

タイの食文化と寄生虫症に関する総合的研究

Food-borne parasitic zoonoses in Thailand: the influence of cultural practices of cooking

研究代表者 国立感染症研究所寄生動物部 室長 川中正憲
Masanori KAWANAKA Chief, Department of Parasitology, National Institute of Infectious Diseases

共同研究者 国立感染症研究所寄生動物部 主任研究官 杉山 広
Hiromu SUGIYAMA Senior Researcher, Department of Parasitology, National Institute of Infectious Diseases

共同研究者 国立感染症研究所寄生動物部 研究員 森嶋康之
Yasuyuki MORISHIMA Researcher, Department of Parasitology, National Institute of Infectious Diseases

共同研究者 スリナカリンウイロート大学理学部 助教授 パンシン・ケツダット
Punsin KETUDAT Associate Professor, Faculty of Science, Srinakharinwirot University

共同研究者 スリナカリンウイロート大学理学部 講師 アチャリア・ラングシルジ
Achariya Rangsiruji Instructor, Faculty of Science, Srinakharinwirot University

和文アブストラクト

タイの人々は米を主食とする一方で、多様な食材に独特の調味料・香辛料を加えて副食とする食文化を育んできた。タイ料理の多様な食材の中には淡水産のカニや魚が含まれる。しかし、これら魚介類の中には、時に顎口虫、肝吸虫、肺吸虫などの幼虫が潜んでいて、非加熱・不完全加熱で作られた料理を介してヒトに感染することが知られている。多様なタイの食材の中で、今回はカニと肺吸虫症との関連について主に調べた。まず、タイの人々のカニ料理の摂食状況を知るために、アンケート調査を行った。その結果、非加熱・不完全加熱のカニ料理がタイ全国で広く摂食されていることが分かった。次に各地の淡水・汽水産のカニを、野外での採集あるいはマーケットで購入して集め、肺吸虫幼虫（メタセルカリア）の寄生状況を調べた。その結果、溪流に生息する淡水産のカニに人体寄生性であるヒロクチ肺吸虫の幼虫が寄生していることが明らかとなった。また、タイでは人体寄生の報告がないウエステルマン肺吸虫やその他の肺吸虫について、それらの分布を明らかにした。カニに寄生している幼虫のレベルでは、人体寄生性であるヒロクチ肺吸虫とそれ以外の肺吸虫とを正確に区別することが容易ではない。そこで、そのための分子生物学的手法を確立した。

Abstract

In addition to rice as the staple food, the Thai people have developed their own food culture that uses fresh foodstuffs with seasonings and spices to create the unique Thai taste. Variety of foodstuffs used in the cuisine includes freshwater fish and crabs. It is known that larvae of parasites like *Gnathostoma*, *Opisthorchis* (liver flukes) and *Paragonimus* (lung flukes) occasionally occur a certain kind of fish

and crabs, and affect humans through raw or insufficiently cooked dishes.

In this study, we intended to examine into details the relation between the way of ingestion of crabs and the occurrence of human paragonimiasis. To know the foodways among the people, we have conducted questionnaire investigation. The result showed that uncooked or insufficiently heated crab dishes are eaten throughout the country, and that this particular food habit may be a cause of paragonimiasis.

We then examined freshwater crabs both purchased at local markets and collected from the fields in various parts of the country. As a result, the freshwater crabs collected in the mountain streams were proved to be positive for the metacercariae (larval stage) of *P. heterotremus* that is known to be the only human species in Thailand. We also detected *P. westermani* strain Thailand and other *Paragonimus* species from the freshwater crabs, which are considered to be non-human species.

The metacercariae of *Paragonimus* species are closely resemble each other in size and shape. So, it is difficult to discriminate *P. heterotremus* from other species at the larval stage. To discriminate the species accurately and rapidly, we have newly established a molecular biologic method utilizing the nucleotide differences in the second internal transcribed spacer (ITS2) region of nuclear ribosomal DNA.

1. 研究目的

タイの人々は米を主食とする一方で、多様な食材に独特の調味料・香辛料を加えて副食とする食文化を育んできた。今では我々日本人もこのようなタイ料理を大いに楽しんでおり、また健康の増進にも役立っている。

タイ料理の多様な食材の中に、淡水産のカニや魚が含まれる。これら魚介類には時に肺吸虫や肝吸虫などの幼虫が潜んでいて、非加熱・不完全加熱で作られた料理を介してヒトにも感染することが知られてきた。寄生虫は一般に熱に弱いので、食材を十分に加熱すればその感染を防ぐことができる。しかし加熱により低下・消失する栄養素がある。また調理法の変更は伝統的食文化を衰退させることにもなる。したがって、「加熱」と云う方法だけで寄生虫症を予防・克服しようとするのは得策ではない。そこで文化的な背景をも理解した対策の推進を最終的な目的として、以下の研究を展開した。

2. 研究経過

従来から交流のあるタイの研究者（スリナカリンウイロート大・パンシン助教授）に共同研究を申し出て、彼女の研究室の全面的支援を受けた。肺吸虫の中間宿主カニを対象とした疫学調査を、2年間の助成期間中にタイ中部・南部で8回実施した。

2.1. カニの摂食状況等に関するアンケート調査

人体寄生性肺吸虫であるヒロクチ肺吸虫は、タイ中部・北部・東部の特定の地域に限局して分布している。この現象がタイの人々の食文化・食習慣とどのように関連しているのかを明らかにするため、タイの人々の食事におけるカニの摂食状況等について、全国的なアンケート調査を実施し、得られた成績を詳細に解析した。

2.2. カニからの肺吸虫幼虫（メタセルカリア）の検出

3 種類のカニ (*Larnaudia larnaudii*, *Ranguna smalley*, *Phricotelphusa aedes*) を河川 (溪流) で採集した。また、これとは別のカニ (*Sayamia germaini*) を水田で採集した。これらのカニについて、肺吸虫幼虫の寄生状況を調べた。一方マーケットでは、水田のカニに加えて汽水産のカニ (ベンケイガニの仲間) や海産のカニ (ワタリガニの仲間) が大量に販売されていた。これらについても一部を購入して、肺吸虫幼虫の有無を検索した。

2.3. 虫種同定に関する分子生物学的検討

タイには 6 種類の肺吸虫が分布するが、ヒトへの感染が証明されているのはヒロクチ肺吸虫 *Paragonimus heterotremus* だけである。カニに寄生する幼虫を食べてヒトは感染するが、幼虫は解剖学的な特徴に乏しく、形態での虫種同定が困難な場合もある。そこでカニから得た幼虫の一部をネコに感染させ、成虫にして形態に基づく正確な虫種の同定を試みた。残りは幼虫による種同定の検索材料とし、DNA の抽出、リボソーム DNA・ITS2 領域を標的とするプライマーでの PCR 増幅、PCR 産物の塩基配列の解読と云う一連の検討を進めた。また塩基配列の解読に代替する簡便・迅速な虫種鑑別法について、分子生物学的な手技を適用して検討した。

2.4 淡水魚からの顎口虫・肝吸虫の検出

マーケットで淡水魚を購入し、タイで致死症例が報告されている顎口虫の寄生状況を調べた。また最近に至っても未だ患者数の多いタイ肝吸虫についても検索した。

3. 研究成果

3.1. カニの食習慣と肺吸虫症

カニの摂食状況等に関するアンケート調査を実施したところ、タイ 76 県のうち 30 県に居住する 924 名から有効な回答が得られた。このうち肺吸虫が分布するのは 5 県で、回答者のうち 148 名がそこに居住していた。回答を解析したところ、肺吸虫症の原因となり得るようなカニの非加熱・不完全加熱料理には、「ソムタム・プー(塩漬け・醤油漬けカニが入ったパパイアのサラダ)」等があることが分かった。しかもこれらの料理は、タイ国内における地域や肺吸虫の分布の有無にかかわらず、全国的に広く摂食されていると云う結論を得た。すなわち肺吸虫症の常在地に特有の食文化・食習慣があるのではなく、ヒロクチ肺吸虫の分布が限局するため、限られた地域でのみ患者が発生していると推察された。つまり、タイの人々が国内の肺吸虫分布地に行けば、そこでカニの非加熱・不完全加熱の料理を食べるので、容易に肺吸虫に感染し得ると云うことになる。さらにタイ国外でも、従来どおりの食習慣を継続すれば、肺吸虫に感染する危険性があることも示唆される。実際我々は、来日後もタイでの食習慣を継続して、日本産肺吸虫に感染したタイ人の症例を経験している (杉山ら、*Clinical Parasitology*: 14, 57-60, 2003)。今回の調査からも啓発活動の必要性を強く感じた。

3.2. カニにおける肺吸虫の寄生状況

河川 (溪流) で採集した 3 種類のカニのうち、ヒロクチ肺吸虫と思われる幼虫が検出されたのは、タイ中部で採集したカニ (*Larnaudia larnaudii*) だけであった。このカニおよびタイ南部で採集した残り 2 種類の河川のカニからは、ウェステルマン肺吸虫と思われる幼虫とハリナスタ肺吸虫と思われる

る幼虫（何れも動物寄生性肺吸虫の幼虫）とが検出された。

水田で採集したカニからは、タイ肺吸虫と思われる幼虫（動物寄生性肺吸虫の幼虫）を見出した。マーケットで購入した水田のカニからも、同じくタイ肺吸虫と思われる幼虫が検出された。しかしながら汽水産のカニからは、肺吸虫幼虫は検出できなかった。

3.3. 幼虫での新たな種同定法の確立

4種類の肺吸虫幼虫に由来する ITS2 領域の配列についてホモロジー検索したところ、何れも形態に基づいて推定した各々の種類の肺吸虫の配列と完全に一致した。カニからの検出過程で脱囊してしまった幼虫は、形態での種判定が極めて困難であったが、配列解読で虫種を推定できた。

ITS-2 領域の塩基配列の違いに基づいて、その種類の肺吸虫の配列だけを切断する制限酵素を選択し（ウェステルマン肺吸虫では *Bss*HII、ハリナスタ肺吸虫では *Stu*I、ヒロクチ肺吸虫では *Apa*LI、タイ肺吸虫では *Hinc*II）それで PCR 産物を処理した。その結果、種に特異的な制限酵素を用いた場合にのみ、対応種の PCR 産物が予想サイズの断片に切断されることが確認できた。

ヒロクチ肺吸虫の ITS2 配列を基にして種特異的なプライマーを設計し、このプライマーと各肺吸虫の DNA をそれぞれ用いて、PCR を行った。その結果、ヒロクチ肺吸虫 DNA のみで予想サイズの PCR 産物が得られた。このように、制限酵素による PCR 産物の切断（いわゆる RFLP）および種特異的プライマーによる PCR 増幅は、塩基配列の解読に代替する簡便・迅速な虫種鑑別法として、肺吸虫の疫学的調査や肺吸虫症の予

防対策立案に有効なツールとなると考えられた。

3.4. 淡水魚での顎口虫・肝吸虫の寄生状況

マーケットで購入した田ウナギから顎口虫の幼虫が検出された。タイ肝吸虫を検出することはできなかったが、肺吸虫以外にも注意すべき寄生虫が、マーケットの魚介類に寄生していることを証明することができた。

4. 今後の課題と発展

今回の研究により、特に溪流に生息するカニが、肺吸虫症の原因として重要であることを改めて確認した。したがって少なくともこのカニを食材とはせず、また食材とするならば十分に加熱することが、肺吸虫症を予防するために重要である。この知見をタイの人々に周知し、健康被害の予防に役立て貰うことが今後の重要な課題となる。具体的には、小学校での衛生教育や調理の現場での啓発活動に本研究の成果を盛り込むことが考えられる。共同研究者により、このような作業が企画されている。

5. 発表論文リスト

Sugiyama, H., Morishima, Y., Rangsiruji, A., Ketudat, P., Kameoka, Y. and Kawanaka, M.: Discrimination of *Paragonimus heterotremus* at the metacercarial stage from other *Paragonimus* species occurring in Thailand by PCR-based molecular methods. *Molecular and Cellular Probes*. (manuscript in preparation)