

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、赤痢アメーバ、ネグレリアなどの病原性アメーバ、エキノコックス、アライグマ回虫、イヌ・ネコ回虫、肺吸虫、アニサキス、テニア属条虫、裂頭条虫、複殖門条虫、マラリア原虫、住血吸虫などを対象とした分子生物学、細胞生物学、疫学、分子疫学、検査・診断、予測、予防などに関する基礎的、応用的研究が行われている。また、研究事業として、所内関連部との協力を得つつ、「食生活と環境変化の変化に伴う寄生虫・原虫症の対策と監視強化に関する研究」を継続して実施した。

第一室においては、Microsporidia のヒトにおける感染成立に関する免疫学的解析が進むとともに、飼育ウサギ感染株の遺伝子解析、*in vitro* 感染評価法開発など公衆衛生および医療に関する研究が進展した。

Cryptosporidium 等消化管寄生性原虫では、水系感染防止を主たる目的として掲げており、疫学、サーベランス、検査法を中心として、免疫クロマト法、LAMP あるいは RT-PCR 等の技術導入を図りながら研究が継続されている。また *Acanthamoeba* 臨床株の遺伝学的多様性、高病原性 *Naegleria fowleri* 株情報のデータベース化、あるいは *Legionella* 属菌のアメーバ感染性の評価法など、公衆衛生面からの自由生活性アメーバ類の研究も進められた。

国際協力では、アジアにおける腸管寄生性原虫の情報の共有を目指し、タイ、フィリピンと共同し、方法の整備、分離株の解析と収集を行った。

第二室においては、動物由来および食品媒介性寄生蠕虫症対策を基軸にした研究を行っている。前者に関しては、本邦では北海道で流行が見られる多包条虫（エキノコックス）の汚染地域拡大防止の観点から、糞便内 DNA 検出法の開発と地方衛生研究所との疫学調査に係わる共同研究体制を強化するとともに、国外の浸淫地、とくに中国におけるエキノコックス症対策に関する国際共同研究も継続して実施した。また、アライグマ回虫による幼虫移行症の発生予防と監視に向けた調査研究に関しては、近縁の回虫種（*Toxocara* 属）との鑑別を目的にした糞便

内虫卵を用いた遺伝子鑑別診断法の開発を行った。後者の食品媒介性寄生蠕虫症対策に関しては、肺吸虫症やアニサキス症の分子疫学と遺伝子診断法の開発に向けた研究を行った。条虫類では、裂頭条虫類（複殖門条虫含む）とテニア属条虫（囊虫を含む）の分子系統解析や遺伝子鑑別法の開発を行った。また、病理組織標本内に見出される寄生蠕虫についても遺伝子鑑別診断を目的とした検査法の研究を実施した。

第三室では、国際的に重要な寄生虫症、マラリア、住血吸虫症、赤痢アメーバなどを主な研究対象としている。特にマラリアや住血吸虫は、現在は専ら輸入感染症として問題になっているが、国内にベクターとなる蚊や淡水貝が生息しており、今後、再興感染症となる可能性を否定できない。そこで、浸淫地との交流拡大や気候・環境変化に伴う日本への侵入・感染拡大に係る数理モデルを作成し、効果的対策に関する研究を進めている。また、簡易診断法の開発や薬剤耐性評価など、これらの寄生虫症の検査診断法の改良・開発も行い、成果の一部は、実際に途上国での寄生虫症対策に応用されている。さらに、病原性との関連で赤痢アメーバのコレステロール代謝の解析を進めるとともに、アメーバ分離株の遺伝子解析を進めている。

人事面では、4月より第二室長として山崎 浩が旭川医科大学より着任した。川中正憲 前第二室長が再任用研究員として採用された。また、本年度をもって、遠藤卓郎 部長と古屋宏二 第一室長が定年退職した。また、常勤スタッフ以外に、研究業務などは臨時職員4名、客員研究員6名、協力研究員3名、および流動研究員1名の協力の下で運営された。

業績 調査・研究

・ 疫学

1. 寄生原虫症に関する研究

(1) 国内外のクリプトスポリジウム症ならびにジアルジア症の統計比較

わが国を含め各国が web 上で公開している保健・感染症関連研究施設からの感染症サーベランスに関する統計

データを主に利用した。これらのデータから年次報告数、10万人あたり報告数、年齢階級別報告数、その他の項目に関して比較を行なった。北米、欧州、オセアニア諸国でクリプトスポリジウム症ならびにジアルジア症両疾患のナショナルサーベランスを行なう国が多く、アジアでは今後の問題となっていた。わが国と諸外国の間には著しい統計差が認められたが、これは診断基準の違いや検査法の種類の違いがあるものの、国内の検査体制のあり方を問うものと思われた。特に諸外国では重要な感染リスク層である10歳以下の低年齢児における報告が、国内では統計上ほとんどなく、当該年齢層の広範な検査の必要性が示された。

[八木田健司]

(2) 北上川水系における原虫汚染状況調査

2004年9月から2005年8月、北上川本流2地点と支流3地点を定め、毎月1回、河川水濃縮検体を直接蛍光抗体染色法およびPCR・遺伝子解析により検査した。直接蛍光抗体法では60試料中11試料(18.3%、4地点)、PCR法では18試料(30.0%、5地点)よりジアルジアが検出されたが、クリプトスポリジウムは両方法ともに検出されなかった。本流上流点および支流では、PCRによる陽性数が蛍光抗体法よりも増加したが、本流下流点ではこの関係は逆転した。本流下流域は近くに下水処理場があり、水質的な影響がPCRの結果に現れた可能性が考えられた。DNA解析の結果、今回検出されたジアルジアは全て人獣共通感染性で宿主域の広い *Giardia intestinalis* の assemblage A であった。

[板垣 匡 (岩手大学農学部)、八木田健司]

(3) レジオネラ属菌の種、血清型によるアメーバ感染性の比較

これまでに開発した ID50 (50% infectious dose、50% 感染濃度) による解析法を用いて、*Legionella pneumophila*, *L. dumoffii*, *L. longbeachae*, *L. bozemanii* ならびに *L. londinienis* の菌株のアメーバ感染性を調べた。菌種では *L. pneumophila* が最も高い傾向にあることが示された (ID50: 1.1~4.4 cfu/0.1ml)。血清型による差は明らかではないが、ヒト臨床分離株と同程度の感染性が環境分離株にも認められた。2002年の宮崎県集団感染事例において起因菌とされた *L. pneumophila* SG1 の菌株は高い感染性を確認する一方、抗体価上昇の認められなかった *L. londinienis* は宿主アメーバへの感染が認められなかった (ID50: >1.2x10⁴ cfu/0.1ml)。

[八木田健司、泉山信司、小村麻子、倉 文明 (細菌第一部)]

(4) 一般病理解剖遺体からの原虫類検出

入院後寄生虫症以外の主因で死亡した患者より、病理解剖の際に大腸内に残存した便を採取し(死亡確認後12時間以内)、寄生虫学的検査を行った。16例(37~80歳、平均年齢69歳、男性12名、女性4名)に関して染色鏡検、抗原検査を行った結果、5例が赤痢アメーバ感染、3例が赤痢アメーバおよびジアルジアの混合感染例であることが示された。赤痢アメーバに関してはPCRにより7例において *E. histolytica* 遺伝子特異的増幅を認めた。これらの結果は、赤痢アメーバ等寄生原虫類がヒト体内で、ある期間潜在的にあるいは不顕性に感染し続けることを示す点で、従来の寄生虫感染に対する認識とは著しく異なると同時に、高齢者の免疫状態管理への配慮および感作機序の解明が必要であることを示している。

[安倍正史 (昭和大学医学部)、八木田健司、朝日 博子]

(5) 腸管寄生性原虫対応のアジアネットワーク

当該研究はアジアにおける腸管寄生性原虫の情報の共有を目指し、方法の整備、分離株の解析と収集を行った。今後とも、アジアネットの参加国を増やし、情報の共有が図られれば衛生の向上、防疫施策への反映等が期待される。具体的にはクリプトスポリジウムの検査法の共通化、すなわち、蛍光抗体染色による高感度検出、遺伝子解析(18S rDNAを標的とした種別、*cpgp* 遺伝子を標的とした遺伝子型の決定)を提案し、タイ、フィリピンおよび日本の3ヶ国で研究協力体制の確立に努めた。その結果、種別では、わが国およびアジア地域でのクリプトスポリジウム症は *Cryptosporidium hominis* (ヒト型) が主な起因原虫となっていた。また、多様な遺伝子型の存在が明らかとなり、系統樹解析によって汚染源調査に利用可能な程度の解像力の向上が果たされた。個別研究では、過去の集団感染と散発事例ならびに家畜および野生動物由来のクリプトスポリジウムの感染性評価、家畜および野生動物における汚染状況と遺伝子型別が行なわれた(日本)。フィリピンでは本研究事業の支援を得てはじめて若年層における調査が行われ、高い検出率が報告された。また、タイからはAIDS患者の感染事例の情報が寄せられた。あわせて、免疫不全者において *Isospora belli* の感染が少なからず存在することが示され、フィリピンでは *Cyclospora cayetanensis* 感染が確認された。

[泉山信司、Somchai Jongwutiwes (Chulalongkorn University, Thailand), Filipinas F. Natividad (St. Luke's Medical Center, Philippines), 小村麻子、八木田健司、中井 裕 (東北大学大学院農学研究科)、遠藤卓郎]

2. 動物由来寄生蠕虫症に関する研究

(1) 北海道以外の都府県で発生した多包性エキノコックス症の感染源調査

多包性エキノコックス症の発生は、本症の原因種である多包条虫が土着している北海道からの報告が大部分であるが、それ以外の都府県でも発見される。一次資料を用いた研究の結果、そのような症例はこれまでに 77 症例が確認され、その中には既知流行地との関連が見出せない原発 17 症例が含まれる。原発例の発生は感染源が存在することに他ならないが、現在まで感染源が特定されたことはない。この理由の一つとして、従来の発生報告が単なる症例報告にとどまってきたことが指摘される。そこで本研究では、非流行地で発生した多包虫症の感染源を明らかにするため、北海道以外の都府県で発生した症例を収集し、詳細な疫学的事項の収集を行った。

[森嶋康之、川中正憲、土井陸雄(横浜市立大学医学部)、杉山 広]

(2) アライグマ回虫による幼虫移行症の発生予防と監視体制の構築

首都圏では埼玉県におけるアライグマの増加が非常に目立つ状況になっている。アライグマの捕獲数で見ると、平成 16 年度 31 頭、平成 17 年度 69 頭、平成 18 年度 450 頭と増加し、平成 19 年度は 4 月～9 月の半年間で既に 575 頭を数えている。このような状況下で、県特定外来生物対策連絡会議が発足し、各関係機関と共に本課題の協力研究者 (埼玉衛研) も出席してアライグマ回虫問題を担当している。現在までに、東松山地域を中心として 231 検体の糞便検査を実施したがいずれもアライグマ回虫卵陰性であった。神奈川県については、昨年度までに野生アライグマが出没する殆ど全ての地域においてアライグマ回虫のチェックが終了していると考えているが、今年度も継続して監視の為に 119 検体の検査を実施したが、いずれも陰性の結果であった。また、北九州の動物園から、新規にアライグマ回虫陽性のアライグマが発見されたので、感染個体の駆虫と展示施設からの虫卵の除去等について指導し、清浄化を確認した。

[川中正憲、荒川京子、杉山 広、森嶋康之、山崎 浩、山本徳栄・山口正則 (埼玉県衛生研究所)、佐藤 宏 (山口

大学農学部)]

(3) 多包性エキノコックス症の本州への流行地域拡大防止対策に関する研究

2005 年に、埼玉県北部の捕獲犬からエキノコックス感染が見つかったことから、この地域における動物疫学的な調査が必要になった。2007 年 1 月から 10 月末までの期間、犬 161 検体、猫 204 検体について糞便検査を実施したが、エキノコックス虫卵は検出されなかった。また、この期間内に埼玉県北部地域において野ネズミ 52 匹を捕獲し、目視による観察で内臓に異常所見を認めた個体については PCR を実施して多包条虫の検出を試みた。現在のところ、いずれも陰性である。また、青森県と大阪府においても犬糞便内の虫卵検査を継続実施している。現在までに、青森県では 314 頭、大阪府では 70 頭の糞便を検査したが、エキノコックス虫卵は検出されていない。[川中正憲、森嶋康之、杉山 広、山本徳栄・山口 正則 (埼玉県衛生研究所)、吉野民子 (青森県動物愛護センター)、木村明夫 (大阪府立公衆衛生研究所)]

(4) 中国青海省チベット族自治区におけるエキノコックス症の疫学的調査研究

中国南西部に位置する青海省は単包条虫と多包条虫によるエキノコックス症 (包虫症) の流行地であり、公衆衛生上、重要な問題になっている。ヒューマンサイエンス振興財団による国外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ている。本年度は青海省の省都、西寧の南西約 900km に位置する囊謙県において、超音波検査による住民検診と血清学的調査を行った。また、多包条虫の中間宿主であるクチグロナキウサギを捕獲し、剖検によって得られた病巣の病理組織学的、ならびに遺伝子解析も実施した。

[川中正憲、森嶋康之、杉山 広、山崎 浩、韓 秀敏・何 多尤・呉 献洪・馬 霄・劉 培運・曾 誠・蔡 輝霞・馬 俊英・王 虎 (青海省地方病予防抑制所)、余 森海 (中国 CDC, 上海)]

3. 食品由来寄生蠕虫症に関する研究

(1) イノシシを感染源としたウェステルマン肺吸虫症の発生状況に関する調査

イノシシ肉を生で食べて肺吸虫に感染するという事実は、1970 年代に九州南部で世界に先駆けて証明された。しかし感染経路が特定された後も、イノシシ肉を原因とする事例は、特に猪猟師やその家族を中心に、九州南部

で発生を続けている。一方、九州北部では、南部と同様にイノシシ猟が活発であるが、症例数は少ない。この理由をヒト側の要因と関連づけて説明するため、九州北部として佐賀を選び、県猟友会（会員総数：約 1,100 名）の協力を得て、猪猟師を対象とした質問票調査を実施した。315 名から提供された回答を見ると、イノシシ肉の生食が危険であるとの認識は過半数が有しており、生食歴も 44 名（14.0%）に留まった。この値は九州南部（鹿児島・宮崎両県）の猪猟師の値（既報）と比べると有意に低かった（ $p < 0.001$ ）。食習慣の違いから、九州北部では肺吸虫症の発生が制御されているとも考えられた。九州南部での肺吸虫症予防に関する啓発活動の重要性が改めて指摘された。

[杉山 広、森嶋康之、梅原梓里、平野敬之、鮎津丸貞幸（佐賀県衛生薬業センター）]

(2) 佐賀県におけるウェステルマン肺吸虫症の動物疫学調査

2004 年に佐賀県唐津市で発生した肺吸虫症の集団事例は、同市内を流れる玉島川のもクズガニが感染源であった。この地域の終宿主動物を明らかにするため、一般家庭で飼育中のイヌ（46 頭）およびネコ（28 頭）の糞便を収集し、寄生蠕虫卵の検出を試みた。その結果、人獣共通寄生種として Mansonella 裂頭条虫（イヌ 1 頭）、およびネコ回虫（ネコ 3 頭）の虫卵を検出したが、肺吸虫卵は総て陰性であった。佐賀県で猟犬を飼育するハンター（198 名）の半数以上（118 名、59.6%）は、自分達でイノシシを捕獲した場合、その肉を生でイヌに与える事が分かっている。終宿主動物が猟犬である可能性も示唆されたので、検査の対象を広げて検討を進める予定にしている。

[杉山 広、梅原梓里、森嶋康之、平野敬之、鮎津丸貞幸（佐賀県衛生薬業センター）、川上 泰（麻布大学環境保健学部）]

(3) 市販サワガニを対象とした肺吸虫メタセルカリアの寄生状況調査

わが国に長期間在住するアジア系外国人が、淡水産・汽水産のカニを食材とする出身地固有の料理を加熱せずに賞味し、肺吸虫に感染する事例が増加している。飲食を共にした日本人の感染も報告されており、食習慣に起因する新たな肺吸虫症として注目されてきた。これらの事例では、居住地近辺の鮮魚店で購入されたカニが原因食材となった場合も多い。そこで東京都内で販売されていたサワガニを対象に肺吸虫の寄生状況を調べた。メタ

セルカリアが検出された場合は、形態を精査し、塩基配列に基づく種同定も試みた。その結果、検査した 226 匹のサワガニのうち、44 匹（寄生率 19%）が陽性であった。検出したメタセルカリアは、宮崎肺吸虫あるいはウェステルマン肺吸虫（2 倍体型・3 倍体型）と同定された。両種とも人体寄生性である。市販のサワガニが肺吸虫の感染源となる事を広く注意喚起する必要が出てきた。

[杉山 広、梅原梓里、森嶋康之、山崎 浩、川中正憲]

(4) 同胞種レベルでみた日本産 *Anisakis simplex*: 九州での感染源の特定に向けた検討

魚介類の生食により発生するアニサキス症は、*Anisakis simplex* が主な原因と考えられてきた。しかし、アイソザイムや遺伝子配列の解析結果から、この線虫は単一種でなく、形態では区別できない同胞種、すなわち *A. simplex sensu stricto*（狭義の *A. simplex*、以下 As）や *Anisakis pegreffii*（以下 Ap）などから構成される事が明らかにされてきた。そこで患者由来の虫体と魚由来の虫体について、同胞種レベルで解析したところ、九州では、患者からは As が、しかし魚からは Ap が専ら検出されるという矛盾した成績を得た。検索に用いた魚は日本海産であったので、市場でよく流通する東シナ海産の魚を購入し、新たに検索を加えた。しかしながら成績は同様で、魚からは専ら Ap が検出された。九州における人への感染源は、九州以外で漁獲された As 陽性の魚である可能性が示唆された。

[梅原梓里、杉山 広、川上 泰（麻布大学環境保健学部）]

4. 輸入寄生虫症に関する研究

1. マラリアの疫学

(1) わが国における輸入マラリア症例の血液塗抹標本を用いた東南アジアにおけるピリメサミン耐性遺伝子 *dhfr* の遺伝的多型の解析

東南アジアにおける薬剤耐性マラリア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 588 サンプルであり、そのうち東南アジアからのサンプルとして 26 例のピリメサミン（Pyr）薬剤耐性遺伝子 dihydrophosphate reductase (*dhfr*) 遺伝子の配列決定に成功した。*Dhfr* 座位は 77%（20/26）が耐性型を示した。一方で、クロロキン（CQ）耐性遺伝子 *pfcr* 座位は同一サンプルで 96%（28/29）が耐性型を示した。このことは、抗マラリア薬として CQ の東南アジアでの使用開始が Pyr よりも 20 年早く、耐性

株の広がりには違いがあることを示している。

[中野由美子、田邊和裕(大阪大学微生物病研究所)、河津信一郎(帯広畜産大学原虫病研究センター)、石上盛敏・狩野繁之(国立国際医療センター研究所)、大前比呂思]

(2) インドシナ半島におけるピリメサミン耐性遺伝子 *dhfr* の遺伝的多型の解析

dhfr の配列が決定できた 26 サンプルのうち、インドシナ半島のサンプルについて *dhfr* の多型を解析した。現在、インドシナ半島の薬剤耐性マラリアには *dhfr* S108N 変異に、さらに変異が二重、三重、四重に入った多重変異株が流行していることが報告されている。その結果、タイでは 1984 年にすでに 3 重変異型が存在していた ($n=2$)、1984 年にタイで分離された Indochina III 株 (Oduola 1985) は 3 重変異を持つことが報告されている。よって、本結果とあわせると、三重変異のタイでの最も古い同定年度は 1984 年である。タイは 1980 年代にピリメサミンをクロロキンに代わって第一選択薬として大量に使用した唯一の国である。この結果は薬剤の使用量と期間が長い程、耐性遺伝子が広まるというこれまでの説を支持している。また本結果で、ラオスでは 1994 年と 1998 年に二重変異 (CNRNI) ($n=4$) が同定された。ミャンマーでは野生型が 1997 年のサンプルで存在していたことを示した ($n=1$)。タイでこれまでラオスとミャンマーで *dhfr* 変異の存在を示したのは 1999 年までのサンプルまでしかなく (Nair 2003)、本結果が遺伝子型を示した最も古い年代となった。

[中野由美子、田邊和裕(大阪大学微生物病研究所)]

(3) 西太平洋地域におけるピリメサミン耐性遺伝子 *dhfr* の遺伝的多型の解析

西太平洋地域では wild type が 1985 年から 1990 年にパプアニューギニア ($n=3$) とフィリピン ($n=1$) で存在が確認できた。CNCNI 単独変異が 1985 年 86 年にインドネシア ($n=1$)、パプアニューギニア ($n=1$)、フィリピン ($n=1$) で見られ、さらにパプアニューギニアでは 1998 年にも ($n=1$) 見られた。CNRNI の 2 重変異の存在がインドネシアでは 1991 年、パプアニューギニアでは 1987 年、フィリピンでは 1985 年までできた。これらの国での *dhfr* 変異の存在は、これまでインドネシア、パプアニューギニアでは 1996 年のサンプルが最も古い報告であり (Reeder 1996; Nagesha 2001)、本研究はそれを約 10 年遡った。フィリピンにおける *dhfr* の多型はこれまで報告が無いが、*in vivo* での高い治療成功率を考えると、

現在でも多くの *dhfr* の野生型が存在していると推測できる。

[中野由美子、田邊和裕(大阪大学微生物病研究所)]

・ 分類・同定

1. 寄生原虫症に関する研究

(1) ペット及び学校飼育ウサギ由来 *Encephalitozoon cuniculi* の遺伝子型

ITS (internal transcribed spacer) 領域に基づく Microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* の遺伝子型には I 型、II 型、III 型が知られており、主に I 型はウサギ、II 型はマウス、III 型はイヌから分離されている。ヒトの *E. cuniculi* 感染症は動物由来感染症と考えられており、I 型と III 型が欧米で分離されている。我々はこれまでヒトの生活圏で飼育されている動物における *E. cuniculi* の流行状況を把握するため分子疫学的調査研究を行ってきた。その結果、2 種類の動物 (リスザルとウサギ) に本原虫が広範に侵淫していることを明らかにし、リスザルからは遺伝子 III 型の *E. cuniculi* を分離したことを報告した (Parasitol Int 2006; 55: 159)。今回は、血清抗体陽性のペット及び学校飼育ウサギについて検索を行い、14 頭からの臓器 (脳、肺、肝、脾、腎) や尿材料に蛍光染色及び免疫染色で陽性の *Encephalitozoon* 様胞子を検出した。常法通り 16S rRNA 及び ITS 領域を標的とした PCR 法及び direct DNA sequencing 法によって遺伝子タイピングを行ったところ、検出分離された *E. cuniculi* のすべては GTTT の 3 リピート配列を示す遺伝子 I 型に分類されることが分かった。今後、更に亜型についても検討していきたい。[朝倉登喜子、古屋宏二、宇根有美(麻布大学獣医学部)、森田達志(日本獣医畜産大学)]

(2) *Acanthamoeba* 分離株のミトコンドリア (mt) DNA および 18S rDNA による遺伝子型別

Acanthamoeba 臨床分離株に関して、18S rDNA 遺伝子によるクラスター形成と mtRFLP タイプとの関係を調べた。18S rDNA 分類で臨床株の殆どを占める T4 タイプは多数のサブクラスターより構成されたが、mtRFLP のタイプは一定のサブクラスターに収束せず、複数の異なるサブクラスターに分散した。即ち、T4 内サブクラスターは複数の mtRFLP タイプより構成されることが示された。その中で JAC/E4 タイプは、その分離株が世界的に分布するにも関わらず、単一の 18S rDNA シークエンスを示すという興味深い結果が示された。以上の結果は、主要な mtRFLP タイプと T4 タイプは各々、*Acanthamoeba* 属の

中の角膜炎に密接に関連した遺伝的集団を特徴付けるものであることが示された。

[八木田健司、泉山信司、小村麻子、亀岡洋祐(独立法人・医薬基盤研究所)、遠藤卓郎]

2. 食品由来寄生蠕虫症に関する研究

(1) 肺吸虫の由来地判別に向けての分子生物学的検討：ヒロクチ肺吸虫を用いての試み

ヒロクチ肺吸虫は本邦には分布しないが、東南アジア諸国では広範な地域に認められ、しかも人体寄生の主要な原因として重要視されている。また本虫は、中国やインドにも分布し、患者発生の報告がある。そこで、タイ、中国、インドの本虫流行地に出掛け、共同研究者と共に野外調査を行なって、本虫のメタセルカリアを得た。これを用いて先ずリボソーム DNA の ITS 2 領域について塩基配列を調べたところ、インド産虫体の配列は、タイ産・中国産との間に 4 塩基の違いを認めた。次にミトコンドリア DNA の *cox1* 遺伝子について調べたところ、タイ産の配列は中国産の配列と 2 塩基あるいは 3 塩基の違いが見られた。各国産のヒロクチ肺吸虫は、塩基配列の相違から由来を特定する事が容易であることを確認した。

[杉山 広、森嶋康之、川中正憲、銭 宝珍(中国・浙江医学科学院)、アチャリア・ラングシルジ(シーナカリンウイロート大・タイ)、シャンティクマール・シン(インド・シッキム医科大学)]

(2) 本邦で水揚げされた魚からの *Anisakis typica* の初めての検出

東シナ海で漁獲されたマサバ(8尾)を検索したところ、全例から *Anisakis* Type 1 と同定される虫体を検出した。1尾あたりの寄生数は1匹から497匹(1尾平均215匹・総計1,718匹)であった。このうち153匹の虫体を選び、リボソーム DNA の ITS 1 領域の塩基配列を基にして、虫種の分子同定を試みた。その結果、152匹は *Anisakis simplex* と同定された。この152匹を同胞種レベルで分類すると、*Anisakis pegreffii* が149匹、*A. simplex sensu stricto* が1匹で、この他に Hybrid genotype が2匹含まれていた。*A. simplex* ではない残りの1匹は、*Anisakis typica* と分子同定された。本虫は、わが国で水揚げされた魚からの検出の報告はなく、今回が初めての記録となる。なお、本虫の ITS 1 領域の配列(955 bp)はインドネシアでの登録配列と完全に一致し、フィリピンでの配列とは1塩基の相違を認めた。

[梅原梓里、杉山 広、川上 泰(麻布大学環境保健学部)]

(3) 大複殖門条虫と鯨複殖門条虫の分子系統分類学的研究

ヒトの小腸に寄生する大複殖門条虫 *Diplogonoporus grandis* とコイワシクジラの小腸に寄生する鯨複殖門条虫 *Diplogonoporus balaenopterae* は互いに形態が酷似することから、同一種ではないかと指摘されてきたが、それに対する明確な結論は出ていない。そこで、ヒト患者から駆虫によって得られた大複殖門条虫成虫と調査捕鯨によって北太平洋で捕獲されたコイワシクジラより採取された鯨複殖門条虫成虫を用いて、ミトコンドリアゲノムにコードされる計36個の遺伝子の塩基配列解析を行ったところ、同一種であることが確定し、動物命名規約に準じ、大複殖門条虫 *D. grandis* は鯨複殖門条虫 *D. balaenopterae* のシノニムであると結論付けられた。

[山崎 浩、三澤由美子、中尾 稔(旭川医科大学)、倉持利明(国立科学博物館)、藤瀬良弘(財)・日本鯨類研究所]

・ 生理・生化学・分子生物学

1. 食品由来寄生蠕虫症に関する研究

(1) ヒト、ならびにコイワシクジラから得られた鯨複殖門条虫のミトコンドリアゲノム解析

ヒトの小腸に寄生する大複殖門条虫 *Diplogonoporus grandis* とコイワシクジラの小腸に寄生する鯨複殖門条虫 *D. balaenopterae* はミトコンドリアゲノム解析によって、同一種であることが確定した(本稿112(3)参照)。本研究では、ヒト、ならびにコイワシクジラから得られた鯨複殖門条虫についてミトコンドリア全ゲノムの解読と比較を行った。その結果、ミトコンドリアゲノムは約13,700塩基対からなり、12個の酸化的リン酸化に関与するタンパク質遺伝子、22個の tRNA 遺伝子と2個の ribosomal RNA 遺伝子がコードされ、各遺伝子の配列順序は他の条虫類のミトコンドリアゲノム構造と同様であった。

[山崎 浩、三澤由美子、中尾 稔(旭川医科大学)、倉持利明(国立科学博物館)、藤瀬良弘(財団法人日本鯨類研究所)]

(2) 有鉤囊虫システインプロテアーゼの in situ における発現様態の組織化学的解析

有鉤囊虫のカテプシン L 様システインプロテアーゼ(以下、カテプシン L)の細胞内局在性を解明するために、すでに塩基配列が明らかにされた多包条虫のカテプシン L 遺伝子の塩基配列に基づいて作製したプライマー

を用いて有鉤囊虫 cDNA を鋳型として、PCR によって全長の有鉤囊虫カテプシン L 遺伝子を増幅した。さらに、塩基配列から予測したアミノ酸配列に基づいて、2 つの B 細胞エピトープ領域を選び、その領域に対するペプチドを合成し、これをカクテルペプチド抗原としてウサギに免疫してポリクローナル抗体を得た。抗体はさらにカクテルペプチドカラムを用いて精製した。

[山崎 浩]

2. 輸入寄生虫症に関する研究

(1) 赤痢型熱帯熱マラリア原虫 *Plasmodium falciparum* の増殖機構の解析 Chemically defined culture medium の作出

P. falciparum の分化増殖を誘導支持している因子およびその増殖因子と相互作用する原虫側の因子との相互作用に焦点をあて増殖機構を解析する目的で、chemically defined medium による *P. falciparum* 培養法の確立を試みた。これまでにヒトおよびウシ血清中の単純脂質分画および一定の構造のタンパク質を用いた無血清培地を開発して実用化してきたが、この単純脂質分画中の有効成分をさらに特定し、化学構造既知の物質から構成される増殖因子を作出した。本原虫の脂質を用いた培養には一定の構造のタンパクが必要である事から、構造の既知である組換えタンパクを使用し chemically defined medium を作製した。Chemically defined medium による *P. falciparum* の増殖は細胞増殖促進因子 GFS やヒト血清添加培養液を用いた場合と同等あるいはそれ以上であった。本法を用いる事によって、*P. falciparum* の増殖および抑制機序の解明が可能になり、それらに関連する因子、遺伝子、および分子を標的とした新規の治療薬の開発に極めて有用であると考えられた。

[朝日博子]

(2) 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が病原性に関与する役割を解明することを目的とし、宿主のコレステロール含量と貪食効率を検討した。コントロールの上皮細胞に CHO 細胞を使用し、コレステロール含量の高い細胞をハムスターの肝実質細胞を使用した結果、赤痢アメーバの貪食効率と宿主細胞のコレステロール量には高い相関が観察された ($r=0.97$)。このことは赤痢アメーバが組織侵入を開始し、肝臓に定着して膿瘍を形成する現象を説明している。次に細胞内への脂質成分の取り込みは貪食の他に、可溶性脂質の取り込み (エンドサイトーシス様経路) によっても担われている。赤

血球の貪食時において filipin の蛍光は貪食開始 5 分後に前貪食胞上に観察され、EhRab5 との共局在が推測された。そこで EhRab5 優勢変異発現株を用いたところ FITC-dextran の取り込みは優勢変異発現株で阻害されないが、NBD-cholesterol の取り込み速度が半分に低下した。よって、赤痢アメーバは可溶性因子 (FITC-dextran) を EhRab5 に依存しない経路で取り込むが、コレステロールの取り込みと貪食効率は EhRab5 の機能に依存していることが分かった。以上の結果より、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]

(3) 住血吸虫症における病態の重症化抑制に有用な分子の探索と機能解析

マンソン住血吸虫 (*Schistosoma mansoni*) 感染マウスモデルを用いた研究から、病態の重症度は CD4⁺ T helper (Th) に関連することが明らかにされていることから、特異的 CD4⁺ Th を刺激誘導する虫卵抗原 (SEA) 成分をこれまでにいくつか特定し、それらの分子特性、免疫学的特性を明らかにしてきた。しかし住血吸虫感染に伴って顕著に産生され、病態の重症化に関連すると考えられている強い Th2 応答を刺激誘導する因子 (分子) は不明であった。今回、さらに SEA 中の 19 kDa 成分が CD4⁺ Th 刺激抗原として特定できた。この成分は C57BL/6 マウスにおいてよくバランスのとれた Th1/Th2 応答を誘導し、マウス系統により特徴的に異なる免疫応答を誘導した。また内部アミノ酸配列から、この分子は SmVAL26 (a venom allergen like protein) であると考えられた。SmVAL は SCP/TAPS gene family に包含され、現在のところ SmVAL1- SmVAL28 の 28 配列が報告され、宿主への侵入時に重要な役割を果たしていると考えられている。本症への密接な関連がそのアミノ酸配列からも推測される。

[朝日博子, Stadecker, M.J. (米国・タフツ大学)]

・ 免疫

1. 寄生原虫症に関する研究

(1) マウス抗 *Encephalitozoon cuniculi* PTP1 IgE モノクローナル抗体の反応特異性

Microsporidia の極管 (polar tube : PT) は本病原体が宿主細胞に侵入感染する際に不可欠な器官である。前回、*E. cuniculi* 極管に対する 3 系統のマウスモノクローナル抗体を作製し、これらは何れも極管を構成する PTP1 上のタンパク質性エピトープを認識していること、また、イムノグロブリン・クラスはすべて IgE であるこ

とを明らかにした。今回はこれら抗体の特異性について分析を進め、*E. hellem* 及び *E. intestinalis* 孢子 PT に対する結合反応性を酵素免疫染色法によって、また *E. hellem* 及び *E. intestinalis* PT の可溶性抗原については SDS-PAGE immunoblotting 法によって検討したが、属内交差反応性は認められなかった。また、Microsporidia が真菌類に近いとの最近の分子系統樹の研究から、ELISA 法によって *Candida albicans*, *Fusarium moniliforme*, *Eurotium*, *Aspergillus fumigatus*, *Curvularia*, *Aureobasidium pullulans*, *Trichoderma* sp., *Chaetomium globosum*, *Rhizopus stolonifer* の 9 種類の精製孢子可溶性抗原との結合反応性を検討したが交差性は全く認められなかった。

[古屋宏二、小村麻子、朝倉登喜子、泉山信司、八木田健司、三和 茂(イムノバイオン社)、山野公明・工藤伸一(北海道立衛生研究所)、高鳥浩介(国立医薬品食品衛生研究所)]

(2) Immunoproteomic 分析による Microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* に対するヒト IgM 抗体の認識部位と結合反応性

前報 (Clin Vaccine Immunol 2007; 14: 168) では、マイクロプレート酵素免疫染色法により健常人のおよそ 36%、HIV 陽性者 (CD4 細胞数 250/ μ L 以下) のおよそ 8% の血清に *E. cuniculi* 極管 (polar tube: PT) と反応結合する IgM 抗体を検出したことを報告した。今回、このうちの力価の高い健常人血清 24 検体を用いて、1 次元 immunoblot 分析による認識部位を検討したところ、主に結合するバンドは PT 由来の 52 kDa バンドであることが判明した。次に NaOH 処理後の 52 kDa バンドへの反応性から、11 例はタンパク質性、3 例は糖質性、10 例はタンパク質性 + 糖質性の抗原決定基と反応していることが示唆された。更に二次元電気泳動後の proteomic 分析及び immunoblot 分析から、ヒト抗 *E. cuniculi* PT IgM 抗体が認識する極管タンパク質は PTP1 であることを明らかにした。

[古屋宏二、小村麻子、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)]

V. 検査・診断

1. 寄生原虫症に関する研究

(1) 細胞培養法による Microsporidian *Encephalitozoon intestinalis* 孢子 の感染価測定法の検討

Encephalitozoon intestinalis は水系感染性、腸管寄

生性のミクロスポリジアであり、本原虫の予防・治療のための研究が最近欧米で行われている。我々は *E. intestinalis* 孢子 に対する *in vitro* 感受性試験の確立のため、これまで 25 cm^2 フラスコを用いた RK-13 細胞、Vero 細胞などの細胞培養系について検討してきた。今回、BS-C-1 細胞を単層に伸展接着させた 24 穴プレートを利用した孢子接種感染実験系について適当な感染価が得られるか否か、細胞内感染の判定法を含め基礎的検討を行った。その結果、孢子接種後 6 日間の培養条件で産生されてきた孢子集族 (spore foci) の検出に従来のギムザ染色の代わりに免疫染色を使うなどの改良工夫によって、3.5 4.5 (対数) の TC ID₅₀ 値が得られることが示された。D 値測定が比較的容易なことから、本法は *E. intestinalis* 孢子 に対する抗原虫剤等の効果判定に有用と考えられた。

[朝倉登喜子、古屋宏二、泉山信司、八木田健司]

(2) 抗 *Encephalitozoon cuniculi* ポリクローナル抗体のビオチン化とその応用に関する検討

ビオチン化抗体 (B-Ab) を利用したストレプトアビジン-HRP 複合体 (SA-P0) による抗原あるいは抗体の検出は高感度である。生物材料あるいは環境材料中 *E. cuniculi* 孢子 の高感度検出への応用目的のため、我々は自然感染ウサギのプール血清から γ -グロブリンを分離し、ビオチンを標識後、抗 *E. cuniculi* ポリクローナル抗体を affinity 精製した。算定された抗体 1 分子あたりのビオチン結合数は 5 であった。次に血清抗体陽性のペットウサギからの臓器抽出液を使って本 B-Ab の免疫反応性を検討した。適当濃度の B-Ab をペットウサギの臓器トリプシン消化物あるいは未消化残渣に添加し一次反応を起こさせ、続いて二次反応で標識された SA-P0 を AEC 基質にて発色させた。顕微鏡下で、少数寄生例では分散状態の抗原抗体反応単個孢子として、多数寄生例では数個あるいは十数個の孢子の抗原抗体反応凝集物として観察された。最終的に免疫組織学的応用に向けて、特異性・感度・鮮明度等について更に検討していきたい。

[朝倉登喜子、古屋宏二、泉山信司、杉山 広]

(3) 免疫クロマト法による原因不明下痢症例からの原虫の検出

感染症法で第 5 類に定められるクリプトスポリジウム症ならびにジアルジア症の統計は、現行の検査法では原虫が検査対象とされにくい状況が背景にあり、実際の患者発生を反映しているとは言い難い。そこでより簡便迅速に患者発生を知る手段として免疫クロマト法 (ImmunoCard STAT!, Meridian) の有用性を検討した。

感染症発生動向調査で感染性胃腸炎と診断され、原因不明検体（病原体検査でウイルス及び細菌のいずれも検出されなかったもの）となった227検体を調べ、クリプトスポリジウム陽性2例およびジアルジア陽性1例を検出した。原虫の検出率としては1.3% (3/227)であった。10歳以下の低年齢層の原因不明下痢症の中には原虫性のものが存在することが示され、ウイルスや細菌検査と同時に本法による原虫検査を行うことで、より迅速かつ的確に患者発生が感知可能であると考えられた。

[八木田健司、浅野由紀子（愛媛県衛生研究所）]

(4) 免疫クロマト法の原虫種および遺伝型に関する検出特性

クリプトスポリジウム症ならびにジアルジア症における免疫クロマト検査法の有用性を明らかにするために、原虫の種類および遺伝型と反応性の関係を調べた。

ImmunoCard STAT! (Meridian) について検討した結果、クリプトスポリジウムは *Cryptosporidium parvum* (genotype 1=*C. hominis*ならびに genotype 2) および *C. meleagridis* が、またジアルジアは *Giardia lamblia* の assemblage A および B が検出可能であった。疫学的には殆どのヒト感染例がこれらの種類および遺伝型に起因するものであることから、Point of Care Test (POCT) として考える上で本検査キットの検出特性はその必要条件をみたすものと考えられた。

[八木田健司、浅野由紀子（愛媛県衛生研究所）]

(5) 環境水中の原虫類検出を目的とした LAMP 法の検討

水道水中のクリプトスポリジウム等対策指針では、水中のクリプトスポリジウム等原虫類の検出法として、試料水を濃縮、精製後に蛍光抗体染色を行い、顕微鏡観察により行うことが示されている。しかし、顕微鏡観察には形態学的な知識と熟練が必要であり、状況によっては検査に長時間かかる等の問題が指摘されている。当該研究ではこれまで簡便・迅速な検査法を目指して、クリプトスポリジウムおよびジアルジアを対象とした LAMP 法を開発してきたが、LAMP 法の実用性を評価するために、種々の環境水（河川水、湖沼水、湧水等）を用いて原虫類を検査した。検鏡法による結果と比較し、LAMP 法によるジアルジアの検出力が顕微鏡に比べて同等以上であるとの結果を得た。

[猪又明子(東京都健康安全研究センター)、百田 隆祥(栄研化学(株)生物化学研究所)、大谷喜一郎(神奈川県内広域水道企業団)、泉山信司、遠藤卓郎]

(6) RT-LAMP によるクリプトスポリジウムの検出

クリプトスポリジウムの検出は微分顕微鏡による形態観察を基本としているが、より簡便と思われる遺伝子検査法に期待が寄せられている。ところがDNAを標的とした検査では100万倍程度の濃縮が必要で、かつ、試料中に1個のオーシストを検出するためには1回の反応に規定量の試料水全量を使用する必要がある。この問題の解消には試験水量を増やすか核酸試験の検出感度向上が考えられるが、前者は労力の増大が著しく、後者方法による改善が必要であった。当該研究では rRNA の逆転写反応による鋳型 DNA の増幅に着目し、2ないし3桁程度の検出感度向上を確認した。

[泉山信司、遠藤卓郎]

(7) 粉体ろ過によるクリプトスポリジウム濃縮保存装置の開発

クリプトスポリジウムは強い塩素耐性を有することから水系感染が問題となるが、潜伏期間は中央値が6日で、4日~8日程度と長いことから、集団感染が疑われた場合に速やかに汚染源の特定ができる検水システムの構築を推進している。水道における耐塩素性病原微生物対策にかかる指針では「浄水を毎日1回 20L 採取し、水または採水した水から得られる検水試料を14日間保存する」ことを勧奨している。その一方、14日分の試料水280Lを冷暗所に貯め置くのは容易ではなく、これに代替する方法が要望されていた。そこで、当該研究では90%以上のオーシスト回収率が得られる小型の使い捨てプラスチック容器を用いたケーキろ過装置を開発した。今後、実用化に向けた改良を行なうとともに検水システムの普及に努める。

[泉山信司、大内一敏(東洋濾紙(株)技術センター)、遠藤卓郎]

(8) 寄生原虫類の PCR 検出に使用する陽性対照の開発

PCR 法は高感度かつ容易な手法として実験のみならず、検査診断に広く用いられるようになったが、実際の利用に当たっては高感度ゆえに PCR 産物の汚染による偽陽性がしばしば問題となる。特に陽性対照として用いる鋳型は十分な量があり、多量な反応産物を確実に作りつづけることから、陽性対照を由来とした偽陽性の確率は必然的に高くなる。訓練や設備の充実により問題発生は低減されるが、陽性対照の汚染の恐れがあることに変わりはない。そこで、万一陽性対照の汚染による偽陽性の反応

が生じて、偽陽性であることが直ちに判別できるよう、陽性対照の配列を改変し利用する方法を考案した。具体的には陽性対照（鋳型 DNA）によって得られる増幅産物は真の増幅産物のサイズと異なること、制限酵素切断部位が導入されていること、改変部位に署名となる配列を組み込むことを設計の基本とした。[泉山信司、遠藤卓郎]

(9) 社会不安を誘導することを目的とした故意の汚染に使用される可能性のある原虫類対策に関する研究

社会不安を誘導することを目的として使用される可能性のある原虫類として、原発性アメーバ性髄膜脳炎（Primary Amoebic Meningoencephalitis）の起因アメーバ *Naegleria fowleri* の管理は重要である。*N. fowleri* は自由生活性アメーバで、高温の水環境に適応したアメーバとして知られている。患者は世界各地から報告されているものの、研究用に確立されたアメーバ株は限られている。自然界からのアメーバの分離、培地への順化など株の確立には相当の専門知識が必要で、不穏な目的に使用されるとすれば既存の株が使われる可能性が高いと考えられる。そこで、病原体の traceability を高めるために国内外の研究機関に保存・研究使用されている *N. fowleri* 主要株およびわが国の分離株の遺伝子解析を行い、それぞれの特異配列を明らかとした。あわせて、昨年度より準備してきたアメーバ性脳炎の鑑別診断法の充実に努めた。これまでに、病理組織標本上で *N. fowleri* とそれ以外の 3 種（*Acanthamoeba*, *Balamuthia*, *Entamoeba*）のアメーバの鑑別診断が可能となっている。[小村麻子、山崎 浩、泉山信司、八木田健司、遠藤卓郎]

2. 動物・食品由来寄生蠕虫症に関する研究

(1) マルチプレックス PCR 法によるエキノコックス属条虫鑑別法の開発

犬のエキノコックス症（4 類）が届け出られる場合、虫卵検査によるテニア科条虫卵の検出が端緒となることが多い。しかしながら、エキノコックス属条虫の虫卵は他のテニア科条虫の虫卵と形態的に類似し、形態学的観察のみでは鑑別することができず、確定診断は遺伝子検査によらねばならない。この遺伝子検査として、これまで nested PCR 法あるいは PCR-RFLP 法が主に用いられてきた。ところが、これらは 2 段階以上の反応を行わねばならないため、迅速な鑑別診断が行えるとは言いがたい。そこでミトコンドリアゲノムでコードされる *cox1* 領域を標的部位とするマルチプレックス PCR 法による分子同定の開発を試みた。

[森嶋康之、杉山 広、川中正憲、山崎 浩]

(2) ミスマッチ・プライマーを用いた *Anisakis simplex* 同胞種の迅速鑑別

アニサキス症の主要原因虫である *A. simplex* は、同胞種、すなわち *A. simplex sensu stricto*（以下 As）、および *A. pegreffii*（以下 Ap）などから構成される事が明らかにされてきた。両者の鑑別には、コンセンサス・プライマーで PCR 増幅した ITS 領域を制限酵素処理する方法（PCR-RFLP 法）が広く用いられてきた。そこで、種特異的プライマーを用いた PCR で、より迅速に両者を鑑別できないか検討した。As と Ap の ITS 1 領域には、そのほぼ中央部の 16 bp 離れた位置に 2 箇所、塩基の置換を認める。この 2 箇所の置換を共に反映させた種特異的プライマーをコンセンサス・プライマーと組み合わせて PCR 増幅した。しかしながら、標的種以外の DNA をテンプレートとした場合でも、増幅が見られた。そこで、種特異的プライマーの 3' 末端の隣の塩基を更に意図的に置換したミスマッチ・プライマーを構築し、PCR の特異性を下げて検討した。その結果、各プライマーの標的種のみから PCR 産物が増幅され、標的種以外からは増幅がないという結果を得た。As と Ap のミスマッチ・プライマーを同時に用いるマルチプレックス PCR の系を構築し、更に迅速・簡便な鑑別法の確立を目指した検討を進めている。

[梅原梓里、杉山 広、川上 泰（麻布大学環境保健学部）]

(3) *Diphyllobothrium* 属条虫の遺伝子鑑別法の開発

ヒトの裂頭条虫症の原因となる種類として、わが国では日本海裂頭条虫 *D. nihonkaiense*、広節裂頭条虫 *D. latum*、太平洋裂頭条虫 *D. pacificum* などが知られているが、これらの条虫類を形態学的に鑑別することは容易ではない。そこで、これら裂頭条虫を正確に同定するために、ミトコンドリア DNA 解析に基づいた遺伝子鑑別法を開発するためには多くの裂頭条虫標本の収集を行う必要があるため、国内外の研究者との協力体制を構築した。[山崎 浩、長谷川英男（大分大学医学部）、倉持利明（国立科学博物館）、荒木 潤（目黒寄生虫館）、Hernan Sagua（チリ・アントファガスタ大学医学部）]

(4) 病理組織薄切標本を用いた寄生虫の遺伝子鑑別

摘出病巣部の病理組織切片中にしばしば認められる寄生虫を形態学的に鑑別することは困難な場合がある。そこで、臨床検体としての病理組織標本を用いて寄生虫種を正確に同定するための種々の遺伝子解析法を検討している。病理組織標本はホルマリン固定されていることが

ほとんどであるので、DNA が損傷を受け、したがって数百 bp 程度の短い遺伝子断片について鑑別法を検討した。実際、アニサキス幼虫、顎口虫幼虫、単包虫の種の鑑別法を確立した。

[山崎 浩、杉山 広、森嶋康之、梅原梓里]

3. 輸入寄生虫症に関する研究

(1) マラリア迅速診断キットの診断精度に関する研究

現在、アジア・太平洋地域において、マラリア流行の中心となっている低原虫密度の三日熱マラリアの検出に、どの程度マラリア迅速診断キット(Rapid diagnostic tests, RDTs)が利用できるか検討した。現在、わが国で入手しやすく利用されることが多い2種類のRDTsによる診断結果を顕微鏡的検査による結果と比較したが、熱帯熱マラリアでは2種類のキットの結果は一致した。一方、三日熱マラリアでは2種類のキットの結果は一致しなかった。検出限界と原虫密度については、熱帯熱マラリアの場合、標準的RDTsにより、原虫密度 1,000 / μ l を超える例は全例検出できたものの、100 / μ l に満たない例では、約半数の検出にとどまった。一方、三日熱マラリアに関しては、原虫密度 100 / μ l 以上の例について全例検出できるRDTsがある一方で、原虫密度の高低に関わらず、検出率が30%程度にとどまるものもあり、キットによる違いが大きかった。

[大前比呂思、亀井喜世子(平成帝京大学)]

(2) ヒト住血吸虫症の診断法の開発

住血吸虫症は長期にわたる経過をたどり慢性化し、また流行地では再感染を繰り返すことから感染状況の把握が困難で疾病コントロールの障害になっている。尿を用いた簡便、迅速かつ非侵襲的な診断法の開発を目して、日本住血吸虫感染者の尿中に検出される特異抗体の特徴を明らかにした。抗原として日本住血吸虫(*Schistosoma japonicum*) 成虫(SWAP)および虫卵(SEA)の可溶性粗抗原を用いてELISA法で行った。その結果、特に、高い anti-SWAP および anti-SEA IgG 抗体、低い anti-SEA IgA 抗体が検出された。また、15歳以下の感染者に高い anti-SWAP および anti-SEA IgM 抗体が検出された。糞便中の虫卵数(EPG)とはいずれの抗体クラスとも相関を認めなかった。また、尿中IgG抗体は投薬後比較的早期に低下することが判明した。

[朝日博子、大前比呂思、田邊将信(慶応義塾大学医学部)、山下隆夫(山形県立保健医療大学)、太田伸生(東京医科歯科大学大学院)]

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構築に関してフィールドモデル試験を行った。下水処理場の最終沈殿池に貝飼育槽を設置し、オーシストと同様に浮遊性粒子として存在する濁質および微生物に関して、水の濁度および密度の変動を調べた。1日のトラフ流入水量のおよそ50%が貝によりろ過されるというモデルでは、最低限のろ過能力が発揮される水温15前後となる10~1月の低水温期において濁度が20~30%減少し、また水中の微生物類の密度に関しては40~60%の減少が認められ、本水浄化システムによりオーシストの量的低減化の可能性が示された。生物機能を利用した環境調和型の浄化システムのひとつとして、小~中規模の下水処理場においてその有効性が発揮されることが考えられた。

[泉 敏彦(北海道立衛生研究所)、八木田健司]

2. クロラミンによるアメーバの消毒

浴場施設におけるレジオネラ問題の対策として、浴槽水の塩素消毒が緊急避難的措置として指導されているが、高pHの温泉等では有効ではなく、別の消毒方法が求められていた。当該研究ではクロラミン消毒に着目し、レジオネラ属菌の宿主アメーバに対する効果を評価した。pH 9で35の時に、*Naegleria*属アメーバはCt値4,000程度で4-log以上の不活化を得た。高pHになるとアメーバに対する効果は低下したが、接触時間を確保することにより栄養型のアメーバに対する消毒が可能であり、増殖の抑制も期待される。

[泉山信司、小村麻子、八木田健司、遠藤卓郎]

3. 温暖化に伴うマラリア再流行の可能性に関する研究

気温上昇によりマラリアの流行が拡大するというモデルは、温暖化に伴いマラリア媒介蚊の生息できる標高限界が上昇していくという、アフリカ高地での経験により作成されたが、他の地域に当てはめる場合、大きな修正を迫られる。熱帯熱マラリア原虫の媒介蚊であるコガタハマダラカは、日本でも八重山群島に生息しているが、温暖化に伴ってその生息範囲が拡大する傾向はみられない。しかし、このまま温暖化が進み降水量も変化すれば、現在の生息地において、しばらくの間幼虫密度は増加していくと推測される。そこで、1950年代に八重山諸島でおきたマラリア流行を数理モデル化して検討したところ、現在のコガタハマダラカ生息地における、小規模なマラリア拡大の潜在的危険性が確認された。しかし、温暖化

が進んだとしても、熱帯熱マラリア原虫が日本に侵入・定着して再流行を起こすには、色々な条件が重なる必要がある。その可能性は非常に低いうえ、適切な対策をとれば、その流行は速やかに抑えられることが、モデル上も示された。

[大前比呂思、石川洋文(岡山大学大学院)]

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

衛生微生物技術協議会 第28回研究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。各種寄生虫症の血清・遺伝子診断、赤痢アメーバ症の現状と検査体制を中心に議論した。

[大前比呂思、山崎 浩、八木田健司]

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。[八木田健司、泉山信司]

3. 平成19年度依頼検査

(1) 血清を用いた寄生虫抗体検査

線虫8種(ドロレス顎口虫、犬回虫、犬鉤虫、アニサキス、豚回虫、犬糸状虫、広東住血線虫) 条虫4種(有鉤囊虫、マンソン弧虫、多包虫、単包虫)、吸虫5種(ウェステルマン肺吸虫、宮崎肺吸虫、肝蛭、日本住血吸虫、マンソン住血吸虫)の抗原を用いた抗体検査が可能であり、通常は酵素抗体法を実施しているが、寄生虫症によってはドットプロット、ウエスタンプロット(有鉤囊虫症、エキノコックス症)あるいは薄切切片標本を用いた免疫組織化学的検査(旋尾線虫症)を行っている。平成19年度には、計38件(36症例)の依頼検査があり、うち7症例で特異抗体が検出された。内訳は顎口虫症(2例)、イヌ・ネコ回虫症(1例)、アニサキス症(1例)、マンソン弧虫症(1例)、肺吸虫症(2例)であった。

[三澤由美子、杉山 広、森嶋康之、川中正憲、山崎 浩]

(2) 遺伝子検査による寄生虫鑑別

自然排出あるいは駆虫後に得られた虫体、あるいはパラフィン包埋切片内に見出された虫体の同定依頼があった。鑑別はミトコンドリアDNAあるいはリボソームRNA

遺伝子 ITS 領域の塩基配列解析結果に基づいて行った。平成19年度には計11件の依頼検査があり、内訳は日本海裂頭条虫(5例)、無鉤条虫(3例)、単包条虫(1例)、二核顎口虫(1例)、アニサキス(1例)であった。

[三澤由美子、杉山 広、梅原梓里、森嶋康之、山崎 浩]

国際協力関係業務

1. WPROのNeglected Tropical Diseases (NTDs) 対策への貢献

WHOは、住血吸虫や消化管寄生蠕虫など、世界的にみて感染者が多いにも関わらず、今まであまり注目を集めてこなかった感染症を顧みられなかった感染症(Neglected Tropical Diseases, NTDs)とし、最近その対策に力を入れている。平成19年12月5,6,7日、主にNTDs対策への実用的研究の活性化を目指して、WPROが主催したInformal consultation for the regional research strategic plan in communicable diseases, including NTDsがマニラで開かれたので、WHO短期専門家として招聘され参加した。多くの対象感染症で、治療的介入を中心とした成果があがる一方、軽症者が増加することによって、従来の疫学的指標の限界が明らかになっている現状を指摘した。さらに、今後のモニタリング手法に対する研究の重要性を確認して、他の参加者とともに報告書を作成した。

[大前比呂思]

2. アジアにおけるマラリアの疫学と対策に関する共同研究と情報共有の促進

平成17年度より、アジア・太平洋地域における、マラリア研究や対策のネットワーク作りを進めてきたが、その成果を確認し、次のステップにつなげるため、平成19年11月末、感染研において国際会議を行った。日本以外に、中国、フィリピン、タイ、カンボジア、ソロモン諸島の5カ国から6研究機関、さらにWPROの担当者のお席を得た。WPROでは、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が多く、既存の疫学的指標では、流行の実態がわからないことも多い。また隣接した国であっても、島嶼部と大陸部では、マラリア原虫の変異速度も全く異なることが、分子疫学的共同研究で判明した。今後は、治療的介入を進める一方、マラリア流行と対策評価が的確にできるような分子疫学的指標の開発や標準化も望まれる。

[大前比呂思]

3. メコン川流域における住血吸虫症対策への協力

ラオス・カンボジア国境付近のメコン川中流域に広がるメコン住血吸虫症対策に協力した。カンボジアの浸淫地であるストントレイン省とクラチエ省のうち、クラチエ省では、ブラジカンテルの集団治療の継続の結果、2004年以降新規感染者がゼロの状態が続いている。しかし、カンボジアのメコン川中流域で採取される媒介貝 (*Neotricula aperta*) の -strain は、メコン住血吸虫のラオス、コーン島 strain に対しても高い感染性を持っている。今後、メコン川の開発が進み、カンボジア、ラオス間で国境を越えたヒトの往来が盛んになると、ラオスからのメコン住血吸虫の流入が問題になる可能性がある。[大前比呂思、松田 肇・千種雄一（獨協医科大学）]

研修業務

- 平成 19 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。その他、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、遠藤卓郎]
- 中国アカデミアと国立保健医療科学院水道工学部の要請に基づき、Hongyan Li（中国アカデミア）に対して水道源水等からのクリプトスポリジウム、ジアルジア検出の講義実習を行った。[八木田健司、黒木敏郎（神奈川衛研）、泉山信司、遠藤卓郎]
- JICA 中米血液スクリーニングコースの受講生に対して、LAMP 法による遺伝子検査法の講義と実演を行った。[大前比呂思、泉山信司、布施 晃（血液・安全性研究部）]
- 平成 19 年度 JICA 集団研修「国際寄生虫予防指導者セミナー」ならびに韓国国立保健社会研究院保健医療研究本部 食品栄養対策チームに対して「わが国における寄生虫感染症の現状について」セミナーを行った [山崎 浩]
- 厚生労働科学研究費補助金（地域健康危機管理研究事業）「迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究（主任研究者：倉文明）」の分担・協力研究者に対して、レジオネラ属菌 DNA 抽出法と qPCR ならびに LAMP による遺伝子定量試験法の実習を行った。[前川純子（細菌第一部）、倉 文明（細菌第一部）、泉山信司、遠藤卓郎]
- 平成 19 年度希少感染症診断技術研修会において、わが国におけるクリプトスポリジウムの発生状況、並びに検査法について講義した。[八木田健司、泉山信司、古屋宏二]

- アライグマ糞便を材料とした虫卵検査の研修を行った：地研担当者（横須賀市）
[川中正憲、森嶋康之、杉山 広、山崎 浩]
- 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：地研担当者（横須賀市）
[川中正憲、森嶋康之、杉山 広、山崎 浩]
- 国立感染症研究所・医師卒後臨床研修プログラムに協力して、「臨床や公衆衛生の現場で問題となる寄生虫症の考え方」に関する研修を行った。[大前比呂思]
- 国際協力機構（JICA）の中南米向け研修コース、輸血血液の安全性に協力して、「Malaria and blood donor」に関する研修と実習を行った。
[大前比呂思、泉山信二]

発表業績一覧

1. 誌上発表

- 欧文発表
 - 1) Furuya K., Omura M., Kudo S., Sugiura W., Azuma H. Recognition profiles of microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* polar tube protein 1 with human immunoglobulin M antibodies. *Parasite Immunol.*, **30**: 13-21, 2008.
 - 2) Kuroki T., Izumiyama S., Yagita K., Une Y., Hayashidani H., Kuroo M., Mori A., Moriguchi H., Toriba M., Ishibashi T., Endo T. Occurrence of *Cryptosporidium* sp. in snakes in Japan. *Parasitol. Res.*, **102**: 2008 (in press).
 - 3) Sugiyama H., Morishima Y., Binchai S., Rangsiruji A. Molecular discrimination between *Paragonimus heterotremus* and two forms of *P. westermani* occurring in Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, **38**(Suppl 1): 2008 (in press).
 - 4) Umehara A., Kawakami Y., Araki J., Uchida A., Sugiyama H. Molecular analysis of Japanese *Anisakis simplex* worms. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, **38**(Suppl 1): 2008 (in press).
 - 5) Yamasaki H., Nakaya K., Nakao M., Sako Y., Ito A. Significance of molecular diagnosis for cestode zoonoses using histopathological specimens. *Trop. Med. Health*, **35**: 307-321, 2007.
 - 6) Yamasaki H., Nakaya K., Nakao M., Sako Y., Ito A. Mitochondrial DNA diagnosis for cestode zoonoses: application to formalin-fixed paraffin-embedded tissue specimens. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, **38**(Suppl 1): 166-174, 2007.

- 7) Sako Y., Yamasaki H., Nakaya K., Nakao M., Ito A. Cloning and characterization of cathepsin L-like peptidases of *Echinococcus multilocularis* metacestodes. *Mol. Biochem. Parasitol.*, **37**: 181-189, 2007.
- 8) Nakao M., Ahmed D., Yamasaki H., Ito A. Mitochondrial genomes of the human broad tapeworms *Diphyllobothrium latum* and *Diphyllobothrium nihonkaiense* (Cestoda: Diphyllobothriidae). *Parasitol. Res.*, **101**: 233-236, 2007.
- 9) Narankhajid M., Ahmed D., Wandra T., Tsogtsaikhan S., Purevdori I., Yamasaki H., Sako Y., Nakao M., Sato M. O., Nakaya K., Ito A. Taeniasis in Mongolia, 2002-2006. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **77**: 342-346, 2007.
- 10) Anantaphruti M.T., Yamasaki H., Nakao M., Waikagul J., Watthanakulpanich D., Nuamtanong S., Maipanich W., Pubampen S., Sanguankiat S., Muennoo C., Nakaya K., Sato M.O., Sako Y., Okamoto M., Ito A. Sympatric occurrence of *Taenia solium*, *T. saginata*, and *T. asiatica*, Thailand. *Emerg. Infect. Dis.*, **13**: 1413-1416, 2007.
- 11) Ishikawa E., Komatsu Y., Kikuchi K., Yamasaki H., Kimura H., Osuka S., Tsurubuchi T., Ito A., Matsumura A. Neurocysticercosis as solitary parenchymal lesion confirmed by mitochondrial deoxyribonucleic acid sequence analysis. *Neurol. Medico-Chirurg.*, **47**: 40-44, 2007.
- 12) Okamoto M., Nakao M., Tachi E., Sako Y., Sato O. M., Yamasaki H., Nakaya K., Ito A. Asian *Taenia*: species or subspecies? *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, **38**(Suppl 1): 125-130, 2007.
- 13) Anantaphruti M.T., Waikagul J., Yamasaki H., Ito A. Cysticercosis and Taeniasis in Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, **38**(Suppl 1): 151-158, 2007.
- 14) Ikuta K., Torimoto Y., Inamura J., Shindo M., Sato R., Kawamoto F., Yamasaki H., Kohgo Y. A case of imported tertian malaria occurred despite prophylaxis by mefloquine in East Timor. *J. Brit. Travel Health Assoc.*, **10**: 50-52, 2007.
- 15) Inoue T., Nonaka N., Mizuno A., Morishima Y., Sato H., Katakura K., Oku Y. Mitochondrial DNA phylogeography of the red fox (*Vulpes vulpes*) in northern Japan. *Zool. Sci.* **24**: 1178-1186, 2007.
- 16) Yu S.H., Wang H., Wu X.H., Ma X., Liu P.Y., Liu Y.F., Zhao Y.M., Morishima Y., Kawanaka M. Cystic and alveolar echinococcosis: an epidemiological survey in a Tibetan population in southeast Qinghai, China. *Jpn. J. Infect. Dis.*, **61**: 242-246, 2008.
- 17) Saito-Nakano Y., Mitra B.N., Nakada-Tsukui K., Sato D., Nozaki T. Two Rab7 isotypes, *EtRab7A* and *EtRab7B*, play distinct roles in biogenesis of lysosomes and phagosomes in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *Cell. Microbiol.*, **9**: 1796-1808, 2007.
- 18) Mitra B.N., Saito-Nakano Y., Nakada-Tsukui K., Sato D., Nozaki T. Rab11B small GTPase regulates secretion of cysteine proteases in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *Cell. Microbiol.*, **9**: 2112-2125, 2007.
- 19) Clark C.G., Hofer M., Alsmark U.C.M., Saito-Nakano Y., Ali V., Marion S., Weber C., Mukherjee C., Bruchhaus I., Tannich E., Leippe M., Sicheritz-Ponten T., Foster P.G., Noel C.J., Hirt R.P., Embley T.M., Samuelson J., Gilchrist C.A., Mann B.J., Singh U., Ackers J.P., Bhattacharya S., Bhattacharya A., Lohia A., Guillen N., Duchene M., Nozaki T., Hall N. Structure and content of the *Entamoeba histolytica* genome. *Adv. Parasitol.*, **65**: 51-190, 2007.
- 20) Tanabe K., Sakihama N., Walliker D., Babiker H., Abdel-Muhsin A.M., Bakote B., Ohmae H., Arisue N., Horii T., Rooth I., Farner A., Bjorkman A., Ranford-Cartwright L. Allelic dimorphism-associated restriction of recombination in *Plasmodium falciparum* msp1. *Gene*, **397**: 153-160, 2007.
- 21) Shimada M., Kato-Hayashi N., Chigusa Y., Nakamura S., Ohmae H., Sinuon M., Socheat D., Kitikoon V., Matsuda H. High susceptibility of *Neotricula aperta* gamma-strain from Krakor and Sdau in Cambodia to *Schistosoma mekongi* from Khong Island in Laos. *Parasitol. Int.*, **56**: 157-160, 2007.

2. 和文発表

- 1) 遠藤卓郎, 黒木俊郎, 泉山信司. 「原虫・寄生虫 - クリプトスポリジウム、ジアルジア」、食中毒予防必携第2版, (渡邊治雄 他 編), (社) 日本食品衛生協会,

- pp. 268-279, 2007.
- 2) 遠藤卓郎, 八木田健司. 「原虫・寄生虫 - 赤痢アメーバ」、食中毒予防必携 第2版, (渡邊治雄 他 編), (社)日本食品衛生協会, pp. 279-285, 2007.
 - 3) 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**: 148-152, 2007.
 - 4) 遠藤卓郎, 泉山信司, 八木田健司. 生活用水のアメーバ汚染. 化学療法の領域, **23**: 579-582, 2007.
 - 5) 津田雅由, 峯 龍太郎, 喜友名正也, 山崎 浩, 伊藤 亮. 臀部の皮下、筋層に多発した石灰化病変を有する有鉤囊虫症の1例. 日本形成外科学会誌, **27**: 381-385, 2007.
 - 6) 西村優子, 山口聡子, 佐原卓夫, 中崎康代, 鶴田せつ子, 藤森 勲, 記野秀人, 山崎 浩, 中尾 稔, 伊藤 亮, 倉持利明. 遺伝子解析で確定診断された腸管条虫症の2例. Clin. Parasitol., **18**: 46-48, 2007.
 - 7) 村田知香代, 猪浦一人, 鈴木光江, 関口久男, 宮内優太, 並木 薫, 成富琢磨, 野登はるか, 片山 修, 山本徳栄, 近 真理奈, 八木欣平, 山崎 浩, 荒木潤. 裂頭条虫症の一例. Clin. Parasitol., **18**: 69-71, 2007.
 - 8) 山本雅大, 徳差良彦, 山崎 浩, 唐崎秀則, 石崎 彰, 葛西真一. 腸管穿孔をきたした腸管赤痢アメーバ症の1例. 診断病理, **24**: 233-235, 2007.
 - 9) 杉山 広. イノシシ肉を生で食べて感染する肺吸虫. 狩猟界, **51**: 88-91, 2007.
 - 10) 杉山 広, 森嶋康之, 荒川京子, 木白俊哉, 川中正憲. 旋尾線虫をめぐる新しい展開. 寄生虫分類形態談話会会報, **25**: 4-7, 2007.
 - 11) 杉山 広, アチャリア・ラングシルジ, シャンティクマール・シン. インドの肺吸虫: スクリアピン肺吸虫およびヒロクチ肺吸虫の形態観察と分子同定. 獣医寄生虫学会誌, **6**: 30, 2007.
 - 12) 杉山 広, 小島莊明. アニサキス幼虫・旋尾線虫X型幼虫・旋毛虫・肺吸虫. 食中毒予防必携 (第2版), (渡邊治雄 他 編), 日本食品衛生協会, pp. 297-305, pp. 319-324, 2007.
 - 13) 杉山 広, 川中正憲. 回虫. 食中毒予防必携 第2版, (渡邊治雄 他 編), 日本食品衛生協会, pp. 331-334, 2007.
 - 14) 川中正憲. 人獣共通感染症の今日的な問題と取り組み、エキノコックス、JVPA DIGEST、(日本動物用医薬品協会会報、創立60周年記念特集号) **31**: 66-71, 2008.
 - 15) 大前比呂思, 小島莊明. 「原虫・寄生虫 - 顎口虫、横川吸虫と肝吸虫、日本海亀裂頭条虫と広節裂頭条虫、マンソン裂頭条虫、有鉤条虫と無鉤条虫」、食中毒予防必携 第2版, (渡邊治雄 他 編), (社)日本食品衛生協会, pp. 305-318, pp. 325-331, 2007.
 - 16) 長谷山路夫, 飯塚信二, 大前比呂思, 津田良夫. 成田空港に到着する国際航空機内ならびに空港区域における蚊の採集. Med. Entomol. Zool., **58**: 191-197, 2007.
 - 17) 大前比呂思, 亀井喜世子, 中澤 港, Bernard Bokote e. マラリア対策の進捗による感染状況の変化とフィールドでの迅速診断キットの限界. Clin. Parasitol., **18**: 127-130, 2007.
 - 18) 三浦彰子, 新妻 淳, 大前比呂思. マラリア感染蚊からの効率的な遺伝子検出の検討. 日本検疫医学会誌, **9**: 118-122, 2007.

学会発表

1. 国際学会

- 1) Endo T. What is learned from water-related outbreak of cryptosporidiosis sign phenomenon and oocyst monitoring. Japan-US governmental conference on drinking water quality management and wastewater control. January, 2007, Okinawa, Japan
- 2) Yagita K., Izumiyama S., Omura M., Kameoka Y., Endo T. Genotyping of *Acanthamoeba* strains based on mitochondrial DNA RFLPs and 18S rDNA sequences. XIIth International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-Living Amoebae (FLAM 2007), 27-30 Aug., 2007, Saitama, Japan
- 3) Omura M., Furushima-Shimogawara R., Yagita K., Izumiyama S., Endo T. 2D-Page protein profiles of pathogenic and non-pathogenic *Naegleria* species (II). XIIth International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-Living Amoebae (FLAM 2007), 27-30 Aug., 2007, Saitama, Japan
- 4) Natividad F. F., Buerano C. C., Bon Siong R. L., Inovejas S.A.B., Bacani D. B., Izumiyama S., Yagita K., Matias R. R., Endo T. Characterization and identification of various *Acanthamoeba* isolates from the Philippines. XIIth International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-living Amoebae (FLAM 2007), 27-30 Aug., 2007, Saitama, Japan
- 5) Buerano M. T., Gonzales T., Inovejas S.A.B.,

- Yagita K., Izumiyama S., Matias R. R. Endo T., Natividad F. F. Occurrence of *Acanthamoeba* spp. in the nasal cavity of selected human populations in Metro Manila, Philippines Corazon C. XIIth International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-living Amoebae (FLAM 2007), 27-30 Aug., 2007, Saitama, Japan
- 6) Suzuki-Hashimoto A., Amemura-Maekawa J., Kura F., Chang B., Izumiyama S., Ichinose M., Watanabe H., Endo T. The surveillance of *Legionella* from cooling towers between 2001 and 2006 in Japan. The 23rd Meeting of the European Working Group for *Legionella* Infections (EWGLI), June, 2007, Stockholm, Sweden
- 7) Kura F., Amemura-Maekawa J., Suzuki-Hashimoto A., Chang B., Izumiyama S., Ichinose M., Endo T., Watanabe H. Surveillance of *Legionella* isolates from bathtub water in Japan: A increase of the rate of *Legionella pneumophila* serogroup 1 among *Legionella* isolates. The 23rd meeting of the European Working Group for *Legionella* Infections (EWGLI), June, 2007, Stockholm, Sweden
- 8) Qian B-Z., Sugiyama H., Waikagul J., Zhu, Z-H. *Paragonimus* in Zhejiang, China: Morphology, Molecular Biology and Diagnosis. The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene Centenary Conference, 13-15 Sep., 2007, London, UK
- 9) Sugiyama H., Morishima Y., Binchai S., Rangsiroji A. Molecular discrimination between *Paragonimus heterotremus* and two forms of *P. westermani* occurring in Thailand. Joint International Tropical Medicine Meeting 2007, 29-30 Nov., 2007, Bangkok, Thailand
- 10) Umehara A., Kawakami Y., Araki J., Uchida A., Sugiyama H. Molecular analysis of *Anisakis simplex* isolated from Japan. Joint International Tropical Medicine Meeting 2007, 29-30 Nov., 2007, Bangkok, Thailand
- 11) Morishima Y. PCR technology applied in differentiating taeniid species. Seminar on epidemiology and control of echinococcosis, 12-14 Dec., 2007, Shanghai, China
- 12) Sugiyama H. Pathological findings observed in animals infected with *Echinococcus* spp.. Seminar on epidemiology and control of echinococcosis, 12-14 Dec., 2007, Shanghai, China
- 13) Kawanaka M. Western blotting as a back-up serology for ultrasonography in diagnosing echinococcosis. Seminar on epidemiology and control of echinococcosis, 12-14 Dec., 2007, Shanghai, China
- 14) Yamasaki H. Research progress in Taeniasis and Cysticercosis. Seminar on epidemiology and control of echinococcosis, 12-14 Dec., 2007, Shanghai, China
- 15) Yamasaki H., Nakaya K., Nakao M., Sako Y., Ito A. Significance of molecular-pathological diagnosis in cestode zoonoses. 21st Pacific Science Congress, 12-18 June, 2007, Okinawa, Japan
- 16) Ito A., Wandra T., Nakao M., Sako Y., Yamasaki H., Nakaya K. The present situation of taeniasis/cysticercosis in Asia and the Pacific: The importance of molecular and immunological approaches. 21st Pacific Science Congress, 12-18 June, 2007, Okinawa, Japan
- 17) Anantaphruti T. M., Waikagul J., Yamasaki H., Ito A. Cysticercosis and taeniasis in Thailand. 21st Pacific Science Congress, 12-18 June, 2007, Okinawa, Japan
- 18) Okamoto M., Nakao M., Anantaphruti T. A., Tachi E., Sako Y., Sato O.M., Yamasaki H., Nakaya K., Waikagul J., Ito A. Is Asian *Taenia* species or subspecies ? 21st Pacific Science Congress, 12-18 June, 2007, Okinawa, Japan
- 19) Ohmae H., Kirinoki M., Matsumoto J., Chigusa Y., Blas B.L., Ducusin B., Sinuon M., Sochet D., Matsuda H. Comparison of schistosomiasis control programs in Southeast Asia; Impact of rainfall on control of schistosomiasis japonica in Philippines and that of schistosomiasis mekongi in Cambodia. The 7th International Meeting of Regional Network on Asian Schistosomiasis +, 5-7 Sep., 2007, Lijiang, Yunnan, China
- 20) Ohmae H., Sinuon M., Kirinoki M., Matsumoto J., Chigusa Y., Sochet D., Tsuyuoka R., Matsuda H. Control of *Schistosoma mekongi* in Cambodia: result of ten years of control activities and the future. The 42nd US-Japan Parasitic Diseases Meeting, 16-18 Jan., 2008, Davis, California, USA
2. 国内学会
- 1) 鈴木敦子, 前川 純, 倉 文明, 常 彬, 泉山信司, 市瀬正之, 渡辺治雄, 遠藤卓郎. 冷却塔水からのレジオネラ属菌の検出状況 - 2001年度から2006年度まで - 第81回日本感染症学会総会学術講演会, 2007年4月,

京都

- 2) 倉 文明, 前川純子, 鈴木敦子, 常 彬, 泉山信司, 市瀬正之, 遠藤卓郎, 渡辺治雄. 浴槽水からのレジオネラ属菌の検出状況 - *Legionella pneumophila* 血清群1の増加. 第81回日本感染症学会総会学術講演会, 2007年4月, 京都
- 3) 杉山寛治, 大畑克彦, 古澤亜紀, 泉山信司, 八木田 健司, 遠藤卓郎. 循環式浴槽水の微生物制御手法としての珪藻土ろ過の有用性. 日本防菌防黴学会, 第34回年次大会, 2007年8月, 大阪
- 4) 神澤 啓, 縣 邦雄, 伊藤雅代, 遠藤卓郎. 各種酸化性殺菌剤のレジオネラ属菌に対する効果. 日本防菌防黴学会, 第34回年次大会, 2007年8月, 大阪
- 5) 荒井桂子, 玉江紗百合, 田中礼子, 吉川循江, 林 宏子, 山口 正, 遠藤 卓郎, 泉山信司. 遺伝子を用いた迅速測定法による浴槽水中のレジオネラ属菌の検出. 日本防菌防黴学会, 第34回年次大会, 2007年8月, 大阪
- 6) 泉山信司, 遠藤卓郎. 浴槽水の溢水あるいはろ過による濁質と有機物除去に関する計算. 第7回環境技術学会大会, 2007年9月, 大阪
- 7) 高岡紀子, 八木田健司, 遠藤卓郎, 松原正男. 角膜から得られたアカントアメーバを遺伝学的に同定した1症例. 第60回日本臨床眼科学会, 2007年10月, 京都
- 8) 遠藤卓郎. 温泉施設におけるレジオネラ感染予防のための適切な衛生管理手法. 第66回日本公衆衛生学会総会, 2007年10月, 愛媛
- 9) 黒木俊郎, 泉山信司, 八木田健司, 遠藤卓郎. クリプトスポリジウムおよびジアルジア感染症の感染経路の検討. 第67回日本寄生虫学会東日本支部大会, 2007年10月, 東京
- 10) 八木田健司, 泉山信司, 小村麻子, 亀岡洋祐, 遠藤卓郎. *Acanthamoeba* 分離株のミトコンドリア DNA および 18S rDNA による遺伝子型別. 第40回原生動物学会大会, 2007年11月, 富山
- 11) 遠藤卓郎. 水道システムにおける微生物モニタリングに求められるもの. 第10回水環境制御研究センターシンポジウム, 2007年12月, 東京
- 12) 杉山 広, アチャリア・ラングシルジ, シャンティクマール・シン. インドの肺吸虫: スクリアピン肺吸虫およびヒロクチ肺吸虫の形態観察と 分子同定. 第143回日本獣医学会学術集会, 2007年4月, つくば
- 13) 坂本晃子, 増本久人, 平野敬之, 船津丸貞幸, 池添博士, 天草 務, 杉元昌志, 森田満雄, 山中 和貴, 川上 泰, 杉山 広, 森嶋康之, 川中正憲. ウェステルマン肺吸虫による食中毒事例について(発生概要と原因に関する疫学調査). 平成19年度九州地区食品衛生監視員協議会研修会, 2007年8月, 福岡
- 14) 坂本晃子, 増本久人, 平野敬之, 船津丸貞幸, 池添博士, 天草 務, 杉元昌志, 森田満雄, 山中 和貴, 川上 泰, 杉山 広, 森嶋康之, 川中正憲. ウェステルマン肺吸虫による食中毒事例について. 平成19年度全国食品衛生監視員研修会, 2007年10月, 東京
- 15) 梅原梓里, 川上 泰, 荒木 潤, 内田明彦, 杉山 広. ミトコンドリア *cox1* 遺伝子の塩基配列に基づく *Anisakis simplex* 同胞種の分類学的解析. 第67回日本寄生虫学会東日本支部大会, 2007年10月, 東京
- 16) 梅原梓里, 川上 泰, 荒木 潤, 内田明彦, 杉山 広. 日本産 *Anisakis simplex* の同胞種レベルでの分類学的解析. 第145回日本獣医学会学術集会, 2008年3月, 相模原
- 17) 中西啓司, 堀越敬之, 田中敏夫, 太田 優, 永田 秀明, 木村明生, 川中正憲, 森嶋康之, 杉山 広, 荒川京子. 大阪府内における捕獲犬のエキノコックス及び腸管寄生蠕虫保有調査(第1報). 平成19年度日本獣医公衆衛生学会, 2007年10月, 大阪
- 18) 山崎 浩, 中谷和宏, 中尾 稔, 迫 康仁, 伊藤 亮. パラフィン包埋組織切片を用いた人畜共通条虫症の分子病理診断. 第76回日本寄生虫学会大会, 2007年4月, 大阪
- 19) Nkouawa A., Edinga E., Yamasaki H., Tachi E., Okamoto M., Shibahara T., Blair D., Moyou-Somo R., Ito A. Paragonimiasis in Cameroon: molecular analysis, serodiagnosis and clinical manifestations. 第76回日本寄生虫学会大会, 2007年4月, 大阪
- 20) Sato O. M., Sako Y., Yamasaki H., Nakaya K., Nakao M., Ito A. The role of apoptosis on proglottid development in *Taenia saginata*. 第76回日本寄生虫学会大会, 2007年4月, 大阪
- 21) 岡本宗裕, 中尾 稔, 館 栄子, 迫 康仁, Sato O. M., 山崎 浩, 中谷和宏, 伊藤 亮. Asian *Taenia* (タイワンテニア) は 独立種か、それとも亜種か. 第76回日本寄生虫学会大会, 2007年4月, 大阪
- 22) 中尾 稔, 山崎 浩, 伊藤 亮. 広節裂頭条虫と日本海裂頭条虫のミトコンドリアゲノム. 第76回日本寄生虫学会大会, 2007年4月, 大阪
- 23) 中谷和宏, 佐藤大竹マルセロ, 山崎 浩, 中尾 稔,

- 迫 康仁, 伊藤 亮. NOD/Shi-*scid*とC.B-17/Icr-*scid* マウスにおける多包虫の増殖と原頭節形成. 第76回日本寄生虫学会大会, 2007年4月, 大阪
- 24) 迫 康仁, 中谷和宏, 山崎 浩, 中尾 稔, 伊藤 亮. 多包虫メタロプロテアーゼの遺伝子クローニング. 第76回日本寄生虫学会大会, 2007年4月, 大阪
- 25) 西村優子, 山口聡子, 佐原貞夫, 中崎康代, 鶴田 せつ子, 藤森 勲, 記野秀人, 山崎 浩, 中尾 稔, 伊藤 亮. 遺伝子解析で確定された腸管条虫症の2例. 第18回日本臨床寄生虫学会, 2007年6月, 東京
- 26) 中野由美子 赤痢アメーバの病原性におけるコレステロールの役割 (Role of cholesterol for parasitic infection in *Entamoeba histolytica*). 第76回日本寄生虫学会大会 2007年3月29-30日, 大阪
- 27) 中野由美子, 遠藤卓郎. わが国における最近のアメーバ赤痢発生動向. 平成19年5月メディア情報交換会
- 28) Saito-Nakano, Y. Role of cholesterol for pathogenesis in protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. 第40回日本発生物学会・第59回日本細胞生物学会合同大会, 2007年5月28-30日, 福岡
- 29) 朝日博子. 住血吸虫症におけるヘルパーT細胞応答と病態. 第一回蠕虫研究会, 2007年11月, 宮崎