

## 在来両生類の保全に影響する因子に関する研究

宇根有美（岡山理科大学）

国末達也（愛媛大学）

田中邦明（北海道教育大学）

北村真一（愛媛大学）

### 【背景と研究目的】

現在、世界には約 6,500 種の両生類が生息しているとされているが、2010 年の国際自然保護連合の集計によると、その 3 分の 1 が絶滅の危機にあるとしている。両生類の個体数および種数の減少は急激で、ある推計によると 1980 年以降 122 種が絶滅したと考えられている。減少の原因として、生息地の破壊、環境汚染、気候変動、有害紫外線、感染症、採取圧および外来種による捕食などが考えられている。しかし、両生類減少の原因がすべて明らかにされたわけではない。

国内では、2006 年 12 月世界各地で猛威をふるったカエルツボカビが初めて発見されたが、その後の研究で、現時点では日本在来種への影響はほとんどないことが明らかにされた。一方、カエルツボカビと同様に両生類の個体数減少の原因の 1 つであるラナウイルスが、野生下両生類の大量死事例として西日本の 8 カ所で確認された。さらに、いくつかの飼育下両生類群の全滅にも関与した。そこで、我々は、ラナウイルスの自然界における維持形態を明らかにし、在来種へのリスクを評価するために、2011 年から 2013 年まで定点で季節変動および保菌率の推移、また、国内分布を把握するため、2014 年 28 カ所で両生類を採取、検索した。その結果、すべての定点で保菌率が上昇し、さらに、28 カ所すべてからラナウイルスを検出した。このような同時多発的な保菌率の上昇の機序として、ラナウイルスキャリアーの侵入と拡散や、両生類のラナウイルス感受性の上昇（免疫抑制）などが考えられた。特に、時期を同じくして、国内広範囲にみられたことから、動物に免疫抑制を起こすような環境因子の関与も疑われる。

本研究の目的は、ラナウイルスの自然界における有り様の変化がどのような機序で生じるのか、その原因を多角的に検索し、究明すること。併せて個体数が減少している両生類についても、影響し得る環境因子を化学的、

疫学的、病理学および微生物学的に解析して、原因を解明し、これらの両生類の種の保全に貢献することである。

#### 【研究内容】

- 1) ラナウイルス保有状況に影響を与える可能性のある因子の検討  
ラナウイルスを保有しているカエル（群）と、保有していないカエル（群）を対象として、ネオニコチノイド系農薬とその代謝物を測定する。
- 2) 両生類を用いた環境免疫毒性評価系の確立  
ラナウイルス感染症の流行や保有率の変化に、環境因子（化学物質など）の慢性的な暴露に起因する両生類の免疫系の機能不全が考えられることから、ラナウイルスとカエルを用いた評価系を確立する。具体的には、ラナウイルス 2 株（RCV,HNV）の LD50 の条件を明らかにして、この評価系を用いて各種環境因子の作用がラナウイルスの感染病態にどのような影響を与えるかを評価する。併せて宿主の免疫状態も検討する。
- 3) 野生下カエルの大量死事例、異常死事例の解析  
国内では、しばしば両生類の大量死や不審死が観察されている。これらの症例を病理学的、微生物学および疫学的に検索して、死亡原因と、環境因子との関連を明らかにする。

#### 【研究成果】

- 1) ラナウイルス保有状況に影響を与える可能性のある因子の検討  
ラナウイルスを保有していないヌマカエル群と保有しているヌマカエル群のプール検体を作成して、ネオニコチノイド系農薬（アセタミプリド、ジノテフラン、イミダクロプリド、クロチアニジン、ニテンラムチアクロプリド、チアメトキサム）を検索したが、両群から検出されなかった。分析は三重県環境保全事業団に依頼した。
- 2) 両生類を用いた環境免疫毒性評価系の確立  
人工繁殖 *Ceratophrys cranwelli* クランウェルツノガエル Cranwell's horned frog（幼体、体重 10g 前後）に RCV と HNV のウイルス株を体腔接種した。現在のところ発症個体はなく、経過観察中である。
- 3) 野生下カエルの大量死事例、異常死事例の解析

①埼玉県のあるエリアでヒキガエルの散発的不審死が確認され、病理学的検査の結果、口腔内寄生虫 (*Amphibiocapillaria* sp) の濃厚感染による死亡であることが明らかになった。数年前から同様の症状を示す個体が確認されていることから、疫学的調査を行ったが、本カエルの生息域の分断化と縮小以外の因子は確認できなかった。

②北海道のある地域の遊水地で、高度の腹囲膨満を示すアズマヒキガエル幼生 (図) が大量発生し、死亡するという異常死が発生した。同様の大量死は 2015 年から確認されており、2 年にわたり検索したところ、腹囲膨満は高度の腹水貯留によるもので、腹水のアンモニア濃度は  $1,000 \mu\text{g}/\text{dl}$  であった。各種病原体検査と病理学的検索をしたところ、ラナウイルスの感染はなく、原虫と寄生虫の感染を確認したが、2 年連続して一貫して観察される病変はなかった。そのため、疫学調査を行ったところ、遊水地の上流に放牧地と大規模肥育牛生産農家の畜舎があり、本遊水地は近隣の水を引き込み浄化する目的で造成されたもので、無機窒素のレベルが極めて高いことが明らかになった。



そのため、幼生生息地の環境水の高窒素レベルが体腔水腫の原因として疑われた。

#### 【成果発表】

日本両棲爬虫類学会第 57 回相模原大会と第 17 回爬虫類・両生類の臨床と病理のための研究会の合同学術集会 (麻布大学、2018/11/24-25) で発表

#### 【今後の問題点】

この研究で、特に明らかにしたかった点は、ネオニコチノイド系農薬の両生類への影響、特に病原体/感染症の流行との関連であったが、ネオニコチノイドの分析には、分析装置、高度の技術と費用も必要であることからソフト面およびハード面での環境整備が欠かせない。また、今回研究対象としたヌマガエルは小型で、プール検体としての分析しかできなかった。国

内ヒキガエルの個体数は各所で減少していると報告され、我々の調査でも、減少が目立つ地域でラノウイルス陽性率が高いことから、今後は対象とする動物の種類や、分析対象（動物のみならず環境物質も含めて）にも何らかの工夫が必要と考える。