

新しいノゼマ病 微胞子虫 *Nosema ceranae* とセイヨウミツバチ

中村 佳子・中村 純

ノゼマ病 *nosemosis* は 100 年以上前から知られるセイヨウミツバチ *Apis mellifera* の疾病で、ミツバチ微胞子虫 *Nosema apis* の感染によって発症する。強い感染性や致死性は認められないが、感染した働き蜂の寿命の短縮や、感染蜂群の働き蜂数の減少などの症状が知られる。また、巣内や巣門付近での下痢状の脱糞もノゼマ病の特徴とされている。罹患によって蜂群の生産性は低下し、越冬の失敗も招くが、腐蛆病やバロア病とは異なり、養蜂産業にとって重大な脅威とは考えられていない。

今から 100 年近く前にはすでに、アメリカ農務省の White がノゼマ病を数年かけて研究し、59 ページにもわたる報告書としてまとめている (White, 1919)。国際獣疫事務局 OIE の届出伝染病 (List B 登載) としても長く指定されていたが、養蜂活動の実態のある国の 43% のみで発生が見られることもあり (Chioveanu et al., 2004)、2005 年のリスト改訂では要件を満たさず監視対象疾病からは外された。

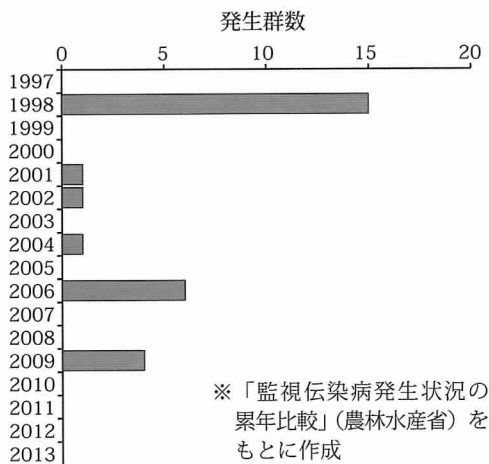


図 1 ノゼマ病の累年発生群数

日本では、平塚保雄 (1941) の「養蜂百訣」の改訂版にノゼマ病が紹介されている (著者注: 1926 年の初版は未確認)。国内での最初の公式発生記録は 1958 年で (北岡, 1958)、その後、1997 年に改正された家畜伝染病予防法で「届出伝染病」に指定され、以降、発生数は少ないものの散発的に届出がある (図 1)。

1996 年に、トウヨウミツバチ *A. cerana* に感染している新種のミツバチ微胞子虫が発見され *N. ceranae* と命名された (Fries et al., 1996)。このセイヨウミツバチへの感染は 2006 年に報告され (Higes et al., 2006; Fries et al., 2006)、その後、全世界で *N. ceranae* の感染報告が相次いでいる (表 2 参照)。*N. ceranae* が *N. apis* よりもセイヨウミツバチに対して強毒性との指摘もあり (Higes et al., 2007; Paxton et al. 2007)、また蜂群崩壊症候群と関連する可能性も示唆されたことから (Higes et al., 2008)、現在、改めて高い関心を集める疾病になっている。

最初のセイヨウミツバチの *N. ceranae* 感染報告から 10 年が経ち、研究情報も集積され、よくまとまった総説も数報出されている (Fries, 2010; 2014; Higes et al., 2010; 2013)。さらに研究機関による感染試験等の結果のばらつきの解消を目指して研究手法の標準化も提唱されてきた (Fries et al., 2013)。

しかし、これまでのところ邦文でのノゼマ病、特にこの新しいノゼマについての包括的な解説はない。そこで本稿では、現在、世界中に蔓延している *N. ceranae* とはそもそもどんな生物であるのか、またそれが引き起こす疾病の実相について、従来のノゼマ病と何がちがうのかを含めて解説しておきたい。

微胞子虫類

ミツバチ微胞子虫を含む微胞子虫類は、昆虫や他の無脊椎動物、ヒトを含む脊椎動物など広い範囲の生物を寄主とする、絶対細胞内寄生生物（寄主の細胞内でなければ増殖ができない生物）である。

微胞子虫の研究史は、19世紀のヨーロッパに遡る。当時、主要な産業であった養蚕において、カイコ *Bombyx mori* の微粒子病 (pebrin) が大発生し、科学者たちの注目を集めた。死亡したカイコに観察される微粒子が新種の微生物であることは Nägeli (1857) によって明らかにされたが、その後、フランスの著名な細菌学者の Pasteur が、これが病徴であるだけでなく、カイコを死に至らせる原因生物 *N. bombycis* (家蚕微粒子病原) そのものであることを明らかにした (Pasteur, 1870)。

微胞子虫類の胞子は多くの場合、卵形から洋ナシ型で、小さいものでは 1 μm 程度、大きな種類でも 30 μm ほどである (Larsson, 1999)。キチンを含む細胞壁に囲まれた胞子は、この細胞壁によって光を屈折させるので、光学顕微鏡下では胞子の境界が明るく光って見えるのが特徴となっている。

胞子内部には、コイル状に折りたたまれた極糸 polar filament (または polar tube) がある。最初に寄主の細胞内に入るときには、この極糸を物理的な力で押し出し、寄主の細胞膜に挿入して、管状の極糸を通して感染力のある胞子原形質を注入し、感染が成立する。その後、寄主細胞内で増殖したのちに、最終的に他の細胞への感染力を持つ胞子の形成を行う。

微胞子虫類は単細胞で、核やミトソーム(酸素呼吸能がなく、ゲノムも消失しているが、ミトコンドリアとおそらく相同と考えられる細胞器)は有しているものの、ミトコンドリアなどの真核生物らしい細胞小器官を持たない。またリボゾーム RNA のゲノムサイズが小さい。そこで、かつては単細胞生物で動物的生態を示す「原生動物」であるされ、原生動物門胞子虫綱などに分類されてきた。現在、動物や植物は

胚発生する生物であって単細胞ではありえないとの定義 (Margulis et al., 1990) に基づき、「原生動物」の呼称は「原生生物」に置き換えられている。

最近になって、微胞子虫類は原生生物ではなく、寄生性の真菌類が長い寄生生活の間に細胞内小器官を失ったものとの仮説が支持されるようになった (Corradi and Keeling, 2009)。Keeling et al. (2000) は β -チュープリンの遺伝子の塩基配列を用いた系統解析を行って、微胞子虫類が真菌類内部で進化した一系統であることを示している。これに基づいて、現在の生物学の下に微胞子虫類を正しく位置づけるなら、菌界の微胞子虫門 Microsporidia、微胞子虫綱 Microsporea、微胞子虫目 Microsporida の 160 属 1,300 種以上を含む一群の生物となる (Corradi and Keeling, 2009)。なお、よく利用される「ノゼマ原虫」の呼称は、寄生虫学における「原虫」の定義が非細菌性の寄生性単細胞生物となっているので、そのまま通用する。

ノゼマ *Nosema* 属微胞子虫類

微胞子虫類のノゼマ科 Nosematidae を構成する 6 属のうちのひとつのノゼマ *Nosema* 属には、ハチ目やチョウ目などの昆虫、その他の節足動物を寄主とする 81 種の微胞子虫が含まれている (Kirk et al, 2008)。中でもよく知られているのは、前述のカイコの微粒子病の原因生物の *N. bombycis* である。感染すると致死性が高く、また親から卵に病原体が受け継がれて垂直伝播するなど、養蚕業における重大疾病であった。このため日本でも政策的に養蚕業に力を入れ始めた明治時代からの長い研究の蓄積がある (Kawarabata, 2003; 嶋田, 2014)。

一方で、多様な寄主をもつノゼマは、昆虫感染性病原菌として害虫防除での利用も目指され、チョウ目やバッタ目の害虫防除への応用が古くから研究されてきた。特に *N. locustae* は、バッタ目の害虫防除目的で商業的に利用される段階にまで至っている (Lacey and Goettel, 1995)。また、ハチノスツヅリガ *Galleria mellonella* に対して、*N. galleriae* を防

除目的で利用しようという試みもあったという (Sammataro and Avitabile, 2011).

Nosema 属の微胞子虫のうち、ミツバチ科 Apidae のハチ類に寄生するものには、マルハナバチ類 *Bombus* spp. に感染する *N. bombi*, セイヨウミツバチに寄生する *N. apis*, そしてトウヨウミツバチ *A. cerana* を原寄主とする *N. ceranae* の3種が知られる。

N. bombi は、野生あるいは商用送粉者として重要なマルハナバチ類の減少要因のひとつと考えられている (Otti and Schmid-Hempel, 2007). この微胞子虫は多種のマルハナバチの成蜂のマルピーギ管, 胸部筋肉, 脂肪体, 脳を含む神経組織など多様な組織細胞に感染する (Fries et al., 2001). 次世代への伝播は女王蜂を経由するため, 巣の創設や産卵への感染の影響はほとんどないとされていたが (Fisher and Pomeroy, 1989), その後, 交尾や越冬への影響はないものの, 巣の創設率の低下が見られ (van der Steen, 2008), あるいはコロニーサイズが小さくなり, 次世代となる新女王蜂や雄蜂の生産が減少するなどの影響が知られるようになった (Otti and Schmid-Hempel, 2008).

従来から知られるミツバチのノゼマ病の原因生物は *N. apis* (ミツバチ微胞子虫) である. 1857年にドイツで, セイヨウミツバチの成蜂の重い症状の発生が報告され, ミツバチの体内からは真菌の胞子が検出された. その後1909年になってドイツの Zander が, この微胞子虫を単離して *N. apis* と命名し, 症状にはノゼマ病 "Nosema-seuche" の名称を与えた (Zander, 1909). 同時期にアメリカの White が数年をかけて *N. apis* についての多項目の研究報告

をまとめている (White, 1919).

1996年に, 北京の南120 kmにある蜂場で飼育されていたトウヨウミツバチ3群から採集された働き蜂より分離された微胞子虫が, 微細構造の観察やゲノム解析の結果から *N. apis* とは異なった新種と判定され, *N. ceranae* と命名された (Fries et al., 1996).

これら3種の *Nosema* 間の系統学的な関係をリボゾーム RNA (16s rRNA) を用いて解析したところ, 同じミツバチ属に寄生する *N. ceranae* と *N. apis* はそれほど近縁でなかった (Fries et al., 1996). GeneBank 上の遺伝子情報を用いた解析では, Fries et al. (2001), Wang et al. (2006), さらに Chen et al. (2009) が, *N. ceranae* は *N. apis* よりも *N. bombi* に近いとした. その後, Shafer et al. (2009) が複数の遺伝子の塩基配列データを用いて系統解析を行い, *N. ceranae* が *N. bombi* と姉妹系統で, *N. apis* はその系統の分岐点に位置するとの結論を得た (図2). この解析結果に基づいて, *N. bombi* の祖先種がマルハナバチからトウヨウミツバチに寄主転換して *N. ceranae* となったか, 逆に *N. ceranae* の祖先種がトウヨウミツバチからマルハナバチに寄主転換して *N. bombi* となったかの二つの仮説が提唱されている.

ミツバチに寄生するノゼマ

ミツバチ属に寄生する微胞子虫としての *N. ceranae* と *N. apis* の一般特性を表1にまとめた. 両者は外観上, きわめてよく似ているが, *N. ceranae* の方が *N. apis* よりもやや小型である (図3, 4).

生理的には, 温度感受性に大きな差が見られ

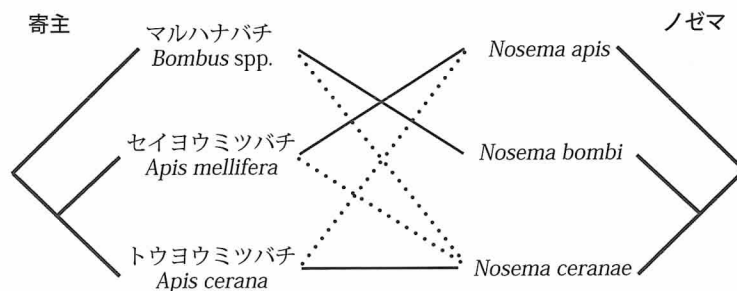


図2 ノゼマと寄主の系統関係 (Shafer et al. (2009) を改変して加筆作成) 実線は原寄主, 点線は現時点で報告のある寄主転換先を示す

る(表1). White (1919) は 57~59 °C, 10 分間の熱処理で *N. apis* が感染力を失うことを確認しており, これに基づいて 50 °C, 24 時間の熱処理で巣板や巣箱の消毒を行い, ノゼマ病を予防する方法が確立している. しかし *N. ceranae* は高温耐性があり, 培地上の胞子を 60 °C で 1 か月間維持しても, 生存率の低下は認められない (Fenoy et al., 2009). 逆に, 冷凍で 1 週間の保存をすると, *N. apis* では感染力は失われないが, *N. ceranae* では感染力が喪失する (Fries and Forsgren, 2009). ミツバチ体内でのノゼマの増殖速度も同様に温度感受性で, 両種ともに 33 °C が増殖適温であるが, *N. ceranae* は *N. apis* が増殖できない 37 °C でも増殖できる (Martín-Hernández et al., 2009).

N. apis の感染によるノゼマ病の発生が, 高温期を除く春や秋に集中するのに対して, *N. ceranae* によるものは一年中発生していること

表1 2種ノゼマの一般特性

ノゼマ	<i>N. ceranae</i>	<i>N. apis</i>
命名年	1996年 (Fries)	1909年 (Zander)
原寄主	トウヨウミツバチ	セイヨウミツバチ
寄主範囲	セイヨウミツバチ ¹⁾ オオミツバチ ²⁾ コミツバチ ²⁾ サバミツバチ ³⁾ マルハナバチ ⁴⁾	トウヨウミツバチ ⁵⁾
胞子サイズ 長径×短径	3.3~5.5 × 2.3~3.0 μm ⁶⁾	4.6~6.4 × 2.5~3.4 μm ⁷⁾
極糸のコイルの巻数 ⁶⁾	20~23回 ⁸⁾	26~32回以上 ⁸⁾
高温耐性 ⁹⁾	高い	低い
低温耐性 ¹⁰⁾	低い	高い
発症時期 ¹¹⁾	一年中	早春期または秋期
分布特性 ¹²⁾	暖地に多い	寒冷地に多い

- 1) Higes et al. (2006)
- 2) Chaimanee et al. (2010)
- 3) Botías et al. (2009)
- 4) Plischuk et al. (2009)
- 5) Singh (1975), Lian (1980), Yakobson et al. (1992)
- 6) Fries et al. (1996)
- 7) Kudo (1920)
- 8) Fries (1989)
- 9) White (1919), Fenoy et al. (2009), Martín-Hernández et al. (2009)
- 10) White (1919), Fries and Forsgren (2009)
- 11) Martín-Hernández et al. (2007)
- 12) Williams et al. (2008), Martín-Hernández et al. (2007) および Fries and Forsgren (2008)

(Martín-Hernández et al., 2007), あるいは, 北米でも (Williams et al., 2008), ヨーロッパでも (Martín-Hernández et al., 2007; Fries and Forsgren, 2008), 温暖な地域ほど *N. ceranae* の感染率が高いことも, 両種ノゼマの増殖好適温度帯の差を背景としているといえる. さらに高温耐性を持つ *N. ceranae* の分布拡大には, 現在の地球温暖化が有利に働くと考えられている (Martín-Hernández et al., 2009).

ノゼマの感染と増殖

ミツバチ微胞子虫は, ミツバチの幼虫には感染しないが, 成虫であれば, 働き蜂, 女王蜂, 雄蜂を問わず感染する (White, 1919). ミツバチの細胞に寄生している時以外, つまりミツバチの消化管内や体外では, ノゼマは感染力のある胞子を形成して存在している.

従来の *N. apis* 感染によるノゼマ病に罹患した蜂群では, 働き蜂の下痢症状が激しくなり, 胞子を含んだ糞によって巣が汚染される (Bailey, 1981). この糞とともに排泄された *N. apis* の胞子はミツバチの糞中で 1 年以上生存でき (Bailey, 1962), また巣板上でも長期生存可能なため (Bailey, 1955), 汚染した巣板が主要な感染 (いわゆる糞口感染) 源となる. ただし, 下痢症状は多要因で発生するので, それだけではノゼマ病の確定診断とはならない.

一方, *N. ceranae* 感染においては, 急激な蜂量の減少などの明確な影響が見られるのに, 特徴的な下痢症状が観察されない (Faucon, 2005; Higes et al., 2008a). 今のところ, *N. ceranae* の胞子が巣箱内の環境でどの程度生存可能かもわかっていないこともあり, 巣板の汚染を介した糞口感染が胞子の伝播の主経路ではなく, 別の感染経路の存在も疑われる.

マルハナバチに寄生する *N. bombi* では, 他の微胞子虫同様, 消化管以外にも感染可能で, 女王蜂からの垂直感染も起きるが (Fries et al., 2001), ミツバチに寄生する 2 種のノゼマは中腸上皮以外への感染・増殖は知られていない. しかし, Chen et al. (2009) は, マルピーギ管, 下咽頭腺, 唾液腺, 脂肪体から, *N.*

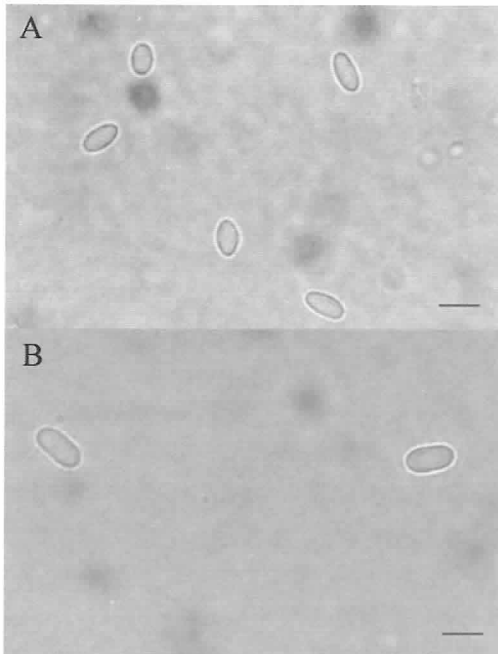


図3 光学顕微鏡下の両種ノゼマ
A: *N. ceranae*, B: *N. apis*. スケールは 5 μm
撮影者: Ingemar Fries (スウェーデン農科大)

ceranae 特異的な DNA 断片が検出されたとしており、それらの組織細胞で増殖可能かどうかの情報はまだないが、多組織感染の可能性として興味深い。また Webster et al. (2008) は *N. apis* は女王蜂の卵巣には感染せず、卵への垂直伝播は起こらないとしたが、Traver and Fell (2012) は *N. ceranae* に自然感染した女王蜂で、体内の各部位および卵から *N. ceranae* 特異的な DNA 断片を検出して、垂直伝播の可能性を指摘した。両者の差の存在は Shafer et al. (2009) によるノゼマの系統関係 (図 2) を考えると妥当であるように思える。

ノゼマの胞子は経口でミツバチ成蜂の消化管内に入り、中腸に達すると腸内環境に反応して発芽する。腸管粘膜から上皮細胞までの距離が近い中腸の下流部に到達した段階で、すぐに極糸 (図 4) を寄主の上皮細胞に打ち込んで、孢子原形質 (スポロプラズマ) を注入して感染を完了する。胞子が体内に入ってから 12 時間後には複数の細胞が感染状態になる。注入された孢子原形質はすかさず母細胞 (メロント) になり、24 時間以内に分裂して娘細胞 (メロゾイト) となる (Fries et al., 1992)。メロゾイ

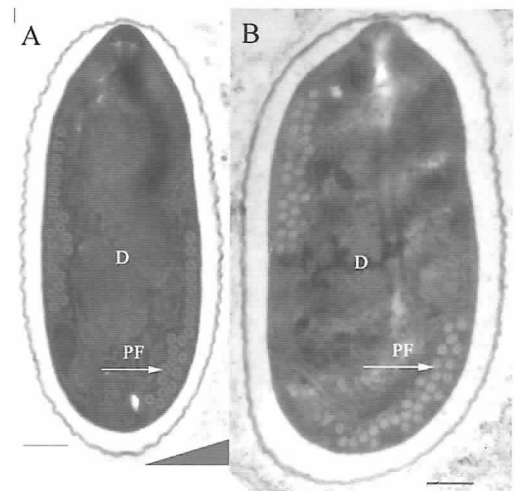


図4 透過型電子顕微鏡下の両種ノゼマ
A: *N. ceranae*, B: *N. apis*. スケールは 0.5 μm
D: 核 (二核になっている), PF: 極糸
撮影者: Ingemar Fries (スウェーデン農科大)
*図 2 とも初出は Fries, I., R. Martín, A. Meana, P. García-Palencia, and M. Higes (2006) Journal of Apicultural Research 45 (3): 230-233. (International Bee Research Association)

トは成熟してスポロントに、さらに 1 回分裂して孢子母細胞 (スポロプラスト) になり、これが成熟し、被囊して孢子が形成される (Fries, 1993)。30 $^{\circ}\text{C}$ 前後の好適環境では、感染から孢子形成までのサイクルは 48~60 時間である (Kellner, 1980)。なお、基本的に 2 核であるが (図 4)、核の融合や減数分裂などの有性生殖の特徴はなく、ノゼマ属の微孢子虫に共通の無性生殖が増殖様式となる (Fries, 2010)。

ノゼマはミツバチの中腸の上皮細胞で増殖を行うが、寄生した細胞から腸管内に放出された胞子は、再び新しい上皮細胞に寄生して上記のサイクルを繰り返す。人工感染の場合は 4 日後から胞子数が劇的に増え (Fries, 1988)、最終的には 2 週間以内に中腸の上皮細胞のほとんどが感染し、これによって解剖所見として、中腸全体の弾力が失われ、白濁した外観となる。この段階で 3~5 千万個の胞子が中腸内に見られ (Bailey and Ball, 1991)、脱糞をしない場合は 2 億個以上の胞子が見られることもある (Lotmar, 1943)。この胞子が、脱糞に伴って体外に排出され、別の蜂に感染する。

N. apis に感染したセイヨウミツバチの細胞

質内には、成熟胞子が見られる時期であれば、常に中空の胞子が見られ、また隣接細胞にはメロゾイトが見られる。この中空胞子は、中腸上皮細胞間で感染を広げる過程、つまり感染した細胞から胞子が中腸に脱出することなく、直接、隣接する細胞に感染する時に、胞子の細胞壁部分を残した痕跡である (Fries et al., 1992)。この存在は、胞子が一度消化管内へ脱出しなくても、細胞間で水平感染が成立することを意味し、ノゼマの増殖に有利な状況と考えられる。

N. ceranae が原宿主であるトウヨウミツバチに感染した場合には、寄主の細胞質内に中空胞子は見られず、細胞間の水平感染は起きていない (Fries et al., 1996)。セイヨウミツバチに感染した場合、中空胞子が観察された事例もあるが (Higes et al., 2006), Chen et al. (2009) の論文にある *N. ceranae* が感染したセイヨウミツバチの細胞の電子顕微鏡像には中空胞子は観察できない。もし、特定の地域でのみ、あるいは特定のミツバチの系統でのみ中空胞子が見られる、つまりノゼマの感染・増殖過程に差があるということになれば、ノゼマ病の進行も地域や系統によって異なるということであり、特筆すべきことではある (Fries, 2013)。

N. apis がミツバチの働き蜂に感染するために必要な胞子量は、ミツバチ 1 匹あたり 100 胞子前後である (Fries, 1988)。50% のミツバチが感染するために必要な胞子量は *N. ceranae* の方が *N. apis* よりも少ないが、100% のミツバチが感染するのにはいずれも 10^4 個の胞子が必要とする (Forsgren and Fries, 2010)。また 1 匹のミツバチに 2 種のノゼマを混合感染させた場合、競争により一方のみが増加するような現象は観察できていない (Forsgren and Fries, 2010; Milbrath et al., 2015)。

ノゼマ病の病毒性

1) 個体レベルでの病毒性

ノゼマ病に感染した働き蜂では外勤化が早まり、寿命の短縮が見られる (Hassanein, 1957)。感染した働き蜂は、同じ日齢の非感染の働き蜂に較べて分業上の先の仕事を担当し

ていて、生理的に日齢が進んだ状態になっている (Wang and Moeller, 1970)。この寿命の短縮率は 10~40% といわれているが (Bailey and Ball, 1991), 近年、カナダで行われた実験では、対照区の働き蜂の寿命 32 日に対して *N. apis* の胞子を接種した働き蜂では 28 日となって、その差は 4 日間であった (Mattila and Otis, 2006)。またケージ内飼育で寿命を比較した場合は、対照区との有意な差が認められない (Malone and Giaccon, 1996)。つまり寿命の短縮は、ノゼマ感染による直接的な毒性致死現象ではないと考えられる。

スペインの Higes のグループが、ケージ内の 5 日齢の働き蜂に、1 匹あたり 12 万 5 千個の *N. ceranae* の胞子を経口で摂取させたところ、3 日目には少数の細胞への感染が見られた。7 日目には、検鏡下の中腸組織の 80% 以上の細胞への感染が確認され、また感染した働き蜂は 8 日目までにすべて死亡した (Higes et al., 2007)。Paxton et al. (2007) による 2 種のノゼマを用いた実験室内感染試験においても、反復試験はないが *N. ceranae* の方が死亡率が高い結果となった。この二つの実験結果が *N. ceranae* が従来のノゼマ病の病原である *N. apis* よりも強い病毒性を有していることの根拠となっているが、その後、このような高い致死性は再現されていない。

Mayack and Naug (2009) は、人為的に *N. ceranae* に感染させた働き蜂では糖に対する反応性が高まり、24 時間あたりの砂糖水の消費量が有意に増加することから、高度の飢餓ストレス状態になっていて、その結果として寿命が短縮すると考えた。そこで *N. ceranae* に感染した働き蜂でも自由に餌を摂取できる状態にしたところ、寿命には対照区の働き蜂と差が見られなくなることを確かめた。寄主の栄養状態を過剰に乱すことは、新興病原では起きやすいことだと考察している。

N. apis 感染での特徴的な症状としては下咽頭腺の萎縮も知られているが (Lotmar, 1936; 1939), 蜂群から混合状態で分離した 2 種のノゼマを感染させた場合にも、下咽頭腺

の大きさが有意に小さくなった (Alaux et al., 2010). また *N. ceranae* を感染させたトウヨウミツバチでも下咽頭腺タンパク質量の減少が確認されている (Chaimanee et al., 2010). このことは、感染した働き蜂による女王蜂への給餌回数が減少するという行動上の変化としても観察されている (Wang and Moeller, 1970). したがって、下咽頭腺の萎縮はノゼマの種類によらない共通現象と考えることができる. もっとも下咽頭腺の発達不良は、中腸内でのタンパク質分解酵素の活性低下に起因することも示唆されている (Malone and Gatehouse, 1998). なお由来は不明ながら下咽頭腺内でもノゼマ胞子が見つかっていて関与が示唆されている (Ptaszyńska et al., 2012).

農薬への暴露が *N. ceranae* への感染レベル (腸管内での増殖レベル) を上昇させるが (Wu et al., 2012; Pettis et al., 2011; 2013), 逆に *N. ceranae* への感染によって、致死濃度以下の農薬の影響を受けやすくなり、結果として働き蜂の死亡率が上昇することも確かめられている (Alaux et al., 2010; Vidau et al., 2011; Aufauvre et al., 2012).

ただしノゼマ感染と農薬との相乗作用現象は新規現象ではない. 害虫防除の現場では、この原理を活かして、病原菌感染を併用することで農薬への感受性を上昇させ、農薬使用量を減らし、コストと環境負荷を低減させる総合的害虫防除 (IPM) を目指す試みが以前より行われてきている (例えば Johnson and Henry, 1987).

Alaux et al. (2010) は *N. ceranae* への感染と半致死量より低い投与量のイミダクロプリド処理との両方を行うことによって、それぞれ単独での処理と比べて死亡率が高くなることを確かめた. 前述のように、*N. ceranae* に感染した個体は飢餓状態になり、通常では個体の生存に影響を及ぼさない濃度の農薬が、餌の摂取量が増えることで農薬の総摂取量が増え、その結果として生存率が低下した可能性も考えられる. しかし、フィプロニルとチアクロプリドを用いた同様の実験においては、農薬摂取量には差がなくても、ノゼマ感染により農薬への感受性自

体が上昇して影響を受けやすくなることも確認されている (Vidau et al., 2011). このように相乗的な効果で、*N. ceranae* 感染が致死量を下回る量の農薬や、その他の外的ストレスに対するミツバチの感受性を引き上げ、個々の働き蜂や蜂群に致命的な影響を及ぼすのであろう.

女王蜂がノゼマに感染していると、女王蜂の自然更新頻度が異常に高まり、人工感染させた女王蜂が7週目までは正常に産卵を続けたものの、突然、産卵が停止し、数日後に死亡した事例なども報告されている (Farrar, 1947). *N. apis* の胞子を人工感染させた女王蜂では、卵巣の萎縮も認められる (Hassanein, 1951).

女王蜂が *N. ceranae* に感染した場合、脂肪体への脂肪貯蓄量はわずかしこ減少しないが、血中ヴィテロジェニン濃度は有意に上昇し、腹部の抗酸化能も有意に高まっていた. 一方、頭部の女王蜂大顎腺フェロモンのレベルは、p-ヒドロキシ安息香酸メチル (HOB) では減少し、9-オキシデセン酸 (9-ODA) や9-ヒドロキシデセン酸 (9-HDA) の生成量は増加していた (Alaux et al., 2011).

ノゼマ感染によって女王蜂の大顎腺フェロモンの組成が変化すると、これを感知し反応する働き蜂側の行動や生理状態にも変化が現れ、これが Farrar (1947) が報告したような頻繁な女王蜂更新につながっている可能性もある (Alaux et al., 2011).

働き蜂では脂肪体蓄積物の減少 (Bailey and Ball, 1991) や血中ヴィテロジェニンの濃度の低下 (Antúnez et al., 2009) が見られるのに、女王蜂では増加したのは、少なくとも短期間ではノゼマ感染により代謝が亢進しても、働き蜂による給餌で十分に補償されるからだと考えられ、またヴィテロジェニン濃度の上昇により抗酸化能が上がることで、代謝亢進による酸化ダメージも充分補償される可能性があると考えられている (Alaux et al., 2011).

なお、働き蜂の *N. apis* への感染率が高い場合、時間経過に伴って女王蜂も感染する (White, 1919). また *N. ceranae* を人工感染させた働き蜂に未感染の女王蜂を同居させると、働き蜂

からの水平伝播が起こることも確認されている (Higes et al., 2009). しかし、自然状態では、胞子を取り込む確率の高い巣の掃除などの仕事を担当しない女王蜂がノゼマに感染する確率は低いと考えられている (Bailey and Ball, 1991).

個々の働き蜂への有害性は不明であるが、ノゼマに感染した外勤蜂では他の蜂の外勤化を抑制するフェロモン (オレイン酸エチル; OE) の合成量の有意な増加が確認されている (Dussaubat et al., 2010). このフェロモンは、外勤活動の実態に応じて、働き蜂の分業進行を調整しており、ノゼマが個々の外勤蜂のフェロモン合成を改変すると、外勤活動の実態が誤って蜂群に伝えられ、蜂群の社会調節に影響が及ぶ可能性がある。

また Anrúnez et al. (2009) は、ミツバチ体内で *N. ceranae* と *N. apis* がミツバチの遺伝子発現に与える影響を調べ、ミツバチが生体防御の一環として産生する抗菌ペプチドのアバエシン、ディフェンシン、ヒメノプテリシンや基質を酸化することによって抗菌効果を発揮するフェノールオキシダーゼ (PO) などの遺伝子の発現誘導を *N. ceranae* が抑制することを確かめた。また細胞質免疫を担う血球数、全血球数 (THC) も低下したという (Anrúnez et al., 2009). しかし Craig et al. (1989) は、*N. apis* に感染させたミツバチでは血中にアバエシンのような抗菌タンパク質の誘導は認められなかったとしている。

Alaux et al. (2010) は、*N. ceranae* 感染は PO 活性および THC に影響を与えないが、ブドウ糖からグルコン酸や過酸化水素を生成して巣内を抗菌的に維持するという意味において蜂群レベルでの免疫系と呼べるグルコースオキシダーゼ (GOX) の活性は、ノゼマに感染して低濃度の農薬に暴露した働き蜂で有意に低下することを見いだした。ノゼマの感染だけでも下咽頭腺が縮小するが、GOX の合成量は下咽頭腺のサイズとは関係がなく、農薬とノゼマの相乗効果による飢餓ストレスの亢進によってブドウ糖の利用率が低下し、結果的に、蜂群レベルでの免疫力の低下を招いたとしている。Vidau

et al. (2011) は *N. ceranae* 感染によって解毒系の酵素グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) の中腸および脂肪体での活性が上昇し、また同時に農薬感受性も上昇するとしている。

2) 蜂群に対する病毒性

ミツバチでは、幼虫が罹患する疾病では症状が重く、感染した幼虫が幼虫期～蛹期に死亡し、巣内で他の幼虫にも蔓延して、最終的に蜂群全体が壊滅しやすい。これに対して、成虫が罹患する疾病の多くは、成蜂の寿命がそもそも短いこともあって、個体に対しても蜂群に対しても強い致死性や影響を示さない。従来の *N. apis* によるノゼマ病は、White (1919) が多項目の研究成果をもとに、重大な疾病ではないと結論したことから、注目度は低かった。

アメリカでは過去に何度か発生した消滅病 (disappearing disease) の原因としてノゼマ病が疑われたことがある (「消滅病」の呼称は渡辺 (1951) による)。いずれも具体的な原因が解明されないまま終息しており、1960年代の流行時も (Oertel, 1965)、1970年代の流行時にも (Wilson and Menapace, 1979; Kulincevic et al., 1982)、結局ノゼマ病の関与は証明されなかった。イギリスでも同様に、1960年代に多数の蜂群の冬季損失が発生し、あるいは弱群化し、そのときの特徴的な症状が下痢であったためノゼマ病が疑われた。しかし *N. apis* の感染レベルと蜂群の死亡率に相関が見られず、やはり要因ではないと判断されている (Bailey, 1967)。

2003年～2006年にヨーロッパ各地で、蜂量減少などの問題があつて蜂群から集められた働き蜂についてノゼマの検出調査を行ったところ、高い確率でノゼマ感染 (*N. apis* と *N. ceranae* の混合感染および *N. ceranae* 単独感染) しており (Martín-Hernández et al.; 2007)、また感染群では、蜂量、蜂児量、ハチミツの生産の減少など、具体的な影響が見られている (Botías et al., 2013)。

N. ceranae に感染した小群を用意し、無処理区と、ノゼマ防除薬であるフマギリン処理区を設けて経過を比較したところ、無処理区

では15か月以内にすべて死滅したが、フマギリン処理区はすべて生存していた (Higes et al., 2008). もっとも、これ以外に感染蜂群の死滅事例は少なく、現在、多くの地域で *N. ceranae* に感染した蜂群がフマギリン処理なしに飼育されているが、蜂群の死滅が頻発するといった状況にはない。

アメリカでは最近の蜂群崩壊症候群と *N. ceranae* 感染の関連づけを目的に網羅的な遺伝子解析が行われたが、*N. ceranae* の関与は証明されなかった (Cox-Foster et al., 2007). ウルグアイにおいても、*N. ceranae* の侵入および感染が、蜂群の死滅率に影響していないとされ (Invernizza et al., 2009), ドイツにおいても *N. ceranae* 感染が冬季の蜂群の死亡率に関与していることを示せていない (Siede et al., 2008; Aurori et al., 2011). このように、Higes et al. (2008) がスペインのミツバチでの蜂群崩壊症候群原因として示した *N. ceranae* の劇的な蜂群致死性は、他の地域では観察されていない。

寄主転換と分布の拡大

N. apis および *N. ceranae* は互いの原寄主であるセイヨウミツバチとトウヨウミツバチへの交差的感染能があることが確認されている (Fries and Feng, 1995; Fries, 1997). この交差感染能は、微孢子虫類の多くが複数の寄主に寄生しうることから予想されたことであり、したがって寄主転換の可能性はもともと高かったと考えられる。しかし、実際にセイヨウミツバチへの *N. ceranae* の自然感染が報告されたのは10年後になる。2004年10月~2005年5月にスペインの複数の蜂場から集められたセイヨウミツバチから分離された微孢子虫が、ゲノム解析によって *N. ceranae* と鑑別され (Higes et al., 2006), また同時期に、台湾でもセイヨウミツバチへの感染が確認された (Fries et al., 2006). これがセイヨウミツバチへの *N. ceranae* 自然感染の初記録である。

しかし Klee et al. (2007) は世界各地 (ヨーロッパ, 南北アメリカ, アフリカ, オーストラリアおよびアジアではベトナム) から集めたノ

ゼマ感染標本を調べて、また文献情報も含めて、*N. ceranae* がより早い時期に各地に広がっていたと推測している。Paxton et al. (2007) も1986年~2006年までのフィンランドのノゼマ感染標本から *N. ceranae* を検出して、少なくとも1998年には侵入していた可能性を示している。同様にイタリアでは1993年 (Ferroglio et al., 2013) とされ、スペインでも2000年に収穫されたハチミツから *N. ceranae* の胞子が検出されている (Botías et al., 2012).

Chen et al. (2008) は1995年~2007年にアメリカ国内で採取されたノゼマ感染標本から *N. ceranae* を検出し、メキシコでは2004年に採取されたアフリカ蜂化ミツバチの標本から (Guzman-Novoa et al., 2011), またウルグアイでは1990年のノゼマ感染標本から (Invernizzi et al., 2009), さらにブラジルでは1979年にアルコール浸漬標本となったアフリカ蜂化ミツバチの雄蜂から、*N. apis* とともに *N. ceranae* が検出され (Teixeira et al., 2013), 南北アメリカでのセイヨウミツバチへの寄主転換は、ヨーロッパよりも早かったと考えられる。

それでも多くの古い標本からは *N. apis* だけが検出されるため、一部を例外として、基本的には *N. ceranae* はセイヨウミツバチにとっては新興病原であると考えべきだと Paxton (2010) は述べている。また遺伝子解析からは *N. ceranae* が急速に多様化しており、新疾病として警戒する必要性も訴えられているが (Gómez-Moracho et al., 2014), 異なる地域の *N. ceranae* を用いた感染試験では症状の重さとの関係性は認められていない (van der Zee et al., 2014).

N. ceranae と同じようにトウヨウミツバチからセイヨウミツバチへの寄主転換を果たしたミツバチヘギイタダニ *Varroa destructor* は、ヨーロッパへは1970年代~90年代にかけて侵入しており、アメリカでは1987年に最初の記録がある (Morse and Flottum, 1997). 南米へは1971年に日本から持ち込まれたセイヨウミツバチによってもたらされた可能性が高く (de Guzman et al., 1997), 北米へのダニの侵

入経路としては、南米からの違法な女王蜂の持ち込みが指摘されている (Morse and Flottum, 1997). そこで、トウヨウミツバチからセイヨウミツバチへの寄主転換に関しては、ミツバチヘギイタダニと同様の経路をたどったと考えれば、古い南北アメリカのノゼマ病標本から *N. ceranae* が検出されたこと自体はそれほど不自然なことではない。

ただし、現在まで、ミツバチヘギイタダニの侵入を許していないオーストラリアでも、2007年～2008年に集められた働き蜂から *N. ceranae* が検出されており (Giersch et al., 2009), *N. ceranae* の拡散をミツバチヘギイタダニの拡散のみで説明することはできない。ここで注目すべき点は、オーストラリアで *N. ceranae* の感染率が高かったのがクイーンズランド州のセイヨウミツバチ (感染率 34%) で、また *N. ceranae* 陽性となった 3 検体のハチミツがいずれもクイーンズランド産のものであったことである (Giersch et al., 2009)。

実は、クイーンズランド州のケアンズ港は、アジアからの船舶に便乗して侵入するトウヨウミツバチの拡散起点でもある。トウヨウミツバチのオーストラリアへの侵入は、以前より非常に深刻な問題となっており、ケアンズ港周辺では 2007 年から集中的な調査が行われた。その結果、2007 年 5 月～2012 年 10 月までに、トウヨウミツバチの分蜂群 260 と営巣群 539 が発見されている (Koetz, 2012)。トウヨウミツバチの侵入をそのまま *N. ceranae* の侵入と結びつける証拠は現状では何もないが、ある程度の蓋然性のある経路仮説にはなるだろう。

1996 年の *N. ceranae* 発見以前に、インドや中国などでトウヨウミツバチにおけるノゼマ病の症例報告が複数みられる (Singh, 1975; Lian, 1980; Yakobson et al., 1992)。その当時はセイヨウミツバチからの *N. apis* に交差感染したものと考えられたが、実際には検出された微孢子虫が *N. ceranae* であった可能性も指摘される (Fries et al., 2006, Fries, 2010)。しかしこれも裏を返せば、1996 年以前にヨーロッパや南北アメリカでノゼマ病が発生した際に、おそ

らく従来の *N. apis* によるものと判断され、新種のノゼマによるものと疑うことはなかったであろう。もし *N. ceranae* 分布拡大がミツバチヘギイタダニのそれと同時期であったとすれば、ノゼマ病の発生地で、長らく侵入が見逃されていたとしても驚くにはあたらない。遡って調べた 1990 年代のノゼマ病標本から *N. ceranae* が検出されたことと、分布域の急速な拡大はそのことを雄弁に物語る。

2010 年にはタイにおいてセイヨウミツバチとトウヨウミツバチに加えて、オオミツバチ *A. dorsata* とコミツバチ *A. florea* においても *N. ceranae* の感染が確認された (Chaimanee et al., 2010)。これは、もともと同所的に生息しているミツバチ間のことであり、寄主の転換はかなり古い時期に起きたと考えられる。Chaimanee et al. (2011) は、タイにおいてこれら 4 種のミツバチに寄生する *N. ceranae* が、極糸タンパク質遺伝子の塩基配列データに基づいた系統解析で、1) 閉鎖空間営巣性のセイヨウミツバチとトウヨウミツバチ、2) 開放空間営巣性のオオミツバチ、および 3) 同じくコミツバチの 3 つのグループに分類できることを示した。極糸タンパク質はノゼマの感染能に関係すると考えられ、寄主特異的な進化が起きた可能性も示唆される。ただコミツバチから分離した *N. ceranae* の胞子を用いたトウヨウミツバチへの感染実験では、感染による働き蜂の下咽頭腺内のタンパク質量の減少および寿命短縮といった症状も確認され (Suwannapong et al., 2011)、寄主特異的な性質を獲得するに十分な時間は経過していないともいえる。

N. ceranae の侵入時期が 1970 年代であった可能性のある南米のアルゼンチンでは、土着のマルハナバチ 6 種のうちの 3 種 (*Bombus atratus*, *Bombus morio* および *Bombus bellicosus*) に *N. ceranae* が感染しているのが確認されている (Plischuk et al., 2009)。確認された地域はセイヨウミツバチを用いた養蜂が盛んな地域で、現地のセイヨウミツバチからは *N. ceranae* が検出されており (Plischuk et al., 2008)、属を超えた寄主の拡大につながったと

考えられている。この属を超えた寄主転換も、Shafer et al. (2009) が示したミツバチ科に寄生するノゼマ3種の系統関係(図2)を考えれば大いにありそうなことに思えるが、結論を出すためには他の地域のマルハナバチのノゼマ感染の現状調査が必要であろう。

N. ceranae の発見当時は、セイヨウミツバチへの感染は起こるものの、その分布域はトウヨウミツバチの生息域であるアジアに限られると推測されていた(Fries, 1997)。ここでは*N. ceranae* は同所性のミツバチには感染が広がっていたであろう。またアジア各地に19世紀以降、養蜂技術とともに導入されたセイヨウミツバチに寄主転換が起きたのも、導入時期からすぐの古い時代のことだと推測されるが、遡って感染状況を知る検体は存在していない。

ノゼマ病の拡散媒介者として、ミツバチを大量に補食するハチクイドリ *Merops apiaster* の存在も注目されている。*N. ceranae* の胞子はハチクイドリの吐瀉物中で感染力を保っており(Higes et al., 2008)、ハチクイドリが感染した働き蜂を補食して吐瀉物をまき散らすことで、胞子が散布されることになる。Valera et al. (2011) はスペイン、スロバキア、キルギスタン、イタリアで採取された吐瀉物から感染力のある*N. ceranae* の胞子を検出している。ハチクイドリは越冬のために渡りをするが、移動距離が大きく、*N. ceranae* の胞子散布範囲を広げている可能性がある。

また、蜂群はもちろん、女王蜂や養蜂生産物の国際取引が、ノゼマ病の拡散要因となりうる。しかし、2005年以降、ノゼマ病は国際獣疫事務局の監視伝染病から外れており、国際的な予防措置は執られていない(Mutinelli, 2011)。

本稿執筆時点で*N. ceranae* の感染がセイヨウミツバチにおいて確認されているのは表2に示した国および地域である。未確認の報告もあるのですが、実際にはさらに多くの地域に及んでいると思われる。

なお、原寄主であるセイヨウミツバチが全世界に人為分布していることで、*N. apis* も依然として広い地域で見られるが、前述のように温度

表2 セイヨウミツバチでの*N. ceranae* 感染分布

国名等 (出典)	
アジア	
日本	(Yoshiyama and Kimura, 2010)
韓国	(Choi et al., 2006)
台湾	(Huang et al., 2007)
中国	(Liu et al., 2008)
ベトナム	(Klee et al., 2007)
タイ	(Chaimanee et al., 2010)
ヨーロッパ	
スウェーデン	(Klee et al., 2007)
フィンランド	(Korpela, 2009)
デンマーク	(Derakhshifar et al., 2009)
リトアニア	(Blažyte-Cereškiene et al., 2014)
ポーランド	(Topolska and Kasprzak, 2007)
ドイツ	(Martin-Hernandez et al., 2007)
チェコ	(Kamler et al., 2009)
ハンガリー	(Tapaszi et al., 2009)
スイス	(Martin-Hernandez et al., 2007)
オランダ	(Van der Zee et al., 2008)
フランス	(Chauzat et al., 2007)
イギリス	(Budge, 2008)
スペイン	(Higes et al., 2006)
ポルトガル	(Sância et al., 2013)
ギリシャ	(Klee et al., 2007)
イタリア	(Klee et al., 2007)
ブルガリア	(Parvanov and Rusenova, 2014)
マケドニア	(Stevanovic et al., 2010)
モンテネグロ	(Stevanovic et al., 2010)
クロアチア	(Gajger et al., 2010)
セルビア	(Klee et al., 2007)
ボスニアヘルツゴビナ	(Santrac et al., 2009)
中東	
トルコ	(Whitaker, 2010)
ヨルダン	(Haddad, 2014)
アフリカ	
アルジェリア	(Higes et al., 2009)
ベニン	(Mumoki et al., 2014)
アメリカ	
アメリカ	(Williams et al., 2008)
カナダ	(Williams et al., 2008)
メキシコ	(Guzman-Novoa et al., 2011)
仏領マルティニク	(Klee et al., 2007)
コスタリカ	(Calderón et al., 2008)
ベリーズ	(Rangel et al., 2013)
ブラジル	(Teixeira et al., 2008)
ウルグアイ	(Antunez et al., 2006)
アルゼンチン	(Reynaldi et al., 2010)
チリ	(Rodriguez et al., 2012)
オセアニアおよび大洋州	
オーストラリア	(Giersch et al., 2009)
ソロモン	(Botias et al., 2012)

が分布に影響する傾向があり、実際にスペインなど南ヨーロッパではおおむね*N. ceranae* に置換されているのに、ドイツでは依然として*N. apis*の方がよく検出される(Gisder et al., 2010)。

N. ceranae の原寄主であるトウヨウミツバチの分布するアジアのうち、インドネシアで

は1994年に採集されたトウヨウミツバチとセイヨウミツバチから *N. apis* の感染が報告されているが (Rice, 2001), タイでは *N. apis* の感染は未確認で (Chaimanee et al, 2010), *N. ceranae* が優先分布していると思われる。

診断法

従来、ノゼマ病は、実際に症状が見られ多数の罹患群が観察されるのは春で、夏には流行が収束し、秋に再び若干の流行を見るという季節性が知られていた。冬の間、徐々に感染した蜂が増え、冬を越えた働き蜂が新しい若い働き蜂と入れ替わる前に大きな流行のピークを迎える。越冬をせず通年ミツバチが活動する地方では、*N. apis* の罹患率の季節変化は乏しく (Fries and Raina, 2003), ノゼマ病発生の季節消長には、その土地の気候が重要な要因となっている。しかし、スペインでのノゼマ病の季節消長は、2003年までは夏に罹患が少ないパターンであったのに、*N. ceranae* 陽性の症例が増える2005年以降は完全に季節性が消失し、夏にも多数の罹患群が見られるようになった (Martín-Hernández et al., 2007)。*N. ceranae* によってノゼマ病の流行時期が定まらなれば、ミツバチの異常の診断には不利に働く。

いずれのノゼマ病も感染した働き蜂の外見的異常は特に見られず、*N. ceranae* に感染した場合には、本病の特徴とされてきた激しい下痢症状も見られない。したがって、ノゼマ感染の診断は剖検による光学顕微鏡や電子顕微鏡での観察か、あるいは分子生物学的手法が選択される。

N. ceranae の胞子は、*N. apis* のものに比べてわずかに小さいが、光学顕微鏡を用いて混合感染下の2種を判別するのは困難である (図2)。透過型電子顕微鏡を用いると、コイル状に巻いている極糸の本数が *N. ceranae* では20~23本なのに対して、*N. apis* では30本以上あり、これが両種のよい識別点になるが (図3, 表1), 判別のため多数のサンプルを電子顕微鏡で観察することは現実的でない。

そこで現在までにノゼマ病の診断および2種の判別のため、分子生物学的方法として複数

のPCR法が実用化されている。PCR-RFLP法 (Higes et al., 2006; Klee et al., 2007) や1種だけに特有の塩基配列を用いたPCR法 (Chen et al., 2008), 2種のノゼマ由来の断片を同時に増やすPCR法 (Martín-Hernández et al., 2007) などが発表されている。実際には、混合感染事例が多いため、2種のノゼマの有無が一回の分析で判別できる方法が実用的で、OIEもこの方法を推奨している (OIE, 2014)。

また2種の感染力や感染毒性の強さを実験的に比較し、評価するためには、定量PCR法が不可欠である。高性能システムを使用し、定量性が高く、2種のノゼマを同時に検出可能なリアルタイムPCR法もあるが (Bourgeois et al., 2010), そのような特別なシステムを導入することなく、簡易なDNA抽出法による抽出物から *N. apis* および *N. ceranae* 由来の増幅産物の量を、ミツバチのハウスキーピング遺伝子の増幅産物の量と比較して、1匹の働き蜂に感染しているノゼマの種類と量を知ることができる。廉価で、時間的コストも小さい方法も開発されている (Hamiduzzaman et al., 2010)。

いずれにしても、*N. ceranae* に感染した働き蜂や蜂群には外見上の特徴となる症状がまったくないため、飼育者が感染に気付くことができず、感染が進行して蜂群が弱体化するまで放置されることが多い。地域的に定量PCRで感染調査が行われているが、そのような調査を継続的に行い、かつ、その結果を、養蜂家が即時に閲覧でき、自身の蜂群管理に活かせるような迅速な診断サービスの提供が、今後は望まれる。

なお、現在、ミツバチにノゼマ病を発症させるのは *N. apis* と *N. ceranae* の2種で、原因生物の差が、前述のような症状の差に関係する。そこで、従来の *N. apis* の感染によるノゼマ病をA型ノゼマ病 (nosemosis type A), *N. ceranae* の感染によるノゼマ病をC型ノゼマ病 (nosemosis type C) と呼び分けることが、2009年に開催されたミツバチの蜂群損失を防止するための国際組織 COLOSS (Prevention of Honey Bee Colony Losses, 本部スイス) の会議で合意されている (Higes et al., 2010)。実

際には混合感染も多く見られるので、疾病名を分別することの意義はやや弱いですが、すべてを一括りに扱わないことには意味を見いだせる。

なお COLOSS では、ミツバチの種々の問題に関係した実験手法を標準化して、実験間の結果比較ができるような方法論の国際統一を目指し、国際ミツバチ研究協会 International Bee Reserach Association (IBRA, 本部イギリス) の協力を得て、2013年に同協会の Journal of Apicultural Research 誌の 52 巻 1 号および 2 号を BEEBOOK と銘打ったミツバチ研究手法特集号として刊行している(特集号についてはインターネット上で無償公開)。ノゼマ研究における標準手法も Fries et al. (2013) によってとりまとめられており、これまでに論文発表されてきた分子生物学的検出法もまとめて記載されており、分子診断の現場では大いに役に立つ。

防除法

一方の防除については、現状では確実な手法がない。*N. apis* 感染の場合は糞で汚染された巣板が感染源となることが多いので、巣板の更新や消毒(酢酸による燻蒸など)が有効であったが(Bailey 1955; Fries, 1988), 下痢を伴わない *N. ceranae* の場合、感染経路が不明で、巣板だけの処理で予防効果が得られるかどうかは確認されていない。現状では *N. ceranae* についての伝播様式や感染経路などについての知見、あるいは地域や季節、ミツバチの状態などによっても変化するであろう病毒性についての情報の収集が最優先事項で、それがなければ従来のノゼマ病対策の実効もわからない。

微孢子虫類に効果のある抗生物質フマギリン(商品名は Fumagilin-B, 旧 Fumidil-B)は、1952年に *N. apis* によるノゼマ病に有効であることが確認され(Katznelson and Jamieson, 1952), これまで長く使われてきているが、*N. ceranae* にも有効であることが確認されている(Williams et al., 2008)。現在、アメリカやカナダなどフマギリンによって *N. ceranae* を防除している地域もあるが、ヨーロッパの多くの地域では、2012年のEUの勧告によってミツ

バチを含む家畜への疾病予防目的での抗生物質投与が禁止されている。

高緯度地方のカナダにおいては、感染群を室温 5℃前後、暗黒条件下の屋内で越冬させたところ、屋外で越冬させた蜂群よりも生存率が向上した(Williams et al., 2010)。恒温下でストレスが軽減したためと考えられるが、感染率自体は低下していない。

ノゼマ病について、亜種や系統による感受性の差も検証されている。*N. apis* については、*A. m. ligustica* (イタリアン)、*A. m. mellifera* (ダーク) および *A. m. carnica* (カーニオラン) の 3 亜種の比較感染試験によって、カーニオランはイタリアンと比較して死亡時の孢子数が大幅に少なく、体内でのノゼマの増殖が遅いことが示唆されている(Malone et al., 1995)。しかし、*N. ceranae* については、セイヨウミツバチの商業系統では感染率は高いものの影響はいずれも小さく(Rinderere et al., 2013), また亜種間の感受性差よりも、蜂群間差の方が大きいとされている(Fontbonne et al., 2013)。

家畜の衛生管理では、疾病への抵抗性は重要な課題と考えられ、一般的に抵抗性系統の選抜が行われる。ミツバチにおいてもアメリカ腐蛆病(Spivak and Reuter., 2001; Genersch et al., 2005) やパロア病(Rinderer et al., 2001; Ibrahim et al., 2007) などの抵抗性系統の選抜・作出は試みられ、*N. ceranae* についても抵抗性選抜の意義は指摘されている(Fontbonne et al., 2013)。しかしミツバチの女王蜂が多回交尾をして蜂群の遺伝的多様度を高めることで得ている利益の優先度が高いことから生物学的には評価しにくく、また疾病抵抗性などの特定の形質の固定は技術的にも困難を極めている。

日本におけるノゼマ

日本においては、1954年に『『ビキニの死の灰』によって起きた』と騒がれた東海地方に広範囲に見られた蜂群の「蜂減り」現象がノゼマ病であった可能性が指摘されている(渡辺・渡辺, 1974)。1958年にはノゼマ病の確定診断報告があり(北岡, 1958), また1998年以降,

少数ながら発生が届けられている (図 1)。

2000 年には静岡県でノゼマ病とサックブルード様疾病混合感染が報告されている (田中, 2000)。この事例では下痢などの従来型のノゼマ病の病徴がなかったことが特筆されており、また光学顕微鏡による診断であったため、実際には *N. ceranae* 感染であった可能性もある。

2008 年に茨城県で飼育中のニホンミツバチ 12 検体から検出されたノゼマは、*N. apis* が 25%、*N. ceranae* が 75% で、同時期に調べられた中国や台湾のトウヨウミツバチに感染していた 2 種のノゼマの検出比率と類似の傾向になっている (Chen et al., 2009)。また 2009 年夏には、18 県 25 群から集めた 336 検体のセイヨウミツバチが調べられ、3 県 (三重、広島、佐賀) の 5 群 7 検体から、*N. ceranae* のみが検出され、日本のセイヨウミツバチではノゼマの寄主転換が進み、*N. ceranae* が優占種になりつつあることが示された (Yoshiyama and Kimura, 2011)。ただ、検体採取時期が夏であったことから、*N. apis* の感染率が低かった可能性も考察されている。

また遺伝子解析の結果から少なくとも 2 系統の *N. ceranae* が存在しており、それらは台湾で単離されたものと、オーストラリアおよびアメリカで単離されたものとそれぞれ塩基配列が相同であった (Yoshiyama and Kimura, 2011)。このことは *N. ceranae* が異なる地域から複数回にわたって日本に侵入した可能性を意味する。日本が大量に輸入しているローヤルゼリーや花粉、ハチミツなどの生産物からも *N. ceranae* は検出されており (Cox-Foster et al., 2007; Higes et al., 2008; Giersch et al., 2009)、これらが感染源となったかも知れない。

一方で、ニホンミツバチに低頻度で感染している *N. ceranae* が寄主転換によってセイヨウミツバチに感染する経路も存在しうる (Yoshiyama and Kimura, 2011)。その場合、日本ではセイヨウミツバチが長期にわたって *N. ceranae* に接触していたことになるが、これまでのところ重症症状の発生の報告はない。

その点でノゼマ病防除の緊急性は現状では低

いといえる。防除が必要な場合、日本では、動物医薬品として国内登録されたフマギリン製剤はないが、巣板の更新や電解水 (特定農薬指定) を用いた消毒には一定の効果はあるだろう。

ノゼマ病は外見的標徴での診断が難しく、飼育者がノゼマ病の感染を把握することはほぼ不可能である。まだ浸潤が深刻なレベルでないとすれば、移動養蜂が重要な位置づけを持つ日本の養蜂様式では、今後、ノゼマ病が加速度的に拡散する可能性も高い。そのような状況では、ニホンミツバチを含めた継続的な浸潤調査が持つ意義は実際に大きいと思われる。現行の定期的な蜂病検査は主として腐蛆病蔓延防止を念頭に行われていることもあり、蜂群に異常を感じた飼育者は、自ら近隣の家畜保健衛生所や研究機関に相談することを勧めておきたい。

(中村佳子：〒 252-0132 神奈川県相模原市緑区橋本台 3-7-11 一般財団法人生物科学安全研究所；中村純：〒 194-8610 東京都町田市玉川学園 6-1-1 玉川大学ミツバチ科学研究センター)

主要な引用文献

- Fries, I 2010. *J. Invertebr. Pathol.* 103: S73-S79.
- Fries, I. 2014. Microsporidia, honeybees, and colony collapse disorder. *IN Microsporidia: Pathogens of Opportunity*. Weiss and Becnel (eds). pp. 571-577.
- Higes, M., R. Martín-Nernández and A. Meana. 2010. *Apidologie* 41: 375-392.
- Higes, M., A. Meana, C. Bartolomé, C. Botías and R. Martín-Nernández. 2013. *Environ. Microbiol. Rep.* 5: 17-29.
- 田中ちぐさ. 2006/10. *ミツバチ科学* 27: 119-122.
- 渡辺寛・渡辺孝. 1974. 近代養蜂. 日本養蜂振興会, 岐阜. 726 pp.
- KEIKO NAKAMURA¹⁾ and JUN NAKAMURA²⁾. New nosemosis-new microsporidian parasite, *Nosema ceranae* and Western honeybee, *Apis mellifera*. *Honeybee Science* (2014) 29 (1/2): 19-32. 1: Research Institute for Animal Science in Biochemistry and Toxicology, 3-7-11 Hashimoto-dai, Midori-ku, Sagami-hara, Kanagawa, 252-0132 Japan; 2: Honeybee Science Research Center, Tamagawa University, Machida, Tokyo, 194-8610 Japan.

This review provides information for beekeepers, researchers and field inspectors on the new nosemosis caused by a microsporidian parasite, *Nosema ceranae*. Topics here are its general taxonomy, biology, virulence, host switching and current distribution, diagnosis and control, including with the present situation of nosemosis in Japan.