短 報

日本近海産マイワシから検出された
アニサキス属幼線虫の分子同定と寄生率

馬場 孝*

(2020年5月18日受付, 2020年9月14日受理,
2020年11月18日J-STAGE 早期公開)
(地独)大阪健康安全基盤研究所微生物課Molecular identification and prevalence of
Anisakis larvae in Japanese sardine
Sardinops melanostictus from Japanese waters

TAKASHI BABA*

Division of Microbiology, Osaka Institute of Public Health,
Tennoji, Osaka 543-0026, Japanキーワード: *Anisakis pegreffii*, *Anisakis simplex* sensu
stricto, アニサキス食中毒, マイワシ

アニサキス属 *Anisakis* は海産哺乳類を終宿主とする寄生性の線虫である。日本近海の多くの魚介類には、アニサキス属の第3期幼虫が寄生している。近年の遺伝子解析から、アニサキス属には9種存在することがわかっていく。¹⁾ そのうち、日本近海の魚から頻りに検出されるのは、*Anisakis simplex* sensu stricto (狭義の) と *A. pegreffii* の2種類である。^{2,3)}

アニサキス属幼線虫が寄生した魚介類の生食によって、激しい腹痛を引き起こすことがある。このアニサキス食中毒の2018年における報告数は、厚生労働省によると(食中毒資料統計, 平成30年(2018年)食中毒発生事例 https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/syokuchu/04.html, 2020年5月14日閲覧), 469件であり、鶏肉の生食などに起因するカンピロバクター食中毒の報告数を初めて上回った。⁴⁾ 2019年においてもアニサキスが病因物質別報告件数の中で最多となっている。⁵⁾ レセプトデータによる解析では、アニサキス食中毒の患者数は年間7000人程度と推定されている。⁶⁾

2013–2019年におけるアニサキス食中毒の主な原因魚種として、サバ、サンマ、アジ、カツオ、イワシ、サケ、ヒラメが挙げられている。^{4,5)} 一般的に、複数の魚種を摂食するなどによって、原因魚種の特異性は困難である。2013–2017年のアニサキス食中毒において、原因魚種が明確なものの内訳は、サバが約50%、サンマが約18%、アジが約9%、イワシが約5%となっている。^{4,5)} 2018年には、カツオが原因魚種の第一位(39%)となり、これまで第一位だったサバ(34%)の件数を越え、社会的関心が高まった。⁴⁾

2013–2019年に原因魚種の第3–5位であった「イワシ」によるアニサキス食中毒は、年間1–7件報告されている。^{4,5)} 厚生労働省によると(上記URLと同じ食中毒資料統計 2020年5月14日閲覧) 2013–2019年に「イワシ」を原因とするアニサキス食中毒28件の内訳

は「真イワシ(マイワシ *Sardinops melanostictus*)」が8件、「シコイワシ(カタクチイワシ *Engraulis japonicus* の地方名)」が1件、「イワシ」が19件となっている。「イワシ」の種類はマイワシか、かつて集団食中毒が発生したカタクチイワシ^{7–10)}か、または他の種類が不明である。マイワシおよびカタクチイワシのアニサキス属幼線虫に関する研究は2000年代まで実施されているが、^{7–19)} 近年まであまり行われていなかった。ごく最近、北海道釧路沖で漁獲されたマイワシ100尾中2尾(2%)の内臓から合計4虫体の *A. simplex* s.s. が確認された。²⁰⁾ しかしながら、マイワシ筋肉におけるアニサキス属幼線虫の検出には至っていない。したがって、マイワシとカタクチイワシの筋肉由来のアニサキス属幼線虫の遺伝子解析は進んでおらず、種類やその寄生率は不明のままである。アニサキス属幼線虫の種の違いによって魚の筋肉中への移行率に差があると知られており、³⁾ 種を判別しておくことは、アニサキス食中毒のリスクを評価する上で重要である。特にマイワシの資源量は近年増加傾向にあり、^{21,22)} 今後刺身や寿司での消費量も増加することが想定され、マイワシを原因とするアニサキス食中毒の増加が懸念される。そこで、本研究では、マイワシによるアニサキス食中毒のリスク評価をするため、アニサキス属幼線虫の種と寄生率を明らかにすることを目的とし、加えてカタクチイワシにおいても同様に寄生状況の調査を実施した。

マイワシは、2017年11月から2020年3月まで大阪府内のスーパーマーケットにおいて購入した(電子付録, Appendix 1)。カタクチイワシは、2019年6月3日に68尾、2020年4月9日に60尾購入した。産地はバックの表示に基づいた。購入した魚は、アニサキスの魚体内での移動を防ぐために解剖まで冷凍(約–20℃)保存した。実験室で解凍した後、魚の被鱗体長を計測した。魚を内臓と可食部の筋肉に分けた後、内臓部位は、ピンセットを用いて、肉眼および実体顕微鏡下でアニサキス属幼線虫を探索した。筋肉部位は、ステンレス製スプーンを用いて薄く広げて肉眼でアニサキス属幼線虫を探索した。2019年4月13日、同年5月11日以降のサンプルについては、筋肉部位をクリアファイルに挟み、文鎮を用いて押しつぶして薄く広げた後、太陽光または蛍光灯に透かして肉眼でアニサキス属幼線虫を探索した。アニサキス様線虫を確認した場合は、光学顕微鏡で形態を観察した。また、虫体の一部または全部について、QIAamp DNA Mini Kitを用いてDNA抽出した。種の同定のため、リボソームRNA遺伝子のITS領域をZhuら²³⁾の方法に従ってPCR増幅し、その産物をダイレクトシーケンスによって解読した。

アニサキス属幼線虫は、1道2府17県で水揚げされたマイワシ872尾中、石川県産1尾、千葉県産2尾、静岡県産1尾、宮城県産1尾、鳥取県産2尾の内臓からそれぞれ1虫体検出された。筋肉においては、上記の鳥取県産1尾から1虫体、長崎県産1尾から2虫体検出された。これら10虫体の形態学的観察の結果、胃と腸の接合部が体軸に対して斜めに接合し、腸盲嚢が確認できず、頭部に穿歯、尾部に尾突起が認められた。計測可能であった6虫体の胃部長は0.73–1.3 mmであ

り、既報の範囲内であった。²⁴⁾ 分子同定の結果、千葉県産マイワシの内臓由来のアニサキス属幼線虫 1 虫体は *A. pegreffii*, それ以外の 9 虫体は *A. simplex* s.s. と同定された (Fig. 1)。大阪湾産カタクチイワシ 68 尾および 60 尾 (ともに平均被鱗体長 105 mm) からアニサキス属幼線虫は検出されなかった。

日本近海産マイワシの内臓における *A. simplex* s.s. および *A. pegreffii* の寄生率はそれぞれ 0.7% (6/872) と 0.1% (1/872) であった (Fig. 1; 電子付録, Appendix 1)。産地ごとの *A. simplex* s.s. の寄生率は、石川県産 10% (1/10), 鳥取県産 6% (2/34), 宮城県産 1% (1/72), 千葉県産 2% (1/49), 静岡県産 3% (1/30), *A. pegreffii* の寄生率は、千葉県産 2% (1/49) であった (Fig. 1)。寄生率は、検査魚の体長によって大きく変動すると考えられるため,¹³⁾ 個々のデータ詳細は電子付録, Appendix 1 を参照されたい。両種は 2 月から 6 月のマイワシに認められ、その被鱗体長は比較的大きく 147 mm 以上であった (電子付録, Appendix 1)。日本近海産マイワシ筋肉における *A. simplex* s.s. の寄生率は 0.2% (2/872) であり (Fig. 1), 産地ごとの寄生率は鳥取県産 3% (1/34), 長崎県産 7% (1/14) であった。検出されたマイワシの被鱗体長は 193, 220 mm であった (電子付録, Appendix 1)。

本研究によって、マイワシにおいて *A. pegreffii* の寄生が初めて明らかになった。鈴木²⁵⁾は、101 種類の天然魚介類を調査し、34 魚種から *A. simplex* s.s. の寄生を確認している。*A. pegreffii* は日本近海ではマサバ *Scomber japonicus* やタチウオ属 *Trichiurus* spp. など 10 分類群で確認されている。^{2,26-27)} アニサキス属幼線虫の寄生が確認されているものの、その種が判明していない魚種はまだ数多く残されており、アニサキス食中毒のリスクを評価するには、さらなる検査が望まれる。

日本近海の 5 産地 (青森県・鳥取県・神奈川県・鳥根県・千葉県) で漁獲されたマイワシにおけるアニサキス属幼線虫の寄生率は 5.8% (7/120) と報告されており,¹¹⁾ 本結果はこれと比べて約 1/8 であった。本研究で

は、20 の産地かつ幅広いサイズのマイワシを解剖しているため、より実態に近い値と考えられる。一方、各産地で漁獲されたマイワシにおけるアニサキス属幼線虫の寄生率は、過去に石川県産 3%,¹⁴⁾ 鳥取県産 5-11%,^{11,15-16)} 静岡県産 0.5-4%,^{12,17)} 長崎県対馬東部産、宍道水道産 5-23%¹³⁾ と報告されており、各産地における本結果 (石川県産 10%, 鳥取県産 6%, 静岡県産 3%, 長崎県産 7%) はこれらと約 3 倍以内であった。これらの研究との比較や年変動を明らかにするには、検査尾数を増やし、さらに同一の季節・サイズで比較することが望ましいだろう。また、宮城県産、千葉県産マイワシにおける寄生率の記録は過去に見当たらず、新たな知見を蓄積することができた。

カタクチイワシにおいて体長 110 mm 以下の個体では寄生率が著しく低くなることが知られている。^{8,10,18)} 今回カタクチイワシからアニサキス属幼線虫が検出されなかった理由として、検査した魚の体長が小さくアニサキス属幼線虫の寄生した餌を食べる機会がほとんどなかったためと考えられる。また、大阪湾には鯨類としてはスナメリ *Neophocaena asiaeorientalis* のみが定着しているが,²⁸⁾ 日本近海のスナメリからアニサキス属幼線虫は検出されていない。²⁹⁾ 中国近海のスナメリから *A. pegreffii* が確認されていることから,³⁰⁾ アニサキス属幼線虫の終宿主になり得ると考えられるが、何らかの原因によって大阪湾ではアニサキス属幼線虫が生活環を完結できないためである可能性もある。

本研究は、マイワシ筋肉からアニサキス属幼線虫を検出し、*A. simplex* s.s. と同定された初めての報告である。日本近海の 5 産地で調べた山本¹¹⁾ (0/120) の他、Gomes *et al.*²⁰⁾ (0/100), 林¹⁷⁾ (0/92), Takao *et al.*¹³⁾ (0/92), Oikawa and Ikeda¹⁴⁾ (0/106), 高木⁸⁾ (0/150) は筋肉からアニサキス属幼線虫を検出しておらず、寄生率 (0.2%) が非常に低いことは妥当な結果と考えられる。しかし、マイワシの資源量が増加していることと広く流通し生食されていることを考えれば、アニサキス食中毒の原因魚種として注目しておくべきと考

Fig. 1 Distribution and prevalence of *Anisakis simplex sensu stricto* and *Anisakis pegreffii* in the Japanese sardine *Sardinops melanostictus* from Japanese waters. Pie charts show percentage of *Anisakis* species.

えられる。斎藤、石岡¹⁹⁾は、島根県産マイワシ 52 尾中 21 尾からアニサキス属幼線虫を 1103 虫体検出し、そのうち筋肉から 8 虫体検出した。また、Maejima¹⁶⁾は、鳥取県産マイワシ 25 尾（体長 17–23 cm：原著では body length）中、2 尾の筋肉からアニサキス属幼線虫を 2 虫体検出した。これらのように、本研究よりも高い寄生率・寄生数で検出されることもあることから、全体として寄生率が低いマイワシであっても生食する場合は十分な冷凍が必要と考えられる。

本研究では、2–6 月に寄生が認められたが、春季に寄生率がやや高くなる現象は国内ではカタクチイワシとマアジ *Trachurus japonicus* で報告されている。^{9,31)} 春季には、歓送迎会などで生魚を喫食する機会が増えることから、この時期は注意する必要がある。

東シナ海や日本海の魚類では *A. pegreffii*、北海道近海や太平洋側の魚類では *A. simplex* s.s. が優占すると多くの研究が示している。^{2,20)} 本研究で鳥取県産および長崎県産マイワシ大型個体から *A. simplex* s.s. が検出されたことは、マイワシが広域に回遊することを示唆している。男女群島近海で漁獲されたマサバにおいて *A. simplex* s.s. が多数検出されたことを報告した Gomes *et al.*²⁰⁾ は、不規則的な回遊の可能性を述べている。マイワシの資源管理単位である対馬暖流系群と太平洋系群との間で交流がどの程度存在するのか、水産資源学的にも興味深い課題であり、更なる情報の蓄積が必要である。あるいは、終宿主である大型鯨類が広域に回遊し、*A. simplex* s.s. の卵を東シナ海や日本海に拡散させている可能性も否定できない。今後はあまり回遊しない魚種を調査してこれらの仮説を検証する必要がある。

謝 辞

本研究の一部は、公益財団法人大同生命厚生事業団の助成金を受けて実施された。ここに記して御礼申し上げる。

文 献

- Mattiucci S, Cipriani P, Levsen A, Paoletti M, Nascetti G. Molecular epidemiology of *Anisakis* and *Anisakiasis*: An ecological and evolutionary road map. *Adv. Parasitol.* 2018; **99**: 93–263.
- Quiazon KMA, Yoshinaga T, Ogawa K. Distribution of *Anisakis* species larvae from fishes of the Japanese waters. *Parasitol. Int.* 2011; **60**: 223–226.
- Suzuki J, Murata R, Hosaka M, Araki J. Risk factors for human *Anisakis* infection and association between the geographic origins of *Scomber japonicus* and anisakid nematodes. *Int. J. Food Microbiol.* 2010; **137**: 88–93.
- 高野剛史. アニサキス症に関する最新の知見と対策. 食と健康 2019; **63**(8): 8–15.
- 高野剛史. カツオの喫食によるアニサキス症増加の原因を探る. アクアネット 2020; **23**(3): 46–50.
- 杉山 広, 森嶋康之, 大前比呂思, 山崎 浩, 木村真也. アニサキスによる食中毒：届出に関わる法改正とレセプトデータに基づく患者数の推計. *Clinical Parasitology* 2013; **24**: 44–46.
- 桑野紘一, 石崎修造, 原 健志, 郡 和博, 松尾保雄, 中馬良美. カタクチイワシからのアニサキス属線虫検出事例. 長崎県衛生公害研究所報 1990; **33**: 87–90.
- 高木和昭. 春季山口県日本海側に水揚げされる魚種へのアニサキス寄生について. 西海ブロック底魚調査研究連絡会報 1992; **3**: 11–14.
- 安藤由紀男, 林 幸夫, 畑 英一, 新村宗敏, 小島莊明. 千葉県鴨川市及び周辺地域において発生したアニサキス症：即時型アレルギー様症状を伴った集団発症例. 寄生虫学雑誌 1992; **41**(1・補): 81.
- 記野秀人, 渡部加奈子, 松友琴美, 上田美鶴, 杉浦真, 鈴木洋行, 高井哲成, 坪井宏仁, 佐野基人, 藤井好則, 影井 昇. 静岡県西部に発生したアニサキス症およびカタクチイワシにおけるアニサキスの感染状況. 寄生虫学雑誌 1993; **42**: 308–312.
- 山本徳栄, 影井 昇, 堀栄太郎. 埼玉県に入荷される各種生鮮魚介類の寄生虫感染に関する調査研究. 埼玉臨床衛生検査技師会誌 1995; **42**: 252–261.
- 内田明彦, 川上 泰, 村田義彦. 相模湾および駿河湾の魚介類におけるアニサキス幼虫感染. 日本獣医公衆衛生学会誌 1998; **51**: 525–527.
- Takao Y. Survey of Anisakidae larvae from marine fish caught in the sea near Kyushu Island, Japan. In: Ishikura H and Kikuchi K (eds). *Intestinal Anisakiasis in Japan*. Springer-Verlag, Tokyo 1990; 61–72.
- Oikawa Y, Ikeda T. Infection rate of Anisakinae larvae in fish taken from the offing of Ishikawa Prefecture. In: Ishikura H and Kikuchi K (eds). *Intestinal Anisakiasis in Japan*. Springer-Verlag, Tokyo 1990; 45–48.
- 本多忠善, 坪内春夫, 野尻秀雄. 名古屋市における各種海産魚類に寄生するアニサキス幼虫の検査成績について. 名古屋市衛生研究所報 1967; **14**: 79–81.
- Maejima J. Anisakinae in Sanin waters of the Japan Sea. In: Ishikura H and Kikuchi K (eds). *Intestinal Anisakiasis in Japan*. Springer-Verlag, Tokyo 1990; 49–55.
- 林 道明, 半田淑明, 杉枝正明, 塩沢寛治, 仁科徳啓, 中津川修二, 久保田裕之. 静岡県近海の魚類におけるアニサキス亜科幼虫の寄生状況. 静岡県衛生環境センター報告 1988; **31**: 49–53.
- 出来真由美, 山本 淳. 鹿児島県沿岸で漁獲されたカタクチイワシにおけるアニサキス科線虫幼生の寄生状況. 鹿児島大学水産学部紀要 2005; **54**: 25–28.
- 斎藤孝一, 石岡 栄. 島根県における海産魚介類に寄生するアニサキス幼虫に関する調査. 島根医学 1970; **4**: 27–31.
- Gomes TL, Quiazon KMA, Kotake M, Itoh N, Yoshinaga T. *Anisakis* spp. in fishery products from Japanese waters: Updated insights on host prevalence and human infection risk factors. *Parasitol. Int.* 2020; **78**: 102137.
- 古市 生, 渡邊千夏子, 由上龍嗣, 上村泰洋, 井須小羊子. 平成 30(2018)年度マイワシ太平洋系群の資源評価. 「平成 30 年度我が国周辺水域の漁業資源評価」(水産庁・水産研究・教育機構編) 2019; 14–56.
- 安田十也, 黒田啓行, 林 晃, 依田真里, 鈴木 圭. 平成 30(2018)年度マイワシ対馬暖流系群の資源評価. 「平成 30 年度我が国周辺水域の漁業資源評価」(水産庁・水産研究・教育機構編) 2019; 57–95.
- Zhu X, Gasser RB, Podolska M, Chilton NB. Characterisation of anisakid nematodes with zoonotic potential by nuclear ribosomal DNA sequences. *Int. J. Parasitol.* 1998; **28**: 1911–1921.
- Quiazon KMA, Yoshinaga T, Ogawa K, Yukami R. Morphological differences between larvae and in vitro-cultured adults of *Anisakis simplex* (sensu stricto) and *Anisakis pegreffii* (Nematoda: Anisakidae). *Parasitol. Int.* 2008; **57**: 483–489.
- 鈴木 淳. アニサキス属幼線虫とアニサキスによる食中毒. 獣医学雑誌 2019; **23**: 66–67.
- Umehara A, Kawakami Y, Ooi HK, Uchida A, Ohmae H, Sugiyama H. Molecular identification of *Anisakis* type I larvae isolated from hairtail fish off the coasts of Taiwan and Japan. *Int. J. Food Microbiol.* 2010; **143**: 161–165.
- 鈴木 淳, 村田理恵, 柳川義勢. マグロに寄生したアニサキスによる食中毒事例とマグロを中心とした魚類のアニサキスの寄生状況. *Clinical Parasitology* 2007; **18**: 18–20.
- 波戸岡清峰, 和田 岳. クジラ. 「大阪湾本」(大阪市立自然史博物館編) 大阪市立自然史博物館 大阪. 2013. 77–78.
- Shiozaki A, Amano M. Population- and growth-related differences in helminthic fauna of finless porpoises (*Neophocaena asiaeorientalis*) in five Japanese populations. *J. Vet. Med. Sci.* 2017; **79**: 534–541.
- Wan XL, Zheng JS, Li WX, Zeng XY, Yang JW, Hao YJ, Wang D. Parasitic infections in the East Asian finless porpoise *Neophocaena asiaeorientalis sunameri* living off the Chinese Yellow/Bohai Sea coast. *Dis. Aquat. Organ.* 2017; **125**: 63–71.
- 河野光久. 山口県日本海沿岸域で漁獲されたマアジの食性. *Bull. Yamaguchi Pref. Fish. Res. Ctr.* 2007; **5**: 19–23.