

## 6. 寄生動物部

### 部長 遠藤卓郎

#### 概要

本年度の人事異動では7月1日付けで大前比呂思が第三室の室長として筑波大学から就任した。これにより、寄生動物部の定数10名が満たされ、臨時職員ならびに多数の客員研究員、協力研究員の協力を得て研究業務に当たっている。

当該部においては、ミクロスポリジア、クリプトスポリジウム、ジアルジア、ネグレリアなどの病原性アメーバ、マラリア、赤痢アメーバ、エキノコックス、肺吸虫、住血吸虫、アライグマ回虫、アニサキス、広東住血線虫などに関する疫学調査、分子疫学的解析、検査・診断、予測、予防等々に関する広範な研究が行われている。

第一室においては、欧米諸国で免疫不全患者を中心として罹患者が多いミクロスポリジアに関する疫学ならびに抗原分析を含めた検査・診断法の開発など基盤整備が行われている。クリプトスポリジウム等の腸管寄生性原虫類に関する研究は主として水道を含む水系感染防止の観点から進められている。また、病原性を有する自由生活性アメーバに関しては脳炎の起因アメーバ3種の鑑別・同定方法 (it hybridization) の開発と、細菌第一部との協力のもとでレジオネラ汚染防止に向けた環境水中での宿主アメーバの汚染制御に取り組んでいる。

第二室においては動物由来寄生蠕虫および食品由来の寄生蠕虫対策を中心課題としており、前者ではエキノコックスの汚染拡大防止およびアライグマ回虫幼虫移行症の発生予防と監視に向けた調査研究が行われている。その中で、埼玉県北部で捕獲されたイヌから初の多包条虫感染例を確認した。併せて、エキノコックス症診断法の改良・開発が進められている。また、神奈川県における野生アライグマの増加と分布域拡大に鑑み、幼虫移行症として最も危険視されているアライグマ回虫の汚染調査を継続している。一方、食品由来寄生蠕虫対策の一環として佐賀県で発生したモクズガニの喫食に伴う肺吸虫集団

感染の原因解析に当たった。また、沖縄における広東住血線虫感染に関して、血清抗体調査群へのアンケート調査を行い生野菜の摂食による感染の危険因子を明らかにした。加えて、本年度は輸入キムチの回虫卵汚染や養殖カンパチのアニサキス汚染等に関連した行政対応に当たった年でもあった。

第三室においてはマラリアや住血吸虫といったベクター媒介性の外来性寄生虫の対策を中心課題としており、地球温暖化が危惧される中でわが国へのマラリアの侵入防止に向けた取り組みを開始した。当面、浸淫地域であるアジア諸国との情報交換に向けたネットワークの整備、隣国からの三日熱マラリア進入防止に向けて侵入と国内流行の数理モデルの開発などに着手した。また、熱帯熱マラリアのクロロキン耐性遺伝子 (pfprt K76T) に関する retrospective 研究を開始し、併せて薬剤耐性試験方法の改良・開発を行っている。また、浸淫地におけるマラリア疫学情報の収集と対策への協力を継続している。赤痢アメーバは5類感染症の中で常に増加傾向を示している疾患で、その病原性の解析とともに感染の拡大防止に向けた対策が必要な時期に入っている。

本年度も各室において国際協力への積極的な取り組みがなされ、フィリピン、タイ、中国、ソロモン諸島国、その他多くの東南アジア諸国との共同研究と人材交流が図られた。

#### 業績

##### 調査・研究

###### 疫学

##### 1. 関東地方におけるイヌのエンセファリトゾーン感染に関する血清疫学的研究：第二報

2003年に関東地方の161頭の飼犬から血清検体を採取しELISAによる抗 *Encephalitozoon cuniculi* IgG 抗体を調べたがOD 1.0以上を示す検体は僅か1例であった(佐々

木ら、2004年)。今回、1995年5月から2005年8月末までに埼玉県下で捕獲された311頭のイヌ血清検体について同様にELISAによる抗*E. cuniculi* IgG抗体を測定した結果、38検体(11.89%)がOD 1.0以上を示した。今回の埼玉県下のイヌにおける血清流行の調査結果は人のコンパニオン動物として非常に興味深い所見であり、今後、他の方法による更なる確認試験を行う必要があると思われる。

[山本徳栄(埼玉県衛生研究所) 近真里奈(同) 山口正則(同) 古屋宏二]

## 2. 腸管寄生性ミクロスポリジア *Encephalitozoon intestinalis* に対する各種殺菌・除菌法の効果試験

ミネラルウォーター類の製造規準である85・30分間加熱する方法と同等以上の効力を有する加熱殺菌以外の方法について原虫を指標菌にして検証することを主な目的に、細胞培養法による孢子感染力価測定法を用いて*E. intestinalis* 孢子に対する各種の殺菌試験及び簡易的フィルターによる除菌試験を行った。TCID<sub>50</sub>の減衰曲線から3種類のD値を算出し比較検討した結果、オゾン殺菌については水中オゾン濃度0.2ppmで加熱殺菌力と同等以上の効果が期待できると思われた。一方、紫外線殺菌については加熱殺菌力に相応する十分な殺菌効果は得られなかった。フィルター除菌は加熱殺菌と同等以上の効果があると思われた。

[朝倉登喜子、古屋宏二]

## 3. 清涼飲料水の原虫に係わる文献的調査研究

清涼飲料水の規格基準に関する試験検査(厚生労働省医薬品食品安全部)の一環として、調査主題及びキーワードを飲料水(drinking water、特に清涼飲料水)と原虫(protozoan parasite)に設定してIMICによる情報収集を行った。最終的に国内文献132件から38件、国外文献500件から131件を抽出し、“水圏汚染の腸管寄生性原虫”、“飲料水汚染候補微生物”、“新興水系病原体”、“原虫類に対するオゾン処理・紫外線処理・加熱処理等の各種殺菌法の不活化効果”について文献的検索・考察を行った。

[朝倉登喜子、古屋宏二]

## 4. ニホンザルの腸管寄生性原虫に関する調査研究

ニホンザル飼育コロニーにおける腸管寄生性原虫の感染状況を調査する目的で、平成16年度にニホンザル38頭から採取した糞便材料を検査に供した。薄層直接塗抹法、ホルマリン・エーテル法、シヨ糖遠心浮遊法を併用し、染色にはコーン法、遺伝子診断にはMultiplex-PCR法を用いて検査を実施した結果、15検体(39.5%)に寄生虫類を検出した。このうち、原虫類は*Entamoeba coli*が9検体(23.7%)に、蠕虫類では鞭虫卵が6検体(15.8%)に検出された。クロモトローブ染色法によるミクロスポリジア検査は全例陰性であった。

[古屋宏二、山本徳栄(埼玉県衛生研究所) 近真里奈(同) 山口正則(同) 松林伸子(京都大学霊長類研究所) 松林清明(同)]

## 5. 循環式浴槽における浴用水の浄化、消毒方法の最適化に関する研究

### (1) 宿主アメーバを介しての感染経路

レジオネラに関するこれまでの動物実験において、10<sup>3</sup> cfu 台の菌数により感染・発症することが示されているが、当該の研究により同程度の菌量がアメーバ内で増殖し得ることを明らかにした。さらに菌感染アメーバを取り込んだ場合の感染の可能性を明らかにするために、感染アメーバを用いた動物感染実験を行った。感染アメーバを経鼻的にマウスに投与し、経時的に剖検を行い、肺組織における菌の増殖を調べた。試験にはレジオネラ感受性のA/Jマウスと抵抗性のC57Bマウスを用いた。結果は、抵抗性のC57Bでは明確な投与後の菌増殖は確認できなかったものの、感受性のあるA/Jでは投与後の肺内における菌増殖が確認された。この結果は、対照試験のBCYE $\alpha$ 増殖菌を用いた場合の結果とほぼ一致しており、感染アメーバ1つの取り込みがマウス感染成立につながることを示すものと判断された。

[八木田健司、下河原理江子、倉 文明(細菌第一部)]

### (2) 宿主アメーバ由来のレジオネラの温水中での生残性

浴槽水等における菌の挙動と感染性との関係を明らかにするために、温水中におけるレジオネラの生存性とアメーバに対する感染性を経時的に調べた。モデルは500ml ボトルに滅菌脱塩素水道水を入れ、感染アメーバ

より分離した菌を添加し、42℃で攪拌して培養保存した。継時的に培養液の一部を回収しレジオネラの活性を評価したところ、培養開始から2ないし3週間まではほとんど生菌数に変化がなく、4週目に至り1 log<sub>10</sub>程度の低下が観察された。これに対して宿主アメーバへの感染性は培養開始後4日以内に当初の1/5から1/10以下にまで速やかに低下した。ところで、レジオネラと宿主アメーバの関係は「培地での増殖能を欠損した（VNC：viable but not culturable）レジオネラは宿主アメーバに感染することでその増殖活性を回復する」と説明されてきたが、今回の結果はこの通説を支持するものではなく、むしろ逆の関係を示す結果となった。現在、引き続き詳細な検討を行っている。

[八木田健司、泉山信司、下河原理江子]

### (3)アメーバの増殖と大腸菌消費量

バイオフィルムにおけるレジオネラ宿主アメーバの存在は栄養（餌）となる細菌類の量に依存するものと推測される。実験的にアメーバの増殖に要する菌量を算定した。無栄養寒天プレートに既知濃度の大腸菌を塗布することで、単位面積あたりの菌量を設定した。この大腸菌塗布培地にアメーバを接種するとアメーバの増殖に伴いプラークが形成される。そのプラークは塗布した菌がアメーバによって消費された部分であることから、一定期間中に増殖したアメーバ数を算出し、さらにその間に拡大したプラークの面積を算出することで、アメーバの増殖量に対する菌消費量を計算した。その結果、アメーバの1回の分裂を支持する餌の菌量は10<sup>4</sup>個台と計算された。これを基に、浴槽等の菌量からアメーバ量、さらにレジオネラ菌量の推定を行う予定である。

[下河原理江子、八木田健司、泉山信司]

## 6. クリプトスポリジウムの水系集団感染に認められる前兆現象

一般に感染事故は病原体の存在と消毒・混入防止の不備が重なり、病原体の暴露につながる。これをクリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物にあてはめると、原水中の病原体の存在、浄水処理の不備、非加熱飲料水の摂取に対応する。水系クリプトスポリジウム集団感染においては専ら浄水処理における問題が強調されてきた

が、処理の不備に先駆けて原水中にオーシストの存在する状況を想定する必要がある。すなわち、事故が顕在化する以前に何らかの前兆があつてしかるべきと考えられる。過去に報告された集団感染について詳細に検証すると、実際に患者数が増大する以前から、原因不明の下痢症患者が継続的に発生しており、一部はクリプトスポリジウム感染が確認されている。そこで集団感染の前兆現象に焦点を当ててその間の飲料水中のオーシスト量を推計したところ、過去の主要な集団感染においてほぼ類似した値（平均飲水量を1 L/日と仮定した場合、およそ0.02個/L相当）に収斂していた。現在、この前兆現象の把握に向けた監視方法の確立を目指している。

[泉山信司]

## 7. クリプトスポリジウムの標的遺伝子と疫学的解像度

クリプトスポリジウムの分子疫学は感染経路やリスク評価を行う1つの手法として重要であり、方法の開発と情報の集積を継続的に行う必要がある。本研究では2004年の集団感染より得た分離株に対して18S rDNA、Poly-Threonine、HSP、COWP、Actin、GAG repeat Microsatellite、CPGP40/15 遺伝子について直接塩基配列決定を行った。各遺伝子は既存の登録配列との間で94～100%の相同性を示した。その中で、CPGP40/15 遺伝子の配列において最も高い変異が得られること、また、繰り返し配列に増減が認められることから、当該遺伝子を対象とすることで分子疫学的な解析能力の向上が図れるものと期待される。

[泉山信司、八木田健司]

## 8. アジアで分離されたクリプトスポリジウム遺伝子型

クリプトスポリジウムは強い塩素耐性を有し水系感染することから工業先進国で問題とされているが、糞口感染であることから食品、接触による感染もあり、熱帯・亜熱帯地域における小児下痢症の重要な病原微生物として認知されている。アジア地域での腸管原虫類の情報共有を目途として研究協力を開始した。欧米ではオーシストの排出源としてウシなどの家畜の重要性が指摘されてきたが、3国の分子疫学の結果からはヒトを固有宿主とする遺伝子型が主に検出される実態が明らかとなった。また、例数は少ないがタイではトリを主な宿主とするC.

*meleagridis* が *C. parvum* 動物型 (genotype )より2倍の頻度で分離されている。また、他にはあまり例を見ない *C. muris* や *C. parvum* pig genotype の人体感染例も確認された。

[S. Jongwutiwes ( Dept. Parasitol., Facul. Med., Chulalongkorn Uni., Thailand ) F. Natividad ( Res. Biotech. Div., St. Luke's Med. Cntr., Philippines ) 泉山信司、八木田健司、古屋宏二]

## 9. 動物由来寄生虫症に関する調査研究

### (1)多包条虫の拡散と流行に関する調査研究

#### ウ. 埼玉県で発見されたイヌの多包条虫感染例

2003年11月の感染症法改正により、包虫症(エキノコックス症)の届出はヒトへの感染源となるイヌの感染例についても義務づけられることになった。これまでの届出状況をみると、イヌでの感染届出は国内唯一の多包条虫常在地である北海道からの報告のみにとどまってきた。しかし、我々が北海道からの移動犬調査で示したように(昨年度年報)流行地での飼育あるいは滞在歴をもつイヌを介した伝播が存在する。多包条虫の非流行地への拡散に果たすイヌの役割が重要と認識される中、2005年6月、埼玉県北部で捕獲されたイヌ1頭(メス、年齢不明)の糞便からテニア科条虫の虫卵が検出された。テニア科条虫卵は形態学的に種の鑑別が困難なため、埼玉衛研の依頼を受けて虫卵からDNAを抽出して12S rRNA領域の塩基配列を解読したところ、多包条虫(北海道産)と配列が完全に一致した。本例は、感染症法改正後、北海道以外の都府県から届け出られた初めてのイヌの多包条虫感染例となった。

[森嶋康之、杉山 広、川中正憲、山本徳栄(埼玉県衛生研究所) 近真理奈(同) 山口正則(同)]

### (2)アライグマ回虫による幼虫移行症の発生予防と監視

#### ウ. 平成17年度・野生アライグマの糞便内虫卵検査

アライグマ回虫幼虫移行症の発生予防と監視の為に、野生アライグマ捕獲個体の糞便内虫卵検査を実施した。検査にはアライグマ駆除業者、自治体、大学等から送付された糞便を用いたが、今年度の検査サンプルはすべて神奈川県内での捕獲アライグマ由来のものであった。平成17年度の検査件数は227件であり、その捕獲市別の内

訳は捕獲頭数の多い順に横須賀市(96件) 鎌倉市(73件) 逗子市(26件) 横浜市(19件) 藤沢市(12件) 不明(1件)であった。これまで捕獲頭数の最も多い市は鎌倉市であったが、環境省からアライグマ対策モデル事業の指定を受けて平成17年7~8月に横須賀市内の繁殖地を重点調査域として生態調査を行ったことから、今年度は横須賀市での捕獲獣の検査数が最も多くなった。現在までのところ、野生アライグマの糞便からはアライグマ回虫卵は検出されていない。

[荒川京子、杉山 広、森嶋康之、川中正憲]

## 10. 食品由来寄生虫症に関する調査研究

### (1)平成16年秋に集団発生した肺吸虫による食中毒

#### ア. 事例の発生状況と原因食品に関する調査

佐賀県の某ホテル内にある中華料理店を原因施設として、平成16年秋に肺吸虫症が集団発生した。原因施設ではモクズガニの老酒漬を非加熱で138食提供し、114名がこれを喫食した。肺吸虫感染が確認された者(抗体陽性者)は4名で、内訳は呼吸器症状を呈する有症者が2名、血清反応のみ陽性の無症者が2名であった。本事例はウエステルマン肺吸虫による食中毒事例として食品衛生法に基づく届け出(食中毒事件票の提出)が行われた。原因食品となったモクズガニの由来を明かにするために、関係者から聞き取り調査を行ったところ、カニはすべて佐賀県北西部を流れる玉島川で捕獲されたものである事が明らかとなった。

[平野敬之(佐賀県衛生薬業センター) 増本久人(同) 池添博士(佐賀県中部家畜保健衛生所) 杉元昌志(佐賀県唐津保健福祉事務所) 松崎祐己(佐賀県健康福祉本部生活衛生課) 森田満雄(同) 杉山 広、森嶋康之、川中正憲]

### イ. 原因についての寄生虫学的精査

佐賀県の某ホテル内にある中華料理店で、平成16年秋に集団発生した肺吸虫症の原因食品は、県北西部を流れる玉島川で捕獲されたモクズガニである事が、関係者からの聞き取り調査で明らかとなった。そこで玉島川産のモクズガニ(計69匹)を入手して、メタセルカリア寄生の有無を検査した。その結果、13匹(寄生率19%)が肺吸虫陽性であった。陽性個体の中には、1匹から167個

ものメタセルカリアが検出されたカニも含まれていて、しかも可食部分である胴体部(63個)や脚部(61個)の筋肉により多くの寄生が見られた。検出されたメタセルカリア、および試験感染ネコから回収した成虫は、その形態学的特徴から、ウェステルマン肺吸虫(3倍体型)と判定された。平成16年秋に集団発生した肺吸虫による食中毒の原因は、ウェステルマン肺吸虫(3倍体型)である事が確定した。

[杉山 広、森嶋康之、川中正憲、平野敬之(佐賀県衛生薬業センター)、増本久人(同)、池添博士(佐賀県中部家畜保健衛生所)]

## (2) 広東住血線虫症の疫学と予防に関する研究

### イ. 沖縄県における広東住血線虫症の危険因子

好酸球性髄膜脳炎を主徴とする広東住血線虫症は、保虫宿主由来の感染幼虫を経口的に摂取して感染する。本症の国内発生は沖縄県を感染の場とするものが全体の6割以上を占め、患者の大部分が保虫宿主に関する摂食・接触歴を持っていた。しかし1990年以降、感染源不明の症例が多くなり、従来とは異なる感染源の存在が示唆されてきた。そこで現在における本症感染の危険因子を探るため、既報(平成15年度年報)の血清疫学調査の対象者に対してアンケート調査を実施した。抗体陽性者を症例、抗体陰性者を対照と定義し、症例1対対照2の比率により年齢と性別でマッチさせて症例対照研究を行い、種々の危険因子候補との関連を検討した。その結果、「野菜への保虫宿主付着の目視経験」が有意な危険因子として抽出された。この危険因子は保虫宿主由来の感染幼虫による食用野菜の汚染機会を表すものと考えられ、今後の本症予防対策では、保虫宿主への注意と共に野菜を介した感染の防止を含めた啓発を行う必要があると考えられた。

[森嶋康之、荒川京子、杉山 広、川中正憲、安里龍二(沖縄県衛生環境研究所)、平良勝也(同)]

## 1.1 首都圏における肺吸虫の発生分布に関する研究

### (3) 江戸川・中川流域での大平肺吸虫検出の試み

東京湾に注ぐ河川でカニを採集し、肺吸虫メタセルカリアの検出を試みたところ、荒川と多摩川の河川敷に大平肺吸虫の陽性地区を見出した事は既に報告した(昨年

度年報)。本年度は、東京湾に注ぐ河川として、江戸川と中川でも同様の調査を実施した。カニの採集地区は、江戸川流域では江戸川区江戸川(103匹を検査)、上篠崎(37匹)、東小岩(103匹)中川流域では葛飾区高砂(121匹)、足立区南水元(102匹)の合計5地区(計466匹)である。いずれもアシが生い茂り、クロベンケイガニが多数生息しているなど地理要因が荒川・多摩川の陽性地区と合致する事からこれらを調査地区として選定したが、肺吸虫陽性ガニは検出できなかった。カニの採集地区を増して、更に検討を続ける予定である。

[杉山 広、村田浩一(日大)、森嶋康之、川中正憲]

## 1.2 マラリアの疫学

### (1) わが国における過去の輸入マラリアの患者発生とその動向の確認

国内への薬剤耐性マラリアの輸入例を明らかにするために、感染研に保存されている1984年から1998年のマラリア患者薄層標本の種別、地域別区分けを行った。全サンプルは589枚で、そのうち熱帯熱マラリアは231枚であった。熱帯熱マラリアサンプルの65%はアフリカでの感染が推定され、25%は東南アジア、9%はインドを中心とする南アジアからの帰国者であった。これは同時期に報告されていた全国のマラリア患者発生数の約半分をカバーしている。熱帯熱マラリアのクロロキン耐性遺伝子として重要なpfprt K76T変異は、2000年に発見されたが、今後上記のサンプルを使用して過去に遡る分子遺伝学的解析をするうえでの基礎的データを得た。

[中野由美子、亀井喜世子(帝京大学医学部)]

### (2) マラリア対策の進捗と疫学的指標の変化に関する研究

ソロモン諸島国は、1990年代、かつて報告マラリア患者数が年間400/1000を超える高度浸淫地として知られていた。近年の病院や診療所からの報告マラリア患者数:Passive Case Detection(PCD)は、200/1000以下に改善しているが、以前と同様熱帯熱マラリアの比率が80%近くを占めている。2006年2月にActive Case Detection(ACD)として横断的一斉調査を行った地域では、30%以上のマラリア感染率となり、1996年の調査と同様に高い感染率となったが、三日熱マラリアが感染者の

60%以上を占め、1990年代の熱帯熱マラリアの比率と逆転していた。従来、PCDとACDによって検出される熱帯熱・三日熱マラリアの比率には、大きな差異は認められなかったが、マラリア対策が進捗した後の調査では、ACDによって検出される三日熱マラリアの比率が高くなり両者間での差異が広がった。

[大前比呂思、亀井喜世子(帝京大学医学部)]

### 1.3. 東南アジアにおける住血吸虫症の疫学と対策

フィリピン、ボホール島では、ここ数年、日本住血吸虫感染率が、0.1~0.2%となり制圧が間近な状況となったが、1981年以降の対策と感染率の推移を基に、日本住血吸虫症の伝播と対策に関する数理モデルを作成した。そして、やはり近年成功をおさめているカンボジアの住血吸虫症対策と比較したところ、ベクターとなる感染貝との接触が1年に渡って続くフィリピンにおいては、日本住血吸虫症制圧に貝対策が不可欠であったが、感染貝との接触が年間3-4ヶ月ほどに限られるカンボジアにおいては、貝対策抜きでも治療に重点を置いた対策によりメコン住血吸虫症制圧が可能であることを示した。

[大前比呂思、松田 肇(獨協医大)、千種雄一(同)、石川洋文(岡山大学)]

## 分類

### 1. クリプトスポリジウム等消化管寄生性原虫類に関する研究

#### (1) 国内において分離されたヒト由来ジアルジアの遺伝子型別

渡航歴(東アジア、東南アジア、アフリカおよび南米等)のある症例、および国内感染が疑われる症例等、合わせてこれまで22例についてGDH遺伝子に関する遺伝子型別を行った。結果はAssemblage A subtype A1が大半(20例)を占め、他の2例はB3であった。このうち、国内感染が明らかとなっている2例はいずれもAssemblage Aであった。これらの遺伝子型はいずれも広範な動物種を宿主とするいわゆる人獣共通型の原虫であった。今回、対象とした症例のうちの11名は無症状、即ちシストキャリアーであり、感染防止の観点からはシストキャリアーの把握が大きな課題となる。ちなみに、わが国ではジアルジア症の水系集団感染の報告はないが、

国外ではしばしば水泳プールが感染源となっていることが知られており、わが国においてもジアルジア症とプール利用との関係を視野に入れていく必要がある。

[八木田健司、田口一宏(三菱化学ピーシーエル)、加島準子、泉山信司、小村麻子]

## 2. 分子生物学的手法による肺吸虫種の同定・鑑別

### (2) PCR-RFLPによるタイ産肺吸虫の種鑑別

タイ産肺吸虫(5種類)のメタセルカリア由来DNAをテンプレートとして、我々が開発したマルチプレックスPCRを実施した場合、ヒロクチ肺吸虫では310bpと520bp、ウェステルマン肺吸虫では140bpと520bp、タイ、ハリナスタ、バンコックの各肺吸虫では520bpの産物が増幅される。これらの結果は既に報告したが(昨年度年報)タイ、ハリナスタ、バンコックの各肺吸虫については種の鑑別ができていなかった。そこで、これら3種から得たマルチプレックスPCR産物(520bp)を制限酵素(*ScrFI*)で処理したところ、タイ肺吸虫のバンドは切断されず、ハリナスタは3本(約60, 210および250bp)、バンコックは2本(約250および270bp)に切断され、タイ産肺吸虫(5種類)の種鑑別が可能になった。現在、中国及びインドの肺吸虫についても材料を収集し、本法の有用性を検討している。

[杉山 広、森嶋康之、川中正憲、亀岡洋祐(基盤研)、アチャリア・ラングジルジ、パンシン・ケツダット(スリナカリンウイロート大学・タイ国)]

## 生理・生化学・分子生物学

### 1.3. *Encephalitozoon cuniculi* スポアタンパク質のプロテオーム解析：*E. cuniculi* 極管に対するモノクローナル抗体が反応する2-Dスポット

Soluble antigen—ELISAを用いたスクリーニングとWhole spore—ELISAを用いたクローニングにより、*E. cuniculi* 極管抗原に対するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマの3系統(NID1、NID2、NID3)を確立した。2-D免疫プロット分析において、NID1及びNID2モノクローナル抗体は共に酸性側ゲルに偏在した多スポットパターンを与えた。最も強い反応は55kDa前後の2つの連続スポットに認められた。これらの同一分子サイズでPIの異なる2つの連続スポットはプロテ

オーム解析で *E. cuniculi* PTP1 スポアタンパク質と同定された。今回のモノクローナル抗体を用いた 2 - D プロット分析により PTP1 には少なくとも 2 つの isoform の存在が示唆された。

[小村麻子、三和 茂(イムノバイオン)、朝倉登喜子、吉川博康(北里大学)、古屋宏二]

## 2 . *Naegleria fowleri* 総タンパク質の部分アミノ酸配列解析と未同定タンパク質の遺伝子解析

これまでに、強い病原性を持つ *Naegleria fowleri* と非病原性の *N. lovaniensis* の総タンパク質の差異について 2D-PAGE 解析を行った。得られた情報をもとに 63 個の *N. fowleri* のタンパク質の部分アミノ酸配列解析や MS/MS 解析を行い、それらの内 14 個を同定した。さらに 2D-PAGE 解析で *N. fowleri* 特異的と考えられた未知タンパク質 2 個について遺伝子のクローニングを行い、それぞれ Glutamate dehydrogenase、Thioredoxin peroxidase と高い相同性があることを認めた。

[小村麻子、泉山信司、八木田健司、下河原理江子]

## 3 . マラリアの分子生物学

### (1) マラリア薄層標本からの DNA の回収ならびに限界感染率の特定

薄層標本のマラリアサンプルから DNA を回収し、分子疫学的解析を行うために、どの程度感染率が低くても回収が可能か、感染率の異なる薄層標本作製し DNA の回収を行った。回収方法は、以前、先濱ら(2001)によって報告されていた手法に改善を加えた。pfcr1 遺伝子の K76T 変異の検出に適した領域のオリゴヌクレオチドを用いて、原虫感染率 3, 0.5, 0.1, 0.05, 0.01% の薄層標本から DNA を回収し、ネステッド PCR も含めて全 70 サイクル PCR サイクルを行った結果、0.1% 以上のサンプルについて増幅が可能であった。よって、増幅に必要な限界感染率を 0.1% 以上と決定し、前述の薄層標本の半分が含まれた。またダイレクトシーケンスにより、クロロキン耐性遺伝子 pfcr1 K76T 変異の検出を行った結果、変異遺伝子が野生型遺伝子に比べて 20% 以上混合感染してれば検出が可能であることが分かった。

[中野由美子、河津信一郎(医療センター)、石上盛敏(同)、狩野繁之(同)、田辺和裕(大阪工大)、大前比呂思]

### (2) マラリアの分子進化速度や薬剤耐性に関する分子生物学的研究

ソロモン諸島国ガダルカナル島におけるメロゾイト表面タンパク質-1 : MSP-1 遺伝子 (msp1) の遺伝子多様性と組換え頻度を調べ、流行度のより低いタイ及びパヌアツと比較した地域に分布する対立遺伝子の数、異なる対立遺伝子の多重感染率、及び、一人当りの対立遺伝子の数はタイが最高で、ソロモン、パヌアツの順となった。また、クロロキン耐性遺伝子 (pfcr1) の多型についても調べて比較した。いずれの地域も 100% 耐性型を示したが、耐性遺伝子の型は、タイでは東南アジア型、ソロモンとパヌアツではパプアニューギニア型であった。

[大前比呂思、田辺和裕(大阪工大)、先濱直子(同)]

## 4 . 赤内型熱帯熱マラリア原虫 (*Pf*) の増殖、分化を誘導する物質

(1) 無血清培地を用いた熱帯熱マラリアの培養系を用いて原虫の増殖促進因子について解析を進めている。当該年度においては、血清アルブミンとリゾホスファチジルコリン (LPC) の共存下でマラリア固有の多数分裂 (schizogony) が進行し、無性生殖世代が完結することを明らかにした。これらの増殖促進物質の作用機序は不明であるが、赤血球への侵入過程に作用するものではなく、赤血球内での分裂過程に作用するものであった。また、LPC に類似の分子構造を持つ LPA (リゾホスファチジン酸) では増殖促進作用が著しく低く、原虫は多数分裂の途中で発育を停止した。

[朝日博子]

(2) 熱帯熱マラリアの培養系において、血清アルブミンとリゾホスファチジルコリン (LPC) の共存下で schizont の成熟(多分裂)が促進されることが示されたことから、LPC との結合性を示す虫体蛋白の特定を試みた。Schizont の可溶性分画と LPC との反応物を SDS-PAGE 電気泳動したところ、86kDa 付近の蛋白に結合性があることが確認された。また、in situ での局在の検討からは詳細な結合部位の特定には至らなかったが、発育ステージを問わず赤内系のすべての原虫において結合性部位が存在することが確認された。

[朝日博子、泉山信司、小村麻子]

## 5. 赤痢アメーバにおけるコレステロールの役割

赤痢アメーバは *de novo* のコレステロール合成系の遺伝子群、メバロン酸経路、非メバロン酸経路をともに欠失しており、一方で、外界からの取り込みならびに細胞内でのコレステロール結合に関与する遺伝子群を複数コードしていることを明らかにした。コレステロール結合タンパク質群には赤痢アメーバ特異的なドメインを有するものがあるため、これらが細胞機能の解析を進めている。また新たに確立した培養系によってコレステロールが赤痢アメーバの生育に不可欠な因子であることを証明した。さらに主要な病原因子であるシステインプロテアーゼの活性がコレステロールによって濃度依存的に活性ならびに抑制されることを発見し、アメーバポアを含む赤痢アメーバの病原因子の活性機序においてコレステロールが重要な鍵を握っていることを明らかにした。

[中野由美子]

## 検査・診断

### 1 *in situ* hybridization による *Naegleria*、*Acanthamoeba*、*Balamuthia* の検出・同定

自由生活性アメーバ類に起因する髄膜脳炎には *Naegleria fowleri* の感染に起因する原発性アメーバ性髄膜脳炎と *Acanthamoeba* あるいは *Balamuthia* の感染に起因する肉芽腫性アメーバ性脳炎の2型に大別される。前者は、鼻腔の嗅神経末端からアメーバが侵入し、嗅神経沿いに中枢神経へ到達し、感染から5~10日のうちに患者を死に至らしめる。わが国では極めてまれな疾病で、1996年に佐賀県で本アメーバに起因する原発性アメーバ性髄膜脳炎による死亡例が一例報告されているに過ぎない。*Naegleria fowleri* は従来、温水環境を好む自由生活性アメーバで、一旦温水環境が汚染されるとその場に定着して長期にわたりヒトへの感染の恐れが生じる。後者の亜急性、慢性の肉芽腫性アメーバ性脳炎は免疫不全者における *Acanthamoeba* の日和見感染とされていたが、近年、健康者での *Balamuthia mandrillaris* による脳炎が報告され、わが国ではこれまでに4例のアメーバ性脳炎患者が知られている。しかしながら、*Balamuthia* の感染経路や病原巣などに関しては今後の検討に待たれる状況にある。

当該研究ではこれら3属に対するISHプローブの開発を行い、過去の事例の病理組織標本に適用した結果、良好な染色像を得た。

[泉山信司、八木田健司、高橋 均(新潟大学脳研究所病理学分野)、林 森太郎(同)、佐多徹太郎]

## 2. 病原性アメーバ *Balamuthia mandrillaris* によるアメーバ性脳炎の診断

アメーバ性脳炎の疑われた症例について免疫組織学的方法および *in situ* hybridization により診断を行った。現在、アメーバ性脳炎の原因となる病原性アメーバとしては *Acanthamoeba* spp.、*Naegleria fowleri* ならびに *Balamuthia mandrillaris* が知られる。剖検脳切片病理染色標本中には *B. mandrillaris* に特徴的な核形態を示す細胞が認められたことに加え、免疫組織染色の結果は抗 *B. mandrillaris* 抗体染色で陽性、上記3種の病原性アメーバの18SrRNAオリゴプローブを用いた *in situ* hybridization の結果もこれと一致した。以上の結果より、本症例は *B. mandrillaris* による脳炎と確定した。国内の *B. mandrillaris* 脳炎確定例は本例で5例目である。

[八木田健司、泉山信司、廣松賢治(宮崎大学)]

## 3. キムチからの寄生虫・原虫検出法の開発

本年度、国外産キムチの寄生虫卵汚染の問題が明らかになったことへの行政的対応の一環として、キムチからの迅速かつ定量的な寄生虫卵検出を目的とした検査方法の確立を行った。実用的な方法として300gの材料から10個の虫卵を検出する手順を検討し、小型の連続遠心器を用いたキムチ洗浄液からの虫卵濃縮法と厚層塗沫法標本を用いた虫卵検出法を組み合わせた方法を考案した。虫卵添加回収実験の結果から、本検査法の所要時間はおよそ5時間、300g中およそ100個の虫卵を添加した場合の回収率は66.5%、10個の虫卵に対しても60%程度の成績が得られた。なお、厚層塗沫法に換えて密度勾配遠心法を用いることで、原虫のオーシスト/シスト検出に適用が可能である。

[八木田健司、泉山信司]

#### 4. LAMP 法を用いた *Cryptosporidium*、*Giardia* 検出系の開発

LAMP 法はわが国で開発された遺伝子増幅方法で、迅速性、簡便性、特異性に優れ、検査施設への導入も容易とされることから、当該研究では *Cryptosporidium* 属および *Giardia* 属を対象とした LAMP 法のプライマーセットの開発を行った。これまでのところ、*Cryptosporidium* 属の 18S rRNA 遺伝子を標的遺伝子とし、部分配列を組み込んだプラスミドを鋳型として感度試験で 6 コピー（6 分子）を最少単位として濁度計で 40 分以内に陽性反応を検知した。同様に 18S rRNA 遺伝子を標的とした *Giardia* 属検出用のプライマーの設計を行い、標的遺伝子領域を挿入したプラスミドを鋳型とした感度試験で 6 コピーのプラスミドを含む反応液で 50 分以内に陽性反応を検知した。

[ 百田隆祥（栄研化学生物化学研究所） 泉山信司 ]

#### 5. レジオネラ属菌迅速測定法の有用性の検討

循環水を用いた浴場施設は病原性アメーバにとって好適な増殖環境にあり、さらにアメーバを宿主としてレジオネラ属菌が増殖する好適な環境と言え、衛生上の重要問題となっている。「レジオネラ対策」は即「アメーバ対策」でもある。通常レジオネラ属菌の培養試験は 1 週間を要し、迅速性に欠ける事が問題となっている。当該研究では遺伝子増幅を利用した迅速測定法 2 法（LAMP 法及びリアルタイム PCR 法）の有用性を検討した。LAMP 法及びリアルタイム PCR 法は、採水から前処理を含めて結果判明までに 1 日以内と迅速であった。重要な点は、培養法と他の 2 法での判定結果にはかなりの不一致が存在したが、その原因は DNA 検出法では生菌/死菌を分けずに検出することにあると考えられた。培養陰性でありながら高濃度の DNA が検出される状況は明らかに不自然であり、そのような試料（施設）は少なくとも検査の直前までレジオネラの増殖があったことが強く示唆される。DNA 検査法ではこのような状況を的確に把握することができる。むしろ積極的に活用すべきものと考えられる。

[ 荒井桂子（横浜市衛生研究所） 吉川循江（同） 田中礼子（同） 林 宏子（同） 山口 正（同） 泉山信司 ]

#### 6. 回虫卵汚染キムチの検査方法の信頼性に関する検討

2005 年 11 月、厚生労働省は、中国および韓国製造のキムチ等から寄生虫卵が検出されたとの情報を得て、所管検疫所に対してモニタリング検査の実施を指示し、その方法として『食品衛生検査指針・微生物編』に準ずる暫定的な検査方法を指定した。キムチに何らかの処理を施して虫卵を含むサンプル集め、寄生虫卵の検出を光学顕微鏡によって行うという手法は、検出の可否が検査員の習熟の程度に相当程度依存している事は明らかである。この点で、現状の食品衛生に係わる検査機関において、虫卵検査に習熟した検査員を配置する事は容易な事ではない。とは云え、習熟した検査者による本法そのものの検出感度を評価して置く必要がある。そこでヒト回虫と物理学的な性状が類似するブタ回虫卵（未成熟受精卵）を材料とし、キムチへの添加回収実験を行って、上記暫定法の信頼性を評価した。添加虫卵数・回収虫卵数をそれぞれ独立・従属変数として非線形最小二乗法を用いて指数モデルを作成したところ、暫定法の検出限界はキムチ 100 g あたり虫卵 25 個以上と推定された。より簡便かつ高感度な検査法の開発が必要と考えられた。

[ 森嶋康之、杉山 広、荒川京子、川中正憲 ]

#### 7. 輸入キムチより検出された回虫様卵の分子同定

2005 年 11 月に日本国内で流通している輸入キムチから回虫様の虫卵が検出されたので、リボソーム DNA・ITS1 領域の配列を解読し、虫種同定を試みた。その結果、キムチから検出された虫卵はヒト回虫 *Ascaris lumbricoides* の虫卵と判定された。回虫類の中でもヒト回虫とブタ回虫とは形態鑑別が難しく、加えて今回の検索材料はキムチからの検出虫卵で、鑑別は一層困難であった。このような加工食品由来の寄生蠕虫卵を対象として種同定・鑑別を行う場合には、遺伝子配列に基づく同定が極めて有用と考えられた。

[ 杉山 広、森嶋康之、川中正憲、赤尾信明（東医歯大）、太田伸生（同） ]

#### 8. 養殖魚からのアニサキス幼虫の効率的検査法の検討

2005 年 6 月、中国産中間種苗由来の国内養殖カンパチにおけるアニサキス汚染問題が、鹿児島、宮崎、熊本、大分、愛媛、香川、高知の 7 県で発生した。これを契機

に、今後も食品衛生の立場から、養殖魚のアニサキス検査が公的機関などに求められることが想定され、効率的な鮮魚のアニサキス幼虫検査法（特に可食部の魚肉中におけるアニサキス幼虫の検出法）を早急に確立することが必要となった。そこで、まず香川と宮崎の県水産試験場の協力のもとに、米国 FDA 及びカナダの公定検査法である「魚肉の紫外線(UV)照射によるアニサキスの存在確認法」を基に、改良法を案出し試験条件の検討を行った。[川中正憲、荒川京子、杉山 広、森嶋康之、中村充志(宮崎水試) 赤井紀子(香川水試)]

### 9. エキノコックス症の血清診断法の検討

単包条虫と多包条虫とが混在分布している地域において、ヒトの単包虫症と多包虫症とを鑑別することは、個別患者の予後判定の為に有病地におけるコントロール対策立案の為に極めて重要な問題である。両症の鑑別は、確定的には病理検査に依らねばならないが、超音波など画像診断によっても可能とされている。しかし一方で、画像診断を補助的または補完する手段として特異性の高い血清診断法が求められている。そこで我々は、北海道由来の多包虫症患者血清及び中国青海省由来の単包虫症患者血清を用い、多包虫原頭節抗原(Em16/18)及び単包虫包内液(Ag B)のカクテル抗原を用いて簡易化ウエスタンブロット法を開発し、その診断への応用可能性について検討した。

[川中正憲、荒川京子、森嶋康之、杉山 広、古屋宏二]

### 10. 平成 17 年度・依頼血清の寄生虫抗体の検査

検査は通常、酵素抗体法(DOT-ELISA)により実施した。抗原として、線虫類 6 種(日本顎口虫、犬回虫成熟虫卵、アニサキス、豚回虫、犬糸状虫、広東住血線虫)、条虫類 3 種(広節裂頭条虫、マンソン孤虫、エキノコックス)、吸虫類 4 種(ウエステルマン肺吸虫、宮崎肺吸虫、肝蛭、日本住血吸虫)の 13 種類を用いた。酵素抗体法で得られた結果のみでは判断がつけがたい場合は、上記以外の抗原も含め、ウエスタンブロット法、ゲル内沈降反応、あるいはトキシカラ・キットを用いた酵素抗体法などをあわせて行った。本年度は 17 検体の検査依頼を受けたが、抗体陽性は 6 件、陰性は 11 件であった。陽性の内訳はウエステルマン又は宮崎肺吸虫症：3 件、トキシカ

ラ症：1 件、犬糸状虫症：1 件、日本住血吸虫症：1 例、であった。

[荒川京子、杉山 広、森嶋康之、川中正憲]

### 11. 日本住血吸虫症の超音波診断と病態

廉価な画像診断法として、途上国でもよく利用される超音波検査の、日本住血吸虫症への応用に関する研究を進めた。網目状パターンといわれる、日本では感染期間の長い高齢者でみられたパターンが、フィリピンの高度浸淫地では進行が早く、若年者において 2 年程度でみられることを発見した。一方、側副血行がみられ、巨大な脾腫を示すような例であっても、かつての日本の有病地とは異なり、血中のアンモニア値が高くなるような例は少ないことがわかり、両国における病態の違いが明らかになった。

[大前比呂思、朝日博子、松田 肇(獨協医大)、千種雄一(同)]

### 12. マラリア原虫の薬剤耐性評価法に関する研究

マラリア原虫の薬剤耐性の動向についての情報を収集する事を目して、筆者らが開発、実用化した熱帯マラリア原虫の無血清培地を用いて、薬剤耐性評価方法の改良を試みた。従来のヒト血清培地を用いた評価系との比較から、無血清培地を用いた評価系においても各種抗マラリア剤による原虫の増殖抑制効果および Schizont 形成抑制効果を正當に評価することができることを確認した。これにより、東南アジア、太平洋島嶼地域など開発途上地域で無血清培地の利点を生かした薬剤耐性評価試験の適用が期待される。さらに、現行の顕微鏡観察に替わる測定方法として、フローサイトメトリーおよび原虫の lactate dehydrogenase の定量測定法を検討し、用途に応じた選択を可能にするものと期待される。従来の顕微鏡観察に比べ、フローサイトメーター測定法および lactate dehydrogenase 定量法は原虫に関する形態学的な知識を要求しないことと、多量の検体を扱うことができることから、集団検診などのスクリーニングへの応用が期待される。また、抗マラリア剤のスクリーニングへの応用も期待される。

[朝日博子、泉山信司]

・ その他

1. 二枚貝を用いた水中クリプトスポリジウム除去

下水処理水等の原虫類が混入する可能性が高い地点での生物浄化システムとして、二枚貝のろ過機能の活用を検討した。イケチョウガイは琵琶湖原産の淡水性二枚貝で、世界最大種のひとつとして知られるが、長寿命であり、種苗生産が確立していること、さらに真珠養殖の母貝として用いられていることから、この貝の利用を検討した。実験には200gの個体を用いたが、そのろ過能力は高く600ml/hrと算定された。オーシストの添加暴露実験の結果では、浮遊オーシストはイケチョウガイにより速やかに補足され、濃縮されたオーシストが濃い粘液状の糞中に排出されることが観察された。フィールド試験で有用性の検証を計画している。

[泉 敏彦(北海道立衛生研究所) 八木田健司]

2. クリプトスポリジウム対策としての珪藻土を用いたケーキろ過の評価

クリプトスポリジウム等の耐塩素性微生物は水系集団感染がしばしば報告されている。クリプトスポリジウムのオーシストは約5 $\mu$ mと粒径が小さいことから、除去が困難で、現行の急速凝集沈殿ろ過では2~3-log<sub>10</sub>程度の除去(99~99.9%除去)とされている。したがって高濃度汚染や処理に問題が生じた際には水道水を介した集団感染に発展する恐れがある。わが国には凝集沈殿ろ過施設を持たない浄水施設が多数存在している。本研究では工業、食品、水泳プールや銭湯などで利用されている珪藻土を用いたケーキろ過に着目し、クリプトスポリジウムの除去性能の評価を行った。珪藻土を用いたケーキろ過は多孔質の珪藻土を積層してフィルター(ケーキ)を形成させ、加圧ろ過する方法である。クリプトスポリジウムのオーシストに模した3 $\mu$ mのビーズを用いて除去性能評価を行ったところ、珪藻土の使用量を0.25~1.6kg/m<sup>2</sup>とした場合0.9~6.4-log<sub>10</sub>と高い除去性能を確認した。併せて、ほぼ細菌の短径に相当する0.5 $\mu$ mのポリスチレンの蛍光粒子を用いて除去率を求めたところ、珪藻土の種類や使用量を調整することで4-log<sub>10</sub>程度の除去が可能であった。

[泉山信司、関根 寛、小野更生(日本フィルコン(株)生産技術部)、松本英樹(ミウラ化学装置(株)技術部)]

山中俊治(同)]

3. 源泉のAOC濃度測定

これまで *Legionella* 症の集団感染は主に循環式浴槽において発生しているが、その傍らで掛け流し式浴槽での汚染も明らかとされている。緊急避難的に導入された塩素消毒は所定の効果を示し、循環式浴槽の宿主アメーバ、ひいては *Legionella* 属菌の検出率を下げた。一方、*Legionella* 属菌は掛け流し式浴槽においても高頻度(60%)に検出されている。掛け流し式浴槽での汚染防止は浴槽、給湯配管、源泉タンクの管理がかかせない。タンクや配管中での増殖のしやすさは、基本的に源泉に含まれる微生物が利用可能な炭素量によって規定される。そこで、源泉のAOC(同化性有機炭素、Assimilable Organic Carbon)濃度の測定を行った。AOCは生物に同化(消化)される有機炭素量を、基準細菌種の増殖を利用して測定する方法であり、水道水の配管中での再増殖の指標として開発された手法である。当該研究の結果として、AOC濃度で100 $\mu$ g/L程度を越えていた源泉と *Legionella* 属菌が検出されている施設が対応した。

[宮川徹也(阪神水道企業団) 泉山信司、烏谷竜哉(愛媛県立衛生環境研究所)、縣 邦雄(アクアス(株)つくば総合研究所)]

レファレンス業務

1. 衛生微生物技術協議会レファレンスセンター会議

第26回衛生微生物技術協議会において寄生虫に関するレファレンスセンター会議を行った。赤痢アメーバを中心にクリプトスポリジウム、アニサキスに関する検査体制上の問題点等を議論した。

[八木田健司、泉山信司]

2. 原虫類のリファレンス活動

感染研および外部共同研究機関(医療機関、地方衛生研究所等)の行う調査研究から得られる材料をもとに各種原虫類の分離株の収集を行っている。具体的には分離株の遺伝子型を調べ、その結果を共同研究者側に還元するとともに、固定標本、DNAあるいは培養可能な場合は病原体として保存を行っている。また、ELISA用の *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium*, *Giardia* のPCR用

プライマー及びテンプレート、ならびに *Naegleria*, *Acanthamoeba*, *Balamuthia* 同定・鑑別のための in situ hybridization 用プローブ等の分与に応じている。

[八木田健司、泉山信司]

### 3. 鮮魚のアニサキス幼虫検査マニュアルの策定

2005年6月、中国産中間種苗由来の養殖カンパチにおけるアニサキス汚染問題が発生した。これを契機に、今後も食品衛生の立場から効率的な鮮魚のアニサキス幼虫検査法を確立することが必要となった。そこで、検査マニュアル案を策定した後、養殖カンパチのアニサキス汚染問題が発生した7県（鹿児島、宮崎、熊本、大分、愛媛、香川、高知）の衛生研究所担当者に依頼し、「検査マニュアル(案)」に基づいた精度評価（添加・回収実験）のための試験を実施してその有効性を検証した。それらの結果を基に「鮮魚のアニサキス幼虫検査マニュアル」を作成した。

[川中正憲、荒川京子、杉山 広、森嶋康之]

## 国際協力関係業務

1. フィリピンとの2国間共同研究において、フィリピンにおける下痢疾患関連の消化管寄生性原虫類のサーベランスを行った。あわせてフィリピンの共同研究者を招き、検査法の実習を行った。

[古屋宏二、泉山信司、八木田健司]

2. タイとの2国間共同研究において、タイにおける養殖魚類のアメーバ感染症に関する調査研究を行った。あわせてタイの共同研究者を招き、分子疫学的調査法の実習を行った。

[Thitiporn laoprasert、八木田健司、下河原理江子、泉山信司]

3. 中国青海省におけるエキノコックス症の疫学的調査研究

中国西部の青海省では単包条虫および多包条虫による包虫症（エキノコックス症）が公衆衛生上重要な問題となっている。ヒューマンサイエンス振興財団による外国の研究機関への委託事業として、この地域におけるエキノコックス症の疫学的調査研究を実施した。本年度は、

青海省果洛チベット族自治区において、超音波装置による住民検診と血清抗体検査及び終宿主動物としてのイヌなどの調査を行った。

[余森海（中国 CDC）、川中正憲]

4. アジアにおけるマラリア・原虫症の疫学と対策に関する国際会議の主催

アジアにおいて、マラリアや他の原虫症の研究や対策のネットワーク作りを進めるため、感染研において国際会議を行った。韓国、インドネシア、フィリピン、タイ、カンボジアの6カ国から8研究機関、さらに WPRO の担当者の出席を得た。薬剤耐性の熱帯熱マラリアの拡がりには、大きな公衆衛生的な問題であるが、現在流行の中心が、熱帯熱マラリアから三日熱マラリアに移りつつある国も多いことが確認された。今後は、治療的介入を進める一方、現在のマラリア流行と対策評価が的確にできるような疫学的指標の開発も望まれる。

[大前比呂思]

5. 東南アジアにおける寄生虫対策への協力

笹川記念保健協力財団の寄生虫対策実行委員の1人として、カンボジア王国や東チモール共和国の寄生虫対策の協力した。独立間もない東チモール共和国において、現地 WHO 事務所と協力して、2005年度には2010年までのフィラリア根絶計画5ヵ年計画の策定に協力した。この事業は、WHOの主導のもと、2020年までに全世界におけるリンパ系フィラリア症の制圧計画の一環として行われる。

[大前比呂思]

## 研修業務

1. 平成17年度水道クリプトスポリジウム試験法実習（国立保健医療科学院主催）にて、水道源水からのクリプトスポリジウム、ジアルジア検出の実習を行った。

[八木田健司、泉山信司]

2. 寄生虫類の検査技術研修

[杉山 広、森嶋康之]

・平成17年度希少感染症診断技術研修会においてイヌのエキノコックス症の検査法に関する研修を行った。

・イヌのエキノコックス症の検査法の実習を行った：地研担当者（青森県、大阪府）

・アライグマ糞便及びキムチを材料とした虫卵検査の研修を行った：同（神奈川県）

・アライグマ回虫卵とタヌキ回虫卵との鑑別の為の検査法の実習を行った：同（大阪府）

## 発表業績一覧

### ・誌上発表

#### 1. 欧文発表

1. Itagaki, T., Kinoshita, S., Aoki, M., Itoh, N., Saeki, H., Sato, N., Uetsuki, J., Izumiyama, S., Yagita, K. and Endo T. Genotyping of *Giardia intestinalis* from domestic and wild animals in Japan using glutamate dehydrogenase gene sequencing. *Veterinary Parasitology* **133**, 283-287, 2005.
2. Oikawa, Y., Kitagawa, K., Yagita, K., Endo, T. Shima, I. and Ikeda. T.: Drug susceptibility of *Acanthamoeba* isolated from 13 Japanese patients with *Acanthamoeba* keratitis. *J. Kanazawa Med. Univ.* **30**, 67-70, 2005.
3. Kura, F., Amemura-Maekawa, J., Yagita, K., Endo, T., Ikeno, M., Tsuji, H., Taguchi, M., Kobayashi, K., Ishii, E. and Watanabe, H. : Outbreak of Legionnaire's disease on a cruise ship linked to spa-bath filter stones contaminated with *Legionella pneumophila* serogroup 5. *Epidemiol. Infect.* **134**, 385-391, 2006.
4. Yamano K., Yagi K., Furuya K., Sawada Y., Honma H., Sato N.: Active alveolar hydatidosis with sero-negativity for antibody to the 18 kDa antigen. *Jpn. J. Infetct. Dis.* **58**, 122-124, 2005
5. Qian, B-Z. and Sugiyama, H. : ITS2 sequence of *Paragonimus westermani* in Ninghai, Zhejiang. *Acta Academiae Medicinae Zhejiang* **63**, 1-3, 2005.
6. Lin, R., Li, X., Lan, C., Yu, S. & Kawanaka, M. Investigation on the epidemiological factors of *Clonorchis sinensis* infection in an area of south China. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* **36** (5), 114-117, 2005.
7. Morishima Y, Sugiyama H, Arakawa K & Kawanaka M. *Echinococcus multilocularis* in dogs, Japan. *Emerging Infectious Diseases*, **12**: 1292-1294. 2006.
8. Qian, B-Z., Sugiyama, H., Waikagul, J. and Zhu, Z-H. : Sequence analysis of ITS2 and COI genes of *Paragonimus harinasutai*. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases* **24**, 119-121, 2006.
9. Rangsiruji, A., Sugiyama, H., Morishima, Y., Kameoka, Y., Thawat D., Binchai, S. and Ketudat, P. : A new species of *Paragonimus* other than *P. westermani* in southern Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* **37** (Suppl. 1), in press, 2006.
10. Singh, T.S., Singh, D.L. and Sugiyama, H. : Possible discovery of Chinese lung fluke, *Paragonimus skrjabini*, in Manipur, India. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* **37** (Suppl. 1), in press, 2006.
11. Sugiyama, H., Morishima, Y., Rangsiruji, A., Binchai, S., Ketudat, P. and Kawanaka, M. : Application of multiplex PCR for species discrimination using individual metacercariae of *Paragonimus* occurring in Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* **37** (Suppl. 1), in press, 2006.
12. Williams, D., Asahi, H., Oke, T.T., Lopes da Rosa, J. and Stadecker, M.J., Murine immune responses to a novel schistosome egg antigen, SmEP25. *International Journal for Parasitology*, **35**: 875-882, 2005.

13. Saito-Nakano, Y., Loftus, B.J., Hall, N., Nozaki, T. (2005) The diversity of Rab GTPases in *Entamoeba histolytica*. *Exp. Parasitol.* 110:244-252. 2005
  14. Miiira, B.N., Yasuda, T., Kobayashi, S., Saito-Nakano, Y., Nozaki, T. Differences in morphology of phagosomes and kinetics of acidification and degradation in phagosomes between the pathogenic *Entamoeba histolytica* and the non-pathogenic *Entamoeba dispar*. *Cell Motil. Cytoskeleton.* 62:84-99. 2005
  15. Nakada-Tsukui, K., Saito-Nakano, Y., Ali, V., Nozaki, T. (2005) A retromerlike complex is a novel Rab7 effector that is involved in the transport of the virulence factor cysteine protease in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *Mol. Biol. Cell.* 16:5294-5303. 2005
  16. Asahi, H., Kanazawa, T., Hirayama, N., Kajihara, Y. Investigating serum factors promoting erythrocytic growth of *Plasmodium falciparum*. *Experimental Parasitology* 109: 7-15, 2005.
  17. Sakihama, N., Ohmae, H., Bakote'e, B., Kawabata, M., Hirayama, K., Tanabe, K. Limited allelic diversity of *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 1 gene from population in the Solomon Islands. *American Journal of Tropical Medicine & Hygiene* 74:31-40, 2006
  18. Okada, A., Imase, A., Matsuda, H., Ohmae, H., Hata, H., Iwamura, Y. Heterogeneity of class II and class III MHC sequences in *Schistosoma mansoni*. *Parasitology Research.* 99:21-27. 2006
  19. Ishikawa H, Ohmae H, Pangilinan R, Redulla A, Matsuda H Modeling the dynamic and control of *Schistosoma japonicum*: transmission on Bohol island, the Philippines. *Parasitology International* 55:23-29. 2006
  20. Chigusa Y, Otake H, Ohmae H, Kirinoki M, Ilagan EJ, Barzaga NG, Kawabata M, Hayashi M, Matsuda H. Determination of the period for establishment of a liver network echogenic pattern in *Schistosoma japonicum* infection. *Parasitology International* 55:33-37. 2006
  21. Shaohong L, Kumagai T, Qinghua A, Xiaolan Y, Ohmae H, Yabu Y, Siwen L, Liyong W, Maruyama H, Ohta N. Evaluation of the anthelmic effects of artesinate against experimental *Schistosoma mansoni* infection in mice using different treatment protocols. *Parasitology International* 55:63-68. 2006.
- 2. 和文発表**
1. 古屋宏二、小村麻子、三和茂、朝倉登喜子、下河原理江子、吉川博康、遠藤卓郎：微胞子虫 *Encephalitozoon cuniculi* の極管に対するモノクローナル抗体の確立とプロテオーム解析による相応する抗原ポリペプチドの同定。日本原生動物学会、39、102-103, 2006.
  2. 古屋宏二、松林伸子、松林清明：サル類におけるミクロスポリジア感染の疫学。霊長類研究所年報、35、90, 2005.
  3. 八木田健司、泉山信司、遠藤卓郎、クリプトスポリジウムの遺伝子型別と事例解析、病原微生物検出情報、Vol. 26, No. 7, 10, 2005.
  4. 岡田美香、河野喜美子、倉文明、前川純子、渡辺治雄、八木田健司、遠藤卓郎、鈴木泉。循環式入浴施設における本邦最大のレジオネラ症集団感染事例、I。発症状況と環境調査、感染症学雑誌、79、365-374, 2005.
  5. 杉山 広、森嶋康之、荒川京子、川中正憲：東京のクロベンケイガニから検出した大平肺吸虫：メ

- タセルカリア寄生率の季節消長、獣医寄生虫学会誌、3(2)、34、2005.
6. 杉山 広、森嶋康之、A. ラングシルジ、S. ピンチャイ、P. ケツダット、亀岡洋祐、川中正憲：分子生物学的手法によるタイ産肺吸虫の種鑑別・同定：メタセルカリアでの検討、獣医寄生虫学会誌、4(1)、53、2005.
  7. 松本ルミネ、宇羽野恵、上坂義和、國本雅也、川中正憲、PET 検査が鑑別の一助となった脳有鉤囊虫症の1例、神経内科、63 (5) 473-476、2005
  8. 山本徳栄、近 真理奈、山口正則、丹野瑳瑛子、小山雅也、前野直弘、東 久、水澤 馨、木村 弘、森嶋康之、川中正憲、埼玉県内の犬の糞便から検出されたエキノкокクス（多包条虫）の虫卵、病原微生物検出情報、26、306-307、2005
  9. 須藤幸喜、杉山 広、森嶋康之、村田浩一、川中正憲：東京・神奈川の多摩川河川敷で採集したクロペンケイガニからの大平肺吸虫メタセルカリアの検出、獣医寄生虫学会誌、4(2)、51、2006.
  10. 川中正憲、山本徳栄、イヌのエキノкокクス検査法、Medical Technology, 34,338-339, 2006
  11. 川中正憲、荒木潤、アニサキス症□発生状況とその予防□、食品衛生研究、56 巻 6 号、17-22、2006
  12. 川中正憲、杉山広、森嶋康之、荒川京子、カンパチなど養殖魚に寄生したアニサキス幼虫とその検査法について、食品衛生研究、56 巻 6 号、23-34、2006
  13. 遠藤卓郎、黒木俊郎. クリプトスポリジウム・ジアルジア感染症 - 話題の疾患と治療. 感染・炎症・免疫 35(3), 77-79, 2005.
  14. 遠藤卓郎、八木田健司、泉山信司. いま、知っておきたい話題 クリプトスポリジウム症. 日本醫事新報 No.4236, 33-36, 2005.
  15. 黒木俊郎、泉山信司、遠藤卓郎. [話題の感染症] クリプトスポリジウムの最近の知見. モダンメディア 51(4), 75-80, 2005.
  16. 遠藤卓郎、八木田健司、泉山信司. <特集 ヒトと動物の新興感染症> クリプトスポリジウム症. Medical Science Digest 31(1), 27-30, 2005.
  17. 泉山信司、遠藤卓郎, わが国で発生した *Cryptosporidium* 集団感染に関する考察, Clinical Parasitol., 16, 58-60, 2005.

## 学会発表

### 1. 国際学会

1. Yagita, K., Furushima-Shimogawara, R., Izumiyama, S. and Endo, T.: Determining the number of *Legionella* multiplied in a single amoeba cell. XI<sup>th</sup> International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-Living Amoebae, Czech Republic, 5-9 Sept, 2005.
2. Endo, T., Yagita, K., Izumiyama, S. Hayashi, S. and Takahashi, H. : Retrospective studies on human amoebic encephalitis in Japan. XI<sup>th</sup> International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-Living Amoebae, Czech Republic, 5-9 Sept, 2005.
3. Higashi, K., Hasegawa, S., Hori, H., Otsuka, M., Ishiyama, T. Yagita, K., Izumiyama, S. and Endo, T. : Screening of amoebocidal compounds using paper disk method. XI<sup>th</sup> International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-Living Amoebae, Czech Republic, 5-9 Sept, 2005.
4. Qian B-Z., Sugiyama, H. and Waikagul, J.: *Paragonimus harinasutai* from China: Morphology and Molecular Biology. The Joint International Tropical Medicine Meeting 2005, Bangkok, 30 Nov.-2 Dec. 2005.
5. Rangsiruji, A., Sugiyama, H., Morishima, Y., Kameoka, Y., Thawat, D., Binchai, S. and Ketudat, P. : A new

## 寄生動物部

- species of *Paragonimus* other than *P. westermani* in southern Thailand. The Joint International Tropical Medicine Meeting 2005, Bangkok, 30 Nov.-2 Dec. 2005.
6. Binchai, S., Rangsiruji, A., Ketudat, P., Morishima, Y. and Sugiyama, H. : Morphological and genetic characteristics of Thai *Paragonimus westermani* matured in cat. The Joint International Tropical Medicine Meeting 2005, Bangkok, 30 Nov.-2 Dec. 2005.
  7. Singh, T.S., Singh, D.L. and Sugiyama, H. : Possible discovery of Chinese lung fluke, *Paragonimus skrjabini*, in Manipur, India. The Joint International Tropical Medicine Meeting 2005, Bangkok, 30 Nov.-2 Dec. 2005.
  8. Sugiyama, H., Morishima, Y., Rangsiruji, A., Binchai, S., Ketudat, P. and Kawanaka, M. : Application of multiplex PCR for species discrimination using individual metacercariae of *Paragonimus* occurring in Thailand. The Joint International Tropical Medicine Meeting 2005, Bangkok, 30 Nov.-2 Dec. 2005.
  9. Ohmae, H., Chigusa, Y., Blas, Bl., Socheat, D., Sinuon, M., Kirinoki, H., Matsuda, H., Comparison of schistosoamiasis control programs in Southeast Asia 18<sup>th</sup> International Congress of Malaria and Tropical Medicine, Sep 11-15. 2005 Marseille, France.
  10. Ohmae, H., Asahi, H., Chigusa, Y., Kirinoki, H., Matsuda, H., Management of imported cases of *Schistosomiasis japonicum* infections in Japan, 1<sup>st</sup> International Congress of Travel Medicine and Infectious Diseases, Nov 17-18. 2005 London, UK.
  11. Asahi, H., Investigating factors promoting erythrocytic growth of *Plasmodium falciparum*. American Society of Tropical Medicine and Hygiene 54<sup>th</sup> Annual Meeting, Dec.11-15, 2005 (Washington, DC, USA).
- ## 2. 国内学会
1. 古屋宏二、小村麻子、三和茂、朝倉登喜子、下河原理江子、吉川博康、遠藤卓郎 : 微孢子虫 Encephalitozoon cuniculi の極管に対するモノクローナル抗体の同定、第 38 回日本原生動物学会、平成 17 年 10 月 13 日 (帯広)
  2. 八木田健司、泉山信司、田口一宏、遠藤卓郎 . 国内でヒトより検出されたジアルジアの遺伝子型別、第 65 回日本寄生虫学会東日本支部大会、2005 年、東京
  3. 小村麻子、泉山信司、八木田健司、下河原理江子、遠藤卓郎. *Naegleria fowleri* 総タンパク質の部分アミノ酸配列解析と未同定タンパク質の遺伝子解析 -2D-PAGE データベースの拡充を目指して- 日本原生動物学会 第 38 回大会 (帯広) 10 月 13 日 ~ 15 日
  4. 川中正憲、森嶋康之、杉山 広、荒川京子、木白俊哉、旋尾線虫 型幼虫の生活史と分類学的位置について (1)、第 74 回日本寄生虫学会大会、2005 年 4 月、米子
  5. 杉山広、森嶋康之、荒川京子、川中正憲、木白俊哉、旋尾線虫 型幼虫の生活史と分類学的位置について (2)、第 74 回日本寄生虫学会大会、2005 年 4 月、米子
  6. 須藤幸喜、杉山 広、森嶋康之、村田浩一、川中正憲 : 東京・神奈川の多摩川河川敷で採集したクロベシケイガニからの大平肺吸虫メタセルカリアの検出、第 140 回日本獣医学会学術集会 2005 年 9 月、鹿児島
  7. 杉山 広、森嶋康之、アチャリア・ラングシルジ、スーチーワン・ピンチャイ、パンシン・ケツダット、川中正憲 : マルチプレックス PCR によるタイ産肺吸虫の種鑑別・同定 : メタセルカリアでの検討、第 141 回日本獣医学会学術集会 2006 年 3 月、つくば
  8. 中野由美子、津久井久美子、Biswa N. Mitra、岡田麻美、ぬで島麻衣、徳丸文恵、繁田泰男、野崎智義 (2005) 赤痢アメーバのリソソーム形成における EhRab7 ア

寄生動物部

- イソタイプの解析 (2005) 第 74 回日本寄生虫学会大会 April 8-9, 2005, 米子, 鳥取. 大阪
9. 津久井久美子、中野由美子、Vahab Ali、野崎智義 (2005) 赤痢アメーバの病原機構における Rab7A の役割 (2005) 第 74 回日本寄生虫学会大会 April 8-9, 2005, 米子, 鳥取.
10. 朝日博子、泉山信司、高崎智彦、遠藤卓郎. マラリア原虫の Lactate dehydrogenase 測定法を用いた感染、増殖測定法の応用と改良。第 74 回日本寄生虫学会大会、米子、4/8-9、2005.
11. 中野由美子 (2005) ゲノム情報から観る赤痢アメーバの膜輸送 第 13 回分子寄生虫学ワークショップ 2005 年 8 月 1-4 日 トムラ
12. Tanabe K, Sakihama N, Ohmae H, Kaneko A Evolution of antigen polymorphisms of malaria parasites in isolated populations. 第 7 回日本進化学会, 東京, 8/28, 2005.
13. 大前比呂思、朝日博子、千種雄一、Blas BL, Socheat D, Sinuon M. 東南アジアにおける住血吸虫感染と血中アンモニア値の関連. 東日本寄生虫学会 2005 年 10 月 東京
14. 朝日博子: 熱帯熱マラリア原虫の増殖を誘導する物質とその作様機序 第 73 回日本寄生虫学会大会、2004 年 4 月
15. 泉山信司、黒木俊郎、押部智宏、辻英高、八木田健司、遠藤卓郎 クリプトスポリジウム症の潜伏期間の再検討 日本寄生虫学会 2005.4 米子
16. 泉山信司、遠藤卓郎 我が国で発生した Cryptosporidium 集団感染に関する考察 日本臨床寄生虫学会 2005.6 東京
17. 泉山信司、縣 邦雄、遠藤卓郎 浴槽水における有機物汚染の蓄積に関する考察 環境技術学会 2005.9
18. 泉山信司、八木田健司、藤原正弘、遠藤卓郎 紫外線照射による *Cyclospora cayentanensis* の発育阻止 寄生虫学会東日本 2005.10 東京