄成魚（2 歳齢以上）を用いた。安楽殺後、精巢を摘出し、一部は組織学的検討を行うため、4% パラホルムアルデヒドで固定後、パラフィン包埋し、HE 染色を行った。残りの精巢組織は細切・酵素処理により細胞を単離し、細胞浮遊液とした。低温保存法の比較を行うため、細胞浮遊液を二等分し、遠心分離・上清除去後、一方は市販の幹細胞ガラス化低温保存液を用い急速冷却法により、もう一方は市販の細胞凍結保存液を用い緩慢冷却法により低温保存した。加温・融解後、本研究室で確立したホンモロコ精子の *in vitro* 分化培養系で培養を行い、精子への分化を観察した。また、*in vitro* における精子分化を確認するため、ヌクレオシドアナログの一種である EdU (5-ethynyl-2'-deoxyuridine) の取込み試験も行った。次に、*in vitro* において分化した精子の受精能を確認するため、人工授精実験を行い、卵割率および孵化率を調べた。

〔結果〕急速冷却法により低温保存した精巢細胞を培養した場合、生殖細胞の生存および培養に伴う精子分化が確認された。約 2 週間の培養で多数の精子が出現し、EdU を取り込んだ精子も確認された。一方、緩慢冷却法により低温保存した精巢細胞を培養した場合、生残した生殖細胞はほとんど認められず、精子への分化も認められなかった。*In vitro* 分化により得られた精子を用いて受精実験を行った結果、卵割の進行が観察され、その一部は孵化した。

〔考察〕本研究により、*in vitro* 精子分化培養に用いる精巢細胞の低温保存には急速冷却法が適していること、また、急速冷却後に低温保存した精巢細胞から受精能を持つ精子を *in vitro* において生産可能である事が示された。このことから、精巢細胞の低温保存と、*in vitro* 精子分化培養の併用は、精子の低温保存の代替となるだけでなく、精子が存在しない非繁殖期の個体においても、遺伝資源の保存を可能とする新たな手法になると考えられる。

P-6 アムールヤマネコとツシマヤマネコにおける季節と加齢に伴う精巣活動の比較

○吉崎友紀¹, 楠田哲士¹, 舟橋 昂¹, 菅原 愛¹, 村井仁志², 松山 薫³, 永尾英史⁴, 前田亮平⁵, 佐々木真一⁶, 土井 守¹ (¹岐阜大学 動物繁殖, ²富山市ファミリーパーク, ³よこはま動物園, ⁴福岡市動物園, ⁵九十九島動植物園, ⁶井の頭自然文化園)

Testicular activity associated with season and age in male Amur and Tsushima leopard cats, assessed by fecal testosterone.

○Yuki Yoshizaki¹, Satoshi Kusuda¹, Takashi Funahashi¹, Ai Sugawara¹, Hitoshi Murai², Kaoru Matsuyama³, Eiji Nagao⁴, Ryouhei Maeda⁵, Shinichi Sasaki⁶, Osamu Doi¹ (¹Lab. Anim. Reprod., Gifu Univ., ²Toyama Family Park, ³Yokohama Zoo, ⁴Fukuoka Zoo, ⁵Kujukushima Zoo, ⁶Inokashira Zoo)

[背景と目的] ベンガルヤマネコ (*Prionailurus bengalensis*) の 1 亜種であるアムールヤマネコ (*P. b. euphilurus*) は極東に生息し, その地域個体群であるツシマヤマネコは長崎県対馬にのみ生息する. これらの希少種の飼育下繁殖を促進する上で, その繁殖特性を把握しておくことは必須である. しかし, これまでベンガルヤマネコにおける雄の繁殖生理に関する内分泌学的な報告はない. 本研究では, アムールヤマネコとツシマヤマネコの雄の糞中テストステロン (T) 含量を測定し, その動態から精巣活動の季節性と加齢に伴う変化を分析した.

[材料及び方法] アムールヤマネコは研究開始時年齢が 4~12 歳の計 6 頭 (研究期間: 2012 年 5 月~2013 年 4 月の 1 年間), ツシマヤマネコは 2~11 歳の計 12 頭 (2003 年~2012 年の間の 2~5 年間で個体により異なる) から糞を継続的に採取した. 採取した糞を用いて, 酵素免疫測定法により糞中 T 含量を測定し比較した.

[結果及び考察] アムールヤマネコは全頭で, 糞中 T 含量が冬季 (1~2 月) のみ上昇する傾向が認められた. ツシマヤマネコ 12 頭の糞中 T 含量の季節変動パターンは 3 つに分類できた [①冬季 (12~3 月) のみ上昇, ②冬季とそれ以外の時期 (4~5 月) に上昇, ③年間を通して変動し, 季節性が不明瞭]. これらの差異はあるものの, アムールヤマネコとツシマヤマネコにおいて, 基本的には冬季に精巣活動が活発になり, この時期は野生で繁殖期とされている時期と一致した. アムールヤマネコでは, 雌の近くで飼育した個体の糞中 T 含量の上昇が顕著であり, ツシマヤマネコでも, 繁殖期以外の上昇期は雌との同居時期であったことから, 雌の発情に雄の精巣機能が影響を受けているとも考えられた. 年齢による分析では, アムールヤマネコは 4 歳と 6 歳の個体は 9 歳以上の個体と比較して, 特に 10~2 月において 2 倍以上の高値を示した. 一方, ツシマヤマネコでは年齢による差異は明瞭ではなかったが, 5 歳以下の個体で, 特に 12~2 月の糞中 T 含量が高い傾向が認められた. これらの結果から, アムールヤマネコとツシマヤマネコ共に, 加齢に伴い精巣機能が低下している可能性が考えられた.

本研究は, 平成 25 年度東京動物園協会野生生物保全基金助成を受けて実施された.

P-7 飼育環境条件と産卵および換羽に伴うスバルバルライチョウの生殖腺活動の変化

○山本彩織¹, 楠田哲士^{1,2}, 堀 秀正^{2,3}, 高橋幸裕^{2,3}, 堀口政治^{2,4}, 村井仁志^{2,4}, 土井 守¹ (¹岐阜大動物繁殖, ²ライチョウ域外保全会議, ³上野動物園, ⁴富山市ファミリーパーク)

Changes in gonadal activity associated with rearing condition, egg laying and molting in captive Svalbard rock ptarmigan (*Lagopus muta hyperboreus*)

○Saori Yamamoto¹, Satoshi Kusuda^{1,2}, Hidemasa Hori^{2,3}, Yukihiro Takahashi^{2,3}, Masaharu Horiguchi^{2,4}, Hitoshi Murai^{2,4}, Osamu Doi¹ (¹Lab. of Animal Reproduction, Gifu University, ²The Working Grope for *ex situ* Conservation of Rock Ptarmigan, ³Ueno Zoological Gardens, ⁴Toyama Municipal Family Park)

[目的] 2012年, ニホンライチョウ (*Lagopus muta japonica*) は環境省の保護増殖事業の対象種となった. 域外での保全が必要となった場合を想定し, 国内の動物園では, 海外で飼育・繁殖技術が確立されている別亜種スバルバルライチョウ (*L. m. hyperboreus*) の飼育研究が行われており, 飼育・繁殖技術の確立や各種の生物学的データの収集に取り組んでいる. 本研究では, ライチョウの繁殖生理・内分泌に関わる知見を蓄積し, 飼育・繁殖の参考にすることを目的とし, 飼育下スバルバルライチョウの糞中の性ステロイドホルモン含量のモニタリングを行った. また, ホルモン動態の変化と飼育環境条件との関連性や, 産卵・換羽等との関係について調査した.

[材料・方法] 上野動物園と富山市ファミリーパークで飼育されているスバルバルライチョウから年間を通して糞を採取し, 酵素免疫測定法により糞中の性ホルモン含量を測定した. 雌では卵胞活動の指標としてエストラジオール-17 β およびプロジェステロン含量, 雄では精巣活動の指標としてテストステロン含量を測定した. ライチョウは2種類の糞(直腸糞と盲腸糞)を排泄するため, いずれが内分泌動態を正確に反映するかを検討した. 長期的なホルモン動態のモニタリングを行い, 飼育室の気温と照明時間, 換羽の状況や性行動の記録と併せて検討した. 換羽は, 外見的な羽色と落下羽の量を指標として, それぞれをスコア化して記録した.

[結果・考察] 直腸糞と盲腸糞の各ホルモン含量を比較したところ, いずれのホルモンも盲腸糞でより高濃度であったが, その動態はほぼ同様であった. 直腸糞中の性ホルモンの年間動態を調べた結果, 照明時間の増加と気温の上昇に伴いホルモン含量が増加し, 照明時間が常明に達すると最大値を示した. この時期は, 雌雄同居時に交尾や, 雌の産卵がみられた. その後, 常明期間中に糞中ホルモン含量の減少が始まった. これらの結果から, 照明時間の延長に伴い, 雌雄とも生殖腺活動またはその内分泌能が亢進したが, その後, 光不応となり後退したものと考えられ, 季節的な生殖腺活動の様相を捉えたものと考えた. 換羽については, 雌よりも雄のほうが遅れて進行し, 雌ではホルモン値の増加とともに進行したのに対し, 雄では増加したホルモン値が減少する時期に起こっていることが明らかとなった.

P-8 糞中コルチゾルによる飼育下ゴリラのストレス評価-交配から出産まで-

○藤田志歩¹, 坪川桂子², 長尾充徳³, 釜鳴宏枝³, 伊藤二三夫³, 山本裕己³, 伊藤英之³⁴, 今西亮⁵, 北田祐二⁵, 山極壽一² (¹鹿児島大共同獣医, ²京大院理, ³京都市動物園, ⁴京都大野生動物, ⁵上野動物園)

Stress monitoring by measuring the fecal cortisol levels in the captive gorillas: from mating to birth.

○Shiho Fujita¹, Keiko Tsubokawa², Mitsunori Nagao³, Hiroe Kamanaru³, Fumio Ito³, Yuki Yamamoto³, Hideyuki Ito³⁴, Ryo Imanishi⁵, Yuji Kitada⁵, Juichi Yamagiwa² (¹United Faculty of Veterinary Medicine, Kagoshima University, ²Graduate School of Science, Kyoto University, ³Kyoto City Zoo, ⁴Wildlife Research Center, Kyoto University, ⁵Ueno Zoo)

〔目的〕動物園におけるゴリラの繁殖において、雄雌の相性や同居のタイミングの判断がしばしば必要となる。この過程において個体のストレスをモニタリングすることは、繁殖管理を安全に行う上で有効な手法になり得ると考えられる。本研究は、ゴリラの交配から出産までの一連の過程において、糞中コルチゾル濃度を継続的にモニタリングし、個体のストレスレベルの変化を明らかにすることを目的とした。

〔材料及び方法〕2010年10月に、上野動物園で飼育されていたゴリラのオス（12才）が繁殖のために京都市動物園に移送された。このオスを京都市動物園で飼育されていたメス（24才）と同居させたところ、交尾が観察され、メスは2011年12月にオスのコドモを出産した。3個体のコルチゾル濃度をモニタリングするため、交配させたオスとメスについては交配の2ヶ月前から、産まれたコドモについては生後3ヶ月目から1～3日ごとに糞を採取した。糞は真空乾燥機で乾燥させた後、リン酸緩衝液に溶解させてステロイドを抽出し、EIA法を用いてコルチゾル濃度を測定した。

〔結果〕オスは上野動物園から京都市動物園への移送前後にコルチゾル濃度が上昇したものの、メスとの同居時には上昇はみとめられなかった。一方メスは、同居させてから3ヶ月頃までコルチゾル濃度の上昇がしばしばみとめられ、この時期に交尾行動が観察された。その後、コルチゾル濃度は比較的低値で経過し、出産の2ヶ月前から再び上昇して、出産後直ちに平常レベルまで減少した。コドモについては、生後7ヶ月までコルチゾル濃度は極めて高い値を示した後、平常レベルまで減少した。

〔考察〕糞中コルチゾル濃度の測定により、移送あるいは同居に伴う個体のストレスをモニタリングすることが可能であった。観察されたコルチゾル濃度の上昇はいずれも一過性のものであり、健康上問題となるようなストレスではないと考えられた。オスは移送の前からコルチゾル濃度が上昇したが、馴致のために行った環境の変化が影響した可能性がある。メスでは、妊娠末期においてコルチゾル濃度の上昇がみとめられ、またコドモでは、生後の急速なコルチゾル濃度の減少がみとめられた。これらはいずれも生理的な変化であり、それぞれ胎盤におけるコルチゾル産生と生後の副腎皮質の退縮を表していると考えられた。

P-9 糞中ホルモン動態を指標とした飼育下モウコノウマの排卵周期と

妊娠判定

○木仁¹, 楠田哲士¹, 齋藤麻里子², 香坂美和², 堀 泰洋³, 土井 守¹ (¹岐阜大学 動物繁殖, ²多摩動物公園, ³千葉市動物公園)

Assessment of ovulatory cycle and pregnancy based on fecal steroid hormone metabolite profiles in captive Przewalski's wild horse (*Equus przewalskii*)

○Muren¹, Satoshi Kusuda¹, Mariko Saito², Miwa Kosaka², Yasuhiro Hori³, Osamu Doi¹ (¹Lab. of Animal Reproduction, Gifu University, ²Tama Zoological Park, ³Chiba Zoological Park)

[目的] モウコノウマは 1960 年代に野生では一度絶滅したと考えられているが、その後、欧米の動物園での飼育下繁殖計画の成功により、2008 年前半には 1872 頭 (国際血統登録数) まで回復した。日本では 1980 年代前半に多摩動物公園と千葉市動物公園がスイスとドイツから導入した 9 頭 (雌 5 頭, 雄 4 頭) で飼育が開始され、2012 年までに 12 例の出産があった。本研究では、飼育下モウコノウマの繁殖促進を目的として、糞中の性ステロイドホルモン動態から非侵襲的に排卵周期を明らかにし、また早期の妊娠判定が可能かどうかを検討した。

[材料及び方法] モウコノウマ雌 5 頭 (多摩動物公園, 千葉市動物公園) から糞を週 2~3 回、約 5 年間継続的に採取し、糞中のプロジェステロン (P_4), エストラジオール- 17β (E_2), エストロン (E_1) 及びテストステロン (T) を酵素免疫測定 (EIA) 法により定量した。また、妊娠期を妊娠前期 (妊娠前期前半 1~60 日間, 妊娠前期後半 61~110 日間), 中期 (111~220 日間), 後期 (221~333 日間) と便宜的に分け、高速液体クロマトグラフィーと EIA 法を併用して、糞中の性ステロイドホルモン代謝物を同定した。

[結果及び考察] 糞中 P_4 含量の周期的な動態から、日本で飼育されているモウコノウマの多くは 3・4 月頃から翌年の 1 月頃までが繁殖期で、その間の排卵周期は平均 26.5 ± 0.5 日間であった。また、1 ヶ月齢から測定を開始した個体では、2 歳 2 ヶ月になった 2010 年 8 月から 11 月まで糞中 P_4 含量に 3 回の周期的な変動が認められ、翌年の 3 月から更に明確な周期的変動が継続して見られるようになった。これらの動態は、本個体の春機発動及び性成熟の過程を捉えたものと考えた。また、別の 1 頭では本研究期間中に 3 回の妊娠出産があり、最終交尾日から算出した妊娠期間は 346, 338 及び 333 日間であった。糞中 P_4 含量は最終交尾後上昇し、特に妊娠約 60 日目から顕著な増加が認められ、出産の約 45 日前からさらに急激に増加し、出産直前まで上昇し続けた。糞中 E_2 と E_1 含量は、妊娠約 2 ヶ月目から急激な上昇を開始し、妊娠 4~7 ヶ月の間でピーク値を示した後徐々に減少した。糞中 T 含量は、概ね P_4 と同様の変動傾向を示した。これらの妊娠期の糞中 P_4 , E_2 及び E_1 の各動態は、家畜ウマの妊娠期の血中 5α -pregnanes とエストロジェン動態と同様であった。これらの妊娠期の動態は、糞中の代謝物の定性実験から、 5α -pregnane- 3β -ol-20-one, 5α -pregnan-3,20-dione, E_2 及び E_1 を捉えたものであることが明らかになった。これらの代謝物の測定により、妊娠約 2 ヶ月目からの妊娠判定が可能であると考えられた。なお 3 回の出産はいずれも繁殖季節中にみられ、出産後は約 2 週間で排卵周期が回帰した。

P-10 スマトラトラにおける糞中のステロイドホルモンおよびプロスタ

グランジン F_{2α} 代謝物を指標とした生殖状態の観察と妊娠判定例

○小川由貴¹, 楠田哲士¹, 足立 樹¹, 松井由希子^{2,3}, 川上壮太郎², 堀 秀正², 橋本 渉⁴, 佐藤康弘⁵, 土井 守¹ (¹岐阜大学 動物繁殖, ²恩賜上野動物園, ³現: 多摩動物公園, ⁴八木山動物公園, ⁵東山動物園)

Reproductive status and pregnancy diagnosis based on fecal steroid hormone and prostaglandin F_{2α} metabolite concentrations in captive female Sumatran tigers, *Panthera tigris sumatrae*

○Yuki Ogawa¹, Satoshi Kusuda¹, Itsuki Adachi¹, Yukiko Matsui^{2,3}, Soutaro Kawakami², Hidemasa Hori², Wataru Hashimoto⁴, Yasuhiro Sato⁵, Osamu Doi¹ (¹Lab. of Animal Reproduction, Gifu University, ²Ueno Zoological Gardens, ³ Present: Tama Zoological Park, ⁴Former: Yagiyama Zoological Park, ⁵Nagoya Higashiyama Zoo)

[目的] スマトラトラ (*Panthera tigris sumatrae*) は、インドネシアのスマトラ島のみに生息するトラの 1 亜種である。動物園間で国際的な繁殖計画が進められている。飼育下繁殖を進める上で対象個体の生殖状態を把握しておくことは重要である。本研究では、雌スマトラトラにおいて、糞を用いたステロイドホルモン代謝物の測定により卵巣活動の状況を調べ、またプロスタグランジン F_{2α} 代謝物 (PGFM) の測定により妊娠判定を試みた。

[材料及び方法] スマトラトラの雌 5 頭 (国際血統登録番号: 1074, 1327, 1328, 1364, 1500) から糞を週約 2~6 回継続して採取した。卵胞活動の指標としてアンドロステンジオン (AD), 黄体活動の指標としてプロジェステロン (P₄) の各抗体を用いて糞中の代謝物を酵素免疫測定法により定量した。また、糞中 PGFM 含量を酵素免疫測定キットにより定量した。さらに、糞中ホルモン動態と諸行動等との関連性について調査した。

[結果と考察] 糞中 AD 含量のピーク値間の日数から判断できた発情周期は、黄体期を伴わない場合、4 頭それぞれで平均 43.6±2.3 日間, 40.7±2.7 日間, 37.7±2.8 日間, 54.2±4.1 日間となった。糞中 AD 上昇期には、発声、ローリング、雄との鳴き合い、雄への尻向けなどの行動が多く観察され、交尾行動は糞中 AD 含量の上昇期に一致していた。糞中 P₄ 含量は、交尾が確認された 2 頭において交尾後上昇し、不妊黄体期では 39.3±3.3 日間 (33~44 日間)、妊娠出産した場合では妊娠期間の 102 日間と 100 日間、高値を維持した。糞中 PGFM 含量は、妊娠期にのみ最終交尾後 44 日目から上昇し始め、出産まで高値を示したのに対し、交尾後黄体期のなかった場合や不妊黄体期では基底値のままであった。以上より、糞中 AD 含量の継続的な測定により卵胞活動あるいは発情を捉えられることが明らかになった。また、妊娠判定を行う場合には、糞中 P₄ の測定により交尾後の排卵の有無を推定し、P₄ が 44 日間以上高値を持続した場合に妊娠の可能性があると判断できる。さらに、その時期以降に糞中 PGFM 含量の上昇有無を捉えることで、より正確に妊娠を判定できるものと考えられた。なお、本研究の一部は、平成 24 年度東京動物園協会野生生物保全基金助成を受けて実施された。

P-11 糞中および尿中の性ステロイドホルモン代謝物の動態を指標としたボルネオオランウータンの排卵周期の確認と妊娠判定例

○香坂美和¹, 下川優紀¹, 秋川貴子¹, 島原直樹¹, 岡田 彩¹, 堀田裕子^{2,3}, 楠田哲士⁴
(¹多摩動物公園, ²東京農業大学野生動物, ³現:横浜市繁殖センター, ⁴岐阜大学動物繁殖)

Ovulation cycle and pregnancy diagnosis based on the changes in fecal and urine steroid hormone metabolites in Bornean orangutan (*Pongo pygmaeus*)

○Miwa Kosaka¹, Yuki Shimokawa¹, Takako Akikawa¹, Naoki Shimahara¹, Aya Okada¹, Hiroko Hotta^{2,3}, Satoshi Kusuda⁴ (¹Tama Zool. Park, ²Lab. Wild Anim., Tokyo Univ. of Agr., ³Present: Preserv. Res. Center, City of Yokohama, ⁴Lab. of Anim. Reprod., Gifu Univ.)

〔目的〕ボルネオオランウータン (*Pongo pygmaeus*) は、マレーシア・ボルネオ島の固有種である。生息地破壊や密猟等により個体数は減少傾向にあり、IUCN のレッドリストでは絶滅危惧 IB 類 (EN) に位置付けられている。多摩動物公園では、域外保全活動の一環として積極的な飼育下繁殖に取り組んでいる。体全体が長い体毛で覆われているため、妊娠していても特に初期では外見的变化からそれを判断するのは難しい。本研究では、糞中または尿中の性ステロイドホルモン代謝物の動態を指標として排卵周期の確認と妊娠判定を試みた。

〔材料および方法〕多摩動物公園で飼育していたボルネオオランウータン雌 2 頭を対象とした。非妊娠個体はユキ (1970 年生まれ、現在は福岡市動物園で飼育中) で、通常の月経周期は約 29 日間であった。妊娠個体はキキ (2000 年 10 月 21 日生まれ) で、通常の月経周期は約 28 日間であり、2012 年 3 月 7 日に雄との交尾が確認された。寝室内で排泄されたユキの糞とキキの糞および尿をサンプルとして採取し、測定まで凍結保存した。糞中および尿中の性ステロイドホルモン代謝物は、プロジェスタージェンおよびエストロジェンを定量した。なお測定は、プロジェステロン (P_4)、プレグナンジオール-グルクロニド (PdG)、エストラジオール-17 β (E_2) の各抗体を用いた酵素免疫測定 (EIA) 法により行った。尿サンプルについてはクレアチニン濃度を測定し、クレアチニン 1mg 中の値として表した。

〔結果および考察〕ユキの糞中 P_4 および PdG 値は周期的に変動し、平均 29.5 日間の排卵周期を確認することができた。一方、キキの糞中および尿中 P_4 , PdG, E_2 のいずれにおいても妊娠期間中盤の 8 月初旬頃から上昇傾向が見られ、出産まで高値を維持していた。この上昇期以降、糞中 P_4 および PdG は非妊娠のユキにおける数値を常に超えていた。キキは 2012 年 11 月 14 日 (交尾後 252 日目) に雄の仔を無事出産した。出産を境に各ホルモン値は糞中、尿中ともに減少した。これらのことから、糞中および尿中の P_4 , PdG, E_2 の測定値は、体内でのホルモン分泌の動態を捉えていると考えられた。ボルネオオランウータンにおいて糞中および尿中の性ステロイドホルモン代謝物の定量は、排卵周期の確認や妊娠判定、妊娠中の内分泌学的モニタリングに有効であることが明らかになった。予め対象個体の非妊娠期の基礎データを取っていれば、初期の段階での妊娠判定も可能であると考えられる。

P-12 ミンククジラ, ニタリクジラおよびイワシクジラ胎盤の構造とステロイド合成

○北山知代¹, 佐々木基樹¹, 石川 創², 茂越敏弘³, 大隅清治³, 福井 豊¹, 北村延夫¹
(¹帯広畜産大学, ²下関海洋科学アカデミー, ³日本鯨類研究所)

Structure and steroidogenesis of the placentas of the Common Minke Whale (*Balaenoptera acutorostrata*), Bryde's Whale (*B. edeni*) and Sei Whale (*B. borealis*).

○Chiyo Kitayama¹, Motoki Sasaki¹, Hajime Ishikawa², Toshihiro Mogoe³, Seiji Ohsumi³, Yutaka Fukui¹, Nobuo Kitamura¹ (¹Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, ²Shimonoseki Academy of Marine Science, ³Institute of Cetacean Research)

[目的] ミンククジラ, ニタリクジラ, イワシクジラの胎盤を用いて, その形態学的特徴を組織学的に検索するとともに, 性ステロイドホルモンの産生能を確認するため, ステロイド合成酵素である P450scc の発現と分布を免疫組織化学的に検索した.

[材料及び方法] 2009 年および 2010 年に行われた第二期北西太平洋鯨類捕獲調査 (JALPN II) で得られたミンククジラ, ニタリクジラ, イワシクジラの胎盤を, ブアン液またはリン酸緩衝 10%ホルマリン液で固定し, 定法に従い 4□m 厚のパラフィン切片を作製した. 組織学的検索のため HE 染色を施した. P450scc の発現と分布は, ABC 法を用いた酵素抗体法により検索した.

[結果および考察] 3 種すべての胎盤は, 組織学的に上皮絨毛膜胎盤であった. 胎子絨毛膜絨毛は子宮内膜と複雑に嵌合しており, 嵌合は胎子の成長に伴いより複雑になっていった. 絨毛膜上皮は単層で, 立方から円柱の細胞 (栄養膜細胞) によって構成されており, その中には栄養膜巨細胞は認められなかった. また, 妊娠子宮の子宮内膜上皮は, 単層で, 扁平から立方の細胞によって構成されていた. 胎子の成長に伴い, 毛細血管の密度は増加し, さらに子宮内膜上皮の直下にまで母体の毛細血管が進入することで, 胎子絨毛膜に近接する母体血管が多くなっていった. 妊娠子宮の子宮内膜では, 子宮腺が豊富に分布していた. 子宮内膜上皮に近づくにつれ子宮腺の管腔は大きくなり, さらに腺細胞の細胞質も大きくなる傾向が認められた. アレオラ領域の絨毛膜上皮細胞は, 他の領域の細胞に比べ背が高く, 赤血球や, 子宮腺からの分泌物と思われるものを取り込んでいる像が観察できた. 免疫染色では, 胎子絨毛膜の上皮細胞において P450scc に対する陽性反応が認められたが, アレオラ領域の絨毛膜上皮細胞には陽性反応はほとんど認められなかった. この P450scc の存在から, これらクジラにおいてはアレオラ領域以外の胎子絨毛膜上皮細胞でプロジェステロンまたはエストロジェンが合成されていることが示唆された.

P-13 野生ツシマヤマネコにおける糞を用いた生殖状態の内分泌学的

検討

○菅原 愛¹, 楠田哲士¹, 吉崎友紀¹, 足立 樹¹, 舟橋 昂¹, 國吉沙和子², 秋葉由紀³, 村井仁志³, 土井 守¹ (¹岐阜大学 動物繁殖, ²環境省対馬野生生物保護センター, ³富山市ファミリーパーク)

Assessment of reproductive status based on fecal steroid hormone metabolites using Tsushima leopard cat feces collected in the wild.

○Ai Sugawara¹, Satoshi Kusuda¹, Yuki Yoshizaki¹, Itsuki Adachi¹, Takashi Funahashi¹, Sawako Kuniyoshi², Yuki Akiba³, Hitoshi Murai³, Osamu Doi¹ (¹Lab. Anim. Reprod., Gifu Univ., ²Tsushima Wildl. Conserv. Center, Ministry of Environment, ³Toyama Municipal Family Park Zoo)

[目的] ツシマヤマネコの野外における繁殖に関する生理学的な知見を得るため, 次の実験を行った. まず, 排便からの時間経過後の糞を使って生理的に信頼性のあるホルモン値が得られるかどうか(実験1), 野外で採取した糞の性ステロイドホルモン代謝物含量を, 飼育下個体と比較して性判別可能かどうか(実験2)について検討し, 野外での繁殖の季節性や生殖状態を明らかにすることを試みた(実験3).

[材料及び方法] 実験1では, 飼育下の雌雄1個体ずつを用いて排泄直後の糞を採取した後, 一部を直ちに, 残りを12時間おきに雌では96時間後まで, 雄では72時間後まで冷凍保存した. 性ステロイドホルモン代謝物を抽出し, 酵素免疫測定(EIA)法により糞中のプロジェステロン(P₄), エストラジオール-17β(E₂), テストステロン(T), アンドロステンジオン(AD)を測定した. 実験2では, 実験1において信頼性があると判断したホルモンを指標に, 飼育下の雌雄から糞を採取し測定した各ホルモンの比率を算出した. このホルモン比を基準に野生個体からの糞の雌雄判別を試みた. 実験3では, 2010年1月1日~2013年5月31日の間に対馬市の棹崎公園内および舟志地区で採取された野生個体の糞114個を用い, 同様に糞中ホルモン含量を測定し, 季節性や生殖状態について検討した.

[結果及び考察] 実験1では, 時間経過に伴い特にE₂とT値に顕著な増加が認められ, 雄個体の糞では排便72時間後に, 両ホルモン共70%程度の増加が認められた. 一方P₄とAD値は, 比較的变化が少なく54.4%の範囲内であったことから, 少なくとも排泄後72時間以内に回収された糞サンプルでは生理的に信頼性のある値が得られるものと考えた. 実験2では飼育下個体の雌雄既知サンプルでP₄/AD比に性差が認められたため, それを基準に野生個体のサンプル114個中61個を雌, 53個を雄と判別した. 実験3では, 野生個体の糞中P₄値は3~8月に, AD値は1~3月に高値を示した. 実験2を基準に, 雌のP₄値と雄のAD値に分けて検討した場合も同様であった. 飼育下におけるツシマヤマネコの交尾のピークは, 1~3月と5~6月の2回あり, 3~8月は妊娠期にあたりと考えられている. よって糞中P₄値の増加は黄体活動を捉えていた可能性が考えられた. また飼育下雄個体のAD値は1~2月が有意に高い季節的变化を示すことから, 同様に生息環境下での雄の精巣活動の状況を捉えた可能性が考えられた.

本研究は, 平成25年度東京動物園協会野生生物保全基金助成を受けて実施された.

P-14 発育および季節変化にともなうエゾシカ精巢の細胞骨格に関する免疫組織化学的研究

○三好亮輔¹, 佐々木基樹¹, 早川大輔², 鈴木正嗣³, 伊吾田宏正⁴, 梶 光一⁵, 北村延夫¹
(¹帯広畜産大学,²わんぱーくこうちアニマルランド,³岐阜大学,⁴酪農学園大学,⁵東京農工大学)

Immunohistochemical studies on the cytoskeleton of testes in the Hokkaido sika deer *Cervus nippon yesoensis* with the development and seasonal change

○Ryosuke Miyoshi¹, Motoki Sasaki¹, Daisuke Hayakawa², Masatsugu Suzuki³, Hiromasa Igota⁴, Koichi Kaji⁵, Nobuo Kitamura¹ (¹Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, ²Wanpark Kochi Animal Land, ³Gifu University, ⁴Rakuno Gakuen University, ⁵Tokyo University of Agriculture and Technology)

[諸言] エゾシカ(*Cervus nippon yesoensis*)は季節繁殖動物であり,北海道に生息するニホンジカの亜種である.本研究では,分化および成熟過程,さらに季節変化(繁殖期・非繁殖期)における精巢の細胞骨格タンパク質の発現変化を調べるため,胎子から成体に至るまでのエゾシカ精巢を免疫組織化学的に検索した.

[材料及び方法] 2002年から2007年にかけて狩猟,学術捕獲および有害鳥獣駆除の目的で捕獲された雄のエゾシカ29個体から精巢を採取し,ブアン液またはリン酸緩衝10%ホルマリン液で固定した後,定法により4 μ m厚のパラフィン切片を作製した. α -smooth muscle actin (SMA),tubulin,desmin,vimentin,そしてcytokeratinの精巢における発現と分布について,ABC法を用いた免疫染色により検索した.

[結果及び考察] SMAの発現は胎子から成体に至るまでの間,精細管周囲の筋様細胞や血管壁において認められた.特に精細管周囲の筋様細胞の陽性反応は胎子期では弱かったものの,その発現は成熟に伴って強くなっていく結果となった.また非繁殖期に比べて繁殖期の精細管は顕著に拡大しており,SMAはそれに合わせて精細管を大きく縁取りしていた.また,tubulinは胎子期から成体に至るまでセルトリ細胞において認められた.繁殖期の精巢では,tubulinはセルトリ細胞の細胞質の伸長に合わせて管腔に向かって顕著に伸びている像が観察された.そしてdesminはSMAと同様,筋様細胞において認められ,精細管周囲を取り囲んでいた.さらにvimentinは全てのステージで,ライディッヒ細胞,セルトリ細胞,筋様細胞,そして血管壁において陽性であった.繁殖期の精巢のセルトリ細胞ではtubulinと同じように,vimentinが基底から管腔に向かって顕著に伸長していた.一方,cytokeratinは精巢網の上皮にのみ認められた.以上の結果から,SMAとdesminは精細管周囲筋様細胞において発現して主に精細管の管腔構造の維持や調整に対して機能し,vimentinとtubulinはセルトリ細胞の細胞骨格として精子形成に伴うセルトリ細胞の形態や機能の変化に関与しているものと考えられる.

P-15 エゾシカの発達および性成熟過程における卵胞形成と卵胞でのステロイド合成能

○ 小林すみよ¹, 柳川洋二郎¹, 坪田敏男², 永野昌志¹ (¹北海道大学繁殖学, ²北海道大学野生動物学)

The folliculogenesis and steroidogenesis of follicle during development and maturation in Hokkaido sika deer (*Cervus nippon yesoensis*).

○ Sumiyo Kobayashi¹, Yojiro Yanagawa¹, Toshio Tsubota², Masashi Nagano¹, (¹Laboratory of Theriogenology, Hokkaido University, ²Laboratory of Wildlife Biology, Hokkaido University)

[目的] エゾシカにおいて、個体群ごとの繁殖特性の生理学的至近要因を調査する上で、卵巣における卵胞形成やそれに伴うステロイド合成能の変化は重要な調査項目であると考えられるが、今日までエゾシカではこれらの報告が無い。そこで、本研究ではエゾシカの一般的な発達、性成熟過程における卵胞形成や卵胞におけるステロイド合成能を明らかにすることを目的とした。

[材料及び方法] 栄養状態の良い個体群が生息する斜里町、標津町、新ひだか町において狩猟や有害駆除で捕殺されたエゾシカより、胎齢約 45 日から 200 日の胎子卵巣(n=16), 0 才(n=12), 1 才(n=8)および 2 才以上(n=16)の卵巣を、1 年を通じて採取した。卵巣は採取直後に 10%リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、パラフィン包埋後、常法に従い HE 染色を施し、卵巣内の原始卵胞、一次卵胞、二次卵胞および胞状卵胞を組織学的に観察した。また、卵胞におけるステロイド合成酵素(P450scc, P450arom)の発現の有無と発現部位を免疫組織化学的に検索した。

[結果] 原始卵胞は胎齢 45 日程度では観察されず、胎齢 80 日程度で初めて観察された。胞状卵胞は胎齢 150 日程度では観察されず、胎齢 200 日程度から観察された。出生後は全ての年齢層で 1 年を通じて原始卵胞から胞状卵胞までの全てのステージの卵胞が観察された。胎子の卵巣においてステロイド合成酵素の発現は観察されなかったが、出生後は全ての個体の胞状卵胞内の顆粒層細胞で、P450scc と P450arom の発現が確認された。また、二次卵胞の顆粒層細胞で P450scc と P450arom の発現が確認された個体が散見されたが、年齢や季節に一定の傾向は確認できなかった。

[考察] エゾシカの原始卵胞、胞状卵胞の形成時期はそれぞれ妊娠期間(約 225 日)が 36%, 89%進行した時点で、ヒツジ(50%, 90%)と同様であった。P450scc は他の動物種と異なり、内卵胞膜細胞では確認できず、顆粒層細胞のみで発現していることが特徴的であった。また、P450arom は出生後の全年齢で一年を通して発現していることから、実際のエストロゲン分泌を反映していない可能性が示唆された。二次卵胞における P450arom 発現はシバヤギで報告があるが、P450scc については他の動物種においても報告が無くエゾシカの特徴の 1 つと考えられた。

P-16 ペンギンの羽根の構造

○川瀬啓祐¹, 佐々木基樹¹, 西海 功², 岩見恭子³, 遠藤秀紀⁴, 北村延夫¹ (¹帯広畜産大学, ²国立科学博物館, ³山階鳥類研究所, ⁴東京大学総合研究博物館)

Feather structure of penguins.

○Keisuke Kawase¹, Motoki Sasaki¹, Isao Nishiumi², Yasuko Iwami³, Hideki Endo⁴, Nobuo Kitamura¹ (¹Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, ²National Museum of Nature and Science, ³Yamashina Institute for Ornithology, ⁴The University Museum, The University of Tokyo)

[目的]ペンギンは飛ぶことが出来ないが、水中をまるで飛んでいるように泳ぐことが出来、そしてすべての種が潜水して餌を捕らえる。そのため、ペンギンの羽根は他の飛翔する鳥とは異なり、防水性、保温性に優れた形態をしていると考えられる。今回、キングペンギン、コガタペンギン、ケープペンギンの羽根を形態学的に観察し、比較検討した。

[材料及び方法]上野動物園から国立科学博物館に寄贈されたフェアリーペンギン3個体、キングペンギン2個体、そして千葉市動物公園から東京大学総合研究博物館に寄贈されたケープペンギン3個体の遺体を用いた。体の様々な部位から羽根を採材し、洗浄後、自然乾燥させ、その後実態顕微鏡および走査型電子顕微鏡を用いて観察した。

[結果および考察]各種とも正羽、準綿羽、綿羽、糸状羽が確認され、無羽区は存在しなかった。正羽は頭部、体幹、フリッパーに存在していた。準綿羽は各種ともに尾腺部分のみで観察された。綿羽は頭部、体幹、フリッパーの上腕部で観察された。糸状羽は頭部と体幹、そしてキングペンギンではフリッパーにも観察された。それぞれの羽根は、基本的に羽軸、羽軸根、羽弁そして後羽から成り立っていた。綿羽は隙間なく敷き詰められており、羽枝からは捻じれて走行する綿羽状小羽枝が認められ、綿羽状小羽枝からは線毛と呼ばれる1対の突起が観察された。糸状羽は、長い羽軸を持ち、羽枝や小羽枝が確認され、小羽枝の先端には小さな突起が観察された。準綿羽は明瞭な羽軸を持つが、その小羽枝の構造は綿羽と同様で、これらが集合することで筆先状になっていた。正羽において、正羽弁には正羽部、綿毛部、開放正羽部の3つの領域が確認された。正羽部では鉤状構造を持ち、弓状を示す近位小羽枝(弓状小羽枝)と鉤状を示す遠位小羽枝(鉤状小羽枝)が確認され、これらが連結することで鉤状構造を形成していた。綿毛部は綿羽状小羽枝を持ち、その構造は綿羽と同様であった。開放正羽部では単純小羽枝が確認された。体幹の正羽では非常に綿毛部が大きく後羽も大きいことが確認できた。フリッパーでは羽軸が扁平な正羽が密に分布し、鱗状になっており、後羽はフリッパー上腕部でのみ観察された。また、フリッパーの羽軸根は尾側にかけて長くなっていき、尾側の羽軸根には明瞭な腹側溝が存在していた。今回観察された羽根の構造は、3種類のペンギンで大変類似しており、その構造はペンギンに対して優れた防水性と保温性をもたらしていると推測される。

P-17 海棲哺乳類・エゾヒグマ・アルパカを用いた心臓刺激伝導系の肉

眼および組織学的特徴

○ 鈴木達也¹, 岩尾 一², 谷山弘行^{1,3}, 岡本 実^{1,3} (¹酪農大・獣医感染病理部門, ²新潟市水族館, ³酪農大大学院・獣医学研究科獣医病理)

Morphological and histological feature of Cardiac conduction system in marine mammals, Hokkaido brown bear and Alpaca

○ Tstsuya SUZUKI¹, Hajime IWAO², Hiroyuki TANIYAMA^{1,3}, Minoru OKAMOTO^{1,3} (¹Department of Veterinary immunopathology, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, ²Niigata City Aquarium, ³Department of Veterinary Pathology, Graduate School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University)

[背景] 哺乳動物における心臓刺激伝導系 (CCS) の検索は、ヒト、実験動物、イヌ、ネコ、ウシ、ブタなどの動物において報告があるが、このような動物以外での報告は少ない。通常我々は心臓組織を肉眼的に検索する場合には、その病巣を確認することに加え、弁や腱索などを含めた病巣の好発部位とともに血管走行など正常の解剖学的分布を考慮しつつ実施している。この中には CCS も含まれているが、哺乳動物の CCS は、その解剖学的位置や血管走行などに種差が認められる。さらに CCS は肉眼での判別が困難で、未経験動物や希少種動物では CCS の検索、その中でも洞房結節 (SN) と房室結節 (AVN) を正確に組織採取する場合には多大な労力を要することになる。そこで今回は報告のなされていない動物種を用い、SN と AVN に着目し、各動物種における解剖学的位置や組織学的特徴を提示する。

[材料・方法] ゴマフアザラシ (*Phoca largha*, 2 検体), カリフォルニアアシカ (*Zalophus californianus*, 1 検体), カマイルカ (*Lagenorhynchus obliquidens*, 1 検体) エゾヒグマ (*Ursus arctos yesoensis*, 5 検体), アルパカ (*Vicugna pacos*, 1 検体), のホルマリン固定した心臓を用い、パラフィン包埋切片を作成、ヘマトキシリン・エオシン (HE) 染色, マッソン・トリクローム (MT) 染色を行った。

[結果] ①洞房結節: 検索したすべての動物種において前大静脈と右心房の接合部に存在した。その詳細な分布には種差が認められた。エゾヒグマ, ゴマフアザラシ, カリフォルニアアシカでは SN の頭側端が右心耳頂点 (crest of the junction of the atrial appendage with the superior vena cava) を超えなかった。一方, アルパカ及びカマイルカでは右心耳頂点をまたぐ様に存在した。組織学的には、線維性結合組に囲まれ、普通心筋線維に比較して細く、HE 染色で弱い染色性を示し、不規則な走行をするといった特徴を示した。多くは HE 染色で判別可能だが、MT 染色でなければ判別困難な個体も存在した。また、SN 内にはこれを貫通する動脈 (central artery) が認められた。②房室結節: AVN は冠状静脈洞口 (CS) 直前の心房中隔と心室中隔の接合部、三尖弁 (中隔尖) 基部上方の心内膜下に存在した。ただし、カマイルカにおいては、より CS に近接して存在した。組織学的特徴は SN と同様であった。複数検体検索した動物種では、SN 及び AVN のいずれでも、その分布において個体差を認めた。

[考察] 今回の検索により、エゾヒグマ, ゴマフアザラシ, カリフォルニアアシカ, アルパカ, カマイルカの CCS が既知の哺乳動物と類似することが明らかとなった。SN の分布では、エゾヒグマ, ゴマフアザラシ, カリフォルニアアシカは、イヌと類似しており、アルパカ, カマイルカはウマと類似する分布であった。ただし、CCS には動物種差も然ることながら、個体差が存在するため、この結果は肉眼的検索の一指標としてのみに留まるといふ点には注意を要する。

P-18 カメ類における「膀胱」の形態機能学的定義

○辰巳敬哉¹, 亀崎直樹³, 藍原祥子², 山下真路⁴, 谷口真理³, 三根佳奈子³, 坂本未来², 表原拓也¹, 小林泰丈¹, 横山俊史¹, 北川 浩¹, 今川智敬⁴, 星 信彦¹

(¹ 神戸大・院・農学研究科応用動物学, ² 神戸大・院・農学研究科応用生命化学, ³ 神戸市立須磨海浜水族園, ⁴ 鳥取大・農・獣医学科獣医画像診断学)

The definition of the functional morphology of ‘the urinary bladder’ in turtles.

○Atsutoshi Tatsumi¹, Naoki Kamezaki², Yoshiko Aihara¹, Masamichi Yamashita³, Mari Taniguchi², Kanako Mine², Miku Sakamoto¹, Takuya Omotehara¹, Yoshihiro Kobayashi¹, Toshihumi Yokoyama¹, Hiroshi Kitagawa¹, Tomohiro Imagawa³, Kazuki Kanazawa¹, Nobuhiko Hoshi¹

(¹ Dept. Anim. Sci., Grad. Sch. Agri. Sci., Kobe Univ., ² Appl. Chem. Biosci., Grad. Sch. Agri. Sci., Kobe Univ., ³ Kobe-Suma Aquarium, ⁴ Dept. Vet. Pharmacol., Agri., Tottori Univ.)

[目的] 哺乳類の膀胱は腎臓から送られる尿を一時貯留する嚢状の器官であり, 尿管によって腎臓と接続する. 爬虫類では膀胱の有無は種により異なり, とくにトカゲ類では膀胱を有する種, 新生子の間は有するが成長すると退化する種, 有しない種がいる. 一方, カメ類は「膀胱」と呼ばれる器官を有し液体を貯留するが, 尿管とは接続しておらず, その形態機能の詳細は不明である. そこで, カメの「膀胱」について形態機能学的解析を行った.

[材料および方法] アオウミガメ, オサガメ, アカミミガメ, イシガメ, スッポン, ロシアリクガメ, マウスについて肉眼的, 組織学的検索およびMRIによる解析と併せて「膀胱」内貯留液に対して尿酸濃度測定・成分分析を行った. 実験に用いたカメ類は須磨水族園よりサンプル提供をいただいたものを, マウスは当研究室において繁殖されたものを用いた.

[結果] 「膀胱」は直腸の腹側に位置し, 総排泄腔へ接続する嚢状構造物であった. 尿管は総排泄腔に直接接続していることが確認された. また, 「膀胱」は内腔側ではPAS陽性反応を示す上皮細胞層, 豊富な結合組織を有する粘膜固有層, 発達した筋層から成っていた. とくにウミガメ類では上皮細胞層基底側では基底膜に沿って上皮内脈管が多数みられた. 粘膜固有層ではリンパ球の集簇または散在が認められた. 筋層は複雑に交叉する平滑筋の層構造を示し, ウミガメ類では極めて厚かった. MRI像において「膀胱」は, 総排泄腔の頭側に位置し, 液体で満たされ, 頭側方向に下垂していた. 「膀胱」はアオウミガメおよびスッポンでは瓜実状に腹腔の中央に位置し, アカミミガメでは腹腔腹側全域に渡り, ロシアリクガメでは他のカメより小さかった. アオウミガメのみ「膀胱」内に沈殿物が認められた. 「膀胱」内には緑色, 混濁, 無臭, 中性(pH)の液体が多量にあり, プランクトンが多数観察された. また, 環境水では海水・淡水ともに尿酸は検出限界以下であったが, 貯留液では海水棲・淡水棲ともに尿酸が検出される個体もあった.

[考察] 上皮細胞層表層は粘液で覆われていると推察され, 上皮内脈管の存在から何らかの物質の移動が想定された. 固有層におけるリンパ球の集簇から免疫応答反応が示唆された. また, 「膀胱」内貯留液中には微生物, 沈殿物が認められ, 微量ながら尿酸が検出されたことから, 貯留液は環境水が主体であり, 総排泄腔から尿の一部が流入したものと考えられた. 以上のことから, 「膀胱」の形態機能は哺乳類の膀胱(urinary bladder)とは異なり, その名称は相応しくなく, 新名称として『総排泄腔傍嚢』を提唱する.

P-19 タイヘイヨウアカボウモドキの舌形態

○進藤順治¹, 岡田あゆみ¹, 三村春奈¹, 松田純佳², 松石 隆² (¹北里大学野生動物,
²北大院水)

Morphological observations on the tongue of the Longman's beaked whale (*Indopacetus pacificus*)

○Junji Shindo¹, Ayumi Okada¹, Haruna Mimura¹, Ayaka Matsuda², Takashi Matsui²

(¹Laboratory of wildlife Science, Kitasato University, ²Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University)

[目的] 哺乳動物の舌には、舌乳頭が分布し、その形態や分布には種の間で差がみられる。また、舌乳頭の上皮下にある結合織芯には、種による明瞭な特徴が現れ、食性や咀嚼方法などとの関係のあることが示されている。しかし、水中生活する鯨類の舌は、他の哺乳動物のような舌乳頭が存在せず、若齢期に辺縁乳頭がみられるのみである。また、鯨類にはいまだ生態や詳細な形態が検討されていない種が多く存在し、舌形態も明確にされていない。

今回観察したタイヘイヨウアカボウモドキは、太平洋、インド洋の熱帯から亜熱帯の海域に生息すると言われ、国内でも僅かに漂着記録がある程度であり、その生態については未知である。このタイヘイヨウアカボウモドキの舌を肉眼および走査型電子顕微鏡(以下 SEM)を用い観察し、既知の鯨類の舌と比較検討した。

[材料及び方法] タイヘイヨウアカボウモドキ (体長 619cm, メス) は平成 22 年 9 月 25 日に北海道函館市石崎町の海岸に漂着し、現地にて計測や採材が行われた。舌は下顎より切り取り 10%ホルマリンで固定後、肉眼的観察を行った。その後、SEM による観察標本として各部位を切り出し、2.5%グルタルアルデヒド・リン酸緩衝液にて再固定し、3.5N 塩酸にて 25°C に一週間浸後、上皮剥離標本を作製し、SEM (HITACHI S4300, 日立, 東京) で観察した。

[結果] 舌は長さ 28cm, 幅 11.5cm の葉状を呈し舌尖下面はなく、口腔底から垂直に 2cm ほど隆起し、また舌辺縁は溝が見られた。舌前部 2/3 は平坦で白く滑面、後部 1/3 は皺が複雑に入り込み、舌表面には導管の開口部が散在していた。舌の横断面を観察すると、舌前部は上下に走る筋層と深部両側に前後に走る筋層が見られ、舌中央部では太くなり、各筋層に囲まれた中央部に舌背に向かい斜めに走る筋層が現れる。舌後部では、上下に走る筋層は薄くなり、中央の筋肉層が径を増していた。SEM による観察で、表面は扁平上皮で覆われ、結合織芯は円柱状を呈し、舌前部から舌体中央部に向かい高さを増し、舌後方ではやや低くなっていた。

[考察] アカボウモドキの舌は舌尖下面のない葉状の形態を呈し、同じ科のオウギハクジラやイチョウハクジラの口腔底より隆起した細長い舌形態とは異なっていた。また、舌表面構造と結合織芯は他の鯨類と類似していた。横断面に見られる筋層は、哺乳動物のような縦横に入り組んだ可動性のある構造ではなく、上下に走る舌筋と深部で前後または斜めに走行する筋層が見られ、舌の前後運動機能が示唆された。今回、生態が不明な謎のクジラであるタイヘイヨウアカボウモドキの舌形態を示すことが出来た。

P-20 オキナワキノボリトカゲ精巣における細胞骨格タンパクの局在

○徳嶺 燿子¹, 保田 昌宏¹, 中牟田 信明², 佐々木 基樹³, 那須 哲夫¹ (¹宮崎大学獣医解剖学, ²岩手大学 獣医解剖, ³帯広畜産大学 獣医解剖)

Immunolocalization of Cytoskeletal Proteins in the Testis of *Japalura polygonata polygonata*

○Yoko Tokumine¹, Masahiro Yasuda¹, Nobuaki Nakamuta², Motoki Sasaki³, Tetsuo Nasu¹ (¹Lab of Veterinary Anatomy, University of Miyazaki, ²Lab of Veterinary Anatomy, Iwate University, ³Lab of Veterinary Anatomy, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine)

〔目的〕 オキナワキノボリトカゲは、トカゲ亜目アガマ科に属し、主に琉球列島に生息し、国および沖縄県のレッドデータブックにおいて、絶滅危惧Ⅱ類に指定されている。一方、オキナワキノボリトカゲは国内外来種としても問題視されており、鹿児島県指宿市と宮崎県日南市において繁殖が確認されている。我々はこれまでに、本トカゲが季節繁殖動物であり、繁殖期と非繁殖期では精巣の大きさが有意に異なることを報告している。そこで本研究では、宮崎県日南市で調査捕獲したオキナワキノボリトカゲの精巣における細胞骨格タンパクの局在を、免疫組織化学染色法によって観察した。

〔材料および方法〕 オキナワキノボリトカゲは、宮崎県日南市において夏期に調査捕獲した成熟雄個体(n=10)を用いた。捕獲した個体をペントバルビタールの腹腔内注射で安楽殺した後、20%緩衝ホルマリンによって還流固定を行った。固定後、定法によりパラフィン包埋し、4 μmの連続切片を作製した。細胞骨格を認識する抗体は、抗 Desmin 抗体 (DE-U-10, Gene Tex), 抗 Actin 抗体 (1A4, Sigma-Aldrich), 抗 Vimentin 抗体 (VIM13.2, Sigma-Aldrich) の3種類を用い、免疫組織化学染色法によって染色し、光学顕微鏡で観察した。

〔結果〕 抗 Desmin 抗体を用いた場合では、精巣間質と曲精細管の外側にある筋様細胞で陽性が観察された。しかし精上皮は染色されなかった。抗 Actin 抗体を用いた場合では、筋様細胞や血管壁が陽性に染色された。抗 Vimentin 抗体を用いた場合では、曲精細管内のセルトリ細胞、筋様細胞および精巣間質のライディッヒ細胞が陽性に染色された。

〔考察〕 本研究によって、オキナワキノボリトカゲの精巣における細胞骨格タンパクの局在を明らかにすることができた。現在、繁殖期と非繁殖期における本トカゲの精巣における細胞骨格タンパクの局在差について、研究を実施している。さらに今後、精巣と排泄腔腺や生殖突起など他の器官との関連性の解析を進めていく予定である。

P-21 スズメ目の4種の鳥類における前胃の組織学的観察

○芝崎考次郎¹, 大石元治¹, 佐藤達夫², 尼崎肇¹ (¹日本獣医生命科学大学獣医解剖学教室, ²NPO 法人 行徳野鳥観察者友の会)

Histological observation of the proventriculus in four species of passerine

○Koujirou Shibasaki¹, Motoharu Oishi¹, Tatsuo Satou², Hajime Amasaki¹ (Laboratory of Veterinary Anatomy, Nippon Veterinary and Life Science University, ²NPO Friends of Gyotoku Bird Observatory)

[目的]鳥類は約9700種類が存在し,その食性は多岐にわたる.食性の違いは消化管の形態,機能に影響すると考えられるが,鳥類の消化管の前胃についての報告は少ない.第17回大会において,我々はヒヨドリとツグミにおける上部消化管の組織学的形態について報告した.今回我々は,さらにムクドリ(n=3)とスズメ(n=7)を観察する機会を得たので報告する.

[材料及び方法]組織学的観察のために,標本は10%ホルマリンによって固定され,常法に従ってパラフィン包埋を行った.3~5 μ mに薄切し,HE染色,PAS染色,AB染色を行った.本研究に使用した全ての標本は,千葉県市川市にある行徳野鳥観察者友の会より寄贈されたものである.

[結果]それぞれの前胃について,前胃腺は管状胞状腺であり,表層部,導管部,腺房部に分かれていた.ヒヨドリ,ツグミ,スズメでは表層部と導管部の上皮細胞にPAS陽性が認められたが,AB染色では表層部のみが陽性反応を示した.ムクドリにおける組織学的特徴は前3者と類似していたが,導管部の上皮細胞においてAB陽性が認められた.

[考察]このような染色性の違いは,種間の食性の違いや系統的な要因が関係しているかもしれない.今度は,他の鳥種における食性が異なる,例えば魚食,肉食の鳥種を調査し,鳥類における前胃の組織学的な差異とその意義を明らかにしていきたい.

P-22 ニホンヤマネ消化管の肉眼解剖的及び組織学的構造

○津森 雄太¹, 保田 昌宏¹, 岩渕 真奈美^{2,3,4}, 饗場 春留果^{2,3,4}, 湊 秋作^{2,3,4,5}, 森田 哲夫⁶, 那須 哲夫¹ (¹宮崎大学 獣医解剖, ²キープ協会 やまねミュージアム, ³ニホンヤマネ保護研究グループ, ⁴アニマルパスウェイと野生動物の会, ⁵関西学院大 教育, ⁶宮崎大学 動物環境管理学)

Studies on the structure of the digestive tract of *Glirulus japonicus*.

○Yuta Tsumori¹, Masahiro Yasuda¹, Manami Iwabuchi^{2,3,4}, Haruka Aiba^{2,3,4}, Shusaku Minato^{2,3,4,5}, Tetsuo Morita⁶, Tetsuo Nasu¹ (¹Veterinary Anatomy, University of Miyazaki, ²KEEP Yamane Museum, ³The Japanese Dormice Preservation & Research Group, ⁴Animal-Pathway & Wildlife Association, ⁵Kwansei Gakuin University, ⁶Management of Animal and Environment, University of Miyazaki)

[目的] ニホンヤマネは齧歯目ヤマネ科ヤマネ属に分類され、日本における現生種は本種のみである。消化器系は動物の食性の違いや系統差などにより固有の構造を有しており、盲腸の有無など肉眼的に分かる違いだけでなく、粘膜表面に見られる中性ムコ多糖類と酸性ムコ多糖類の分泌にも特徴のある事が知られている。本研究では、ニホンヤマネの消化器系の構造的特徴を精査する目的で、消化管を肉眼解剖学的に観察した後、組織標本を作製し、HE染色、PAS染色、アルシアンブルー染色を行い、光学顕微鏡で観察し比較した。

[材料及び方法] ニホンヤマネは山梨県北杜市のやまねミュージアムで保護されていたが死亡した個体(成体雌3頭, 体重 29.3 ± 0.9 g (平均 \pm 標準偏差))を用いた。10%ホルマリンで固定後、肉眼解剖学的な観察を実施した。さらに消化管の組織標本を定法に従って作製し、それぞれをHE染色、PAS染色、アルシアンブルー染色し、光学顕微鏡で観察した。

[結果] ニホンヤマネの胃の特徴として、粘膜が腺部で構成された胃盲嚢が観察され、胃体部は固有胃腺で占められていた。噴門部や幽門部にはそれぞれ粘液産生細胞が存在し、噴門腺や幽門腺を形成していた。さらに固有胃腺には、主細胞や壁細胞、頸粘液分泌細胞などが観察された。十二指腸から回腸口までは、 20 ± 1.1 cmあり、結腸は 3.8 ± 1.1 cmであった。回腸と結腸はL字状に接続し、盲腸は存在しなかった。アルシアンブルー染色では、十二指腸と空腸近位端における杯細胞の粘液は染色されなかったが、陽性像は空腸近位約4分の1から増加し始め、空腸遠位および回腸では最も多く観察された。しかしPAS染色では、杯細胞の粘液は、空腸近位約4分の1で最も多く染色され、回腸ではほぼ染色されなかった。

[考察] ニホンヤマネの胃には他の動物の固有胃腺と同様の構成細胞が観察され、ほぼ同等の機能を持つと思われる。また、小腸では近位から遠位に行くに従って杯細胞の数は増加するが、アルシアンブルー染色やPAS染色の結果から、粘液の性状は変化していくものと考えられる。

今後はレクチン染色、免疫組織化学染色などを実施し、ヤマネの腸管の季節性変化などにも注目し、その機能を比較解析していきたい。

P-23 飼育下オグロワラビー (*Wallabia bicolor*) 頭蓋骨標本観察による

顎骨髄炎 (カンガルー病) 発生要因に関する考察

○田窪 憲一郎¹, 鯉江 洋¹, 竹菴 明日香², 松本 令以², 広谷 浩子³, 金山 喜一¹
(¹日大 獣医生理学, ²横浜市立野毛山動物園, ³神奈川県立生命の星・地球博物館)

Survey of lumpy jaw in captive Swamp Wallaby (*Wallabia bicolor*) skulls

○Kenichiro Takubo¹, Hiroshi Koie¹, Asuka Chikuan², Rei Matsumoto², Hiroko Hirokuni³, Kiichi Kanayama¹ (¹Lab. of Veterinary Physiology, Nihon University, ²Nogeyama zoological gardens of Yokohama ³Kanagawa Prefectural Museum of Natural History)

[目的] カンガルー類における口腔内壊死桿菌症はカンガルー病 (Kangaroo Disease, KD) として知られ, 国内の動物園でも多発し, 主要な死亡原因のひとつとして挙げられている. 本研究では死亡したオグロワラビー (*Wallabia bicolor*) 頭蓋骨標本に対して, 肉眼的観察, ならびに CT による非侵襲的な観察を行い, 顎骨髄炎の発生状況を調査した.

[材料及び方法] 横浜市立金沢動物園及び横浜市立野毛山動物園で飼育され, 死亡後に骨格標本として野毛山動物園および神奈川県立生命の星・地球博物館に収蔵されているオグロワラビーの頭蓋骨標本 11 点について, 肉眼的観察ならびにマルチヘリカル CT (Aquilion16, Toshiba) による撮影を行い, 各歯根部の病変の出現頻度を記録した.

[結果] 調査した 11 個体中 10 例に歯根部の病変が確認された. 特に上顎・下顎共に門歯の発生頻度が最も高く, 次いで第一臼歯の発生頻度が高かった. CT 画像からは病変部の骨溶解による菲薄化や骨増生による肥厚が観察された.

[考察] 今回調査した標本群では 11 頭中 10 頭という非常に高い確率で顎骨髄炎が観察された. 特に門歯部の発生率が高いことに関しては, 飼育下のオグロワラビーは障害物との衝突が多発することから, それによる外傷により, 門歯部への感染が発生すると推察した. 第一臼歯の発生に関しては, CT 画像において萌出前の前臼歯 (P4) が上顎・下顎の第一臼歯 (M1) 歯根部骨内に観察されたことから, 前臼歯の垂直置換による生理的脱落による歯根部への感染が推察された. これらのことから本疾患を予防する為には, 十分な飼育スペースを確保すること, 前臼歯の生え変わりの時期に脱落した歯根部に刺入するような硬い食餌を制限することで疾病発生率を低下させる可能性があると思われる.

P-24 ライオン (*Panthera leo*) に認められた頸椎椎間板ヘルニアによる脊髄軟化症の一例

○中嶋朋美¹, 久保正仁¹, 吉田翔太¹, 早川大輔², 吉澤未来² (¹山口大 獣医病理, ²わんぱーくこうちアニマルランド)

Myelomalacia caused by cervical intervertebral disc protrusion in a lion (*Panthera leo*)

○Tomomi Nakashima¹, Masahito Kubo¹, Shota Yoshida¹, Daisuke Hayakawa², Miki Yoshizawa² (¹Laboratory of Veterinary Pathology, Yamaguchi University, ²Wanpark Kochi Animal Land)

〔目的〕椎間板疾患や脊椎症といった脊椎変性疾患は飼いイヌでよく認められるが、飼いネコでは臨床的にあまり認められないと言われている。大型ネコ科動物においては、欧米では十数例の報告があるが、これまで日本国内においては報告されていない。今回、わんぱーくこうちアニマルランドで飼育下のライオンにおいて、頸椎椎間板ヘルニアによる脊髄軟化症が認められたので報告する。

〔材料及び方法〕症例個体はわんぱーくこうちアニマルランド飼育下のライオン（雄，14歳8ヶ月）である。2011年3月20日朝、寝室内で起立不能になっているのを発見。前日までは特に異常は認められなかった。ステロイド、抗生物質等の治療を行うも、症状は改善せず、2011年4月5日朝、死亡しているのを発見された。わんぱーくこうちアニマルランドおよび山口大学にて病理解剖を実施した。肉眼観察後、主要臓器は10%中性緩衝ホルマリンで固定後、定法に従ってパラフィン包埋切片を作製し、病理組織学的検索を行った。

〔結果〕①肉眼所見：第5-6頸椎間において、椎間板が椎管内に突出していた。第4-5および第5-6頸椎間において、椎間板髄核が消失し、椎体同士が直接接していた。同部位の椎間板線維輪腹側部は変性、壊死し、結合組織の増生により椎体同士が癒着していた。第5-6頸椎間の椎体腹側においては骨増生によるブリッジの形成が認められた。その他、肺にφ1-3cmの腫瘤が散在性に認められた。②組織所見：椎間板突出部付近の頸髄において、腹側に広範な融解壊死巣が認められ、壊死巣内には多数の脂肪顆粒細胞が認められた。壊死巣周囲において、膨化した軸索が多数認められた。また、脾臓では、好中球、好酸球、マクロファージの浸潤を伴う大小の壊死巣が認められ、周囲の脂肪組織も壊死し、脂肪酸塩結晶の析出が認められたほか、好中球等の浸潤や軽度の線維性結合組織の増生が認められた。肺腫瘤部においては、立方状～円柱状で、好酸性～淡明な細胞質を有する上皮系腫瘍細胞の乳頭状増殖が認められた。腫瘍細胞の核には異型性がみられたが、有糸分裂像はほとんど認められなかった。腫瘍外の肺胞腔内に腫瘍細胞が散見された。

〔考察〕本症例は、頸部における椎間板ヘルニアとそれに伴う脊髄の軟化によって起立不能となったと考えられた。死因に関しては、起立不能による衰弱、亜急性化膿性脾炎が考えられた。なお、肺原発と思われる乳頭状腺癌が認められたが、病変の大きさと分布から、偶発所見であると思われた。本症例は日本国内における大型ネコ科動物の椎間板ヘルニアおよび脊髄軟化症の初めての症例である。

P-25 動物園動物に認められた腫瘍性疾患の症例検討

○尾崎慧亮¹, 小宮直孝³, 谷山弘行^{1,2}, 岡本実^{1,2}

(¹酪農大・獣医感染病理部門, ²酪農大大学院・獣医学研究科獣医病理,³東武動物公園)

Cases of neoplastic disease in zoo animals

○Keisuke Osaki¹, Naotaka Komiya³, Hiroyuki Taniyama^{1,2}, Minoru Okamoto^{1,2} (¹Department of Veterinary immunopathology, School of Veterinary Medicine, Rakunogakuen University, ²Department of Veterinary pathology, Graduate School of Veterinary Medicine, Rakunogakuen University, ³Tobu zoo)

[背景] 多種類の動物園動物において腫瘍性疾患の報告が認められる。それらの情報を提示、蓄積していくことは、将来飼育動物の生前診断および治療方法選択に関連してくる事項と思われるが、その報告は未だに少なく不足しているのが現状である。今回、ペンギン目で注意を要する悪性黒色腫1例と、報告例を認められなかったアクシスジカの腹腔臓器原発の上皮性腫瘍2例を用いて病理組織学的特徴と関連文献との比較について考察する。

[材料および方法] 10%中性ホルマリン液で浸漬固定された各種動物組織を用いた。症例1：フンボルトペンギン (*Spheniscus humboldti*) ,雄,33歳。症例2：アクシスジカ (*Axis axis*) ,雌,16歳。症例3：アクシスジカ,雌,若齢。固定後の組織は肉眼観察の後、定法に従ってパラフィン包埋切片を作成し、病理組織学的検索としてヘマトキシリン・エオシン染色,各種特殊染色および免疫染色を行った。

[結果] ①診断名,②本検索で腫瘍細胞を認めた組織, ③本例の特徴/文献との関連性

症例1：①悪性黒色腫。②皮下組織,肝臓,心臓,肺,脾臓,膵臓,嚙嚢。③下嘴基部における巨大黒色腫瘍。ペンギン目での過去4症例およびその他数種の鳥類の報告では、経過・肉眼所見から嘴付近を主とした頭部皮下組織が原発巣と推測されており,本検体も概ね該当。

症例2：①子宮内膜腺癌。②子宮,肺,肝臓。③②の臓器における白色腫瘍。組織学的に管状乳頭状に増殖する上皮性腫瘍。ウシ,ウサギを除いて稀とされている。ウシでの報告例と病態や臨床経過が類似。

症例3：①胆管癌。②上部小腸,肝包膜。③腫瘍細胞間質は豊富な線維成分増生を伴う。小葉中心性に胆汁色素沈着,毛細胆管の拡張,胆汁栓形成,腎尿細管上皮の帯黄色を認め,閉塞性黄疸から全身への影響が見られた。腹膜炎も併発。

[考察] ペンギン目を主とした鳥類における悪性黒色腫は,本例を含め過去の例から嘴基部が好発部位と示唆されるので,同部位周囲で膨隆,腫瘍形成を認めたら疑って早期対策を検討するのが良いと考える。報告のある疾患に対して,他の2症例における肺への転移による呼吸困難,胆道系の閉塞による黄疸は宿主に影響を与えた主たる最終的な症状と思われるが,このような初報告の貴重な症例を蓄積することで腫瘍形成の初期を臨床的に補足することが今後の動物園動物治療の課題であると思われる。

P-26 エゾヒグマに認められたインスリノーマの一例

○可知正行¹, 塩田純一郎¹, 尾崎慧亮¹, 南寿美子¹, 渡邊奈都美¹, 佐々木和好³, 坂本秀行³, 谷山弘行^{1,2}, 岡本実^{1,2} (¹酪農大・獣医感染病理部門, ²酪農大大学院・獣医学研究科獣医病理, ³のぼりべつクマ牧場)

A case of insulinoma in a Hokkaido brown bear (*Ursus arctos yesoensis*)

○Masayuki Kachi¹, Junichiro Shiota¹, Keisuke Osaki¹, Sumiko Minami¹, Natsumi Watanabe¹, Kazuyoshi Sasaki³, Hideyuki Sakamoto³, Hiroyuki Taniyama^{1,2}, Minoru Okamoto^{1,2}

(¹Department of Veterinary immunopathology, School of Veterinary Medicine, Rakunogakuen University, ²Department of Veterinary pathology, Graduate School of Veterinary Medicine, Rakunogakuen University,)

〔背景〕膵島β細胞由来の膵内分泌腫瘍であるインスリノーマは犬, フェレットで比較的多いとされるが他の動物での発生は稀である. 我々はこれまでもエゾヒグマの膵臓腫瘍が稀に認められることを報告している [第14回, 第18回日本野生動物医学会大会]. 今回エゾヒグマで組織学的に局所浸潤を伴う膵島腫瘍を認めたため, 報告する.

〔材料および方法〕エゾヒグマ, 雌, 35歳の膵臓を肉眼観察後, 組織学的検索に用いた. 病理組織学的検索にはヘマトキシリン・エオシン染色, Grimelius染色, Masson's trichrom染色を施し, 免疫組織酵素化学的検索には抗グルカゴン抗体, 抗インスリン抗体, 抗ソマトスタチン抗体を一次抗体として用い, ABC法を実施した.

〔結果〕膵臓実質には肉眼的に被膜を有する淡桃白色結節性病変 (最大 1.3×1.0 cm) が複数認められた. 組織学的には白色結節の大部分は被膜を伴っており膵島細胞に類似した腫瘍細胞の増殖として認められた. 被膜内の大部分の腫瘍細胞は蜂巢状, 索状配列を呈しており, 腫瘍間質は毛細血管に富み, 薄い線維性結合組織あるいは硝子化により区画されて認められた. 腫瘍細胞の核はやや大小不同で, 細胞質は好酸性顆粒状を呈しており, 膵島細胞に類似していた. 腫瘍細胞は一部で被膜内あるいは被膜外, 小葉間結合織へ浸潤する部位がみられた. 膵十二指腸リンパ節や他の臓器には同様の病変は認められなかった. 腫瘍細胞の細胞質は Grimelius 染色陽性で好銀性顆粒を有していた. 腫瘍細胞は免疫組織酵素化学的検索で抗インスリン抗体に陽性, 抗ソマトスタチン抗体にごく稀に陽性, 抗グルカゴン抗体に陰性を示した.

〔考察〕病理組織学的ならびに免疫組織化学的検索結果からインスリノーマ (被膜外への浸潤性増殖を認める) と診断した. 膵内分泌腫瘍は他の動物でも組織学的に良性に観察されても, 時に局所浸潤や転移が認められるとされており, 付帯事項に局所浸潤を認めると記載した. 脳実質の矮小化神経細胞や神経細胞の壊死を認めなかったため低血糖を生じさせる機能的腫瘍の判断には至らなかった.

P-27 シナガチョウ (*Anser cygnoides var domesticus*) の肝骨髄脂肪腫 の一例

○南 寿美子¹, 小宮 直孝³, 谷山 弘行^{1,2}, 岡本 実^{1,2}

(¹酪農大・獣医感染病理部門, ²酪農大大学院・獣医学研究科獣医病理, ³東武動物公園)

A case of Hepatic Myelolipoma in a Chinese Goose (*Anser cygnoides var domesticus*)

○Sumiko Minami¹, Naotaka Komiya³, Hiroyuki Taniyama^{1,2}, Minoru Okamoto^{1,2}

(¹Department of Veterinary immunopathology, School of Veterinary Medicine, Rakunogakuen University, ²Department of Veterinary pathology, Graduate School of Veterinary Medicine, Rakunogakuen University, ³Tobu Zoo)

〔背景〕骨髄脂肪腫は骨髄系細胞と成熟脂肪細胞からなる良性腫瘍で、哺乳類および鳥類において稀な腫瘍である。そのほとんどは副腎に発生し、肝臓に発生することは少ない。今回、シナガチョウの肝臓において骨髄脂肪腫が認められ、病理組織学的検索ならびに免疫組織化学的検索を行ったため、その詳細について報告する。

〔材料および方法〕10%中性緩衝ホルマリン液で浸漬固定されたシナガチョウ(雌, 推定 9~10 歳)の肝臓において定法に従いパラフィン包埋切片を作成した。病理組織学的検索にはヘマトキシリン・エオジン染色, コッサ反応, コンゴレッド染色(過マンガン酸処理及び未処理)を実施し, 免疫組織化学的染色には抗アミロイド A 抗体, 抗 IgY 抗体, 抗 albumin 抗体を用いた。

〔結果〕肝小葉構造は消失しており, 散在性で島状に集塊する萎縮肝細胞が認められた。肝実質には単核球の浸潤を伴う高度に分化した脂肪細胞塊を認め, 同部位に骨髄球や赤芽球などの造血細胞の増殖を伴う部位も一部認められた。また巣状, 塊状に大小不整形の類骨および線維骨の形成が認められ, 石灰の沈着を伴う部位も見られた。また肝実質において彌慢性に好酸性均一無構造の硝子様物質が認められた。この硝子様物質はコンゴレッド染色で橙赤色, 偏光顕微鏡下で緑色複屈折を呈しており, アミロイド沈着であった。このアミロイドは過マンガン酸処理後のコンゴレッド染色でその染色性が消失した。アミロイドは抗アミロイド A 抗体陰性, 抗 IgY 抗体に陽性を示した。

〔考察〕肝実質において成熟脂肪細胞および骨髄様組織が認められたこと, および病理組織学的検索の結果から, 本症例は骨化生およびアミロイド沈着を伴う肝骨髄脂肪腫と診断した。鳥の骨髄脂肪腫の際に沈着するアミロイドは, コンゴレッド染色結果から AA アミロイドの可能性が指摘されているが, コンゴレッド染色法による AA アミロイドの判定は動物において当てはまらないことが多く, 免疫組織化学的染色結果からも AA アミロイド以外の他のアミロイドである可能性が示唆され, 本症例は貴重な症例と思われる。

P-28 ニホンザルの臨床病理学的特徴

○兼子明久¹, 渡邊朗野¹, 山中淳史¹, 石上暁代¹, 斉藤波子¹, 鈴木樹理¹ (¹京都大学霊長類研究所人類進化モデル研究センター)

Clinicopathological characteristics of Japanese macaque.

○Akihisa Kaneko¹, Akino Watanabe¹, Atsushi Yamanaka¹, Akiyo Ishigami¹, Namiko Saito¹, Juri Suzuki¹, (¹Center for Human Evolution Modeling Research, Primate Research Institute Kyoto University)

[目的] 臨床病理学とは、患者から得られる材料をもとに臨床検査を通じて得られたデータから、ある疾病の病態の解析をおこない、診断や治療方針の決定、さらには経過観察から予後の判定までを手助けするという、臨床医学の一分野である。最近では臨床検査医学とも呼ばれ、臨床検査診断学、病態検査学などとも同義である。ニホンザルでも同様の流れで検体採取から臨床検査→診断→治療と進んでいくが、①ニホンザルはヒトと同じ霊長類であり、人獣共通感染症が多い動物であること、②ニホンザルは賢く、時には危険な動物になり得ること、③ニホンザルを適切に扱えるスタッフが少ないこと、④多頭数で飼育している飼育形態がある(京大霊長研の場合)、などの理由から、検査材料の確保が他の動物に比べ難しく、バイオセーフティーに関する検査材料の取り扱いにもより注意が必要であるという問題が挙げられる。今回は京大霊長研での各種材料の採材方法、各種臨床検査の検査値の特徴などを中心に紹介する。

[材料] ニホンザルの血液、糞便、尿など

[方法] 採血は麻酔下では大腿静脈、無麻酔時は橈側皮静脈よりおこなった。抗凝固剤は通常ヘパリンを用い、23~21Gの針で採血した。検査は、血液一般検査(WBC, RBC, Hb, Ht, MCV, MCH, MCHC, Plt)、生化学検査(TBil, TP, Alb, A/G比, AST, ALT, γ GTP, ALP, LDH, LAP, AMY, CPK, BUN, CRE, 血糖, TC, TG, Na, Cl, K, Ca, P, CRP)を行った。また、必要に応じて凝固系の検査や内分泌学的検査もおこなった。採便は、床に落ちている便を拾うか、スワブを利用し直腸より直接採取した。寄生虫学的検査は直接塗抹と、必要に応じて浮遊法も合わせておこなった。細菌学的検査は業者に外注した。採尿はバットを床に置き、バット内に溜まった尿を採取した。尿検査はスティック試験紙を用いた。

[結果] 【血液検査】検査値の特徴として、肝疾患では、 γ GTPとLAPが上昇しやすく、TBilはほとんど上昇しなかった。TBilは重度の肝疾患において軽度の上昇を示す程度であった。外傷ではCPKやCRPが上昇したが、同程度の外傷でも採血するタイミングでかなりのばらつきを認めた。

【糞便検査】寄生虫はトリコモナス、バランチジウム、その他小型原虫、鞭虫、糞線虫が散見され、細菌はエロモナス、エルシニアが下痢の原因として検出された。またサルモネラが検出されることもあった。これらの細菌種は屋外飼育の放飼場で多かった。

[考察] 各臨床検査において、ニホンザルに特徴的な検査結果が認められることが明らかになった。また、飼育場所や飼育状況で特徴的な結果が出ることも明らかになった。さらに同じ症例でも採材のタイミングが変わると検査結果も変わることが認められた。これらのことから、ニホンザルの診療を行う際には、検査項目のみならず各検査結果の変動する背景を考慮する必要があることが示唆された。今後も更にデータの蓄積を継続し、ニホンザルの臨床病理学的特徴を明らかにしていきたい。

P-29 後脚に分枝する静脈破裂を認めたモモイロペリカンの2例

○塩田純一郎¹, 渡邊奈都美¹, 河村芳朗², 角川雅俊³, 谷山弘行^{1,2}, 岡本 実^{1,2}

(¹酪農大・獣医感染病理部門, ²酪農大大学院・獣医学研究科獣医病理, ³新潟市水族館,
⁴小樽水族館)

Two cases of venous rupture distributed in hind leg of great white pelican.

○Junichiro SHIOTA, Natumi WATANABE¹, Yoshio KAWAMURA², Hajime IWAO³, Masatoshi TSUNOKAWA⁴, Hiroyuki TANIYAMA^{1,2}, Minoru OKAMOTO^{1, 2}. (¹Department of Veterinary immunopathology, School of Veterinary Medicine, Rakunogakuenn University, ²Department of Veterinary pathology, Graduate School of Veterinary Medicine, Rakunogakuenn University and ³Oter Aquarium)

[背景] モモイロペリカン *Pelecanus onocrotalus* はヨーロッパ南東部や中央アジア, アフリカに生息する鳥である。鳥類の脈管破裂には炎症性疾患等に起因した報告がなされている。ブロイラー鶏の静脈破裂に関する報告などがあるが, モモイロペリカンに関する報告はない。今回, 2羽のモモイロペリカンの大腿部筋に分枝する静脈破裂による重度出血を認めたのでここに報告する。

[材料・方法] 症例は飼育されていたモモイロペリカンで, オス推定18才(症例1)とメス推定8歳(症例2)である。症例1は剖検3日以前より食欲不振を呈し死亡した。症例2は胸部腹側体表より出血し止血剤投与により出血は収まったが次第に状態が悪くなり10日目に死亡が確認された。各症例は肉眼観察後定法に従って病理組織学的検索に供した。

[結果] 症例1は肉眼的に腓腹筋の外側頭・内側頭, 第二趾貫通有孔屈筋ならびに第三趾貫通有孔屈筋間に血腫形成(10.5 x 3 x 3cm大), 肝臓の腫大および灰黄色化, 脾臓軟化及び退色がみとめられた。症例2では肉眼的に長腓骨筋・短腓骨筋・前脛骨筋間で血腫形成(7.5 x 4.5 x 6cm大), 心嚢水重度貯留, 右心房拡張ならびに左心壁肥大。心尖部褪色, 後大静脈拡張がみとめられた。組織学的検索では, 症例1の血腫形成部腓腹筋外側頭筋組織は全腹性に脂肪浸潤を伴いながら萎縮してみられた。この筋腱付着部近傍の筋束間線維増生および脂肪浸潤が顕著に認められた。筋腱接合部では肉芽組織を形成し連続性を欠き断裂しており, この断裂部に近接する後腓骨静脈の分枝脈管の破裂, 線維素血栓の形成, ヘモジデリン貪食マクロファージとともに軽度線維芽細胞増生, 筋間への出血による血腫形成が観察された。筋間血腫に接する周囲の腓腹筋内側頭の筋線維は血腫に接する筋腱部筋束でのみ軽度萎縮が認められた。症例2の破裂部は前腓骨静脈分枝部であり, 破裂部の筋組織萎縮および筋腱付着部の肉芽組織形成は症例1と同一であった。症例1および2は血腫形成部以外の他の骨格筋組織や諸臓器には炎症性および萎縮を認めず, また萎縮を生じた筋組織の神経線維の著変も認められなかった。

[考察] 症例1および症例2の筋および筋腱の病変は筋収縮・伸展に対して脆弱化しており, 断裂とともに近接を走行する分枝静脈破綻を生じたものと推察された。

P-30 アマミノクロウサギにおける *Leptotrombidium miyajimai* 感染による皮膚炎の一例

○久保正仁¹, 佐藤宏², 服部正策³, 倉石武³
(¹山口大 獣医病理, ²山口大 獣医寄生虫, ³東大 医科研)

Dermatitis due to *Leptotrombidium miyajimai* infestation in an Amami rabbit

○Masahito Kubo¹, Hiroshi Sato², Shosaku Hattori³, Takeshi Kuraishi³
(¹Laboratory of Veterinary Pathology, Yamaguchi University, ²Laboratory of Veterinary Parasitology, Yamaguchi University, ³The Institute of Medical Science, The University of Tokyo)

[目的] アマミノクロウサギ (*Pentalagus furnessi*) は鹿児島県奄美大島および徳之島のみに生息するウサギ科の小動物であり、現在の生息数は奄美大島で 2,000-4,800 頭、徳之島で 200 頭前後と推定されている。希少動物の保護対策を考えるためには対象動物の疾患や死亡原因について知ることが重要であるが、アマミノクロウサギの疾患に関する研究は少ない。今回我々は野生アマミノクロウサギにおいてツツガムシの一種である *Leptotrombidium miyajimai* の感染が原因と考えられる皮膚炎の症例を経験したため、その概要を報告する。

[材料及び方法] 症例はアマミノクロウサギの雄垂成獣で、2013 年 1 月に奄美大島・網野子峠付近の国道上で死亡しているところを発見された。剖検は東大医科研・奄美病害動物研究施設にて行なわれ、10% 中性緩衝ホルマリン固定された皮膚及び主要臓器が山口大に送付された。皮膚及び主要臓器を常法に従ってパラフィン包埋、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した。また、皮膚から外部寄生虫を採取し、ガムクロラール封入標本を作製した。

[結果] 剖検では腹部、両側腋窩部、両側鼠径部の皮膚に広範な脱毛、痂皮形成、軽度の苔癬化が認められた。また、左下腿部の骨折や盲腸破裂が認められたことから、交通事故による外傷が死因と推定された。皮膚の組織検査では真皮における好酸球、リンパ球、形質細胞、マクロファージ等の重度の浸潤、角化亢進を伴う表皮の中等度の肥厚が認められ、一部では変性した炎症細胞、角化物、細菌塊を含む痂皮が形成されていた。体表には節足動物の寄生が認められ、表皮から真皮にかけて stylostome (ツツガムシが組織液を摂取する際に形成される管状構造物) 様の構造物が認められた。その他、いくつかの臓器において軽度の炎症細胞浸潤が認められたほか、胃において線虫の寄生が認められた。皮膚から採取された外部寄生虫はすべて形態学的に *L. miyajimai* と同定された。

[考察] 病理学および寄生虫学的検査の結果から本症例は *L. miyajimai* 感染による皮膚炎に罹患していたと考えられた。これまでにアマミノクロウサギの体表からは 13 種、巣穴からは 18 種のツツガムシ類が報告されているが、ツツガムシ感染による皮膚病変の報告はない。また、*L. miyajimai* はアマミノクロウサギの巣穴から少数検出されたという報告があるものの、体表からの検出は報告されていない。本症例報告はアマミノクロウサギにおけるツツガムシ感染による皮膚病変の初めての報告であるとともに、本種における *L. miyajimai* 寄生の直接的な証拠としても初めてのものと思われる。

P-31 北海道千歳市と和歌山県紀の川市におけるアライグマのう蝕様

病変の比較

○三村春奈¹, 瀬戸静恵², 宮下実³, 岡田あゆみ⁴, 進藤順治^{1, 4}, 杉浦俊弘¹ (¹北里大学大学院獣医学系研究科, ²一般財団法人自然公園財団, ³近畿大学 先端技術総合研究所, ⁴北里大学 野生動物)

Comparison of dental caries-like lesions of raccoon between Chitose, Hokkaido and Kinokawa, Wakayama

○Haruna Mimura¹, Shizue Seto², Minoru Miyashita³, Ayumi Okada⁴, Junji Shindo^{1,4}, Toshihiro Sugiura¹ (¹ Graduate School of Veterinary Sciences, Kitasato University, ² Natural Parks Foundation, ³ Institute of Advanced Technology, Kinki University, ⁴ Laboratory of Wildlife Science, Kitasato University)

〔目的〕う蝕は一般に「むし歯」と呼ばれ、口内細菌により歯質の崩壊をきたす感染症疾患であるが、野生動物のう蝕に関する報告はあまり多くない。しかし近年、北海道千歳市で捕獲されたアライグマ (*Procyon lotor*) から頻繁にう蝕に類似した病変 (以下、う蝕様病変) が見られている。今回はう蝕様病変が千歳市に限局した発生であるかを明らかにするため、和歌山県紀の川市で捕獲されたアライグマと比較した。

〔材料及び方法〕アライグマは2009年度から2011年度に北海道千歳市内で特定外来生物として捕獲駆除された421頭および2009年度から2012年度に和歌山県紀の川市で捕獲された89頭を用いてう蝕様病変の発生頻度を比較した。う蝕様病変の調査は頭骨標本を作成した後、病変と歯石の発生部位の観察を行った。また、千歳市の病変個体と紀の川市の全個体において年齢査定を行った。う蝕様病変は病変の状態より、歯の表面に黒ずみがみられたものをC1、歯に3mm以下の穴がみられたものをC2、C2よりも大きな穴または破損しているものをC3の3段階に分類した。年齢査定は歯の萌出と年輪法を用いた。年齢区分は乳歯および永久歯の萌出途中の個体、年輪法により1.5歳までの個体を若齢とし、それ以上の年齢を成体とした。

〔結果〕う蝕様病変の発生頻度は、千歳市では全421頭中77頭で約18%だったのに対し、紀の川市では全89頭中2頭で約2%だった。歯石の付着は病変の発生と同様に、千歳市の方が紀の川市より多い傾向がみられた。紀の川市の2頭は千歳市と異なりC1しか見られなかった。また、両地域において病変のみられたアライグマの多くは2.5歳以上の成体で、若齢個体のう蝕様病変はC1しかみられなかった。

〔考察〕う蝕様病変の発生は地域間で大きく差があり、千歳市周辺に限局した現象であることが明らかになった。また、歯石の付着は紀の川市より千歳市で多くみられ、病変個体のほとんどが成体であった。アライグマは雑食性が強いいため、食物の選択が病変の発生に影響していると考えられ、病変の発生率は千歳市周辺におけるアライグマの生息環境中に問題があるのではないかとみられる。今後は両地域のアライグマの生息環境と食性を調査するとともに、う蝕様病変の起因物質を明らかにすることが必要である。

P-32 キンクロハジロ (*Aythya fuligula*) における高病原性鳥インフルエンザの病理学的特徴

○Mohie Haridy^{1,3}, Walied Abdo^{1,4}, 溝口俊夫², 酒井洋樹¹, 柳井徳磨¹ (¹岐阜大学応用生物科学部, ²福島野生動物救護センター, ³Vet. Pathol, South Valley Uni., Qena, Egypt, ⁴Vet. Pathol., Kafr El-Sheikh Uni, Egypt)

Histopathological characteristics of Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) Infection in tufted ducks (*Aythya fuligula*)

○Mohie HARIDY^{1,3}, Walied ABDO^{1,4}, Toshio MIZOGUCHI², Hiroki SAKAI¹, Tokuma YANAI¹ (¹Faculty of Applied Biological Science, ²Fukushima Wildlife Rescue Center, ³Vet. Pathol, South Valley Uni., Qena, Egypt, ⁴Vet. Pathol., Kafr El-Sheikh Uni, Egypt)

Highly pathogenic avian influenza (HPAI) subtype H5N1 is an infectious systemic viral disease that results in high morbidity and mortality in poultry, and has been reported in a wide range of wild bird species during the last few years. In our study, we report the histopathological characteristics of HPAI infection in two tufted duck.

In January 2011, a flock of tufted ducks were found dead in Koriyama, Fukushima Prefecture. Grossly, the birds appeared normal with salivation, eye discharge and bilateral bloody discharge. The main gross pathological features represented by marked dark reddish clotted blood in the pectoral muscles as well as multifocal hemorrhages on the serosal surface of the pancreas, lungs, liver and pericardium. Splenomegaly, congestion of the meninges and cerebral blood vessels, and hemorrhages on the surface of the parietal and occipital lobe of the brain were also noticed.

Microscopically, the brain had non-suppurative meningoencephalitis with multifocal areas of subcortical malacia and gliosis as well as perivascular cuffings and multifocal neuronal degeneration. The liver showed vacuolar degeneration and periportal lymphocytic infiltrations. The pancreas had multifocal to coalescing necrosis of the acinar epithelium accompanied with heterophil infiltrations. Focal myocarditis and myocardial degeneration as well as hemorrhages and severe congestion in pulmonary tissue were observed.

Immunohistochemistry revealed Avian Influenza antigen in the malacic areas of the brain and in capillary endothelial cells in lungs as well as necrotic air sac epithelium. Viral antigen was also closely associated with the pancreatic acinar cells and endothelial lining of the endocardium.

The lesions in the tufted ducks were multifocal non-suppurative encephalitis and multifocal necrotizing pancreatitis, and might be more severe than those observed in other wild avian species.

P-33 感染症疫学の観点でみた自動撮影調査による中型食肉目の行動特性

池田直弥, 小林甲斐, ○加藤卓也, 關義和, 羽山伸一 (日獣大・野生動物)

Behavioral characteristics of medium-sized carnivore species by evaluated camera trap data from the aspect of epidemiology

Naoya Ikeda, Kai Kobayashi, ○Takuya Kato, Yoshikazu Seki, Shin-ichi Hayama (NVLU Wild. Anim. Med.)

〔目的〕動物を対象とした感染症疫学において、対象動物の行動特性の評価は、感染症伝播のメカニズムを知るうえで重要な指標である。野生動物による病原体等の伝播の推察に必要な知見には、「どのような動物種が生息しているか」、また「その動物種がどのように行動しているか」があげられる。しかし、こういった知見を詳細に調べているケースは、一部の例外を除いてほとんど存在しない。本研究では、疫学的因子となりうる野生動物の時間的な活動特性の検討を目的とし、自動撮影装置による継続的な調査を実施した。

〔材料及び方法〕調査は、群馬県高崎市において実施した。非侵襲的かつ継続的に調査が行えることから、自動撮影装置として赤外線式センサーカメラによる動画撮影を行った。調査対象としたのは中型の食肉目で、アナグマ、アライグマ、キツネ、タヌキ、ハクビシン、イヌ、ネコの計7種を対象とした。調査地内に500mメッシュを9区画設定し、1メッシュあたり1台を目安としてカメラを設置して、約1年間撮影を試みた。撮影されたデータから動物種を判定、カウントし、その上で撮影日時や日照状況、他の動物種との関係性を含めて統計的な解析を行った。

本研究で着目した活動特性因子は、①月毎の行動活性の変化、②時刻毎の行動活性の変化、③日照状況毎の行動活性の変化、④各動物における他の動物種との撮影時間間隔である。前3者はある動物種自身の行動の特性を、④は他の動物種との関わり合い方を間接的に示す因子である。

〔結果〕調査データの解析の結果、イヌとネコを除く野生動物種においては、季節によって撮影量が有意に変化していた ($\chi^2=19.26\sim 100.10$, $p<0.05$) ほか、野生動物種の中でもキツネ以外において、日没後の撮影量が有意に増加していた ($\chi^2=9.97\sim 67.31$, $p<0.05$)。また他の動物種との撮影時間間隔においては、イヌにおいて、その他の動物とは明らかに異なる活動傾向が認められた ($p<0.05$)。

〔考察〕調査結果から、調査対象動物種については行動特性の類似性を取りまとめることができた。今後、同地で実際に罹患調査を行うことが出来れば、感染症の病原因子側の特性を含めて考えられるので、より踏み込んだ感染症の伝播・感染のリスクについて考察することができるであろう。

P-34 動物園で発生した小型鳥類のエルシニア症とその対処について

○野田亜矢子¹, 野々上範之¹, 渡邊舞菜弥¹, 森田不二子^{1,2}, 南心司¹, 津郷孝輔³, 岡谷友三³, 宇根有美³ (¹広島市安佐動物公園, ²現: 広島市動物管理センター, ³麻布大学)

Out break and measures of Yersiniosis in the Estrildid Finches at Hiroshima City Asa Zoological Park

○Ayako Noda¹, Noriyuki Nonoue¹, Manami Watanabe¹, Fujiko Morita^{1,2}, Shinji Minami¹, Yumi Une³ (¹Hiroshima City Asa Zoological Park, ²Hiroshima City Animal Care and Control Center, ³Azabu University)

〔序文〕人の食中毒菌として知られる、仮性結核菌 *Yersinia pseudotuberculosis* による感染症は、動物園ではリスザルやチンパンジー、ケープハイラックス、オオハシ類などで致死的な感染症として報告がある。今回、広島市安佐動物公園内の、来園者が通り抜け可能な小鳥舎でジュウシマツをはじめとするカエデチョウ科の小型鳥類で致死的なエルシニア症が発生したので、その概要を報告する。

〔発生状況〕2013年1月17日から2月3日までの間に、ジュウシマツ32羽を含むキンカチョウ、カエデチョウなど計51羽のカエデチョウ科の小型鳥類が死亡した。朝、数羽からピーク時には十数羽死亡している状態で、衰弱個体は発見されず、下痢などは認められなかった。

〔微生物学および病理学的検索〕死亡した個体を病理解剖するとともに、病変の見られた臓器のスタンプ標本を作成し、簡易染色およびグラム染色を行った。主要臓器は10%ホルマリン液に固定後、定法に従いヘマトキシリン・エオジン染色標本を作成し、病理組織学的検索を行った。また、肝臓からの細菌分離・同定を試みた。さらに分離菌の血清型別を行うとともに、PCR法に病原性遺伝子を確認した。

〔結果および防疫処置〕死亡した個体の多くに、重度の肺水腫および肝臓と脾臓の腫大と多結節性白色病巣がみられた。また、肝臓のスタンプ標本ではグラム陰性の桿菌が多数認められた。HE標本では、主要臓器すべてで菌塊が観察され、その周囲に偽好酸球が浸潤していたことから敗血症と診断された。さらに肝臓から *Y.pseudotuberculosis* が分離された。以上のことよりカエデチョウ科の大量死は致死性的エルシニア感染症によってもたらされたと考えた。本菌は、血清型1bに型別され、病原因子 pYV, Invasin, YPMa の保有が確認された。

1月19日には細菌感染を疑い、餌と水に抗生剤を混ぜての投薬を開始した。抗生剤は粉末で餌に混ぜやすいサルファ剤系のエクテシンと、飲水用バイトリルを使用した。さらに低温による衰弱を防ぐための保温灯を設置した。投薬開始前には多い日で10羽以上の死亡が認められたが、投薬開始後は数羽程度の死亡数となり、2月4日以降は死亡個体は出ていない。また、1月28日に原因菌がヒトの食中毒菌と判明したため、菌の拡散防止を目的として1月30日からは小鳥舎内の通り抜けを中止した。また31日には逆性せっけん製剤のパコマによる巣箱と地面の消毒を、さらに2月6日には消石灰による地面消毒を実施した。ランダムな小鳥舎内の糞便検査を実施し、排菌が認められなくなったことを確認した後、2月13日より小鳥舎の通り抜けを再開した。

〔考察〕エルシニア症は人と動物の共通感染症であり、公衆衛生上重要視されている菌である。日本では、水を介した人体例が多い。動物園では、哺乳類では主としてリスザルなどで死亡事例が報告されている。鳥類ではオオハシ類の死亡例があるが小型鳥類については国内では報告がない。海外ではキンカチョウでの集団発生の報告があり、今回ジュウシマツを中心にカエデチョウ科の鳥が多数死亡したことから、これらの小型鳥類が高感受性である可能性が高い。本菌の感染経路については、井戸水などの汚染やげっ歯類などの保菌動物からの感染が考えられる菌であるが、今回の事例では不明であった。

P-35 飼育下サンマに発症した真菌感染症の治療例

○平 治隆, 山内信弥 (ふくしま海洋科学館)

Treatment of a mycotic disease in the case of captive Pacific saury

○Harutaka Taira, Shinya Yamauchi (Aquamarine Fukushima)

サンマ *Cololabis saira* は水産上重要な魚だが、飼育下累代繁殖に成功したのは当館が初めてである。今回は、全長 12cm 前後の本種約 800 個体を収容した展示槽で発症した真菌感染症の治療について報告する。

2009 年 6 月中旬、本種を水量 35.0m³ (W4.0m×D4.0m×H2.2m) の展示槽に搬入したところ、6 月下旬に体表が糜爛し、死亡する個体が散見された。その後糜爛部は潰瘍化し、7 月 2 日に 25 個体、10 日に 16 個体が死亡したため塩酸オキシテトラサイクリン 75mg/kg を混餌して経口投与した。しかし潰瘍が形成される個体が増加し 20 日間に約 200 個体が死亡した。8 月 2 日、患部を搔爬しウェットマウントにて鏡検したところ不完全糸状菌および滑走細菌を確認した。そこで前記の投薬を中止し、イトラコナゾール (ITCZ) 5mg/kg およびニフルスチレン酸ナトリウム 100mg/kg に切り替えたところ、投与 3 日目に患部から変形した不完全糸状菌を観察し、2 週間後に潰瘍は小さくなり、死亡数は減少した。潰瘍は 1 ヶ月後に完全に消失し、新たな発症も見られなくなったため完治したと判断して投薬を終了した。今回の症例では、本種を移動した際に生じた擦過傷部位に滑走細菌症を発症し、2 次的に不完全糸状菌が感染したと考えられ、ITCZ 及びニフルスチレン酸ナトリウムの併用が極めて有効であった。

水族館飼育魚類は細菌感染症を発症することが多く、その場合抗菌剤による治療を行うが、2 次的に真菌感染症を併発した場合、発見及び治療が遅れることがあるため注意が必要である。

P-36 イヌおよびハト糞便からの薬剤耐性菌の検出

○箕浦由樹^{1,2}, 道脇愛子¹, 畑明寿³, 藤谷登³, 山本博⁴, 柴原壽行³ (¹千葉科学大・動物生命薬, ²三協ラボサービス, ³千葉科学大・院・危機管理, ⁴富山大・生命科学先端研究セ)

Detection of the drug-resistant bacteria from the feces of dogs and pigeons collected in Choshi city, Chiba prefecture, Japan.

○Yuki Minoura^{1,2}, Aiko Michiwaki¹, Akihisa Hata³, Noboru Fujitani³, Hiroshi Yamamoto⁴, Toshiyuki Shibahara³ (¹Chiba Institute of Science, ²Sankyo Lab Service Co. Ltd, ³Graduate school of Risk and Crisis Management, Chiba Institute of Science, ⁴Life Science Research Center, University of Toyama)

〔目的〕ヒトや動物の医療、畜産業等における抗菌薬濫用が細菌の薬剤耐性化を招くことが以前から問題視されている。近年、ヒトや畜産動物が保有する耐性菌に関する報告は多数みられるが、野生動物や愛玩動物についての調査報告は比較的少ない。今回、千葉県銚子市内にて採取したイヌ放置糞便、および市内に生息する野生伝書バトの糞便より分離した腸内細菌科細菌における薬剤耐性菌保有状況を知る目的で調査した。

〔材料及び方法〕検体の収集は2012年11月に千葉県銚子市にて行った。イヌ放置糞便は市街地の路上と公園から10個体分を採取した。その際、糞便の形状およびその内容物よりイヌのものと判定した。野生伝書バトの糞便はJR銚子駅前のアーケード帯に住み着いているものを対象とし、同一時間帯に落下してきた新鮮糞便をビニールシートで捕集し、10個体分を検体とした。各検体の適量を滅菌生理食塩水で軟化させ、これをデオキシコレート寒天培地に塗布し好氣的培養(37℃, 24Hr)を行った。発育した細菌に対してグラム染色とオキシダーゼ試験を行い、グラム陰性桿菌かつオキシダーゼ陰性を示す株を選択した。この株に16SrDNA配列解析(500bp)を行い属の推定を行った。薬剤感受性試験は米国臨床検査標準委員会のマニュアル(CLSI M100-S20-U)に基づき平板希釈法で実施した。今回使用した抗菌薬はアンピシリン(ABPC)、セファロチン(CET)、セフトキシム(CTX)、セフトジジム(CAZ)、イミペネム(IPM)、テトラサイクリン(TC)、クロラムフェニコール(CP)、ゲンタマイシン(GM)、アミカシン(AMK)、シプロフロキサシン(CPFX)の10種類である。

〔結果〕イヌ糞便からは*Escherichia*属、*Shigella*属、*Enterobater*属の腸内細菌科細菌が検出された。薬剤感受性試験の結果、10個体分の糞便のうち1個体分のみから薬剤耐性菌が検出された。耐性菌はいずれも*Enterobater*属で、ABPC、CET、CTX、IPM、CP耐性と、CAZ、TC中間耐性が認められた。一方、ハト糞便からは*Escherichia*属、*Shigella*属、*Cronobacter*属、*Klebsiella*属が検出され、10個体分の糞便のうち5個体分からのみ薬剤耐性菌が検出された。そのうち4個体分からTC耐性菌が、残り1個体分からABPC、CET耐性菌が検出された。

〔考察〕今回の調査で耐性または中間耐性がみられた抗菌薬としては、動物用医薬として使用されているものもあるが、一部はヒト用医薬として使用されているものである。このためイヌの場合は、これらの抗菌薬による治療に由来した可能性もあるが、廃用肉由来のドッグフードやペット用おやつなどを介して保有するに至った可能性も否定出来ない。本調査は10検体を母集団としているため1個体での耐性獲得からことの重要性を論じることは出来ないが、今後も継続的に調査をする価値はあると考える。一方、ハトの場合はTC耐性菌が主であったが、TCは動物用医薬品のほか家畜飼料の添加剤として広く使用されているものである。本地域はもともと畜産業が盛んであり、ハトの家畜糞便汚染飼料摂食に由来する可能性が考えられる。いずれにしても耐性獲得経路は推測の域を出ないが、薬剤耐性菌を保有する動物が市中に存在し、糞便を介して薬剤耐性菌が日常的に環境中に放出されていることを確認した。

P-37 猟犬における野外感染症抗体保有状況に関する研究: 東北地方を中心として

○野一色香織¹, 濱野剛久¹, 酒井洋樹¹, 柳井徳磨¹, 今岡浩一², 棚林清², 川端寛樹², 木村昌伸², 野上貞雄³ (¹岐阜大学応用生物科学部, ²国立感染症研究所, ³日本大学生物資源科学部)

Survey on Outdoor Infectious Agents in Hunting Dogs in Tohoku Districts

○Kaori NOISIKI¹, Takahisa HAMANO¹, Hiroki SAKAI¹, Tokuma YANAI¹, Koichi IMOKA², Kiyosi TANABAYASI², Masanobu KIMURA², Sadao NOGAMI³ (¹Faculty of Biological Science, Gifu University, ²National Institute of Infectious Diseases, ³College of Bioresource Science, Nippon University)

[目的] 猟犬は、野外でダニ媒介感染症を始め種々の病原体に暴露される機会が多い。そのため、各地の猟犬の病原体を調べることで、地域ごとの野外感染症、特に人獣共通感染症の種類と分布についてモニタリングが可能と考える。各地に存在する野外人獣共通感染症の存在を把握することで、人が野外活動する際の感染症リスク評価とその予防が可能になる。

[材料及び方法] 東北地方（福島県、宮城県、岩手県、青森県、秋田県および山形県）の猟犬計 123 頭について、各種の感染症の血清抗体調査を行った。過年度の西日本、中部地方および島嶼部の調査に引き続き、ジフテリア症、破傷風、ブルセラ症、トキソプラズマ症、レプトスピラ症、ボレリア症、犬フィラリア症、バベシアおよびヘパトゾーン症などに関する調査を実施した。

[結果] 人獣共通感染症に関しては、ブルセラ症は福島で 1 例、山形県で 3 例の計 4 例の陽性例が認められた。トキソプラズマでは、先の報告と同様に各県とも高い陽性率で、検索例の 18% が陽性を示した。ジフテリア毒素では、青森で 1 例の陽性例が認められた。東北地方で問題となる野兎病、さらに破傷風は、今回検出されなかった。犬由来の感染で、宮城県で *Babesia gibsoni* が 3 例にのみ検出された。ライム病ボレリアは、48.8%（ウエスタンブロット法）で抗体陽性であり、北信越地方以南の陽性率 23.5% 以下に比べ高い値を示した。また、ヘパトゾーン (*Hepatozoon canis*) について、全例とも陰性であった。犬フィラリア症では、検索した猟犬全体の約 30% で抗原が検出され、比較的高い陽性率であった。

[考察] 野生動物との接触やマダニ曝露機会が高いと考えられる猟犬を歩哨動物とする血清疫学調査は、病原体浸潤地域を調べる上で有用であると考えられる。さらに地域ごとの野外感染症のスペクトラムを解析し、地域ごとの詳細なハザードマップを作成するためには、例数を増やし、既存の研究とも組み合わせ、さらに包括的な調査を継続する必要がある。本研究の一部は厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）により行われた。

P-38 木曾御嶽におけるニホンライチョウと生息環境からの大腸菌検出

○本間早紀¹, 高橋みずき¹, 肴倉孝明², 村田浩一¹ (¹日本大・生物資源, ²山岳環境研究所)

Detection of *Escherichia coli* from wild Japanese rock ptarmigans and its habitat on Mt. Kiso Ontake

○Saki Honma¹, Mizuki Takahashi¹, Takaaki Sakanakura², Koichi Murata (¹College of Bioresource Sciences, Nihon University, ²The Institute for Alpine Environment and Biota)

[背景と目的] ニホンライチョウ (*Lagopus muta japonica*: 以下ライチョウ) は, 個体数減少が懸念される日本固有亜種である. その生息環境は登山者や低地性哺乳類の侵入により悪化傾向にある. 山岳環境の健全性を評価する上で, 糞便汚染指標とされる大腸菌 (*Escherichia coli*) の分離と解析が有用であると考えられる. そこで本研究では, 木曾御嶽のライチョウとその生息環境中からの大腸菌分離を試みると共に, 分離株の薬剤耐性および遺伝子型を調べた.

[材料と方法] 2010年6月~11月, 2011年7月~10月, 2012年6月~10月の各調査期間中に, 木曾御嶽のライチョウ生息域において本種の新鮮糞便 150 検体と環境試料 51 検体 (湖沼水 25 検体, 山小屋排水 3 検体, 土壌 23 検体) を採取した. 全ての試料は冷蔵保存状態で研究室へ輸送後, 培養法と PCR 法を用いて大腸菌の分離と遺伝子増幅を行った. 分離菌株はディスク拡散法による 12 抗生剤の薬剤感受性試験および PFGE による遺伝子解析を行った.

[結果] 糞便試料の大腸菌陽性率は, 培養法で 58.0%, PCR 法で 69.3%となった. 環境試料については, 山小屋周辺の排水と土壌のみから分離された. また, NA や ST 合剤を含む多剤耐性大腸菌が糞便試料および環境試料から計 3 株検出された. PFGE では大腸菌の遺伝子型が 14 種に分類され, ライチョウ親子 17 組のうち 8 組が同じ遺伝子型の大腸菌を保有していた. 本遺伝子型は, これまで立山のライチョウ糞から検出された遺伝子型とは異なっていた.

[考察] 死菌を含めた大腸菌検出が可能な PCR 法は, 培養法に比べて大腸菌陽性率が有意に高く ($P<0.05$), 本種の大腸菌保有実態を評価する上で有効な手法であると考えた. 環境試料を用いた大腸菌分離の結果から, 山小屋のトイレ施設が本菌の汚染源のひとつになり得ると考えられ, さらに薬剤感受性試験の結果から, 人間活動の影響が直接または間接的に山岳環境へ及んでいることが示唆された. PFGE の結果から, ライチョウの親子間および地域個体群内で特有の大腸菌が伝播・維持されていることが示唆され, 他の病原性腸内細菌や寄生虫が本菌と同様に群内感染する可能性が考えられる.

P-39 沖縄島の侵略的外来生物グリーンアノールおよび生息環境における薬剤耐性大腸菌保有実態

○田中魁¹, 本間早紀¹, 阿部慎太郎², 清水彩子¹, 千葉暁允¹, 村田浩一¹ (¹ 日大生物資源,
² 環境省那覇自然環境事務所)

Surveillance for antibiotic resistant *Escherichia coli* in the green anole, an invasive alien species on Okinawa Main Island, and its habitat

○Kai Tanaka¹, Saki Honma¹, Shintaro Abe², Ayako Shimizu¹, Akinobu Chiba¹, Koichi Murata¹ (¹ College of Bioresource Sciences, Nihon University, ² Naha Nature Conservation Office, Ministry of the Environment)

〔背景と目的〕近年、ヒトや家畜に由来すると考えられる薬剤耐性菌が、野生動物および高山地帯や極地などの自然環境中から検出されている。薬剤耐性菌は、公衆衛生のみならず環境保全の観点から、ヒトと野生動物との相互関係 (interaction) を理解する上で有用な指標となっている。侵略的外来生物のグリーンアノール (*Anolis carolinensis*) は、1960年頃に小笠原諸島に侵入し分布拡大した後、1994年には新たに沖縄島での定着が確認されている。本種はヒトの生活圏内に生息しているため、薬剤耐性菌の保有状況を経年的に調査することで、「ヒト-グリーンアノール」間の双方向的な影響評価に役立つと考える。そこで本研究では、沖縄島におけるグリーンアノールおよび本種の生息環境の薬剤耐性大腸菌 (*Escherichia coli*) 分布に関する実態把握を目的とした。

〔材料と方法〕2010年7月から2011年12月にかけて沖縄島南部で捕獲し、冷凍保存されていたグリーンアノール173個体の腸内容物から常法により大腸菌の分離を行った。また、2013年5月に本種の生息が確認されている公園13ヶ所で各種環境試料36検体 (土壌17検体、貯まり水3検体、公衆トイレ拭き取り試料14検体、動物糞2検体) を採取し、冷蔵保存状態で研究室に輸送後、常法もしくは検査キット (IDEXX Colilert[®]) を用いて大腸菌/大腸菌群を検出し分離同定を行った。分離菌株については、ディスク拡散法による17抗生剤の薬剤感受性試験を行った。

〔結果と考察〕腸内容物試料からの分離率は19.7% (35/173) であった。薬剤感受性試験では、分離株のうち1株がOTCに、9株がCETに単剤耐性を示し、1株がAMP-OTCの2剤耐性を示した。土壌、水、公衆トイレ拭き取り試料、動物糞の各試料からの分離率は、それぞれ47.1% (8/17)、33.3% (1/3)、28.6% (4/14)、100% (2/2) であった。分離株のうち土壌1株、公衆トイレ拭き取り試料4株、動物糞1株がCETに耐性を示した。グリーンアノールと生息環境から共通の薬剤耐性大腸菌が検出されたことから、両者間で直接的もしくは間接的接触の機会が存在する可能性が示唆された。沖縄島においてグリーンアノールが分布拡大すれば、薬剤耐性菌の運搬者もしくは増幅者になり得ると推察される。今後、継続的な調査を行い、外来生物が及ぼすリスクを保全医学的に評価する必要がある。本研究はJSPS科研費24651270の助成を受けたものである。

P-40 沖縄島における侵略的外来生物グリーンアノールのサルモネラ

保菌状況および薬剤耐性（2009年～2011年）

○清水彩子¹，遠藤優里¹，阿部慎太郎²，千葉暁允¹，田中魁¹，泉谷秀昌³，村田浩一¹（¹日大生物資源，²環境省那覇自然環境事務所，³感染研細菌第1部）

Surveillance for *Salmonella* spp. and its antimicrobial-resistance in the green anole, an invasive alien species in Okinawa Main Island during 2009-2011.

○Ayako Shimizu¹，Yuri Endo¹，Shintaro Abe²，Akinobu Chiba¹，Kai Tanaka¹，Hidemasa Izumiya³，Koichi Murata¹（¹College of Bioresource Sciences, Nihon University, ²Naha Nature Conservation Office, Ministry of the Environment, ³Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases）

〔背景と目的〕グリーンアノール (*Anolis carolinensis*)は、1960年代に小笠原諸島への侵入が初確認された後、1994年には沖縄島で定着が新たに確認された侵略的外来生物である。我々のこれまでの調査により、小笠原諸島の父島と母島における本種の高率なサルモネラ保菌が明らかになっているが、小笠原諸島に比べ侵入後の経過年数が短い沖縄島での保菌実態については情報が少ない。そこで本研究では、沖縄島のグリーンアノールにおけるサルモネラ保菌状況および薬剤耐性を経年的に調べ、さらに本種の生息環境中からサルモネラ分離を試みることで、将来的な分布拡大や感染環の解明に役立てることを目的とした。

〔材料と方法〕2009年7月から2011年11月の約2年間に、沖縄島南部で捕獲され冷凍保存されていたグリーンアノール391個体および2013年5月に本種の生息環境から採取された各種試料35検体（土壌17検体，水3検体，公衆トイレの拭き取り13検体，哺乳類の糞便2検体）を供試した。各試料を前培養，増菌培養，分離培養した後，生化学性状確認と簡易キットによる菌種同定を行った。分離株はKirby-Bauer法を用いて12薬剤の薬剤感受性試験を行った。前培養液を用いたLAMP法によりサルモネラ侵入遺伝子 (*invA*) の有無を確認した。

〔結果と考察〕グリーンアノール8個体(2.05%)からサルモネラが分離された。分離菌株は2009年に捕獲された8個体と2010年に捕獲された1個体からのもので、2011年の捕獲個体ならびに環境試料中からは分離されず、*invA* 遺伝子も検出されなかった。分離菌株のうち6株の血清型は *S. Enteritidis* が3株，*S. Weltevreden* が3株であり，そのうち *S. Enteritidis* の2株がOTCに耐性を示した。沖縄島での保菌率は小笠原諸島に比べ有意に低かった ($p < 0.01$)。生息密度の違いとサルモネラ保菌動物の存在の有無が両島間の保菌率の差に影響しているのではないかと考えられた。沖縄島におけるグリーンアノールの低率なサルモネラ保菌が明らかになったが、今後の個体数増加により小笠原諸島と同様の状況になることも予測されるため、保菌状況の継続的な調査が必要である。本研究はJSPS科研費24651270の助成を受けたものである。

P-41 野生ヤンバルクイナの薬剤耐性大腸菌保有

○石橋佐和子¹, 千葉暁允¹, 伊藤考良¹, 田中魁¹, 村田浩一¹ (¹日本大学野生動物学)

Prevalence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* from wild Okinawa rails

○Sawako Ishibashi¹, Akinobu Chiba¹, Takara Ito¹, Kai Tanaka¹, Koichi Murata¹ (¹Laboratory of Wildlife science, Nihon University)

〔目的〕沖縄島北部の森林地帯（やんばる）には、絶滅危惧 IA 類に指定されているヤンバルクイナ (*Gallirallus okinawae*) が生息している。近年、本種が生息地としている常緑照葉樹林帯の開発が進むにつれ、林縁に形成された集落へのヤンバルクイナ的生活圏拡大が認められている。そのため、ヒトとの直接的もしくは間接的な接触機会が多くなり、ヒト生活環境由来物質への暴露が懸念される。ヒトと野生動物の相互作用 (interface) を評価する指標の 1 つとして薬剤耐性菌が用いられているが、これまでにヤンバルクイナにおける薬剤耐性菌保有に関する詳細は明らかにされていない。そこで本研究では、ヤンバルクイナの薬剤耐性大腸菌保有実態について調査し、ヒトを含む生態系の健全化に役立てることを目的とした。

〔材料と方法〕調査期間は 2012 年 6 月, 8 月, 10 月, 11 月および 2013 年 1 月の各月約 1 週間 (10 月と 1 月は 1 日のみ) で、調査地は沖縄県国頭郡国頭村安田・楚洲の県道上および森林内であった。早朝にヤンバルクイナが排泄した新鮮糞便を、その形状と独特の刺激臭を基に判別して採取した。採取した糞便は 76 個で、検査まで輸送培地内で保存した。採取から検査までに要した日数は 6.8 ± 4.62 日 (平均 \pm 標準偏差) であった。常法により試料から大腸菌を分離同定し、分離菌株に対して 15 抗菌剤を用いた薬剤感受性試験を Kirby-Bauer 法で行った。

〔結果と考察〕大腸菌は全試料の 71.1% (54/76) から分離され、そのうち薬剤耐性を示した菌株は 83.3% (45/54) であった。最も多く認められた薬剤耐性は OTC に対するものが 87.7% (39/45) で、次いで ST 合剤に対するものが 56.6% (25/45) であった。多剤耐性を示した菌株は 35.6% (16/45) で、4 菌株から検出された薬剤耐性パターンは ABPC - PIPC - OTC - CP - ST 合剤であった。また、2 菌株が ABPC - PIPC - OTC - OFLX - CP - NA - ST 合剤の 7 剤耐性を示した。ヤンバルクイナの高率な薬剤耐性大腸菌保有は、本種とヒト生活環境との密接な関係性を示唆するものである。特に、オールドキノロンである NA や、比較的耐性が生じ難いとされる CP や ST 合剤、さらに第 II 世代キノロン系抗菌剤である OFLX に対する薬剤耐性大腸菌が検出されたことから、本調査地が長期的にヒトもしくは家畜に利用された抗菌剤に暴露されていると考えられた。ヒトと動物の生活空間に存在する薬剤耐性菌は、生態系の健康 (Ecological Health) の維持に大きな問題となるため、今後、継続調査を行いその動態を監視すると共に、何らかの対策を講ずる必要がある。

P-42 岐阜県のニホンイノシシおよびツキノワグマに寄生していたマ

ダニと、その紅斑熱群リケッチアとアナプラズマの保有状況

○松山亮太¹、森部 絢嗣²、森元 萌弥²、貞國 利夫³、本井 祐太⁴、木村 悟志¹、品川 千種¹、浅野 玄^{1,2}、鈴木 正嗣^{1,2} (¹岐阜大野生動物医学, ²岐阜大野生動物管理学研究センター, ³斜里町役場, ⁴NPO 法人 EnVision 環境保全事務所)

Detection of spotted fever group Rickettsia and Anaplasma species in Ixodid ticks collected from Japanese wild boars and Japanese black bears in Gifu Prefecture.

○Ryota Matsuyama¹, Junji Moribe², Tomoya Morimoto², Toshio Sadakuni³, Yuta Motoi⁴, Satoshi Kimura¹, Chigusa Shinagawa¹, Makoto Asano^{1,2}, Masatsugu Suzuki^{1,2} (¹Wildlife Medicine Laboratory, Gifu University, ²Research Center for Wildlife Management, Gifu University, ³Shari Town Government, ⁴NPO EnVision Environment Conservation Office)

[目的] 近年、シカやイノシシをはじめとする野生動物の分布域拡大・個体数増加が認められ、それにとともなうマダニ等の寄生動物の分布域拡大・個体数増加の可能性が指摘されている。そのためヒトや家畜におけるダニ媒介性疾病の感染リスクも拡大・増加している可能性があり、地域レベルで野生動物・寄生動物・病原体の生態や相互作用を明らかにする必要がある。そこで本研究では岐阜県のニホンイノシシ(以下、イノシシ)とツキノワグマ(以下、クマ)を対象に、それらに寄生するマダニの種構成と、各マダニにおける紅斑熱群リケッチアとアナプラズマ属細菌の保有状況を明らかにすることを目的に調査をおこなった。

[材料と方法] 2012年7月から11月にかけて岐阜県内における有害鳥獣捕獲で捕獲され、岐阜大野生動物管理学研究センターに郵送されたイノシシ(21頭)とクマ(14頭)の頭部から採材した。マダニは目視で探索し、70%エタノールに浸漬して4℃にて冷蔵保存した。採集したマダニについては、形態観察や遺伝学的手法をもちいて種同定と成長ステージの記録をおこなった。紅斑熱群リケッチアのDNAは17kDa抗原遺伝子領域において、アナプラズマ属細菌のDNAは16S rDNA領域においてnested PCRによって検出した。さらに病原体DNAの塩基配列を決定し、DDBJに登録されている塩基配列と比較して種同定をおこなった。

[結果と考察] イノシシから計81匹、クマから計56匹のマダニを採集した。イノシシからはキチマダニ、フタトゲチマダニ、タカサゴキララマダニ、タイワンカクマダニ、ヤマトマダニの4属5種を採集した。クマからはキチマダニ、オオトゲチマダニ、フタトゲチマダニ、タイワンカクマダニ、ヤマトマダニの4属5種を採集した。ヒトへの病原性が報告されている *Rickettsia tamurae* と100%相同な遺伝子(394bp)がイノシシ由来のタカサゴキララマダニから検出され、ウシへの病原性が報告されている *Anaplasma centrale* と100%相同な遺伝子(581bp)がクマ由来のオオトゲチマダニとヤマトマダニから検出された。病原性が確認されていない種を含め、イノシシ寄生マダニ群とクマ寄生マダニ群の14.3%および3.5%から紅斑熱群リケッチアを、6.2%および8.9%からアナプラズマ属細菌を検出した。イノシシとクマがこれらの病原体の増幅動物であるかは実証されておらず、その点については区別して考慮する必要があるが、当地域においてこれらの宿主動物の増加とともに病原体保有ダニを含めたダニの個体数が増加する可能性が示唆された。

P-43 ランプフィッシュ(*Cyclopterus lumpus*) に認められた *Exophiala* sp.の全身感染症, および超音波検査の有効性について

○伊東隆臣, 恩田紀代子 (大阪・海遊館)

Systemic *Exophiala* sp. infection and diagnostic efficacy of ultrasonography in Lumpfish (*Cyclopterus lumpus*).

○Takaomi Ito, Kiyoko Onda (Osaka Aquarium KAIYUKAN)

[緒言] 黒色真菌である *Exophiala* 属は, 土壌, 汚水, 腐朽樹皮などの環境中に存在しており, ヒトを含めた様々な動物種の皮膚, 皮下への局所感染, および全身感染を引き起こす. 特に immunocompromised host に日和見感染として生じる. 魚類においては, レイクトラウト, アメリカナマズ, スポットッドシラゴ, イヌホシザメ, 日本国内ではシマアジやヒラメなど, 淡水, 海水を問わず, 硬骨魚綱, 軟骨魚綱において感染症が報告されている. 症状として皮膚や神経系への局所感染や全身的な感染症を引き起こす. 今回, 大阪・海遊館で飼育していたランプフィッシュ (*Cyclopterus lumpus*) において *Exophiala* sp.の集団感染が認められた. 致死的な経過をたどったが, 腹腔内臓器の超音波検査による生前診断を試み, 感染個体の隔離を行ったことで, 感染の拡大を防ぐことができたので報告する.

[症例] 2012年3月, 海外の水族館で繁殖した個体18尾を導入した. 導入後280日頃より, 複数個体において体表に潰瘍が認められた. 死亡個体を剖検した結果, 筋, 鰓, 肝臓, 脾臓, 腎臓, 胃, 精巣, 卵巣に淡褐色の病変, さらに腎臓は腫大し壊死巣が認められた. 病変部のウェットマウントおよび病理組織検査により多数の菌糸が認められたため, CP加ポテトデキストロース培地で培養を行ったところ黒褐色のフェルト状集落が得られた. 分離培養された真菌のリボゾーム RNA 遺伝子の ITS 領域の塩基配列の解析を行ったところ, *Exophiala* sp.と同定された. そこで, 生存個体の視診を行い, 体表の潰瘍およびその部位の鏡検により真菌を確認した個体を隔離した. さらに体表に潰瘍を呈していない個体に対して, 超音波検査装置による腹腔内臓器の検査を実施し, 肝臓, 腎臓において限局的な hypoechoic lesion や散在性の音響陰影を伴った strong echo が確認された個体についても隔離を行った. 超音波検査により隔離した個体を死亡後に剖検した結果, *Exophiala* sp.が検出された個体と同様の病変, および鏡検により同種と思われる真菌が認められた. 検査で *Exophiala* 感染が確認できなかった5個体は現在でも症状を発症せずに経過している.

[考察] 水族館魚類として, ランプフィッシュ以外では, ウィーディーシードラゴン, リーフシードラゴン, カエルアンコウなどで *Exophiala* 感染症の報告がある. 当症例個体の導入先の水族館においても, ランプフィッシュにおける *Exophiala* 感染症が認められており, 感染した個体を導入したことで集団感染が起きたと考えられる. 当症例個体で認められた *Exophiala* 感染症は, 視診, 超音波診断, 剖検の結果より, 腹腔内臓器に感染, 病変を形成し, その後体表にも病変が形成されると推測され, 生前の腹腔内臓器の超音波検査は防疫上有効である. また魚類で感染しうる *Exophiala* 属のうち, ヒトにおいても感染が報告されている種があり, 水族館における Zoonosis として *Exophiala* 属は注意を払う必要がある.

P-44 北海道富良野東京大学演習林に生息する小哺乳類から得られた寄生虫

○秋葉悠希¹, 片山亨輔¹, 大川あゆ子², 岡本 実¹, 浅川満彦¹ (¹酪農学園大獣医感染・病理, ²東京大北海道演習林)

Parasites obtained from small mammals in The University of Tokyo Hokkaido Forest, Furano, Hokkaido, Japan.

○Yuki Akiba¹, Ryousuke Katayama¹, Ayuko Ohkawa², Minoru Okamoto¹, Mitsuhiko Asakawa¹ (¹Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, ²The University of Tokyo Hokkaido Forest)

[目的] 日本列島に展開する在来哺乳類とそれらに特異的に寄生虫との間で形成された宿主-寄生体関係には、動物地理学の対象になるような地域の独特な地史を背景とするものがある。そのような関係の動物地理学は、風土病化や伝播予測などの疫学分野で基盤研究となる可能性もある。そのようなことから我々は小哺乳類をモデルに研究してきた。北海道では属島含めほぼ全域で調査をしてきたが、調査が制限されていた十勝岳等の知見はなかった。幸い、十勝岳連峰の南西部に位置する東京大学北海道演習林で行われた野ネズミ類の予察調査で得られた個体を調べることができた。

[材料と方法] 2011年6月19～21日、東京大学が管理する北海道演習林（北海道富良野市）にて予察調査が得られた小哺乳類のうち、冷凍保存された次のものを寄生虫検査した；ヒメネズミ *Apodemus argenteus* (検査個体数 39, 略号 Aa), エゾヤチネズミ *Myodes rufocanus* (6, Mf), ミカドネズミ *Myodes rutilus* (2, Mr), エゾトガリネズミ *Sorex caecutiens* (2, Sc), オオアシトガリネズミ *Sorex unguiculatus* (1, Su), ヒメトガリネズミ *Sorex gracillimus* (2, Sg)。体表の肉眼的観察と、諸臓器・消化管について実体顕微鏡を用いて精査し、外部・内部寄生虫の検出を行った。得られた寄生虫は70%エタノール液で固定・保存し、その後、ラクトフェノールで透徹、光学顕微鏡で観察し、形態学的に分類し、種または属の同定を行った。また、諸臓器について、シストなどの病変が認められたものは病理組織学的診断を行った。

[結果と考察] 外部寄生虫ではAaおよびMfよりヤマトマダニ *Ixodes ovatus* とシュルツェマダニ *Ixodes persulcatus*, Aaよりトガマダニ *Ixodes angustus*, チトゲダニ *Androlaelaps fahrenheitzi*, アカトゲダニ *Laelaps jettmari*, Mfよりトゲダニ属のある種 *Laelaps* sp. とナミキヌゲダニ *Eulaelaps onoi* が得られた。マダニ類には、野兎病や紅斑熱群リケツチア (SFGR), ボレリア病などといった人と動物の共通感染症の病原体を媒介するといわれる *I. persulcatus* および *I. ovatus* が今回の調査で見出されたことは注意したい。内部寄生虫についてはAaから線虫 *Heligmonoides speciosus*, *Heligmosomoides desportesi* および *Syphacia emileromani*, Mfから線虫 *Heligmosomum yamagutti* および多包条虫 *Echinococcus multilocularis* (肝臓・消化管表面に寄生したメタセストーデ多包虫), Suから線虫 *Soboliphyme abei* および鉤頭虫 *Centrorhynchus elongates* (腸間膜に寄生した被囊幼虫), Sgから条虫 (老熟片節のみのため分類不明) が得られた。種名が判明したものは、北海道産小哺乳類で既にすでに報告されているものであった。しかし、アカネズミ *Apodemus speciosus* が同所的に生息する地域ではAaにアカネズミの線虫 *Heligmosomoides kerilensis* が見出されることが多いが、この地域では道内では知床半島に続き、本来の宿主寄生体関係、すなわちAa-*H. desportesi* が維持されていたことが示唆された。また、既に全道に分布する多包虫が十勝岳周辺で記録されたとしても、不思議ではないが、今回、この地域で初めて確認されたことは疫学的に重要な知見となった。材料は森林資源保護のための予察調査で行われたものを活用したため、高温下に放置された後に冷凍保存されたことから、標本状態は不良であったが、以上のように寄生虫学的知見を得ることが出来た。

P-45 広島県宮島に生息するニホンジカ *Cervus nippon* から得られた寄

生虫

○牛山喜偉¹, 福本幸夫², 武山 航¹, 三觜 慶¹, 浅川満彦¹ (¹酪農学園大獣医感染・病理,² 帝京科学大生命環境アニマルサイエンス)

Parasites obtained from free-ranging deer (*Cervus nippon*) in Miya-jima Is., Hiroshima Prefecture, Japan.

○Kii Ushiyama¹, Ykio Hukumoto², Kou Takeyama¹, Kei Mituhashi¹, Mitsuhiko Asakawa¹ (¹Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University; ²Department of Animal Science, Teikyo University of Science)

[目的] 日本の貴重な自然あるいは文化の代表地域である知床および奈良公園に生息するニホンジカ *Cervus nippon* (以下, シカ)の寄生虫について報告してきた(小林ら, 2011; 水主川ら, 2013).今回は広島県宮島におけるシカについて調べる機会があった.この島に生息するシカは古くから信仰の対象になっており,人間との関係も密接である.また,同島の観光資源としても重要で,その健康管理が急務の課題である.しかし,その寄生虫の保有状況についての報告は無かった.今回,同島で発見された斃死個体の剖検材料から取り出された消化管および臓器材料を基に寄生虫検査を試みた.

[材料及び方法] 2009年12月から2012年8月までに,同島で発見されたシカ斃死体8頭分の肝臓,第一胃,第二胃,第三胃,第四胃,小腸および大腸を剖検時に取り出し,10%ホルマリンにて保存され,酪農学園大学野生動物医学センターに送付された.これらについて実体顕微鏡下で精査された.また,剖検時に,適宜,採集され,70%エタノール液で固定・保存された外部寄生虫も調べた.

[結果と考察] その結果,3個体の大腸から腸結節虫類 *Oesophagostomum sikae*,1個体の小腸から美麗食道虫 *Gongylonema pulchrum*, 同じく第三・四胃より *Spiculopteragia houdemeri* が得られた.また,外部寄生虫はフタトゲチマダニ *Haemaphysalis longicornis* およびシカシラミバエ *Lipoptena fortisetosa* と同定された.

今回検出された線虫と外部寄生虫は,既に日本各地でシカから報告されている寄生虫と同種であった.しかし,宮島は初めての地理的報告となった.美麗食道虫は,本来,食道から胃に寄生するが,小腸より検出されるなど興味深い知見も得られた.本種は日本含め,ヒトでの寄生事例がある.また,フタトゲチマダニはヒトへも嗜好性を示すので,シカとヒトとが生活空間が重なる傾向が高い宮島では注意をしたい.

[文献]

小林朋子, 鳥居春己, 川淵貴子, 辻 正義, 谷山弘行, 遠藤大二, 板垣 匡, 浅川満彦. 2011. 奈良公園におけるニホンジカ *Cervus nippon* の肝蛭症および消化管内寄生虫相. 奈良教育大学自然環境教育センター紀要, (12): 1-8.

水主川剛賢, 石名坂豪, 増田 泰, 小川人士, 高須恵美, 萩原克郎, 浅川満彦. 2013. 知床半島を中心に生息するエゾシカ (*Cervus nippon yesoensis*) から見出された外部寄生虫性昆虫2種の記録. 知床博物館研究報告, (35): 5-10.

P-46 北海道に定着したウシガエル *Rana catesbeiana* の寄生蠕虫類(初記録)

○高木佑基¹, 更科美帆², 吉田剛司², 浅川満彦¹ (¹酪農学園大獣医感染・病理, ²同大農食環境野生動物保護管理)

First report of parasitic helminths from bull frogs (*Rana catesbeiana*) introduced to Hokkaido, Japan.

○Youki Takaki¹, Miho Sarashina², Tsuyoshi Yoshida², Mitsuhiro Asakawa¹ (¹Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, ²Laboratory of Wildlife Management, Rakuno Gakuen University)

[目的] 原産地・北米から持ち込まれ、ウシガエル*Rana catesbeiana* が日本各地で定着し、北海道でも道南部を中心としてその生息が確認されている。我々は自然生態系への影響評価の一環として、北海道に定着した外来性カエル類(国内外来種含む)の寄生蠕虫類の保有状況の調査を実施しているが(西川ら, 2011, 2012a)。しかし、ウシガエルから蠕虫類を得ることはできなかった(西川ら, 2012b)。しかし、2012年7月～10月に北海道渡島地方で食性調査の一環で捕獲された多数のウシガエルを調べたところ、数種の蠕虫類が得られた。初めての記録となるので、今回、報告したい。

[材料と方法] 渡島地方大沼付近で捕獲されたウシガエル99個体について、諸臓器と消化管全てについて実体顕微鏡を用い精査した。得られた蠕虫類は70%エタノール液で固定・保存後、線虫類に関してはラクト・フェーノール液で透徹し、分類の指標となる形態を観察して種同定を行った。また、扁形動物については酢酸カーミンにて染色を行った。

[結果と考察] その結果、5個体の肺および胃内から吸虫*Haematolechus johnsoni*, *Haematolechus* sp., *Skrjabinoeces similis*, *Plagiorchis* sp.および*Halipegus ovocaudatus*, 2個体の大腸から線虫*Cosmocercoides* sp.の幼虫, 1個体の膀胱から未同定幼線虫が得られた。吸虫*Haematolechus johnsoni*と*Halipegus ovocaudatus*は道内初記録となった。これら吸虫はウシガエルで報告があり、外来性蠕虫と考えられるが、今後、在来性の両生類にまで宿主域を拡大するのかどうかの継続調査が望まれよう。吸虫は第二中間宿主としてケンミジンコや淡水貝類のほか、トンボやイトトンボの幼虫ヤゴを用いる。道内にはクモマエゾトンボを代表として北海道固有のトンボ類が生息しているため、そのような中間宿主にどのような病理学および生態学的影響を与えつつあるのかについても、あわせ検討したい。

[文献]

西川清文・森 昇子・白木雪乃・佐藤伸高・福井大祐・長谷川英男・浅川満彦, 2011. 北海道では国内外来種となるアズマヒキガエル*Bufo japonicus formosus*の寄生蠕虫保有状況—特に飼育個体群と野外捕獲個体群との比較。第17回日本野生動物医学会大会・講演要旨集, 東京農工大学, 東京: 111.

西川清文, 森 昇子, 更科美帆, 吉田剛司, 浅川満彦, 2012a. 北海道に国内外来種として定着したカエル類の寄生蠕虫。日本生物地理学会会報, 67: 237-239.

西川清文・齋藤和範・浅川満彦, 2012b. 北海道道南地方の外来カエル類とその寄生蠕虫。森林保護, 328: 31-32.

P-47 北海道産トガリネズミ属蠕虫相概要およびチビトガリネズミ

Sorex minutissimus では初めてとなる蠕虫学的検討

○三觜 慶¹, 河原 淳², 浅川満彦¹ (¹酪農学園大獣医, ²NPO 法人えんの森)

First record of parasitic helminthes from *Sorex minutissimus* with a special reference to helminthological review of the genus *Sorex* on Hokkaido, Japan.

○Kei Mitsuhashi¹, Atsushi Kawahara², Mitsuhiro Asakawa¹ (¹School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, ²Nonprofit Organization En no mori)

[目的] 風土病や新興感染症の疫学的なアプローチの一手段として、野生動物とそれらに特異的に寄生する蠕虫類との間で形成された宿主-寄生体関係の動物地理学的研究が、最近、保全医学の興隆に伴って注目されている。特に、食虫類であるトガリネズミ属 *Sorex* の蠕虫相はモデルとなろう。前の大会から引き続き、北海道嶮暮帰島における野生小哺乳類の寄生蠕虫相の継続的調査の一環として、チビトガリネズミ *Sorex minutissimus* (以下、チビ) を検討する機会を得た。また、これと比較するため、1970年代から1980年代に故神谷晴夫教授および浅川らが実施し、未報告のままとなっている他の道内産トガリネズミ属3種、オオアシトガリネズミ *S. unguiculatus* (以下、オオアシ)、バイカルトガリネズミ(エゾトガリネズミ) *S. caecutiens* (以下、エゾ)、ヒメトガリネズミ *S. gracillimus* (以下、ヒメ) から記録された条虫以外の蠕虫相も紹介する。

[材料と方法] 北海道厚岸郡浜中町琵琶瀬(霧多布湿原)の対岸約1km沖にある嶮暮帰島(北緯43度02分、東経145度06分)において捕獲されたチビ3個体を用いた。これら全てを内臓と消化管が付けられたまま、100%エタノール液で固定・保存され、これらについて寄生蠕虫の検査が実施された。諸臓器・消化管について実体顕微鏡下で精査し、得られた虫体は70%エタノール液で再固定後、ラクトフェノール液で透徹、酢酸カーミンにて染色をした。

これに加え、1976年、故神谷晴夫教授(秋田大学医学部)が北海道大学在職時に道内各地で採集されたトガリネズミ属3種(前述)、さらに1982年から1984年に浅川が野幌森林公園にて採集されたオオアシとエゾから得られた研究記録を用いた。検査された個体数はオオアシ229、エゾ99、ヒメ15であった。

[結果と考察] チビ3個体のうち、1個体の腸管からブラキライマ科吸虫(75隻)が検出された。既に、平山ら(2012)が同島のオオアシから得られ、種名保留した *Nanophyetus* sp. であろう。今回も標本状態が極めて悪く、形態観察は困難であったが、並列する精巣配置や体・吸盤のサイズなどがブラキライマ科の典型的な形態を有する *Glaphyrostomum* あるいは *Ectosiphonus* 属とは明確に異なっていた。

北海道産トガリネズミ属の蠕虫相研究は、1960年代初頭、A. Chabaudらフランス自然史博物館の調査隊により開拓され、その後継として故神谷教授が、さらに浅川が実施した。浅川の調査概要は予報したが(浅川ら、1984)、それ以降なされた研究(たとえば、横畑、2011)を盛り込んだ総括は、今日まで未刊行であった。今回の発表ではこれらに、故神谷教授が、当時、見出した結果(浅川に託された調査台帳を基に解釈)を加えた宿主種別寄生率一覧を供覧し、蠕虫相の特色を簡単に論考したい。

[文献]

浅川満彦, 福本真一郎, 上田 晃. 1984. オオアシトガリネズミ (*Sorex unguiculatus*) 及びエゾトガリネズミ (*S. shinto saevus*) の内部寄生虫相について(予報). 寄生虫学雑誌, 33(増): 11.

横畑泰志, 2011. トガリネズミ科動物に寄生する蠕虫類. (織田銑一, 宮木孝昌, 東家一雄 編) スンクスの生物学, 学会出版センター, 東京: 58-66.

P-48 青森県下北半島に生息するニホンザル (*Macaca fuscata*) の寄生 蠕虫保有状況

○渡辺洋子¹, 三觜 慶¹, 石井奈穂美², 名切幸枝², 羽山伸一², 中西せつ子³, 近江俊徳², 岡本宗裕⁴, 浅川満彦¹ (¹酪農学園大獣医,²日本獣医生命科学大獣医, ³NPO 法人どうぶつたちの病院, ⁴京都大霊長研)

Parasitic helminths from Japanese macaque (*Macaca fuscata*) in the Shimokita Peninsula, Aomori Prefecture, Japan.

○Yoko Watanabe¹, Kei Mitsuhashi¹, Naomi Ishii², Sachie Nakiri², Shin-ichi Hayama², Setsuko Nakanishi³, Toshinori Omi², Munehiro Okamoto⁴, Mitsuhiro Asakawa¹ (¹School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, ²School of Veterinary Medicine, Nippon Veterinary and Life Science University, ³Conservation and Animal Welfare Trust, ⁴Primate Research Institute, Kyoto University)

[目的] 青森県下北半島に生息するニホンザル (*Macaca fuscata*) は、野生霊長類では世界で最北限に生息し、学術的に貴重な野生動物であるが(国の天然記念物)、これまで獣医学的な研究はほとんど手付かずであった。そこで、青森県ニホンザル特定鳥獣保護管理計画に基づく個体数調整によって捕獲された個体を対象に、その消化管内寄生蠕虫類の検査を開始した。

[材料と方法] 2012年夏以降から今日まで、青森県下北半島での第3次特定鳥獣保護管理計画により捕獲されたニホンザル 100 個体の消化管を使用し、消化管を切開し肉眼にて確認、消化管内容物を沈殿法により処理した後、実体顕微鏡にて寄生蠕虫類を摘出した。摘出された寄生蠕虫類は 100%エタノールにて固定・保存し、遺伝子検査用に保管してあるほか、70%エタノールにて形態分析用に固定・保管し、ラクトフェノールにより透徹し実体及び光学顕微鏡にて同定を行った。

[結果と考察] 小腸上部より糞線虫類の *Strongyloides fulleborni*, 盲腸および大腸上部に鞭虫類の *Trichuris trichiura*, 小腸上部および下部より吸虫類の *Ogmocotyle ailuri* の 3 種が高率かつ多数虫体が検出された。条虫類と線虫 *Streptopharagus* sp. (Spirurida: Spirocercidae) は見出されなかった。外来種タイワンザル *Macaca cyclopis* 含め(浅川, 巖城 2011), 国内に広範囲に分布すると目されたこの属線虫がまったく検出されず、下北半島の地域特異性が伺われた。また、検出された虫体の遺伝子検査を行うほか、下北半島内、あるいはほかの地域、例えば房総半島で実施された結果(里吉ら 2004)などとの比較による寄生率の特色、宿主の年齢・性別による差異なども検討したい。

[謝辞] 本研究は平成 24 年度および 25 年度京都大学霊長類研究所共同利用・共同研究制度によって実施された。寄生虫検査では WAMC の竹内徳余氏, 牛山喜偉氏および古瀬歩美氏にご協力頂いた。

[文献]

里吉亜也子, 蒲谷肇, 萩原光, 谷山弘行, 吉澤和徳, 辻正義, 萩原克郎, 村松康和, 浅川満彦 2004. 房総半島に生息するニホンザル (*Macaca fuscata*) の寄生虫および感染症に関する予備調査. 野生動物医学会雑誌, 9: 79-83.

浅川満彦, 巖城隆. 2011. 伊豆大島で外来種化したタイワンザル (*Macaca cyclopis*) 斃死体から得た *Streptopharagus* 属 (旋尾線虫目: Spirocercidae) 線虫寄生の一例. 酪農学園大学紀要 (自然科学編) 35: 87-89.

P-49 エチゴモグラ (*Mogera etigo*) の腸管内寄生蠕虫相

○井出哲哉¹, 横畑泰志², 阿部 永³ (¹富山大・理, ²富山大院・理工学, ³元北海道大・農)

Intestinal parasitic helminth fauna of the Echigo mole (*Mogera etigo*)

○Tetsuya Ide¹, Yasushi Yokohata², Hisashi Abe³ (¹Fac. Sci., Univ. Toyama, ²Grad. Sch. Sci. Eng., Univ. Toyama, ³Former Fac. Agr., Hokkaido Univ.)

[目的] エチゴモグラ (*Mogera etigo*) は新潟県のみにもみられ, 越後平野中心部を主な生息地とする大型のモグラで, 近縁種アズマモグラ (*M. imaizumii*) との競合や農地の基盤整備事業の影響などによって生息地が減少し, 環境省レッドリストでは絶滅危惧 II 類に指定されている. その寄生虫に関する報告も多くはなく, これまでに Yokohata et al. (1988, 1989) 及び Yokohata and Abe (1989) によって 1960 年代に捕獲された 14 頭の腸管内寄生蠕虫相が調べられているのみである. 今回演者らは 1990 年代に捕獲した 8 頭のエチゴモグラの腸管内を精査し, 7 種の寄生蠕虫を得たので, その結果を報告する.

[材料及び方法] 用いた 8 頭のエチゴモグラは 1991 年 8 月に新潟県新津市 (現, 新潟市) の水田で西式筒わなを用いて捕殺され, 腸管は上部, 中部, 下部に分けて 70%エタノールで保存されていた. それらの腸管を実体顕微鏡下で精査し, 得られた条虫体は酢酸カーミンで染色し, カナダバルサムで封入, 線虫体はラクトフェノール液で透徹し, 鏡検し, 同定した.

[結果] 条虫類についてはエチゴモグラ 4 頭から *Hymenolepis mogeræ* 6 虫体が検出された. 線虫類については 3 頭から *Tricholinstowia talpæ* 22 虫体が, 3 頭から *Parastrongyloides winchesi* 6 虫体が得られた. その他に昆虫寄生性のテラストマ上科 *Thelastomatoidea* に属する蟻虫類が 1 頭から得られ, それには Yokohata et al. (1988) の報告した *Chitwoodiella ovofilamenta* 1 虫体, *Singiella singhi* 1 虫体, *Cameronia biovata* 1 虫体, *Pseudonymus hydrophilli* 4 虫体が含まれた. 吸虫及び鉤頭虫は得られなかった.

[考察] 今回得られた蠕虫類のうち, 条虫類の *H. mogeræ* 及び線虫類の *T. talpæ*, *P. winchesi*, *S. singhi* の 4 種はエチゴモグラからの初検出となった. これらの種は日本産のモグラ類からすでに知られている. *P. hydrophilli* 以外のテラストマ上科蟻虫類はいずれも世界各地のケラ類 (*Gryllotalpa* spp.) から知られているもので, モグラがケラを頻繁に捕食するためにモグラの消化管内からこれらの蟻虫類が検出される擬寄生現象と考えられている. 一方, *P. hydrophilli* は鞘翅目の水生昆虫であるガムシ類 (*Hydrophilidae* gen. spp.) に寄生する蟻虫で, モグラがガムシを捕食することは極めて少ないと考えられるため, 検討が必要となっていた. 横畑 (未発表) は日本産のケラ (*Gryllotalpa fossor*) から Yokohata et al. (1988) が *P. hydrophilli* と報告したものと同一の蟻虫を見出しており, Yokohata et al. (1988) における本虫の同定を再検討する必要がある.

[引用文献]

- Yokohata Y, Jiang YP, Abe H, Ohbayashi. 1988. Pseudoparasitism by thelastomatid nematodes in moles, *Mogera* spp., in Japan. *Jpn J Vet Res* 36 : 53-67.
- Yokohata Y, Abe H, Jiang YP, Kamiya M. 1988. Gastrointestinal helminth fauna of Japanese moles, *Mogera* spp. *Jpn J Vet Res* 37 : 1-13.
- Yokohata Y, Abe H. 1989. Two new spirurid nematodes in Japanese moles, *Mogera* spp. *Jpn J Parasitol* 38 : 92-99.

P-50 キバノロ腸管寄生コクシジウムの特徴

○伊藤 綾夏¹, 保田 昌宏¹, キム ヨンジュン², 木村 順平³, 野中 成晃⁴, 佐々木 基樹⁵, 那須 哲夫¹

(¹宮崎大 獣医解剖 ²忠南野生動物救護センター ³ソウル大 獣医解剖 ⁴宮崎大 獣医寄生虫病 ⁵帯畜大 獣医解剖)

Characteristics of the Coccidian parasites in the intestine of the Korean water deer, *Hydropotes inermis*

○Ayaka ITO¹, Masahiro YASUDA¹, YoungJun Kim², Junpei KIMURA³, Nariaki NONAKA⁴, Motoki SASAKI⁵, Tetsuo NASU¹ (¹Laboratory of Veterinary Anatomy, Miyazaki University, ²Chungnam Wild Animal Rescue Center, ³Department of Veterinary Anatomy and Cell Biology, Seoul National University, ⁴Laboratory of Veterinary Parasitology, Miyazaki University, ⁵Laboratory of Veterinary Anatomy, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine)

[目的] キバノロは朝鮮半島および中国東北部に生息するシカ科に属する原始的な反芻動物であり、国際自然保護連合による評価では絶滅危惧種に指定されている。キバノロの腸管の構造を研究する過程で、*Eimeria* と思われるコクシジウムの感染を確認した。これまでにキバノロの腸管内に寄生するコクシジウムに関しては糞便中のオーシストを観察した報告はあるものの、詳細な研究はされていない。そこで今回、キバノロ腸管に感染するコクシジウムについて、分子生物学的な解析および形態学的観察を行った。

[材料と方法] 韓国国内で採取されたロードキルしたキバノロ 19 個体の腸管の一部（約 10cm）をアルコール固定およびホルマリン固定した標本を用いた。アルコール固定した標本から DNA の抽出を行い、*Eimeria* ITS-1 領域のプライマーを用いて PCR により増幅し、電気泳動を行った。PCR 産物を切り出し、ベクターに組み込み、塩基配列を決定した。さらにホルマリン固定した標本を用いて、パラフィン切片を作製し、HE 染色を行い、組織学的観察も行った。

[結果と考察] キバノロ 19 個体の腸管サンプルのうち、3 個体から PCR 産物が得られた。すなわち、約 16%のキバノロが感染していることが明らかになった。3 個体の PCR 産物の塩基配列を確認すると、2 種類の *Eimeria* ITS-1 遺伝子が確認された。一つは、*Eimeria canadensis* および *E. wyomingensis* に 77%の相同性が認められた。もう一方は、*E. lancasterensis*, *E. ontarioensis*, *E. callospermophil* などの *Eimeria* ITS-1 遺伝子の 30%の領域に対して、相同性が認められた。さらに組織標本において、*Eimeria* のいくつかのステージを確認した。今後は検出された 2 種類のキバノロに寄生する *Eimeria* について、他種との塩基配列の比較を行い、系統樹を作成するとともに、*Eimeria* の生活環の各ステージにおける形態学的特徴を精査し、より詳細な検討を進めていきたい。

P-51 動物園展示草食獣を中心とした哺乳類の糞便を用いて内部寄生

虫とコルチゾル代謝物濃度を検査した試行事例（予報）

○森昇子¹，高見一利²，塩田幸弘³，浅川満彦¹（¹酪農学園大獣医感染・病理，²大阪市天王寺動植物公園事務所，³京都市動物園）

Preliminary parasitological and endocrinological examination based on using feces derived from captive herbivorous mammals kept in zoological gardens

○Shoko Mori¹, Kazutoshi Takami², Yukihiro Shiota³ Mitsuhiro Asakawa¹（¹Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, ²Osaka Municipal Tennoji Zoo, ³Kyoto Municipal Zoo）

〔目的〕 寄生虫病は、動物園で展示されている動物においても重要な疾病の一つである。しかし、あまり関心が払われていないため、これらの動物が各種寄生虫に潜在的かつ慢性的に感染していることが疑われ、直接的死因とはならなくても、間接的に健康阻害となるストレスになっている可能性が考えられる。一方、近年サンプル採集による刺激を与えない理由から、糞中ステロイドホルモン代謝物濃度を測定することが行われつつあり、専用キットも流通している。内部寄生虫の検出とステロイドホルモン（今回はコルチゾル）代謝物濃度の測定は同一糞サンプルを用いて実施できることから、両検査を行い、飼育動物の健康保持のモニタリングに応用する検査の確立を模索している。今回は、その基盤情報となる糞便による寄生虫検査の結果を中心に述べ、予備的なコルチゾル代謝物濃度測定についても報告する。

〔材料および方法〕 2013年2月から2013年5月の4ヶ月間、西日本に立地する3動物園で飼育されている草食哺乳類（シマウマ、カバなど）を中心とした展示動物から自然排泄された新鮮便を月1回採集し、4℃で冷蔵保存した後、2週間以内に酪農学園大学野生動物医学センター（以下、WAMC）にて糞便検査を実施した。糞便検査法はショ糖遠心浮遊法と渡辺沈殿法を用い、顕微鏡マイクロメーターを用い鑑別した。また、未成熟オーシストはスポロシストを形成するまで培養した。また、カバの糞はコルチゾル代謝物濃度測定の予備的検討を実施するために用い、コルチゾル測定キット（Cayman; Cortisol EIA Kit Item No.500360）と液体クロマトグラフィーによる質量分析との比較を試みる予定である。

〔結果および考察〕 全53個体のうち26個体で線虫卵、条虫卵及びオーシストが検出されたが、吸虫卵は全ての動物から検出されなかった。コクシジウムのオーシストは全体では5個体（9.4%）から検出された。線虫卵は19個体（35.8%）から検出された。検出された線虫卵には少なくとも回虫卵、鞭虫卵および毛細線虫卵が確認された。条虫卵は2個体（3.8%）から検出され、いずれも洋梨状器官を備えた裸頭条虫科であった。興味深いことに、わずか4ヶ月ではあったが、線虫卵、条虫卵およびオーシストの検出率に月ごとの変動が認められた。

健康管理上、寄生虫陽性個体全てを駆虫することが理想である。しかし、現実的には困難で、投薬のための捕獲によりストレスが惹起されることや群れ展示動物では個体ごとの投与量がコントロールできないことなどがその理由である。たとえば、いったん、個体ごとの完全駆虫が成功したとしても、環境中に虫卵やオーシストが存在していれば、再感染が生ずる。したがって、動物園での寄生虫症対策としては、まず、状況を把握するために今回報告したような寄生虫保有状況の継続的検査を実施することが励行される。

P-52 ハナゴンドウ *Grampus griseus* の胃内から検出された幼線虫の同定のため広範囲線虫プライマーを利用した試行事例

○瓜田千帆子¹, 小山内佑太¹, 大島由子², 平山琢朗¹, 遠藤大二¹, 浅川満彦¹ (¹酪農学園大獣医, ²京都水族館)

The use of pan-nematode primers for identification of nematode larvae obtained from a captive Risso's dolphin (*Grampus griseus*)

○Chihoko Urita¹, Yuta Osanai¹, Yuko Ohshima², Takuro Hirayama¹, Daiji Endo¹, Mitsuhiko Asakawa¹ (¹School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, ²Kyoto Aquarium)

〔目的〕 今回の演者の一人,大島が海の中道海洋生態科学館(福岡市)に飼育されるハナゴンドウ *Grampus griseus* の診察中,胃カテーテルを用い胃腔内内容物を採集したところ,多数の線虫幼虫を認めた.家畜および野生動物では,消化管内線虫が疾病の原因になる可能性がある.しかし,胃から見つかったとしても,必ずしも寄生種とは限らず,海水中に自由生活する線虫が混入した可能性もある.そうすると,背景には寄生性のみならず,自由生活性線虫類を含む網羅的な検討が,適切な診断を下す上で必須なのは想像に難くない.今回,この幼線虫をモデルに試行した.

〔材料と方法〕 線虫を内容物ごと全体の濃度が70%になるようにエタノール液で固定・保存した.これを実体顕微鏡下で,幼線虫のみを採集し,これを濾紙上に滴下した.これを細切し,DNA抽出とPCRを実施した.用いたプライマーとしては,全線虫種を増幅可能であり,比較的種間の相異が大きいチトクローム酸化酵素1型遺伝子(COI)3'端側のプライマーを用いた.

〔結果〕 濾紙上から抽出された線虫DNAを鋳型とした場合,COI 3'側プライマーは予想サイズと一致する増幅産物を生成させた.対照として実施したCOI 5'側プライマーでも同様にPCR産物が得られた.以上のように,一個体の幼虫でも再現性を持って増幅が認められた.

〔考察〕 エタノール固定された幼虫は遠心で集めることができない.本方法では,線虫の幼虫が,実体顕微鏡下で濾紙に移動でき,検出も可能であったため,個別の線虫の同定に有効であると考えられた.すなわち,診断に益することが大きいと示唆された.発表時には,増幅産物の塩基配列を元に,詳細な線虫の分類学的位置について言及したい.いずれにせよ,飼育海産哺乳類の線虫症診断では,寄生性のみならず,海水中に自由生活をする線虫に関する広範な情報が不可欠であることが,今回の試行事例を通じ,再確認された.

〔謝辞〕 今回の発表の材料を使用するにあたり,大島が在職していた海の中道海洋生態科学館から便宜を頂いた.深謝したい.

P-53 ミゾゴイの遺伝的多様性の解析

○尾形光昭¹, 三田さくら^{1, 2}, 大沼学³, 渡部大介⁴, 越野慶太⁴, 桜堂由希子⁵, 松本令以⁵
(¹横浜市繁殖センター, ²仙台市八木山動物公園, ³国立環境研究所, ⁴宮崎市フェニックス自然動物園, ⁵横浜市立野毛山動物園)

Studies on the genetic diversity of the Japanese night heron.

○Mitsuaki Ogata¹, Sakura Mita^{1, 2}, Manabu Onuma³, Daisuke Watabe⁴, Keita Koshino⁴, Yukiko Sakurada⁵, Rei Matsumoto⁵ (¹ Preservation and Research center, city of Yokohama, ² Yagiyama Zoological Park, ³ National Institute for Environmental Studies, ⁴ Miyazaki City Phoenix Zoo, ⁵ Nogeiyama Zoological Gardens)

[目的] ミゾゴイは、日本列島で繁殖するサギ科の鳥類である。ミゾゴイの生活史については未解明な点が多いとされる一方で、IUCN レッドリストで絶滅危惧種とされている。本研究ではミゾゴイの飼育下における生息域外保全を目的に、ミゾゴイ種内の遺伝的多様性を解析した。

[材料及び方法] 神奈川県、宮崎県、沖縄県内で保護されたミゾゴイ合計 8 羽の血液および体組織から DNA を抽出し、ミトコンドリア DNA のチトクローム b 遺伝子、12SrRNA 遺伝子、ND6 遺伝子および ND2 遺伝子の部分配列（合計 1640bp）の塩基配列を解析した。得られた塩基配列を MEGA5 によりアライメントし、ハプロタイプを決定した。更にミゾゴイに比較的近縁であるとされるゴイサギのマイクロサテライト DNA 増幅用プライマーセット 11 種を用いて、多型解析を試みた。多型解析は GeneScan ver.2 により行った。塩基配列解析および多型解析は ABI310 ジェネティックアナライザーを使用して行った。

[結果] ミゾゴイ 8 羽のミトコンドリア DNA から 2 つのハプロタイプが確認された。ハプロタイプ間の塩基差は 12SrRNA 遺伝子上の 1 塩基のみで、ゴイサギにおいて種内の遺伝的多様性解析に適しているとされる ND6 遺伝子は 8 羽間でも違いがなく、保護地域間で明瞭な違いは見られなかった。一方で、ゴイサギより報告されているマイクロサテライト DNA プライマーセット 11 種類を供試したが、ミゾゴイで多型が確認されたのは 1 種類のプライマーセットのみであった。なお観察されたアレル数は 3 つであった。

[考察] 本研究では、ミゾゴイが保護された地域間において、明瞭な遺伝的違いを確認できなかった。またミトコンドリア DNA のハプロタイプ間の遺伝的違いも小さいことから、種内の遺伝的多様性が低いことが示唆された。ミゾゴイは台湾や中国南部およびフィリピンに生息し、春から秋にかけて繁殖のために日本列島に渡来する夏鳥であるが、同じ夏鳥であるツバメ等でもの遺伝的多様性が低いことが報告されており、本研究の結果と矛盾しない。本種は絶滅が危惧される一方で、繁殖期に保護個体が動物園等に収容されることが多い。本研究の結果は、これらの保護個体を用いた飼育下繁殖による生息域外保全活動を行うに当たって、収容地域別に個体管理を行う必要性が高くないことを示唆する。今後は、多数のマイクロサテライト DNA の多型解析を行うことにより、本種の遺伝的多様性を詳細に解明し、本種の繁殖計画を策定する必要がある。

P-54 新規ハンドウイルカ血清アミロイド A 様遺伝子の分離と発現解析

○岩田紗穂¹, 瀬川太雄¹, 小林由紀¹, 伊藤琢也¹, 鈴木美和¹, 酒井健夫¹ (¹日本大学生物資源)

Isolation and expression of novel bottlenose dolphin serum amyloid A-like gene.

○Saho Iwata¹, Takao Segawa¹, Yuki Kobayashi¹, Takuya Itou¹, Miwa Suzuki¹, Takeo Sakai¹ (¹College of Bioresource Sciences, Nihon University)

[目的] 炎症時に急増する血清アミロイド A (SAA) には, 3つの isoform (SAA1, SAA2 および SAA3)が存在する. 多くの哺乳動物において, 炎症時に SAA1 および SAA2 は肝臓で合成され血中に, SAA3 は肝外で合成され乳汁など限局した部位に放出される. SAA1 および SAA2 は中性の等電点を持ち, SAA3 は塩基性の等電点および N 末端 TFLK モチーフを持つ. 我々は多くの哺乳動物と異なりイルカの血中で急増する SAA が SAA3 の特性を持つことを明らかにした. 現在分離されているイルカの SAA 遺伝子は SAA3 様遺伝子 (SAA3-L) のみである. 本研究は, 新規のイルカ SAA 様 (SAA_{novel}) 遺伝子の分離および組織発現解析を行った.

[材料と方法] 公開されているハンドウイルカのゲノム配列情報およびハンドウイルカの肝臓由来 cDNA を用いて遺伝子クローニングを試み, 新規に得られたイルカ SAA_{novel} の翻訳領域を決定した. またハンドウイルカの諸臓器から抽出した RNA を用いて RT-PCR 法によりイルカ SAA_{novel} および SAA3-L の遺伝子発現を比較した.

[結果] イルカ SAA_{novel} の翻訳領域は 390bp で, 129 アミノ酸残基 (aa) をコードし, 推定分子量は 12.6 kDa, 推定等電点は 5.30 であった. 1-18aa がシグナルペプチドであり, 19-129aa が成熟型タンパク質であった. 37-53aa は SAA モチーフをコードし, 47-50 aa の推定カルシウム結合領域, 92-111aa の好中球および GAG 結合領域は高度に保存されていた. マウスおよびヒト SAA の 69 および 70aa 間, またウサギ SAA の 68 および 69aa 間に挿入された 9aa は, イルカ SAA_{novel}, イルカ SAA3-L およびブタ SAA3 のみで完全に保存されていた. イルカ SAA_{novel} の推定アミノ酸配列は, イルカ SAA3-L と最も高い相同性 (83.0%) を, 次いでブタ SAA3 と高い相同性 (82.1%) を示した. その他既知の哺乳動物の SAA1/SAA2 および SAA3 との相同性は, それぞれ 68.4-79.0% および 69.9-71.4% であった. イルカ SAA_{novel} の mRNA は肝臓で, またイルカ SAA3-L mRNA は肺, 胸腺, 脾臓, 肝臓, 腎臓および筋肉で検出された.

[考察] 推定アミノ酸配列に基づく等電点, 他の哺乳動物 SAA との相同性および組織発現パターンを考慮すると, 本研究で得られたイルカ SAA_{novel} は SAA1 および SAA2 に類似していた. イルカおよびブタ SAA のみで認められた aa の保存領域は, 哺乳動物間で相同性が低く, かつヒト, マウスおよびウサギにおいてはギャップ領域であることから, イルカおよびブタの SAA は独自の機能を持つ可能性がある.

P-55 神経伝達物質関連遺伝子の多型性がチンパンジーの性格および行動に及ぼす影響

○戸田克樹¹, Alexander Weiss², 川村誠輝³, 玉井勘次⁴, 小村圭⁴, 野元武⁴, 福守朗⁴, 山本裕己⁵, 伊藤英之^{5,8}, 松永雅之⁵, 伊藤二三夫⁵, 橋川央⁶, 井上英治⁷, 村山美穂⁸, 藤田志歩¹ (¹鹿児島大・農, ²Edinburgh University, ³山口大・農, ⁴平川動物公園, ⁵京都市動物園, ⁶東山動物園, ⁷京都大・院・理, ⁸京都大・野生動物研究センター)

The influence of polymorphism of neurotransmitter-related genes on personalities and behaviours in the chimpanzees.

○Katsuki Toda¹, Alexander Weiss², Masaki Kawamura³, Kanji Tamai⁴, Kei Komura⁴, Takeshi Nomoto⁴, Akira Fukumori⁴, Yuuki Yamamoto⁵, Hideyuki Itou^{5,8}, Masayuki Matsunaga⁵, Fumio Itou⁵, Hisashi Hashikawa⁶, Eiji Inoue⁷, Miho Murayama⁸, Shiho Fujita¹ (¹Faculty of Agriculture, Kagoshima University, ²Edinburgh University, ³Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, ⁴Hirakawa Zoo, ⁵Kyoto City Zoo, ⁶Higashiyama Zoo, ⁷Graduate School of Science, Kyoto University, ⁸Wildlife Research Center, Kyoto University)

[目的] 様々な動物種において、神経伝達物質関連遺伝子の多型性が性格や気質に関連することが報告されているが、行動や生理における表現型については分かっていない。本研究はチンパンジーを対象に、これら遺伝子の多型性が性格や行動に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

[材料および方法] 対象は東山動物園、京都市動物園および平川動物公園のチンパンジーオス5頭およびメス7頭とした。糞便からDNAを抽出し、神経伝達物質関連遺伝子(AVPR1AS3, MAOA, MAOB, TPH2, 5HTT Promoter, 5HTT intron, ARG 及び ARQ)の各領域をPCRにより増幅させたのち塩基配列を調べて型判別を行った。また、性格評定を行うためアンケート調査を実施し、主成分分析により抽出された6つの性格因子と幸福度のスコアを算出した。行動観察は、個体追跡法を用いて活動時間配分や社会交渉などを記録した。

[結果] TPH2の遺伝子型は知的好奇心のスコアと関連があり($P < 0.05$)、ARGの遺伝子型は協調性のスコアと関連があった($P < 0.05$)。行動との関連においては、活動時間配分、グルーミング時間割合、セルフスクラッチ頻度のいずれにおいても遺伝子型との関連はみとめられなかった。

[考察] TPH2は不安や恐怖に関与するセロトニンを合成する酵素である。本研究では不安性との関連はなく知的好奇心との関連がみとめられ、その理由についてさらなる解析が必要である。また、ARG遺伝子型はアンドロゲンに対する感受性の高さに影響するが、本研究では攻撃性との関連はなかったものの協調性と関連があった。これは、潜在的に攻撃行動を発現しやすい個体ほど、その反対に、社会性を保つために協調的にふるまうことを表しているのかもしれない。今回、遺伝子型による行動の違いはみとめられなかったが、個体の生理に及ぼす影響について調べるため、コルチゾル濃度について現在解析中である。

P-56 岩手県内に生息するニホンカモシカ個体群の遺伝的多様性

○松原和衛¹, 上坂友香里¹, Eric Tsai², 西村貴志¹ (¹岩手大院農,²BiOptic Inc)

The genetic diversity of Japanese serow living in Iwate prefecture of Japan.

○Kazuei Matsubara¹, Yukari Uesaka¹, Eric Tsai², Takashi Nishimura¹ (¹Graduate School of Agriculture, Iwate University, ² BiOptic Inc.)

[目的]ニホンカモシカ(*Capricornis crispus*)は日本固有の反芻動物で、特別天然記念物に指定されており、岩手県のほぼ全域に生息が確認されている。当研究室では、ニホンカモシカの糞中DNAによる雌雄判別法と個体識別法の開発を以前から行っている。本研究では、時間短縮及び簡便化が見込まれるQsep 100 dna-CE Fragment アナライザーを用いて至適条件を検討した。また、このアナライザーを用いて、岩手県に生息するニホンカモシカの遺伝子系統解析による個体群推定と各個体群の遺伝的多様性について検討を行った。

[材料及び方法] 野生個体のため糞から採取した野外糞、および滅失個体から採取した糞を使用した。なお、冬期に採取した野外糞は、採取位置にバラツキが出るように踏査を行った。DNA多型解析は、BiOptic inc.社のQSEP-TM新型DNAアナライザー (Qsep100 dna-CE)で検討を行った。西村ら(2011)の方法に従ってDNAを抽出・精製し、8座位マイクロサテライトマーカーを用いたフラグメント解析により個体識別を行い、その結果をGENEPOP on the webにより系統解析した。

[結果] Qsepは、電気泳動でフラグメント解析を行うため、塩濃度の影響を受けやすく、PCR産物には脱塩処理を施す必要があった。また、ディズポーザブルペンキット中のゲルは気温の変化を受けやすく、使用適切温域であってもその時の温度に影響を受け、10bp程度のズレが生じてしまうなどの問題があった。また、本研究で収集した岩手県内の野外糞は、STRUCTUREによる遺伝子解析の結果、奥羽山系地域個体群と北上高地地域個体群に分類された。

[考察] Qsepは、エアコン使用の一定温度環境下で使用することによって解析時間が短縮されるため、有用性は極めて高いと考えられた。本研究では、岩手県内に生息するニホンカモシカの個体群は、遺伝的に北上川を境界として2系統に分類されることが示唆された。しかし、使用した野外糞はおよそ80サンプルが盛岡市近郊の個体であったため、分析サンプル数に偏りが生じている。したがって、今後岩手県内で広くサンプル採取を行い分析することにより、更に個体群が分かれる可能性はある。また、各個体群の遺伝的多様性は、現在の個体群を維持するために十分な多様性があり、過去のボトルネックの影響は強くないと考えられた。さらに、西村らが開発した方法は十分にフィールドの研究に応用できることが示唆された。

本研究では、盛岡市動物公園および富山市ファミリーパークのニホンカモシカの糞の提供を受けて基礎検討を行った。また、系統解析については岩手県環境保健研究センターの山内貴義博士にご指導をいただいた。ここに記して謝意を表す。

P-57 福島県飯舘村の計画的避難区域でみつかったハクビシン

(*Paguma Larvata*) の ^{137}Cs シンチグラム

○山口敏朗¹, 陳忠正¹, 岸本海織^{1,2}, 古濱和久^{1,3}, 佐藤洋³, 山田一孝^{1,4} (¹岐阜大院連獣 連合獣医学研究科, ²東京農工大学 共同獣医学科, ³岩手大学 共同獣医学科, ⁴帯広畜産大学 臨床獣医学研究部門)

^{137}Cs scintigram of masked palm civet (*Paguma Larvata*) found in the planned evacuation zone in Iitate, Fukushima

○Toshiro Yamaguchi¹, Chun-Jen Chen¹, Miori Kishimoto^{1,2}, Kazuhisa Furuhashi^{1,3}, Hiroshi Satoh³ AND Kazutaka Yamada^{1,4} (¹Gifu University, The United Graduate School of Veterinary Science, ²Tokyo University of Agriculture and Technology, ³Iwate University, ⁴Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine)

〔背景と目的〕 2011年3月に発生した福島第一原子力発電所事故で放射性同位元素が漏洩し、周辺地域に生息する野生動物で ^{137}Cs の内部汚染が報告された。今回、計画的避難区域の路上でみつかったハクビシンで、 ^{137}Cs のシンチグラムを作成する機会を得たので、その概要を報告する。

〔材料と方法〕 福島第一原子力発電所事故から7ヵ月後（2011年10月）に計画的避難区域（福島県飯舘村）の路上で死亡していたハクビシン（体長 80.0 cm, 体重 4.0 kg）を使用した。被検ハクビシンは、穴径が1.0 cmで鉛厚2.0 cmのピンホールコリメータを装着した小型ガンマカメラ（エスペックテストシステム株式会社製）で撮像された。そして、得られた撮像データから ^{137}Cs の γ 線（0.662 MeV）の分布を選択して、シンチグラムを作成した。さらに、Ge 半導体検出器で被検ハクビシンの頭部、心臓、肺、肝臓、消化管（内容物を含む）および骨格筋を測定し、得られた γ 線スペクトルから ^{137}Cs 濃度を算出した。

〔結果と考察〕 被検ハクビシンのシンチグラムは、 ^{137}Cs の分布を描出した。シンチグラムのデンシティは、腹部が最も高かった。また、 ^{137}Cs が被検ハクビシンの頭部、心臓、肺、肝臓、消化管および骨格筋で、それぞれ 7.8, 11.6, 18.8, 18.0, 29.7および16.1 kBq/kg検出され、内容物を含んだ消化管で最も高い ^{137}Cs 濃度を示した。このことから、シンチグラムは、被検ハクビシンの ^{137}Cs の濃度分布を反映していると考えられた。以上のことから、ピンホールコリメータを装着した小型ガンマカメラを用いて、0.662 MeVの γ 線を検出することで ^{137}Cs の濃度分布の画像化が可能であった。今後、この技術を利用して野生動物の ^{137}Cs 汚染をモニタリング可能と考えられた。

P-58 北海道に生息する野生タンチョウの保護収容状況について

○飯間裕子¹,松本文雄^{1,2},古賀公也^{1,2},百瀬邦和²,井上雅子²(¹釧路市動物園,²タンチョウ保護研究グループ)

An analysis of the reasons that the wild Red-crowned Crane living in eastern Hokkaido, Japan, was accommodated in Kushiro Zoo

○Hiroko Iima¹, Fumio Matsumoto^{1,2}, Kimiya Koga^{1,2}, Kunikazu Momose², Masako Inoue²(¹Kushiro Zoo, ²Red-crowned Crane Conservancy)

〔背景〕釧路市動物園では、1975年の開園以来、北海道東部に生息する野生タンチョウの傷病保護ならびに死体で発見されたタンチョウの死因解明（病理解剖）を行っている。北海道のタンチョウは一度絶滅したと考えられていたが、1924年に釧路湿原で再発見され、1952年第1回生息状況調査で33羽が確認された。以来、地域住民による冬期給餌の成果もあり、年々生息数は増え、2012年の調査では1500羽に迫る勢いである。しかし、生息数の増加に伴い、その生息地は拡大・高密度化しており、本来の生息地であった湿原を離れ、人間の近くで生活・繁殖する個体やつがいが増加している。これにより、保護収容理由も変化している。

〔材料〕釧路市動物園へ保護収容された、北海道に生息する野生タンチョウ（傷病保護個体と死体収容個体）に関する情報。病理解剖による死因の特定を含む。

〔結果と考察〕1975年開園から2013年3月末までに、釧路市動物園へ保護収容された野生タンチョウは、531羽である。当初年間10羽程度であった保護収容は、2000年以降、年間20～30羽に増加している。また、分散期（繁殖期）の保護収容割合が増えており、これは人目につきやすい場所で生活・繁殖するタンチョウの増加によると考えられる。

保護収容の多くは突発的な事故によるもので、主要な原因は、電線・車・列車との衝突である。電線衝突は、冬期に給餌場へ集まってくるタンチョウによく見られる事故である。事故が発生した電線へのマーカー設置の効果もあり、近年減少傾向にあるが、生息地拡大に伴う事故現場分散もあり、発生は後を絶たない。逆に、車衝突と列車衝突は増加傾向にある。車衝突は、発生地点が生息地全体に分散しており、地域に限らず、その生活圏に道路を含むタンチョウの増加が伺える。列車衝突は、発生地点はある程度局所的ではあるが、件数が増加しており、また、少数ながら新たなポイントでの新規発生も目立つ。

そして、近年増加傾向にある保護収容理由として、啄傷（たくしょう：タンチョウ同士のなわばり争いのためのケンカによる負傷）が挙げられ、生息地の高密度化によると考えられる。また、人間の近くでタンチョウが生活するようになった結果、法律により畜産農家に設置が義務付けられた糞尿処理設備の一形態であるスラリー（牛の糞尿）貯留槽への転落頻発をはじめとして、農家の付随施設である牛舎やフェンス、有刺鉄線等により負傷・死亡するケースが増えている。

〔まとめ〕今後、タンチョウの更なる生息数増加と生息地の拡大分散が予想されることから、上記のような事故だけでなく、農業被害等も含めて、人間との軋轢が大きくなる恐れがある。タンチョウと人間が今後もより良く共存していけるように、事故の発生状況と生息地の環境変化を踏まえ、関係機関が連携して対策を検討・実施していく必要がある。

P-59 ニホンジカに及ぼす大型ネコ科動物の排泄物由来抽出物の忌避

効果

- 西千秋¹, 赤荻周悟¹, 大橋真吾¹, 斎藤憲弥², 小松守³, 矢沢圭佑⁴, 辻本恒徳⁵, 出口善隆¹, 小藤田久義¹, 山下哲郎¹, 松原和衛¹
(¹岩手大 農,²よこはま動物園ズーラシア,³秋田市大森山動物園,⁴岩手サファリパーク,⁵盛岡市動物公園)

The repellent effect on sika deer by extraction purified from feces of big cats

- Chiaki Nishi¹ · Syugo Akaogi¹ · Shingo Ohashi¹ · Noriya Saito² · Mamoru Komori³ · Keisuke Yazawa⁴ · Tunenori Tujimoto⁵ · Yoshitaka Deguchi¹ · Hisayoshi Kofujita¹ · Tetsuro Yamashita¹ · Kazuei Matsubara¹

Faculty of Agriculture, Iwate Univ.¹, Zoorasia Yokohama Zoological Gardens², Akita Omoriyama Zoo³, Iwate Safari Park⁴, Morioka Zoological Park⁵

[目的] 岩手県ではニホンジカ (*Cervus nippon* 以下シカ) の生息地拡大に伴い、シカと列車との衝突事故が増加している。衝突事故を回避するためのシカ忌避方法の1つとして、ライオン排泄物の利用が考案されている。本研究では、ライオン以外のネコ科動物の排泄物をシカが忌避するかどうかを検証した。

[材料及び方法] ネコ科動物の排泄物は、盛岡市動物公園、よこはま動物園ズーラシア、秋田市大森山動物園、岩手サファリパークから収集した。試料はネコ亜科に属するチーター (*Acinonyx jubatus*)、オセロット (*Leopardus pardalis*)、ピューマ (*Puma concolor*)、ヒョウ亜科に属するウンピョウ (*Neofelis nebulosa*)、スマトラトラ (*Panthera tigris sumatrae*)、アムールトラ (*Panthera tigris altaica*)、アムールヒョウ (*Panthera pardus orientalis*)、ライオン (*Panthera leo*)、ユキヒョウ (*Uncia uncia*) の排泄物を用いた。収集した排泄物を乾燥させた後、有機溶媒に1昼夜浸漬し排泄物抽出液を得た。得られた抽出物を実験用サンプルとした。シカの飼育舎内の中央部には2つの通路を設けた。試験の際は、塩化ビニル樹脂製のパイプに穴を開け、試験サンプルをしみ込ませたキムタオルをパイプ内に入れた。片側の通路にはサンプルが入ったパイプを、もう一方の通路には何も入っていないパイプをそれぞれ2本ずつ設置した。サンプルを入れたパイプは使い捨てとし、1回の実験ごとに新しい物と交換した。各通路の様子は、赤外線投光器とビデオカメラを設置しVTRで録画した。コントロールとして試験前に3日間、その後7日間を試験期間とし、それぞれの期間中のシカの通路通過回数を数えた。コントロール期間中の通路通過回数から期待値を算出し、試験期間中の通路通過回数と比較するためにカイ二乗検定を行った。サンプルを設置した通路の通過回数が危険率0.1%以下で有意に期待値より少なかった場合を、忌避効果があると判定した。

[結果] 7日間の試験期間中で忌避効果がみられた日数は、チーターが2日間、オセロットが5日間、ピューマが0日間、ウンピョウが4日間、スマトラトラが0日間、アムールトラが4日間、アムールヒョウが2日間、ライオンが7日間、ユキヒョウが2日間であった。亜科レベルによる忌避効果の違いは見られなかった。

[考察] ライオンの排泄物にだけシカを長期間忌避させる物質が含まれている可能性が示唆された。さらに、大橋ら(未発表)は7日間忌避効果が認められたライオンの排泄物サンプルを作成し、実際に線路脇に散布したところ、最大で5ヶ月間、シカと列車との衝突事故がなくなることを確認している。

P-60 ライオン排泄物由来ニホンジカ忌避物質の精製に関する研究

○赤荻周悟，西千秋，出口善隆，小藤田久義，松原和衛（岩手大農）

Study on purification of sika deer repellent ingredients from lion feces.

○Syugo Akaogi, Chiaki Nishi, Yoshitaka Deguchi, Hisayoshi Kofujita, Tetsuro Yamashita, Kazuei Matsubara (Faculty of Agriculture, Iwate University)

〔目的〕我が国の鉄道沿線では，ニホンジカ（シカ）などの野生動物と列車との衝突事故が大きな問題となっている．当研究室では，ライオン排泄物がシカの行動を妨げることを明らかにしており，シカの忌避物質の精製を行い特許（第 4817914 号）を取得している．本研究では，物質の揮発性を無視して行ってきた従来の抽出・分離法に代わる，揮発性物質を考慮した新たな精製方法の検討を行った．

〔材料及び方法〕盛岡市動物公園のライオンの成獣 5 頭（オス 1 頭，メス 4 頭）の糞を実験に用いた．シカは実験用に飼育している 6 頭（去勢オス 1 頭，メス 4 頭）を用いた．

実験 1：熱水蒸留法（A）と加溶媒蒸留法（B）により分離を行った．精製方法 A では揮発画分と不揮発画分の 2 画分に分離し，精製方法 B では高揮発画分，中揮発画分，不揮発画分の 3 画分に分離した．各画分をさらに濃縮乾固させて収量と収率を求めた．

実験 2：得られた上記 5 画分について，シカに提示して忌避効果をそれぞれ検討した．飼育舎（30m×15m）は中央をフェンスで分断し，その両端に通路（幅 0.9m）を設置して，サンプル設置前後のシカの通過回数を録画した VTR で計測し忌避効果の有無を判定した．なお，サンプルを設置した通路の通過回数が危険率 0.1%で有意に期待値より少ない場合を忌避効果ありと判定した．

実験 3：精製方法 A と精製方法 B で得られた 5 画分を各々高速液体クロマトグラフィー（HPLC）とガスクロマトグラフィー（GC）に適用し比較を行った．

〔結果〕精製方法 A は従来の方法に比較して収率が 90%程度低くなった．また，精製方法 B の収率も 50 - 85%程度低くなった．精製方法 A の揮発画分は忌避効果を示したが，不揮発画分は忌避効果は認められなかった．一方，精製方法 B の 3 画分はすべて忌避効果を示した．さらに，精製方法 A と精製方法 B の 5 画分には共通する成分と共通しない成分がそれぞれ含まれていることが判明した．

〔考察〕精製方法 B で使用した物質は，揮発物質を効率よく分離する可能性はあるが，GC の結果から新たに化合物が合成されたことが示唆された．精製方法 A は新たな化合物は生成されず，本来ライオン排泄物に含まれる揮発物質が回収できるため，精製方法として適当と推察された．

P-61 野生鳥類の農家敷地内への侵入状況解析及び疫学的提言

○長 雄一¹, 藤井 啓² (¹道総研・環境研, ²道総研・畜試)

Analysis of invasion patterns of wild birds for farm sites and some epidemiological opinion.

○Yuichi Osa¹, Kei Fujii² (¹Institute of Environmental Science, Hokkaido Research Organization, ²Animal Research Center, Hokkaido Research Organization)

〔目的〕農家敷地内, 特に牛舎内に侵入するカラス類等の野生鳥類は, サルモネラ等を伝播するリスクを有するといわれてきた. しながら, その侵入頻度や季節・時刻別変動様式は不明であった. このため, これら防疫活動に不可欠な野生鳥類の侵入状況について解析を行い, 疫学的な提言につなげたい.

〔材料及び方法〕北海道東部域内陸部 A 町にて 3 箇所, 平野部 B 町にて 1 箇所, 海岸部 C 町にて 1 箇所, 牛舎内に自動撮影カメラを設置した. 本来, これらのカメラは鳥類の動きに反応して撮影を行う機能を有するが, ウシの動きにも反応し, 膨大な枚数が記録されるため, 1 分間隔での連続撮影を行った. その画像を回収して, 室内にてカラス類・スズメ・ハト類等の識別を行い, 1 時間ごとの最大同時侵入数を算出した.

〔結果〕各鳥類の最大同時侵入数は, 農家ごとで大きな違いがあり, 季節・時刻における変動様式も一様ではなかった.

カラス類を例にとりて 1 1 月のデータを示すと, A 町の山麓部で林地に囲まれた農家 i では 12 個体程度の集群で牛舎内に侵入していたものの, 平野部の農業地帯にある農家 ii では, 周辺で繁殖していると思われるつがい, 2 個体以上の同時侵入は観察されなかった. また, 山間部の農業地帯にある農家 iii では, カメラにより牛舎内への 7 個体の集群の侵入を記録され, さらに調査員による定点観察では, 農家 iii の敷地内への約 130 個体の飛来が確認された.

平野部 B 町の農家 iv では, 1 1 月においてはカラス類の侵入が記録されず, 6 月及び 7 月に 1 個体が散発的に侵入するのみであった. また, 海岸部にある C 町の農家 v においても, 開放型牛舎でありながら, 11 月のカラス類に関しては, 1 個体程度の侵入しか観察されなかった. しかしながら, 8 月に降雨により水たまりが形成された時には, 農家 v においてカラス類 30 個体以上の集群が, カメラに記録されていた.

〔考察〕農家間でのカラス類の侵入数が大きく異なることに関しては, 一つには近隣の山地におけるねぐらの有無が影響する可能性が高い. また, 餌となる飼料の清掃活動及び水たまりを作らないような工夫等が野生鳥類の侵入数を抑制することにつながると推察された.

この調査は, 北海道立総合研究機構重点研究「野生鳥類由来感染症の伝播リスク評価及び対策手法の開発」の一環として行い, 環境研究を行う環境科学研究センターと北海道の畜産振興を担う畜産試験場等の共同研究であることから, 日本野生動物医学会でもたびたび語られる「One World, One Health」をも視野においていきたいと希望している. さらには, これら生態学-獣医学融合領域での成果をまとめて, 実践面として農家向け野生鳥類防疫パンフレットを作成する予定であるので, その内容を含めて討議を深めていきたい.

P-62 自動撮影装置を用いた農場内侵入野生動物のモニタリング手法に関する研究

○千葉暁允¹, 池田彩花¹, 葛谷勇人¹, 村田浩一¹ (¹日大・生物資源)

Monitoring for wild animals intruded into a farm using by camera-trapping

○Akinobu Chiba¹, Ayaka Ikeda¹, Hayato Katsuya¹, Koichi Murata¹ (¹College of Bioresource Science, Nihon University)

[目的] 家畜伝染病の伝播要因の一つに、農場内に侵入する野生動物と家畜との直接的もしくは間接的な接触が挙げられる。野生動物を起因とする家畜伝染病の監視と制御のためには、侵入動物の種同定や行動生態の把握が必須となる。しかし、農場内に侵入する野生動物種やその実態については未解明な部分が多い。近年、野生動物調査には自動撮影装置が用いられているが、農場内において本装置を用いた研究事例はきわめて少ない。自動撮影装置を用いた野生動物調査では、装置の設置場所や調査時期、時間および努力量等に関する問題点がある。本問題を解決するためには各調査地に応じた撮影条件を確立する必要がある。そこで本研究では、これまで野生動物観察対象地とされることが少なかった農場において、自動撮影装置を用いた動物観察手法の確立を目的とした。

[材料及び方法] 2012年1月～10月の間、日本大学生物資源科学部附属農場内の畜舎、人道、獣道、飼料置場および水場の5ヵ所に焦電型自動撮影カメラ装置(Ltl-5210A)を計11台設置した。解析対象は哺乳類および鳥類とした。撮影頻度の大小を比較する相対的単位として、100カメラ稼働日あたりの撮影頻度(RAI)を算出し設置場所、調査時間および時期について検討を加えた。さらに、確認種数の最大値(最終値)に達するまでに要したカメラ稼働日数を集計し、ブートストラップ法を用いて95%信頼限界値を算出し、必要な調査努力量を合わせて検討した。

[結果] 農場全体で鳥類18種、哺乳類4種の計22種が撮影記録された。哺乳類では獣道で最も多くの種(4種)が撮影された。その撮影種数は5月～8月に集中し、すべての種において昼間に比べ夜間の撮影枚数が多い結果となった($P<0.05$)。一方鳥類は飼料置場で最も多くの種(9種)が撮影され、2月および3月の寒い時期に種数を確認しやすい傾向が認められた。また、鳥類は夜間に比べ昼間の撮影枚数が有意に多かった($P<0.05$)。調査努力量は、哺乳類で12.5～49.1カメラ日、鳥類で21.6～55.6カメラ日であった。

[考察] 哺乳類では獣道、鳥類では家畜用飼料がそれぞれ誘因となり効率的に撮影されたと考えられた。また動物の撮影時期と時間帯は、種本来の活動パターンが関係していると考えられた。動物の生息確認には、鳥類で60カメラ日、哺乳類で50カメラ日程度の調査努力が必要であると推察された。撮影目的の動物に対する基本的知識を持ち、各農場内で動物種ごとに適した設置場所、調査時間、調査時期および調査努力量の設定が必要であると考えられる。今後本手法の条件をより確実なものにするため、複数農場を対象とした比較調査による評価検討が求められる。

P-63 センサーネットワークシステムを用いた動物の生体情報取得の

可能性

○照屋喬己¹, 平田統一¹, 西 千秋¹, Craig Lyndon², 漆原育子², 佐藤 光², 出口喜隆¹, 松原和衛¹ (¹岩手大農, ²アーズ株式会社)

Possibility of the acquisition of animal's biological information using the sensor network system.

○Motoki Teruya¹, Tohichi Hirata¹, Chiaki Nishi¹, Craig Lyndon², Ikuko Urushibara², Hikaru sato², Yoshitaka Deguthi¹, Kazuei Matubara¹ (¹Faculty of Agriculture, Iwate University, ²AR'S CO.,LTD)

[目的] 野生動物の生態調査は主にラジオテレメトリーを使用して行われている。しかし、ラジオテレメトリーを用いた調査は人力に頼る部分が多く、莫大な時間と労力が必要である。また、従来のGPS首輪を使用した調査方法は、再捕獲や自動脱落装置で脱落させた首輪を回収しデータを得る必要がある。そのため、再捕獲できない、または脱落装置が作動しない等で首輪の回収ができないという大きなリスクがある。本研究では、センサーネットワークを利用した新しい野生動物の観察技術を開発することを目的に、ウシで基礎データを取得し、野生のツキノワグマで応用することを計画した。

[材料及び方法]基礎実験として、岩手大学御明神牧場で飼育している短角牛1頭、黒毛和牛2頭を用い、牧場内に920MHzセンサーネットワーク用基地局を、半径500m以内に4個設置し、膣内インプラントモジュールから1時間毎の膣温データをPC上に自動的に蓄えて、約30km離れた大学研究室で確認できるか試みた。次に、遠野の調査地内の20カ所に基地局を設置し(総延長3.0km, 半径500m)、基地局の500m以内にクマが近づくとロガーに蓄積された生体情報(位置情報と体温)を遠隔地(約70km)で取得できるようにシステムを構築した。岩手県遠野市で捕獲した野生のツキノワグマ1頭に、1時間毎に皮下温度を測定するインプラントモジュールを外科的に両肩甲骨間部皮下筋層上の脂肪層に移植し、GPSモジュールを取り付けた首輪を装着した後放獣した。

[結果] 予備実験では、放牧中のウシの膣内温度(1回/時間)の取得と遠距離送信に成功し、発情前後に見られる温度変化も測定可能であった。遠野での実験は、センサーネットワーク内に放獣したクマが入り、データが送信されてくるのが確認されたが、その後データ送信に失敗した。現在、新たに捕獲を行っている状況である。

[考察] センサーネットワークシステムを利用した野生動物の生態調査は可能であることが示唆された。本システムは時間と労力を大幅に削減できる。また、放牧中のウシの膣内温度を取得でき、さらに発情に関係する温度変化も認められたことから、放牧牛の発情検知に使用可能であることが示唆された。

P-64 宮崎市南部海岸におけるアカウミガメの上陸・産卵・孵化調査

(2012年)

○中林朗, ○渡部千尋, 中島優佳, 前田皓明, 白窪香那, 徳嶺耀子, 山本達哉, 保田昌宏
(宮崎大学 野生動物研究会)

Landing, eggs-laying and hatching investigation of the loggerhead sea turtle in the southern Miyazaki city seashore on 2012

○Aki NAKABAYASHI, ○Chihiro WATANABE, Yuka NAKASHIMA, Koumei MAEDA, Kana SHIRAKUBO, Youko TOKUMINE, Tatsuya YAMAMOTO, Masahairo YASUDA

(University of Miyazaki, Wildlife association)

[目的] 宮崎の海岸には、多くの海ガメが上陸・産卵することが知られている。私たち宮崎大学 野生動物研究会(wildlife association: 通称 wila)は、毎年「NPO 法人 宮崎野生動物研究会」とともに宮崎市周辺の海岸におけるアカウミガメ(*Caretta caretta*)の上陸・産卵・孵化調査を行っている。今回は、2012年度の上陸・産卵・孵化調査の結果および結果の分析を進める過程で見つかった今後の検討課題を報告する。

[材料及び方法] 調査地は宮崎市南部の、こどものくに・運動公園(木崎浜)・松崎の3ヶ所を担当し、5月25日～8月10日の期間で前者2ヶ所は毎週月・木曜日、後者は毎週金曜日の21時より上陸・産卵の確認調査を行った。孵化調査は8月末より10月中旬までの期間に不定期で行い、主に上陸・産卵調査の際に立てた杭を目印とし、孵化跡が見られたか、明らかに孵化予定日を越えている巣を順に掘り出し調査を行った。

[結果] 2012年の各調査地の上陸個体数・産卵率(産卵個体数/上陸個体数)・孵化率(孵化総数/産卵数)は2012年10月15日時点で、こどものくにが、143頭・54.5%・80%(n=37)であり、木崎浜は、181頭・44.8%・94%(n=5)、松崎は184頭・48.9%・孵化率は未集計であった。なお今回の孵化率の結果には、食害による被害は含まれていない。

[考察] 今回、各調査地をエリア分けし、比較してみたところ、流木などのゴミや砂浜が削られたことによってできる段差など、砂浜の環境が上陸個体数や産卵率に影響を与えていることが考えられた。これらの関連性を確かめるために、今後ゴミの量や位置、砂浜の定期的計測を行うなどして、アカウミガメの上陸・産卵・孵化などに環境変化がどのような影響を及ぼしているのかを調査する必要がある。さらに、孵化調査の回収率が低いことが改めて判ったので、2013年以降、早期より定期的に孵化調査を行うなどといった対策が必要とされる。

P-65 終生飼育およびリハビリテーション中の希少猛禽類を活用した 傷病個体の救護，環境治療，教育啓発活動

○齊藤慶輔¹，渡邊有希子¹，角田真穂¹，吉田勇磯¹，武良千里南¹（¹猛禽類医学研究所）

The utilization of lifetime captive or rehabilitating endangered raptors, for the rescue, habitat improvement and educational activities.

○Keisuke SAITO¹, Yukiko WATANABE¹, Maho SUMITA¹, Yuki YOSHIDA¹, Serina MURA¹
(¹Institute for Raptor Biomedicine Japan)

〔背景と目的〕環境省釧路湿原野生生物保護センターには、毎年数多くの希少猛禽類が傷病個体もしくは死体として収容される。加療によって一命を取り留めたものの、後遺症や長期入院による自活能力の低下などにより、野生復帰が困難と判断される個体も少なくない。2003年から2012年までの10年間に救命した希少猛禽類の野生復帰および継続飼育状況を解析（個体数と収容数に対する割合）すると、オオワシ(n=56)：野生復帰 21(37.5%) 飼育中 8(14.3%)，オジロワシ(n=84)：野生復帰 40(47.6%) 飼育中 14 (16.7%)，シマフクロウ(n=20)：野生復帰 4(20%)，飼育中 15(75%) [他施設で飼育中 7羽を含む] となっており、長期間の加療・リハビリテーションや終生飼育を余儀なくされる個体が多数存在する事が裏付けられた。大型猛禽類の場合、飼育施設の許容量や高い QOL の提供に必要な経費と人的資源が不足していることから、野生復帰の見通しが立たない長期療養や終生飼育は、浪費や動物愛護の観点から、市民などから揶揄されることも少なくない。十分な社会的理解とサポートを得ながら、傷病野生動物の救護と野生復帰を行ってゆくためには、個体の状況に十分配慮しつつ、対外的にも理解しやすい「生きる意義」を飼育動物に持たせることが重要である。猛禽類医学研究所では、環境省からの委託事業として実施している希少猛禽類の保護事業において、リハビリテーション中の救護個体および終生飼育個体について、同省の許可を得た上で、他個体の救護、環境治療（人為的傷病原因の軽減・除去を目的に、生息環境を改善する試み）、教育啓発活動等に活用している。

〔方法と結果〕センターで終生飼育もしくはリハビリテーション中のオオワシ、オジロワシ、シマフクロウを、各々の健康状態や身体能力を考慮した上で、種の保存を目的とした各種保全活動への活用を試みている。傷病個体の救護を目的としたものでは、輸血ドナーとしての活用や、野生復帰訓練の際に同種や異種を適宜同居させることにより、飼育ストレスの軽減、危険回避能力の向上、採餌訓練における競合の再現等を試みている。また、環境治療での活用を目的に、被害が確認されている種を用いた感電・交通事故を防止する器具の開発や検証実験、発電用風車との衝突回避を目的とした視認性・忌避試験、養魚場等での溺水事故を防止する器具の開発などを実施している。さらに先天性の形態・行動異常を呈すシマフクロウについては、保護増殖を目的とした繁殖や野生復帰をさせることが困難であることから、飼育ストレスを無くすためにダブルインプリントを施した上で、個体状態に配慮しつつ環境教育に活用している。

〔考察〕野生復帰が困難な個体の存在を広く知らしめるとともに、様々な方法で有効に活用することは、救護活動への理解と環境保全に対する一般市民の意識の向上に大いに貢献する。

P-66 チンパンジー(*Pan troglodytes*)の体毛中コルチゾル濃度に影響を

与える生理・環境要因の検討

○山梨裕美^{1,2}, 森村成樹³, 森裕介¹, 平田聡³, 林美里³, 鈴木樹理³ (¹京都大学野生動物研究センター, ²日本学術振興会, ³京都大学霊長類研究所)

Physiological and environmental factors influencing hair cortisol level in captive chimpanzees (*Pan troglodytes*).

○Yumi Yamanashi^{1,2}, Naruki Morimura³, Yusuke Mori¹, Satoshi Hirata³, Misato Hayashi³, Juri Suzuki³ (¹Wildlife Research Center, Kyoto University, ²Japan Society for Promotion of Science, ³Primate Research Institute, Kyoto University)

[目的] 長期的なストレスは、動物の行動や健康に大きな影響を及ぼすといわれているが、実際にそれを調べたものは少ない。飼育チンパンジーにおいても、ストレスに関連があると思われる行動の変容や、心疾患などの病気などがある。そのため、飼育管理の面からもその評価は重要である。そこで今回、チンパンジーの長期的なストレスを評価する新しい指標として、体毛中コルチゾルに着目した。体毛には数か月程度のコルチゾルが蓄積されているのではないかとされており、長期的なストレスの指標として有効であることが報告されている。しかしチンパンジーにおいては報告がない。そこで今回、チンパンジーにおいてコルチゾル濃度に影響をおよぼす生理・環境要因を検討することを目的とした。

[材料及び方法] 対象は、京都大学霊長類研究所(PRI), 熊本サルクチュアリ(KS), 林原類人猿研究センター(GARI)のチンパンジー50個体である。1つ目の実験では、PRIとKSのチンパンジー24個体(オス14・メス10)を対象とした。腕・脇腹・背中の3か所より体毛を採取した。体部位・毛の長さ・毛色・性別・年齢の影響を検討した。2つ目の実験では、環境による違いを検討するために、PRI・KS・GARIのチンパンジー50個体(オス22・メス28)を対象として、腕の毛を採取した。すべての実験において、対象個体に慣れた人間が、体毛を根本近くからはさみで切り取った。その後洗浄、粉碎、メタノールで抽出したのちに、EIA法で測定をおこなった。

[結果] まず、体毛中コルチゾル濃度は、体部位・毛色により異なった。体部位に関しては、個体ごとに相関はみられたものの、脇腹からのサンプルが他の部位よりも高かった。毛色に関しては、白い毛からの方が黒い毛よりもコルチゾルが高く測定されることがあきらかとなった。毛の長さや年齢、性別などの要因は統計的に有意な影響はなかった。次に、体毛中コルチゾル濃度は、環境・性別により異なった。KSのオスチンパンジーのものが他の個体に比べて有意に高かった。メスチンパンジーには環境による違いがみられなかった。

[考察] チンパンジーにおいて、体毛中コルチゾル濃度が測定できた。体毛中コルチゾル濃度が毛色や体部位により異なることから、サンプルは統一した体部位から収集し、また白い毛を除外することがのぞましいと考えられた。また、体毛中コルチゾル濃度には環境差・性差があることがあきらかとなった。KSでは、群れ環境の変化が他よりも多かったことなどが、今回の結果に影響を与えていたのかもしれない。今後、サンプル数を増やしていくとともに、行動などとの関連を検討していくことで、チンパンジーの長期的なストレスに影響を与える要因について詳細に検討していきたい。

P-67 環境ストレス下動物の生殖機能抑制機序に関する形態機能学的研究

○平野哲史, 小林泰丈, 表原拓也, 辰巳敬哉, 橋本理恵, 梅村ゆりあ, 長原大知, 横山俊史, 北川 浩, 星 信彦 (神戸大・院・農学研究科応用動物学)

Morphological study on inhibitory mechanism of reproductive function in mice under environmental stress.

○Tetsushi Hirano, Yasuhiro Kobayashi, Takuya Omotehara, Atsutoshi Tatsumi, Rie Hashimoto, Yuria Umemura, Daichi Nagahara, Toshifumi Yokoyama, Hiroshi Kitagawa, Nobuhiko Hoshi (Dept. Anim. Sci., Grad. Sch. Agri. Sci., Kobe Univ.)

[目的] 環境中の様々なストレスは免疫系, 自律神経系, 内分泌系, 高次神経系等に広範な影響を与える. また近年, 動物園動物は種々の環境ストレスに暴露されていることが指摘され, ゴリラ等の動物園動物の精巣萎縮や精細管構造の異常による繁殖率低下や, ヒトの不妊における環境ストレスや社会性ストレスの関与が考えられている. しかし, 生殖機能を支配する視床下部-下垂体-性腺 (HPG) 系に対するこれらの環境ストレスの作用機序に関しては不明な点が多い. そこで本研究では, 環境ストレス下のモデル実験として慢性予測不能ストレス (Unpredictable Chronic Stress) に暴露した雄マウスを用い, HPG 系の上流で機能する神経ペプチドであるキスペプチンに着目し, 環境ストレスの影響とメカニズムを検証した.

[材料及び方法] 日本エスエルシー株式会社より購入した 8 週齢の C57BL/6 成熟雄マウスを, 強制水泳, 絶水絶食, 明暗周期変更, ケージ振盪, 濡れ床敷, 群れ変更の軽度のストレスより 1 つを毎日順序無作為に与える慢性予測不能ストレスに 4 週間暴露した. その後, 脳と精巣の重量を測定し, 一般組織学的解析を行うとともに, 視床下部弓状核におけるキスペプチンの発現量変化, ならびに精巣における細胞死を免疫組織化学的に解析した.

[結果] ストレス群において, 脳重量に差は認められなかったが, 精巣重量は対照群と比較して有意に減少した. ストレス群の脳では, 視床下部弓状核における神経細胞体の大きさ, 形状, 細胞密度, 配列に差はみられなかったが, キスペプチン陽性反応は対照群と比較してわずかに減弱した. ストレス群の精巣では, 生殖細胞数減少による精上皮の菲薄化, 生殖細胞の変性による多核巨細胞の出現, 細胞死を起こした ssDNA 陽性細胞の増加等の精巣毒性所見が観察された.

[考察] キスペプチン陽性反応の減弱は, 副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン, グルココルチコイド等のストレスホルモンが環境ストレスにより慢性的に分泌増加したことによると推察された. また, これによりキスペプチンの下流の GnRH, さらに精子形成や精巣の機能維持に必要な FSH, LH の分泌低下が引き起こされ, 精巣における生殖細胞の減数分裂が正常に進行せず, 細胞数が減少したと考えられた. 以上のことから, 環境ストレスは成熟雄マウスの生殖機能に影響を及ぼし得ることが明らかになった.

P-68 鯨類及び鰭脚類の肝臓における CYP1A2 及び CYP3A4 の発現局在

○渡邊奈都美¹, 川村芳朗², 岩尾一³, 角川雅俊⁴, 栗山未来⁵, 谷山弘行^{1,2}, 岡本 実^{1,2}
(¹酪農大・獣医感染病理部門, ²酪農大大学院・獣医学研究科獣医病理, ³新潟市水族館, ⁴小樽水族館, ⁵登別マリパークニクス)

Localization of cytochrome p450 superfamily of enzymes (CYP1A2 and CYP3A4) in the liver of cetaceans and pinnipeds

○Natumi WATANABE¹, Yoshio KAWAMURA², Hajime IWAO³, Masatoshi TSUNOKAWA⁴, Miki KUWAYAMA⁵, Hiroyuki TANIYAMA^{1,2}, Minoru OKAMOTO^{1,2}.

(¹Department of Veterinary immunopathology, School of Veterinary Medicine, Rakunogakuenn University, ²Department of Veterinary pathology, Graduate School of Veterinary Medicine, Rakunogakuenn University, ³Niigata City Aquarium, ⁴Oter Aquarium, ⁵Noboribetsu marine park nixe)

[背景] 通常我々は多くの海棲哺乳動物の疾患を病理学的に診断しているが、治療を施す場合に種差が問題となる。薬物投与経路選択もその一つで、肝代謝を考慮する必要がある。鯨類の肝臓では cytochrome P450 による薬物代謝が発達していないとされているが、このような宿主側要因については未解明な部分が多い。本研究では、鯨類のマイルカ科、ネズミイルカ科、鰭脚類のアザラシ科、アシカ科の肝臓におけるシトクローム P 450 の CYP1A2 と CYP3A4 の発現局在を免疫組織学的に検討した。[材料・方法] 鯨類のマイルカ科 19 例、ネズミイルカ科 5 例、鰭脚類のアザラシ科 20 例、アシカ科 14 例（アシカ属 4 例、オタリア属 3 例、オットセイ属 2 例、トド属 5 例）の肝臓パラフィン包埋切片を用いた。免疫組織酵素化学的染色には抗 CYP1A2 抗体、抗 CYP3A4 抗体を用いた ABC 法を行った。[結果] CYP1A2 は、太い門脈血管に接する肝小葉限界板肝細胞で強く陽性像を示した個体がマイルカ科（19 検体中 0 検体：以下 n=0/19 と記載）、ネズミイルカ科（n=1/5）、アザラシ科（n=0/20）、アシカ科（n=10/14）であった。小葉内 Zone I から Zone III に瀰漫性に陽性像を呈した個体はマイルカ科（n=4/19）、ネズミイルカ科（n=3/5）、アザラシ科（n=12/20）、アシカ科（n=10/14）であった。CYP3A4 は、マイルカ科が陰性（n=0/19）、ネズミイルカ科が Zone I から Zone II に陽性（n=1/5）であった。アザラシ科は太い門脈に接する肝小葉の Zone I あるいは II まで弱陽性（n=4/20）、残りの個体は陰性（n=16/20）であった。アシカ科では、Zone I から Zone II あるいは III に瀰漫性の陽性（n=5/14）、Zone III にのみ弱陽性（n=6/14）で、残りの個体は陰性（n=3/14）であった。アシカ科の CYP3A4 の染色性に関する内訳は、トド属は陰性（n=2/5）、Zone III のみ弱陽性（n=3/5）で、オタリア属では Zone III のみ弱陽性（n=3/3）であった。[考察] 各科の CYP1A2 と CYP3A4 の肝臓組織における発現局在が示され、その発現には個体差があり発現誘導あるいは減弱が同一科で見られることが明らかとなった。またアシカ科オタリア属の CYP3A4 は肝小葉中心部にのみ発現しており、血流を考慮すると特筆すべきものと思われた。

P-69 飼育下インドゾウの夜間における睡眠行動と各種環境要因との関係

○金澤朋子¹, 尹政相^{1,3}, 木倉有佳里¹, 馬場真裕美¹, 辻井花菜¹, 半澤紗由里², 村田浩一¹ (¹ 日本大学野生動物学, ² 横浜市立金沢動物園, ³ ソウル動物園)

Relationship between sleeping behavior and environmental factors in captive Indian elephants

○Tomoko Kanazawa¹, Jung Sang Yun^{1,3}, Yukari Kikura¹, Mayumi Baba¹, Kana Tujii¹, Sayuri Hanzawa², Koichi Murata¹ (¹Laboratory of Wildlife Science, Nihon University, ² Kanazawa Zoological Gardens, ³ Present : Seoul Zoo)

〔背景及び目的〕睡眠は生存に必須の行動であり、その量および質が不十分な場合、生体機能の劣化を起こすため、十分に留意すべき行動であるといえる。多くの飼育下動物で睡眠は夜間に行われることが多いと報告されているが、行動観察研究は昼間に行われることが多く、夜間行動に関する報告例は限られている。そこで本研究では、飼育下インドゾウを対象として夜間における行動観察を行い、睡眠の行動量と気温や湿度等の各種環境要因との関係について調べた。

〔材料及び方法〕横浜市立金沢動物園で飼育管理されているインドゾウ (*Elephas maximus indicus*) 2 個体 (雄 1 個体, 雌 1 個体) を供試した。観察期間は 2011 年 4 月から 2013 年 4 月までとした。観察方法は、2 か所の屋内飼育場にビデオカメラを各 1 台設置し、屋内収容後の 17 時から開放前の翌朝 8 時までの 1 日 15 時間の行動を録画した映像から睡眠の行動を解析した。対象個体が横臥位の姿勢を取った場合を、他の大型動物での報告に従い睡眠と定義した。睡眠が初めて見られた時刻を就寝時刻、最後に見られた時刻を起床時刻とした。また、日の出日の入り時刻は国立天文台の情報を参照し、気温および湿度は飼育場内にデータロガー (HOBO Pro v2) を設置し測定した。

〔結果〕本研究では目の動きや眼球運動は確認出来なかったが、睡眠の行動には一定の傾向が認められた。雌個体の 1 日の睡眠時間は 4 時間 44 分 \pm 1 時間 3 分 (平均 \pm 標準偏差) であり、季節による差は認められなかった。1 回の睡眠時間は 1 時間 28 分 \pm 0 時間 27 分であり、1 日に平均 2.5 回繰り返された。就寝時刻は、18 時台から午前 2 時台と幅が広く、季節間で有意な差は認められなかった ($P=0.07$)。一方、起床時刻は午前 2 時台から午前 6 時台であり、季節間で差が認められ ($P<0.003$)、日の出時刻と高い正の相関が認められた ($r=0.43, P<0.01$)。屋内飼育場内の気温および湿度と総睡眠時間、就寝時刻、起床時刻との間には相関が認められなかった ($P>0.01$)。

〔考察〕野生のゾウは、睡眠を 1 日に 3.4~4.8 時間とると報告されており、本対象個体も同様の結果となった。睡眠の質は、昼夜変化や季節変動などと対応することが認められている。本対象個体も起床時刻が夏季に早まり、冬季に遅くなる同様の傾向を示した。就寝時刻の変動は大きかったが、顕著な傾向は認められなかった。睡眠の乱れは全身倦怠、食欲不振、気分の変調など様々な症状を引き起こすため、飼育下動物の管理では、昼間のみならず夜間の行動にも留意することが重要であると考えた。

P-70 飼育下インドゾウの環境エンリッチメント～給餌回数と給餌内

容の変更による行動量変化について～

○辻井花菜¹，金澤朋子¹，半澤紗由理²，村田浩一¹（¹日本大学野生動物学，²横浜市立金沢動物園）

Environmental enrichment in captive Indian elephants (*Elephas maximus indicus*): Changes of activity by modified feeding time and menu

○Kana Tsujii¹，Tomoko Kanazawa¹，Sayuri Hanzawa²，Koichi Murata¹（¹Laboratory of Wildlife Science, Nihon University, ²Kanazawa Zoo City of Yokohama）

〔背景及び目的〕1日の70%以上を餌の摂食や探索行動に費やす野生ゾウに対して、飼育下ゾウのそれは一日の中でわずか30%程度であると報告されている。そのため、多くの動物園では採食行動の延長を目的として様々なエンリッチメントが試みられてきた。しかし、動物園間で類似した採食エンリッチメントを実施しても、異なる結果が得られている。これらの違いが個体差に起因するのか、それとも方法の違いに起因するのかを評価するため、本研究では、同一施設内で飼育されているインドゾウ2個体に対して給餌回数と給餌内容に変更を加え、個体間での効果の相違を行動学的に明らかにすることを目的とした。

〔材料及び方法〕対象動物は、横浜市立金沢動物園で飼育されているインドゾウの雄1個体と雌1個体とした。2012年7月2日から同年8月31日の間、屋外展示場にCCDカメラを1台設置し12時から16時の1日4時間、対象個体の行動を記録した。行動解析は、連続サンプリング法を用いて「操作」・「常同行動」・「移動」・「その他」に分類し、さらに「操作」を「採食」・「探索」・「その他」と細分化した。実施内容は、通常：チモシー2kgを2回給餌，試験①：チモシー1kgを4回給餌，試験②：竹6kgを2回給餌，試験③：竹3kgを4回給餌とした。給餌時間は、2回給餌では11:40と14:30とし、4回給餌では11:40と13:30，14:30，15:00とした。

〔結果〕採食の行動量は、雌で試験③>試験②>通常>試験①の順に高く、特に試験③は通常に比べ行動量が有意に多い結果となった（ $P<0.01$ ）。一方雄では、試験②>試験③>試験①>通常に多く、特に試験②と試験③は通常に比べ有意に多い結果となった（ $P<0.01$ ）。採食時間は、チモシーを給餌した場合は雌では17～21分、雄では9～17分であったが、竹を給餌した場合は、雌で15～49分、雄で40～54分と、後方で約4～5倍延長された。また、常同行動量は、雌で試験②において通常よりも有意に少ない結果となったが（ $P<0.05$ ）、雄では減少が見られなかった。

〔考察〕竹の給餌は、雌雄共に採食に費やす時間を延長させる方法として有効であると考えた。雌においては、常同行動の減少も確認されたことから、竹を用いた採食エンリッチメントの有効性が示唆された。しかし、給餌回数の効果においては雌雄で異なり、個体に応じたエンリッチメントが必要であると考えた。

P-71 飼育下フランソワルトンの行動割合

○堀千夏¹, 金澤朋子¹, 川口芳矢², 横田真啓², 村田浩一¹

(¹日本大学野生動物学, ²横浜市立よこはま動物園)

Time budgets of Francois's langur (*Trachypithecus francoisi*) in captivity

○Chika Hori¹, Tomoko Kanazawa¹, Yoshiya Kawaguchi², Masahiro Yokota², Koichi Murata¹

(¹Laboratory of Wildlife Science, Nihon University, ²Yokohama Zoological Gardens)

〔背景と目的〕フランソワルトン (*Trachypithecus francoisi*) は、「葉食者 (leaf eater)」と総称されるコロブス亜科のサルの仲間である。彼らの野生下における行動内容や行動割合に関する報告は少なくない。しかし、原産地とは気温や生息環境さらに餌内容も異なる飼育下での行動割合に関する報告例は少なく、とくに国内のフランソワルトンの行動割合やその季節変化はまったく知られていない。そこで本研究では、国内で飼育管理されているフランソワルトンを対象に日中の行動割合および季節に伴う行動変化を明らかにし、本種の飼育管理に役立てることを目的とした。

〔材料と方法〕2012年8月～2013年6月の間、横浜市立よこはま動物園で飼育されているフランソワルトンの雄雌各1個体の計2個体の行動を観察した。方法は、午前9時～12時の間、1分間隔の瞬間サンプリング法による直接観察であった。エソグラムは、採食、休息、飲水、移動、探索、毛繕い、繁殖行動、その他の8つに分類した。観察期間中の気温は、屋外展示場にデータロガー (U23-001, Onset 社) を設置し自動測定記録した。

〔結果〕各行動の1日の行動割合は採食が $21.0\% \pm 5.6$ (平均 \pm 標準偏差)、休息が $58.4\% \pm 9.6$ 、飲水が $0.3\% \pm 0.4$ 、移動が $2.4\% \pm 1.1$ 、探索が $2.0\% \pm 2.0$ 、毛繕いが $15.2\% \pm 7.2$ 、繁殖行動が $0.2\% \pm 0.4$ 、その他が $0.4\% \pm 0.5$ であった。このなかで特に採食と休息で大きな変化が見られた。採食は各月間で行動割合に差が認められ、10月は他の月に比べ顕著に高い結果となった ($P < 0.001$)。また、休息の行動割合は他の行動に比べ有意に高い結果となった ($P < 0.001$)。さらに休息は気温との間に負の相関が認められた ($r = -0.5472$, $P < 0.01$)。

〔考察〕10月は冬季に落葉するサクラとヤナギの給餌を止める時期であり、古い葉が混在していた。野生ニホンザルでは食物のカロリー含量が低下すると採食時間が長くなることが知られており、本観察対象種の採食行動割合の増加も同様の理由によるものと考えた。日中の休息割合は、野生個体で観察されている値 (51.5%) と比べ同等であった。一方、気温と休息割合に負の相関が認められた。熱帯域の哺乳類では $25 \sim 30^\circ\text{C}$ 以下で体温調節のためにエネルギー消費が増加し、野生ニホンザル (*Macaca fuscata*) では気温が低下すると移動や採食行動を減らしてエネルギーを節約するという報告もあることから、本観察対象個体も気温低下に対応して休息行動量が増加したと考えられた。本研究結果から、鮮度の低い葉を給餌する時季にはペレット等でカロリーを補給し、気温が低下する時季には飼育展示施設を加温する必要があると考えた。

P-72 大型類人猿情報ネットワーク (GAIN) の活動紹介 : WEB による

情報発信と遺体の有効活用

○綿貫宏史朗¹, 落合知美¹, 西村剛¹, 今井啓雄¹, 伊谷原一², 友永雅己¹, 松沢哲郎¹ (¹ 京都大学霊長類研究所, ² 京都大学野生動物研究センター)

Information transmission on the Web and effective utilization of the dead apes by Great Ape Information Network (GAIN)

○Koshiro Watanuki¹, Tomomi Ochiai¹, Takeshi Nishimura¹, Hiroo Imai¹, Gen'ichi Idani², Masaki Tomonaga¹, Tetsuro Matsuzawa¹ (¹ Primate Research Institute, Kyoto University, ² Wildlife Research Center, Kyoto University)

[目的] 「大型類人猿情報ネットワーク (GAIN)」は、文部科学省「ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP)」の一環として、2002年より活動を始めた。飼育個体の福祉と保全の推進や日本における類人猿飼育の情報蓄積、正確な個体群動態の把握などを目的に、国内飼育下の類人猿に関する個体情報を収集、管理している。情報のリアルタイムでの発信や、飼育個体が死亡後の遺体の有効活用の推進により、研究利用発展のための研究者と飼育施設とのネットワーク構築も目的としている。

[材料及び方法] これまでに日本で飼育されたすべての類人猿 (チンパンジー, ボノボ, ゴリラ, オランウータン, テナガザル) の個体を対象とし、情報収集をおこなっている。日本動物園水族館協会より提供を受けたチンパンジー, ゴリラ, オランウータン, テナガザルの国内血統登録書をベースに、全国の飼育施設への訪問や資料収集により得た情報, リアルタイムで寄せられる情報を加え、作成している。収集した情報は、種や個体ごとのデータベースに登録し、最新の情報を WEB サイト (<http://www.shigen.nig.ac.jp/gain>) で公開している。飼育施設から寄贈された試料は、WEB サイトから登録可能な GAIN 登録研究者に対し、京大霊長類研究所「共同利用・共同研究拠点制度」のもとで利用可能としている。

[結果] チンパンジー326 個体, ゴリラ 25 個体, オランウータン 47 個体, テナガザル 161 個体が日本国内で飼育されており (2013年6月28日現在), 過去の飼育個体も含め, リアルタイムの個体情報を WEB で公開している。遺体の有効活用について, 2012年度中は動物園などで 19 個体の類人猿の死亡例があったうち, 11 個体について GAIN に提供を受けた。2013年2月4日に姫路セントラルパークで死亡したチンパンジー (ユウタ, オス, 24 歳) の例では, 死亡当日に GAIN 連絡を受け, 遺体と臓器の提供を受けた。霊長研に搬入後, 内臓等は 3 名の研究者に配布された。今後, 筋骨格系の解剖や, CT 撮影なども予定されている。遺体の活用による研究の成果は, 霊長類ゲノムデータベース (京大 GCOE) やデジタル形態博物館 (京大霊長類研究所) ともリンクし, 個体情報のさらなる充実も進めている。

[考察] GAIN において統合, 処理された情報は, 飼育や研究のための資料として重要なだけでなく, 個体群の維持管理や動物福祉の推進にも貢献すると期待される。野生動物医学の分野でも, GAIN の情報や制度がいつそう活用されることを期待し, 活動紹介として発表したい。

P-73 イワトビペンギン (Rockhopper Penguin) 鳥マラリア症の2例

○坂本寛之¹, 渡邊奈都美¹, 角川雅俊², 栗山未来³, 岩尾 一⁴, 岡本実¹

(¹酪農学園大学・獣医感染病理部門, ²小樽水族館, ³登別マリンパークフェニックス, ⁴マリンピア日本海)

Bird malariosis in two Rockhopper Penguins

○Hiroyuki Sakamoto¹, Natsumi Watanabe¹, Masatoshi Tsunokawa², Miku Kuwayama³, Hazime Iwao⁴, Minoru Okamoto¹(¹Department of Veterinarian Immunopathology, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, ²Otaru Aquarium, ³Noboribetsu Malin park phoenix, ⁴The Malinpea Sea of Japan)

[背景] 鳥マラリア症は、住血胞子虫類の *Plasmodium* 属の原虫による感染症である。ペンギンや猛禽類では重症化することがあるとされているが、鶏や野生下のカラス、スズメ目の鳥類のように軽症あるいは不顕性感染個体も多く存在しており、鳥マラリア症を診断する上で注意を要する。そこで今回鳥マラリア症と診断されたイワトビペンギン2例の肉眼および病理組織学的特徴の観察点について提示する。

[症例] 2羽とも登別マリンパークフェニックス飼育下のイワトビペンギン(3歳齢ならびに7歳齢、両検体とも雄)である。両検体は死亡数日前から給餌の接近をしなくなっていた。換羽期は各々8月下旬と9月上旬であり、換羽後の約1カ月目である9月下旬および10月上旬に死亡した。肉眼観察後の全身諸臓器は定法に従って病理組織学的検索に供した。また血液塗抹標本のライトギムザ染色を検索に用いた。

[結果] 肉眼所見：両検体において、緑色便により総排泄口周囲羽毛が汚濁していた。心肥大及び漿液性心外膜炎により心嚢液が貯留しており、肺は充血と水腫が見られた。また、肝臓と脾臓の腫大が顕著だった。組織所見：心筋線維径は厚く心筋長は長い肥大がみられた。軽度の散在性非化膿性心筋炎、心内膜炎、心外膜炎がみられた。肝臓では肝小葉内及び辺縁で散在性に微小壊死と軽度単核球浸潤がみられ、軽度門脈炎もみられた。また肝細胞やクッパー細胞に褐色あるいは黄褐色色素(ヘモジデリン)が重度沈着しており、内皮細胞あるいはクッパー細胞内に *Schizont* 寄生がみられた。また毛細胆管拡張し、小葉間胆管内胆汁色素がみられた。脾臓では微小壊死並びに線維化を呈しており、ヘモジデリン沈着が重度に認められた。肺では充血しており、微小壊死と血管内皮細胞への *Schizont* 寄生がみられた。脳ではグリア結節が散在しており、一部で *Schizont* 寄生がみられた。血液塗抹のギムザ染色では、網状赤血球の出現が多数観察された。また赤血球内に *Trophozoite* 形態を示す原虫や *Gameteocyte* 形態の原虫寄生が見られた。特に原虫寄生とともに細胞質内に屈折性褐色色素があり、赤血球長軸に対し核が垂直配列している赤血球もみられた。

[考察] 血液塗抹、肉眼及び組織所見は過去に報告されている鳥マラリア症に類似していた。心筋肥大が頻発するとされているが、この肥大心筋は今回の組織学的検索で求心性心筋肥大であったことからその原因の一つである貧血は、血液塗抹および重度ヘモジデリン沈着を考慮すると妥当であると思われた。

発表者名簿

名前	発表番号	名前	発表番号
Alexander Weiss	P-55	伊藤琢也	P-2, P-54
Craig Lyndon	P-63	伊藤英之	P-8, P-55
Eric Tsai	P-56	伊藤二三夫	O-24, P-8, P-55
Mohie Haridy	P-32	井上英治	P-55
Walied Abdo	P-32	井上雅子	P-58
WAMC 運営委員 会	O-26	井上-村山美穂	O-24, P-55
饗場 春留果	P-22	今井啓雄	O-20
藍原祥子	P-18	今岡浩一	P-37
赤荻周悟	P-59, P-60	今川智敬	P-18
明石富美子	P-1	今西 亮	P-8
明里宏文	O-13	岩尾 一	O-25, P-17, P-68, P-73
秋川貴子	P-11	岩田紗穂	P-54
秋葉悠希	P-44	岩渕 真奈美	P-22
秋葉由紀	P-13	岩見恭子	P-16
浅川満彦	O-4, O-7, O-8, O-16, O-26, P-44, P-45, P-46, P-47, P-48, P-51, P-52	上坂友香里	P-56
浅野 玄	P-42	上田亜希子	O-5
東野晃典	O-6	上田謙吾	O-5
足立 樹	P-10, P-13	植田美弥	O-6
穴見浩志	O-24	牛山喜偉	P-45
阿部 永	P-49	宇根有美	O-1, P-34
阿部慎太郎	P-39, P-40	梅村ゆりあ	P-67
尼崎 肇	P-21	瓜田千帆子	P-52
飯間裕子	P-58	漆原育子	P-63
池田彩花	P-62	遠藤智子	P-2
池田直弥	P-33	遠藤大二	O-7, P-52
池辺祐介	O-18	遠藤秀紀	P-16
伊吾田宏正	P-14	遠藤優里	P-40
石井奈穂美	O-9, P-48	近江俊徳	O-9, P-48
石上暁代	P-28	大石元治	P-21
石川 創	P-12	大川あゆ子	P-44
石橋佐和子	P-41	大治和久	P-1
泉谷秀昌	P-40	大島由子	P-1, P-52
伊谷原一	O-24	大隅清治	P-12
井出哲哉	P-49	大沼 学	O-7, O-21, P-53
伊藤 綾夏	P-50	大野智恵子	O-4
伊藤このみ	P-1	大橋真吾	P-59
伊東隆臣	P-1, P-43	尾形光昭	P-53
伊藤考良	P-41	岡田 彩	P-11

名前	発表番号	名前	発表番号
岡田あゆみ	P-19, P-31	川村誠輝	P-55
岡谷友三	P-34	川村芳朗	P-68
岡林佐知	O-4	川本 芳	O-9
岡本匡道	P-1	木倉有佳里	P-69
岡本 実	P-1, P-17, P-25, P-26, P-27, P-29, P-44, P-68, P-73	岸本海織	P-57
岡本宗裕	O-13, O-20, P-48	岸本真弓	O-11
小川由華	P-3, P-4, P-10	北川 浩	P-18, P-67
長 雄一	O-7, O-16, P-61	北田祐二	P-8
尾崎清和	O-5	北村延夫	P-12, P-14, P-16
尾崎慧亮	P-25, P-26	北山知代	P-12
尾崎康彦	O-24	木下こづえ	O-24
小山内佑太	O-7, P-52	久保正仁	P-24, P-30
落合和彦	O-9	キム ヨンジュン	P-50
小野文子	O-4	木村悟志	P-42
小野友梨子	P-5	木村順平	P-50
表原拓也	P-18, P-67	木村昌伸	P-37
織間博光	P-3	楠田哲士	P-6, P-7, P-9, P-11, P-13
恩田紀代子	P-43	楠比呂志	O-23
灰谷 慈	O-18	國吉沙和子	P-13
梶 光一	P-14	倉石武	P-30
片山亨輔	P-44	栞山未来	P-68, P-73
可知正行	P-1, P-26	鯉江 洋	O-22, P-23
葛谷勇人	P-62	香坂美和	P-9, P-11
加藤卓也	O-9, P-33	神津善広	O-5
角川雅俊	P-29, P-68, P-73	古賀公也	P-58
門平睦代	O-4	越野慶太	P-53
金澤朋子	P-69, P-70, P-71	小寺祐二	O-4
金山喜一	P-23	小林甲斐	P-33
兼子明久	O-20, P-28	小林すみよ	P-15
鎌田康宏	O-3	小林泰丈	P-18, P-67
釜鳴宏枝	P-8	小林由紀	P-2, P-54
亀崎直樹	P-18	小藤田久義	P-59, P-60
茅野裕樹	O-22	小松 守	P-59
川上壮太郎	P-10	小宮直孝	P-25, P-27
川上博司	O-3	小村 圭	P-55
川口芳矢	O-6, P-71	今野文治	O-9
川瀬啓祐	P-16	斎藤憲弥	P-59
川端寛樹	P-37	斎藤波子	P-28
河原 淳	P-47	齊藤 暁	O-13
河村芳朗	P-29	齊藤慶輔	O-10, P-65

名前	発表番号
千葉暁允	P-39, P-40, P-41, P-62
陳 忠正	P-57
津郷孝輔	O-1
津郷孝輔	P-34
辻井花菜	P-69, P-70
辻本恒徳	P-59
土田修一	O-9
筒井敏彦	P-3, P-4
坪川桂子	P-8
坪田敏男	O-20, P-15
津森 雄太	P-22
出口喜隆	P-59, P-60, P-63
寺沢文男	O-22
寺田 豊	O-18
照屋喬己	P-63
土井 守	P-6, P-7, P-9, P-10, P-13
徳嶺耀子	P-20, P-64
戸田克樹	P-55
永尾英史	P-6
長尾充徳	P-8
中岡里江	O-14, O-17
中川大輔	O-23
中嶋朋美	P-24
中島優佳	P-64
中島友紀	O-21
中西せつ子	O-9, P-48
永野昌志	O-20, P-15
中林 朗	P-64
長原大知	P-67
中牟田信明	P-20
中村進一	O-1
仲屋友喜	O-14
名切幸枝	O-9, P-48
那須哲夫	P-20, P-22, P-50
成松浩志	O-4
成島悦雄	P-3, P-4
西海 功	P-16
西澤郁夫	O-23
西 千秋	P-59, P-60, P-63
西村貴志	O-12, P-56

名前	発表番号
野一色香織	P-37
能田 淳	O-8
野上貞雄	P-37
野口慧多	O-18
野田亜矢子	P-34
野中成晃	P-50
野々上範之	P-34
野元 武	P-55
橋川 央	P-55
橋本理恵	P-67
橋本 涉	P-10
畑 明寿	P-36
服部正策	P-30
馬場真裕美	P-69
濱田 穰	O-11
濱野剛久	P-37
濱野正敬	O-4
早川大輔	P-14, P-24
林 美里	P-66
林谷秀樹	O-1
羽山伸一	O-9, P-33, P-48
半澤紗由里	P-69, P-70
檜垣彰吾	P-5
平田 聡	P-66
平田統一	P-63
平野哲史	P-67
平山琢朗	O-16, P-52
広谷浩子	P-23
福井 豊	P-12
福本幸夫	P-45
福守 朗	P-55
藤井 啓	O-7, P-61
藤岡康弘	P-5
藤田志歩	P-8, P-55
藤谷 登	P-36
船崎正治	O-3
舟橋 昂	P-6, P-13
古濱和久	P-57
北條 涉	O-12
星野重樹	O-14

名前	発表番号	名前	発表番号
星 信彦	P-18, P-67	村井仁志	P-6, P-7, P-13
堀田裕子	P-11	村田浩一	P-38, P-39, P-40, P-41, P-62, P-69, P-70, P-71
堀内郁恵	O-22	木仁	P-9
堀口政治	P-7	茂越敏弘	P-12
堀 達也	P-3, P-4	本井祐太	P-42
堀 千夏	P-71	百瀬邦和	P-58
堀 秀正	P-7, P-10	森 昇子	P-51
堀 泰洋	P-9	森田哲夫	P-22
本間早紀	P-38, P-39	森田不二子	P-34
前田 健	O-4, O-18	森部絢嗣	P-42
前田皓明	P-64	森 誠	O-3
前田亮平	P-6	森村成樹	P-66
松石 隆	P-19	森元萌弥	P-42
松井由希子	P-10	森 裕介	P-66
松田純佳	P-19	矢沢圭佑	P-59
松永雅之	O-24, P-55	保田昌宏	P-20, P-22, P-50, P-64
松原和衛	P-56, P-59, P-60, P-63	安永純一郎	O-13
松本文雄	P-58	柳井徳磨	O-3, P-32, P-37
松本令以	P-23, P-53	柳川洋二郎	O-20, P-15
松山 薫	P-6	柳澤牧央	P-2
松山亮太	P-42	山内信弥	P-35
三浦智行	O-13	山極壽一	P-8
水野恵理子	O-21	山口敏朗	P-57
溝口俊夫	P-32	山下真路	O-12, P-18, P-59
三田さくら	P-53	山田亜紀子	O-3
道脇愛子	P-36	山田一孝	P-57
光田智裕	O-8	山田智子	O-16
三觜 慶	P-45, P-47, P-48	山中淳史	P-28
湊 秋作	P-22	山梨裕美	P-66
南 心司	P-34	山本彩織	P-7
南寿美子	P-26, P-27	山本達哉	P-64
三根佳奈子	P-18	山本 博	P-36
箕浦由樹	P-36	山本藤生	P-3, P-4
三村春奈	P-19, P-31	山本裕己	O-24, P-8, P-55
宮崎雅雄	O-12	尹政相	P-69
宮沢孝幸	O-13, O-14, O-17, O-19	横田真啓	O-6, P-71
宮下 実	P-31	横畑泰志	P-49
三好亮輔	P-14	横山俊史	P-18, P-67
武藤優貴	O-22	吉川泰弘	O-4
武良千里南	O-10, P-65	吉川禄助	O-13, O-14, O-17, O-19

名前	発表番号
吉崎友紀	P-6, P-13
吉澤聡吾	P-1
吉澤 円	P-3
吉澤未来	P-24
吉田翔太	P-24
吉田剛司	P-46
吉田勇磯	O-10, P-65
米澤彩	O-1, O-23
渡邊朗野	P-28
渡邊奈都美	O-2, P-1, P-26, P-29, P-68
渡邊舞菜弥	P-34
渡邊有希子	O-10, P-65
渡辺洋子	P-48
綿貫宏史朗	P-72
渡部大介	P-53
渡部千尋	P-64