

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 21 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23406010

研究課題名(和文) 南米チリにおける裂頭条虫の分子疫学、生活史とヒトへの感染経路に関する調査研究

研究課題名(英文) Investigation on molecular epidemiology, life cycle and transmission to humans of broad tapeworms in Chile

研究代表者

山崎 浩 (Yamasaki, Hiroshi)

国立感染症研究所・その他部局等・室長

研究者番号：00138207

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 9,500,000円、(間接経費) 2,850,000円

研究成果の概要(和文)：南米チリは世界有数の養殖サケ・マスの生産国であり、わが国はそのサケ・マスの主要な消費国である。チリに分布するサケ・マスにはヒトに寄生する裂頭条虫の感染が知られており、これらのサケ・マスを感染源とする裂頭条虫症の発生が懸念されている。本研究では、チリ南部のプエルト・モンのジャンキウエ湖、ならびにパンギブジ湖に生息するサケ属や在来魚における裂頭条虫幼虫の寄生状況等を調査した。その結果、ギンザケやニジマスに多数の裂頭条虫幼虫の感染が確認され、筋肉内からも幼虫が検出されたことから、チリでは広節裂頭条虫による感染源がサケ類と推定された。

研究成果の概要(英文)：Chile is a country where produces farmed salmon/trout and Japan is one of countries where the salmons are consumed. Since it is known that larvae of broad tapeworms are parasitized in the salmon/trout in Chile and the occurrence of diphyllobothriosis caused by the infection of the larvae is concerned. We investigated the prevalence and intensity of the parasites harboring in salmon/trout in two lakes, Llanquihue and Panguipulli, in southern Chile during 2012 to 2014. We collected 631 larvae from salmon/trout and the larvae were reinforced as being Diphyllobothrium latum and D. dendriticum by DNA analysis. Most larvae were detected in the viscera of salmon/trout, but some were found in the edible muscle. Although little information currently exists on the relationship between D. latum and salmon/trout in the northern hemisphere, it is considered likely that salmon/trout play an important role in the transmission of D. latum to humans in South America.

研究分野：医歯薬学A

科研費の分科・細目：寄生虫学(含医動物部学)

キーワード：裂頭条虫 チリ 分子疫学 生活史 感染経路

1. 研究開始当初の背景

ヒトの裂頭条虫症は、食品(生鮮魚)媒介性寄生虫疾患で、地域によっては古来より発生していた寄生虫感染症である。その原因種としてわが国では日本海裂頭条虫、また北欧では広節裂頭条虫が主要な原因種として知られている。今日、世界における裂頭条虫症数は2000万人とも推定されているが(Skerikova et al., 2006; Scholz et al. 2009)、過大評価だという説もある(Chai et al., 2005)。最近の裂頭条虫症のグローバルな傾向として、わが国や北欧のように古くよりその発生が知られていた地域のみならず、その発生が知られていなかった国や地域で裂頭条虫症が発生するようになったことである。その背景には、健康食品としてのサケ・マス嗜好のグローバル化、日本食ブームなど食習慣の多様化、さらには生鮮魚介類の輸送システムの急速な進歩が考えられ、裂頭条虫症は新興・再興感染症として国際的に関心が高まっているのが現状である。

南米チリは、世界有数の養殖サケ・マスの生産国であり、わが国はそのサケ・マスの主要な輸入・消費国である。チリ産養殖サケ・マス市場のグローバル化に伴い、それらに寄生する裂頭条虫による感染が懸念されていた(Cabello, 2007)。実際、チリ産養殖サケ・マスが原因と考えられた広節裂頭条虫症がブラジルで発生した(Sampaio et al., 2005; Santoz et al., 2005; Emmel et al., 2006)。しかし、チリにどのような裂頭条虫が分布するか、養殖サケ・マスに裂頭条虫が寄生しているのかなど分子レベルで種の同定がなされたことはなく、正確な種の同定、起源と分布、さらに生活史の解明が寄生虫学的課題としてあった。

2. 研究の目的

裂頭条虫属(*Diphyllobothrium*)条虫には上述したように広節裂頭条虫や日本海裂頭条虫のようにヒトに健康被害をもたらす重要な種が含まれている。しかし、形態学的特徴が互いに酷似することから、形態では種の正確な鑑別が困難である。また、生活環が完全に解明されていない種も多く、遺伝子解析に基づいた分類学的再検討や生活史の解明、とくにヒトへの感染経路について解決すべき重要課題を多く含む寄生虫である。

南米チリでは広節裂頭条虫によるヒト感染事例が1950年代の第1例以来、2010年までに約100例報告されてきた(Mercado et al., 2010)。これら症例ではサケ・マスが感染源と推定された。しかしながら、広節裂頭条虫はそもそも北半球に分布する種であり、ヒトへの感染源はカワカマスやパーチと呼ばれる淡水魚であって、サケ属(*Oncorhynchus*)魚類ではない。歴史的には、サケ属魚類は本来、北半球に棲息する魚で

あるが、南米には養殖やスポーツフィッシング目的で移入され、チリ南部など冷涼な自然環境に適応し、野生化し、分布を拡大している。

そこで、本来、北半球に分布する広節裂頭条虫がどのようにして南米チリに分布するようになったのか、チリではサケ・マスが広節裂頭条虫の感染源となっているのか、言い換えれば、サケ属魚類は広節裂頭条虫の第2中間宿主として主要な役割を果たしているのか否か、これはヒトへの感染経路を明確にするためにも検討すべき重要課題である。

本研究では、チリに棲息するサケ属魚類、ならびに南米原産の淡水魚類に広節裂頭条虫を含めどのような種類が寄生しているのか、どのような部位に寄生しているのか、ヒトへの感染経路を含めた裂頭条虫の実態を明らかにすることを目的とした。また、裂頭条虫のミトコンドリアDNAハプロタイプ解析や分子系統解析から、チリに分布する裂頭条虫種の地理的分布やその起源についても考察することを目的とした。

3. 研究の方法

チリにおける裂頭条虫調査研究は、平成23年以降、毎年1月(チリの夏季)に実施した。調査地は、チリの首都サンチアゴから南に約1,000km、プエルト・モン近郊にあるジャンキウエ湖とチロエ島、プエルト・モンから北に約300km、バルディビア近郊のパンギブジ湖とした。いずれも淡水湖ではあるが、湖水は太平洋とつながっている。ジャンキウエ湖では養殖生簀から逃げ、半ば野生化したニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)やギンザケ(*Oncorhynchus kisutch*)を主な調査対象とした。一方、パンギブジ湖では野生のニジマスやブラウントラウト(*Salmo trutta*)を調査対象とした。

これらの淡水湖で捕獲した魚以外に、養殖サケ・マスにおける裂頭条虫の寄生状況も調査した。調査地のプエルト・モンの魚市場では、近郊のカリブコ養殖場で生産されたニジマスとアトランティックサーモン(*Salmo salar*)を、チロエ島北部のアンクーの町では同島の養殖場で生産されたギンザケを調査した。

捕獲した魚の同定は正確性からミトコンドリアDNA解析として、ATP dehydrogenase subunit 6 遺伝子(*atp6*)解析を行った。すなわち、魚の筋肉を採取し、70%エタノールに固定し、市販のキットを用いてDNAを調製し、PCRによる*atp6*の増幅とそのDNA塩基配列解析によって魚種の同定を行った。一方、裂頭条虫については、捕獲したサケ科魚類や在来の淡水魚はまず、筋肉と内臓に分け、筋肉はさらに4~5mm厚さのスライス状にし、それを2枚のガラス板にはさみ、光を透過して観察

する candling 法によって大きさ数 mm の裂頭条虫の幼虫の検出を試みた。内臓も同様のキャンドリング法、場合によっては実体顕微鏡下で剖検しながら、幼虫の検出を行った。

採取したプレロセルコイドは洗浄後、DNA 解析用の標本は 70%エタノール固定、走査型電子顕微鏡試料は 5%グルタルアルデヒド固定、病理組織標本用は 10%ホルマリン固定をそれぞれ行った。DNA 解析は、市販のキットを用いてゲノム DNA を調製し、ミトコンドリアゲノムでコードされる cytochrome *c* oxidase subunit 1 遺伝子(*cox1*) と cytochrome *b* 遺伝子(*cob*)を標的として PCR による増幅を行った。得られた PCR 産物は AgeI、あるいは AfeI 制限酵素による RFLP 解析によって裂頭条虫の種を同定した。さらに、*cox1* と *cob* 両遺伝子について、ハプロタイプ解析や分子系統解析から、南米の裂頭条虫の起源を考察した。

4. 研究成果

1. 捕獲した魚種における裂頭条虫の寄生、検出状況：

チリ南部のジャンキウエ湖やパンギブジ湖と周辺河川で捕獲した魚種のなかで、ヒトに感染性を有する裂頭条虫の幼虫が検出されたのは、ジャンキウエ湖ではニジマスとギンザケ、パンギブジ湖ではニジマスとブラウントラウトであった。検出された裂頭条虫の種類は DNA 解析から、広節裂頭条虫と *D. dendriticum* の 2 種類であることが証明された。平成 23 年と 24 年の調査では、352 隻、279 隻、計 631 隻と多数の裂頭条虫の幼虫寄生が確認された。すなわち、平成 25 年 1 月の調査では、ジャンキウエ湖で捕獲したニジマス 3 頭中 1 頭から 6 隻の裂頭条虫の幼虫が検出され、またギンザケ 10 頭のうち 9 頭から 36 隻の裂頭条虫の幼虫が検出された。内訳は広節裂頭条虫が 8 隻、*D. dendriticum* が 34 隻であった。一方、パンギブジ湖では、7 頭のニジマス全てから計 310 隻の裂頭条虫幼虫が、また 1 頭のブラウントラウトから 10 隻の裂頭条虫の幼虫が検出された。内訳は、広節裂頭条虫が 185 隻、*D. dendriticum* が 125 隻であった。平成 26 年 1 月に実施した調査では、ジャンキウエ湖で捕獲したギンザケ 13 頭中 4 頭から 7 隻、パンギブジ湖ではニジマス 7 頭中 6 頭から計 166 隻、1 頭のブラウントラウトから 100 隻、1 頭の *Perca trutta* という南米土着種からも 6 隻、計 279 隻の裂頭条虫の幼虫が検出された。なお、平成 26 年採取の裂頭条虫の種の内訳については、現在も DNA 解析による同定を行っているところである。以上のように、パンギブジ湖に棲息するもともとは南米には棲息しなかったニジマスやブラウントラウトに、あるいは南米固有の *P.*

trutta における裂頭条虫の感染率はほぼ 100% と驚くべき汚染実態であった。

2. 裂頭条虫類のヒトへの感染源：

ニジマスやギンザケ、あるいはブラウントラウトでは、裂頭条虫の幼虫はそのほとんどが内臓、とくに胃壁の外部漿膜下、幽門垂、あるいは小腸で検出された。また、少数ではあったが、精巣、卵巣、脾臓の他、食用部である筋肉からも広節裂頭条虫と *D.*

dendriticum の幼虫寄生が確認された。以上の調査結果から、南米チリでは、生食、あるいは非加熱魚料理の喫食習慣から、チリにおける広節裂頭条虫の感染源 (= 第 2 中間宿主) として、野生のニジマス、ギンザケ、あるいはブラウントラウトなどが重要と考えられた。*D. dendriticum* 寄生によるヒトの症例はチリでは報告されていないが、今回の調査で明らかになったように、*D. dendriticum* の高い感染率を考慮すると、今後、ヒトの裂頭条虫症の原因種として注意する必要性が示唆された。

3. 南米チリにおける裂頭条虫の生活環：

チリ南部にある 2 つの淡水湖における裂頭条虫の調査では、広節裂頭条虫と *D.*

dendriticum という 2 種類が生活環を維持していることが判明した。とくに、チリの広節裂頭条虫の場合、*Oncorhynchus* 属のサケ (ニジマスとギンザケ) を第 2 中間宿主とするという点では、北半球における生活環と異なることは興味深い。さらに、注目すべき点として、ではこれだけ高い感染率を維持するためにはいったいどのような動物が終宿主として役割を果たしているのだろうか、ということである。*D. dendriticum* の場合は、終宿主は魚食性鳥類 (カモメ、サギ、猛禽類、ウ、ペリカンなど) であるので、ジャンキウエ湖やパンギブジ湖ではこれらの鳥類は多いので、生活環の維持に重要な役割を果たしていると推定された。しかし、広節裂頭条虫の場合、終宿主はイヌ、ネコなど多くの哺乳類やヒトであるが、これらの哺乳類やヒトにおける感染率は低いことが報告されている。したがって、これら湖周辺に棲息する魚食性の鳥類が広節裂頭条虫の終宿主として役割を果たしているのか否かは今後、解明すべき課題と考えられた。

4. ハプロタイプ解析に基づいたチリに分布する広節裂頭条虫と *D. dendriticum* の起源：

平成 23 年~25 年度の 3 年間の調査で、ニジマス、ギンザケ、およびブラウントラウトから計 631 隻の裂頭条虫の幼虫を採取した。これまでに解析できた *cox1* と *cob* 両遺伝子のハプロタイプについて北半球に分布する広節裂頭条虫と *D. dendriticum* のハプロタイプと比較解析を行った。その結果は興味深いものであった。すなわち、チリの広節裂頭条虫

は欧州に分布する広節裂頭条虫と全く同じハプロタイプであったことから、チリの広節裂頭条虫は、広節裂頭条虫に感染した欧州からの移民によって大凡 150~160 年前に人為的に持ち込まれたという仮説を示唆する結果が得られた。これは、環境衛生状況が劣悪だった移民当時、感染者の糞便とともに排出された広節裂頭条虫の虫卵が湖水に流れ込み、孵化した幼虫（コラシジウム）はたまたま感受性を有した南米土着のミジンコ類が第 1 中間宿主となり、さらにこれらを食べる小形の魚（たとえば淡水産のトウゴロウイワシなど）に感染し、それらを食べるイヌ・ネコで生活環が維持されるようになり、それが南米のチリ、アルゼンチン南部の冷涼な湖沼地帯の水系生態系に適応していったという説を支持する結果となった。一方、チリで採取した *D. dendriticum* は *cox1*, *cob* 両遺伝子とも極めて遺伝的多型に富み、少なくとも 10 以上の異なるハプロタイプが *cox1* と *cob* 両遺伝子で検出された。優占的なハプロタイプは 1~2 個であったが、わずかな塩基置換が見られたハプロタイプの種類も多く検出された。ただ、これまでの解析では、チリの *D. dendriticum* のハプロタイプと同一、または近縁のハプロタイプはヨーロッパやカムチャッカなど北半球に分布する *D. dendriticum* では検出されておらず、明らかに遺伝的に区別された。このことは、チリ産 *D. dendriticum* は北半球起源ではなく、もともと南米に分布していた可能性が強く示された。今後、北米産 *D. dendriticum* のハプロタイプ解析がその起源を考える上で重要と考えられた。

本調査では、おもに野生のニジマスやギンザケを調査したが、チリ産の養殖ギンザケやニジマス、あるいはアトランティックサーモンについても調査を行った。検査数に限りがあったために調査は十分とはいえないが、現在までに養殖ものから裂頭条虫の幼虫は検出されていない。現在、わが国ではトラウトサーモンというブランド名のチリ産養殖ニジマスが店頭に並んでいるために、今後はこれら養殖サケ・マスにおける裂頭条虫の調査も必要と考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

1. Chen S, Ai L, Zhang Y, Chen J, Zhang W, Li Y, Muto M, Morishima Y, Sugiyama H, Xu X, Zhou X, Yamasaki H. Molecular detection of *Diphyllbothrium nihonkaiense* in humans, China. *Emerg. Infect. Dis.*, 20: 315-318, 2014.
2. 山崎 浩. 食品による寄生動物感染症 8 蠕虫感染症 (3) 条虫. *J. Antibact. Antifung. Agents*, 41: 227-236, 2013.
3. 川合 寛, 石原優吾, 笹井貴子, 高橋史成, 桐木雅史, 林 尚子, 山崎 浩, 平石秀幸, 千種 雄

一. 生シラスの生食による感染が疑われたクジラ 複殖門条虫症 1 例. *獨協医誌*, 40: 189-192, 2013.

4. 河口亜津彩, 星野恵美子, 黒岩由紀, 母坪 智行, 布施茂登, 森 俊彦, 山崎 浩. 日本海裂頭条虫症の 4 小児例. *小児科臨床*, 67:451-454, 2014.
5. Kuramochi T. Digenean trematodes of deep-sea fishes from the Sea of Japan. National Museum of Nature and Science Monographs.44: 29-37, 2014.

[学会発表](計 6 件)

1. Yamasaki H, Ichimura S, Kuramochi T, Mercado R. Phylogenetic analysis of *Diphyllbothrium dendriticum* from Chile based on mitochondrial DNA. 第 13 回国際寄生虫学会. 平成 26 年 8 月 10-15 日, メキシコシティ, メキシコ.
2. Yamasaki H, Ichimura S, Kuramochi T, Mercado R. *Diphyllbothrium/diphyllbothriosis* in Chile. 第 83 回日本寄生虫学会大会, 平成 26 年 3 月 27-28 日, 愛媛県松山市.
3. Mercado R, Ichimura S, Yamasaki H, Kuramochi T. *Diphyllbothrium* plerocercoids parasitizing in feral salmonids in Chile. 第 73 回日本寄生虫学会東日本大会, 平成 25 年 10 月 12 日, 東京・上野.
4. Yamasaki H. Current status of food-borne parasitic diseases in Japan. 第 28 回国際化学療法・感染症会議 (シボジウム), 平成 25 年 6 月 5-8 日, 横浜市.
5. 倉持利明. 日本海産深海性魚類から得られた住血吸虫について. 第 73 回日本寄生虫学会東日本大会, 平成 25 年 10 月 12 日, 東京・上野.
6. 倉島 陽, 小川和夫, 倉持利明, 藤田敏彦. 四葉目条虫類の幼生の DNA 解析による同定の試み. 第 73 回日本寄生虫学会東日本大会, 平成 25 年 10 月 12 日, 東京・上野.

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:

番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者 山崎 浩
(国立感染症研究所)

研究者番号：00138207

(2)研究分担者 倉持利明
(国立科学博物館)

研究者番号：80277590

(3)連携研究者
()

研究者番号：