

## 学 位 論 文 要 旨

氏名 Eliakunda Mafie

題 目 : Taxonomic study of trypanosomes from small mammals: bats, rodents and soricids in the Oriental region  
(東洋区のコウモリ、げっ歯類、トガリネズミ類など小型哺乳類に寄生するトリパノソーマの系統分類学的研究)

論文要旨 :

Taxonomy of the genus *Trypanosoma* Gruby, 1843 (Kinetoplastea: Trypanosomatida: Trypanosomatidae), is at challenging yet, particularly that for trypanosomes classified in the section Stercoraria. Representative are so-called rodent trypanosomes of the subgenus *Herpetosoma*, i.e. *Trypanosoma lewisi* (Kent, 1880) and its relatives, and trypanosomes of the subgenus *Schizotrypanum*, such as *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 and its relatives. For a long time, morphological differentiation of stercorarian trypanosomes depended considerably upon our assumption of their rigid host-specificity, but molecular approaches introduced widely in the taxonomical study in the last two decades have demonstrated that this taxonomy is subjective enough. In the present study, I have approached taxonomically trypanosomes in small mammals such as rodents, soricids and bats, clarifying localization of taxonomic problems related to them.

In Chapter I, I outlined briefly records of atypical human trypanosomiasis caused by *T. lewisi* and *T. evansi* as an opportunistic infection, and updated the current status of molecular approaches to *T. lewisi* or *T. lewisi*-like trypanosomes in rodents based mainly on the ribosomal rDNA gene (rDNA) and glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (gGAPDH) gene. A limited number of deposited nucleotide sequences of nominal rodent trypanosome species, eight out of ca. 50 species, at the databases made reliable diagnosis and specific taxonomy of *T. lewisi*-like trypanosomes difficult. In addition, some nominal species such as *T. lewisi*, *T. musculi* and *T. blanchardi* have an almost identical rDNA sequences with few nucleotide substitutions, while *T. grosi* shows substantial intraspecific genetic variations even more than interspecific genetic variations of the aforementioned *Herpetosoma* trypanosomes.

In Chapter II, I collected blood samples of 89 murid rodents of 15 species and 11 soricids of four species in Indonesia, Philippines, Vietnam, Taiwan, and mainland China

with help of colleagues, and characterized trypanosomes based on morphology and nucleotide sequences of the rDNA and gGAPDH gene. *T. lewisi* and *T. lewisi*-like trypanosomes were found in the blood smears of 10 murids, which included *Bandicota indica* (two rats), *Rattus argentiventer* (one rat), and *Rattus tiomanicus* (two rats) in Indonesia; *Rattus rattus* (one rat) in the Philippines; and *Niviventer confucianus* (four rats) in mainland China. Furthermore, large- or medium-sized non-*T. lewisi*-like trypanosomes were detected in two soricids, *Crocidura dracula* in Vietnam and *Anourosorex yamashinai* in Taiwan, respectively. At last, I erected three new species, i.e. *T. niviventerae* n. sp., *T. sapaensis* n. sp., and *T. anourosoricis* n. sp. for isolates from *N. confucianus* in mainland China, *C. dracula* in Vietnam and *A. yamashinai* in Taiwan, respectively.

In chapter III, I characterized trypanosomes in the blood samples of bats (*Miniopterus fuliginosus*) from Japan, and reported for the first time the distribution of *T. dionisii* Bettencourt et França, 1905 of the *T. cruzi* clade in Asia. Our genetic characterization of the Asian isolate had biogeographical significance in discussion of the speciation and dispersion of bat-infecting trypanosomes and zoonotic *T. cruzi* endemic in the Latin America.

We are still a long way from understanding the real biodiversity of trypanosomes in the Stercoraria section. I believe, however, our effort to collect and characterise more isolates not only by morphology but also genetically of trypanosomes in small mammals such as rodents, soricids and bats may unveil their real 'species' in science.

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	Eliakunda Mafie
審査委員	主査：山口大学 教授 佐藤 宏
	副査：山口大学 教授 前田 健
	副査：山口大学 教授 度会 雅久
	副査：鹿児島大学 准教授 松尾 智英
	副査：山口大学 准教授 柳田 哲矢
題目	Taxonomic study of trypanosomes from small mammals: bats, rodents and soricids in the Oriental region (東洋区のコウモリ、げっ歯類、トガリネズミ類など小型哺乳類に寄生するトリパノソーマの系統分類学的研究)
審査結果の要旨： トリパノソーマ属原虫( <i>Trypanosoma</i> Gruby, 1843)、特に <i>Stercoraria</i> 類に分類される種の分類については今後の整理が必要であることは広く認識されているが、未だその道筋は見えていない。例えば、いわゆる <i>Herpetosoma</i> 亜属 (げっ歯類トリパノソーマと通称される) では <i>Trypanosoma lewisi</i> (Kent, 1880) ならびにその近縁種が、 <i>Schizotrypanum</i> 亜属では <i>Trypanosoma cruzi</i> Chagas, 1909 およびその近縁種が分類されるが、その記載種の多くが古典的な形態分類での記載種で有り、実際の種同定では確定的な診断が困難である。分子系統学的な知見にもとづく種分類が行われるためには、さらに豊富な基盤研究が積み重ねられる必要がある。本研究では、小型哺乳類に寄生するトリパノソーマ種の形態観察と分子系統学的な特徴づけを通して、 <i>Herpetosoma</i> 亜属および <i>Schizotrypanum</i> 亜属での種同定を試みるとともに、今後の研究で収集されるべき基盤データについて考察している。本研究は以下の 3 章から構成されている。  <b>第 1 章 Brief review on atypical human trypanosomiasis of <i>Trypanosoma lewisi</i></b> 本章では、近年注目される <i>Trypanosoma lewisi</i> などによる非定型人体トリパノソーマ症の発生確認状況をまとめるとともに、その種確定診断のために必要となる塩基配列情報の集積状況と、 <i>Herpetosoma</i> 亜属トリパノソーマの種鑑別での応用可能性について評価している。これまでに世界中で収集された塩基配列情報はかなり断片的で、多くの問題点があることから、今後の研究での取り組みが如何に重要かを整理している。	

## 第 2 章 Integrative taxonomic approach of trypanosomes in the blood of rodents and soricids in Asian countries, with the description of three new species

本章では、インドネシア、フィリピン、ベトナム、台湾、中国で収集された 15 種のげっ歯類 89 匹、および 11 匹のトガリネズミ類の血液について薄層塗抹標本によるトリパノソーマの検出と形態観察、また、検出されたトリパノソーマのリボソーム RNA 遺伝子ならびに gGAPDH (glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) 遺伝子の DNA 塩基配列情報を収集することで、フィールド収集材料を用いた種同定に取り組んだ。*Bandicota indica*、*Rattus argentiventer*、*Rattus tiomanicus*、*Rattus rattus* など 6 匹での *T. lewisi* 感染とともに、中国で採集された *Niviventer confucianus* 4 匹の血流にみられたトリパノソーマを新種 *Trypanosoma niviventerae* として種鑑別した。また、ベトナムの *Crocidura dracula* に寄生する *Trypanosoma sapaensi* と台湾の *Anourosorex yamashinai* からの *Trypanosoma anourosoricis* を新種として記載した。この研究では、これまで *T. lewisi* として確認されてきた可能性のあるトリパノソーマについて、独立種 *T. niviventerae* として特徴づけがなされ、また、トガリネズミ類に寄生するトリパノソーマについて分子系統学的な位置づけを明らかにできた点が評価できる。

## 第 3 章 First record of *Trypanosoma dionisii* of the *T. cruzi* clade from the Eastern bent-winged bat (*Miniopterus fuliginosus*) in the Far East

中南米で人獣共通感染症シャーガス病を引き起こす *T. cruzi* は、細胞内で無鞭毛体として無性増殖する特徴がある。その近縁種はコウモリ類にみられ、*T. cruzi* の系統進化の起源とも考えられている。コウモリのトリパノソーマについては、欧州、アフリカ、南北アメリカ大陸で現在活発に研究が進められているが、アジア産コウモリについてはまったく記録はなかった。本研究では和歌山県南部の洞窟を利用するユビナガコウモリから分離したトリパノソーマについて *Trypanosoma dionisii* と種同定するとともに、本種の世界的な生物地理学的拡散に関わる仮説 (Hamilton et al. 2012 による bat seeding hypothesis) の検証を行うとともに、その包括的検証のために今後収集されるべきデータについて指摘した。本研究が嚆矢となり、今後、アジア産コウモリのトリパノソーマ確認が進むことを期待したい。

本研究で扱った小型哺乳類 (げっ歯類、トガリネズミ類、コウモリ類) 寄生のトリパノソーマの種分類あるいは真の種多様性に関する研究は、世界的に取り組むべき課題として残っている。本研究はこの課題への挑戦として一定の成果をあげ、今後の研究展開への指針となっている。このことから、本論文は博士 (獣医学) の論文として妥当なものであると判断された。