

令和 4 年 12 月 11 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19226

研究課題名(和文)人魚鯨共通寄生虫アニサキスの地理的分布の謎に迫る

研究課題名(英文)Factors effecting the geographical distribution of zoonotic Anisakis spp.

研究代表者

良永 知義(YOSHINAGA, TOMOYOSHI)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・教授

研究者番号：20345185

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文): 鯨類を終宿主とし魚介類を中間宿主とするアニサキス2種 *Anisakis simplex* s.s. と *A. pegreffii* について、この2種の分布が地理的に異なっている原因を探った。その結果、両種の虫卵、孵化幼虫、第3期幼虫は *A. pegreffii* のほうが高温耐性が高く、かつ両種の成虫がヒゲクジラ類やハクジラ類から得られたことから、地理的分布の違いは、終宿主における宿主特異性と終宿主の分布域の違いではなく、温度特性の違いに起因していることが示唆された。また、分布の違いは従来考えられていたほど固定していないこと、寄生している種の組成はミンククジラの回遊経路の推定に使用できる可能性も示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

九州西部および北部ではアニサキス寄生による健康被害のリスクがあるにも関わらず、アニサキスが寄生しているサバ類の生食が盛んである。その理由として、この地域の魚類には健康被害を及ぼすリスクが低い *A. pegreffii* が優占しており、太平洋沿岸の魚にはリスクが高い *A. simplex* が寄生しているためと考えられているが、地理的分布の違いを生み出す原因は明らかではなかった。本研究により、地理的分布が異なる理由が明らかになり、かつ、地理的分布の違いはこれまで考えられていたほど固定したものではないということも明らかになった。これらの情報は、魚類の生食のリスク評価において重要な知見である。

研究成果の概要(英文): Two *Anisakis* species, *Anisakis simplex* s. s. and *A. pegreffii*, which have cetaceans as final hosts and fish and shellfish as intermediate hosts, show different geographical distributions. We explored the reason for their different distribution. We found that worm eggs, hatched larvae, and third-stage larvae of the latter species were more tolerant to high temperatures and that both the species were present in various baleen and toothed whales. The differences in geographic distribution was suggested to be caused by the different tolerance to high temperatures, rather than host specificity in the final hosts having different geographical distributions. Furthermore, we found that the geographical distribution of the two species in fishes were not so stable as to be currently considered and it is suggested that the species compositions of the species in minke whales could be a biological tag of migration of the whales.

研究分野：魚病学

キーワード：アニサキス 姉妹種 地理的分布 鯨類 魚類

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Anisakis 属は、海洋生物に寄生する線虫で、世界中に分布しているグループである。成虫はもっぱら終宿主である鯨類の胃内に発見される。甲殻類が中間宿主となっており、そこに寄生する第3期幼虫は、食物連鎖により延長中間宿主である魚類や頭足類に移動する。ヒトが本虫に寄生をうけた魚介類を生であるいは調理が不十分な状態で食べると、偶発的に宿主になり、健康被害を生じる。世界で報告されているアニサキス症の症例の90%以上を日本だけで占めているが、他の地域でも、魚類の生食習慣の導入により、ヒトでの症例が増加している。

日本近海の魚介類には、*Anisakis* 属線虫の中では *Anisakis simplex sensu stricto* (s.s.) と *A. pegreffii* の2つの姉妹種の寄生が最も多い。これらの2種は延長中間宿主における宿主特異性は低い、その分布は地理的に非常に明瞭に分かれていることが示唆されている。日本では、*A. simplex* s.s. が太平洋岸と日本列島北部に多く分布しているのに対し、*A. pegreffii* は東シナ海と日本海周辺に多く分布している。しかしながら、分布が異なる原因は明らかにされていない。

2. 研究の目的

これら2種の地理的分布が異なる違いを形成する要因を明らかにする。

3. 研究の方法

研究にあたって、二つの仮説を立てた。一つは、両姉妹種は終宿主における宿主特異性が異なり、それぞれの終宿主の地理的分布の違いが姉妹種の分布の違いを生み出しているという仮説。もう一つは、生物学的特性、特に水温が2つの姉妹種の分布に影響を与えているという仮説である。本研究ではこれら二つの仮説を検証するために以下の研究を行った。

- (1) 北海道沿岸および沖合におけるヒゲクジラ類の *Anisakis* 属線虫の寄生状況
- (2) 和歌山県産ハクジラ類の *Anisakis* 属線虫の寄生状況
- (3) *Anisakis* 姉妹種2種の虫卵のふ化およびふ化幼虫生残に温度が及ぼす影響
- (4) *Anisakis* 姉妹種2種の第3期幼虫に温度が及ぼす影響
- (5) 中間宿主となる魚介類における各海域における寄生状況調査

4. 研究成果

(1) 北海道沿岸および沖合におけるヒゲクジラ類の *Anisakis* 属線虫の寄生状況

北海道の網走と釧路の沿岸2地点と北太平洋の沖合1地点から採取したミンククジラ (*Balaenoptera acutorostrata*) から得られたアニサキス標本と、北太平洋沖合で捕獲されたイワシクジラ (*B. borealis*) の標本を調査した。さらに、虫体の寄生による両鯨種の胃の病理組織学的変化についても分析した。

虫体を成熟虫体(生殖腺が肉眼で観察される虫体)と未成熟虫体(生殖腺が肉眼で観察されない虫体)に分けて解析した。寄生虫の成熟度を分けずに全体的にみると、ほとんどのミンククジラとイワシクジラには、*A. simplex* s.s. が寄生していた。沿岸域のミンククジラの中には、*A. simplex* s.s. の成熟虫体と未成熟虫体が寄生している個体と *A. pegreffii* の成熟虫体と *A. simplex* s.s. の未成熟虫体が寄生している個体もあった。日本近海のミンククジラは、太平洋海域に分布する布する0系群と、主に日本海側に分布するJ系群がある。0系群は沖合域から沿岸域に回遊しその後北にむかって回遊する。J系群は黄海や東シナ海から北上して北海道沿岸まで移動する。両系群は北海道海域において両系群は合流する。興味深いことに、*A. pegreffii* 成熟虫体が主に寄生しているミンククジラのほとんどがJ系群に属しているのに対し、*A. simplex* s.s. 成熟虫体が主に寄生しているミンククジラは主に0系群に属していた(*A. pegreffii* 成熟虫体が寄生している個体の71.4%がJ系群に属し、主に *A. simplex* s.s. 成熟虫体が寄生している個体の69.2%が0系群(69.2%)に属していた)(表1)。*A. pegreffii* 成熟虫体と *A. simplex* s.s. 未成熟虫体が共寄生しているクジラは、日本海から北海道北部・東部に回遊してきた可能性がある。虫体の寄生による胃の病変は胃壁表面にとどまり、局所的かつ軽度の病変であった。

(2) 和歌山県産ハクジラ類の *Anisakis* 属線虫の寄生状況

和歌山県で捕獲されたバンドウイルカ (*Tursiops truncatus*)、マダライルカ (*Stenella attenuata*)、スジイルカ (*Stenella coeruleoalba*) に寄生している *Anisakis* 属線虫を調査し、日本近海におけるこれらのハクジラ類の *A. simplex* s.s. と *A. pegreffii* の終宿主としての役割を探った。また、*Anisakis* 属線虫の寄生によってバンドウイルカの胃に生じた病変を組織学的に調べた。

これらのハクジラ類から *A. simplex* s.s.、*A. pegreffii* および *A. typica* が採取された。*A. typica* は熱帯性のマダライルカとスジイルカからのみ採集されたが、バンドウイルカからは3種すべてが検出された(種の割合：*A. simplex* s.s. 78.1%; *A. typica* 15.9%; *A. pegreffii* 6.1%)。バンドウイルカにおける寄生率が最も高かったのは *A. typica* (調査したイルカの61.5%) で、*A. simplex* s.s. (53.9%) と *A. pegreffii* (15.4%) がそれに続いた。バンドウイルカの胃の病変は、広範囲の組織喪失を伴う局所的かつ深い潰瘍であり、中等度から重度の組織学的変化を呈していた。

表1．北海道沿岸および沿岸で捕獲されて異なる系群に属するミンククジラから得たアニサキス姉妹種の構成比

海域	個体番号	A. pegreffii : A. simplex s.s.		系群
		未成熟虫体	成熟虫体	
North Pacific (offshore)				
	NP1	0:29	0:25	0 stock
	NP2	0:18	0:7	0 stock
	NP3	0:24	0:10	0 stock
	NP4	0:27	0:9	0 stock
	NP5	0:9	0:7	0 stock
	NP6	1:28	0:21	0 stock
	NP7	0:8	0:7	Unassigned
	NP8	0:25	0:10	0 stock
	NP9	0:23	0:10	Unassigned
	NP10	0:9	0:10	0 stock
	NP11	0:19	0:15	0 stock
	NP12	0:23	0:16	J stock
Abashiri				
	A1	0:5	1:6	J stock
	A2	1:9	6:1	J stock
	A3	0:10	0:10	J stock
	A4	4:20	8:1	J stock
	A5	2:6	7:1	J stock
	A6	1:21	0:9	0 stock
	A7	7:19	1:6	J stock
	A8	2:8	0:10	0 stock
	A9	2:24	0:6	0 stock
	A10	0:19	0:10	0 stock
	A11	0:0	4:0	Unassigned
Kushiro				
	K1	1:8	8:2	J stock
	K2	0:10	3:7	0 stock
	K3	0:10	0:9	0 stock
	K4	0:10	0:10	Unassigned
	K5	1:9	9:1	J stock
	K6	0:10	0:8	0 stock
	K7	:10	0:10	Unassigned
	K8	1:8	10:0	Unassigned
	K9	0:6	0:9	0 stock
	K10	0:8	0:7	0 stock

(3) 卵の孵化と孵化幼虫の生残温度と塩分がおおぼす影響

A. simplex s.s.と A. pegreffii を自然産卵させて得た虫卵と、成虫を解剖して採取した虫卵を PBS と海水 (SW) 中で 3, 9, 15, 21, 23, 25, 27, 29, 37 で培養した。その後、培養液は交換せずに孵化幼虫の生存率を同じ条件で調べた。

A. simplex s.s.の卵は 25 以下で孵化したが、A. pegreffii の卵は 27 以下で孵化した(図 1)。自然産卵した卵が孵化するまでの期間は、A. simplex s.s.では 2日(25)から 35-36日(3)、A. pegreffii では 2-3日(27)から 65日(3)であった。A. simplex s.s.の孵化率は温度が異なっても概ね維持されていたが、A. pegreffii の孵化率は 27 で低下し、特に 3 で低下した。孵化幼虫の平均生存時間は、一般的に温度に反比例して増加した。海水中での平均生存時間は、A. simplex s.s.の孵化幼虫では、25 で 4~7日、3 で 65~105日であったが、A. pegreffii の孵化幼虫では、27 で 0~2日、9 で 73~83日であり、海水中では 3 で 15~73日と再び減少した。

これらの結果から、卵や孵化幼虫において、A. simplex s.s. は A. pegreffii よりも低温耐性が高く、A. pegreffii は高温耐性高いことが示唆された。

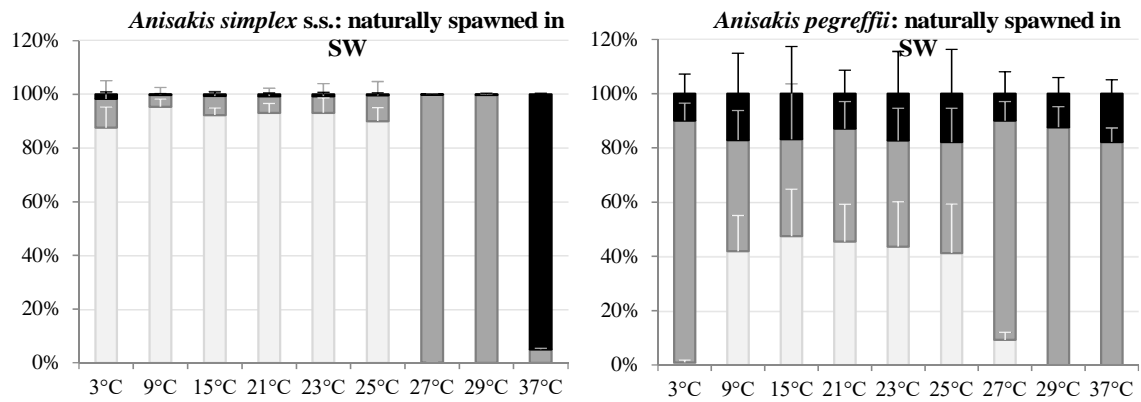


図1. 自然産卵した後海水中でふ化させた虫卵の孵化率。
白：ふ化、灰色：発達のみ、黒：発達せず

(4) *Anisakis* 姉妹種2種の第3期幼虫に温度が及ぼす影響

被寄生魚から得た *A. simplex* s.s. および *A. pegreffii* の第3期幼虫の温度耐性を *in vitro* で調べた。虫体をPBS溶液中で10、20、25°Cで1~3週間培養し、生存率を評価した。さらに、培養した虫体を1.75%寒天に0.8%細菌用普通栄養培地を加えた寒天ゲル上の0.85%食塩水(3%酢酸添加)中に收容した後、37°Cで2時間培養し、虫体のゲルへの侵入によって虫体の活性を評価した。*Anisakis pegreffii* は、すべての実験群において *A. simplex* s.s. よりも高い生存率とゲルへの侵入率を示し、特に20~25°Cでは侵入率を示した。

ニジマス (*Oncorhynchus mykiss*) とモザンビークティラピア (*Oreochromis mossambicus*) の体腔内に *Anisakis simplex* s.s. の幼虫を外科的に挿入した。その後、6つの温度区(ニジマスは3、9、15°C、モザンビーク・ティラピアは21、27、33°C)で6週間または12週間飼育した後、魚体を解剖し、幼虫の生存率を評価した。さらに、この実験に用いたと虫体と同じバッチから得た *A. simplex* s.s. 第3期幼虫を前述の寒天ゲル上に重層したPBS内に收容し、生残とゲルへの侵入能力を12週間培養し観察した。*A. simplex* s.s. 第3期幼虫の生存率は、魚体内および試験管内ともに総じて27°Cおよび33°Cで低下し、特に12週間後の生残は低かった。

これらの結果から、今回の結果から、*A. pegreffii* 第3期幼虫は *A. simplex* s.s. 第3期幼虫よりも高温に適応していることが示唆された。

(5) 中間宿主となる魚介類における各海域における寄生状況調査各地で採集されたサケ (*Oncorhynchus keta*)、スケトウダラ (*Gadus chalcogrammus*)、ゴマサバ (*Scomber australasicus*)、マサバ (*Scomber japonicus*)、スルメイカ (*Todarodes pacificus*)、マイワシ (*Sardinops sagax melanostictus*)、ツノナシオキアミ (*Euphausia pacifica*) を調査した。総じて、2種の線虫が異なる分布をしていることが確認された。しかし、驚くべきことに、これまで *A. pegreffii* が優勢とされてきた東シナ海のマサバや日本海のスルメイカにおいて *A. simplex* s.s. が高い割合を占めていた例もあった(それぞれ優占率95.5%、100%)。反対に、青森県の太平洋沿岸での *A. pegreffii* の優占率が53.6%と意外に高い値を示した。これらの結果から、この2種の姉妹種の分布は従来考えられていたよりも変動が激し、固定していないことが示唆された。この変動にはおそらく漁獲された季節が関連していた可能性が考えられる。

総合考察

A. simplex s.s. と *A. pegreffii* 両姉妹種ともに同じ種類の鯨類に寄生していた。このことから、延長中間宿主における両姉妹種の地域的分布の違いは、終宿主における宿主特異性に直接起因するものではないと結論づけることができた。加えて、ミンククジラに寄生する *Anisakis* 属線虫の種を同定することにより系群の区別ができる可能性も示された。一方、*A. pegreffii* の卵、孵化幼虫、L3幼虫は、*A. simplex* s.s. に比べて高温への適応性が高いことが観察されたことから、これら2種の姉妹種の分布には、異なる温度帯への適応が影響していることが示唆された。

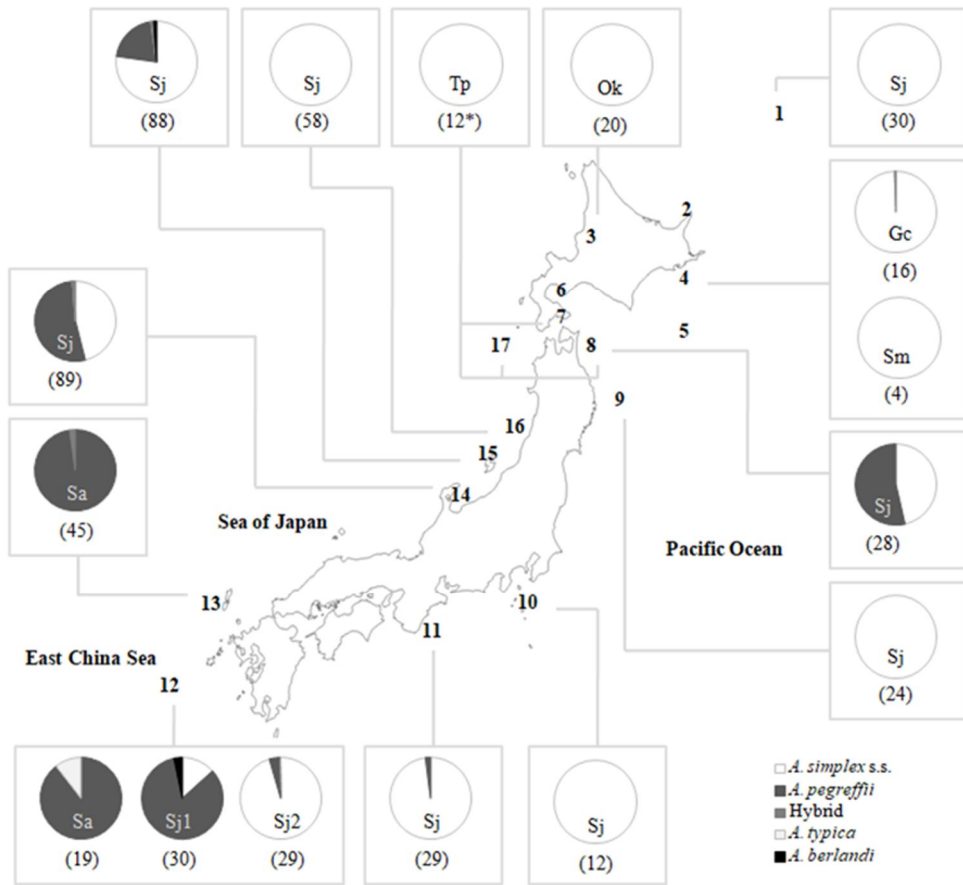


図2 各海域の魚介類に寄生していたアニサキス姉妹種の構成比

Gc – スケトウダラ; Ok – サケ; Sa – ゴマサバ; Sj – マサバ (Sj1, 2018; Sj2 2019); Sm – マイワシ; Tp – スルメイカ. *7, 8, 12の総数.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Gomes Tiago Leandro, Quiazon Karl Marx A., Kotake Maho, Itoh Naoki, Yoshinaga Tomoyoshi	4. 巻 78
2. 論文標題 Anisakis spp. in fishery products from Japanese waters: Updated insights on host prevalence and human infection risk factors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102137 ~ 102137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2020.102137	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Gomes Tiago Leandro, Quiazon Karl Marx, Kotake Maho, Fujise Yoshihiro, Ohizumi Hiroshi, Itoh Naoki, Yoshinaga Tomoyoshi	4. 巻 80
2. 論文標題 Anisakis spp. in toothed and baleen whales from Japanese waters with notes on their potential role as biological tags	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102228 ~ 102228
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2020.102228	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Gomes Tiago Leandro, Quiazon Karl Marx, Itoh Naoki, Fujise Yoshihiro, Yoshinaga Tomoyoshi	4. 巻 92
2. 論文標題 Effects of temperature on eggs and larvae of <i>Anisakis simplex sensu stricto</i> and <i>Anisakis pegreffii</i> (Nematoda: Anisakidae) and its possible role on their geographic distributions	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102684 ~ 102684
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2022.102684	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Tiago Leandro Gomes ・ Karl Marx Quiazon ・ Tomoyoshi Yoshinaga
2. 発表標題 Impacts of temperature and salinity on the survival and invasion ability of <i>Anisakis simplex</i> (<i>sensu stricto</i>) and <i>Anisakis pegreffii</i> (Nematoda: Anisakidae) larvae in vitro
3. 学会等名 平成31年度日本魚病学会春季大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------