

スローロリス属の毒を利用した防御と外部寄生虫との関連はあるのか？節足動物におけるスローロリス毒の致命的効果

Nanda B. Grow(b*), Wirdateti (a,b), K.A.I Nekarlis (b*)

a Division of Zoology, Research Center for Biology (LIPI), Jakarta-Bogor, Indonesia

b Nocturnal Primate Research Group, Oxford Brookes University, Department of Social Sciences, Faculty of Humanities and Social Science, Gibbs Building, Gypsy Lane, Oxford, OX3 0BP, United Kingdom

ARTICLE INFO

Article history:

2014年7月28日受領

2014年12月15日改定版受領

2014年12月17日認可

2014年12月18日よりインターネット掲載

Keywords:

スローロリス

ニクチセブス属

外部寄生虫

毒による防御

防虫剤

要旨

スローロリス (ニクチセブス属) により組成される毒は種内または種と種の間において有毒性のものである。本研究ではその毒の外部寄生虫の防虫効果について評価する。インドネシアに生息する 2 種類のスローロリスから抽出した毒を検査した。ジャワスローロリス (*Nycticebus javanicus*) とスンダスローロリス (*Nycticebus coucang*) の 2 種。節足動物を両種から抽出した上腕リンパ節分泌液とだ液を混ぜた液体に接触させたところ、活動は直ちに止み、76%の活発性が減少した後に 61%の割合で死亡した。両種の 60 分間における実験では特に違いは見られなかった [$X^2 (1, n = 140) = 2.110, p = 0.3482$]。毒による致死性は節足動物の分類群により変化するという確証を得ることができた。およそ 84%の蛆虫は毒接触後 10 分後に活動低下が見られ、毎回の実験で 42%が 1 時間後に死亡した。一方でクモを使った実験では 1 時間後に 78%が死亡した。節足動物が毒と接触し、死亡し

た平均時間が 25 分内であった ($M = 24.40$, $SD = 22.60$)。ノミなどの外部寄生虫はクモ綱に属し病原菌を宿主に移すために、毒性の液体による攻撃対象になると考えられる。我々の実験結果はスローロリスの毒は体調に影響を及ぼす寄生虫を撃退し、毒を体に塗り付ける習性は外部寄生虫を防ぐための環境適応行為であることを提案するものである。

1. 序論

哺乳動物で毒性の液体を作り出す動物は殆ど知られていない (Ligabue-Braun et al., 2012)。哺乳動物の持つ毒の機能に個別に違うものであるが、獲物を追いやったり、捕食者から護身に為に使用したり、種内の競争で使うことがその機能に含まれる (Ligabue-Braun et al., 2012)。スローロリス (ニクチセブス属) は例外的な東南アジアに生息する霊長類である。謎がまだ多く、夜行性であり、毒を作り出し局所的、または噛みついて毒を与える。スローロリスは毒を組成する唯一の霊長類であり、上腕リンパ節から分泌される液体とだ液を口の中で混ぜて毒を作り (Alterman, 1995)、毛を舐めて体に塗ったり、敵に噛みついて毒を与えたりする。本評ではインドネシアに生息するスローロリスの毒の適応における重要性を無脊椎動物に対する作用と考慮し、検討する。Nekari et al.(2013)はスローロリスの毒は捕食者、同種動物、獲物、外部寄生虫と 4 種類の想定される生物競争 (相互排他的ではない) において撃退したり、身を守ったりする機能を果たすと提案している。毒が獲物を麻痺させるために使われると仮定しても (Allterman, 1995)、スローロリスは獲物を素早く食べる上に、そのような証拠は殆ど確認されていない。過去の研究では同種内の争いの際に身を守る意図で毒が利用されると提案されているが、一方で捕獲されたスローロリスの間では噛まれた後の怪我が疾病や死亡の主たる要因となっている (Sutherland-Smith and Stalis, 2001)。さらに、捕食者が毒を与える対象とも考えられるが、捕食者が毒性化合物を組成する獲物を狙うことはあまりない (Alterman, 1995; Nekaris et al., 2013)。この仮説の支持する事例として、ジャワスローロリスの母親が自分の子供の体に毒を塗り付けているのを目撃している (Nekaris et al., 2013)、子供に毒をぬることで捕食者が弱い子供を狙うことを止める意図があると考えられる。後者の仮説に関しては、化学的毒素はの一つの機能として脊椎動物に外部寄生虫を寄せ付けなくする作用がある (Weldon,2010)。外部寄生虫は宿主の健康を害する重要な選択圧であり (Weldon and Carroll, 2006)、スローロリスが生息する東南アジア諸国によく見られる (Anastos, 1950)。野生、捕獲されたスローロリスどちらにも外部寄生虫が発見することは殆どなかった、300 以上のスローロリス全ての種を検査しても、外部寄生虫が発見された事例は 2 件のみであった (Nekaris et al., 2013; Streicher, 2004)。口内のだ液、上腕リンパ節分泌液、もしくは 2 つの混合液が寄生虫を寄せ付けない作用をもつと考えられている。節足動物のスローロリス毒に対する生理学上の反応を検証し、スローロリスが生成する毒が外部寄生虫を致死させるものかどうかを研究する。我々の想定は以下の通りである。a)スローロリスの毒液に直接ふれた節足動物は短時

間で絶命に致る b)節足動物はスローロリスの毒液が塗られたエリアを避けて移動する。

2.資料と方法

2.1 研究施設

大人のジャワスローロリスにより生成された毒の忌避性に関して、ジャワ西部にあるガレット地区にあるアグロフォレストリー研究所 (S7° 6'6 & 107° 46'5) にてジャワスローロリス (*N.javanicus*) を、最近スマトラで違法野生動物売買から差し押さえられた大人の野生スローロリス (*Nycticebus coucang*) を西ジャワスカブミ地区にあるシカナンガワイルドライフセンター (S7° 00'23.9 & E108° 33'3.9) にて研究した。

2.2 サンプル採集と準備

実験はインドネシアの関連法、著者の施設のガイドラインに従って実施された。2013年7月と2014年1月の期間に、ジャワスローロリスの上腕リンパ節分泌液 (BGE) とだ液のサンプルをステリリンスワブキットを使い採集した (n = 49)。2014年3月にだ液と上腕リンパ節分泌液のサンプルを無菌ガラスバイアルにて保管されたコットンスワブと遠心分離されたサリメトリックスオーラルスワブを使って採集した (n = 42)。スワブが採取毎に取り換えられ、サンプルが冷凍保存された。

Alterman(1995)の手法を用い、凍らせた BGE を含むスワブを、疎水性物質を溶媒和させる 6%の蟻酸 2ml で溶媒し希釈、抽出した。あるいは、メタノール 50%と塩化メチレン 50% を 1 : 1 の割合で合わせた 2ml (脂溶性) でも溶媒した。溶解剤は実験対象の 2 種それぞれで効果を測定するために検査された、結果としてメタノール : 塩化メチレンの溶剤は単独で他の種の節足動物に影響を与えたため、蛆虫にのみ使用された。通常室温で 30 分培養させた後、100ul アリコートのだ液を抽出液と混ぜ、そのままさらに 15 分培養させた。他には、スワブに浸しただ液に毒素液を足し、15 分培養させた後、ピペットで混ぜ合わせた。だ液のみを使用した実験では、溶媒もなくだ液をそのまま使用した。実験に使用された溶剤のサンプル保管種類、サンプルを検出したロリスの性別は全て記録されている。

実験用に体長 1-1.5cm のクモ (Arachnida)、体長 2cm の蛆虫 (Diptera larvae)、アリ (Hymenoptera) ノミ (Siphonaptera)、体長 2cm のケムシ (Lepidoptera larvae) などの様々な昆虫を採集した。研究地域に生息するダニの採集には、ダニは宿主を探すのに二酸化炭素の放出を頼りにすることを想定し(Sonenshine,2013)、成長した硬ダニを採集するためドラッグフラッグメソッド用い (Carroll and Schmidtman, 1992)、軟ダニを採集

するためドライアイストラップを仕掛けた。成長したダニが 2 週間採集できなかった期間には、ヒメグモ科、クモ形綱亜目の樹木に生息する体長 7mm (1100a.s.l) クモ (arboreal spiders, Suborder Araneomorphae, Family Theridiidae) をダニ同様の効果があるかを確かめるため代用実験を行った。

2.3 実験手順

2.3.1 寄生虫を液体に接触させるテスト

上腕リンパ節分泌液、だ液、溶剤の液体はガラスペトリ皿上のサンプルに注入された。同サイズ、同種のサンプルのコントロールにはこの液体しか使用されていない。だ液のみを使った実験では、コントロールとして水が使われた。以下の量の液体がマイクロピペットを使って各節足動物の頭部を除く、腹部に塗られた。体長 1cm

以下>100ul、体長 1.5cm>200ul、体長 2cm>300ul。全てテストは運動活発な個体にて行われ。0分、10分、30分、60分の間隔を置いて記録を取った。効果なし（無反応で元のまま動き続けている）、活発性減少（自発運動活性の減少）、不全（運動不全）、絶命に分けられ、絶命までの時間も記録された。

2.3.2 忌避性テスト

次の「選別」実験では (Dautel,2004; Dautel et al., 1999) 液体が実際に寄生虫を撃退するのかをテストした。選択実験ではペトリ皿は 2 つの領域に分けられ、200ul の化合物を充てられた領域と、もう一つは実験サンプルのみがいる領域になる。絵実験の始めでは、化合物が塗られた領域からは隔離された。最初の 15 秒間における実験初期反応が記録された。塗布領域に行く（化合物が塗られた皿の場所を通るなど）、塗布領域を避ける（塗られた箇所から離れるなど）が観察され、対象の活動（効果なし、活発性減少、不全、絶命）が 1 時間の実験の最後に記録された。ノミに関する同実験では、スローロリスの毛の束が用いられ毒液の塗った箇所、塗られていない箇所での行動を観察した。「選択」された領域はノミが最も頻繁に位置していた場所を示す。

2.4 データ解析

統計学的分析は JMP11 (SAS Institute Inc.,2014)、Excel14.2.0 (Microsoft Corp., 2011)にて実施されている。分析では「不全」と「活発性減少」といったカテゴリーを単純化するために一つのカテゴリーとした。

3. 結果

3.1 接触テスト

121 の実験対象 (Arachnida: n = 53; Siphonaptera: n = 8; Diptera: n = 35, Hymenoptera: n = 13; Lepidoptera: n = 12) に 93 回の毒素を充てる実験を行い、内 23 回が比較実験になる。対象が絶命した実験における平均致死時間は 24.40 分 (n = 50; SD = 22.60) ノミ (n = 3)、蛆虫 (n = 3)、クモ (n = 10) に対してだ液または上腕リンパ節分泌液のみで行った実験では比較実験のものより ($X^2(1, n=16)=1.27, p=0.53$) も、結果 ($\alpha = 0.05$) に著しい違いは見られなかった。以上の実験はサンプル数の保つために中止され、上腕分泌液とだ液の混合液も残りの実験に使用された (n = 73)。

Pg2 図内翻訳

表 1 10 分、60 分後に観察された各実験の結果カテゴリー (効果なし、不全、絶命)

(Pg 3 つづき 上部 Arthropods...以降)

2 種類のスローロリスの上腕リンパ節分泌液とだ液の混合液に直接晒された 76% の節足動物は短時間で運動不全に陥り、各回の 61% は致死に致る結果を得た。混合液に晒された節足動物は、混合されていない液体 [$X^2(1, n = 113) = 22.59, p < 0.0001$] で行われた実験結果とは著しく異なる結果となった。外的な物質に対する反応による感わされないよう、液体に接触した初期反応は分析として考慮していない。クモと蛆虫が絶命するまでの時間に際立った違いは見られなかった [$t(40) = 1.37, p = 0.177$]。84% の蛆虫は毒液に晒された 10 分後に最初の活発性減少が観察され、実験 1 時間後に絶命した蛆虫は 42% だけであった (表 1、図 1)。対照的に、毒素に晒された 10 分経過後には 63% のクモは運動不全になり、18% が絶命した (表 1)、1 時間経過後には 78% のクモが死に至った (表 1)。スローロリス (*Nycticebus coucang*) とジャワスローロリス (*Nycticebus javanicus*) の結果に違いは殆ど見られなかった [$X^2(df = 1, n = 93) = 2.11, p = 0.35$; 表 1]。クモに関しては 2 種の実験で絶命までの時間に若干の違いがあった (Kruskal Wallis: $Z = -1.974, p = 0.048$)。ジャワスローロリスの毒を塗られたクモは平均 39.18 分絶命まで時間がかかり、スローロリスはの液体では平均 23.38 分の時間がかかった。性別の違いによる 60 分の実験結果の変化 [$X^2(1, n = 93) = 7.45, p = 0.11$]、絶命までの時間は観察されなかった。男女別々の液体、混ぜ合わせたものでも結果は同じであった (ANOVA: $F(2, 47) = 3.06, p = 0.06$)。

3.2 忌避性テスト

ノミ (n = 2)、蛆虫 (n = 10)、クモ (n = 3) を使った選択実験は合計 17 回行われた。実験対象が意図的に毒の領域を避けているという一貫性はどの結果にもなかった。およそ半分の蛆虫、クモは全部 BGE とだ液が混ざった液体箇所を動きまわり、運動不全に陥った。

4. 考察

スローロリスの毒が有毒であり、様々な昆虫種を絶命させるものであることを説明する。

図面内翻訳

図 1

棒グラフは 1 時間の実験が行われた節足動物 (Lepidoptera n = 10, Arachnida n = 45, Diptera n = 23) の結果を示す

Death = 絶命

Impaired = 不全

No effect = 効果なし

Count = 観測結果数

Anthropod by species = 節足動物種類

(つづき、3pg 右半分 1 段目...insect species. 以降)

過去の研究結果 (Alterman, 1999) と一貫して、液体が毒素となるのは、上腕リンパ節の分泌液がだ液と混ぜられた時のみであることを確認した。毒性の効果の具合は分類群に特有するもので、節足動物の種類によっても変わる。毒は蛆虫やケムシよりもクモやアリに対してより致命的な効果をもたらすことから、ある種の外部寄生虫を抑制する効果を持つことが考えられる。

化学的毒性は脊椎動物を外部寄生虫から狙われにくくする機能を持つ (Weldon, 2010)。Alterman(1995)はスローロリスの毒には 2 種類あることを発見した。一つは水溶性のもともう一つは脂溶性のものだ。従って、毒素は循環器に送られるか、より早く脂肪組織に注入されることができる。つまり、一方の種類は捕食者に噛みつくことで直接毒素を送り込み、もう一方では外部寄生虫などに対して体の局所に塗り侵入を抑制する効果を得ることができる。スローロリスは活動時間の 10% を一人で毛づくろいをする行為に費やし (Rode et al. in Press)、自分の舌で体のほぼ全域を舐めることができる。とりわけ、腕を舐め、その腕で頭と顔をこするのは特徴的である (Schulze and Meier, 1995)。スローロリスの上腕リンパ節分泌液は唾液を混ぜられた時、手または口で毛に塗り込まれ、外部寄生虫の量を減らす効果的な手段となる。外部寄生虫の量がスローロリスの強い淘汰圧力と考えられる理由にロリスの社会構造がある。スローロリスは単独で睡眠をとる (Wiens and Zitzmann, 2003)、従って社会的集団によくある集団グルーミングという行動をとる機会は殆どない。社会的な集団生活様式には寄生虫のリスクが高く、集団で観戦する可能性があるため、グルーミングといった環境適応の行動を身につけることで、感染のリスクを減らした。毒性の化合物を害虫の駆除目的で使用することで知られる脊椎動物は他にもいる。多くの鳥は虫を追い払うアリの化学的特性を利用し (Weldon and Carroll, 2006)、ニューギニアに生息するピトフイーは獲物であるメリーリッドビートルの生成する化合物を摂取し、寄

生虫からの防御組織を取り入れる (Dumbacher et al., 2004)。オマキザル属 (Cebus) , ヨザル (Aotus) , クモザル (Ateles) などの他の霊長類はダニなどの寄生虫を寄せ付けないよう、効果的に虫や葉を体に塗り付ける (Alfaro et al., 2012; Falotico et al., 2007; Laska et al., 2007)。月に 3 回、実験用のスローロリスを全て検査しても外部寄生虫は発見されなかった。一方で森林農業地環境の現地動物は酷く寄生虫に感染されていた。(Albers et al., 2013)

スローロリスの毒が他の節足動物よりもクモに特に効果を示したのは特筆すべき点である。ダニはクモ形網の動物であり、スローロリスの毒の被害対象になることが多い。蚊のように長い時間宿主に寄生しない他の外部寄生虫を追い払うために毒を体に塗るとは考えにくい (Weldon et al., 2011)。外部寄生虫は毒を嗅覚をたよりに知覚しているようである。外部寄生虫が宿主の体調に大きな影響を与える事はあまりないが、ダニのような寄生虫は危険性の高い病原体を移すことがある。ダニはインドネシアに生息するスローロリスの脅威となりうる。スマトラには 22 種のダニが生息し、ジャワには別の 18 種が生息する (Anastos, 1950)。特にスダスローロリス (*Nycticebus coucang*) は *Haemaphysalis Koningsbergeri* の宿主であると報告されたことは有名である (Anastos, 1950)。ダニの殆どは地面や低木層地で発見され、樹上で採取されるようなダニは木の上を生息地とする霊長類により運ばれたと考えられる (Loaiza et al., 2014)。研究対象のスローロリスもダニによる影響を受けていた可能性がある。野生のジャワスローロリスは生息地の障害により地面を移動することが頻繁にある (Rode et al. in Press)。グレイタースローロリスは他の脊椎動物の間に捕らわれることがあり、その時期には高いストレスを感じ、免疫力も低下する (Streicher, 2004)。両種の全体に外部寄生虫が少ないという事実は、他の要因である毒素が寄生虫の抑止となっている根拠となる。

ダニは一般的に人間や動物に対して病原体を運ぶと認知されている (Dautel et al., 1999; Sonenshine and Mather, 1994)。ダニにより発生する病原体は東南アジアに在来し、人間やその他動物への影響はまだ情報が少ない (Petney et al., 2007)。ダニが日常的に広がる地域では、病原体の被害から身を守る進化があったと考えることができる。特に宿主に長い期間くっついていてるダニには、局所的に塗られる毒は効果的である (Carroll et al., 2005)。だ液と混ざっていないスローロリス (*N.coucang*) の BGE から分離されたタンパク質が猫アレルギーと非常に類似しているため、スローロリスの上腕リンパ節分泌液はアレルギーとして機能することも考えられる (Krane et al., 2003)。ハーゲイ等研究者は (Hagey et al., 2004) ピグミースローロリス (*Nycticebus pygmaeus*) の BGE には 212 の揮発性、準揮発性の化合物が複雑に混ざっていて、種の間で様々な種類があることを発見した。オルターマン (Alterman(1995)) はスマトラスローロリスのだ液と混じった上腕リンパ節分泌液は実験用マウスなどの試験動物に対しても毒性があるが、一部であるということを開発した。液体の毒素の度合いが個々により違うのは、脅威を感じる度合いや種の違い、食事、健康状態や年齢による可能性がある。今回の研究では成長したスローロリスで実験を行い、男

女による結果の差異は観察されなかった。種内、種々の毒素生成の違いは摂取する食物の違いに起因することも考えられる。ニクチセブス属の食生活は種ごとに違う。種によって違う獲物、違う果実やいつ液を食べる。例えば、ピグミースローロリス (*Nycticebus pygmaeus*) はいつ液、果実、節足動物の順番で食事をする (Starr and Nekaris, 2013)。結果的に、不確かな変化は毒素の個々の特性、寄生虫に対する感受性の違いによるものである。例えば、キツネザルの寄生虫保有量の遺伝的効果に関する研究では主要組織適合複合体対立遺伝子を持つ個体が特定の寄生虫感染と関連していることがわかった (Schwensow et al., 2010)。感染の感受性は個体により変わる。従って、遺伝、年齢、性別の個々の違いが寄生虫や捕食者の毒素への反応の違いに影響していると考えられる。このような個々の違いは部分的ではあるが、節足動物に毒素を与えた際に実験結果の違いを説明する情報であろう。本研究は霊長類における毒素を生成する進化に関する淘汰圧力の理解に貢献する。実験結果は毒の抗寄生虫作用、捕食者や同種の競争相手に対し使用する毒の用途を提案する (Nekari et al., 2013)。インドネシアに生息するスローロリスの生物化学に関する詳細な研究は未だその途中にあり、今後もスローロリスの毒の持つ抗寄生虫特性やそれら特性の進化経緯に関する情報を提供していく。

謝辞

以下本文の団体に感謝を表す。

(本文と同じ)

トランスペアレンシードキュメント

この記事に関連するトランスペアレンシードキュメントは下記の URL にある。

本文 URL

エシカルステートメント

この論文の研究はすべて独自のものであり、正確かつ客観的に書かれたものであることを保証する。化学物質はすべて安全プロトコルに従い扱われ、ニクチセブスより抽出した毒素は人道的な目的のもと、認可ガイドラインに従い利用された。提出論文の為の研究は(本文記載団体)による資金援助を受けて行われた。

参考文献

(本文と同じ)