

魚類寄生微胞子虫類はヒトに対して病害性がない

横山 博¹・白樫 正^{2,*}・山本充孝³・浅井七望²

Fish-infecting microsporidians are not pathogenic to humans

Hiroshi YOKOYAMA¹, Sho SHIRAKASHI^{2,*}, Michitaka YAMAMOTO³
and Nanami ASAI²

Recently, serious problems associated with the food-poisoning of a myxosporean parasite *Kudoa septempunctata* infecting olive flounder *Paralichthys olivaceus* have made suspicious on a probable pathogenicity of fish-infecting microsporidians as well. The present study aims to reveal whether the two microsporidians, an unidentified microsporidian from rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and *Microsporidium seriolae* from cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata*, could give a health damage on humans. Both poisonous taste tests with trout and yellowtail flesh infected with the microsporidians exhibited no onset of food-poisoning except one person showing some diarrhea 1-2 days after the consumption of the trout microsporidian. However, judging by an upset stomach of the person prior to the test, the onset seems to be caused not by the parasites but by his original health condition. These results strongly suggested that the fish-infecting microsporidians did not affect the human health.

Key words: Microsporidia; Food poisoning; Food hygiene; Human experimentation

¹ 岡山理科大学獣医学部 (Okayama University of Science, Faculty of Veterinary Medicine, Okayama University of Science, Imabari, Ehime 794-8555, Japan)

² 近畿大学水産研究所白浜実験場 (Shirahama Station, Aquaculture Research Institute, Kindai University, Shirahama, Wakayama, 649-2211, Japan)

³ 滋賀県水産試験場 (Shiga Prefectural Fisheries Experiment Station, Hikone, Shiga, 522-0057, Japan)

近年、ヒラメ *Paralichthys olivaceus* の筋肉に寄生する粘液胞子虫ナナホシクドア *Kudoa septempunctata* によるヒトの食中毒が問題となり、養殖産業に深刻な被害を与えたのは周知の通りである（小西 2011；横山 2016）。しかし、当初は被害件数が年間 30～40 件発生していたものの、最近では 10 件程度にまで減少しており、やや落ち着いてきたようにも見える。ただし、その間に各方面の研究機関による徹底的な調査・研究があったことは明白であり、種苗生産場から養殖場までの生産過程、輸入魚の導入に係る検疫過程、流通から販売・飲食までの消費過程、それぞれの段階で開発された防除対策が実を結んだ結果ともいえる（横山 2012）。

一方、ここ数年、同じ「胞子虫」と名付けられた微胞子虫症が養殖魚に増加しており、関係者の不安を煽っている。とくにブリ類のべこ病は、微胞子虫の 1 種ブリキンニクビハウシチュウ *Microsporidium seriolae* の筋肉寄生によるもので、以前は成長に伴って自然治癒するとされていたが、現在では出荷後の成魚にも残存していることがあり、市場関係者や消費者にも目に付く存在となっている（横山 2017）。そこで、この微胞子虫もクドア属粘液胞子虫と同様、万が一、ヒトの口に入ってしまったら健康被害を及ぼす危険性はないのかと心配する関係者も多く、そのような研究が強く要望されている。しかし、何ら科学的根拠もなしに、いたずらに風評被害を煽り、養殖ブリの商品価値を低下させることには問題がある。

そこで本研究では、2 種類の魚類寄生微胞子虫（マス類の筋肉に寄生する未記載の微胞子虫と養殖ブリのブリキンニクビハウシチュウ）を用いて試食試験を実施し、実際にヒトに対して健康被害がないかどうか検討した。

材料および方法

試験 1-1（ニジマスの筋肉寄生微胞子虫）

材料の調整

2019 年 7 月 11～12 日、某県内で飼育しているニジマスのうち、微胞子虫の病巣が体側筋肉に認められた 10 尾（1 歳魚、平均体重 447.0 g、平均体長 29.2 cm）を三枚卸しにし、刺身状にしたものを試食用の材料とした（Fig. 1）。各供試魚の体側筋の異なる部位 3～5 箇所から採取した肉片を孢子密度の測定用に冷凍保存した。

胞子数の測定

冷凍保存しておいた肉片を解凍し、ビニール袋内で潰して十分に混ぜ、ミンチ状にした。これを0.5 g ずつ採取して、リン酸緩衝液 (PBS) を 50 μ l 加えホモジナイズした (ペレットペッスル電動モーター, Fisher Scientific 社)。このホモジネートを PBS で洗いながら目合 600 μ m 程度の金属メッシュで濾した後、100 μ m (BD Falcon 352360) および 40 μ m 孔のセルストレーナー (BD Falcon 352340) でさらに濾して夾雑物を除去し、40 ml の胞子懸濁液を調整した。これを 302 \times g, 10 分間さらに 1207 \times g, 10 分間で遠心分離 (HITACHI himac CT 6D) し、上清を捨て 0.5 ml の濃縮胞子懸濁液とした。この懸濁液を 100 倍希釈したのち、トーマ血球算定盤 (Hirschmann, Germany) により胞子数を測定した。

被験者 (A グループ)

21 名の被験者に、性別、年齢、通院・治療中の疾患の有無、アレルギーの有無、クドア等の粘液胞子虫が原因と思われる食中毒の経験の有無を調査シートに記入したのち、感染ニジマスの刺身を平均 63.9 g (最少 60 g~最多 65 g) 喫食してもらった。その後、当日、翌日、2 日後、3 日後まで毎日、経過を観察し、嘔吐や下痢の有無を (もしあれば、発症時刻と回数も) 記録するとともに、その他の症状 (腹痛、発熱、頭痛、倦怠感等) も申告してもらった。なお、喫食 3 日後までの経過観察期間中は通常の飲食を行い、暴飲暴食は控えさせた。

また、試食試験の実施に当たっては、事前に「本試験により、食中毒症状が引き起こされる可能性があることを告知されており、その結果に対して不服申し立てを行わないことを誓約いたします」という誓約書に署名いただいた。

試験 1-2 (ニジマスの筋肉寄生微胞子虫)

材料の調整

2019 年 7 月 13 日、上記の試験 1-1 と同じ場所で飼育していた 3 尾のニジマス (1 歳魚、平均体重 463.8 g、平均体長 28.8 cm) を冷蔵で輸送してもらい、すぐ三枚卸しにして、刺身状にした肉片を試食用の材料とした。それらのうち一部の肉片を胞子密度の測定用に冷凍保存した。

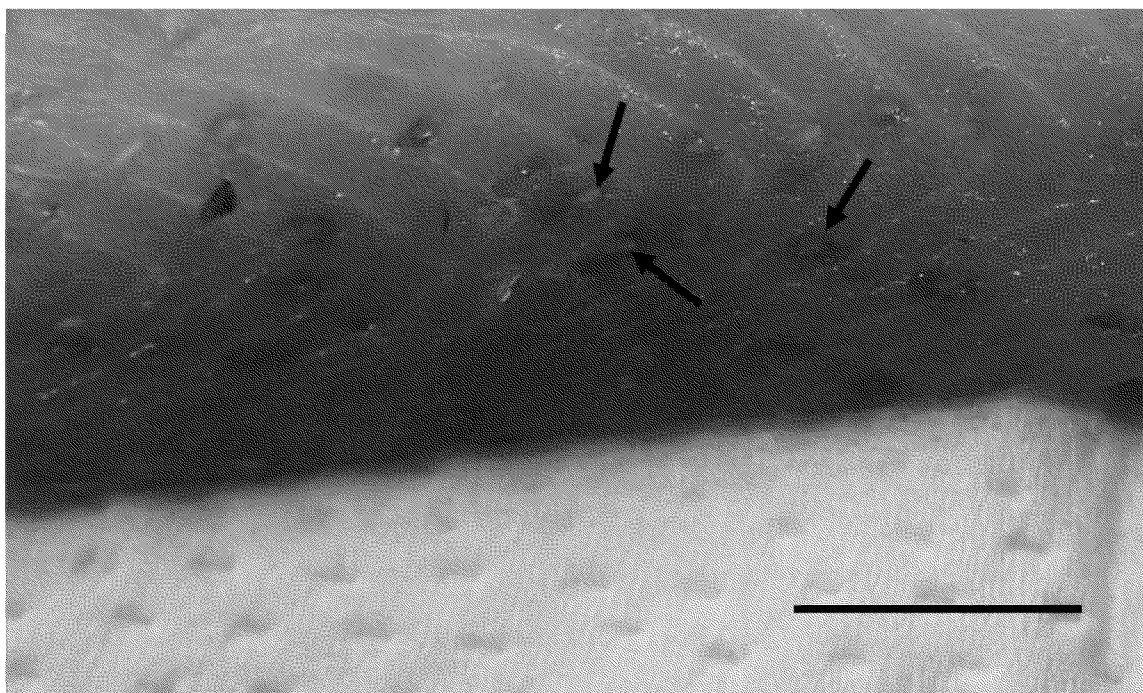


Fig. 1. A fillet of rainbow trout infected with an unidentified microsporidian. Arrows show some lesions of the parasite. Scale bar 1 cm.

被験者 (B グループ)

4名の被験者に感染ニジマスの肉片を平均 95 g (最少 80 g~最多 100 g) 喫食してもらい、当日、翌日、2日後、3日後まで毎日、経過を観察した。それ以外の問診項目等は、試験 1-1 と同様である。

孢子数の測定

試験 1-1 と同様に実施した。

試験 2 (養殖ブリのブリキンニクビハウシチュウ)

材料の調整

2019年7月30日、某県内で養殖していたブリ *Seriola quinqueradiata* のうち、外観的にべこ症状を呈していた8尾(0歳魚、平均体重 57.5 g、平均体長 16.6 cm、平均尾叉長 16.9 cm) を冷蔵で輸送し、すぐに三枚卸しにして寄生強度(シスト数)を半定量的に(1+~3+)記録した(Fig. 2)。これらのフィレは肉眼的にも異様であり、食欲を誘うものではなかったため、包丁で裁断してミンチ状にしたものを均一になる

魚類寄生微孢子虫類はヒトに対して病害性がない

よう混合し、試食用の材料とした。それらの一部を孢子密度の測定用に冷凍保存した。

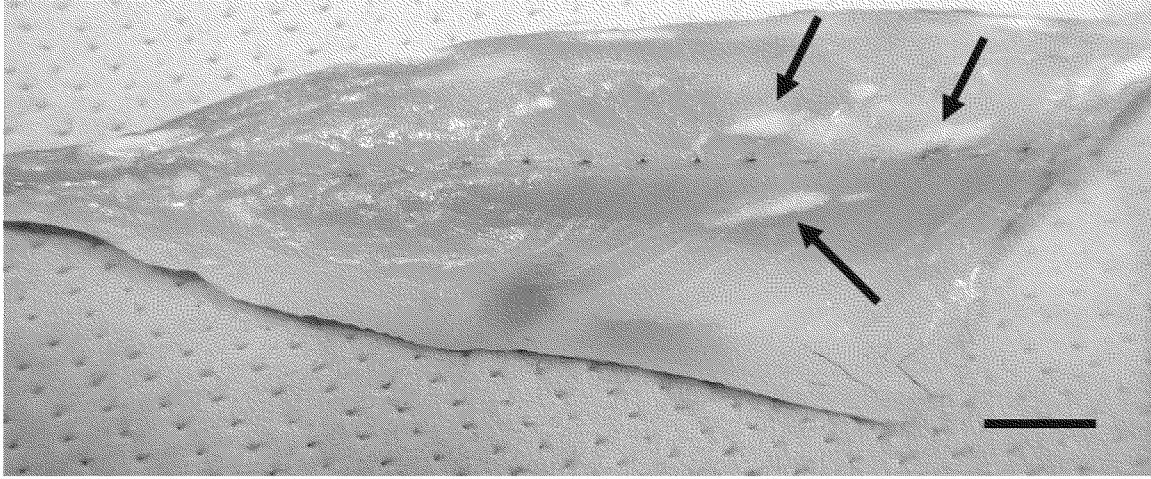


Fig. 2. A fillet of yellowtail infected with *Microsporidium seriolae*. Arrows show some cysts of the parasite. Scale bar 1 cm.

被験者 (B グループ)

4名の被験者に感染ブリのミンチを平均 34.6 g (最少 33.2 g～最多 36.7 g) 喫食してもらい、当日、翌日、2日後、3日後まで毎日、経過を観察した。それ以外の問診項目等は、試験 1-1、1-2 と同様である。

孢子数の測定

試験 1-1 と同様に実施した。

結 果

試験 1-1

被験者 (A グループ) の構成を Table 1 に示した。男女比は 18 : 3、年齢は 40 代が多かったが、20 代から 70 代まで多様であった。通院・治療中の疾患有りは 2 名、アレルギー有りは 4 名であったが、それぞれ喘息と痛風、花粉症やアトピー性皮膚炎であり、食中毒と関係があるようには思われなかった。各被験者の喫食量と孢子密度から推定すると、一人あたりの平均孢子摂取量は $5 \times 10^9 \pm 2.3 \times 10^9$ 個 (範囲 : $2 \times 10^9 \sim 9 \times 10^9$) であると見積もられた。

最終的に、被験者 21 名のうち 20 名は無症状であったが、1 名のみ喫食当日と翌日に下痢 (1~2 回) および腹痛を訴えた。しかし、該当者はもともと腹部の不調を訴えていた者であった。

試験 1-2

被験者 (B グループ) の構成を Table 1 に示した。男女比は 2:2、年齢は平均 43.5 歳であったが、24 歳から 52 歳と幅があった。通院・治療中の疾患有りは 1 名 (皮膚炎)、アレルギー有り (そば、マンゴー、花粉症) は 4 名であったが、いずれも食中毒とは無関係と思われた。各被験者の喫食量と孢子密度から推定すると、平均孢子摂取量は $1.3 \times 10^{10} \pm 5.2 \times 10^9$ 個 (範囲: $6.5 \times 10^9 \sim 2.0 \times 10^{10}$) であると見積もられた。最終的に、被験者 4 名のうち 4 名とも無症状であり、「いたって元気」と回答された方もいた。

試験 2

被験者の構成を Table 1 に示した。男女比は 2:2、年齢は平均 46.5 歳であったが、24 歳から 64 歳と幅が大きかった。通院・治療中の疾患有りは 2 名 (皮膚炎、高血圧)、アレルギー有り (そば、マンゴー、花粉症) は 3 名であったが、いずれも食中毒とは無関係と思われた。各被験者の喫食量と孢子密度から推定すると、平均孢子摂取量は $3.6 \times 10^9 \pm 1.4 \times 10^8$ 個 (範囲: $3.5 \times 10^9 \sim 3.9 \times 10^9$) であると見積もられた。最終的に、被験者 4 名のうち 4 名とも無症状であった。

Table 1. Research participants for the poisonous taste tests 1-1 and 1-2 (unidentified microsporidian from rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*) and 2 (*Microsporidium seriolae* from cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata*)

	Ratio		
	Test 1-1 (Unidentified microsporidian from rainbow trout)	Test 1-2	Test 2 (<i>Microsporidium seriolae</i> from yellowtail)
Number of participants	21	4	4
Sex Male	18/21*	2/4	2/4
Female	3/21	2/4	2/4
Age group			
20 - 29	2/21	1/4	1/4
30 - 39	4/21	0/4	0/4
40 - 49	8/21	1/4	1/4
50 - 59	4/21	2/4	1/4
60 - 69	2/21	0/4	1/4
>70	1/21	0/4	0/4
Average	40.7	43.5	46.5
Range	26 - 71	24 - 52	24 - 64
Under medical treatment	2/21	1/4	2/4
Allergic	4/21	4/4	3/4
Mean dose of spores	5.0×10^9	1.3×10^{10}	3.6×10^9
Onset/participants	1/21	0/4	0/4

*Number of persons concerned / number of participants

考 察

本研究の結果から、魚類寄生微胞子虫類がヒトに食中毒を起こす原因になるとは断定できなかった。ただし、試験 1-1 において食中毒様症状を呈した被験者が 1 名存在したことは考慮すべきである。この方が摂取した胞子数は、全員の平均値と同じ 5.0×10^9 個であり、決して多くはないこと、日頃から下痢や腹痛を起こしがちであること（私信）から推測して、元々、お腹の調子が悪かったために発症したと考えられる。すなわち、この 1 例をもって「微胞子虫はヒトに病害性がある」とまでは言い切れない。同様に喫食した他の 20 名は無症状であったことから、あくまで例外として排除すべきであろう。

微胞子虫類がヒトに寄生した、もしくは健康被害を与えたという事例は、過去にまったくなかったわけでもない。*Encephalitozoon* spp.などの微胞子虫が、乳児や、臓器移植もしくは AIDS（後天性免疫不全症候群）などで免疫力が低下した状態で感染すると、重篤な症状を引き起こしたという報告もある（Velasquez et al. 2012）。しかし、少なくとも健常者に食中毒を含む健康被害を与えたという事例は知られていない。また、もともと魚類を宿主とする微胞子虫がヒトに感染する可能性は極めて低いし、少なくとも前例はない。試験 1-1 で食中毒様症状を呈した被験者は、もちろんこれらに該当しないので、排除してよい。

近年、市場関係者や消費者から見た目が悪いとして苦情が寄せられているブリキンクビホウシチュウについては、被験者数が少な過ぎる（ $n=4$ ）という指摘を受けるかもしれない。しかし、摂取した胞子数最大約 3.9×10^9 個は、ナナホシクドアによる食中毒の閾値である 10^7 個よりも遥かに多い。もちろん、微胞子虫を粘液胞子虫と同等には評価できないが、通常では本試験で用いたような肉眼的にシストが認識できる刺身を食することはなく、そのような肉ミンチを敢えて食して無症状であったのだから、本寄生虫は病害性がないと強く示唆するには十分な量であろう。

ヒラメのクドア食中毒については、もともと生食用生鮮魚介類の摂取により食中毒様症状を起こすものの、既知の食中毒病因物質が検出されない「病因物質不明有症事例」が増加していたという背景があり、各方面の研究機関が集中的に研究を進めた結果として、クドアに行き着いたという経緯がある。一方、魚類寄生微胞子虫の場合、同様のケース（たとえばブリの病魚を食して下痢になったという事例）はまったく知

魚類寄生微胞子虫類はヒトに対して病害性がない

られておらず、これに該当しない。そもそも粘液胞子虫と微胞子虫は、現在、系統発生的にまったく離れた生物群（前者は刺胞動物、後者は真菌類）であるという説が世界的にも合意が得られているので、同じ「胞子虫」と名付けられていても、病原性まで似ていると発想すること自体、非科学的である。

以前より、水産業界は新聞やテレビなどマスコミ報道により悪影響を受けやすいと言われてきた。古くは養殖ブリの骨曲がり（実際には粘液胞子虫性側湾症）が薬害ではないかと疑われたことに始まって、アコヤガイの赤変病（最近、スピロヘータ感染症であることが明らかにされた）が近隣のトラフグ養殖場で駆虫剤として用いられていたホルマリンによるとする説など、枚挙に暇がない。またここに来て、養殖ブリ類に寄生するべこ病原微胞子虫がヒトの健康被害の原因となるなど、誤った風評被害をもたらして水産業界を混乱させる原因にしてはならないと考える。

謝 辞

本研究は被験者の自己犠牲精神によりデータが取れたものです。ここに記し、彼らの献身的なご協力に感謝申し上げます。また、べこ病を呈した養殖ブリをご提供いただいた某県の養殖業者にも御礼申し上げます。

文 献

- 小西良子（2011）病因物質不明有症事例－提言までの道のり－。食品衛生研究，**61**，7-12.
- Velasquez, J.N., A.V. Chertcoff, C. Etchart, C. di Risio, F.C. Sodre, M.A. Cucher and S. Carnevale (2012) First case report of infection caused by *Encephalitozoon intestinalis* in a domestic cat and a patient with AIDS. *Vet. Parasitol.*, **190**, 583-586.
- 横山 博（2012）粘液胞子虫と養殖現場における対策。日本食品微生物学会雑誌，**29**，68-73. [Yokoyama, H. (2012) Control of myxosporean diseases at fish farms. *Jpn. J. Food Microbiol.*, **29**, 68-73 (in Japanese).]
- 横山 博（2016）クドア症。魚病研究，**51**，163-168. [Yokoyama, H. (2016) Kudoosis of marine fish in Japan. *Fish Pathol.*, **51**, 163-168 (in Japanese with English abstract).]
- 横山 博（2017）べこ病。魚病研究，**52**，181-185. [Yokoyama, H. (2017) Beko disease of cultured fish in Japan. *Fish Pathol.*, **52**, 181-185 (in Japanese with English abstract).]