

## 6. 寄生動物部

### 部長 遠藤 卓郎

#### 概要

当部においては、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、広東住血線虫などを対象とした疫学調査、分子疫学的解析、検査・診断、予測、予防等々に関する研究が行われている。

第一室においては、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進められた。クリプトスポリジウム等の腸管寄生性原虫類に関しては一貫して水系感染防止の観点から研究が続けられている。*Acanthamoeba* 等の自由生活性アメーバ類に関しては、*Legionella* 関連ならびにアメーバ自体の病原性の両面から研究が進められている。前者では細菌第一部との共同研究により環境水中での宿主アメーバ-レジオネラ汚染制御に取り組んでいる。後者に関しては脳炎の起因アメーバ3種の鑑別・同定方法 (*in situ* hybridization) の改良・開発、ならびにレファレンスラボ機能の維持に努めた。

第二室における研究課題は動物由来寄生蠕虫および食品由来の寄生蠕虫対策を2本の柱としており、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。エキノコックス症研究では糞便内DNA検査試験方法の開発、疫学調査等に関する地衛研との共同研究強化、ならびに国外の浸潤地域(中国)への研究協力を行っている。食品由来寄生蠕虫対策研究においては、肺吸虫の鑑別診断の精度向上に向けて、各種肺吸虫の遺伝子配列の解読と登録を続けている。

第三室においてはマラリア原虫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いる。特に、熱帯地域のみならず一部の温帯地域でも再興感染症として問題となっているマラリアはわが国への侵入が危惧される。昨年に続いて、アジア諸国の研究機関との協力関係強化とネットワーク整備に努め、中国CDCやWHO(WPRO)と三日熱マラリアの対策・防疫に関する国際会議を共催した。また、マラリア薬剤耐性の拡散については、大陸アジアと島嶼部では、そのメカニズ

ムが異なることを分子生物学的に明らかにすると同時に、拡散の数理モデル化にも着手した。また、マラリア検査・診断法の改良をはかるとともに、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。赤痢アメーバ症は、引き続き増加傾向を示しているが、疫学的に従来と異なった傾向が認められ、拡大防止に向けた研究への関与が求められている。

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、インドネシア、中国、ソロモン諸島国、その他東南アジア諸国との研究協力ならびに人材交流が図られた。

人事面では当該年度内に異動は無かった。しかしながら、本年度末から団塊世代が退職を迎えることになり、当部でも両三年中に数名の退職者が予定されている。本年度をもって川中正憲第二室長が退職する。

#### 業績 調査・研究

##### ・疫学

##### 1. 野生ニホンカモシカの原虫類汚染実態調査

岩手県内65頭、秋田県内33頭の野生ニホンカモシカを対象に原虫検査を行った。結果は、*Giardia* 属のみ検出され、*Cryptosporidium* 属は不検出であった。ジアルジア検出率は岩手県の場合6.2%(4/65頭)、秋田県では15.2%(5/33頭)であり、東北地域に生息するニホンカモシカのおよそ10%前後の個体がジアルジアに感染しているものと想定された。16S rRNA 遺伝子による遺伝子型別を行った結果では、検出されたシストは人畜共通感染性型として知られる Assemblage A1 と同定された。今回の調査では感染個体の生息と水源との関連に関するデータは得られなかったため、今後この点を踏まえさらに調査を進める。

[板垣 匡(岩手大学農学部) 八木田健司]

##### 2. 宿主アメーバに対するレジオネラ属菌感染性の定量的解析法の開発

浴槽水等感染源となりうる環境中のレジオネラ属菌に関して、環境中に共存する宿主アメーバに対する感染性

を定量的に解析する目的で、マイクロプレートを用いたアメーバ・レジオネラ属菌感染アッセイ系を考案した。感染性は50%感染菌量 (ID<sub>50</sub>: 50% infectious dose) を指標とし、これを算出するための試料希釈系列、アメーバ株選定、培養、試験数等の実験条件を検討した。本法により通常の培養条件 (BCYE $\alpha$  培地を使用、30、3日間培養) で増殖する菌のID<sub>50</sub>は2-3 cfuと算出された。さらに微妙な培養温度条件の変化がID<sub>50</sub>に影響することを定量的に確認した。これらの結果の再現性は高く、本法により菌の感染性を定量的に解析することが可能となった。

[八木田健司、泉山信司、小村麻子、倉 文明 (細菌第一部)]

### 3. モデル浴槽水中におけるレジオネラ属菌感染性の変動の定量的解析

環境中でのレジオネラ属菌の感染性に関するデータとして、*in vitro* モデル浴槽水 (脱塩素処理水道水、42 ) 中では菌のアメーバに対する感染性が低下するという定性的結果を得ている。これをさらに定量的に解析するためマイクロプレートアッセイ系を開発し、菌の感染性に関する経時変動を検討した。その結果、試験浴槽水に懸濁されたレジオネラは3週間程度にわたり人口培地での増殖性を維持するものの、宿主アメーバに対する菌の感染性は懸濁後1週間でもわずか6%程度にまで低下し、2週間後には2%程度の感染性を維持するにとどまった。これまで、VNC (viable but not culturable) 化したレジオネラは人工培地では増殖できないものの、アメーバ内で増殖性を回復するとされてきたが、今回の結果はこの考えをまったく支持しなかった。

[八木田健司、泉山信司、小村麻子、倉 文明 (細菌第一部)]

### 4. 埼玉県内の野ネズミにおけるエキノコックスの保有状況に関する調査

2005年6月、埼玉県内で捕獲された犬の糞便からエキノコックスの虫卵が検出された。この犬は流行地と関連があり、偶然捕獲されたと推察されたが、この地域においてエキノコックスの生活環が成立している可能性は、皆無とは断言できない。そこで、当該犬が捕獲された河川敷における野鼠類を捕獲し、エキノコックスの保有状況について調査した。野鼠類の捕獲は真冬と真夏を除く、2005年11月29日~2006年10月26日の期間に実施した。当該犬が捕獲された県北の河川敷に、シャーマン式トラップを設置した。捕獲した野鼠類は、衛生研究所の高度安全施設内で剖検し、

肝臓等の臓器におけるエキノコックスの感染状況を調べた。その結果、102頭を捕獲し、その種別はアカネズミ70頭(68.6%)、ハツカネズミ22頭(21.6%)、ドブネズミ7頭(6.9%)、ハタネズミ3頭(2.9%)、であった。いずれの肝臓にもエキノコックスの病巣は認めなかった。

[山本徳栄・近真理奈・増田純一郎・山口正則 (埼玉衛研) 森嶋康之、川中正憲]

### 5. 大阪府内におけるイヌの人獣共通寄生蠕虫類の流行調査

イヌは多くの人獣共通寄生蠕虫類の宿主となる。エキノコックス (多包条虫) もその中の一つであるが、我が国では流行地が北海道のみに限局することから、それ以外の地域では本寄生虫に対して注意が払われてこなかった。ところが最近、北海道から他の地域へ持ち出されるイヌの中にエキノコックス感染個体が存在することが明らかとなった。さらに平成17年には埼玉県で捕獲された放浪犬の1頭にも感染が確認され、エキノコックスの本州への広がりが懸念されている。大阪府は首都圏に次いで北海道との人的・物的交流が緊密であることから、エキノコックス感染犬が持ち込まれる可能性が高いことが指摘されてきた。そこで今年度から人獣共通感染症対策の一環として、府内全域で捕獲されたイヌを対象とし、エキノコックスをはじめとする人獣共通寄生虫相の調査を開始した。

[木村明夫 (大阪府公衛研) 森嶋康之、杉山 広、川中正憲]

### 6. 中国青海省果洛チベット族自治区におけるエキノコックス症の血清疫学的調査研究

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が、この地域における現在までの疫学調査は不十分なものであった。そこで、今年度の調査の第一目的は、チベット族住民のエキノコックス感染状況を明らかにすることに設定した。また、今後の調査を進めるにあたって、それに用いる手法を検討しておく必要があり、特に単包虫症と多包虫症の鑑別を巡る問題がある。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、画像診断を補助或い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、この目的で市販 WB [「Echinococcus Western Blot IgG」(France、LDBIO)] と、部分精製した単包虫胞内液 (Eg AgB-8kD) 及び多包虫原頭節抽出液 (Em16-18kD) を内容とするカクテル抗原を用いた自家製WBとで比較実験を実施し、それぞれのWBの結果について画像診断の結果との関係で検討を行なった。

[川中正憲、荒川京子、森嶋康之、杉山 広、呉献洪・馬雷・劉培運・曾誠・蔡輝霞・馬俊英・王虎（青海省地方病予防控制所）、余森海（中国 CDC）]

#### 7. 中国青海省果洛チベット族自治区における多包虫症感染源の探索

中国西部の青海省では単包条虫および多包条虫による単/多包虫症（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。単包虫症の感染源としてイヌが知られているが、多包虫症については十分な感染源調査がなされていない。そこで果洛チベット族自治区のイヌを対象として多包条虫流行調査を行った。採集されたイヌの糞便は155検体で、殺虫卵処理後、糞便内のテニア科条虫卵をウイスコンシン変法によって回収し、12S rRNA領域あるいは*rml*領域を標的部位とするPCR-RFLP法によって分子同定を試みた。包条虫属を含むテニア科条虫の虫卵は14検体から検出されたが、いずれも単包条虫あるいは胞状条虫と同定され（混合感染を含む）、多包条虫の感染例は発見されなかった。同自治区のヒト多包虫症にはイヌ以外の食肉類が感染源として存在する可能性も示唆され、さらに詳細な調査を進める予定である。[森嶋康之、杉山 広、呉献洪・馬雷・劉培運・曾誠・蔡輝霞・馬俊英・王虎（青海省地方病予防控制所）、余森海（中国CDC）、川中正憲]

#### 8. 平成18年度神奈川県におけるアライグマ回虫調査過程でのタヌキ回虫の検出

神奈川県は、首都圏にあって野生アライグマの増加が著しい地域であることから、我々は、8カ年以前よりアライグマ回虫についてフォローしてきた。今年度は、288件の糞便が検査のために駆除業者から直接感染研に送付され、また市町からの行政レベルでのルートを通じて神奈川県衛生研究所においても64件の糞便検査が実施された。現在までの調査において、捕獲アライグマからはアライグマ回虫は検出されていないが、タヌキ回虫の寄生例が見ついている。アライグマ回虫卵の形態はタヌキ回虫卵と類似している為、これらの種鑑別には成虫を採取してその形態的特徴を確認する事が望ましいが、成虫が採集出来なかった場合でも、虫卵由来のDNAによるPCRを実施し遺伝子を解析する事で同定が可能である。タヌキ回虫は、相模原市と鎌倉市からの各1頭、横須賀市からの2頭を加えて、現在までに捕獲アライグマ4頭からその寄生例が確認された。タヌキ回虫は、イヌ回虫と同じトキソカラ属で、ヒトに対してイヌ回虫程度の幼虫移行症を起こしうると考えられているが、アライグマ回虫ほどの重篤な障害を起こす可能性は低い。従って、捕獲アライグマから回虫卵を検

出した際には、必ずタヌキ回虫卵との鑑別を行うことが必要になったと云える。

[川中正憲、荒川京子、杉山広、森嶋康之、稲田貴嗣（神奈川県衛生研究所）]

#### 9. 食中毒事例の調査を契機に佐賀県で見出された宮崎肺吸虫の新分布地

肺吸虫症の集団感染事例（感染者4名）が、2004年秋に佐賀県で発生したことは報告した。原因食品はモクズガニの老酒漬で、カニは県北西部を流れる玉島川の五反田地区（河口から約3.5km上流：肺吸虫の寄生率は19%）で捕獲されていた。本虫の分布状況を知るために、更に上流にある仁部地区（河口から約7km）でもモクズガニを捕獲し、検査を行なった。その結果、28匹中の1匹から肺吸虫が見つかった（寄生率4%）。この仁部地区では、サワガニ（40匹）も採集された。しかも1匹から、ウェステルマン肺吸虫ではなく宮崎肺吸虫のメタセルカリアが検出された。本調査により、佐賀県の玉島川には、2種類の人体寄生性肺吸虫が分布していることが明らかとなった。

[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）、川上 泰（麻布大学）]

#### 10. 輸入マラリア標本を用いた東南アジアにおける薬剤耐性遺伝子の遺伝的多型の解析

東南アジアにおけるクロロキン耐性マラリア原虫の遺伝的多型を解析するために、感染研が保存してきたマラリア輸入例の標本からDNAの回収を行った。標本は1984年から1998年のマラリア患者薄層標本であり、そのうち東南アジアからのサンプルとして29例の配列決定に成功した。クロロキン感受性型（野生型）を示したサンプルは、1985年のフィリピンからの輸入例、1例のみであり、残りの28例は全てクロロキン耐性型（変異型）を示した。PfCRT タンパク質の72から76番目のアミノ酸配列は、野生型はCVMNKであるが、CVIETならびにSVMNTを示すものはインドシナ半島型、パプアニューギニア型として2002年に報告されているものと同一であった。また、インドシナ型の亜型と考えられるCVIDTという配列を有する株がタイ/ラオスからの1998年の輸入例2株において認められた。また、新規の配列CVMNNを有する株を1986年のインドネシアからの輸入例で発見した。以上の株は全て、野生型または変異型のみを示したが、1998年のフィリピンからの輸入例、1例において、30%がインドシナ半島型ならびに70%が野生型の混合感染を示した。クロロキン耐性の原因遺伝子であるPfCRTのアミノ酸配列の多型は、2000年以降に

報告されている多型を支持していた。2000年以前のサンプルを用いた PfCRT の多型は殆ど報告例がなく、本研究結果はクロロキン耐性マラリア原虫の世界的流行を2000年以前のサンプルを用いて DNA の存在により証明したものである。

[ 中野由美子、亀井喜世子( 帝京大学医学部 ) 河津信一郎・石上盛敏・狩野繁之( 国立国際医療センター研究所 ) 田辺和裕( 大阪工業大学 ) 大前比呂思 ]

#### 11. マラリアに対する治療的介入と薬剤耐性の蔓延に関するモデル化

クロロキンに耐性を示すマラリア原虫はアジア太平洋地域に拡散しており、従来から治療的介入が薬剤耐性マラリアの蔓延を招く可能性は指摘されている。マラリア制圧が進んだソロモン諸島のモデルを通して、治療的介入の有用性と薬剤耐性株がマラリア流行拡大に果たす役割をシミュレーションにより予見した。治療的介入のカバー率を50%程度とすると、15年経過後耐性株の占める割合は15%以上となることがわかった。また、クロロキン耐性株の侵入により、経年的な治療的介入のマラリア流行に及ぼす影響を調べたところ、開始時に感染率24%だったのが、侵入した場合とそうでない場合とを比較すると、1年目が17.6%と16.7%、2年目が13.9%と12.3%、3年目12.5%と10.1%と推移しその差は広がっていくことがわかった。さらに、介入対象年齢について検討したところ、薬剤耐性の程度に関わらず、6-15歳を対象年齢とした治療的介入は、全年齢層の感染率の減少に大きく寄与するが、11-15歳を対象とした治療的介入は、全年齢層の感染率の減少にあまり影響を与えないこともわかった。

[ 大前比呂思、石川洋文( 岡山大学環境科学研究科 ) ]

#### 12. マラリア対策の進捗と疫学的指標の変化に関する研究

2005年度に引き続き、ソロモン諸島国におけるマラリア感染状況の変化を雨季と乾季で比較して調査し、治療的介入の効果について検討するとともに既存の疫学的指標の有用性と限界について検討した。ソロモン諸島国は、1990年代前半、アフリカと並ぶマラリアの高度浸淫地と言われたが、対策の成功によって、1997年以降状況は大きく改善した。今世紀に入ってから、民族紛争などで国家的マラリア対策が困難な時期が続いたが、現在に至るまで明らかなマラリア再興の兆候を見せることなく経過している。昨年度、2006年2月( 雨季 ) Sentinel Site として観察している村落で横断的一斉調査では、マラリア

感染率は30%以上となり、1996年の調査と同様の高い感染率を示したが、三日熱マラリアが感染者の60%以上を占めていた。2006年9月( 乾季 ) の調査では、マラリア感染率は、22.7%まで減少したが、熱帯熱マラリアに比して三日熱マラリアの減少は少なかった。住民の80%以上に対して検査を行い、三日熱マラリア感染者に対してはクロロキンにプリマキンを加えた治療的介入を行ったところ、2007年2月( 雨季 ) の調査では、マラリア感染率は、17.4%まで低下し、三日熱マラリアも熱帯熱マラリアも同様に低下した。また、このような対策の進展に伴い、発熱や脾腫といった臨床症状による疫学的指標だけでは、実際のマラリア感染状況が把握できない可能性が示唆された。

[ 大前比呂思、亀井喜世子( 帝京大学医学部 ) ]

#### 13. 国内におけるアメーバ赤痢患者発生動向の解析

近年アメーバ赤痢の患者は増加傾向を示し、18年度の国内での年間患者発生数は700例を数え、寄生虫疾患の中でも最も多い値を示した。感染症情報センターと共に病原体検出情報( IASR )の特集でアメーバ赤痢を取り上げ、感染経路、病態、治療法等について紹介した。また特集関連記事として、所外のアメーバ赤痢を専門とする研究者5人に、より詳細なトピックを論じて頂いた。以上のIASRの情報は情報センター・メディア感染症情報交換会にて発表し、メディアに分かりやすく紹介した。

[ 中野由美子、大前比呂思、遠藤卓郎 ]

### ・分類・同定

#### 1. リスザルから分離したミクロスポリジア

*Encephalitozoon cuniculi* 遺伝子 III 型のサブタイプング

前回、斃死したリスザルの脳、肺、肝、脾、腎の各臓器より Cellfluor 蛍光染色陽性のミクロスポリジア様胞子を検出し、SSU-rRNA 遺伝子領域及び ITS 遺伝子領域のヌクレオチドシーケンス分析からすべての分離株は 5'-GTTT-3' リピート数4個の III 型に属する *E. cuniculi* であることを報告した。今回は、同分離株の PTP ( 極管タンパク ) 遺伝子領域を調べ、既報の III 型とは異なり、寧ろ II 型に酷似した配列であることを明らかにした。一方、SWP-1 ( 胞子壁タンパク ) 遺伝子領域については、既報の遺伝子 I、II、III 型とは少し異なる配列であることを明らかにした。これらの結果から、我々が分離したリスザル由来の *E. cuniculi* 病原体は ITS 遺伝子 III 型の新しいサブタイプであることが示唆され、播種性感染の原因となる III 型感染の分子疫学の理解の一助となると考えられた。

[ 朝倉登喜子、古屋宏二、中村進一・大田真理子・宇根有美(麻布大学)、泉山信司、八木田健司 ]

## 2. 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

感染症発生動向調査事業年報の統計によれば、ジアルジア症報告数は2000年以後100例前後でほぼ一定に推移しており、国内感染例が約40%を占める。国内での感染様式は不明であり、これを解明するために分子疫学的情報の蓄積を進めている。今回、国内感染が強く疑われる2例のジアルジア症例に関してDNA診断を行い、1例はヒト特異的な型として知られる Assemblage A2、他は人畜共通感染性とされる Assemblage B4 の感染であった。2例ともに HIV 陽性者であった。これまで国内例としては別の人畜共通感染性型である Assemblage A1 の感染を明らかにしている。

[ 八木田健司、泉山信司、小村麻子 ]

## 3. 水道水中の線虫類の遺伝子型別

水道水中に発生する線虫類は不快生物として扱われているが、種別あるいは病原性の有無については知られていない。当該研究では浄水場配水地より得た試料より顕微鏡下で線虫を単離した後、18S rRNA を標的としたPCRと塩基配列決定を行なった。その結果、検出された線虫類に人体寄生性線虫類は認められなかった。最も分離頻度が高かったのは *Plectus* sp. の30% (13/44回) で、登録塩基配列との一致率は99% (899/908bp) であった。なお、これら線虫類から病原性を有する細菌並びにウィルスは分離されなかった。

[ 泉山信司、黒木俊郎(神奈川県衛生研究所)、片山浩之(東京大学大学院工学系研究科) ]

## 4. cpgp40/15 領域を用いたクリプトスポリジウムの分子疫学

クリプトスポリジウムは激しい下痢を引き起こす消化管寄生性原虫で、強い塩素耐性を有することから水道を介して水系感染することで問題とされている。糞口感染であることから食品、接触による感染経路も存在するが、経路の特定や疫学調査には分子疫学の精度向上が求められている。従来のクリプトスポリジウムの分子疫学は専らヒト型あるいはウシ型の別を判定することが行われ、18S rDNA、Poly-T 等の領域が用いられていた。わが国で発生しているクリプトスポリジウム症はヒト型を中心としており、特に1996年の埼玉県、2002年の北海道の事例、2004年の長野県の事例ではいずれもヒト型で

あった。ヒト型をより詳細に型別し、分子疫学の精度を向上させることが現在求められている。当該研究では cpgp40/15 遺伝子に着目し型別を進めた結果、多様な配列が得られた。系統樹解析ではこれらの事例が別々のクラスターに分岐し、従来に比較して高解像な型別が可能となった。

[ 泉山信司、小村麻子、亀岡洋祐((独)医薬基盤研究所生物資源研究部)、八木田健司 ]

## 5. 肺吸虫の由来地判別に向けての検討：中国産肺吸虫を用いた解析

在日外国人が淡水産・汽水産のカニを用いて、出身地固有の料理を作り、非加熱で賞味して肺吸虫に感染する事例が増加の傾向にある。このような症例の再発を予防するには、原因となる肺吸虫の種類や由来(本邦産か外来か)を知ることが重要である。この目的のために、各地で肺吸虫材料を入手し、遺伝子配列の解読と登録を続けてきた。今回は、中国・浙江省にあるウェステルマン肺吸虫症の流行地に出掛け、淡水産のカニからメタセルカリアを分離し、解析を試みた。また同一種のカニから分離され、約10年間アルコール(70%、室温)に浸漬されていたハリナスタ肺吸虫(タイと中国に分布、我が国には分布しない)についても、検索した。まずウェステルマン肺吸虫は、リボソームDNA・ITS2領域(363bp)の配列が、本邦産と完全に一致した。しかしながら、ミトコンドリアDNA・*coxI* 遺伝子(部分長、396bp)では、6箇所塩基に違いが認められ、この相違に基づいて両者は容易に鑑別された。一方のハリナスタ肺吸虫では、ITS2領域の配列が他の日本産肺吸虫(ウェステルマン肺吸虫、宮崎肺吸虫、大平肺吸虫)と大きく異なり、鑑別は極めて容易であることが分かった。しかしながら、タイ産のハリナスタ肺吸虫とは、配列が完全に一致した。両者の鑑別には、ミトコンドリアDNA・*coxI* 遺伝子(396bp、45箇所相違)の解読が必要であった。

[ 杉山 広、森嶋康之、川中正憲、銭 宝珍(浙江医学科学院・中国) ]

## 6. インドで得た肺吸虫材料の形態観察と分子同定

人獣共通寄生蠕虫症の原因種として重要視されるウェステルマン肺吸虫は、オランダ・アムステルダム動物園で死亡したベンガルタイガー由来の虫体に対して、今から約130年前に最初に命名された(Kerbert, 1878)。インドでは、それ以前に *Paragonimus compactus* が記載され(Cobbolt, 1859)、その後には *P. edwardsi* が報告された(Gulati, 1926)が、これらはなぜか無視され、もっぱらウェステルマン肺吸虫が人獣に寄生し病害を与えていると考えられてきた。

今回、インド東北部のマニプール州に分布する2種類の肺吸虫について、形態学的特徴を再検討し、また塩基配列を解読して、分子同定と系統関係の解析を行う機会を得た。その結果、これらはウェステルマン肺吸虫ではなく、スクリアピン肺吸虫とヒロクチ肺吸虫である事が確認された。これら2種の肺吸虫が、インドでどのような生活環を営み、人獣にどのような病害を与えているのか、検討したいと考えている。ウェステルマン肺吸虫の探索も続ける予定である。[杉山 広、アチャリア・ラングシルジ(スリナカリンウイロート大学・タイ)、シャンティクマール・シン(シッキム医科大学・インド)]

## ・生理・生化学・分子生物学

### 1. 赤痢アメーバにおけるコレステロールの役割

赤痢アメーバの生育の必須因子であるコレステロールの取り込み機構と細胞内での役割を解明することを目的とし、細胞内のコレステロールの可視化を行った。まず赤痢アメーバ内でのコレステロールの局在を観察するために、遊離コレステロールを filipin で染色したところ、赤痢アメーバ内で遊離コレステロールは主にリソソームに蓄積しており、ヒトや他種生物とは異なる局在像を示した。また取込みの動態を NBD-cholesterol を用いてパルスチェイス実験を行ったところ、細胞内の小さな小胞に組み込まれ、次第にリソソームに送られることが分かった。さらに宿主のコレステロールにおける病原性の役割を調べるために、宿主細胞を Methyl-beta-cyclodextrin で処理を行い、宿主からコレステロールを減少させると、赤痢アメーバによる貪食効率が低下することが観察された。また、肝膿瘍から単離された病原株はリソソームならびに細胞内のコレステロール量が増大していることが分かった。よって、赤痢アメーバの病原性の理解にコレステロールの細胞内輸送の解析が重要であることを示した。

[中野由美子]

## ・免疫

### 1. ミクロスポリジア *Encephalitozoon cuniculi* 胞子壁及び極管に対する抗体の検出のためのマイクロプレート酵素免疫染色法の改良工夫

ミクロスポリジア *E. cuniculi* の胞子壁及び極管に対するマイクロプレートを利用した高感度抗体測定法を改良工夫した。まず、HF strain (genotype I) を RK-13 細胞 (ATCC CCL-37) に感染馴化させ、感染 RK-13 セルシートから産生離脱した胞子を集めた(感染細胞を含む)。次に、約  $4 \times 10^6$  の細胞外胞子 (MEM 培地—10%牛胎児血清

添加—に懸濁)を 96 穴のマイクロプレートの各ウエルに接種し、5%炭酸ガス下 35 °C で 3 日間培養した。培養後 10%フォルマリン液で固定し 1 ウエル当り 100 以上の発芽胞子を含むプレートを試験に供した。被検血清中の抗体は、peroxidase 標識二次抗体あるいは protein A/G を利用したサンドイッチ酵素抗体法に基づき測定した。一次反応は被検血清を 50 倍から 2 倍階段希釈し、その 100  $\mu$ l を各ウエルに添加して室温 1 時間行った。二次反応は酵素標識二次抗体あるいは protein A/G を 3,000 ~ 5,000 倍に希釈して同上条件下で行った。吸着酵素の発色にはアミノエチル・カルバゾール基質液を使い、胞子壁陽性の場合、ウエル内のほとんどの胞子が褐色に全体的に濃染した。極管陽性例では胞子から突き出た赤褐色鞭毛様構造物として認められた。本法によって自然感染ウサギからの血清試料を測定した場合、多くは IgG 抗体価 1:3,000 ~ 1:100,000 を示した。胞子壁及び極管に対する抗体の同時測定のほか、IgG / IgM / IgA の分別測定が可能のため、血清疫学研究にあるいは臨床検査に有用な試験法と思われた。

[朝倉登喜子、古屋宏二]

### 2. わが国の健常人及び HIV 感染者の血清におけるミクロスポリジア *Encephalitozoon cuniculi* 胞子壁に対する IgG、IgM 及び IgA 抗体の検出

これまで、我々はミクロスポリジア *Encephalitozoon cuniculi* がわが国で飼育されているウサギ及びリスザルに高度に流行していることを血清疫学的に明らかにし、また、血清抗体陽性ウサギ及びリスザルから遺伝子 I 型及び III 型をそれぞれ分離した。しかし、動物の有病地における健常人への曝露影響については調査が十分に行われていなかったことから、高感度なマイクロプレート酵素免疫染色法を応用して血清疫学的研究を行った。地域住民 (180 名) 及び献血者 (200 名) の血清中抗胞子壁抗体を調べたところ、50 倍以上の IgG 抗体は 2 名、IgA 抗体は 1 名、IgM 抗体は 4 名に認められた。けれども、抗体価は何れも 400 倍以下であり、活性も弱いことから血清学的意味は少ないと思われた。このように、健常人の抗胞子壁抗体保有率は予想より非常に低いことが明らかとなった。一方、CD4 細胞数 250/ $\mu$ l 以下の HIV 感染者 (51 名) では IgG 抗体は 2 名、IgA 抗体は 0 名、IgM 抗体は 7 名に認められた。1 例は比較的高い IgG 1:800 の抗体価を示した。海外で本病が免疫不全の AIDS 患者で多発していることから、HIV 感染者については今後更に例数を増やし調査する必要があると思われた。

[朝倉登喜子、小村麻子、古屋宏二、工藤伸一(北海道

立衛生研究所) 杉浦互(エイズ研究センター) 東寛(北海道赤十字血液センター)]

### 3. わが国の健常人及び HIV 感染者の血清におけるミクロスポリジウム *Encephalitozoon cuniculi* 極管に対する IgM 抗体の検出

マイクロプレート酵素抗体染色法を応用して

*Encephalitozoon cuniculi* 発芽胞子から突出した極管に対する健常人及び献血者の血中抗体を検索した。抗極管 IgG 抗体は健常人 380 名中 4 名に検出されたが何れも反応性は弱いと思われた。抗極管 IgA 抗体は全例で不検出であった。けれども、抗極管 IgM 抗体が 380 名中 138 名 (36%) に検出された。20 歳より若い年齢群では 41 例中 24 例 (59%) が陽性となり、年齢が上がるにつれ陽性者は有意に減る傾向を示した。抗極管 IgM 抗体は年齢が 30 歳以下で CD<sub>4</sub> 細胞数が 250/ul 以下の 21 名の HIV 感染者には全く検出されなかった。以上の血清疫学的結果は、発芽した胞子から突出した極管と強く反応する液性の抗極管 IgM 抗体が健常人血清に存在していることを明らかに示していると共に、このような抗体は防御免疫の一端を担っているかもしれないことを示唆するものと思われた。

[小村麻子、朝倉登喜子、古屋宏二、工藤伸一(北海道立衛生研究所) 杉浦互(エイズ研究センター) 東寛(北海道赤十字血液センター)]

### 4. マウス抗 *Encephalitozoon cuniculi* 極管モノクローナル抗体のエピトープ認識とイムノグロブリン・クラスの決定

前回、ハイブリドーマ技術によってマウス免疫脾細胞とミエロマ細胞 p3U1 との融合細胞から *E. cuniculi* 発芽胞子突出 - 極管と特異的に反応する 3 種類のモノクローナル抗体 (MAb1、MAb2、MAb4) を作製したことを報告した。今回、2D-イムノプロットングによるエピトープ認識部位に関する解析を更に進め、MAb1 及び MAb2 抗体は 52 kDa PTP1 とそのアイソフォーム及び 50 kDa 以下の低分子スミア様スポット群を認識するが、MAb4 抗体は 52 kDa PTP1 とそのアイソフォームのみを認識することが分かり、少なくとも *E. cuniculi* PTP1 上には“MAb1 あるいは MAb2 反応性”のエピトープと“MAb4 に反応性”のエピトープが存在していることを明らかにした。また、NaOH 処理試験とレクチン結合性試験によって、何れのものモノクローナル抗体認識部位も糖質性のエピトープでなくタンパク質性のエピトープであることが判明した。また、これまで不明瞭であったこれらモノク

ローナル抗体の Ig クラスは全て IgE であることが決定され、*E. cuniculi* 感染の病態にアレルギー・免疫学的側面がある可能性が示唆された。

[古屋宏二、工藤伸一(北海道立衛生研究所) 三和茂(イムノバイオン株式会社) 小村麻子、泉山信司、八木田健司]

### 検査・診断

1. 粉体ろ過によるクリプトスポリジウム濃縮法の開発  
水道水を介したクリプトスポリジウム集団感染防止に向けて、検食の保存と同様のシステムとして浄水場等で 20L の水道水の 2 週間保存が勧奨されている。そこで、多量の水道水のろ過濃縮と、迅速なオーシストの回収を目的としたケーキろ過装置(粉体を重積してろ過層としたもの)の開発を行った。ケーキ層の素材には多孔質の微粒子を用い、粉体ケーキにより捕捉される粒子の粒径(半径)は粉体粒子の半径を  $r$  とした場合、 $r \times (2/3^{1/2} - 1)$  で得られる。また、酸溶解性の粉体を用いることで、迅速な捕捉オーシストの回収を可能とした。その結果、濃縮試料は小型のケーキろ過層装置ごと冷蔵庫に保存することができる。本件は特許申請された。(特願 2006-211340)

[泉山信司、遠藤卓郎、大内一敏(東洋濾紙(株)技術センター)]

### 2. クリプトスポリジウムとジアルジア検出用 Lamp 法の交差反応性の検討

Lamp 法は複数のプライマーを使用することにより PCR 法に比べて特異性が高い利点があるが、実際の反応において全ての偽陽性が否定できるものではない。当該研究ではすでにクリプトスポリジウム並びにジアルジアを検出するプライマーセットを報告しているが、さらにプライマーの改良を行なった。河川水 DNA 抽出物由来の PCR 産物より作成したプラスミドに対してクリプトスポリジウム LAMP 試薬を用いたところ、プラスミドが  $6 \times 10^7$  copies/test という高濃度で増幅時間を長時間(約 60 分)とした場合に陽性反応を示すことが判明した。プラスミドの塩基配列と LAMP プライマーの配列関係を精査し、プライマーの配列に修正を加えることで、クリプトスポリジウム属との特異性を高めた新しい LAMP プライマーセットを構築した。旧プライマーセットと比較して、新プライマーセットは河川濃縮水由来プラスミド DNA との反応が最少化され、さらに主反応の反応性が向上した。ジアルジアの Lamp セットでは河川水に存在する *Peridinium* 属、*Octomitus* 属の藻類と反応しないことが確認された。加えて、その他の原虫として *Trichomonas*、

あるいはルーメン原虫を多量に含むウシの糞便由来 DNA と反応しないことを確認した。いずれのプライマーセットも 0.4 個の (オー) シストからの検出が可能であった。

[ 泉山信司、百田隆祥 ( 栄研化学生物化学研究所 ) ]

### 3. Lamp-MPN 法の検討

Lamp 法は PCR 法に代わる国産の核酸増幅技術として期待されているが、専ら陽性・陰性の定性試験に用いられている。環境中の微生物試験への適用を考えた場合、単に定性的な存否判定では十分といえない。一般に、水中における *Cryptosporidium*、*Giardia*、細菌類等々の微生物の存在量は対数正規分布を示すものと考えられている。当該研究では Lamp 法における定量性の確立を目的として Lamp 法と MPN 法の組み合わせ試験を考案し、*Cryptosporidium* 並びに *Giardia* を用いて検討を行なった。少数のオーシスト並びにシストを用いて凍結融解とタンパク質溶解処理による鑄型調製を行なった後、Lamp 反応液と混合し、複数のチューブに分注した。Lamp 反応の結果はチューブごとに陽性・陰性が分かれ、MPN 計算が可能であった。Lamp 法の適用範囲の拡大が期待される。

[ 泉山信司、小村麻子 ]

### 4. 肺吸虫症の血清診断簡易キットの開発

肺吸虫症の簡便な免疫血清診断を目的に、免疫クロマトグラフィ法に基づく診断キットを作製し、本邦の肺吸虫症患者 ( ウェステルマン肺吸虫症と宮崎肺吸虫症 ) に適用可能であるか検討した。その結果、キットの作製に用いた抗原の由来種と肺吸虫症患者の原因種とが一致した場合には、的確な診断結果が得られる事が明らかとなった。一方、抗原の由来種と肺吸虫症の原因種とが異なる ( 異種の抗原で診断した ) 場合には、診断結果が一定しなかった。この場合、抽出粗抗原に替えて ES 抗原を用いると、非特異的な反応が減衰し、診断の特異性が上昇した。またプロテイン A が抗 IgG に替わる検出プローブとして使用できる事が明らかとなり、動物への本キット利用の道が開けた。現在、各種肺吸虫に由来する ES 抗原を調製中で、これを用いたキットを作製する予定である。また中性システインプロテアーゼなどのリコンビナント・タンパクも抗原とする予定で、性状解析を進めている。

[ 杉山 広、荒川京子、森嶋康之、川中正憲、銭 宝珍 ( 浙江医学科学院・中国 ) ]

### 5. アニサキス・アレルギー患者の診断と病態鑑別

魚食後の食物アレルギーは、その多くが魚介類に寄生するアニサキスを原因とすることが知られている。このようなアレルギー患者を正確に診断し、病態を鑑別して予後判定するには、これに適したアレルゲンの調製が必要となる。そこで、標的分子として日本産アニサキスからクローニングされた 21kDa のアレルゲン ( いわゆる Ani s 1 ) を選び、リコンビナント・タンパクの形で調製した。このアレルゲンに対する患者血清 ( 13 検体 ) の反応性をウエスタンブロットで調べたところ、IgE と IgG が共にリコンビナント・アレルゲンと反応したものの 1 検体、IgE のみが反応したものの 1 検体で、共に反応しないものが 11 検体あった。リコンビナント・アレルゲンに対するアイソタイプ別の反応性と、患者の病態との関係を詳細に比較検討すれば、アニサキス・アレルギーの診断や病態鑑別・予後判定がより正確になると考えられた。

[ 杉山 広、荒川京子、森嶋康之、川中正憲 ]

### 6. 包条虫属終宿主を対象とする糞便内 DNA 検査法の感度に関する検討

イヌの包条虫症 ( 四類感染症 ) の病原体診断の一つに病原体の遺伝子の検出がある。これは糞便中に排泄される片節や虫卵等の遺伝子を対象とする糞便内 DNA の検査であり、虫卵が含まれるパテント期の感染の場合は十分な感度を示すことが報告されている。しかしながら、プレパテント期の感染を診断した際の感度は明らかでない。そこで単包条虫実験感染動物から経時的に採取した糞便を用いて感度の評価を行った。糞便内 DNA の抽出には市販の糞便専用カラム ( QIAamp DNA Stool Mini Kit, QIAGEN ) を用い、12S rRNA 領域を標的部位とするプライマーペア ( P60.for/P375.rev ) を用いて検出を試みたところ、感染翌日には早くも陽性を示したものの、その後は偽陰性が頻出し、感染 27 日後までの全感染期間を通じての感度は 26% であった。プレパテント期の感染をより正確に診断するためには DNA の抽出法を改善する必要がある。

[ 森嶋康之、杉山 広、川中正憲 ]

### 7. セルカリア皮膚炎の一例

47 歳、女。主訴：右手背の紅色結節。千葉県松戸市在住。6 月 3 日水田の除草作業を行った。同日より、右手背に紅色丘疹が出現したため、6 月 5 日みさと健和病院皮膚科受診。精査のため、6 月 6 日当科紹介受診。現症：右手背および指背に径 1cm までの紫紅色丘疹と浮腫性紅斑が散在。紅斑中央部には刺し口様変化を認めた。病理組織所見：表皮および真皮乳頭層上層の著明な浮腫により水疱形成を認め、好中球と赤血球が浸潤。真皮中下

層～脂肪織内に付属器および血管周囲へのリンパ球を主とした細胞浸潤を認めた。虫体は認められなかった。検査所見：CRP 陽性。血算では特別な異常なし。日本住血吸虫セルカリアを用いた間接蛍光抗体法にて陽性。以上よりセルカリア皮膚炎と診断した。水田で作業をした患者の夫も手や下腿に同様の皮疹が同時期に出現していた。水田は近年農薬を使用せずカモ、ムクドリなどの鳥類が多く飛来しており、鳥類住血吸虫によるセルカリア皮膚炎と考えられた。

[ 河野志穂美・五十榎健（東京警察病院）、川中正憲、庄司道子（みさと健和病院） ]

#### 8. *in situ* hybridization による *Entamoeba histolytica* 膿瘍の検出・同定

昨年度、自由生活性アメーバに起因する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。自由生活性アメーバには *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。今年度は寄生性アメーバである赤痢アメーバ *Entamoeba histolytica* に起因する膿瘍を判別するため *in situ* hybridization のプローブを作製した。赤痢アメーバの rRNA 遺伝子 (GenBank Acc No. X64142) を自由生活性アメーバと比較し、赤痢アメーバ特異的な領域 (1038-1077bp, 1623-1662bp) に相当するプローブを作製した。その結果、固定した培養赤痢アメーバ細胞で特異的な染色像を得ることができ、一方この染色では自由生活性アメーバ特異的なプローブではシグナルは得られなかった。

[ 中野由美子、泉山信司、八木田健司 ]

#### 9. マラリア原虫の薬剤耐性モニタリングに関する研究

熱帯熱マラリア原虫の分化増殖の測定、特に分裂体形成能を計測するために、フローサイトメトリー法 (Flow cytometry, FCM) を適用し、現行のギムザ染色後に検鏡する方法と比較した。その結果、フローサイトメトリー法で計測したマラリア感染赤血球の蛍光強度の変化とギムザ染色後に顕微鏡を用いて観察計測した赤血球内の熱帯熱マラリア原虫の核数変化は、よく一致することがわかった。また、クロロキン存在下での分裂体形成経過の観察では、強い蛍光を発するマラリア感染赤血球 (H-F1) のみが、クロロキンの薬剤作用と相関することがわかった。同調培養 16～24 時間における分裂体形成に対するクロロキンの抑制効果 (EC50) は、FCM 及びギムザ法と

もに、44 時間培養後に得られるパラシテミアを基準にした 50% 増殖抑制効果とよく一致した。さらに FCM はメロゾイト数の計測を可能にし、マラリア原虫の赤血球内ライフサイクルが一周した際に放出されるメロゾイト数は、マラリア原虫の分化増殖能や赤内型マラリア原虫に対する薬剤作用を鋭敏に反映する指標となることが判明した。

[ 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効果  
大型淡水性二枚貝のイケチョウガイを利用した下水処理水等の生物浄化システムを検討しており、本年度はフィールド試験に向けての予備試験を行った。設置予定の下水処理場最終沈殿地において、季節的な水質学的変動はあるものの、それらは貝の生存には影響せず周年にわたる飼育が可能と考えられた。沈殿地でオーバーフローする処理水の上昇圧に対して貝の排泄する糞便は沈降性であり、糞便中に取り込まれた原虫類は、処理水中より除去され得ることが示された。貝による処理水ろ過効率の試算として、沈殿地における処理水量約 1,600 t/日、貝のろ過速度 10 L/時、貝の飼育用ケージ (貝 24 個体を収容) を 132 ケージ使用した場合、約 48% の処理水 (760t) が貝によりろ過されることが示された。

[ 泉 敏彦 (北海道立衛生研究所)、八木田健司 ]

#### 2. 循環式浴槽における濁度と過マンガン酸カリウム消費量の推移に関する考察

浴槽水の水質基準は  $\text{KMnO}_4$  消費量 (有機物汚染) が 25mg/L 以下、濁度が 5 度以下と規定されている。循環式浴槽システムでは有機物汚染対策として“生物ろ過”と称する微生物を繁殖させたろ過槽 (活性汚泥層) を設置している。ところがこのろ過層は宿主アメーバの繁殖の場となり、ひいては最大の *Legionella* の供給源となることが指摘されている。当該研究では、現行の浴槽水の管理方法を遵守することで  $\text{KMnO}_4$  消費量はおおよそ 5～10mg/L と基準値よりもはるかに低い値をとることを数理モデルにより説明した。すなわち、不要な“生物ろ過”装置を設置することで、煩雑な掃除や洗浄のための余計な経費を掛けていると言うのが現状である。一方、濁度については低い除去能力のろ過装置の設置により基準値を満たすことが示され、浴槽システムの簡素化が宿主アメーバ - レジオネラ問題の根本解決につながるものと確信する。現在、入浴施設の営業者に対する啓発活動を展開中である。

[ 遠藤卓郎、泉山信司、縣邦雄（アクアス（株）つくば総合研究所）]

### 3. 珪藻土ろ過と塩素管理の併用による循環浴槽水の微生物汚染制御

循環式浴槽におけるレジオネラ汚染問題はバイオフィルム問題と言い換えることができる。主にろ過装置において多量の微生物（細菌 - 宿主アメーバ - レジオネラ）が発生することによる。そこで、使い捨てろ材を用いる珪藻土ろ過装置に着目し、その有効性を検討した。実験条件を、1) ろ材の毎日交換、2) 浴槽水への適量の塩素（0.2~0.4 mg/L）注入、3) 週1回の配管洗浄の励行としたところ、長期間（21日間）にわたり宿主アメーバを含む微生物汚染が防げることが示された。今後は入浴施設への普及・啓発が重要と考える。

[ 杉山寛治・大畑克彦（静岡県環境衛生科学研究所）、八木田健司、泉山信司 ]

## 特許

水中浮遊粒子のろ過回収用フィルタならびにこれを用いた水中浮遊粒子のろ過回収方法および水質の管理方法（特願 2006-211340）

[ 遠藤卓郎、泉山 信司 ]

## 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 27 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、大前比呂思 ]

### 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。

[ 八木田健司、泉山信司 ]

## 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）により実施している。抗原として、線虫類 6 種（日本顎口虫、犬回虫成虫卵、アニサキス、豚回虫、犬糸状虫、広東住血線虫）

糸虫類 3 種（広節裂頭糸虫、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 14 検体の検査依頼を受けたが、抗体陽性は 4 件、陰性は 10 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抗原：1 件、トキシカラ抗原：1 件、犬糸状虫抗原：1 件、ブタ回虫抗原陽性のケース：2 件であった。

[ 荒川京子、杉山 広、森嶋康之、川中正憲 ]

## 国際協力関係業務

### ・アジア・太平洋地域における三日熱マラリアの疫学と対策に関する国際会議の共催

アジア・太平洋地域において、大きな問題となっており三日熱マラリアの研究や対策のネットワーク作りを進めるため、中国 CDC と共催して、上海にて国際会議を行った。中国、韓国、北朝鮮、インドネシア、フィリピン、タイ、カンボジア、ソロモン諸島国の 9 カ国から 14 研究機関、さらに WPRO、SEARO、EMRO の担当者との出席を得た。薬剤耐性の熱帯熱マラリアの拡がり、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。また、中国や韓国においては、一度マラリアの流行が終息した地域で、再興感染症として三日熱マラリアが問題となっていることが報告され、今後は、熱帯・温帯アジアとも、三日熱マラリアに注目したマラリア対策が重要となることがわかった。

越冬した感染蚊によって三日熱マラリアの流行がおきるアジアの温帯地方においては、媒介蚊の生息状況を定期的にモニタリングしていくことが、再流行の潜在的可能性を検討し、早期警戒を促すうえで重要である。また、熱帯のアジア・太平洋諸国で現在おきている劇的な疫学的変化は、既存の指標や監視体制では正確に捉えることはできず、今後、新しい疫学的指標やモニタリング手法の開発が望まれる。

[ 大前比呂思 ]

### ・東南アジアにおける寄生虫症対策への協力

笹川記念保健協力財団の寄生虫症対策実行委員として、カンボジア王国や東チモール共和国の寄生虫症対策に協力した。カンボジアにおいては、乾季に 1 回行う集団治療を 10 年余り継続した結果、メコン住血吸虫の感染

率は1%以下となった。また、感染員の生息は全く確認されず、近い将来、流行が終息する可能性も指摘された。ただし、国境を直接接しているラオスでは、メコン住血吸虫症対策が遅々として進んでいない。今後は、ラオスからの再侵入も危惧され、国際協力の強化が望まれる。

[ 大前比呂思 ]

## 研修業務

1. 平成18年度 特別課程ウイルスコース( 国立保健医療科学院主催 )にて、赤痢アメーバのELISA 検査法等の実習を行った。
2. 平成18年度 特定研修新興再興感染症技術研修( 国立保健医療科学院主催 )にて、消化管寄生性原虫類の検査法に関する実習を行った。
3. 平成18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。
4. その他、レジオネラの宿主アメーバ検査法、キムチからの寄生虫検査法の実習等、地研からの要請に対して適宜行った。  
[ 八木田健司、泉山信司 ]
5. 平成18年度特定研修新興再興感染症技術研修において寄生虫検査法に関する講義実習を行った。
6. 地方衛生研究所( 青森県、大阪府 )に対してエキノコックス症診断法の講義・実習を行った。  
[ 川中正憲、杉山 広、森嶋康之 ]
7. 初期臨床研修中の研修医を対象とした感染症診療技術向上コースの中で、寄生虫症分野を担当した。特にわが国の診療現場で問題となる可能性がある寄生虫症に関して、診断検査法や疫学的対応を中心に概説した。
8. 希少感染症診断技術研修会において、マラリアに関する部分を担当した。日本及び世界的な疫学的状況変化と診断検査技術の進歩について概説した。また、輸入感染症として留意すべき点、及び今後わが国において再興感染症となる可能性についても考察した。
9. 血液スクリーニング検査向上コース( JICA 主催 )において、マラリアに関する部分を担当した。世界的な疫学的状況変化や診断法の進歩について概説するとともに、

輸血感染症としての側面を症例報告もまじえながら解説した。

[ 大前比呂思 ]

## 発表業績一覧

### 誌上発表

#### 1. 欧文発表

1. Asakura T., Nakamura S., Ohta M., Une Y., Furuya K.: Genetically unique microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* strain type III isolated from squirrel monkeys. *Parasitol. Int.*, 55, 159-162, 2006
2. Omura M, Furuya K., Kudo S., Sugiura W., Azuma H.: Detecting immunoglobulin M antibodies against microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* polar tubes in sera from healthy and human immunodeficiency virus-infected persons in Japan. *Clin. Vaccine Immunol.*, 14, 168-172, 2007
3. Izumi T., Yagita K., Endo T. and Ohyama T. Detection system of *Cryptosporidium parvum* oocysts by brackish water benthic shellfish ( *Corbicula japonica* ) as a biological indicator in river water. *Arch Environ Contam Toxicol*, 51, 559-566, 2006.
4. F. Kura, J. Amemura-Maekawa, K. Yagita, T. Endo, M. Ikeno, H. Tsuji, M. Taguchi, K. Kobayashi, E. Ishii and H. Watanabe. Outbreak of Legionnaires' disease on a cruise ship linked to spa-bath filter stones contaminated with *Legionella pneumophila* serogroup5. *Epidemiol. Infect.*, 134, 385-391, 2006.
5. Katsuhiko Ohata, Kanji Sugiyama, Mitsuaki Suzuki, Rieko Shimogawara, Shinji Izumiyama, Kenji Yagita, Takuro Endo : Growth of *Legionella* in Nonsterilized, Naturally Contaminated Bathing Water in a System that Circulates the Water. IN *Legionella: State of the Art 30 Years after Its Recognition*. Eds. Nicholas P. Cianciotto et al. 2006 ASM Press, Washington, D.C.
6. Kanji Sugiyama, Katsuhiko Ohata, Mitsuaki Suzuki, Rieko Shimogawara, Shinji Izumiyama, Kenji Yagita, Takuro Endo : Inhibition of *Legionella* Growth in Circulating Bathing Water by Filter Refreshment Method Using High Concentration Chlorine. IN *Legionella: State of the Art 30 Years after Its Recognition*. Eds. Nicholas P. Cianciotto et al. 2006 ASM Press, Washington, D.C.
7. Singh, T.S., Sugiyama, H., Rangsiruji, A. and Devi Kh. R.: Morphological and molecular characterizations of

- Paragonimus heterotremus*, the causative agent of human paragonimiasis in India. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 38 (Suppl. 1), 41-45, 2007.
8. Sugiyama, H., Morishima, Y., Binchai, S., Rangsiruji, A. and Ketsudat, P.: New form of *Paragonimus westermani* discovered in Thailand: morphological characteristics and host susceptibility. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 38 (Suppl. 1), 46-50, 2007.
  9. Binchai, S., Rangsiruji, A., Ketudat, P., Morishima, Y. and Sugiyama, H.: Molecular systematics of a new form of *Paragonimus westermani* discovered in Thailand. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 38 (Suppl. 1), 51-55, 2007.
  10. Mitra, B.N., Kobayashi, S., Saito-Nakano, Y. and Nozaki, T. : *Entamoeba histolytica*: Differences in phagosome acidification and degradation between attenuated and virulent. Experimental Parasitology 114, 57-61, 2006.
  11. Chigusa, Y., Ohmae, H., Otake, H., Keang, H., Sinuon, M., Saem, C., Socheat, D. and Matsuda, H. : Effects of repeated praziquantel treatment on schistosomiasis mekongi morbidity as detected by ultrasonography. Parasitology International 55, 261-265, 2006.
  12. Kushida, S., Ohmae, H., Kamma, H., Totsuka, R., Matsumura, M., Takeuchi, A., Saiki, I., Yanagawa, T., Onizawa, K., Ishii, T. and Ohno, T. : Artificial cytokine storm combined with hyperthermia induces significant anti-tumor effect in mice inoculated with lewis lung carcinoma and B16 melanoma cells. International Journal of Hyperthermia 22 , 699-712, 2006.
  13. Sinuon, M., Tsuyuoka, R., Socheat, D., Odermatt, P., Ohmae, H., Matsuda, H., Montresor, A. and Palmer, K. : Control of *Schistosoma mekongi* in Cambodia: results of eight years of control activities in the two endemic provinces. Transaction of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 101, 34-39, 2007.
  14. Nara, T., Iizumi, K., Ohmae, H., Tsubota, S., Inaba, Y., Tsubouchi, A., Tanabe, M., Kojima, S. and Aoki, T. : Antibody isotype responses to paramyosin, a vaccine candidate for schistosomiasis, and their correlations with resistance and fibrosis in patients infected with *Schistosoma japonicum* in Leyte, the Philippines. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 76, 384-391, 2007.
  15. Mita, T., Tanabe, K., Takahashi, N., Tsukahara, T., Eto, H., Dysoley, L., Ohmae, H., Kita, K., Krudsood, S., Looareesuwan, S., Kaneko, A., Bjorkman, A. and Kobayakawa, T. Independent evolution of pyrimethamine resistance in *Plasmodium falciparum* isolates in Melanesia. Antimicrobiologic Agents and Chemotherapy 51, 1071-1077, 2007.
2. 和文発表
    1. 古屋宏二、遠藤卓郎：クリプトスポリジウム症、健康な子ども、5月号、28 - 29、2006.
    2. 中村進一、宇根由美、佐藤宏、林谷秀樹、岩田剛敏、古屋宏二、馬場智成、飯田奈都子、大田真莉子、西川香織、野村靖夫：法定検定直後のペット用サル類の病原体保有状況、JVM獣医畜産新報、59: 302 - 304, 2006.
    3. 古屋宏二：エンセファリトゾーン症に関する最近の疫学状況と血清診断、エキゾチックペット研究会誌、8: 7 - 11, 2006.
    4. 大橋英二、古屋宏二：ウサギのエンセファリトゾーン症の血清診断と治療法の検討、エキゾチックペット研究会誌、8: 57 - 59、2006.
    5. 八木田健司、泉山信司：生活用水の病原性アメーバ汚染とその健康影響—水系環境のアメーバ汚染、モダンメディア、52: 252-259, 2006.
    6. 遠藤卓郎：提言 - 新寄生虫事情 - 食品衛生研究、56(6), 5, 2006.
    7. 遠藤卓郎：. 物 - 15.健康関連微生物 - 15.4 原虫・寄生虫 - 15.4.1 種類と性状. 水環境ハンドブック. pp.736(453-457), 2006.
    8. 遠藤卓郎、黒木俊郎：第6章 生物学的因子と健康. 環境衛生科学. pp.439(159-184), 2006.
    9. 遠藤卓郎、泉山信司、黒木俊郎、橋本 温、小田琢也他：水道の病原微生物対策 金子光美編著 丸善(株) 2章 原虫、3章 細菌、6章 緊急時の対応. pp.9-69, 158-163,239-247, 2006.
    10. 遠藤卓郎、泉山信司、八木田健司：生活用水系環境のアメーバ汚染、化学療法の領域 23(4): 579-582、2007
    11. 遠藤卓郎、泉山信司、八木田健司：水泳プールを介したクリプトスポリジウム症感染、化学療法の領域 23(S-1): 148-152, 2007.
    12. 川中正憲、荒川京子、杉山 広、森嶋康之：神奈川

- 県におけるアライグマの駆除とアライグマ回虫の調査 . *Clinical Parasitology*, 17, 57-59, 2006.
13. 平野敬之、増本久人、池添博士、杉元昌志、松崎祐己、森田満雄、杉山 広、森嶋康之、川中正憲：平成 16 年秋に集団発生した肺吸虫による食中毒事例について . *Clinical Parasitology*, 17, 60-62, 2006.
  14. 杉山 広、森嶋康之、川中正憲、平野敬之、増本久人、池添博士：平成 16 年秋に集団発生した肺吸虫による食中毒事例：原因の寄生虫学的精査 . *Clinical Parasitology*, 17, 63-66, 2006.
  15. 安里龍二、平良勝也、大野 惇、久高 潤、糸数清正、森嶋康之、荒川京子、杉山 広、川中正憲：沖縄県における広東住血線虫感染の危険因子に関する研究 . *Clinical Parasitology*, 17, 70-72, 2006.
  16. 太田伸生、赤尾信明、有園直樹、山田 稔、内川隆一、手越達也、吉田彩子、川中正憲、杉山 広：輸入キムチから検出された寄生虫卵 . *Clinical Parasitology*, 17, 153-155, 2006.
  17. 杉山 広、森嶋康之、荒川京子、川中正憲、平野敬之、増本久人、船津丸貞幸、藤原義行、池添博士、杉元昌志、松崎祐己、森田満雄：2004 年秋に集団発生した肺吸虫による食中毒事例について . *病原微生物検出情報* 27, 277-278, 2006.
  18. 杉山 広、森嶋康之、川中正憲、平野敬之、増本久人、池添博士：食中毒事例の原因調査で佐賀県に分布を見出したウエステルマン肺吸虫 . *獣医寄生虫学会誌*, 5(2), 34, 2006.
  19. 川中正憲、山本徳栄：イヌのエキノコックス検査法、*Medical Technology*, 34, 338-339, 2006
  20. 大前比呂思、遠藤卓郎、長谷山路夫、新妻淳、飯塚信二、津田良夫：検疫感染症としてのマラリアをどう捉えるか *Clinical Parasitology* 17, 127-130, 2006.
  21. 大前比呂思：肝吸虫と住血吸虫 - 寄生虫 と発癌 - *G.I. Research* 14, 34-40, 2006.
- Symposium on Health Sciences, Shizuoka, 5-6 November 2006.
3. Sugiyama, H., Morishima, Y., Binchai, S., Rangsiruji, A. and Ketsudat, P.: New form of *Paragonimus westermani* discovered in Thailand: morphological characteristics and host susceptibility. The fifth seminar on food- and water-borne parasitic zoonoses, Bangkok, 28-30 November, 2006.
  4. Binchai, S., Rangsiruji, A., Ketudat, P., Morishima, Y. and Sugiyama, H.: Molecular systematics of a new form of *Paragonimus westermani* discovered in Thailand. The fifth seminar on food- and water-borne parasitic zoonoses, Bangkok, 28-30 November, 2006.
  5. Singh, T.S., Sugiyama, H. and Rangsiruji, A.: *Paragonimus* and paragonimiasis in India. The fifth seminar on food- and water-borne parasitic zoonoses, Bangkok, 28-30 November, 2006.
  6. Singh, T.S., Sugiyama, H., Rangsiruji, A. and Devi Kh. R.: Morphological and molecular characterizations of *Paragonimus heterotremus*, the causative agent of human paragonimiasis in India. Joint International Tropical Medicine Meeting 2006, Bangkok, 29 November - 1 December, 2006.
  7. Saito-Nakano, Y., Membrane traffic pathways associated with virulence in the enteric protozoan parasite. *Entamoeba histolytica*. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress. Kyoto, Japan. June, 2006.
  8. Asahi, H., Omura M., Izumiyama, S. and Ohmae, H., Identification of components of intraerythrocytic *Plasmodium falciparum* that interact with growth-promoting agents. 11<sup>th</sup> International Congress of Parasitology. Glasgow, UK. August, 2006.
  9. Ohmae, H., Haseyama, H., Tsuda, Y. and Endo, T., Recent trends of malaria in Japan. International Conference on Vivax Malaria in Asia and Pacific Area. Shanghai, China. January, 2007.
  10. Ohmae, H., Kamei, K., Nakazawa, M. and Bokote'e, B., Dynamic change of malaria epidemiology and limitation of present indicators in the Solomons. International Conference on Vivax Malaria in Asia and Pacific Area. Shanghai, China. January, 2007.
  11. Saito-Nakano, Y., Kamei, K., Iwagami, M., Komaki-Yasuda, K., Kawazu, S., Kano, S., Tanabe, K.,
- . 学会発表**
1. 国際学会
    1. Singh, T.S. and Sugiyama, H.: Paragonimiasis: an emerging food borne parasitic zoonosis in North East India. Annual Conference of the International Medical Sciences Academy, Lahore, 1-3 October, 2006.
    2. Qian, B-Z., Sugiyama, H., Waikagul, J. and Zhu, Z-H. : *Paragonimus* in Zhejiang: Morphology and Molecular Biology. The seventh Japan-China International

Ohmae, H. and Endo, T., Genetic polymorphisms of drug resistant gene in Southeast Asia through imported isolates of *Plasmodium falciparum*. The 1<sup>st</sup> Thailand-Japan Joint Form of Infectious Diseases. Bangkok, Thailand. January, 2007. (Invited speaker).

## 2. 国内学会

1. 宇根有美、中村進一、大田真莉子、古屋宏二：国内におけるリスザル *Saimiri sciureus* のエンセファリトゾーン感染症、第 66 回日本寄生虫学会東日本支部大会、平成 18 年 10 月、東京
2. 朝倉登喜子、古屋宏二、泉山信司、八木田健司、中村進一、大田真莉子、宇根有美：リスザル由来ミクロスポリジア *Encephalitozoon cuniculi* 遺伝子 III 型のサブタイピング、第 66 回日本寄生虫学会東日本支部大会、平成 18 年 10 月、東京
3. 八木田健司、泉山信司、林 森太郎、高 橋 均、遠藤 卓郎：In situ hybridization によるアメーバ性脳炎の鑑別診断法、第 39 回日本原生動物学会大会、平成 18 年 11 月、佐賀
4. 八木田健司、泉山信司、小村麻子、亀岡洋祐、遠藤 卓郎：Acanthamoeba 属の DNA 分類 - ミトコンドリア DNA と 18SrDNA によるタイピング、第 76 回日本寄生虫学会大会、平成 19 年 3 月、大阪
5. 高岡紀子、太刀川貴子、八木田健司、遠藤卓郎、松原正男：早期診断によって視機能良好で治癒したアカントアメーバ角膜炎の一例、第 66 回日本寄生虫学会東日本支部大会、平成 18 年、10 月、東京
6. 黒木俊郎、泉山信司、八木田健司、三宅芳枝、宇根有美、林谷秀樹、中臺文、森哲、黒尾正樹、片山亮、鳥羽通久、森口一、遠藤卓郎：国内に生息するヘビにおけるクリプトスポリジウムの保有、第 57 回全国水道研究発表会、平成 18 年 5 月、長崎
7. 遠藤卓郎、八木田健司、泉山信司：クリプトスポリジウム等の原虫類による水系汚染の検査にかかる感染研の支援体制、水環境学会シンポジウム、平成 18 年 9 月、東京
8. 泉山信司、小村麻子、八木田健司、遠藤卓郎：Cryptosporidium の分子疫学、日本原生動物学会、平成 18 年 11 月、佐賀
9. 泉山信司、山中俊治、小野更生、遠藤卓郎：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 環境技術学会、平成 18 年 9 月、滋賀
10. 杉山 広、森嶋康之、村田浩一、川中正憲：東京・神奈川県を流れる多摩川での大平肺吸虫の検出 第 75 回日本寄生虫学会大会、2006 年 5 月、弘前
11. 平野敬之、増本久人、池添博士、杉元昌志、松崎祐己、森田満雄、杉山 広、森嶋康之、川中正憲：平成 16 年秋に集団発生した肺吸虫による食中毒事例について、第 17 回日本臨床寄生虫学会大会、2006 年 6 月、東京
12. 杉山 広、森嶋康之、川中正憲、平野敬之、増本久人、池添博士：平成 16 年秋に集団発生した肺吸虫による食中毒事例：原因の寄生虫学的精査、第 17 回日本臨床寄生虫学会大会、2006 年 6 月、東京
13. 川中正憲、荒川京子、杉山 広、森嶋康之：神奈川県におけるアライグマの駆除とアライグマ回虫の調査、第 17 回日本臨床寄生虫学会大会、2006 年 6 月、東京
14. 安里龍二、平良勝也、大野 惇、久高 潤、糸数清正、森嶋康之、荒川京子、杉山 広、川中正憲：沖縄県における広東住血線虫感染の危険因子に関する研究、第 17 回日本臨床寄生虫学会大会、2006 年 6 月、東京
15. 太田伸生、赤尾信明、有菌直樹、山田 稔、内川隆一、手越達也、吉田彩子、川中正憲、杉山 広：輸入キムチから検出された寄生虫卵 第 17 回日本臨床寄生虫学会大会、2006 年 6 月、東京
16. 杉山 広、森嶋康之、川中正憲、平野敬之、増本久人、池添博士：食中毒事例の原因調査で佐賀県に分布を見出したウェステルマン肺吸虫、第 142 回日本獣医学会学術集会、2006 年 9 月、山口
17. 角田高枝、古江裕志、金子 勇、永井信浩、霜田重雄、森 宗昌、六本木隆、桑原英真、本間 学、川中正憲、杉山 広：在日外国人固有の食習慣に起因した肺吸虫症の一例、第 60 回国立病院総合医学会、2006 年 9 月、京都
18. 小山洋伸、遠藤大昌、小林 隆、照屋正則、兼子 晋、竹中芳治、田中穂積、三木健司、小林 薫、森田恒治、清水誠一郎、杉山 広：S 状結腸癌術後に肝腫瘍像を呈した肝毛細虫症の一例、第 803 回外科集談会、2006 年 11 月、東京
19. 杉山 広、平野敬之、増本久人、池添博士、山中和貴、川上 泰、森嶋康之、川中正憲：佐賀県のウェステルマン肺吸虫と宮崎肺吸虫：食中毒事例の原因調査をきっかけに新たに見出された分布地 第 76 回日本寄生虫学会大会、2007 年 3 月、大阪
20. 井上貴史、野中成晃、水野文子、森嶋康之、片倉賢、奥祐三郎：北海道のキツネ *Vulpes vulpes* のミトコンドリア DNA による系統解析、日本哺乳類学会 2006 年度大会、2006 年 10 月、京都
21. 河野志穂美、五十榎健、川中正憲、庄司道子：セルカリア皮膚炎の 1 例、第 106 回日本皮膚科学会総会、2007

年 4 月、横浜

22. 中野由美子：赤痢アメーバの生育に必要なコレステロールの細胞内動態 (Distribution and transport of cholesterol-rich membrane domains in *Entamoeba histolytica*) 第 75 回日本寄生虫学会大会 2006 年 5 月、弘前
23. Asahi, H., Ohmae, H., Williams, D., and Stadecker, MJ  
Immune responses to novel schistosome egg antigen, SmEP25, in murine *Schistosoma mansoni* infection. 第 75 回日本寄生虫学会大会 2006 年 5 月、弘前
24. 大前比呂思、亀井喜世子、中澤港、山内太郎、Bernard Bakote'e：ソロモン諸島におけるマラリア感染状況の変化 第 47 回日本熱帯医学会 2006 年 10 月、長崎
25. 陳甜甜、仁科朝彦、久兼直人、大前比呂思、石川洋文：ワークショップ：マラリアの疫学と予防 W10-4  
クロロキン薬剤耐性を考慮した熱帯熱マラリア伝播モデルの構成：ソロモン諸島を対象として 第 47 回日本熱帯医学会 2006 年 10 月、長崎
26. 勝田啓子、石川洋文、栗原考次、大前比呂思：マラリア感染に対するヒトの抵抗力を考慮したモデル構築とその統計的評価 日本計算機統計学会 第 20 回シンポジウム 2006 年 10 月、東京
27. 美田敏宏、田辺和裕、大前比呂思、北潔、小早川隆敏：Independent unique evolution of pyrimethamine resistance of *P. falciparum* in Melanesia. 第 5 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム 2006 年 10 月、大阪
28. 中野由美子、亀井喜世子、石上盛敏、駒木-安田加奈子、河津信一郎、狩野繁之、田辺和裕、大前比呂思、遠藤卓郎：東南アジアにおける 2000 年以前のクロロキン耐性遺伝子の多型と分布 第 66 回寄生虫学会東日本支部大会 2006 年 11 月、東京
29. 三浦彰子、新妻淳、大神田実、大前比呂思：マラリア感染蚊からの効率的な遺伝子検出法の検討 第 9 回日本検疫医学会 2007 年 1 月、名古屋
30. 朝日博子、泉山信司：赤内型熱帯熱マラリア原虫に対する脂質増殖因子の作用機序 第 76 回日本寄生虫学会 2007 年 3 月、大阪
31. 中野由美子：赤痢アメーバの細胞膜代謝におけるコレステロールの役割. 第 76 回日本寄生虫学会 2007 年 3 月、大阪