

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：10107  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2014～2016  
課題番号：26460503  
研究課題名(和文) テニア属条虫の分類学的改訂

研究課題名(英文) Taxonomic revision of taeniid tapeworms

研究代表者  
中尾 稔 (Nakao, Minoru)  
旭川医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70155670

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：条虫綱テニア科は4属(Taenia, Hydatigera, Versteria, Echinococcus)から成る。この科の分類学的改訂を目的として、世界中から出来る限り多数のサンプルを収集した。ミトコンドリアゲノムと核DNAマーカー(18S rDNA, pepck, pold 遺伝子)の塩基配列を決定し、進化系統関係を調べたところ、Taenia 属は6つのクレードに分かれた。新属の設立が必要となったが、タクソン数が不十分なため、改訂は今後の課題とした。系統解析に付随して発見された新種は Taenia lynciscapreoli と Hydatigera kamiyai とし記載した。

研究成果の概要(英文)：The family Taeniidae of Eucestoda has been divided into four genera (Taenia, Hydatigera, Versteria, and Echinococcus). In this research project, taeniid samples were collected as many as possible, and then subjected into phylogenetic analyses for taxonomic revision of the family. A molecular phylogeny was reconstructed by using the nucleotide sequences of the mitochondrial genomes and the nuclear DNA markers (18S rDNA, pepck, and pold). The analysis showed that members of the genus Taenia are separated into 6 monophyletic clades, suggesting that Taenia should be split into several genera or subgenera. However, additional taxa are required for the taxonomic revision. Two new species of taeniid tapeworms were found during this research project, and described as Taenia lynciscapreoli sp. nov. and Hydatigera kamiyai sp. nov.

研究分野：寄生虫学

キーワード：テニア科条虫 分類学的改訂 Taenia Hydatigera Versteria Echinococcus

## 1. 研究開始当初の背景

公衆衛生上重要性が高いテニア科条虫は従来 *Taenia* 属と *Echinococcus* 属に大別されてきた。これらの構成種の生活環は陸生哺乳類の捕食・被食関係によって維持され、主に食肉目とサル目(ヒト)を終宿主とし、ネズミ目・ウサギ目・鯨偶蹄目・サル目の様々な種が中間宿主となっている。テニア科条虫は宿主特異性・発育様式・幼虫形態において多様性に富んでいる。*Echinococcus* 属の構成種は特異な形態や生活様式から単系統群であることが示唆され、分子系統解析においても属の正当性が保証された。一方、他のテニア科条虫は主に幼虫の形態からかつて7つの属(*Multiceps*, *Hydatigera*, *Tetratirotaenia*, *Fimbriotaenia*, *Fossor*, *Taeniarhynchus*, *Monordotaenia*) に分類されていたが、やがてこれらは全て *Taenia* 属のシノニムとされた。しかし、近年の分子系統解析は *Taenia* 属が側系統群であることを証明したため、本研究代表者によって幼虫期に片節囊尾虫の形態をとる *Hydatigera* 属が復活され、さらに *Versteria* 属が新設された(Nakao *et al.* Int J Parasitol. 2013; 43: 427-437)。この新属は *Echinococcus* 属と姉妹関係にあり、体サイズや鉤の小型化という形態的特徴が *Echinococcus* 属と一致し、*Echinococcus* 属の進化を考える上で極めて重要なものとなった。この分類学的改定によってテニア科条虫は現在 *Taenia* 属、*Echinococcus* 属、*Hydatigera* 属、*Versteria* 属の4つから構成されることになった。ただし、*Taenia* 属は依然として幾つかの単系統群を内包していたため、引き続き *Taenia* 属を改訂する必要性が生じていた。

## 2. 研究の目的

分類学は古典的な学問だが、生物の多様性を記載する上では今もなお必要不可欠である。条虫類の系統関係は不明な点が多く、分子系統を基準として分類体系を進化過程に一致させるべきである。特にテニア科条虫は *Taenia* 属において分類体系が混乱しており、系統進化に沿った形でこの属を改訂しなければならない。そこで、本研究計画では、テニア科条虫を世界各地の研究協力者を通じて出来る限り多数収集し、DNA 塩基配列情報を蓄積して、分子系統解析を実施し、新たな分類体系を創出することを目的とした。信頼性の高いクレード毎に属を割り当てることになるが、必要に応じて旧属を復活、もしくは新属や亜属を新設する。新たな分類群にはそれぞれタイプ種を指定し、形態・生態・生活史の特徴を記載する。また、有鉤条虫・無鉤条虫・アジア条虫などのヒト寄生種について人類進化と連動したアフリカ起源説が提示されているので、この仮説を検証することも目的とした。さらに、研究過程で発見さ

れた未記載種(*Taenia* 属・*Hydatigera* 属・*Versteria* 属の構成種)は随時新種として記載することも目的とした。*Echinococcus* 属については構成種の系統関係は既に解明済みであるが、*Echinococcus canadensis* のみがミトコンドリア遺伝子型(G6, G7, G8 & G10)に分けられており、これらを2~3種へ細分化するか現状のまま1種とするか議論されている。この点に関して分子系統解析と集団遺伝解析から検討を加えた。

## 3. 研究の方法

収集した種タクソンそれぞれについて、ミトコンドリアゲノム全塩基配列を決定した。さらに、核DNA マーカーとして18S rDNA、DNA polymerase delta (*pold*)、phosphoenolpyruvate carboxykinase (*pepck*) の塩基配列も決定した。PCR ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定したが、難配列の場合はPCR 産物をプラスミドベクターに繋いでクローニングした。ミトコンドリアゲノムや核18S rDNA は生物の系統関係の推定に有用であることが多数の研究者によって確認されており、核蛋白遺伝子である *pepck* と *pold* については、本研究代表者がその有用性を既に報告している(Knapp *et al.* Mol Phylogenet Evol. 2011; 61: 628-638. Nakao *et al.* Int J Parasitol. 2013; 43: 427-437)。*pepck* と *pold* のイントロン領域の変異が大きい場合は、エクソン領域のみを解析に用いた。分子系統樹探索のための統計学的方法として最尤法とベイズ法を併用して、近縁種のクレードを特定した。DNA の系統情報が得られた段階で、形態・発育・生態情報に立ち戻り、各クレードの共有派生形質を探した。

調査過程で判明した未記載種については形態情報を付加して新種記載した。特に *Hydatigera* 属と *Versteria* 属に関しては広くサンプルを集めて、系統地理学的に検討した。

*Echinococcus canadensis* の分類学的検討には、世界各地で収集した虫体についてミトコンドリア DNA マーカー(cytochrome c oxidase subunit 1, *cox1*) と核DNA マーカー(*pold* と *pepck*) を用いて、ハプロタイプ解析を行ない、異なったミトコンドリア遺伝子型の間での交雑を検討した。

## 4. 研究成果

3年間の研究期間で、20タクサのミトコンドリアゲノム・核DNA マーカーの塩基配列を決定することができ、*Taenia* 属には6つの単系統群が存在することを証明した。また、アフリカのハイエナから *Taenia* 属3種を検出し、ヒト寄生種との類縁関係を報告した。さらに、*Hydatigera kamiyai* と *Taenia lynciscapreoli* を新種記載し、*Versteria* 属の未記載種を北米で発見した。世界各地でサンプリングした *Echinococcus canadensis* につ

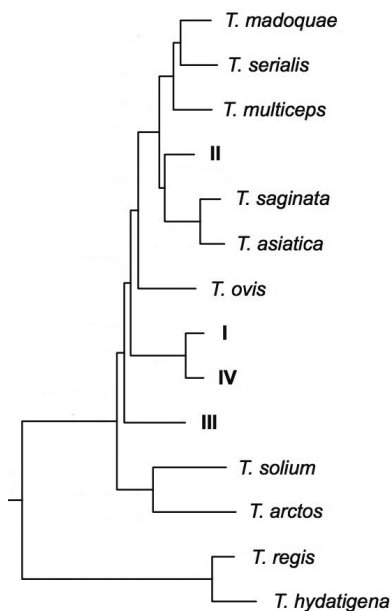
いてはそのミトコンドリア遺伝子型の間で交雑がみられたため、1種のままするべきであると結論した。以後、これらの成果を順に述べる。

#### 4.1. ヒト寄生種との類縁関係

(Terefe *et al.* Int J Parasitol 2014; 44: 533-541)

エチオピアのブチハイエナ 11 頭から *Taenia* 属条虫を 3 種見出した。このうち 1 種 (mitochondrial lineage II) は形態学的に *Taenia crocutae* と同定したが、残りの 2 種は未記載種であった。ヒト寄生種と比較したところ、全ての DNA マーカーで *T. crocutae* は無鉤条虫 *T. saginata* やアジア条虫 *T. asiatica* と姉妹関係にあった。一方、有鉤条虫 *T. solium* はヒグマの条虫 *T. arctos* と姉妹群になった (添付のミトコンドリア DNA 系統樹を参照)。これらの関係性はヒト寄生種がアフリカ起源であることを支持したが、*T. solium* の場合、ユーラシアでヒトへの宿主転換が起こったことも示唆した。

*Taenia* 属条虫はアフリカで最も多く記載されている。今回の調査でも 2 種類の未記載種が発見されたため、今後 mtDNA バーコーディングで多数の条虫サンプルを広範囲にスクリーニングし、既知種との類縁関係を詳細に調べる必要がある。



#### 4.2. 新種 *Hydatigera kamiyai*

(Lavikainen *et al.* Int J Parasitol 2016; 46: 361-374)

猫条虫 *Hydatigera taeniaeformis* (かつての *Taenia taeniaeformis*) は隠蔽種を含んでいることが判明したため (Nakao *et al.* Int J Parasitol. 2013; 43: 427-437) 旧北区を中心に世界各地で成虫・幼虫サンプルを収集し、

分子系統解析と形態観察によって、いわゆる猫条虫の分類学的再評価を行なった。

その結果、キヌゲネズミ科の構成種を中間宿主とするものを新種 *H. kamiyai* として記載し、ネズミ科の *Rattus spp.* を中間宿主とするものを *H. taeniaeformis sensu stricto* とした。両者は中間宿主の感受性で明瞭に区別されたが、形態的にはほとんど同一で、頭節の鉤にわずかな相違が見られた。*H. kamiyai* はヨーロッパヤマネコを終宿主としてヨーロッパに分布し、*H. taeniaeformis* はインドシナ半島のベンガルヤマネコと *Rattus spp.* の間で維持されていたものがイエネコへ宿主転換し、ドブネズミやクマネズミとともに世界中へ拡散したものと考えられた。*H. taeniaeformis sensu stricto* の再記載とネオタイプの指定については論文を準備中である。

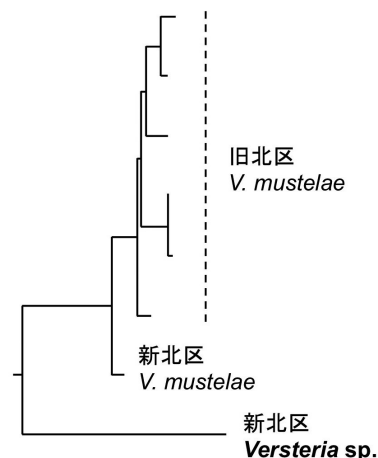
#### 4.3. 新種 *Taenia lynciscapreoli*

(Haukisalmi *et al.* Zookeys 2016; 25: 1-23)

北欧のオオヤマネコから得られた *Taenia* 属条虫は *Taenia hydatigena* と遺伝的に近縁だったが、形態的に識別できる未記載種であったため、*Taenia lynciscapreoli* として新種記載した。ただし、後述するように、分子系統樹では *T. hydatigena* の類縁種はネコ科の食肉類を終宿主とするクレードにまとめることができるので、将来的にはこの新種は新属か新亜属へ移動させることになる。

#### 4.4. *Versteria* 属の未記載種

イタチ科の食肉類が終宿主で、げっ歯類を中間宿主とする *Versteria* 属は *Echinococcus* 属と姉妹関係にあるため、*Echinococcus* の進化を知る上で重要な分類群である。多数の分離株を用いて、この属の構成種を旧北区と新北区で比較したところ、添付図のように旧北区と新北区には *Versteria mustelae* (かつての *Taenia mustelae*)、新北区のみに隠蔽種の未記載種が分布することを発見した。



この *Versteria* sp. は *V. mustelae* と異なり、幼虫が中間宿主の肝臓で増殖する。動物園のオラウタンに感染して死亡させた事例もあるので (Goldberg *et al.* Emerg Infect Dis 2014; 20: 109-113) 今後、人獣共通感染症として警戒する必要がある。

*Versteria* sp. の終宿主については本研究代表者も著者の一人となって発表済みである (Lee *et al.* Emerg Infect Dis 2016; 22: 707-710)。本研究で明らかとなった *Versteria mustelae* species complex の系統地理と新種記載については論文を準備中である。

#### 4.5. *Echinococcus canadensis* の分類学的検討 – 種名をどうするのか –

(Nakao *et al.* Trends Parasitol 2015; 31: 342-343)

本研究代表者による *Echinococcus* 属の分子系統解析は既に終了しており、構成種の種間関係は解明されている。残された分類学的課題は、*Echinococcus canadensis* のミトコンドリア遺伝子型 (G6, G7, G8 & G10) を種内変異として扱うか別種にするのかという問題である。G6/G7/G10 は mtDNA の塩基配列が極めて類似しており、それぞれラクダ・ブタ・シカ族を中間宿主とし、G8 はこれらの遺伝子型とは mtDNA 配列がやや異なり (divergence 5%程度) シカ族のみを中間宿主とする。G8 と G10 は同一の中間宿主を利用するものの、分子系統では側系統の関係にある。

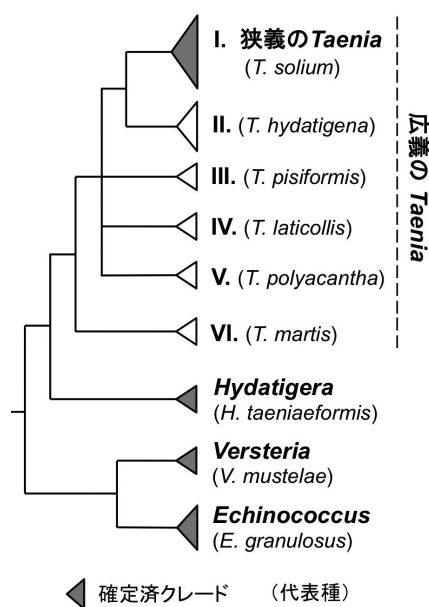
全北区を中心として *E. canadensis* の成虫・幼虫サンプルを収集して、ミトコンドリア *cox1* と核シングルローカス DNA (*pepck* & *pold*) の塩基配列を決定した。その結果、異なったミトコンドリア遺伝子型間で共通の *pepck* と *pold* のハプロタイプがみられ、それらの交雑型も観察された。従って、生殖隔離は存在せず、*E. canadensis* 一種のままにするのが妥当であると結論した。また、G8 と G10 は同所的に存在するので、生態的隔離も存在しないと考えられた。これら最新の結果は論文にまとめ、現在、専門誌に投稿中である。

#### 4.6. *Taenia* 属が内包する単系統群

テニア科条虫の構成種は知られているものだけでおよそ 60 種類ある。現在までにその半数程度が DNA 解析を終了しているが、十分な信頼性のある進化系統樹をつくり、新属を提唱して広義の *Taenia* 属を解体するためにはまだタクソン数が足りない。しかし、本研究計画の 3 年間でその全体像が俯瞰できるようになった。今後、新たなタクソンを追加して DNA 解析を行ない、テニア科条虫の分類学的改訂を進める予定である。

添付図は本研究計画で判明した広義の

*Taenia* 属、*Hydatigera* 属、*Versteria* 属、*Echinococcus* 属の系統関係を示した図である。広義の *Taenia* 属は 6 つのクレードからなり、clade I には *Taenia* 属のタイプ種である有鉤条虫 *T. solium* が含まれるため、このクレードを狭義の *Taenia* 属とする予定である。狭義の *Taenia* 属はイヌ科・ハイエナ科・ヒト科を終宿主とし、いわゆる偶蹄類を中間宿主とすることを特徴とし、全てのヒト寄生種がこのクレードに含まれることになる。他のクレード群については、それぞれがかつて記載された旧属に全く該当しないので、解析タクソン数が増えた段階で、新属もしくは新亜属を設立して公表したい。



#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

1. Haukisalmi V, Konyaev S, Lavikainen A, Isomursu M, Nakao M. Description and life-cycle of *Taenia lynciscapreoli* sp. n. (Cestoda, Cyclophyllidae). Zookeys 2016, 25: 1-23. doi: 10.3897/zookeys.584.8171. 査読有
2. Lavikainen A, Iwaki T, Haukisalmi V, Konyaev SV, Casiraghi M, Dokuchaev NE, Galimberti A, Halajian A, Henttonen H, Ichikawa-Seki M, Itagaki T, Krivopalov AV, Meri S, Morand S, Nareaho A, Olsson GE, Ribas A, Terefe Y, Nakao M. Reappraisal of *Hydatigera taeniaeformis* (Batsch, 1786) (Cestoda: Taeniidae) sensu lato with description of *Hydatigera kamiyai* n. sp. International Journal for Parasitology 2016, 46: 361-374. doi: 10.1016/j.ijpara.2016.01.009. 査読有
3. Nkouawa A, Haukisalmi V, Li T, Nakao M, Lavikainen A, Chen X, Henttonen H, Ito A. Cryptic diversity in hymenolepidid tapeworms infecting humans. Parasitology

International 2016, 65: 83-86. doi: 10.1016/j.parint.2015.10.009. 査読有

4. Nakao M, Lavikainen A, Hoberg E. Is *Echinococcus intermedius* a valid species? Trends in Parasitology 2015, 31: 342-343. doi: 10.1016/j.pt.2015.04.012. 査読有
5. Terefe Y, Hailemariam Z, Menkir S, Nakao M, Lavikainen A, Haukisalmi V, Iwaki T, Okamoto M, Ito A. Phylogenetic characterisation of *Taenia* tapeworms in spotted hyenas and reconsideration of the "Out of Africa" hypothesis of *Taenia* in humans. International Journal for Parasitology 2014, 44: 533-541. doi: 10.1016/j.ijpara.2014.03.013. 査読有

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

中尾 稔 (NAKAO, Minoru)

旭川医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70155670