

湿地に生息する水棲動物にみられる 吸虫類の多様性

旭川医科大学寄生虫学講座 佐々木 瑞希 (Sasaki, Mizuki)

はじめに

線形動物、扁形動物、鉤頭動物、節足動物など多くの動物群において、寄生生活を営むものが存在する。吸虫類は扁形動物門に属する寄生虫で、見た目は吸盤をもつプラナリアのような形をしているが、複数の宿主動物を利用する複雑な生活史を営む。吸虫類の多くは貝類を第1中間宿主、魚類や節足動物など様々な生物を第2中間宿主として利用する。最終的に終宿主（主に脊椎動物）の体内で成虫となり、生活環が完成する（図1）。一般的に、中間宿主は移動能力が低いが、終宿主は体内に成虫を宿したまま移動し、その移動先で新しい生活環を開始する。水棲の巻貝やその他の動物を中間宿主とする吸虫は多いため、河川や湖は吸虫類が次の世代を残すのに重要である。さらに、鳥類や哺乳類などの終宿主に寄生することが新天地への移動手段となる。とくに、鳥類の渡りは吸虫類の移動拡散に重要な役割を果たしていると考えられるが、これに伴う吸虫類の追跡調査は行われてこなかった。鳥類の内部寄生虫を採集するためには捕獲・屠殺が必要となるが、法的・倫理的・公衆衛生学

的制約が多く大規模な調査を行うことが難しいためである。

北海道における中間宿主調査

鳥類からの寄生虫の採集は困難だが、幸いなことに、前述の通り吸虫類は水棲生物を中間宿主として利用することが多い。とくにカモ類を中心とする水鳥は渡りの中継地となる河川や湖沼で排泄するため、そこに生息する水棲生物により吸虫類が維持されていると考えられる。すなわち、中間宿主となる貝類や魚類などを調べることで、終宿主となる鳥類を捕獲することなくその吸虫相を知ることが可能となる。

そこでまず、北海道の渡り鳥飛来地（旭川市牛朱別川、忠別川、美瑛市宮島沼、網走市能取湖など）において、巻貝類（オカモノアラガイ、カワニナなど）および魚類（ウグイ、フナ、ドジョウなど）を採集し、吸虫類の幼虫を検出した（図2）。回収した寄生虫は形態観察ののち、DNAバーコーディングを行った。すなわち、種同定とともに核28SrDNAおよびミトコンドリア cytochrome *c* oxidase I (*cox1*) 配列の一部を決定した。*cox1*配列を用いて最尤法により系統解析を行った結



図1 一般的な吸虫類の生活史

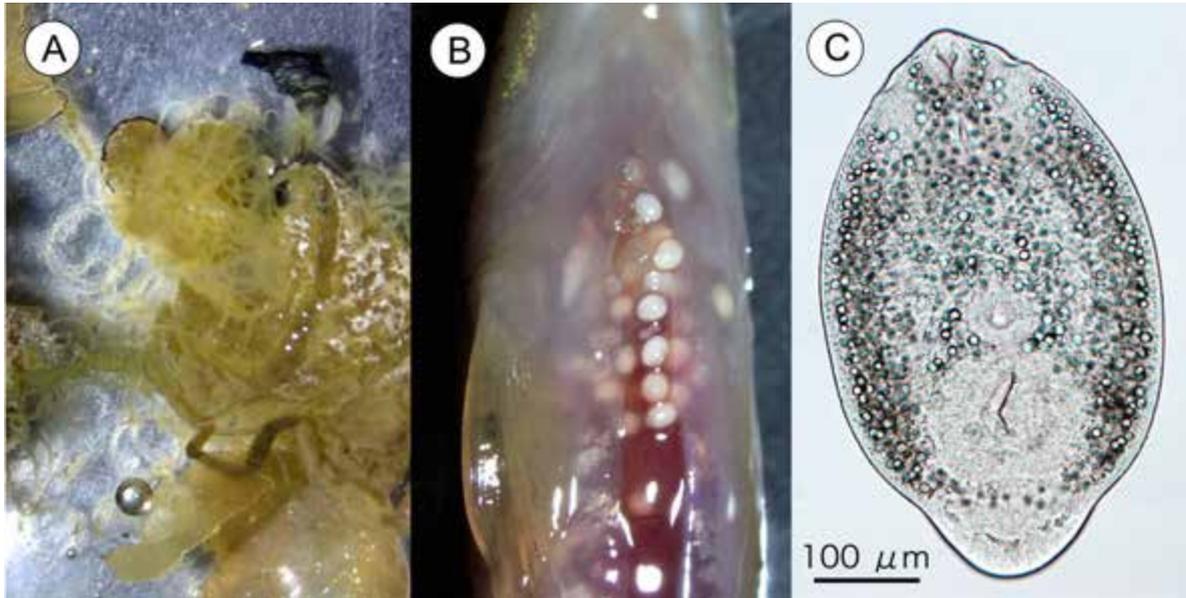


図2 さまざまな水棲生物から検出された吸虫類の幼虫. A, モノアラガイを割ると現れる紐状のスポロシスト. B, フクドジョウ体腔にぎっしりと詰まっている白い粒状のメタセルカリア. C, ウグイの眼球内に浮遊するメタセルカリア

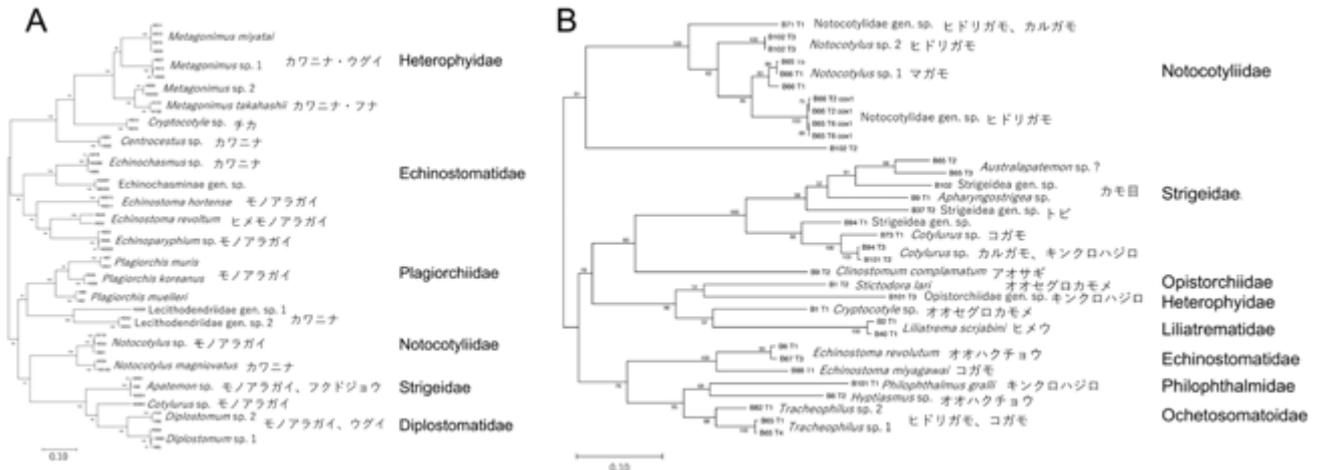


図3 ミトコンドリア *cox1* 配列をもとに最尤法で作成した系統樹. A, 北海道の巻貝および魚類から得られた吸虫類の幼虫 (6科23種). B, 北海道の鳥類から得られた吸虫類の成虫 (8科23種)

果 (図3 A), 水棲生物より検出された吸虫類は未記載種も含めて6科23種にのぼった. これらを近縁種と比較することにより, Heterophyidae および Echinostomatidae に属するものは哺乳類あるいは鳥類, Plagiorchiidae のものはおもにコウモリ, Notocotylidae, Strigeidae, Diplostomatidae に属するものはカモ科鳥類をそれぞれ終宿主として利用していると推定された. カモ類を始めとする鳥類が終宿主であると推定されたものは18種と多様であった. 中でも, カモ類の渡りの中継地として知られる旭川市の人工河川永山新川ではこれらのうちほとんどが検出されており, 渡りの中継地は吸虫類の多様性維持のための重要な場所と考えられた.

鳥類からの成虫の検出

寄生虫の種同定は成虫の形態観察が必須である. 残念なことに, 貝類や魚類など中間宿主から得られた吸虫類は幼虫であるため, 多くは種同定ができない. しかしながら, 成虫の姿を見てみたい, 種レベルまで同定したい, というのが寄生虫学者の性である. そこで, 成虫を得るため鳥類の調査を行った. 道内で得られた事故死体や有害鳥獣として駆除された個体43種77羽

について検査を行い, 17羽から吸虫が得られた. これについても形態学的同定および塩基配列の決定を行った. こちらも中間宿主から検出された幼虫と同様に, *cox1* 配列を用いて最尤法により系統解析を行った (図3 B). 鳥類からは合わせて8科23種の吸虫類が検出された.

ここからが楽しみにしていた答え合わせの時間である. 水棲生物から得られた6科23種と鳥類から得られた8科23種をワクワクしながら照合してみる. 一体何種の吸虫についてその発育史 (中間宿主および終宿主) が解明されることだろう.

結果, 幼虫と成虫の *cox1* 配列が一致したのは, 期待したよりはるかに少ないたったの4種のみであった (図4). このことから, 吸虫類の多様性が想像以上であることが示された. 見たことのない吸虫が北海道だけでもまだまだ存在するということになる. ただし, データベースに登録されている吸虫類のDNA情報は明らかに不足しているため, 我々が特定した *cox1* 配列のほとんどは新規配列であった. つまり, 本研究で検出された吸虫類のうち, *Notocotylus* sp., *Cotylurus* sp. を含む複数のものが未記載種であると考えられた. 現在, これらの新種記載に向け準備を行っている.

Notocotylus sp.



Cotylurus sp.



Echinostoma revolutum



Cryptocotyle sp.



図4 巻貝由来の幼虫と鳥類由来の成虫を比較して、DNA バーコードの一致が見られた4種（成虫を示した）

「新種の動物」というと秘境にでも行かない限りめったに見つからないもの、と思いがちだが、その辺りの川にいる小さな巻貝や目に留める者も少ない地味な小魚の中に多様な吸虫の世界が広がっているのである。それらの一部は渡り鳥を終の棲家とし、ユーラシア大陸まで運ばれるものもあれば、オーストラリアまで旅するものもあり、運良く中間宿主の生息する河川や湖沼に虫卵を落とすことができれば再び新しい生活史を開始するのである。

遠く離れた場所にいる吸虫が同一の種なのか、あるいは、異なる宿主で見られる各発育ステージの虫体が同一種なのか、形態学的観察のみでは判定が不可能な場合がある。吸虫類の形態には鑑別に有用な特徴が少なく、隠蔽種の存在が疑われるためである。そのような場合に、本研究で用いたDNAバーコーディングは威力を発揮する。DNA配列を比較することで、ヨーロッパの巻貝で検出された幼虫が北海道に飛来したカモ類の消化管に寄生する成虫と同一のものであった、というように宿主による移動拡散を捉えることも可能である。

データベースの作成

DNAバーコーディングを有効活用するためにはデータベースを作成し、素早く簡単に照合できるシステムが必要である。そこで、我々が同定、シーケンスを行ったサンプルの1500を超える配列を使ってBasic Local Alignment Search Tool (BLAST) 検索のための独自のデータベースを作成した。このデータを用いてLocal BLAST検索を行うことで、未記載種であっても、また異なる宿主から得られた検体や遠く離れた場所の検体であっても、同種あるいは近縁種であることが容易に分かる。さらに、各発育ステージの配列を登録しているため、いずれかのステージの配列を入力して検索するとその中間宿主や終宿主が発見できる場合がある。

本研究では、本州におけるサンプリングも複数箇所で行うとともに、協力者から提供していただいたサンプルについてデータ解析に用いた。こうして得られた本州産吸虫類についてもcox1配列を決定し、作成したデータベースをもとに相同性

検索を行った。その結果、東北地方において*Notocotylus* sp. や*Cotylurus* sp. など複数種が北海道のものと同種であることが分かった。また、西日本でも*Notocotylus magniovatus* など北海道と同種が存在した。これらはいずれも鳥類を終宿主とする。今後さらにデータベースを充実させていく必要があるが、それには寄生虫学研究者同士がデータを出し合い、お互いに利用可能なシステムを構築する必要がある。データが蓄積されることで、日本国内、ひいては世界中での吸虫類の移動拡散を把握することが可能になる。

謝辞

サンプルの収集にご協力いただきました東京農業大学小林万里先生、酪農学園大学浅川満彦先生、帯広畜産大学福本晋也先生、北里大学柿野亘先生、篠井宏実先生、滋賀県立大学浦部美佐子先生、岡山理科大学林慶先生に御礼を申し上げます。本研究は公益財団法人水産無脊椎動物研究所の個別研究助成（2019年度）を受け行いました。ありがとうございました。