

Wandeler P, Funk SM. 2006. Short microsatellite DNA markers for the red fox (*Vulpes vulpes*). *Mol Ecol Notes*. 6:98–100.

Wecker SC. 1963. The role of early experience in habitat selection by the prairie deer mouse, *Peromyscus maniculatus bairdi*. *Ecol Monogr*. 33:307–325.

Weir BS, Cockerham CC. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*. 38:1358–1370.

Yoneda M. 1981. The population size and feeding habit of the red fox 1: low self-sufficiency of food. *Northern Forestry Japan*. 33:258–261. (in Japanese).

**Received January 5, 2010; Revised June 21, 2010;  
Accepted July 12, 2010**

**Corresponding Editor: William Murphy**

# ZOOLOGICAL SCIENCE



# Geographical Variations of the Skull in the Red Fox *Vulpes vulpes* on the Japanese Islands: An Exception to Bergmann's rule

Takuya Oishi<sup>1</sup>, Kohji Uruguchi<sup>2</sup>, Alexei V. Abramov<sup>3</sup>  
and Ryuichi Masuda<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Natural History Sciences, Graduate School of Science, Hokkaido University,  
Sapporo 060-0810, Japan

<sup>2</sup>Hokkaido Institute of Public Health, Sapporo 060-0819, Japan

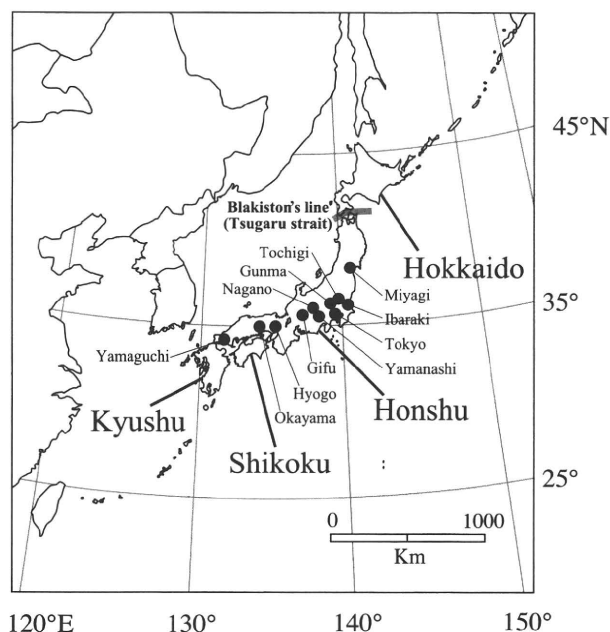
<sup>3</sup>Zoological Institute, Russian Academy of Sciences,  
Saint-Petersburg 199034, Russia

In order to clarify the morphological differences between two subspecies of the red fox (*Vulpes vulpes*) on the Japanese Islands and test the validity of Bergmann's rule, we examined geographical variations in 25 cranial and 24 dental characters in *V. v. schrencki* from Hokkaido and *V. v. japonica* from the other main islands of Japan (Honshu, Shikoku, and Kyushu). Many skull measurements, including the male greatest length, condylobasal length, and the length of upper and lower tooth rows, were significantly larger for *V. v. japonica* than for *V. v. schrencki*, whereas most tooth measurements, especially the length of molars and premolars, in *V. v. schrencki* were larger than those in *V. v. japonica*. Although the two subspecies were morphologically well-differentiated from each other, the results did not support that they have evolved following Bergmann's rule of adaptation to cold climates. Based on consideration of the relatively large differences of their tooth sizes, which are not easily influenced by food abundance, and previous genetic research on the different migration histories of the two subspecies, the morphological differences detected in the present study may have resulted not only from the present ecological differences between the two subspecies, but also from the difference of migration history and evolutionary constraints.

**Key words:** Bergmann's rule, Blakiston's line, morphology, red fox, skull, *Vulpes vulpes*

## INTRODUCTION

The fauna of Hokkaido Island, the northernmost of the Japanese Islands, is separated from the other main islands of Japan (Honshu, Shikoku, and Kyushu) by Blakiston's line (referring to the Tsugaru strait) (Fig. 1; Blakiston and Pryer, 1880). This demarcation is thought to have played an important role in forming the unique faunal composition of the Japanese Islands (Dobson, 1994). Many species occurring in Hokkaido, such as the brown bear (*Ursus arctos*), the sika deer (*Cervus nippon*), and the Eurasian red squirrel (*Sciurus vulgaris*), are not considered to be endemic (Abe et al., 2005), whereas there are many endemic mammalian species on the other main islands of Japan located southward of Blakiston's line. These endemic species account for about 40% of all the Japanese mammalian fauna (Abe et al., 2005). On some species that are distributed across Blakiston's line, genetic divergences between Hokkaido and the other three main islands have been reported. For example, the subspecies of the red fox (*Vulpes vulpes*) are genetically



**Fig. 1.** Location of the Japanese Islands and sampling localities on Honshu Island.

\* Corresponding author. Phone: +81-11-706-3588;  
Fax : +81-11-706-3588;  
E-mail: masudary@ees.hokudai.ac.jp

differentiated across Blakiston's line (Inoue et al., 2007).

*Vulpes vulpes* is widely distributed through almost entire northern hemisphere including even desert and tundra zones (Lariviere and Pasitschniak-Arts, 1996; Macdonald and Reynolds, 2004). Although 44 subspecies of this species were recognized by Lariviere and Pasitschniak-Arts (1996), their taxonomic status still requires reconsideration (Macdonald and Reynolds, 2004). In Japan, *V. vulpes* is distributed on all four main islands, and thus across Blakiston's line (Abe et al., 2005; Uruguchi, 2009). The Hokkaido population is classified as one subspecies *V. v. schrencki*, whereas those of in the other three main islands are classified a different subspecies, *V. v. japonica*. Based on a few samples, Imaizumi (1960) reported that *V. v. schrencki* had larger body sizes than *V. v. japonica* and that the coat colors were different between the two subspecies. In contrast, a comparison of body measurements of *V. vulpes* populations from several regions in Japan showed no clear differences between the two subspecies (Tsukada, 1997; Uruguchi, 2009). Although skulls of the subspecies were also measured in a relatively large numbers of samples, cranial values of the Japanese subspecies of *V. vulpes* often varied in different researches (Sasakawa, 1984; Takeuchi, 1995). Therefore, it is difficult to simply compare the results of these measurements. To our knowledge, there have been no reports on direct comparisons of the skulls between the two subspecies with large sample numbers to date.

Bergmann's rule states that the body size of a northern race is generally larger than that of a southern one, the result of adaptation to the colder climate (Bergmann, 1847). Because the Japanese Islands cover a wide expanse of latitude, morphological variations of many mammals in Japan follow Bergmann's rule. For example, Haba et al. (2008) reported that the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) in Japan follows the rule, with larger skulls in the northern subspecies *N. p. albus* in Hokkaido than those of *N. p. viverrinus* in the other main islands.

In the present study, to investigate effects of geographical isolation by Blakiston's line and clarify the morphological differences between the two subspecies of *V. vulpes* in Japan, especially from the view of testing Bergmann's rule, geographical variations in skull and tooth morphology were examined. We further discuss possible factors causing the differentiation, from ecological and natural historical viewpoints.

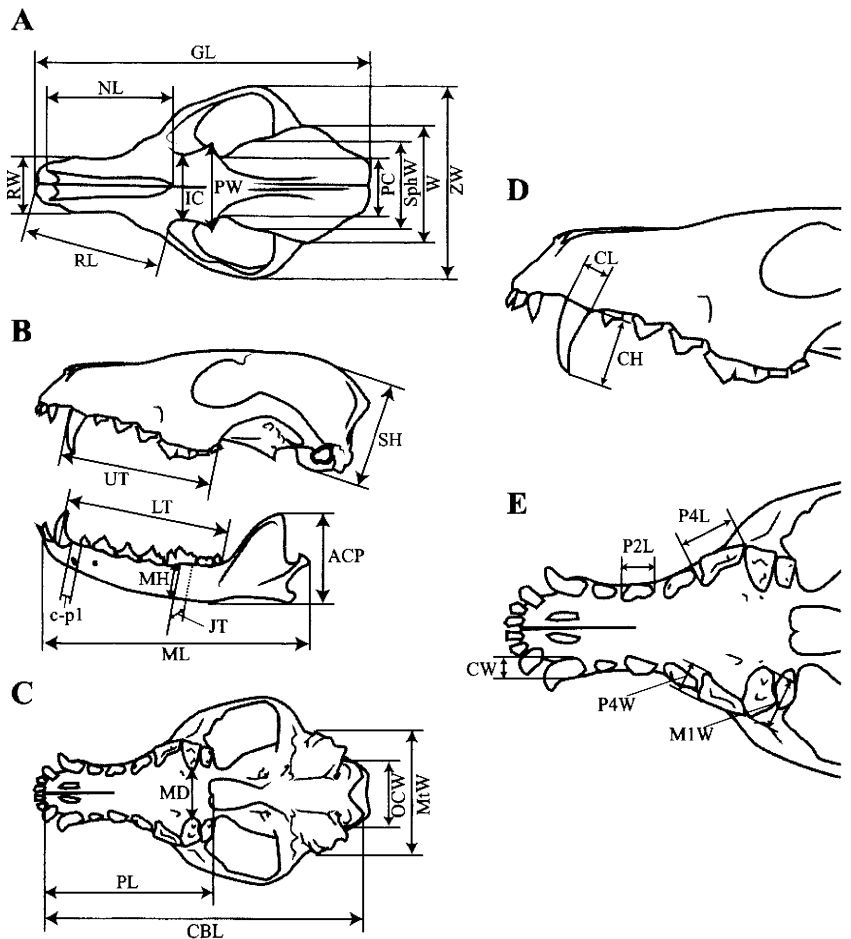
## MATERIALS AND METHODS

### Sample collection

A total of 89 skull specimens of *V. v. schrencki* (44 males; 41 females; and 4 sex unknown) and 71 of *V. v. japonica* (22 males; 23 females; and 26 sex unknown) were examined (Table 1). The specimens of subspecies *schrencki* were collected widely from Hokkaido

**Table 1.** Numbers and localities of samples examined in the present study.

Subspecies	Localities		Numbers			Total
	Island	Prefecture	Male	Female	Sex unknown	
<i>V. v. schrencki</i>	Hokkaido		44	41	4	89
<i>V. v. japonica</i>	Honshu		17	19	25	61
		Miyagi	0	0	1	1
		Tochigi	12	12	1	25
		Gunma	0	1	1	2
		Ibaraki	1	1	0	2
		Tokyo	0	2	0	2
		Yamanashi	1	0	0	1
		Nagano	2	2	5	9
		Gifu	0	0	9	9
		Hyogo	0	0	1	1
		Okayama	0	0	7	7
		Yamaguchi	1	1	0	2
		Shikoku		1	2	0
Kyushu		4	2	1	7	
Subtotal		22	23	26	71	
Total			66	64	30	160



**Fig. 2.** Skull and tooth measurements of the red fox (*Vulpes vulpes*) used in the present study. (A) dorsal view of cranium, (B) lateral view of skull, (C) ventral view of cranium, (D) lateral view of maxilla, and (E) ventral view of maxilla. See text and Tables 2 and 4 for the abbreviations.

by the Hokkaido prefectural government. Most *V. v. schrencki* specimens were caught during December of 2005 through February of 2006. The skulls of *V. v. japonica* were preserved in Ibaraki Nature Museum, Kyoto University Museum, Wildlife Community Center, Kitakyushu Museum of Natural History and Human History, Shikoku Institute of Natural History, Tochigi Prefectural Museum, and National Museum of Nature and Science, Tokyo. In both subspecies, individuals that were considered younger than one year old were eliminated from analysis after estimating their ages by the presence of crests, the closure of cranial structures, dentition, and the date of collection, as this species gives birth usually from March to May (Maekawa et al., 1980) and stops growing at 11 months old (Sasakawa, 1984).

#### Measurement points in skulls

Following the definitions of Saito (1963), Sasakawa (1984) and Haba et al. (2007), we measured 25 cranial and mandible variables (Fig. 2): rostrum length (RL), greatest length (GL), nasal length (NL), rostrum width (RW), interorbital constriction (IC), postorbital width (PW), postorbital constriction (PC), zygomatic width (ZW), sphenion width (SphW), cranial width (W), skull height (SH), condylobasal length (CBL), length of upper tooth row (UT), palatal length (PL), distance between the first upper molars (MD), mastoid width (MtW), occipital condyle width (OCW), mandible length (ML), length of lower tooth row (LT), mandibular height (MH), from angular process to coronoid process (ACP), jaw thickness (JT), distance between the alveoli of the canine and the p1 (c-p1), length of p1-

p4 (p1-p4) and length of m1-m3 (m1-m3). A total of 24 dental variables were measured (Fig. 2): length of upper canine (CL), width of upper canine (CW), height of upper canine (CH), length of upper premolar (P1L, P2L, P3L and P4L), width of upper fourth premolar (P4W), length of upper molar (M1L and M2L), width of upper molar (M1W and M2W), length of lower canine (cL), width of lower canine (cW), height of lower canine (cH), length of lower premolar (p1L, p2L, p3L and p4L), width of lower fourth premolar (p4W), length of lower molar (m1L and m2L) and width of lower molar (m1W and m2W). All measurements were obtained to the nearest 0.01 mm by a digital caliper.

Sexual dimorphisms in skull dimensions have been reported in this species (Sasakawa, 1984), so we examined the differences of each measurement between the sexes of both subspecies with Aspin-Welch's *t*-test. Specimens without information on sex were not included to this test. Except for P1L, P2L, M2L, M2W, cW, p1L, m2L and m2W, there were significant sexual differences in *V. v. schrencki*, *V. v. japonica*, or both. For measurements without significant sexual differences, Aspin-Welch's *t*-test was used to compare differences between subspecies without sexual distinctions. For all other measurements, the differences were compared by Aspin-Welch's *t*-test for each sex. Principal component analysis (PCA) and stepwise discriminant analysis were used to clarify the interspecific variations for skull and tooth measurements for each sex. All analyses for Aspin-Welch's *t*-test were performed with Microsoft Excel X and the other statistical analyses were done with STATISTICA version 06J (StatSoft Japan).

**Table 2.** Skull measurements of the two Japanese subspecies of *Vulpes vulpes*, results of Aspin-Welch's *t*-test (*P*) and discriminant coefficient from stepwise discriminant analysis. "\*\*\*\*", "\*\*\*\*" and "NS" indicate  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  and  $P > 0.05$ , respectively. The bold letters in the rows of mean values indicate that they were significantly larger than the same measurement point in the other subspecies. <sup>a</sup>Hyphens show variables not selected for the stepwise discriminant analysis.

Abbreviations of the measurement	Full names of the measurement	Mean (SD)				<i>P</i> value		Discriminant coefficient <sup>a</sup>	
		<i>V. v. schrencki</i>		<i>V. v. japonica</i>		Female	Male	Female	Male
		Female	Male	Female	Male				
RL	Rostrum length	60.4 (2.6)	63.0 (3.3)	61.3 (2.7)	<b>65.8</b> (3.0)	NS	**	-	-1.057
GL	Greatest length	136.8 (5.3)	142.7 (6.3)	138.7 (4.7)	<b>147.3</b> (5.9)	NS	**	-	-
NL	Nasal length	53.2 (2.9)	56.4 (3.3)	<b>55.0</b> (2.6)	58.2 (3.6)	*	NS	-0.650	-
RW	Rostrum width	22.3 (1.0)	23.7 (1.3)	<b>23.2</b> (1.1)	<b>24.6</b> (1.5)	**	*	-0.388	-
IC	Interorbital constriction	25.8 (1.5)	27.6 (1.7)	25.4 (1.4)	27.0 (1.5)	NS	NS	1.468	-1.025
PW	Postorbital width	31.9 (2.6)	34.5 (2.9)	33.0 (2.0)	35.0 (2.6)	NS	NS	-	-
PC	Postorbital constriction	21.2 (1.1)	21.8 (1.4)	21.4 (1.0)	21.9 (1.2)	NS	NS	-1.285	1.326
ZW	Zygomatic width	71.3 (2.6)	74.9 (2.9)	<b>73.9</b> (2.3)	<b>78.5</b> (3.6)	**	**	-1.075	1.235
SphW	Sphenion width	35.7 (1.1)	36.7 (1.2)	35.7 (1.4)	36.2 (1.3)	NS	NS	-	-1.203
W	Cranial width	45.3 (1.1)	46.7 (1.3)	45.3 (1.1)	46.9 (1.1)	NS	NS	0.545	-
SH	Skull height	47.9 (1.4)	49.6 (1.2)	47.5 (1.0)	49.4 (1.6)	NS	NS	0.416	-1.092
CBL	Condylobasal length	133.6 (4.8)	138.8 (5.7)	135.7 (4.3)	<b>143.8</b> (5.3)	NS	**	-	2.628
UT	Upper tooth row length	61.4 (2.1)	63.4 (3.0)	60.8 (1.7)	64.2 (2.4)	NS	NS	-0.654	-1.068
PL	Palatal length	70.4 (2.7)	73.1 (3.5)	<b>72.9</b> (2.7)	75.2 (7.4)	**	NS	-	-
MD	Distance between upper M1s	17.1 (1.1)	17.5 (1.3)	<b>17.8</b> (0.7)	<b>19.1</b> (1.2)	**	**	-0.128	-
MtW	Mastoid width	44.3 (1.5)	45.2 (1.5)	43.9 (1.1)	46.0 (1.6)	NS	NS	1.425	-
OCW	Occipital condyle width	24.9 (0.9)	25.4 (1.2)	<b>25.7</b> (1.0)	<b>26.5</b> (0.7)	**	**	-0.476	0.360
ML	Mandible length	102.9 (3.9)	107.6 (4.6)	<b>105.2</b> (3.5)	<b>112.3</b> (4.7)	*	**	-1.148	1.964
LT	Lower tooth row length	68.7 (3.2)	71.5 (3.4)	68.7 (1.9)	72.6 (2.9)	NS	NS	-	-
MH	Mandibular height	14.5 (1.0)	15.2 (1.2)	14.8 (0.9)	<b>16.1</b> (1.2)	NS	**	-	-
ACP	angular - coronoid process	36.2 (1.8)	37.7 (2.2)	36.3 (1.6)	38.8 (2.3)	NS	NS	0.933	-1.424
JT	Jaw thickness	26.1 (1.6)	27.3 (1.8)	26.8 (1.0)	27.8 (2.4)	NS	NS	-0.445	-0.473
c-p1	Distance between canine and p1	3.6 (1.1)	3.8 (0.9)	<b>4.3</b> (0.6)	<b>4.8</b> (0.8)	**	**	-	-
p1-p4	Length of lower premolars	<b>32.9</b> (1.4)	33.9 (1.8)	32.2 (1.3)	34.5 (1.4)	*	NS	0.986	-
m1-m3	Length of lower molars	<b>24.8</b> (0.9)	<b>25.7</b> (1.3)	24.0 (1.2)	24.7 (1.1)	**	**	0.664	-0.650

## RESULTS

### Skull measurements

According to the Aspin-Welch's *t*-test between the two subspecies, two skull measurements from female specimens (NL and PL), four from male (RL, GL, CBL and MH), and six from both sexes (RW, ZW, MD, OCW, ML and c-p1) were significantly larger for *japonica* than *schrencki* ( $P < 0.05$ ). In contrast, the length of lower premolars (p1-p4) in females and the length of lower molars (m1-m3) in both sexes were significantly larger in *schrencki* than *japonica* (Table 2). In addition, most average values for all other measurements, which were not significantly different between subspecies, were larger in *japonica* than *schrencki* (Table 2).

In PCA using skull measurements, the first (PC1) and second (PC2) principal component axes respectively explained 43.6% and 13.0% of the total variations in females, as well as 52.3% and 12.0% in males (Table 3). PC1 is loaded mainly on the length of skull in females, and the length and width of skull in males. PC2 expresses width positively, and length negatively in both sexes (Table 3). Fig. 3 shows the individual scores for the axes and the separation between the two subspecies.

In stepwise discriminant analysis of vixens, sixteen measurement points were selected in the following order: IC, MtW, PC, ML, ZW, p1-p4, ACP, m1-m3, UT, NL, W, OCW, JT, SH, RW, and MD (Table 2). These variables correctly classified 100% of female skulls by subspecies. Thirteen variables were selected for distinguishing subspecies of males in the following order: CBL, ML, ACP, PC, ZW, SphW, SH, UT, RL, IC, m1-m3, JT and OCW (Table 2). These variables also correctly classified 100% of male skulls between subspecies.

### Tooth measurements

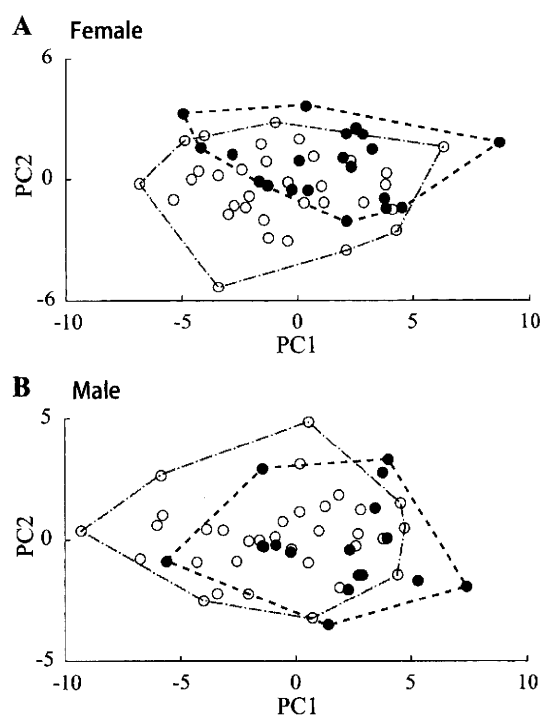
M1L of females, m1W of males and ten tooth measurements of both sexes (P2L, P3L, P4L, M1W, M2W, p1L, p2L, p3L, p4L and m1L) were significantly larger for *V. v. schrencki* than *V. v. japonica* ( $P < 0.05$ , Table 4). In contrast, cH and p4W of vixens and M2L and cL of both sexes were significantly larger for *V. v. japonica* than *V. v. schrencki* ( $P < 0.05$ , Table 4).

In PCA using tooth measurements, the first and second principal component axes respectively explained of the total variation 36.5% and 14.9% in females, 58.2% and 8.9% in males (Table 3). PC1 is loaded mainly on the length of molars and premolars in both sexes, and PC2 of both sexes expresses sizes of canine positively, and length of molars and premolars negatively (Table 3). These principle components adequately distinguished between the two subspecies in both sexes (Fig. 4).

In stepwise discriminant analysis of vixens, nine variables were selected in the following order: P2L, p4W, p4L, P4W, m1W, cL, P3L, CH and M2W (Table 4). These variables correctly classified 100% of female specimens

**Table 3.** Factor loading values for each measurement, eigenvalues, and contribution rates in principal component analyses.

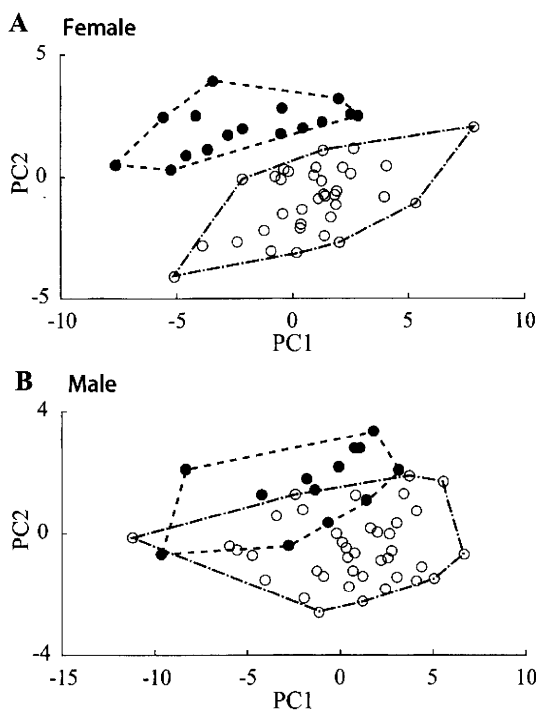
Measurement point	Skull				Measurement point	Tooth			
	Female		Male			Female		Male	
	PC1	PC2	PC1	PC2		PC1	PC2	PC1	PC2
RL	0.85	-0.39	0.89	-0.34	CL	0.57	0.56	0.64	0.19
GL	0.90	-0.30	0.93	-0.29	CW	0.60	0.50	0.74	0.27
NL	0.72	-0.28	0.79	-0.28	CH	0.29	0.44	0.72	0.21
RB	0.60	0.29	0.73	0.33	P1L	0.48	-0.05	0.75	-0.28
IC	0.55	0.34	0.41	0.73	P2L	0.84	-0.35	0.78	-0.47
PB	0.60	0.53	0.42	0.71	P3L	0.84	-0.26	0.88	-0.18
PC	0.33	0.65	0.07	0.71	P4L	0.65	-0.22	0.80	-0.21
ZB	0.77	0.41	0.83	0.33	P4W2	0.54	0.41	0.82	0.32
SphW	0.41	0.39	0.22	0.36	M1L	0.53	-0.10	0.81	0.05
W	0.52	0.32	0.59	0.14	M1W	0.78	-0.12	0.85	-0.03
SH	0.56	0.10	0.69	0.19	M2L	-0.17	0.02	0.47	0.51
CBL	0.90	-0.24	0.95	-0.23	M2W	0.56	-0.20	0.62	0.25
UT	0.79	-0.41	0.88	-0.26	cL	0.22	0.72	0.55	0.40
PL	0.86	-0.22	0.90	-0.24	cW	0.53	0.62	0.82	0.29
MD	0.54	0.42	0.57	0.28	cH	0.02	0.67	0.77	0.40
MtW	0.60	0.23	0.80	0.22	p1L	0.52	-0.28	0.64	-0.32
OCB	0.47	0.25	0.66	0.09	p2L	0.83	-0.35	0.81	-0.48
ML	0.89	-0.28	0.95	-0.21	p3L	0.79	-0.28	0.87	-0.37
LT	0.81	-0.36	0.90	-0.27	p4L	0.85	-0.29	0.85	-0.38
MH	0.61	0.17	0.72	0.12	p4W	0.43	0.67	0.75	0.20
ACP	0.73	-0.25	0.78	-0.11	m1L	0.73	-0.20	0.93	-0.15
JT	0.58	0.28	0.64	0.38	m1W	0.72	0.30	0.86	-0.07
c-p1	0.62	0.39	0.68	0.16	m2L	0.37	-0.04	0.62	0.24
p1-p4	0.46	-0.61	0.74	-0.36	m2W	0.63	0.05	0.75	0.17
m1-m3	0.17	-0.32	0.48	-0.11					
Eigenvalue	10.90	3.23	13.08	2.99		8.75	3.56	13.98	2.12
Contribution rate	0.44	0.13	0.52	0.12		0.36	0.15	0.58	0.09
Cummulative contribution rate	0.44	0.56	0.52	0.64		0.36	0.51	0.58	0.67



**Fig. 3.** Principal component analysis plots of female skulls (A) and male skulls (B) of *V. v. schrencki* (open circles) and *V. v. japonica* (closed circles).

**Table 4.** The tooth measurements of the two Japanese subspecies of *Vulpes vulpes*, results of Aspin-Welch's *t*-test (*P*), and discriminant coefficient from stepwise discriminant analysis. ":", ":", and "NS" indicate  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  and  $P > 0.05$ , respectively. The bold letters in the rows of mean values indicate that the significantly larger than the same measurement point of another subspecies. P1L, P2L, M2L, M2W, cW, p1L, m2L, and m2W were not separated into sexes because these measurements show no significant differences between sexes. <sup>a</sup>Hyphens show the variables not selected for the stepwise discriminant analysis.

Abbreviations of the measurement	Full names of the measurement	Mean (SD)				P value		Discriminant coefficient <sup>a</sup>	
		<i>V. v. schrencki</i>		<i>V. v. japonica</i>		Female	Male	Female	Male
		Female	Male	Female	Male				
CL	Upper canine length	6.21 (0.35)	6.73 (0.39)	6.29 (0.42)	6.76 (0.49)	NS	NS	-	-
CW	Upper canine width	4.04 (0.19)	4.39 (0.29)	4.05 (0.18)	4.50 (0.83)	NS	NS	-	0.745
CH	Upper canine height	17.09 (1.23)	18.65 (1.19)	17.19 (0.94)	17.42 (3.33)	NS	NS	0.305	-
P1L	Upper P1 length	4.63 (0.38)		4.70 (1.77)		NS		-	-
P2L	Upper P2 length	8.77 (0.53)		7.94 (0.59)		**		-1.110	-
P3L	Upper P3 length	9.44 (0.47)	9.63 (0.62)	8.83 (0.39)	9.25 (0.43)	**	**	0.360	-
P4L	Upper P4 length	14.58 (0.51)	15.10 (0.76)	13.80 (0.70)	14.17 (1.37)	**	**	-	0.842
P4W	Upper P4 width	6.67 (0.39)	6.99 (0.65)	6.88 (0.49)	7.01 (0.55)	NS	NS	0.698	-
M1L	Upper M1 length	9.31 (0.38)	9.53 (0.54)	9.04 (0.40)	9.31 (0.69)	**	NS	-	-0.772
M1W	Upper M1 width	12.41 (0.57)	12.86 (0.73)	11.81 (0.72)	12.10 (0.93)	**	**	-	0.485
M2L	Upper M2 length	5.20 (0.41)		5.63 (0.94)		**		-	-0.707
M2W	Upper M2 width	8.48 (0.50)		8.19 (0.66)		**		0.208	0.604
cL	Lower canine length	6.42 (0.48)	6.95 (0.48)	6.90 (0.61)	7.37 (0.74)	**	*	0.444	-0.690
cW	Lower canine width	4.26 (0.31)		4.35 (0.38)		NS		-	-
cH	Lower canine height	15.67 (0.87)	16.84 (0.98)	16.50 (1.38)	16.82 (1.33)	*	NS	-	-0.667
p1L	Lower P1 length	3.99 (0.33)		3.81 (0.24)		**		-	-
p2L	Lower P2 length	8.49 (0.39)	8.72 (0.67)	7.62 (0.52)	7.97 (0.43)	**	**	-	0.767
p3L	Lower P3 length	8.87 (0.35)	9.19 (0.54)	8.32 (0.40)	8.63 (0.50)	**	**	-	-
p4L	Lower P4 length	9.75 (0.38)	10.16 (0.55)	9.15 (0.37)	9.51 (0.45)	**	**	-0.978	-
p4W	Lower P4 width	3.74 (0.19)	4.00 (0.26)	3.93 (0.23)	4.06 (0.29)	**	NS	1.016	-1.062
m1L	Lower M1 length	15.00 (0.47)	15.48 (0.85)	14.46 (0.55)	14.74 (0.73)	**	**	-	-
m1W	Lower M1 width	5.33 (0.25)	5.61 (0.35)	5.24 (0.23)	5.37 (0.30)	NS	**	-0.583	0.490
m2L	Lower M2 length	7.00 (0.39)		6.97 (0.45)		NS		-	-
m2W	Lower M2 width	5.00 (0.35)		4.96 (0.32)		NS		-	-



**Fig. 4.** Principal component analysis plots of female teeth (A) and male teeth (B) of *V. v. schrencki* (open circles) and *V. v. japonica* (closed circles).

between subspecies. In contrast, eleven variables were selected for distinguishing subspecies of males in the following order: p4W, P4L, M1L, p2L, CW, M2L, cL, cH, M2W, m1W and M1W (Table 4). These male dental variables also correctly classified 100% of the two subspecies.

**DISCUSSION**

**Morphological differences between the two subspecies of *V. vulpes***

The present study demonstrated that two Japanese subspecies of *V. vulpes* are morphologically differentiated from each other. The skull measurements, which were chosen by the discriminant analyses in both sexes with significant differences between subspecies by *t*-test, were rostrum width (RW), zygomatic width (ZW), the distance between the first upper molars (MD), occipital condyle width (OCW), mandible length (ML), distance between the alveoli of the canine and the p1 (c-p1), and length of lower molars (m1-m3). Many tooth measurements, except for those of upper canines and lower molars, were significantly smaller in *V. v. japonica*. Discriminant analyses also identified such measurements as useful in distinguishing the two subspecies. The differences between the two subspecies are summarized as follows: *V. v. schrencki* from Hokkaido has a narrower cranium and shorter mandible, with long molars and premolars, whereas *V. v. japonica*, of the other main islands of Japan, is characterized by a wider skull and smaller molars and premolars. In addition, no significant differences

were indicated on the sizes related to braincases such as sphenion width (SphW), cranial width (W), and skull height (SH).

### ***Vulpes vulpes* on the Japanese islands, an exception to Bergmann's rule**

Many skull measurements, including male greatest and condylobasal length (GL and CBL, respectively), were significantly larger for *V. v. japonica* than *V. v. schrencki*, and the average values of the other skull measurements were also relatively larger in *japonica* (Table 2). The results show that *V. vulpes* in Japan does not follow Bergmann's rule. According to Ashton et al. (2000), 78 out of 110 mammalian species show positive correlations between sizes and latitudes, indicating that Bergmann's rule is certainly a valid generalization for mammals. Meiri and Dayan (2003) reported that 57.4% (skull length) and 63.3% (dental length) of mammalian measurements comply with Bergmann's rule, and that 82.1% of mammals follow the rule in their body weight. Significant positive correlations between skull lengths and latitudes were found in 50% of carnivore species, while significant negative correlation was found in only 11% of species (Meiri et al., 2004). The previous studies show that *V. vulpes* also followed Bergmann's rule (see Meiri et al., 2004). Meanwhile, some exceptions of Bergmann's rule have been also reported on the Japanese mammals (e.g. Yoneda and Abe, 1976; Kaneko, 1988), including *V. vulpes*. Takeuchi (1995) compared the skull measurements of *japonica* from Tochigi Prefecture, central Honshu, with those from other regions, and showed that their skulls increase in size with decreasing latitudes. In addition, Uraguchi (2009) reported that the total body length of *V. v. schrencki* is slightly larger than that of *V. v. japonica*, but that the average body weight of males was not different between subspecies, and relatively smaller in female *V. v. schrencki*. The present study agrees with the above previous studies of Takeuchi (1995) and Uraguchi (2009) on the point of negative correlation.

### **Why does *V. vulpes* in Japan not follow the Bergmann's rule?**

Bergmann's rule is an empirical generalization, and exceptions may occur (Mayr, 1956). Species that do not follow Bergmann's rule may be affected more by the following elements than by latitude. Mayr (1963) and King (1989) suggested that burrowing mammals often fail to follow Bergmann's rule as the microhabitat of a burrow protects them from cold. Nearctic populations of *Mustela* species in the family Mustelidae also deviate from the rule, due to the negative correlation between latitude and size in *Microtus*, the main prey of *Mustela* species (Ralls and Harvey, 1985). Ashton et al. (2000) considered that, in *Mustela*, relationships with prey may override other selective factors in determining body size. One of the key factors that determines body size is likely to be food availability, and the spatial distribution of key resources within the species range constitutes a significant predictor of carnivore body size (see Meiri et al., 2007). Factors influencing food availability may also affect *V. vulpes*. However, because this species is omnivorous and its diet habit varies extremely by season and region (Tsukada, 1997), it is difficult to simply compare

food availability and quality between the subspecies.

Moreover, the present study showed that most tooth measurements, especially the length of molars and premolars, were larger in *V. v. schrencki* than *V. v. japonica*, whereas the average length of upper and lower tooth rows (UT and LT, respectively) were not significantly different between the two subspecies (Tables 2 and 4). In the raccoon dogs in Japan, molars and premolars are larger in the Honshu population, which is more omnivorous than the Hokkaido population (Haba et al., 2008). In the present study, however, the molars and premolars were developed more in *V. v. schrencki* (Table 3), despite the fact that fibrous foods are more frequently found in feces of *V. v. japonica* than *V. v. schrencki* (Tsukada, 1997).

Morphological differences may have resulted from both ecological differences and evolutionary processes (e.g. Futuyama, 1998; Newton, 2003). It may however be more plausible that the morphological differences between the two Japanese subspecies of *V. vulpes* are related to differences in their migration histories. Two sets of evidence support this idea. First, a previous study using the analysis of mtDNA variation revealed that the Japanese subspecies of *V. vulpes* were genetically isolated by Blakiston's line (Inoue et al., 2007). In addition, Inoue et al. (2007) reported that there were two clusters in Japan: one cluster was composed of *V. v. japonica* and partial populations of *V. v. schrencki*, and the other consisted of other populations of *V. v. schrencki*. The mean sequence divergence between the two clusters for the entire cytochrome *b* gene was about 3%, and *V. v. schrencki* was considered to have a different genetic background from *V. v. japonica* (Inoue et al., 2007). The second reason is the difference of tooth sizes between the two subspecies. Dental measurements separated the two subspecies in the PCA more accurately than did skull measurements (Figs. 3 and 4). Nutrition abundance easily affects the growth of many skull parts in *V. vulpes*, whereas tooth sizes are not strongly influenced by food abundance (Englund, 2006). It is difficult to view this difference as solely the result of environmental factors, and it may be caused by genetic differences between the subspecies. By considering both of these factors, we can conclude that the morphological features detected in the present study are not only influenced by present ecological differences of the locality, but also affected by evolutionary processes, such as migration history.

This is the first study revealing detailed skull differences between the two subspecies of *V. vulpes* in Japan. The findings provide an opposing insight to those of a previous study using a limited sample number, which suggested that this species in Japan follows Bergmann's rule (Imaizumi, 1960). In order to clarify the certain reason why they do not obey Bergmann's rule, however, an examination of the differences of food abundance between the subspecies and phylogeographical analysis of paternally and biparentally inherited genes through a wide habitat range, in addition to the previous genetic study, will be necessary.

### **ACKNOWLEDGEMENTS**

We thank Dr. Minoru Baba (Kitakyushu Museum of Natural History and Human History), Dr. Terutake Hayashi (Tochigi Prefectural Museum), Dr. Masaharu Motokawa (Kyoto University Museum),



Dr. Shuuji Yachimori (Shikoku Institute of Natural History), Dr. Koji Yamazaki (Ibaraki Nature Museum), Dr. Shin-ichiro Kawada (National Museum of Nature and Science, Tokyo) and Ms. Yuko Fukue (Wildlife Community Center) for their permission and supporting our measurement of skull specimens of the red fox.

## REFERENCES

- Abe H, Ishii N, Ito T, Kaneko Y, Maeda K, Miura S, Yoneda M (2005) A Guide to the Mammals of Japan. Tokai Univ Press, Kanagawa (in Japanese)
- Ashton KG, Tracy MC, de Queiroz A (2000) Is Bergmann's rule valid for mammals? *Am Nat* 156: 390–415
- Bergmann C (1847) Über die Verhältnisse der Wärmekonomie der Thiere zu ihrer Grösse. *Göttinger Studien* 1: 595–708
- Blakiston T, Pryer H (1880) Catalogue of the birds of Japan. *Trans Asiatic Soc Jpn* 7: 172–241
- Dobson M (1994) Patterns of distribution in Japanese land mammals. *Mammal Rev* 24: 91–111
- Englund J (2006) Cranial and skeletal size in red foxes, *Vulpes vulpes* (Carnivora, Canidae) in areas with large variation in food abundance. *Russ J Theriol* 5: 25–34
- Futuyma DJ (1998) Evolutionally biology. 3rd ed. Sinauer Associates Inc, Massachusetts
- Haba C, Oshida T, Sasaki M, Endo H, Ichikawa H, Masuda Y (2008) Morphological variation of the Japanese raccoon dog: implications for geographical isolation and environmental adaptation. *J Zool* 274: 239–247
- Imaizumi Y (1960) Coloured Illustrations of the Mammals of Japan. Hoikusha, Osaka
- Inoue T, Nonaka N, Mizuno A, Morishima Y, Sato H, Katakura K, Oku Y (2007) Mitochondrial DNA phylogeography of the red fox (*Vulpes vulpes*) in Northern Japan. *Zool Sci* 24: 1178–1186
- Kaneko Y (1988) Relationship of skull dimensions with latitude in the Japanese field vole. *Acta Theriol* 33: 35–46
- King CM (1989) The advantages and disadvantages of small size to weasels, *Mustela* species. In "Carnivore Behavior, Ecology and Evolution" Ed by JL Gittleman, Cornell Univ Press, Ithaca, New York, pp 302–334
- Larivière S, Pasitschniak-Arts M (1996) *Vulpes vulpes*. *Mamm Spec* 537: 1–11
- Macdonald DW, Reynolds JC (2004) Red fox. *Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758. In "Canids: Foxes, Wolves, Jackals and Dogs – Status Survey and Conservation Action Plan" Ed by C Sillero-Zubiri, M Hoffmann, DW Macdonald, IUCN Publications Services Unit, Cambridge, pp 129–136
- Maekawa K, Yoneda M, Togashi H (1980) A preliminary study of the age structure of the red fox in Eastern Hokkaido. *Jpn J Ecol* 30: 103–108
- Mayr E (1956) Geographical character gradients and climatic adaptation. *Evolution* 10: 105–108
- Mayr E (1963) Animal species and evolution. Harvard University Press, Cambridge, Mass
- Meiri S, Dayan T (2003) On the validity of Bergmann's rule. *J Biogeogr* 30: 331–351
- Meiri S, Dayan T, Simberloff D (2004) Carnivores, biases, and Bergmann's rule. *Biol J Linn Soc* 81: 579–588
- Meiri S, Yom-Tov Y, Geffen E (2007) What determines conformity to Bergmann's rule? *Global Ecol Biogeogr* 16: 788–794
- Newton I (2003) The Speciation and Biogeography of Birds. Academic Press, London
- Ralls K, Harvey PH (1985) Geographic variation in size and sexual dimorphism of North American weasels. *Biol J Linn Soc* 25: 119–167
- Saito H (1963) Osteometrie der Caniden: Wie ist das Skelett der Caniden zu messen? Kokusei-Bunken Press, Tokyo (in German and Japanese)
- Sasakawa M (1984) Growth of the skull and eruption sequences of permanent teeth in red fox, *Vulpes vulpes*. *J Oral Biol* 26: 1210–1227 (in Japanese with English summary)
- Takeuchi M (1995) Morphological and ecological study of the red fox *Vulpes vulpes* in Tochigi, central Japan: a biological monograph on morphology, age structure, sex ratio, mortality, population density, diet, daily activity pattern, and home range use. PhD Thesis, Graduate school of Natural Science and Technology, Kanagawa University
- Tsukada H (1997) External measurements, breeding season, litter size, survival rate, and food habits of red foxes (*Vulpes vulpes schrencki*) in the Shiretoko National Park. *Bull Shiretoko Mus* 18: 35–44 (in Japanese with English summary)
- Uraguchi K (2009) *Vulpes vulpes* (Linnaeus, 1758). In "The Wild Mammals of Japan" Ed by SD Ohdachi, Y Ishibashi, MA Iwasa, T Saitoh, Shoukadoh, Kyoto, pp 214–215
- Voigt DR, Macdonald DW (1984) Variation in the spatial and social behavior of the red fox, *Vulpes vulpes*. *Acta Zool Fenn* 171: 261–265
- Yoneda M, Abe H (1976) Sexual dimorphism and geographical variation of the brown bear (*Ursus arctos yesoensis*) revealed by skull measurement. *Mem Fac Agri-Hokkaido University* 9: 265–276 (in Japanese)

(Received March 25, 2010 / Accepted June 9, 2010)

CONTENTS

ORIGINAL ARTICLES

Behavioral Biology

Sugahara, M., Minamoto, T., Fuchikawa, T., Michinomae, M., Shimizu, I.: *Apis cerana japonica* Discriminates between Floral Color Phases of the Oriental Orchid, *Cymbidium floribundum*. ..... 901

Diversity and Evolution

Fujimoto, A., Iwasa, M. A.: Intra- and Interspecific Nuclear Ribosomal Gene Variation in the Two Japanese *Eothenomys* Species, *E. andersoni* and *E. smithii*. ..... 907

Ecology

Akiyama, Y. B., Maruyama, T.: Habitat Characteristics Influencing Distribution of the Freshwater Mussel *Pronodularia japonensis* and Potential Impact on the Tokyo Bitterling, *Tanakia tanago*. ..... 912

Frynta, D., Frýdlová, P., Hnízdo, J., Šimková, O., Cikánová, V., Velenský, P.: Ontogeny of Sexual Size Dimorphism in Monitor Lizards: Males Grow for a Longer Period, but not at a Faster Rate. ..... 917

Endocrinology

Amano, M., Yokoyama, T., Amiya, N., Hotta, M., Takakusaki, Y., Kado, R., Oka, Y.: Biochemical and Immunohistochemical Analyses of GnRH-like Peptides in the Nerve Ganglion of the Chiton, *Acanthopleura japonica*. ..... 924

Morphology

Comabella, Y., Hurtado, A., García-Galano, T.: Ontogenetic Changes in the Morphology and Morphometry of Cuban Gar (*Atractosteus tristoechus*). ..... 931

Oishi, T., Uraguchi, K., Abramov, A. V., Masuda, R.: Geographical Variations of the Skull in the Red Fox *Vulpes vulpes* on the Japanese Islands: An Exception to Bergmann's rule. ..... 939

Li, J. Q., Wang, N., Wang, Y., Lin, S. T., Li, Q., Liu, Y.-Y., Ruan, X. F., Zhu, J. G., Xi, B., Zhang, Z.-W.: Sexual Size Dimorphism and Sex Identification using Morphological Traits of Two Aegithalidae Species. ..... 946

Physiology

Sanz, A., Trenzado, C. E., López-Rodríguez, M. J., Furné, M., Tierno de Figueroa, J. M.: Study of Antioxidant Defense in Four Species of Perloidea (Insecta, Plecoptera). ..... 952

Taxonomy

Hirose, M., Nozawa, Y., Hirose, E.: Genetic Isolation among Morphotypes in the Photosymbiotic Didemnid *Didemnum molle* (Ascidacea, Tunicata) from the Ryukyus and Taiwan. ..... 959

Volonterio, O.: Two New Species of *Temnocephala* (Platyhelminthes, Temnocephalida) from the South American Snake-necked Turtle *Hydromedusa tectifera* (Testudines, Chelidae). ..... 965

AUTHOR INDEX OF VOLUME 27

CONTENTS OF VOLUME 27

ACKNOWLEDGMENTS

INDEXED IN:

Medline (PubMed) and Index Medicus  
Current Contents/LS and AB & ES,  
Science Citation Index,  
ISI Online Database,  
CABS Database, INFOBIB

Issued on December 1  
Printed by Letterpress Co., Ltd.  
Hiroshima, Japan

Continuation of the "Zoological Magazine" and  
the "Annotationes Zoologicae Japonenses"

# 寄生虫感染に関する研究G

奥 祐三郎／鳥 取 大 学  
杉山 広／国立感染症研究所  
川中 正憲／国立感染症研究所  
小泉 信夫／国立感染症研究所

# オーストラリアからの輸入牛における単包虫の発育調査

郭 志宏<sup>1,2</sup>、久保 明子<sup>3</sup>、工藤 桃利<sup>3</sup>、二瓶 和美<sup>4</sup>、堀井洋一郎<sup>1</sup>、野中 成晃<sup>1</sup>

<sup>1</sup>宮崎大学農学部獣医寄生虫病学教室、<sup>2</sup>中国青海大学畜牧獣医学院、

<sup>3</sup>宮崎県小林食肉衛生検査所、<sup>4</sup>宮崎大学人獣共通感染症教育プロジェクト

## A survey for *Echinococcus granulosus* infection in imported cattles from Australia

Zhihong Guo<sup>1,2</sup>, Akiko Kubo<sup>3</sup>, Momotoshi Kudou<sup>3</sup>,

Kazumi Nibe<sup>4</sup>, Yoichiro Horii<sup>1</sup>, Nariaki Nonaka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Veterinary Parasitic Diseases, University of Miyazaki,

<sup>2</sup>Qinghai Academy of Animal and Veterinary Medicine, University of Qinghai,

<sup>3</sup>Miyazaki Prefecture Meat Inspection Center,

<sup>4</sup>Department of Veterinary Zoonotic Diseases, University of Miyazaki

【背景】日本におけるウシの単包虫は1893年に第一例が見つかり、その後1980年代に、オーストラリアからの輸入牛において高率に単包虫が検出されている。しかし、1986年以後、輸入牛の単包虫症についてまとまった報告はない。現在、単包虫には宿主特異性や地理的分布の異なった複数の遺伝子型genotypeが確認されている。オーストラリアには、本土にG 1型、タスマニアにG 2型が分布するが、タスマニアの単包虫はコントロールプログラムによりほぼ絶滅したと考えられている。本調査では、オーストラリアからの輸入牛における単包虫の発育とgenotypeについて検査を行った。

【材料と方法】検査対象牛はアンガスと黒毛和牛のF 1とF 2で、オーストラリアで10~12ヵ月放牧後輸入され、日本で17~18ヵ月肥育されたものである。これらの牛から食肉衛生検査で検出された単包虫シストについて、シストの大きさ、臓器表面への露出、包液の状態、クチクラ層の厚さ、繁殖胞および原頭節形成などを検査した。一部の検体については切片を作成して病理検査を行った。また、10頭の牛から得られた19個のシストについて、ミトコンドリアCO 1と12SrRNAの塩基配列の解読をし、genotypingを行った。

【結果及び考察】本調査では、合計で61頭の牛から121個のシストを検出した。平均感染数は2個/頭であった。シストサイズは10~30mmのものが最も多く約半数を占めたが、50mm以上の大型のシストも12個見つかった。シストを検出した臓器は肺がほとんどで、肝臓からは9個のみ検出された。また、半分以上のシストは臓器に埋没されていた。

包液の状態は、84.3%が無色透明で、混濁あるいは石灰化したものがそれぞれ10個および9個見つかった。繁殖胞は長径20mmで1個、50mm以上2個の合計3個のシ

トから検出され、原頭節は長径が最大であった2個のシストから検出された。

組織切片の観察ではクチクラ層は薄く、シストの発達は悪いと考えられたが、クチクラ層内側にはしっかりとした胚芽層が確認された。

Genotypingの結果、8頭のウシから得られた13個のシストはCO 1および12SrRNAの塩基配列はともにG 1型と100%一致した。1頭のウシから得られた5個のシストはCO 1はG 1型と100%一致したが、12SrRNAは未報告配列であった。1頭のウシから得られた1個のシストはCO 1はG 2型、12SrRNAはG 3型と100%一致した。ただし、12SrRNAについてはG 2型の登録配列がなかったため比較が行えなかった。なお、G 4~G 10との一致率はすべて92.3%以下であった。

オーストラリア本土にはG 1型のみ分布すると考えられているが、今回G 2型と判定されるシストが見つかった。G 1型およびG 2型はsheep strainであるため牛での発育は良くないが、今回大型（径約70mm）のシストで原頭節の形成が見られた。オーストラリアからの輸入牛の一部は繁殖用として輸入され、肥育用よりも長期間飼育される。したがって、輸入牛から終宿主への伝播の可能性をなくすためにも、厳密な食肉衛生検査と感染臓器の的確な廃棄処置を継続する必要性が示された。

**Key words :** Imported cattle, *Echinococcus granulosus*, G 1, G 2, Genotype

連絡責任者：野中成晃、宮崎大学農学部獣医学科寄生虫病学研究室、〒889-2192 宮崎県宮崎市学園木花台西1-1、  
E-mail : nnonaka@cc.miyazaki-u.ac.jp

Correspondence : N.nonaka, Laboratory of Veterinary Parasitic Diseases, Faculty of Agriculture, University of Miyazaki, Gakuen-Kihanadai Nishi 1-1, Miyazaki 889-2192, Japan

# 多包条虫（幼虫・成虫）のcDNAライブラリーのin silico解析 特にSpliced Leaderを有する遺伝子について

奥 祐三郎<sup>1</sup>、八木 欣平<sup>2</sup>、原 雄一郎<sup>3</sup>、渡辺日出海<sup>3</sup>、李 爽<sup>4</sup>、  
山下 理宇<sup>4</sup>、若栗 浩幸<sup>4</sup>、鈴木 穰<sup>4</sup>、豊田 敦<sup>5</sup>、渡辺 純一<sup>4</sup>

<sup>1</sup>北海道大学大学院獣医学研究科、<sup>2</sup>北海道立衛生研究所、<sup>3</sup>北海道大学大学院情報科学研究科、  
<sup>4</sup>東京大学医科学研究所、<sup>5</sup>理化学研究所（現遺伝学研究所）

## In silico analysis of full-length rich cDNA library of larval and adult *Echinococcus multilocularis*, especially cDNAs with splices leader.

Oku Y<sup>1</sup>, Yagi K<sup>2</sup>, Hara Y<sup>3</sup>, Watanabe H<sup>3</sup>, Li S<sup>4</sup>, Yamashita R<sup>4</sup>,  
Wakaguri H<sup>4</sup>, Suzuki Y<sup>4</sup>, Toyoda A<sup>5</sup>, Watanabe J<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Graduate school of Veterinary Science, Hokkaido University, <sup>2</sup>Hokkaido Institute of Health,  
<sup>3</sup>Graduate school of Information Science and Technology, Hokkaido University,  
<sup>4</sup>Institute of Medical Science, Tokyo University, <sup>5</sup>National Institute of Genetics,

我々は、オリゴキャップ法およびベクターキャップ法によりエキノコックス（多包条虫）のfull-length richなcDNAライブラリーを作成し、in silico解析を行っている。今回はSpliced leader (SL) について報告する。多包条虫についてはBrehm et al. (2000) が、条虫で初めてSL（1種類36塩基）について記載し、その後、このSLを5'末端に有するmRNAについてfull-length richなcDNAライブラリーが登録されてきた。今回は我々のcDNAライブラリー（成虫9,500クローン、幼虫12,100クローン）において認められた類似した4種（5種?）のSL（35塩基）について報告する。

もっとも優勢なもの（74%）はBrehmらが報告したのと同じ（5'末端のCは欠損する）であった。SLを有するcDNAとして493クローン（2.3%）、遺伝子としては、298（5.4%）含まれていた。

遺伝子により、すべてのクローンがSL配列を有するものと、一部のみが有するものがあり、前者としては、Transketolase（13クローン）、Malate syntase like（11）、Innexin 9（8）、Annexin A13（7）、不明タンパク（MTSSLYDGLDD...）（7）、Phosphoglucomutase（7）、Phosphoribosyltransferase（7）、Integrin-linked protein kinase（6）、Cathepsin A（5）、Haemolysin-III related family protein（4）などであった。後者においては、SL配列の代わりに、その遺伝子上流のexonを有するものが多かった。SLを有する同一遺伝子内においても異なるSLも付加されていた。なお、SLが付加

Brehm et al. (2000)によって報告された Spliced Leader のDNA配列  
CACCGTTAATCGGTCCTTACCTTGCAGTTTTGTATG 36nt  
すでに815クローンが登録されている

本cDNAライブラリにおいて検出された Spliced Leader

SL1-1 (A)CCGTTAA-TCGGTCCTTACCTTGCAGTTTTGTATG  
(379 clones 76.1% 256遺伝子 85.6%) (Sanger Inst. のゲノムには27カ所)  
SL1-2 (A)CCGTTAA-TCGGTCCTTACCTTGCAGTTTCGTATG  
(18 clones 3.6% 16遺伝子 5.3%) (Sanger Inst. のゲノムにはない)  
SL2-1 (A)CCGATAAATCGGTCCTTGCCTTGCCTTCTGTATG  
(32 clones 6.4% 29遺伝子 9.7%) (Sanger Inst. のゲノムには2カ所)  
SL2-2 (A)CCGATAAATCGGTCCTTGCCTTGCCTTCTGTATG  
(30クローン 6.0% 29遺伝子 9.7%) (Sanger Inst. のゲノムには2カ所)  
SL2-3 (A)CCGATAAATCGGTCCTTGCCTTGCCTTCTGTATG  
(2クローン 0.4% 2遺伝子 0.7%) (Sanger Inst. のゲノムには1カ所)  
SL (その他)  
(37 clones 7.4% 31遺伝子 10.4%) すべての哺乳動物に共通

SLのあるcDNAクローン数とSLのないcDNAクローン数とそれらの遺伝子の数

No. of no-SL cDNA	No. of SL cDNA													Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
0	165	48	12	6	1	1	4	1					1	240
1	13	9												58
2	10	1			1									
3-4	8	1												
5-8	7													
9-16	2		1		2									
17-32	1								1					
33-64										1				

Transketolase (13), Malate-Synt like (11), Innexin 9 (8), Annexin A13 (7), 不明タンパク (MTSSLYDGLDD...)(7), Phosphoglucomutase (7), Phosphoribosyltransferase (7), Integrin-linked protein kinase (6), Cathepsin A (5), Haemolysin-III related family protein (4), MMTLSEIERAM... (4), Prion protein-interacting protein (4).

される遺伝子のゲノム解析では付加部の5'末端直前にはAGが見られた。

成虫（118クローン、1.8%）および幼虫（317クローン、2.6%）ともにSLを有するcDNAが見られたが、幼虫においてやや多く見られた。

Clones containing spliced leader

498/21,404 clones 2.3%

315/6,473 genes 5.6%

Larva  
317 clones (2.6%) 230 genes (6.2%)

Adult  
181 clones (1.8%) 104 genes (3.4%)

Key words : *Echinococcus multilocularis*, cDNA library, spliced leader

引用文献

Brehm, K. et al. 2000. mRNA trans-splicing in the human parasitic cestode *Echinococcus multilocularis*. *J. Biol. Chem.* 275 : 38311-38318.

連絡責任者：奥祐三郎、北海道大学大学院獣医学研究科寄生虫学教室、〒060-0818 札幌市北区北18条西9丁目、E-mail : oku@vetmed.hokudai.ac.jp

Correspondence : Y.Okou, Department of Parasitology, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Kita-18, Nishi-9, Kita-ku, Sapporo, 060-081

# 種特異的オリゴヌクレオチドプローブを用いた 犬のテニア科条虫の同定と鑑別

Armua Fernandez, M.T.<sup>1</sup>、野中 成晃<sup>2</sup>、櫻井 達也<sup>1</sup>、  
Gosttstein, B.<sup>3</sup>、Deplazes, P.<sup>4</sup>、片倉 賢<sup>1</sup>、奥 祐三郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北海道大学大学院医学研究科、<sup>2</sup>宮崎大学農学部獣医学科獣医寄生虫病学講座  
<sup>3</sup>ベルン大学、<sup>4</sup>ツリーッヒ大学

## Identification and differentiation of canine taeniid cestodes by using species-specific oligonucleotide probes

Maria Teresa Armua Fernandez<sup>1</sup>, Nariaki Nonaka<sup>2</sup>, Tatsuya Sakurai<sup>1</sup>,  
Bruno Gosttstein<sup>3</sup>, Peter Deplazes<sup>4</sup>, Ken Katakura<sup>1</sup>, Yuzaburo Oku<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Parasitology, Department of Disease Control, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University

<sup>2</sup>Laboratory of Veterinary Parasitic Diseases, Department of Veterinary Sciences, Faculty of Agriculture, University of Miyazaki

<sup>3</sup>Institute of Parasitology, Vetsuisse Faculty and Faculty of Medicine, University of Bern

<sup>4</sup>Institute for Parasitology, Zurich University

Taeniid cestodes (Eucestoda : Cyclophyllidea : Taeniidae) are the source of economy losses all over the world, due to condemnation of meat and offal of livestock animals and the cause of severe illness in humans, such as cystic and alveolar hydatid diseases (by *Echinococcus granulosus* and *E. multilocularis*, respectively).

Canids, such as dogs, foxes, wolves and jackals play the main role on transmission harboring the adult stage of the most hazardous species of taeniids. These canids contaminate extensive areas through the deposition of feces. Adding to the fact that taeniid eggs are morphologically indistinguishable, the canids can harbor several species of the two genera (*Echinococcus* spp. and *Taenia* spp.) simultaneously. Therefore, it is necessary to develop a test which can differentiate taeniid egg to a species level. Nowadays, molecular techniques represent promise in achieving an accurate diagnosis. An oligonucleotide probe (ONP) is a short single-stranded DNA designed to bind to a region of target DNA, hence, be used for detection of pathogens specifically. In this study, we evaluated ONPs targeting the mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 1 (ND1) gene for specific detection of common canine taeniid cestodes.

DNA was extracted from adults and larvae of different cestodes species. Common primers for cestode ND1 gene sequence were designed from conserved regions using ten *Echinococcus* taxa and eighth *Taenia* taxa registered on GenBank. Fragments of about 500 bp were amplified using ND1 T-F1 forward primer 5'-GGKTATTCTCARTTTCGTAA GGG-3' and ND1 T-R7 reverse primer 5'-ATCA AATGGAGTACGATTAGTCTCAC-3' (designed in this study). Sequences of ND1 gene were obtained by PCR followed by direct sequencing and from GenBank. After alignment of the sequences, species-specific ONPs (S-SONPs) were designed manually in the regions where the greatest inter-species but no intra-species polymorphisms were observed. Specificity and sensitivity of each ONP were evaluated by Dot blot assay using PCR-amplified ND1 gene of taeniid cestodes DNA. As a result, we successfully

designed of S-SONPs for *T. crassiceps*, *T. hydatigena*, *T. taeniaeformis*, *E. granulosus* G1, *E. multilocularis* and *E. vogeli* (Fig.). This work is a preliminary experiment for the reverse line blot (RLB). These results encourage us to develop RLB assay.

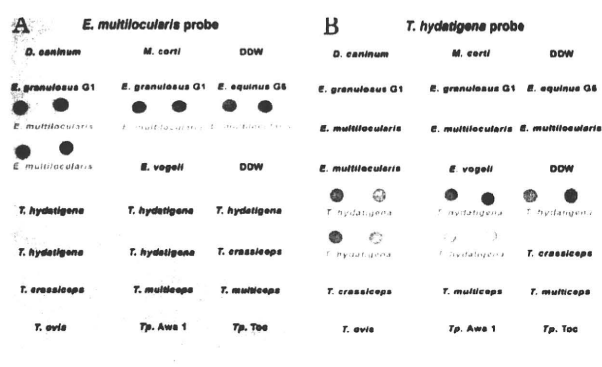


Figure Results of dot blot assay. A and B membranes corresponded to *E. multilocularis* probe and *T. hydatigena* probe respectively. In red are indicated the species-specific bindings. No cross reaction was observed with any of the probes.  
Key words : *Echinococcus* spp., *Taenia* spp., species-specific oligonucleotide probes.

### References :

- Eckert, J. et al. 2001. WHO/OIE  
Grasser, R. B. and Chilton, N. B. 1994.. *Acta Trop.* 59 : 31-40.  
Ito, A. and Craig, P. S. 2003. *Trem. Parasitol* 19 : 377-381.  
Mathis, A. and Deplazes, P. 2006. *Parasitol. Int.* S87-S90.  
Nakao, M. et al. 2007. *Parasitology* 134 : 713-722.

Correspondence : Y. Oku, Laboratory of Parasitology, Department of Disease Control, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, 060-1808.

## 3. 顎口虫症

### 1 病名

顎口虫症 (gnathostomiasis)。

### 2 定義

顎口虫類の終宿主は肉食獣・ブタで、胃・食道・腎臓に成虫が寄生する感染症である。ヒトは非固有宿主で、幼虫が皮膚爬行症や限局性で遊走性の皮膚腫脹を引き起こす感染症である。

### 3 概要

顎口虫 (*Gnathostoma* spp.) は肉食獣・ブタを終宿主とし、成虫は胃壁、食道壁、腎臓に寄生する。5種 (有棘顎口虫、ドロレス顎口虫、日本顎口虫、剛棘顎口虫、二核顎口虫) はヒトにおいて幼虫移行症を引き起こす<sup>1)</sup>。国内では、有棘顎口虫、ドロレス顎口虫、日本顎口虫、剛棘顎口虫が重要である。人体感染は主に淡水魚の生食と関連し、世界的に、日本および東南アジア、一部の中南米とアフリカにおいて人獣共通寄生虫症として問題となっている<sup>2)</sup>。ヒトに幼虫が感染すると、皮膚爬行症や限局性で遊走性の皮膚腫脹を引き起こしたり、まれであるが、眼、中枢神経、肺、胃腸 (腸閉塞)、生殖器などにも寄生することがある。

ヒトにおいて類似した幼虫移行症を引き起こす線虫として、旋尾線虫幼虫タイプXがあり、これは主にホタルイカの生食により感染する<sup>3)</sup>。

### 4 顎口虫の分類

顎口虫は旋尾線虫目、顎口虫科に属する線虫で、成虫の体長は1～3 cmほどで、太く、多数の鉤のある頭球を有する (図1)<sup>4)</sup>。12種知られており (表1)<sup>1, 3, 5)</sup>、国内では4種 (有棘顎口虫、ドロレス顎口虫、日本顎

口虫、剛棘顎口虫) が問題となる。ただし、剛棘顎口虫症は中国、台湾から輸入されたドジョウが原因で、国内で生活環が営まれている訳ではない。

顎口虫の成虫は、環状に10列に並ぶ小鉤を備えた頭球を有し、体長は1～4 cmで、体部は太く、体表が皮棘で覆われていることから、また、虫卵も栓状のふくらみがあることから、容易に他の線虫と区別できる。以下、国内で問題となる、4種について述べる。

これら4種の成虫の分類は、図1のように体表の皮棘の分布域とその形態により鑑別可能で、ヒトに寄生

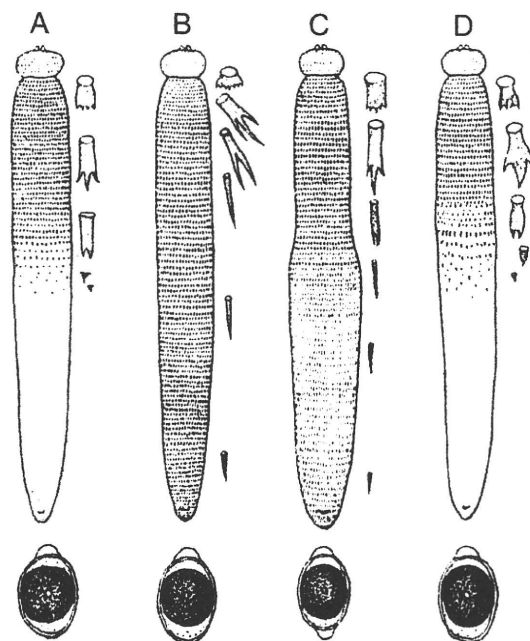


図1 各種顎口虫成虫と虫卵

A: 有棘顎口虫, B: 剛棘顎口虫, C: ドロレス顎口虫, D: 日本顎口虫

顎口虫成虫は鉤のある頭球を有する太い線虫である。体表の棘の分布とその形状から種が同定できる。虫卵は一端もしくは両端にふくらみがあることが特徴である。

(文献4より)

表1 各顎口虫の終宿主動物，終宿主における寄生部位および世界的分布

Gnathostoma 属の種名(和名)	終宿主	寄生部位	ヒトへの感染	世界的な分布
<i>G. spinigerum</i> (有棘顎口虫)	ネコ科, イヌ科	胃壁	○	アジア, オセアニア, アメリカ, アフリカ
<i>G. doloresi</i> (ドロレス顎口虫)	ブタ, イノシシ	胃壁	○	アジア, オセアニア
<i>G. hispidum</i> (剛棘顎口虫)	ブタ, イノシシ	胃壁	○	アジア, オセアニア, ヨーロッパ, アフリカ
<i>G. nipponicum</i> (日本顎口虫)	イタチ	食道壁	○	日本, 韓国, 中国
<i>G. malaysiae</i> (マレーシア顎口虫)	ネズミ類	胃壁	*	東南アジア
<i>G. vietnamicum</i> (ベトナム顎口虫)	カワウソ	腎臓		東南アジア
<i>G. turgidum</i> (オボツサム顎口虫)	オボツサム	胃壁		アメリカ
<i>G. procyonis</i> (アライグマ顎口虫)	アライグマ	胃壁		北米
<i>G. miyazakii</i> (宮崎顎口虫)	カワウソ	腎臓		北米
<i>G. binucleatum</i> (二核顎口虫)	ネコ科, イヌ科	胃壁	○	メキシコ, 南米
<i>G. lamothei</i> (和名なし)	アライグマ	胃壁		メキシコ
<i>G. americanum</i> (アメリカ顎口虫)	ネコ科	胃壁		南米

○：多数の人体症例が知られている。

\*：Nomura ら<sup>6)</sup>によって，マレーシア顎口虫第3期幼虫が疑われる人体症例が報告されている。

(筆者作成)

する第3後期幼虫についても頭球鉤の列数(3~4列)，数および形態，さらに，病理組織中の断面からも腸細胞と各細胞当たりの核数をもとに鑑別できる(表2)<sup>1)</sup>。

## 5 顎口虫の生活環

顎口虫の中では有棘顎口虫の生活環がよく調べられている<sup>1)</sup>。有棘顎口虫は間接型の生活環を有し，伝播には第一中間宿主(ケンミジンコ類)，第二中間宿主(主に淡水魚，両生類)，待機宿主(ヘビ，ネズミ，イノシシ，鳥類など)および終宿主(ネコ科・イヌ科)が関与する。

終宿主の胃に寄生する成虫から排泄された虫卵は淡水中で発育し(27℃，7~10日間)，第2期幼虫(体長約0.3mm)が孵化し，水中に遊出する。この幼虫は第一中間宿主であるケンミジンコに食べられると，ケンミジンコ体腔で第3前期幼虫(体長約0.5mm)にまで発育する(10~14日)。このケンミジンコが様々な淡水魚や両生類などの第二中間宿主に捕食され，その筋肉や肝臓内で第3後期幼虫(体長約3~4mm)となり組織内にとどまる。待機宿主(主に，両生類，蛇類，ネズミ，イノシシ，肉食性の鳥類など)は第二中間宿主を捕食すると感染し，虫体はそれ以上成長せず，もしくは幾分成長するが，いずれにしても第3後期幼虫

表2 4種の顎口虫第3後期幼虫の腸細胞1個当たりの核の数

種名	1腸細胞当たりの核数
有棘顎口虫	0~7核(3核が多い)
ドロレス顎口虫	0~2核(1核が多い)
日本顎口虫	0~3核(2核が多い)
剛棘顎口虫	0~4核(1核が多い)

これら4種の顎口虫幼虫の病理組織切片において，1腸細胞当たりの核数の相違から種の鑑別が可能である。

(筆者作成)

として筋肉やその他の組織中で長期間生存する。

終宿主における体内移行経路としては，消化管内で脱嚢した第3後期幼虫が消化管壁から侵入後，肝臓でしばらく滞在し発育後，腹膜，胸膜，腹壁等を移動し，最終的に胃壁から内腔へ侵入し，胃に腫瘤を形成し，腫瘤内で成熟する。虫体の組織移行に伴う肉眼的な病理像としては，特に肝臓の虫体の移動によるものが主で，肝臓実質の破壊，出血，肉芽形成，瘢痕形成などがみられる。国内のネコの剖検調査において，検出された69虫体の検出部位は，胃壁が48虫体，その他は21虫体(ほとんど肝臓)であった。他の3種の顎口虫の体内移行経路は詳細にはわかっていないが，肝臓では滞在しないようである。顎口虫の第4期幼虫の形態につ



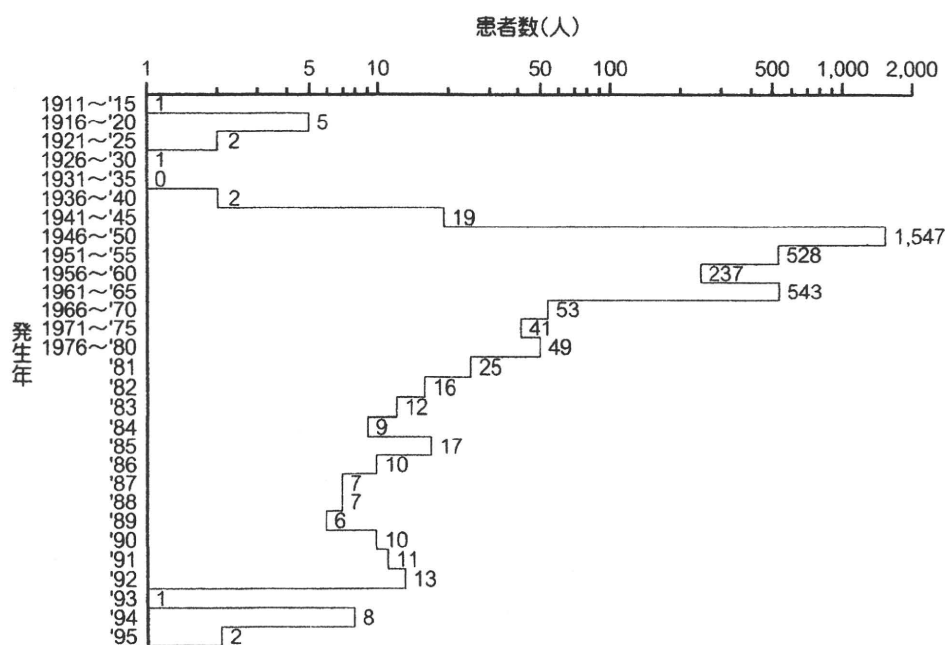


図2 わが国における人体顎口虫症の発生年次別の患者数の推移  
1946～1965年にピークがあり、近年では毎年10例以下である。

(文献10より)

いては全く記載されていないが、Hasegawaら<sup>7)</sup>は、顎口虫科の *Spiroxys* 属線虫の第3後期幼虫は脱皮後4期幼虫にならず直接的に成虫になることを示唆している。

ヒトや終宿主へは、第二中間宿主（主に淡水魚、両生類）や待機宿主（ヘビ、ネズミ、イノシシ、鳥類など）を食べることにより感染する。さらに、第二中間宿主や待機宿主の斃死と共に、第3後期幼虫が水中に放出され、この水を飲むことにより感染する可能性や、感染ケンミジンコを含む水を飲んで感染する可能性もあるが、極めてまれと考えられる。最近、淡水産巻貝へ有棘顎口虫の第3後期幼虫を実験感染させたところ、貝体内で被囊されその後生残し、巻貝が待機宿主となることも示されている<sup>8)</sup>。

## 6 国内における人体顎口虫症の推移 (図2)

わが国では2004年まで3,227例の人体症例が報告されており<sup>9)</sup>、特に戦中戦後(1946～1965年)にピー

クがあり、これは有棘顎口虫によるものであった<sup>10)</sup>。症例数はその後減少し、1985年以降は年間ほぼ10例以下となっている。1980年代は剛棘顎口虫による幼虫移行症が主で、その後は、ドロレス顎口虫、日本顎口虫が主で、海外感染の輸入例も多数報告されている。

## 7 各顎口虫について

### 1) 有棘顎口虫

成虫(体長雌:1.5～3.3 cm, 雄:1.2～3.0 cm)は、イヌ科およびネコ科の胃壁管腔側に大きな腫瘤を形成して、その内部に集まって寄生する。通常1つの腫瘤を有するが、まれに2つのこともある。成虫が寄生する腫瘤の内腔は小孔で胃の内腔につながっており、虫卵はこれを通して消化管内へ排泄される。虫卵は感染後約3～4カ月で、糞便中に認められるようになる。虫卵(約70 μm)は一端にふくらみを有する。感染したネコは、まれに胃の穿孔を起こし、死亡することがあるが、通常は無症状である。1950年代の福岡・佐賀のネコ51頭の剖検調査では27.5%、イヌでは643頭

中4%の陽性率が報告されているが、その他の調査では一般にイヌ・ネコの有棘顎口虫症の症例はまれで、近年においてはイヌ・ネコの感染例は報告されておらず、現在の国内のイヌ・ネコの感染状況は不明である<sup>10)</sup>。

第一中間宿主はケンミジンコである。第二中間宿主として、様々な淡水魚が知られているが、国内では、西日本の淡水魚の雷魚(カムルチー、ライヒイ)、ナマズ、ドジョウ、ドンコ、ウナギ、ハゼクチ、フナなどから幼虫が検出されている。1950～1960年代における九州の淡水魚の調査では、カムルチー(雷魚)の感染率が80%以上で、特に体長50 cm以上の成魚における平均寄生虫体数は10以上との報告もある。その後、有棘顎口虫症の流行はおさまり、1985年の雷魚の調査では28尾中1尾から本種が検出されているのみである<sup>10)</sup>。

ヒトでは、限局性の遊走性皮膚腫脹がほとんどで、顎口虫類の中でも寄生期間は特に長く、12年以上も症状が繰り返すことがある。ヒトからは幼虫だけでなく幼若成虫も時折みられるが、大きいものでも12 mm程度で、胃寄生ではなく移行中の個体である。幼虫の移行速度については、皮下を1時間で1 cm動くことが観察されている。

国内では第二次世界大戦中および戦後の食糧事情の悪化に伴い、南日本や西日本を中心に雷魚を食べて多くの人が感染した。その後、1970年台後半までには雷魚は食べられなくなり、イヌ・ネコへ与える機会もなくなった<sup>10)</sup>。近年の国内の人体症例の多くは海外で感染したと考えられるが、国内で感染したと考えられるヒトの症例が2000年まで報告されていることから、有棘顎口虫が現在も国内で生き残っている可能性は否定できない。国内のヒトへの感染源としては、雷魚、ボラ、フナ、コイ、ドジョウ、その他の魚類、ヘビ、ニワトリ、イノシシなどが疑われている。アフリカではセラピアが重要とされている。

第3後期幼虫を用いた感染実験では、実験に用いたカニ、ザリガニ、淡水魚類、カエル、サンショウウオ、カメ、ヘビ、ヤモリ、ニワトリ、サギ、ラット、モルモット、ウサギ、サル、イタチ、ブタなどすべての動

物に感染したことが報告されており<sup>11)</sup>、おそらく、ほとんどのカニ・ザリガニ、淡水魚類、両生類、爬虫類、鳥類、哺乳類に感染するのかもしれない。

また、まれにイヌ科・ネコ科以外の哺乳類でも、前述したように胃には達しないが、幼若成虫まで発育することが知られている。

## 2) ドロレス顎口虫

成虫(体長雌:1.9～3.0 cm, 雄:1.3～2.1 cm)はイノシシやブタの胃底部に寄生し、虫体周囲の腫瘍は顕著ではなく、噴火口状である。虫体は個別に、もしくは2～3虫体が集まって粘膜面に寄生孔を作って、体前部を深く穿孔させて寄生する。ブタでは感染後約2～4カ月で虫卵を排泄するようになり、虫卵(約60 μm)は両端に栓状構造を有する。東南アジアではブタの症例が多いが、国内ではほとんどがイノシシの症例で、本州中部以南が流行地である。国内のイノシシの寄生率は高く、1950年代の調査において寄生率の高い場所では90%を超えていたが、近年の調査(2005～2006年)でも高い感染率が報告されている<sup>11)</sup>。ブタにおける体内移行についての詳細は不明である。

第一中間宿主はケンミジンコである。以前から第3期幼虫がサンショウウオやヘビから検出されていたが、さらに淡水魚のブルーギルからも報告された。淡水魚と両生類は第二中間宿主で、さらに両生類とヘビが待機宿主となる。ケンミジンコからの第3前期幼虫は体長0.2 mmで、ヘビからの第3後期幼虫は約3.2 mmである。第3後期幼虫は、サル、イヌ、ラット、モルモットなどにも実験的に感染し、ラットでの体内移行経路の観察では肝臓は必ずしも通過しないようである。

ヒトでは皮膚爬行症とまれに腸閉塞を引き起こし、皮膚爬行症は3カ月以内に消失する。1988年ごろから国内の人体症例がみられるようになり、現在まで30例以上知られている。国内のヒトへの感染源は、ヤマメ、ブルーギル、ナマズ、その他の淡水魚、マムシなどである。

## 3) 日本顎口虫

成虫(体長雌:2.9～3.4 cm, 雄:2.0～2.3 cm, 図3)はイタチの食道、特に噴門から約2 cmほど上部の

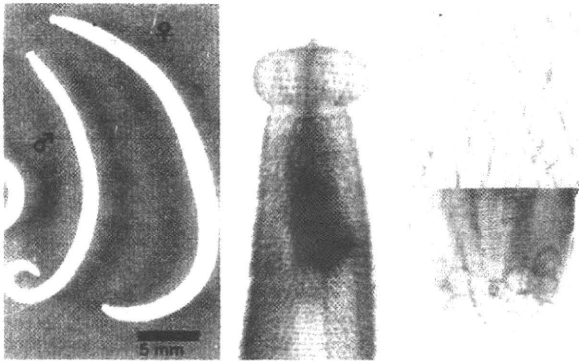


図3 日本顎口虫の成虫（固定後）

成虫頭部には頭球があり、体部は太い。体部前半の体表に皮棘があり、皮棘は先端が3分し、広がる。雄の尾部は鈍端で、交接翼には大型の尾部乳頭が分布する。

（北里大学，小山田 隆氏より提供）  
（カラー図譜 49 頁）



図4 イタチの食道壁に寄生する日本顎口虫成虫（未固定）

体部の前部は食道壁の腫瘍に挿入し、後半が食道腔内に突出する。

（北里大学，小山田 隆氏より提供）  
（カラー図譜 49 頁）

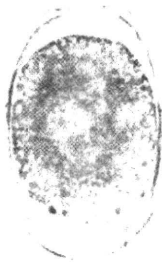


図5 日本顎口虫の虫卵

虫卵の長径は約 70  $\mu\text{m}$  で、一端にはふくらみがある。

（北里大学，小山田 隆氏より提供）  
（カラー図譜 49 頁）

所に集まって寄生し、虫体周囲の腫瘍は顕著で、漿膜面に腫瘍が突出し、食道内腔面へ虫体後半が突出する（図4）。実験的にはミンク、フェレットにも感染する。感染後2～3カ月で一端にふくらみを有する虫卵（約70  $\mu\text{m}$ ）を産出しはじめ（図5）、寿命は1年程度である。国内では東北から九州まで広く分布する。終宿主動物のイタチの感染率は、1950年代の調査で1～67%と様々であり、関西の大規模な調査では44%（2,869/6,565）となっているが、1996年の青森の調査でも40%と報告されている<sup>10)</sup>。イタチ体内における虫体の移行



図6 ケンミジンコ体内に寄生する日本顎口虫第3前期幼虫

ケンミジンコの体腔に第3前期幼虫（体長約0.5 mm）が寄生する。

（北里大学，小山田 隆氏より提供）  
（カラー図譜 50 頁）

経路については不明であるが、幼虫は胃と筋肉からのみ発見され、肝臓には病変は認められていない。

第一中間宿主はケンミジンコである（図6）。第3後期幼虫（体長1.9～2.3 mm）は国内のドジョウ、ヤマメ、ウグイ、ヤマカガシ、シマヘビなどから検出されている（図7）。淡水魚、カエル、ネズミは第二中間宿

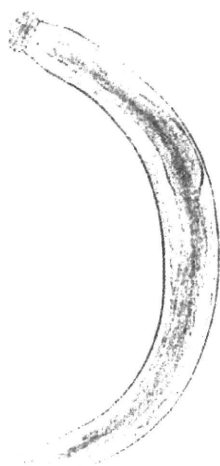


図7 日本顎口虫の第3後期幼虫  
待機宿主から発見された第3後期幼虫（体長約2 mm）。  
（北里大学，小山田 隆氏より提供）  
（カラー図譜 50 頁）

主となり，さらにカエル，ネズミ，ヘビ，鳥が待機宿主となる。

人体例では，皮膚爬行症が主症状で，3カ月以内に消失する。1985年以來，18例ほど報告されている。本種の第3後期幼虫（体長2 mm）の頭球は，3列の棘列を有する（他の3種は4列）。待機宿主のマウスやラットでも肝臓は通過しないようである。国内のヒトへの感染源としては，ブラックバス，ドジョウ，ナマズ，コイ，ヒメマス，シラウオなどが知られている。

#### 4) 剛棘顎口虫

成虫（体長雌：2.3～2.7 cm，雄：1.5～2.0 cm）はイノシシやブタの胃底部に寄生し，粘膜面に寄生孔を作って，前部を穿孔させて寄生する。虫卵（約66 μm）は一端に栓状構造を有する。アジア，ヨーロッパに広く分布するが，実験感染ではブタは顕著な年齢抵抗性を示し，生後100日以上では成虫まで発育できない<sup>1)</sup>。終宿主における詳細な体内移行経路は不明である。国内の動物および魚類からは剛棘顎口虫は全く発見されていない。

1979年以降，中国，台湾から輸入されたドジョウを感染源とする人体例が100例以上にのぼり，1980年代のドジョウの調査では2.9～10%の感染率であった

が，1991年の調査でも平均11%となっている。人体例の症状は日本顎口虫と同様である。因みに，中国産のドジョウからは剛棘顎口虫だけでなく日本顎口虫の幼虫も少数であるが検出されている。ドジョウにおいては，剛棘顎口虫の発育は制限されており，第3前期（体長0.6 mm）までで，これをラットに食べさせると，第3後期（体長3.1 mm）まで発育するが，第3前期も後期もブタへ感染し，虫卵が排泄するまでの期間も差がない。ラットへの感染実験では，幼虫は肝臓を通過せず，筋肉で被囊され，3年以上生存する。なお，国内での実験結果とは異なるが，海外での研究ではケンミジンコからの第3前期幼虫が，直接終宿主に感染することが報告されている。これが事実であれば，剛棘顎口虫には第二中間宿主がないこととなる。すなわち，カエル，ネズミだけでなくドジョウもすべて待機宿主と見なされる。

## 8 顎口虫症の診断

終宿主における成虫感染の診断は，糞便検査で虫卵を検出することにより行う。もしくは，剖検により虫体を検出し，虫体の形態的特徴，すなわち，頭球の鉤および体表の鉤の形態と分布状況から鑑別する<sup>1)</sup>。

ヒトの幼虫感染の診断は，皮膚爬行症や遊走性皮膚腫脹，好酸球増多などの症状から推測し，さらに，淡水魚の生食などの食歴についての問診と血清診断を実施する。ヒトの顎口虫症の血清診断としては，dot-blot ELISA や Western blot が行われている。診断用抗原としては成虫と第3後期幼虫が用いられ，第3後期幼虫では24 kDa，成虫では40 kDaの蛋白が指標となるが，4種の鑑別は困難である<sup>12)~14)</sup>。外科的に幼虫が摘出された場合は，頭球の鉤から同定する。病理切片の場合は，腸細胞の形と，核の数を指標として同定する<sup>1)</sup>。

なお，4種のDNA鑑別法としては，ミトコンドリアのCO1や，ゲノムのITS2およびリボソームRNAの塩基配列をもとに鑑別できることが報告されている<sup>15)</sup>。