

厚生労働科学特別研究事業（厚生労働行政推進調査事業）
カツオの生食を原因とするアニサキス食中毒の発生要因の調査と
予防策の確立のための研究

分担研究報告書

2. カツオにおけるアニサキスの寄生状況調査：漁獲地ごとの種組成と寄生部位

研究分担者	目黒寄生虫館	小川 和夫（執筆者）
研究協力者	目黒寄生虫館	巖城 隆，高野 剛史， 脇 司
	東京都健康安全研究センター	村田 理恵，神門 幸大 小林 甲斐

研究要旨 2018年はカツオが原因食品と推定されるアニサキス症事例が全国的に増加した。そこで、日本近海産カツオにおけるアニサキス類の寄生状況を把握するため、寄生するアニサキス類の種組成と種ごとの寄生部位を調査した。2018年5月～11月に東日本の太平洋側、西日本の日本海側および南西諸島で漁獲されたカツオを調査対象とした。一部の検体は冷凍カツオを使用した。内臓および筋肉中より虫体を摘出し、実体顕微鏡下での形態観察、および遺伝子解析（リアルタイムPCRまたは*cox2*遺伝子領域の塩基配列決定）により種を同定した。カツオから検出されたアニサキス類は4種で、*A. simplex* s. str. (As) と *A. pegreffii* (Ap) が大半を占め、ほかには *A. berlandi* (Ab) と *A. physeteris* (Aph) は少数であった。東日本太平洋側のカツオでは全個体の内臓からアニサキスが検出された。種構成はAsが優占で、次いでAbとAphが認められ、Apは1虫体のみ検出された。また、40尾中8尾の筋肉でアニサキス寄生がみられ、種は全てAsで、内臓におけるAsの寄生数が多いと筋肉にもAsが多いという傾向が認められた。一方、日本海側のカツオでも全個体の内臓からアニサキスが検出されたが、それらは全てApであった。筋肉への寄生は観察されなかった。南西諸島産のカツオでは半数の個体の内臓からアニサキスが検出され、Aphが最も多く、ほかにAsが検出された。筋肉への寄生は認められなかった。今回の調査で、アニサキス寄生が筋肉に認められたのは太平洋側のカツオのみで、種はAsのみであった。組織学的観察では、筋肉内のアニサキスは宿主組織に被包されており、筋肉への虫体の移動がカツオの生存時に起きたことは明らかであった。現在の生鮮カツオの流通形態を考慮すると、漁獲から消費されるまでに内臓から筋肉へ移動する可能性も考えられない。2018年春にカツオの生食に起因するアニサキス食中毒が多発した原因は、アニサキスの筋肉寄生が例年より多かったためと推測され

る。

A. 研究目的

本研究では、2018年のカツオを原因とするアニサキス食中毒の原因究明を目的に、漁獲時期と漁獲海域の異なるカツオのアニサキス寄生調査を実施し、アニサキスの種構成や寄生部位、寄生率の比較を行い、カツオの喫食を原因とするアニサキス食中毒のリスクについて検討した。

B. 研究方法

1) アニサキス寄生実態調査のカツオ

2018年5月～11月までに東日本の太平洋側（千葉県から岩手県）で漁獲された7群40尾、ならびに11月に西日本の日本海側（山口県）および南西諸島（鹿児島県）で漁獲された各5および10尾、計9群のカツオを調査対象とした（図1）。

2) アニサキスの検出方法

分担研究「1. カツオの内臓除去の違いによるアニサキスの寄生調査と予防策の確立に向けた研究」と同様に実施した。すなわち、まずカツオの内臓、腹側筋肉及び背側筋肉に寄生するアニサキスを検索した。また、筋肉部位に関しては、チャック式のビニール袋に部位ごと適量を入れ、筋肉をほぐしながら圧平後、ライトボックス上で目視により検索した。

3) アニサキスの形態学的分類

分担研究「1. カツオの内臓除去の違いによるアニサキスの寄生調査と予防策の確立に向けた研究」と同様に実施した。すなわち、既報の方法により、カツオから摘出されたアニサキス第3期幼虫の頭部の穿歯、胃の形態、および尾部の突起等を実体顕微鏡下で確認し、アニサキスI型～IV型幼虫に分

類した。

4) アニサキスの遺伝子同定

分担研究「1. カツオの内臓除去の違いによるアニサキスの寄生調査と予防策の確立に向けた研究」と同様に実施した。すなわち、まず形態学的にアニサキスI型幼虫に分類された虫体の一部からアルカリ抽出法によりアニサキスのDNAを抽出した。虫体の一部を0.2 mLチューブに入れ、50 mM NaOHを20 μ L添加後、99 $^{\circ}$ C、30分間加熱後、80mM Tris \cdot HCl 40 μ Lで中和したものをDNAテンプレートとした。得られたDNAテンプレートについて、アニサキスI型幼虫のうち*A. simplex* s. str., *A. pegreffii*および*A. berlandi*の3種の鑑別が可能なアニサキスのrDNA ITS1領域の250 bp～325 bp、rDNA ITS2領域の61 bp～139 bpに設計したプライマーおよびTaqMan MGBプローブによるmultiplex real-time PCR法により虫種同定を行った。また、本法で遺伝子増幅の認められない検体、またはハイブリットの検体については、核DNAのITS領域またはミトコンドリアDNAの*cox2*遺伝子領域を標的としたPCRおよびシーケンス解析により虫種同定を行った。

5) アニサキスの組織学的観察

カツオの内臓表面と筋肉内に寄生していたアニサキス虫体を肉眼で観察後、虫体周辺組織ごと10%中性ホルマリン液で固定し、常法に従い厚さ4 μ mの薄切標本にヘマトキシリン・エオジン染色を施し、顕微鏡観察に供した。

用いた材料魚は5月10日に千葉県勝浦漁港に水揚げ後に冷凍保存され検査時に解凍したカツオと、11月2日に宮城県気仙沼に水

揚げされた生鮮カツオ（11月1日漁獲，11月3日に目黒寄生虫館に配送）である。組織切片観察に用いた内臓表面の虫体は，幽門垂表面の2虫体と胃表面にみられた1虫体の計3虫体，筋肉内の虫体は生鮮カツオの腹部筋肉由来の2虫体である。

C. 研究結果

1) アニサキスの寄生状況

アニサキス幼虫が内臓あるいは筋肉に検出されたカツオの数と，1尾あたりの幼虫数を表1に示す。太平洋側および日本海側については，全てのカツオの内臓からアニサキスが検出された。1尾あたりの数は1から53までで，大きな変異が見られた。カツオの筋肉については，太平洋側では40尾中8尾（20%）から幼虫が検出された。一方，日本海側のカツオでは筋肉からアニサキスは検出されなかった。南西諸島については，カツオの内臓からのアニサキス検出は10尾中5尾であり，アニサキスの数は1から3で少数であった。また，筋肉からはアニサキスは検出されなかった。

2) アニサキスの種構成

検出されたアニサキスの種構成を漁獲海域ごとに図2および表2に示す。検出されたアニサキス類は計471虫体で，今回検出されたのは *A. simplex* s. str. (As) , *A. pegreffii* (Ap) , *A. berlandi* (Ab) および *A. physeteris* (Aph) の4種であった。太平洋側のカツオではAsが優勢で，続いてAbとAphが低率で検出された。Apは1例のみ検出された。一方，日本海側のカツオから検出されたのは全てApであった。南西諸島産のカツオではAphが優勢であった。

3) アニサキスの寄生部位

カツオ体内のアニサキスの寄生部位を図

3に示す。アニサキスは腹腔内の内臓表面に被囊した状態で付着しており，一部はいくらか臓器に埋没して寄生していた。最も多く検出されたのは消化管（胃・幽門垂・腸）の表面で，特に幽門垂に多くみられ，次いで多かったのは腸であった。筋肉内からの検出も少なくはなかった。その他，肝臓表面，腸間膜，卵巣表面などから検出された。

検出されたアニサキスの種ごとの寄生部位の比較を図4に示す。Asだけが筋肉から検出された。As，AbおよびAphについては，幽門垂表面から検出される割合が最も多かったが，Apに関しては腸表面から検出されることが多く，特に腸の末端部，肛門の近くで多数検出された。また，Apは胃表面からも比較的多く検出された。

今回の調査で用いたカツオ 55 尾（表 1）について，内臓と筋肉におけるアニサキス寄生数を比較したところ，内臓に多いと筋肉にも多いという傾向が認められた（相関係数 0.61）。これをカツオの生食による食中毒の主な原因種である As に限ってみると，相関係数は 0.79 とさらに高くなった。

4) アニサキスの組織学的観察

肉眼観察では，内臓表面のアニサキス虫体はとぐろを巻くか，やや伸びた形で薄膜内に存在することが確認できた（図5-1）。一方，筋肉内の虫体は，3枚おろしの段階で見つかることはまれで（図5-2），ほとんどの場合，筋肉組織を薄く進展してキャンディングで観察した際に確認された（図 6-1, 6-2）。いずれの場合も虫体はとぐろを巻いていた。

組織標本の顕微鏡観察においては，虫体の断面像が観察された。内臓表面のアニサキス虫体は，単一の断面のみが見える場合（図7-1）と外周が2～3 mmのとぐろを巻い

ている場合(図7-2, 7-3)があった。すべての虫体は宿主組織に被包されていたが, 被包による影響は見られなかった。なお, 図3-3の虫体は解凍したカツオ由来のため, 組織像から虫体への影響は明確にはわからなかった。筋肉内の3虫体はいずれも外周の直径が約3 mmで, 2~3回とぐろを巻いていた(図8にそのうちの1虫体を示す)。虫体の周囲はカツオの結合組織で被包されていたが, 結合組織の厚さは均一ではなく, 同一虫体の断面でも, 10 µm以下から50 µmを超える部分もあった。カツオ組織の被包によって筋肉内のアニサキス虫体が影響を受けているところは見られなかった。

D. 考察

カツオは太平洋に広く分布しており, 季節的に日本近海に來遊する回遊魚であることは一般には知られているが, その回遊ルートについてはまだ詳しく解明されていない。日本近海の各所で漁獲されたカツオが全国的に流通している現状を踏まえ, 今回の調査では, 様々な海域で漁獲されたカツオを調査する必要があった。東日本の太平洋側(千葉県から岩手県, 以下“太平洋側”)については, 冷凍保存されていたカツオを含め, 5月~11月までの比較的長期間の検体を入手できたが, 西日本の日本海側(山口県)および南西諸島(鹿児島県)については, 11月に漁獲されたカツオのみ入手可能であった。これらを対象として調査を実施した。

太平洋側および日本海側については, 全てのカツオの内臓からアニサキスが検出された。しかしながら, その種構成は大きく異なっており, 太平洋側ではAsが優勢である一方, 日本海側で検出されたのはApのみ

であった。また, 南西諸島産のカツオでは, アニサキスの寄生が見られたのは検体の半数で, 寄生率は低く, 寄生幼虫数も最大3虫体と明らかに少なかった。検出された種も, 太平洋側・日本海側とは異なり, Aphが優勢であった。筋肉からのアニサキスの検出は太平洋側のカツオのみに認められ, 日本海側・南西諸島産のカツオの筋肉にはアニサキスは見られなかった。このように3つの大きな海域の間では, カツオに寄生するアニサキスの種構成の大きな差異が認められ, 回遊ルートの異なる魚群の存在が示唆された。マサバを対象としたアニサキス感染状況調査で(鈴木・村田, 2011, 東京健安研セ年報, 62: 13-24), 日本海産(長崎県~新潟県)のマサバのアニサキスの80%以上がApであり, 一方, 太平洋側(高知県~青森県)のマサバでは80%以上がAsであったという結果が得られている。カツオでも, このようなアニサキスの分布の違いが当てはまると考えられる。太平洋側のカツオについては, 漁獲海域と時期の異なる7群を調査したが, これらの海域・時期のアニサキスの種構成の大きな違いは認められなかった。

寄生部位については, アニサキスは主にカツオの消化管(胃・幽門垂・腸)の表面から検出された。筋肉からの検出数はそれに次いでいた。カツオにおいても, アニサキスが筋肉内から検出される機会は少ないことが明らかになった。

カツオに寄生したアニサキスの種構成を解析したところ, 筋肉に寄生していたのはAsのみであったことと, As, AbおよびAphは幽門垂表面への寄生が最も多い一方, Apは腸表面への寄生が多く見られる, という種による寄生態度の違いが認められた。ヒ

トのアニサキス症で摘出されるアニサキス幼虫の大部分はI型幼虫であるが、遺伝子解析の結果、その大半はAsで、Apによる人体症例はわずかなことが判明している(有菌, 2011, 京都府保環研年報, 56: 1-5)。今回の調査では、4種のアニサキス類が検出されたが、その中でも、筋肉に寄生するAsがカツオの喫食によるアニサキス症の原因となる可能性が最も高いということが考えられた。

カツオから採集されたアニサキスは、寄生部位を問わず、すべて宿主組織に被包されていた。カツオは漁獲後に船倉内で短時間のうちに死亡すると考えられる。したがって、こうした宿主による生体反応は、カツオの漁獲後には起こりえず、筋肉への虫体の移動はカツオの生存時に起きていたことは明白である。また、内臓表面の被包から脱出している虫体は観察されなかった。したがって、消費地に運ばれるまでに内臓のアニサキスが筋肉に移動する可能性も考えにくい。

日本近海では、回遊ルートが異なる複数カツオの群れがあることが知られている。カツオの標識放流調査結果に基づき、亜熱帯域から日本近海へのカツオの来遊経路は、a)東シナ海黒潮沿い経路、b)九州・パラオ海嶺経路、c)伊豆・小笠原列島沿い経路、の存在が示唆されている(水産庁, 2018, 「平成30年度常盤・三陸沖カツオ長期来遊動向予測(参考)カツオの回遊について」)。そして、それらカツオの群間では、アニサキスの寄生状況が異なることが、今回の調査結果を含めて示唆される。

さらに多くのカツオについて調査を継続的に実施することにより、カツオの喫食が原因となるアニサキス症のリスク評価への応用が期待される。

E. 結論

東日本の太平洋側、西日本の日本海側および南西諸島で漁獲されたカツオからアニサキス類を検出し、形態観察および遺伝子解析により種を同定した。アニサキスの種はAsおよびApが大半であった。3つの海域の間では、カツオに寄生するアニサキスの種構成および寄生部位に、大きな差異が認められた。すなわち、太平洋側および日本海側については、全てのカツオの内臓からアニサキスが検出されたが、南西諸島産のカツオでは、アニサキスが検出されたのは半数の個体だった。また、太平洋側のカツオでは18%に筋肉でのアニサキス寄生がみられた一方で、日本海側と南西諸島産のカツオでは筋肉でのアニサキス寄生は認められなかった。今回の調査では、アニサキス寄生が筋肉に認められたのは太平洋側のカツオのみで、種はAsのみで、内臓におけるAsの寄生数が多いと筋肉にもAsが多いという傾向が認められた。

組織学的観察の結果、筋肉内のアニサキスは宿主組織に被包されており、現在の生鮮カツオの流通形態を考慮すると、消費されるまでに内臓から筋肉への移動も考えられなかった。以上のことから、2018年春にカツオの生食に起因するアニサキス食中毒が多発した原因はアニサキスの筋肉寄生が例年より多かったためと推測される。

カツオの回遊ルートについてはまだわからない点が多く、カツオがどのようにアニサキスに感染するか、その海域や時期なども不明であるが、今後調査を継続することにより、カツオ喫食によるアニサキス症のリスク低減への応用が期待される。

F. 研究発表

- 1) 巖城 隆, 高野剛史, 脇 司, 小川和夫,
村田理恵, 鈴木 淳, 神門幸大, 小林甲
斐: 日本近海産カツオにおけるアニサキ
ス属線虫類の種組成・分布・寄生部位,
第88回 日本寄生虫学会大会, 平成31年3

月, 長崎県

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

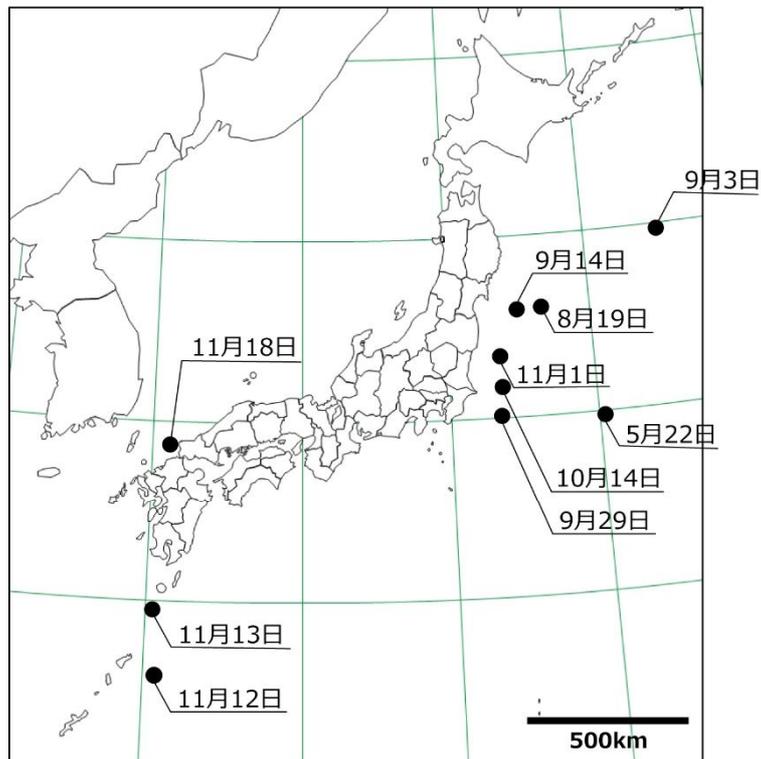


図1 カツオの漁獲海域・漁獲時期

表1 カツオの内臓・筋肉におけるアニサキス類の寄生状況

	漁獲地	漁獲日	検査尾数	内臓寄生 (幼虫数/尾)	筋肉寄生 (幼虫数/尾)
太平洋側	千葉沖(遠)	5/22	10	6 (1-53)	4 (1-20)
	宮城沖	8/19	5	5 (1-5)	0
	岩手沖(遠)	9/3	5	5 (1-27)	1 (4)
	宮城沖	9/14	5	5 (1-11)	0
	千葉沖	9/29	5	5 (2-10)	0
	茨城沖	10/14	5	5 (1-20)	2 (1)
	福島沖	11/1	5	5 (1-16)	1 (4)
日本海側	山口沖	11/18	5	5 (8-46)	0
南西諸島	トカラ列島, 奄美沖	11/12, 13	10	5 (1-3)	0

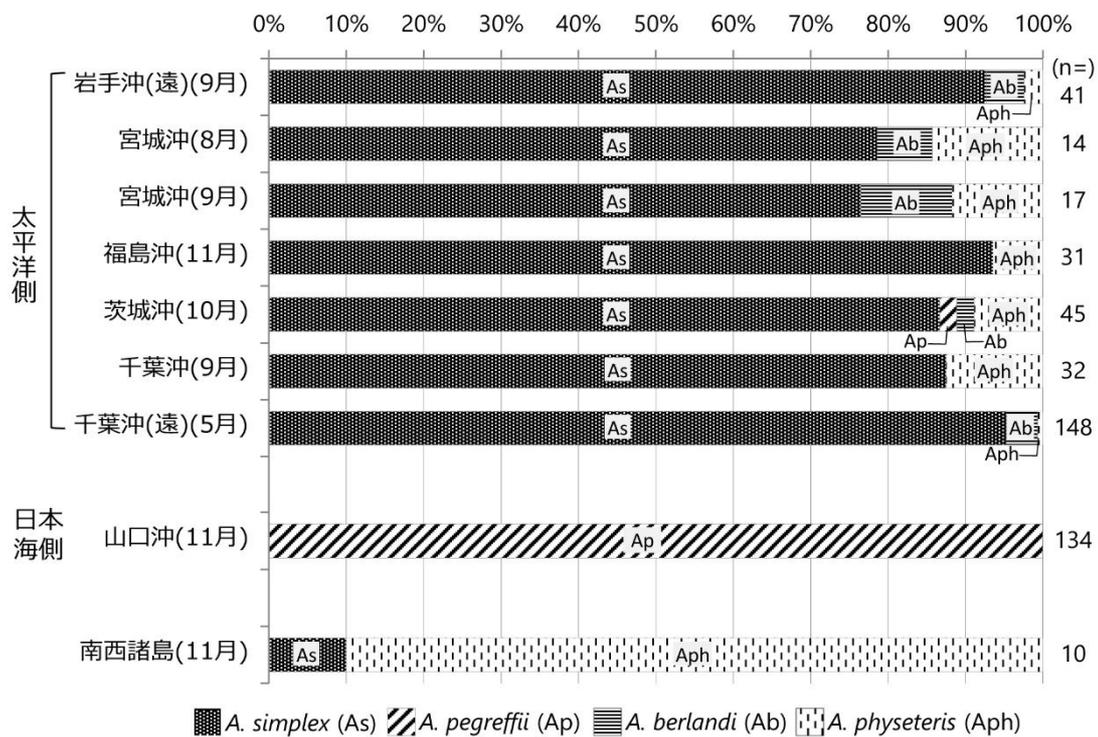


図2 漁獲海域ごとのアニサキスの種構成

表2 千葉県東沖で5月に漁獲されたカツオと南西諸島および日本海産カツオにおけるアニサキス類の寄生状況

漁獲地 (Fishing Ground)	漁獲月 (Month)	検体尾数 (Number of Specimens)	陽性尾数 (Number of Positive Specimens)	筋肉部陽性尾数 (Number of Positive Specimens in Muscle)	内臓 (Internal Organs)				腹側筋肉 (Ventral Muscle)	
					As	Ap	Ab	Aph	As	その他 (Others)
千葉県東沖 (Chiba Prefecture, East Offshore)	5月 (May)	10	6	4	113	0	6	2	26	0
トカラ近海 (Tokara Sea)	11月 (November)	1	0	0	0	0	0	0	0	0
喜界島近海 (Kisei Island Sea)	11月 (November)	9	5	0	1	0	0	9	0	0
山口県前沖 (Yamaguchi Prefecture, Front Offshore)	11月 (November)	5	5	0	0	134	0	0	0	0

As: *Anisakis simplex* sensu stricto, Ap: *A. pegreffii*, Ab: *A. berlandi*, Aph: *A. physeteris*
 その他の太平洋産カツオにおける状況については分担研究報告書1の表4を参照

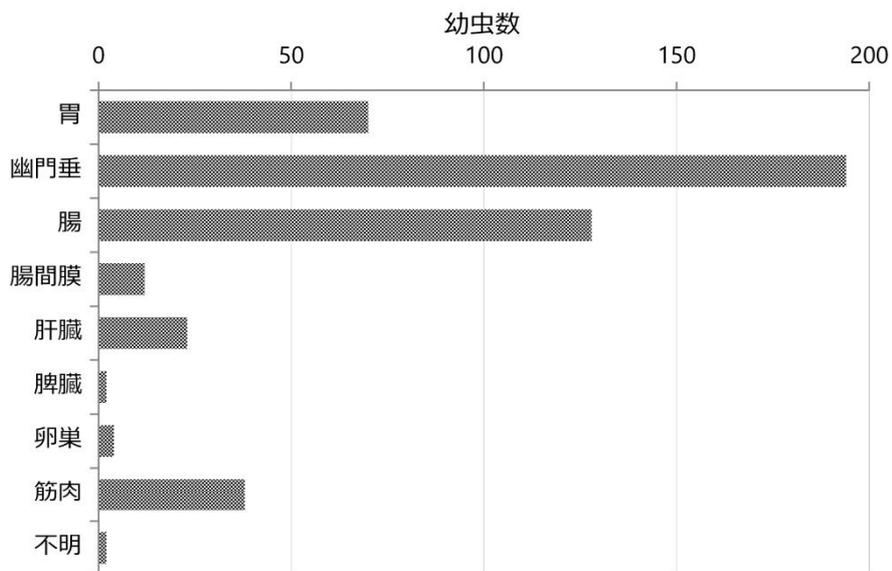


図3 カツオ体内のアニサキスの寄生部位

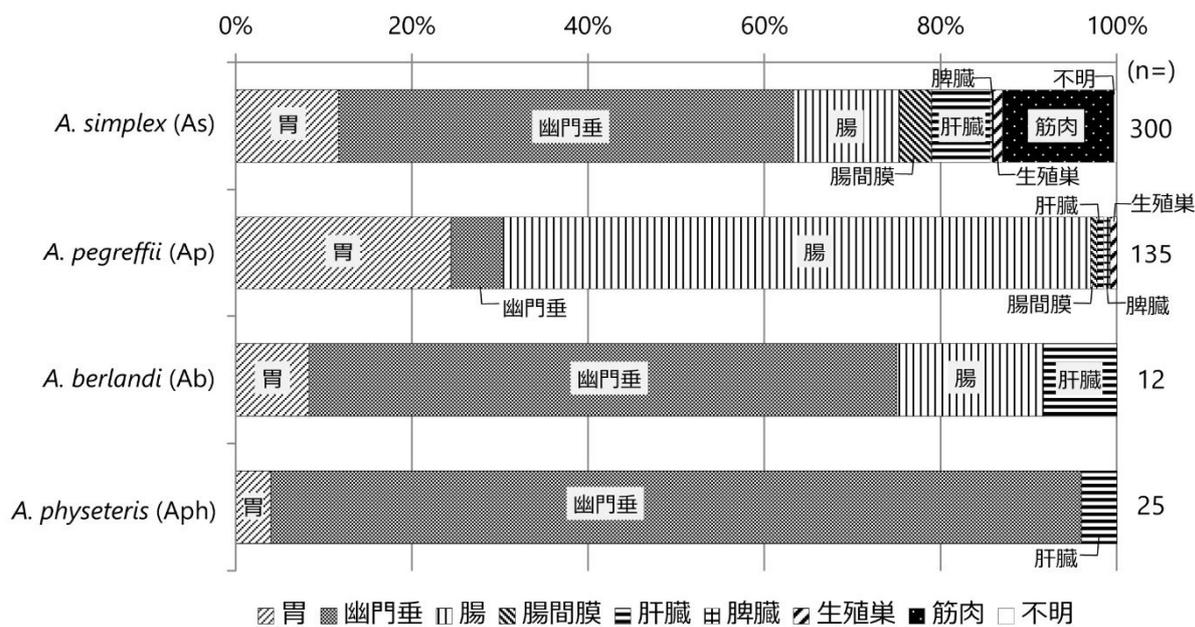


図4 アニサキスの種ごとの寄生部位の比較

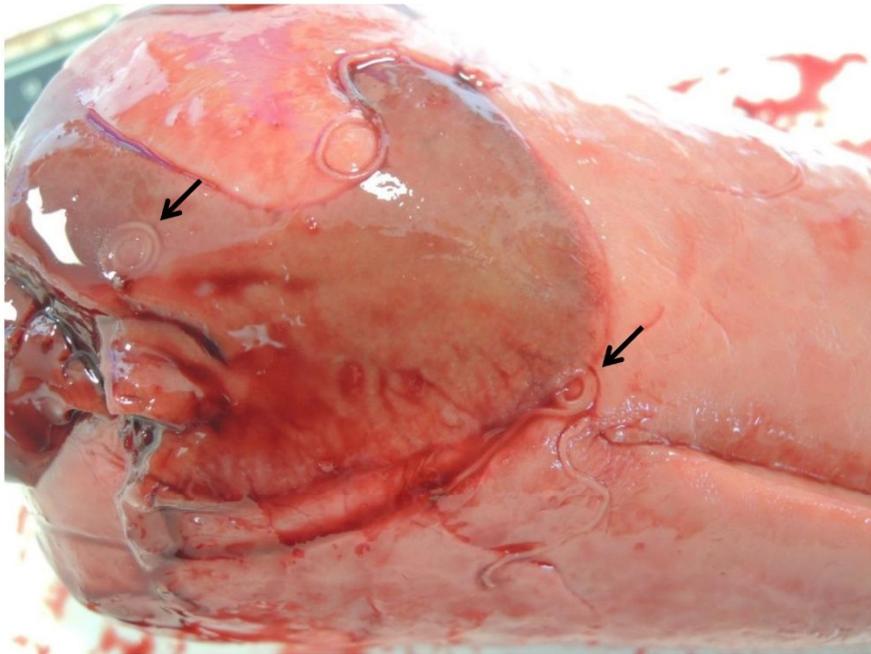


図5-1 カツオ内臓表面のアニサキス虫体（矢印）



図5-2 カツオ腹側筋肉から見つかったアニサキス虫体（矢印；とぐろを巻いていた；筋肉組織を切り出す際に虫体の一部がカツオの筋肉から露出）

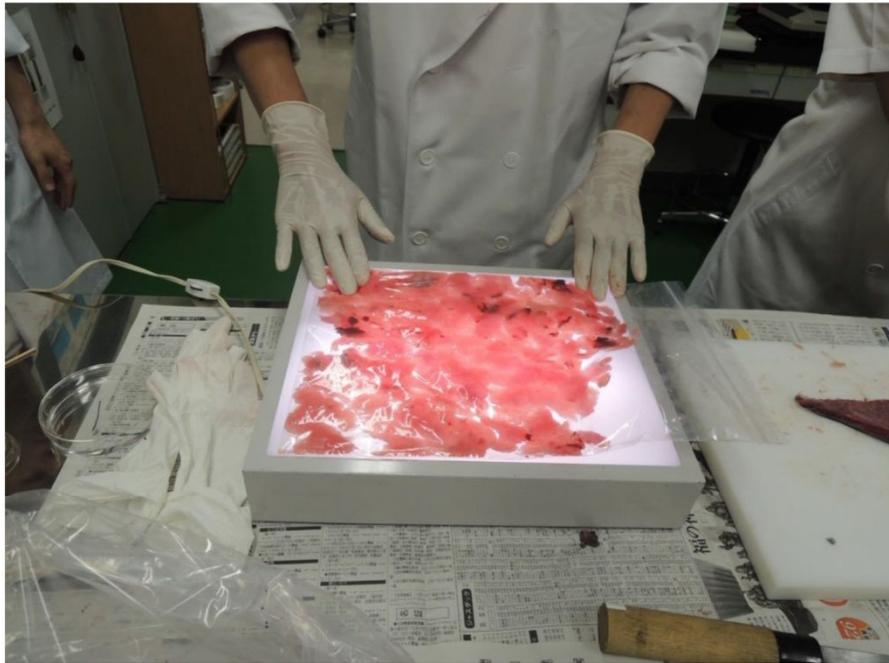


図6-1 カツオ筋肉組織のキャンドリング検査



図6-2 キャンドリング検査した筋肉内に見つかったアニサキス虫体

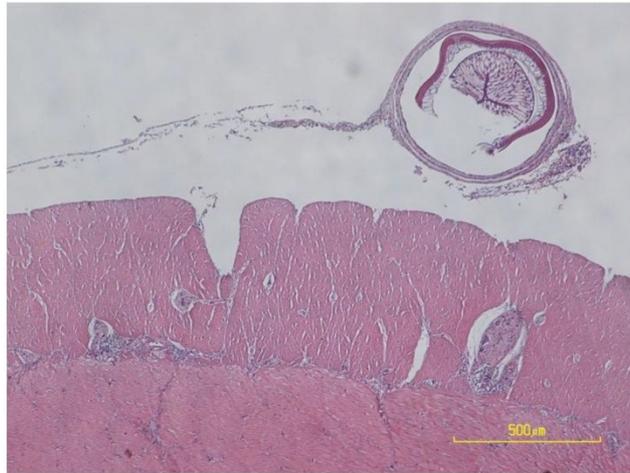


図7-1 カツオ胃壁表面のアニサキス虫体の断面像
(2018年11月3日に宮城県気仙沼に水揚げ)

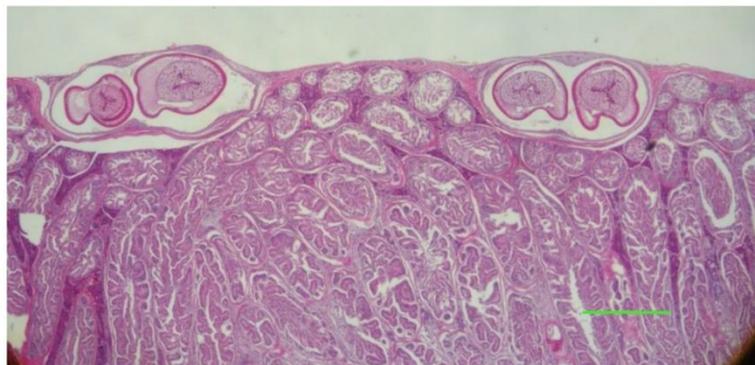


図7-2 カツオ幽門垂表面のアニサキス虫体の断面像 (スケール : 500μm)
(2回とぐろを巻いた状態 ; 2018年11月3日に宮城県気仙沼に水揚げ)



図7-3 カツオ幽門垂表面のアニサキス虫体の断面像 (スケール : 500 μm)
(2~3回とぐろを巻いた状態 ; 2018年5月3日に千葉県勝浦に水揚げ)

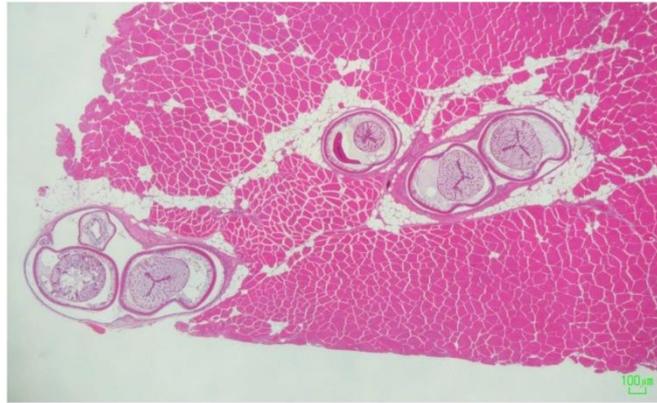


図8-1 カツオ筋肉内のアニサキス虫体の断面像
(3回とぐろを巻いた状態；2018年11月3日に宮城県気仙沼水揚げ)



図8-2 同上の拡大



図8-3 同上の拡大（黒矢印は宿主の結合組織；赤矢印はアニサキス虫体の外被）