

資料

ワカサギの体腔内より検出された
幼条虫プレロセルコイドの同定と文献的考察

阿部 仁一郎

大阪市立環境科学研究所

Identification of the Larval Cestode Plerocercoid Found in the Body Cavities of the Japanese Smelt,
Hypomesus transpacificus nipponensis, and Review of the Literature

Niichiro ABE

Osaka City Institute of Public Health and Environmental Sciences: 8-34 Tojo-cho, Tennoji-ku, Osaka 543-0026, Japan

Abstract

Plerocercoid, generally known as one of the larval forms of the Pseudophyllidea cestode, was found in the body cavities of the Japanese smelt, *Hypomesus transpacificus nipponensis*. The larva was analyzed genetically to identify the species. Homology searching of the partial ribosomal RNA (rRNA, 1,238 bp) and mitochondrial cytochrome oxidase subunit 1 (cox1, 428 bp) gene sequences, obtained using the FASTA program, showed that the sequences of the larva had 98.3% and 98.5% identity, respectively, with those of *Diphyllobothrium ditremum*. The larva was also grouped with *D. ditremum* according to molecular phylogenetic analysis of the cox1 sequence (393 bp), so that the larva from the Japanese smelt appeared genetically to be *D. ditremum*. However, *Diphyllobothrium* plerocercoids have already been detected in Japanese surf smelt and olive rainbow smelt and assigned the new species name *D. hottai* based on the morphological and biological differences between the isolates from the two species of smelt and *D. ditremum*. Since the sequence data of *D. hottai* remains unavailable, it was not possible to make a genetic comparison of the plerocercoid found in the Japanese smelt and *D. hottai*. The present report highlights problems in differentiating morphologically or biologically similar *Diphyllobothrium* species.

Keywords: *Diphyllobothrium*, Japanese smelt, PCR, plerocercoid, sequencing analysis

I. はじめに

ワカサギ (*Hypomesus transpacificus nipponensis*) はサケ目キュウリウオ科ワカサギ属に含まれる魚類であり、国内では北海道と利根川・島根県以北の本州に自然分布し、また、食用魚としての需要が高いことから日本各地の湖などで放流個体が定着している。海の内湾、湖沼、人口湖とこれらに注ぐ川の下流域に生息し、塩分、水温などに広い適応性を有している。一方、同じワカ

サギ属に含まれ形態学的にワカサギと鑑別しにくいチカ (*H. pretiosus japonicus*) は沿岸域で一生活を過ごす純海産種で、国内では北海道沿岸や三陸、陸奥湾などの海域に分布している [1]。

寄生虫の多くは虫種ごとに特異な生活環を有しており、多様な動物を中間宿主としその体内で発育しながら終宿主への感染の機会をうかがっている。例えば、ヒトの腸管内で成虫に発育する *Diphyllobothrium nihonkaiense* (日本海裂頭条虫) の場合、その糞便内に排出された虫卵は水中で発育・分化し内部にコラシジウムが形成される。コラシジウムは水中へ遊泳した後

〒543-0026 大阪市天王寺区東上町8-34
E-mail: ni-abe@city.osaka.lg.jp

に第1中間宿主であるケンミジンコに捕食され、その体内でプロセルコイドと呼ばれる幼虫まで発育する。次に、プロセルコイドを宿したケンミジンコが第2中間宿主であるサクラマス、カラフトマス、シロサケなどに捕食されると、それらの体腔や筋肉に移行してプレロセルコイドとなる。ヒトはサケ、マス類のプレロセルコイドが寄生した筋肉部分の生食や加熱不十分な状態での摂取により感染する。これまで多数の魚類が寄生虫の中間宿主として報告されているが、ワカサギも例外ではなく、ヒトに寄生する肝吸虫の第2中間宿主として知られている [2]。

裂頭条虫類の中で *D. nihonkaiense* に代表される *Diphyllobothrium* 属の条虫はヒト以外の様々な哺乳動物、鳥類などから成虫として検出されるが、魚類などに見られるその幼虫プレロセルコイドや終宿主体内の成虫の形態は異種間でも類似しており、同定は幼虫、成虫、虫卵の詳細な組織形態学的観察や宿主域などに基づいてなされてきた [3]。臨床例で成虫が検出された場合は成虫と虫卵の形態学的観察により同定可能であるが、魚類から分離された幼虫が検体として搬入された場合、同定にはそれを動物へ感染させて得られた成虫と虫卵の形態学的所見を必要とする。このため、種の同定は標本観察の経験が豊富で実験施設の整った限られた研究機関でのみ可能であった。一方、この十数年間に多種多様な寄生虫の遺伝子シーケンス（塩基配列）が国際 DNA データバンクに登録され、その情報を活用した遺伝子解析による同定が試みられている。2009年3月に国際 DNA データバンクで検索したところ (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank/index.html>)、*Diphyllobothrium* 属条虫でも9種類 (*Diphyllobothrium* sp. と未同定のまま登録されているものは種数に含めていない) から208個のデータが登録されており、文献的にも遺伝子レベルでの種の同定や近縁種の検索がなされている [4-8]。

今回、食用に購入した市販のワカサギを調理した際に、*Diphyllobothrium* 属と推測されるプレロセルコイドを体腔内に多数認めた。プレロセルコイドは異物として目に留まりやすく、消費者から検査機関などにその同定や情報提供を求められることが予想される。本研究では前述した *Diphyllobothrium* 属条虫の同定に係る問題点を克服するために、国内のワカサギ類における裂頭条虫の感染実態を文献的に調査し、シーケンスの相同性や分子系統学的手法を用いて種の同定を試みた。

その結果、ワカサギ由来プレロセルコイドの近縁種は、中間宿主は不明であるがアイサ、アビ、カモメ、ヒレアシシギなどの鳥類に成虫として寄生する *D. ditremum* であった [9]。しかし、文献的には国内のキュウリウオやチカから新種として報告されていた *D. hottai* とも考えられた。本稿では、今回の虫種を同定できなかった原因とその背景についても検討した。

II. 検体と実験方法

検体には、2008年2月に大阪府下で市販されていた生のワカサギ8匹を用いた。被囊物内のプレロセルコイドは、生理食塩水を入れたシャーレ内でその膜を注意深く切開し摘出した。実体顕微鏡下の観察では虫体間で形態に差を認めなかったため、数虫体をカーミン染色し光学顕微鏡を用いて観察を行った。遺伝子検査には2虫体を検体とし、各々を1.5 mL容のチューブに移しホモジナイゼーション用ペッスル (Scientific Specialties Inc., CA, USA) で破碎した後に、QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany) を用いてDNAの抽出と精製を行った。ターゲット領域である核DNAのリボソームRNA (rRNA) とミトコンドリアDNAのチトクロームオキシダーゼサブユニット1 (COX1) は各々ITS5、ITS4 [10] およびJB3、JB4.5 [11] のプライマーペアを用いてPCR法により増幅し、その産物を精製した後にABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA) で両方向のシーケンスを解読し当該領域のシーケンスを決定した (rRNA: accession number AB437411, COX1: AB437938)。シーケンスの相同性検索は、国立遺伝学研究所日本DNAデータバンク (DDBJ) が提供するFASTA (<http://fasta.ddbj.nig.ac.jp/top-j.html>) を用いて行った。また、分子系統樹解析はClustalW version 1.83 (<http://clustalw.ddbj.nig.ac.jp/top-j.html>) によるNeighbor-Joining法で行い、NJplot (<http://pbil.univ-lyon1.fr/software/njplot.html>) を用いて系統樹を描いた。

III. 結果と考察

肝臓や消化管表面に付着または体腔に遊離した状態で認められた被囊物は約5 mmの大きさで (Fig. 1)、その内部には白色の虫体が認められた (Fig. 2)。被囊物は検査した8匹中5匹から検出され、感染数が多いものでは8虫体検出された。カーミン染色による観察では虫体の頭端部に吸溝構造が認められ (Fig. 3)、さらに、体



Fig. 1 Encysted plerocercoids (arrowhead) found on the surface of visceral organs, such as liver and digestive tract, in the body cavities of Japanese smelt (ventral view).



Fig. 2 Plerocercoids, white in color, were generally flat and tapered gradually toward the posterior end.

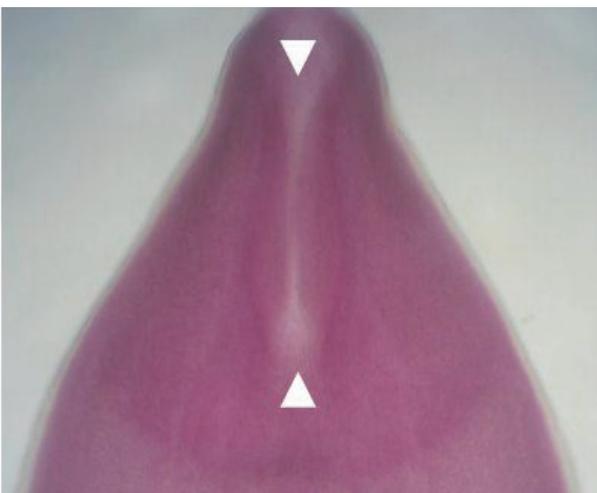


Fig. 3 Scolex with bothria as sucking organ (arrowhead) found in the plerocercoids examined in the present study (carmine stain).

内に石灰小体が多数認められたことから、この幼虫は裂頭条虫のプレロセルコイドと考えられた。次に、遺伝子レベルでの同定を試みるため PCR を行ったところ、予想サイズの産物が両領域で明瞭に増幅され、それらのシーケンスは虫体間で一致した。国際 DNA データバンクに登録されているデータとの相同性検索では、解読された rRNA 領域のシーケンス (1,238 bp) は、それと重複した 1,212 bp の範囲内で *Diphyllobothrium ditremum* の同領域のシーケンス (DQ768180) と最も高い相同性を示し (98.3%)、また、COX1 領域のシーケンス (428 bp) でも、その 396 bp の範囲内で *D. ditremum* (DQ768196) と最も高い相同性を認めた (98.5%)。Wicht et al. [5] が報告したように、解読された COX1 シーケンス内の 393 bp について分子系統樹解析を行うと、今回の虫体は *D. ditremum* と同じグループに分類され、その種と近縁であることが確認された (Fig. 4)。

国内のキュウリウオ科における裂頭条虫の感染実態は、1978 年に堀田ら [12] により初めて明らかにされた。それによると、彼らは北海道各地の沿岸とサロマ湖で水揚げされたキュウリウオ、チカおよびワカサギの体腔内からプレロセルコイドを検出し、感染実験 (キュウリウオとチカ由来プレロセルコイドを用いた実験) で得られた成虫の形態学的観察からそれらは *D. ditremum* かそれに近縁な種であろうと推測した。一方、ワカサギから検出されたプレロセルコイドについては、虫体断面の組織像とその計測値は他 2 魚種由来のそれらと類似するものの体表に横皺を有する点が異なり、また、感染実験では成虫が得られず形態を比較することができなかったことから同定されていない。その後、矢崎ら [13]、Fukumoto et al. [14] によりチカとキュウリウオ由来株について詳細な検討がなされ、堀田ら [12] が示唆した形態学的類似種である *D. ditremum* との相違点として、プレロセルコイドの形態 (ホルマリン食塩水で固定した際の虫体の形態、虫体断面の組織像)、虫卵卵殻表面の点刻のパターン、ハムスターへ感染させた場合の成熟の速さ、貯精囊の分布、アイソザイムパターンおよびコラシジウムは淡水よりも海水に適応していることを指摘し、1988 年にキュウリウオとチカに見出される裂頭条虫を新種 *D. hottai* と命名した [15]。1995 年に Murata et al. [16] はキュウリウオ、チカ、ワカサギでのプレロセルコイドの感染状況について北海道外を含むより広い地域で調査し、チカでは調

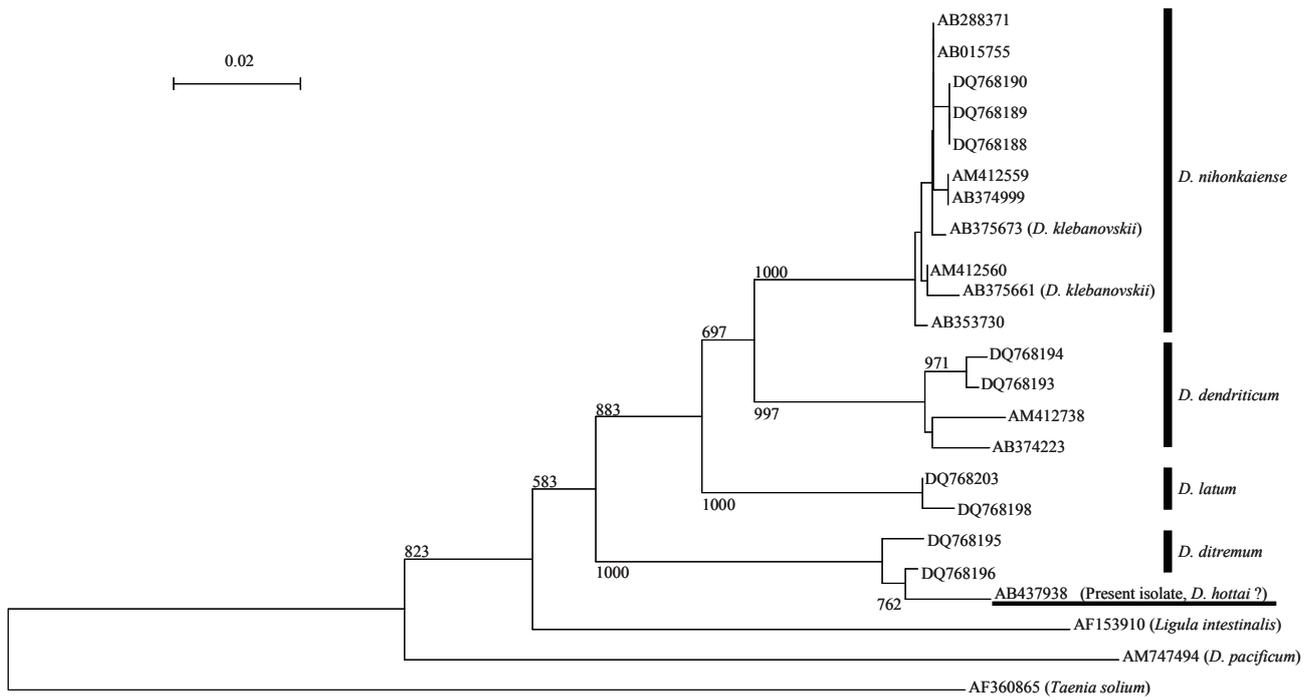


Fig. 4 Phylogenetic tree generated on 393 bp sequences of the COX1 gene from the plerocercoids examined in the present study and related cestodes. The tree was generated by the neighbor-joining method. Bootstrap values are given for each node. The genetic distances were computed using the Kimura-2-parameter method. GenBank accession numbers are as follows: *Diphyllobothrium nihonkaiense* (syn. *D. klebanovskii*) (AB288371, AB015755, DQ768190, DQ768189, DQ768188, AM412559, AB374999, AM412560, AB353730, AB375673, AB375661), *D. dendriticum* (DQ768194, DQ768193, AM412738, AB374223), *D. latum* (DQ768203, DQ768198), *D. ditremum* (DQ768195, DQ768196), present isolates (*D. hottai* ?) from Japanese smelt (AB437938), *Ligula intestinalis* (AF153910), *D. pacificum* (AM747494), *Taenia solium* (AF360865). *Ligula intestinalis* and *T. solium* were included as outgroups.

査した北海道と東北の15ヶ所の沿岸（陸奥湾を含む）とノトロ湖で陽性例を確認し、キュウリウオでも室蘭沖とノトロ湖の個体に陽性例を見出した。さらに、検出されたプレロセルコイドとその成虫の形態学的観察からそれらは *D. hottai* と考えられ、本種は両魚種に普通に見られる裂頭条虫であるとともに北海道から東北の沿岸地域に広く分布しているのではないかと考察している。一方、ワカサギでは北海道の網走湖（検査数：308）とバラト湖（727）の個体で陽性例は認められず、本州では青森の小川原湖、茨城の霞ヶ浦、長野の諏訪湖、島根の宍道湖など7ヶ所の湖から2,151個体について調査しているが陽性例は検出されていない。Murata et al. [16] が考察しているように、*D. hottai* の生活環が海域にあるとすれば、湖など淡水域のワカサギで陽性例が全く認められなかった彼らの結果は合理的と考えられる。分類学的にワカサギはキュウリウオやチカと同じ科に含まれ（チカとは同属である）、また、海水域で

も生息可能であることから沿岸のワカサギはチカと同様に *D. hottai* の第2中間宿主となる可能性がある。事実、堀田ら [12] はオホーツク海に面したサロマ湖と稚内沖で水揚げされたワカサギに *D. hottai* のプレロセルコイドと形態学的に類似した幼虫を検出している。

キュウリウオ科の多くの魚種の生息域は沿岸域であるが、キュウリウオ、アユ、ワカサギなどは淡水や海水でも生息可能で川と海を行き来する回遊性の魚種である。このため、チカの水揚げにワカサギが紛れ込むことは十分予想されることである。Murata et al. [16] は彼らが調査したチカの検体にワカサギと思われる個体も含まれていたと述べている。ワカサギに寄生するプレロセルコイドが *D. hottai* であるかどうか明らかではないが、仮にワカサギのプレロセルコイドが別種であった場合、チカをワカサギと見間違えたことによりワカサギに寄生するプレロセルコイドも *D. hottai* であるという誤った結論を導き出す可能性がある。このた

め、*D. hottai* の中間宿主を特定する上でも魚種の鑑別は必要と思われる。ちなみに、両魚種の見目の鑑別点は、腹びれと背びれの位置関係が知られている [1]。すなわち、ワカサギの腹びれ起点は背びれ起点のやや前方ないし真下に位置し、チカの腹びれは背びれ起点直下よりやや後方から始まる。

今回著者がワカサギより検出したプレロセルコイドについては、検査当初にキュウリウオ科魚種での裂頭条虫類の感染実態や同定法についての情報を持ち合わせていなかったため、プレロセルコイドの詳細な観察や感染実験により成虫を回収しその形態と虫卵の観察を行うことができなかった。また、購入したワカサギは「北海道産ワカサギ」とパックに表示されていたためチカとの鑑別を意識することなく、それらをワカサギとして取り扱った。検査数は少ないが、約 63% (5/8) の個体がプレロセルコイドに感染していた。堀田ら [12] はサロマ湖や稚内沖のワカサギにプレロセルコイドを見出しているがその感染率は各々 36.4% (8/22)、28.7% (58/202) であり、Murata et al. [16] の調査では北海道と東北の湖で水揚げされた個体からは全く検出されていない。このことから、今回検査したワカサギの全てが「ワカサギ」だとすれば、それらはパックの表示どおり北海道の沿岸で水揚げされた可能性が高く、堀田ら [12] が検出した未同定のプレロセルコイドと同一であったかもしれない。

rRNA、COX1 領域の相同性検索と COX1 領域の分子系統樹解析により導き出された近縁種は、堀田ら [12] が形態学的な観察結果を基に推測した種 (*D. ditremum*) に一致した。これまで *Diphyllobothrium* 属条虫のシーケンスデータは 9 種類 (*D. nihonkaiense*、*D. klebanovskii*、*D. ditremum*、*D. latum*、*D. pacificum*、*D. dendriticum*、*D. stemmacephalum*、*D. lanceolatum*、*D. cordatum*) について登録されており、また、未同定 (*Diphyllobothrium* sp.) として登録されているデータでキュウリウオ科の魚類から検出された幼虫に由来するものは全くない。国内の過去の調査報告 [12, 13, 15, 16] から判断すると、今回のプレロセルコイドは *D. hottai* の可能性が高かったが、そのシーケンスデータが未だ登録されていないため遺伝子レベルで比較することができず同定には至らなかった。今後 *D. hottai* と同定された虫体のシーケンスデータが登録されるのを待つ必要がある。

COX1 領域のシーケンスデータは *Diphyllobothrium*

属全種で登録されていないが、現在利用可能なデータを Wicht et al. [5] の方法に準じて (393 bp を対象とする) 分子系統学的に解析したところ (Fig. 4)、*Diphyllobothrium* 属異種間の遺伝的距離 (kimura-2-parameter による距離計算) は *D. ditremum* と今回の虫体との距離を除けば全て 0.062 以上の値であったが、今回の虫体を独立種 (*D. hottai* ?) と考えた場合、*D. ditremum* との距離は 0.016 (DQ768196)、0.026 (DQ768195) であった。一方、同一種内での距離は *D. nihonkaiense*、*D. latum* では各々 0.003 ~ 0.008、0.005 で、*D. dendriticum* のそれは 0.005 ~ 0.023、*D. ditremum* として登録されている 2 つのデータ間は 0.01 であった。Arizono et al. [7] は COX1 領域 711 bp の系統解析において (遺伝的距離は kimura-2-parameter を利用)、*D. nihonkaiense* と *D. dendriticum*、*D. latum* との遺伝的距離は各々 0.062 ~ 0.070、0.075 ~ 0.078 と報告しており、COX1 の部分領域のシーケンスを指標とした場合、*Diphyllobothrium* 属の異種間の遺伝的距離は約 0.06 以上と考えられる。仮にそうだとした場合、*D. ditremum* と今回の虫体との距離はその数値に比べてかなり低く、両者を別種として区別できないのではないかと考えられる。また、前述したように、*D. dendriticum* の種内での遺伝的距離は 0.005 ~ 0.023 と広く、他種と比べて COX1 領域の変異が大きい種類かもしれない。今回の虫体と *D. ditremum* のグループ内の距離は 0.01 ~ 0.026 であることから *D. ditremum* も *D. dendriticum* 同様に種内変異が大きい種類と考えれば、先の推測と同様に今回の虫体は *D. ditremum* と考えられる。*Diphyllobothrium ditremum* の中間宿主は不明であるが、その終宿主である魚食性鳥類は *D. dendriticum* の終宿主でもあることから [3, 9]、両種は生物学的にも類似した種であるかもしれない。Yazaki et al. [15] はキュウリウオとチカに見られる *D. hottai* が近縁種 *D. ditremum* と異なる点の一つとして、アイソザイムパターンや soluble protein profile などタンパク質レベルの相違を指摘していたが、シーケンスデータを用いた遺伝子レベルでは比較していなかった。

今回、ワカサギより検出されたプレロセルコイドは、文献的には *D. hottai* の可能性が高かったが、虫体の遺伝子解析の結果は *D. ditremum* である可能性を示した (ただし、*D. hottai* のデータとは比較できない状況にあった)。ワカサギに見出されたプレロセルコイ

ドが *D. ditremum* なのか、あるいは、*D. hottai* であるかは今回の解析結果のみで明らかにはできないが、今後、*Diphyllobothrium* 属条虫の分類を充実した内容とするためには、従来の形態学的分類に加え、全種についての COX1 領域の全塩基配列の解析や COX1 と同様に種内変異に富む NADH dehydrogenase subunit 3 (nad3) 領域 [7] など複数の領域をターゲットにした分子系統学的研究と、自然界での終宿主または中間宿主が明らかでない種類（例えば *D. hottai* では終宿主が不明、*D. ditremum* では中間宿主が不明）についてそれらを特定すること、国内外の多種多数の株が遺伝子解析に供されそのデータを利用できるようになることが必要と考えられる。Arizono et al. [7] は、ロシア極東地域に分布し *D. nihonkaiense* と形態学的、生物学的に類似し長い間 *D. klebanovskii* と呼ばれていた虫種の異同を、形態学的観察のみならず遺伝子レベルで比較し両種は同一であることを明らかにした。このような研究は、形態学的、生物学的あるいは遺伝子学的情報が空白で、既知種とシノニム（同物異名）である可能性を秘めた *Diphyllobothrium* 属条虫の幾つかを同定する上で意義深く模範的な研究と考えられる。

最近、著者は形態学的に *D. nihonkaiense* または *D. latum*（広節裂頭条虫）を疑う臨床由来 2 株について今回と同様の手法により同定を試みたところ、いずれも解析した両領域は *D. nihonkaiense* とほぼ 100% 近い相同性が得られ、系統樹解析でも両株は *D. nihonkaiense* であることを確認した（阿部、未発表）。シーケンス解析による種の同定は確かに有用ではあるが、シーケンスを解読するためにはシーケンサーという高価な機器を必要とする。1992 年に、*D. nihonkaiense* と *D. latum* との鑑別に制限酵素切断パターンが初めて応用されたが [17]、それ以降は著者が知る限りこの方法による種の鑑別は試みられていない。PCR 増幅産物を制限酵素で切断しその泳動パターンで鑑別する PCR-RFLP 法は、シーケンス解析と比べて費用も安くシー

ケンサーを必要としないことから簡易な方法と考えられる。しかし、*Diphyllobothrium* 属の多種類のシーケンスデータが登録されていないため他種の切断パターンを予測することもできない状況にある。このため、例えば *D. nihonkaiense* のある酵素による切断パターンが将来もその種に特異的なパターンであるかどうかは分からない。したがって、形態学的観察以外の手法で *Diphyllobothrium* 属条虫を同定またはその近縁種を検索するためには、シーケンス解析を用いた相同性検索や系統樹解析が現在最も有用な方法と考えられる。

著者が知る限り、淡水性および海洋性の *Diphyllobothrium* 属条虫でヒトに感染する種類は以下の 9 種類である [3, 18]。淡水性では *D. dalliae*（ヒト以外に感染が報告されている哺乳動物など：イヌ、北極キツネ）、*D. dendriticum*（カモメなどの魚食性鳥類）、*D. latum*（イヌ、ネコ、野生の哺乳動物）、*D. alascense*（イヌ）、*D. nihonkaiense*（国内のクマ、キツネにも感染している可能性がある。本種のシノニムである *D. klebanovskii* はロシアのヒグマから検出されている [7]）、*D. ursi*（クマ）。海洋性では *D. cameroni*（アザラシ）、*D. cordatum*（アザラシ、イヌ、セイウチ）、*D. hians*（アザラシ）、*D. lanceolatum*（アザラシ、イヌ）、*D. orcini*（クジラ）、*D. pacificum*（トド）、*D. scoticum*（トド、アザラシ）、*D. stemmacephalum*（イルカ）である。このように、*Diphyllobothrium* 属は宿主特異性が比較的強く多様な哺乳動物や鳥類に感染するのではないかと考えられる。キュウリウオやチカから検出される *D. hottai* の人体寄生例は今のところ知られていないが、実験的にゴールデンハムスター、イヌ、ハシブトガラスに感染するので [3, 12, 13, 15, 16] ヒトにも感染するかもしれない。キュウリウオ、チカ、ワカサギは日本人にとって揚げ物、焼き物などの料理で馴染みのある食用魚であるが、キュウリウオや大型のチカは刺身としても食されることがある。このため、*D. hottai* の人体寄生性についても今後は検討する必要があると思われる。

参 考 文 献

- 1) 川那部浩哉, 水野信彦. 日本の淡水魚. 第2版. 東京: 山と溪谷社; 1995.
- 2) 吉田幸雄, 有菌直樹. 図説人体寄生虫学. 第7版. 東京: 南山堂; 2006. p152-155.
- 3) 加茂 甫. 裂頭条虫の同定のためのハンドブック. 東京: 現代企画; 1999.
- 4) Wicht B, de Marval F, Gottstein B, Peduzzi R. Imported diphyllobothriasis in Switzerland: molecular evidence of *Diphyllobothrium dendriticum* (Nitsch, 1824). *Parasitol Res* 2008; 102: 201-204.
- 5) Wicht B, Scholz T, Peduzzi R, Kuchta R. First record of human infection with the tapeworm *Diphyllobothrium nihonkaiense* in North America. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 78: 235-238.
- 6) Yera H, Nicoulaud J, Dupouy-Camet J. Use of nuclear and mitochondrial DNA PCR and sequencing for molecular identification of *Diphyllobothrium* isolates potentially infective for humans. *Parasite* 2008; 15: 402-407.
- 7) Arizono N, Shedko M, Yamada M, Uchikawa R, Tegoshi T, Takeda K, et al. Mitochondrial DNA divergence in populations of the tapeworm *Diphyllobothrium nihonkaiense* and its phylogenetic relationship with *Diphyllobothrium klebanovskii*. *Parasitol Int* 2009; 58: 22-28.
- 8) 八木欣平, 三好正浩. ミトコンドリア遺伝子解析によるヒト寄生性裂頭条虫の種同定法の検討. 北海道衛生研究所報告 2005; 55: 81-84.
- 9) Schmidt GD. Handbook of tapeworm identification. Florida: CRC Press; 1986. p88.
- 10) Olson PD, Littlewood DTJ, Griffiths D, Kennedy CR, Arme C. Evidence for the co-existence of separate strains or species of *Ligula* in Lough Neagh, northern Ireland. *J Helminthol* 2002; 76: 171-174.
- 11) Yera H, Estran C, Delaunay P, Gari-Toussaint M, Dupouy-Camet J, Marty P. Putative *Diphyllobothrium nihonkaiense* acquired from a pacific salmon (*Oncorhynchus keta*) eaten in France; genomic identification and case report. *Parasitol Int* 2006; 55: 45-49.
- 12) 堀田猛雄, 千葉賢保, 長谷川英男, 関川弘雄, 大鶴正満. 北日本における裂頭条虫類の研究(1) 数種魚類に寄生するプレロセルコイドとその成虫. *寄生虫誌* 1978; 27: 357-368.
- 13) 矢崎誠一, 福本宗嗣, 加茂 甫, 山根洋右, 阿部顕治, 宮本健司. チカ由来裂頭条虫 (*Diphyllobothrium* sp. ind.) と *Diphyllobothrium ditremum* (Creplin, 1825) の形態学的, 生物学的差異について. *寄生虫誌* 1986; 35: 534-541.
- 14) Fukumoto S, Yazaki S, Nagai D, Takeuchi M, Kamo H, Yamane Y. Comparative studies on soluble protein profiles and isoenzyme patterns in 3 related species of the genus *Diphyllobothrium*. *Jpn J Parasitol* 1987; 36: 222-230.
- 15) Yazaki S, Fukumoto S, Abe K. A new species of the genus *Diphyllobothrium* originated from plerocercoids in Japanese surf smelt (*Hypomesus pretiosus japonicus*) and olive rainbow smelt (*Osmerus eperlanus mordax*). *Jpn J Parasitol* 1988; 37: 422-428.
- 16) Murata Y, Kawakami Y, Kimura H, Uchida A. Prevalence of *Diphyllobothrium hottai* plerocercoids in three osmerid fishes in Japan and morphologic features of the cestoda (*Diphyllobothriidae*, *Cestoda*). *Jpn J Parasitol* 1995; 44: 87-94.
- 17) Matsuura T, Bylund G, Sugane K. Comparison of restriction-fragment-length-polymorphisms of ribosomal DNA between *Diphyllobothrium nihonkaiense* and *D. latum*. *J Helminthol* 1992; 66: 261-266.
- 18) Scholz T, Garcia HH, Kuchta R, Wicht B. Update on the human broad tapeworm (genus *Diphyllobothrium*), including clinical relevance. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22: 146-160.

(2009年3月16日受付・2009年3月26日受理)