

第24回麻布環境科学研究会 講演 A2

日本近海に生息する *Anisakis simplex* の同胞種群

梅原 梓里¹, 亀谷 誓一¹, 川上 泰¹,
松井 俊裕², 荒木 潤², 内田 明彦^{1,2}

¹麻布大学・医動物, ²(財)目黒寄生虫館

1. はじめに

アニサキス亜科線虫は、イルカやクジラなどの海棲哺乳類を終宿主とし、幼虫は多種の魚介類に寄生する。アニサキス属の中で最も一般的な種である *Anisakis simplex* は、寄生虫として異例なまでに宿主範囲を拡大し、現在では24種の海棲哺乳類と200種以上の魚類から寄生が報告されている。そして、この様に多種の宿主を利用して、世界中へと拡大した。本種は、Nascettiら(1986)およびMattiucciら(1997)の遺伝的手法を用いた研究によって、3種 (*A. simplex sensu stricto*, *A. simplex C*) に分類された。我々の研究においても、日本近海の成虫と幼虫のRAPD分析を行った結果、北方域と南方域の2群で遺伝的な差異が認められた。そこで、*A. simplex* 同胞種の遺伝的・系統的關係、生殖隔離の有無とその程度を明らかにすることを目的として、まず日本近海に生息する *A. simplex* 同胞種群の存在を調査した。

2. 材料と方法

第3期幼虫は、2002年から2004年の間に当研究室で採取した、96虫体を用いた。その内訳は北海道産魚類4種から58虫体、福岡県産魚類1種から38虫体である。また成虫は、1996年北西北太平洋鯨類捕獲調査においてミンククジラから採取され、当研究室で凍結保存されていた48虫体を使用した。同定は光学顕微鏡を用いて行い、主に虫体前端部の構造と尾部の特徴から *A. simplex* と同定されたものを使用した。

RFLP分析は、*A. simplex* 同胞種と多種間の遺伝的分化を推定するため、近縁種である *A. physeteris* と

A. typica も対象として行った。QIAmp DNA Mini Kitにて虫体よりDNAを抽出、S.D'Amelioら(2000)の手法に基づき、PCR法でrDNAのITS領域を増幅した。増幅断片は制限酵素 *Hin* I と *Hha* I で処理した後、2%アガロースゲルで電気泳動した。RFLPパターンのクラスター解析は、解析ソフト Phoretix 1D advanced ver. 5.20 (Non Linear Dynamics, USA) を用い、UPGMA法で行った。

3. 結果および考察

ITS領域のDNA切断パターンから、本研究に用いた北西北太平洋産の成虫と北海道産の幼虫は、主に *A. simplex* s. str.、福岡県産の幼虫は主に *A. pegreffii* と同定された。北西北太平洋産の成虫48虫体中3虫体(6%)、また福岡県産の幼虫38虫体中1虫体(3%)は2種の組換え型であった (Fig. 1)。*A. simplex* s. str., *A. pegreffii* および組換え型の採取地点と各種間の類

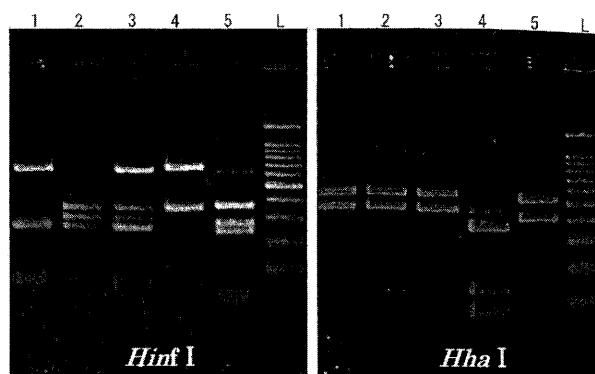


Fig. 1 *Anisakis* 属線虫のRFLPパターン
1 : *A. simplex* s.str. 2 : *A. pegreffii* 3 : 組換え型
4 : *A. typica* 5 : *A. physeteris* L : 100 bp ladder

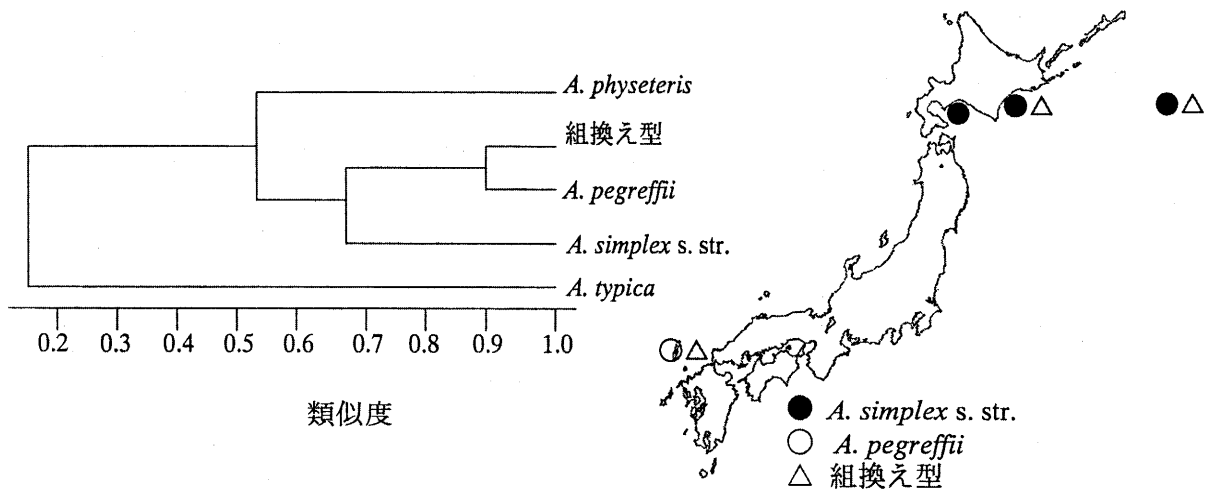


Fig. 2 *A. simplex* 同胞種の遺伝的関係と採取地点

似度をもとに作製した系統樹は Fig. 2 に示した。*A. simplex* および *A. typica* は、形態学的に長胃・短尾の I 型に分類され、*A. physeteris* は短胃・長尾の II 型に分類される。よって *A. simplex* と *A. typica* の第 3 期幼虫は形態で区別することはできない。しかしながら、類似度にして 0.5 前後もの大きな差異があり、*A. simplex* s. str., *A. pegreffii* および組換え型は、*A. typica* とは明瞭に異なることが明らかとなった。また組換え型は、*A. simplex* s. str. よりも比較的 *A. pegreffii* に近縁であった。

本研究の結果、*A. simplex* s. str. は北方域、*A. pegreffii* は南方域に生息する傾向を示し、日本近海に存在する *A. simplex* 同胞種群の分布には、地域的な特徴があると考えられた Mattiucci ら (1997) の報告においても、*A. simplex* s. str. は、北緯 30 度から北極にかけて分布し、*A. pegreffii* はオーストラリア

近海や地中海に分布すると報告されており、今回と同様な傾向が認められている。このような両種の分布傾向は、地理的な差異よりも、終宿主や運搬宿主の生態に関連していると考えられる。*A. simplex* s. str. が検出された魚類 4 種及びミンククジラの索餌場は、北海道、三陸沖にある。一方、*A. pegreffii* が検出された魚類の索餌場は、黄海や日本海にある。よって日本の北方域と南方域に、遺伝的に異なる *A. simplex* が存在した場合、その索餌場によって異なる虫体に感染する可能性は十分に考えられる。しかしながら、今回 *A. simplex* s. str. および *A. pegreffii* の混合感染は認められなかったものの、組換え型が両地域で検出された。これより、これら 2 つの「種」の間に生殖隔離は存在せず、低頻度であっても遺伝的交流があると考えられた。