


住血吸虫症の感染防御免疫とその予防・治療的
応用に関する研究 (H-10-新興-26)

厚生省厚生科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業
平成 10 年度研究報告書

研究代表者 太田伸生
(名古屋市立大学医学部医動物学教室)

厚生大臣 宮下創平 殿

住 所
フリガナ オオタノブオ
研究者 氏 名 太田 伸生 
(所属施設 名古屋市立大学)

平成10年度厚生科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)に係わる研究事業を完了したので次のとおり報告する。


研究課題名(課題番号)：縷血吸虫症の感染防御免疫とその予防・治療的応用に関する研究(H-10-新興-26)

国庫補助金精算所要額：金 22,000,000円也

1. 厚生科学研究費補助金総括研究報告書概要版及びこれを入力したフロッピーディスク
(別添1のとおり)
2. 厚生科学研究費補助金総括研究報告書 (別添2のとおり)
3. 厚生科学研究費補助金分担研究報告書 (別添3のとおり)
4. 研究成果の刊行に関する一覧表

刊行書籍又は雑誌名(雑誌のときは雑誌名、巻号数、論文名)	刊行年月日	刊行書店名	執筆者氏名
<i>Immunogenetics</i> , 47: 497-498. Polymorphism of the promotor region of tumor necrosis factor α gene in the Melaesian and East-Asian populations.	1998		Yoshida A., Uchida JY., Ishii A., Leafasia JL., Zhou D., Chen Y., Tang LP., Lie CY., Qiu DC., Ohmae H. and Ohta N.
<i>Experimental Parasitology</i> , 89: 16-20. <i>Strongyloides venezuelensis</i> : Binding of orally secreted adhesion substances to sulfated carbohydrates.	1998		Maruyama H., Nawa Y. and Ohta N.
<i>Cancer Letters</i> , 135: 215-2 1 ² p53 gene mutations in rectal cancer associated with schistosomiasis japonica in Chinese patients	1998		Zhang R., Takahashi S., Orita S., Yoshida A., Maruyama H., Shirai T. and Ohta N.
<i>In: Malaria Research in the Solomon Islands</i> , Ishii A., Nihei N. and Sasa M. (Eds). pp.82-85. Analysis of genetic polymorphism of TNF- α in humans: A comparative study in individuals in malaria-endemic and -nonendemic areas.	1998	Inter Group Corp., Tokyo.	Ohta N., Yoshida A., Leafasia JL., Bobogare A., Kere N., Kirimaoma S., Tang L., Chen Y. Ohmae H. and Ishii A.

<p>In: Malaria Research in the Solomon Islands, Ishii A., Nihei N, and Sasa M, (Eds), pp.92-98. Analysis of specificities and functional profiles of MSP1-reactive T cells observed in individuals with or without previous infection with <i>Plasmodium falciparum</i>.</p>	1998	Inter Group Corp., Tokyo.	Ohta N., Fu J., Leafasia J.L., Bobogare A., Kere N., Kirimaoma S., Tanabe K., Hirayama K. and Ishii A.
<p><i>Parasitology International</i>, 48: 73-79. Immune responses against protozoal and nematodal infection in mice with underlying <i>Schistosoma mansoni</i> infection.</p>	1999		Yoshida A., Maruyama H., Yabu Y., Amano T. and Ohta N.
<p>最新医学 住血吸虫症, 52(増刊), 1620-1627, Parasitol. Int., 47: 211-217. Accuracy of diagnosis of urinary schistosomiasis: Comparison of parasitological and a monoclonal antibody-based dipstick method.</p>	印刷中 →1999 1998		太田伸生 Bosompem, K. M., Asigbee, J., Otchere, J., Haruna, A., Kpo, K. H. and Kojima, S
<p>Parasitol. Int., 47: 289-300. Molecular cloning and expression of a <i>Schistosoma japonicum</i> tegumental membrane-associated antigen, a potential immunodiagnostic and vaccine candidate.</p>	1998		Chen, L., Gao, P., Yamashita, T., Nara, T., Kojima, S., Sendo, F. and Araki, Y.
<p>Schistosomes. 479-505. In: Topley and Wilso's Microbiology and Microbial Infections, 9th Edition, vol. 5 Parasitology, ed. by Cox, F.E.G., Kreier, J. P., and Wakelin, D., Arnold, London</p>	1998		Kojima, S.
<p>Proceedings of the 9th International Congress of Parasitology, ed. by Tada, I., Kojima, S. and Tsuji, M., Monduzzi Editore, Bologna, 433-437. The involvement of Th1/Th2 cytokines in protective immunity against <i>Schistosoma japonicum</i> infection.</p>	1998		Osada, Y., Chen, X., Mohamed, R. T., Shin, E.-H., Horie, T. and Kojima, S.
<p>Tissue antigens, 53: 269-274. HLA-DR-DQ alleles and HLA-DP alleles are independently associated with susceptibility to different stages of post-schistosomal hepatic fibrosis in the Chinese population.</p>	1999		Hirayama, K, Chen, H., Kikuchi, M., Yin, T., Gu, X., Liu, X., Zhang, S., and Yuan, H C.
<p>J. Infect. Dis. 177, 1682-1686. Glycine-Valine dimorphism at the 86th amino acid of HLA-DRB1 influenced the prognosis of post-schistosomal hepatic fibrosis.</p>	1998		Hirayama, K, Chen, H, Kikuchi, M, Tong, Y, Itoh, M., Gu, X, Zhang, Z, and Yuan, H C.

<p>Annals of Tropical Medicine & Parasitology, Vol. 92, 699-710. Soil factors influencing the distribution of <i>Oncomelania quadrasi</i>, the intermediate host of <i>Schistosoma japonicum</i>, on Bohol Island, Philippines.</p> <p>Bio Clinica I4(1), 58-61. 注目される疫学動向と診断-エキノコックス 症</p> <p>臨床検査42(11), 1475. 耐性マラリア</p> <p><i>Wuchereria bancrofti</i> circulating antigen. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg 92, 513-515. The use of whole blood absorbed on filter paper to detect.</p> <p>Trop. Med. Int. Health. <i>Wuchereria bancrofti</i> antigenaemia in Sri Lanka. <u>in press</u></p> 	<p>1998</p> <p>1998</p> <p>1998</p> <p>1998</p> <p>in press</p>		<p>Nihei N., Kanazawa T., Blas B.L., Saitoh Y., Itagaki H., Pangilinan R., Matsuda H. and Yasuraoka K.</p> <p>金澤 保</p> <p>金澤 保</p> <p>M. Itoh et al.</p> <p>M. Itoh et al.</p>
<p>Trop. Med. Int. health. 4(3):207-10 <i>Wuchereria bancrofti</i> antigenaemia in Sri Lanka</p>	<p>1999</p>		<p>Itoh M. Weerasooriya MV. Gunawardena NK. Mudalige MP. Samarawickrema WA. Kimura E.</p>

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

総括研究報告書

住血吸虫症の感染防御免疫とその予防・治療的応用に関する研究

主任研究者 太田伸生 名古屋市立大学医学部教授

研究要旨 本研究では住血吸虫の感染に特徴的な宿主応答の調節を通じて、感染防御または発病防止を誘導する新しい予防・治療の方法を検討すると同時に、住血吸虫症の流行監視体制強化のための簡便な方法確立を試みた本年度は住血吸虫感染時の IFN γ と IL-4 の機能をノックアウトマウスを用いて検討した。IRF1 欠損マウスで IFN γ が産生されないことに伴う感染防御の抑制現象を解析した。IL-4 欠損マウスでは慢性病変の原因となる虫卵周囲肉芽腫の形成が見られない一方、肉芽腫が形成されない状況でも宿主の肝障害はおこらなかった。その結果から、住血吸虫感染時に宿主応答を Th1 優位に誘導することで、一定の感染防御や発病抑制の効果が現われることが判明した。また、住血吸虫感染宿主に生じた免疫応答の機能的改変状態が生体防御活性をも変化させることが確認できた。住血吸虫症の実態調査のための新しい方法論として、非観血的な免疫診断と肝線維化の血清パラメータの利用を確立した。これらの方法は実施手技、コストの改善となり、被検者の苦痛をより少なくすることを通じて、高いコンプライアンスが得られると期待される。さらに住血吸虫感染者のなかのハイリスク群の同定のための遺伝的検討を、中国の住血吸虫症流行地における委託事業と併せて解析し、再感染防御と関わる HLA クラス II 遺伝子を認めた。

分担研究者

小島 荘明	東京大学医科学研究所	教授
金澤 保	産業医科大学	教授
平山 謙二	埼玉医科大学	教授
伊藤 誠	愛知医科大学	助教授

失からなる甚大な被害を人類に与えている。また、国内的には日本の国際化と呼応して、輸入感染症としての問題をも新たに提起するようになった。住血吸虫の感染防止は、安全な生活用水の確保、土地利用の改変など大規模な環境対策による中間宿主貝殺滅、ワクチン開発などによって可能となる。しかし例えば、住血吸虫に対するワクチンの開発は、虫が宿主応答を回避することによって寄生適を進めてきたという意味で、構造的な困難を包蔵している。このように効率的な対策には医学生物学的にも経済的にも大きな障壁があって、安全かつ安価な住血吸虫対策の再構築が望まれている。

A. 研究目的

水を介して感染する住血吸虫は、わが国ではようやくその流行が終息したが、上下水道が未整備である多くの熱帯地域では、汚染水との接触を遮断して住血吸虫感染を完全に回避することは、今日なお事実上不可能な状況にある。その結果、全世界には 2 億人を超す感染者があり、生命的な脅威と社会経済的損

本研究では住血吸虫感染時の多様な宿主応答をヒト及び実験動物で幅広く解析し、その中から感染防御または免疫病理に関わるエフェクター機構を明確にする。そしてそのエフェクターを直接寄生虫の排除や発病防止、流行監視などへ応用していく途を検討することを目的とした。宿主応答の多様性をもたらす要因を宿主側だけに求めるのではなく、寄生虫の側の種および株間の遺伝的な多様性から検討することの重要性も考え、住血吸虫の遺伝的に多様な研究材料の国内でのストックの整備も開始した。得られた宿主応答のデータは、その改変を通じた予防・治療的への応用を考える一方、宿主応答の多様性は感染状況の追跡パラメータにもなると考えられる。そして、それらの本症の実態把握や流行予測などの判定基準としての応用を図り、疫学調査の新しい方法論の展開を目指した。それらを基にして、わが国の新興・再興感染症としての住血吸虫症への対応の強化に資することを企図した。

B. 研究方法

今年度も住血吸虫の感染免疫のマウスによる実験的研究と中国の日本住血吸虫症流行地住民の疫学調査とを平行して進めた。

(1) マウスの実験的住血吸虫感染とサイトカイン産生動態、および生体防御に関する研究

住血吸虫感染の時の宿主の Th1/Th2 応答の機能的意義を明確にするために、サイトカイン関連遺伝子のノックアウトマウスを用いて検討した。Th1 応答の機能的意義を interferon regulatory factor (IRF) 1 遺伝子の欠損マウスで、感染防御機能について特に検討した。C57BL/6 マウスとその IRF1 欠損マウスに線照射で弱毒化したマンソン住血吸虫のセルカリア 500

隻を経皮感染させ、その後正常セルカリアを攻撃感染させて成虫虫体の回収、サイトカイン産生、マクロファージによるシストソミューラ殺滅作用、NO₂ 産生などを調べた。Th2 応答の検討のためには、IL-4 欠損マウスを用いて日本住血吸虫を感染させ、肝臓における虫卵肉芽腫の形成、その病理所見の観察、GOT、GPT、ALP、の測定による肝機能の評価などを行った。住血吸虫感染宿主における免疫応答の改変が生体防御能に及ぼす影響を調べるために、C57BL/6、A/J、BDF₁ マウスなどを用いて、住血吸虫感染 8 週後にベネズエラ糞線虫、マラリア、腫瘍細胞などを接種して、住血吸虫非感染マウスとの間で比較した。

(2) 日本住血吸虫にみられる感染パラメータの評価と測定方法に関する検討

住血吸虫の免疫診断を非観血的に行う方法を開発するために、尿を用いて抗住血吸虫抗体を検出することを引き続いて検討した。中国湖南省の日本住血吸虫感染者の尿を ELISA に用い、同じ患者の血清も ELISA にて検査して、両方の測定結果の相関を求めた。尿中に出現する抗体のアイソタイプを調べるために、抗ヒト IgM、IgG、IgA 抗体を用いた。尿を用いた ELISA で、抗原として KLH を用いた場合の問題点を検討した。KLH の抽出材料として市販されている複数の生物種を検討した。肝線維化の診断のための指標として血中のハイドロキシプロリン(HP)の意義を検討した。IL-4 欠損マウスでは肝臓の虫卵結節ができないので、野生型マウスの場合と比較して、肝線維化の病理学的な進行度と HP の血中濃度との相関を調べた。

住血吸虫感染者集団で、宿主の体質的素因の面から特に対策を要求されるハイリスク群

を特定するために、今年度は再感染抵抗性についての HLA 遺伝子領域との相関を調べた。中国江西省の濃厚流行地住民のうち、水との接触が特に多い漁民をブラジカンテルで一旦駆虫し、その後の調査で糞便中の虫卵の排出が一定の濃度以下の者を再感染抵抗性とした。その HLA 型を class II および TNF プロモーター領域について DNA タイピングを行った。

C. 研究結果

(1) マウスの実験的住血吸虫感染とサイトカイン産生動態、および生体防御に関する研究
IRF1 欠損マウスの脾細胞では IFN_γ の産生が著しく阻害されており、同時に弱毒化セルカリアの全処置による再感染防御活性は全く認められなかった。また、同欠損マウスのマクロファージは住血吸虫抗原で刺激しても NO₂⁻ の産生は起こらず、*in vitro* で体内移行幼虫であるシストソミューラを殺滅する効果は野生型マウスの場合と比較して著しく劣っていた。感染時の肺の IFN_γ の産生においても欠損マウスでは有意な産生がおこらなかった。

IL-4 欠損マウスに日本住血吸虫を感染させても、肝臓における肉芽腫形成はおこらなかった。組織学的には肝細胞や類洞の空洞化が著明であった。肝臓の体重に占める重量比も野生型マウスと比較して減少した。しかし、肝機能検査として GOT、GPT、ALP を測定すると、欠損マウスと野生型マウスとで差はなく、肝機能障害の所見は観察されなかった。

住血吸虫を感染させて宿主免疫を Th2 優位の条件にした際の生体防御の機能的変化を検討した結果、住血吸虫感染によって腸管寄生線虫であるベネズエラ糞線虫の感染をほとんど完全に受け付けなくする現象が観察された。住血吸虫感染マウスでは ELISA によって糞線

虫幼虫に反応する抗体が認められた。このような糞線虫排除の現象は住血吸虫の感染 6 週以降、すなわち住血吸虫が宿主体内で産卵を始めた後に観察されるようになった。住血吸虫感染によって Th2 優位となった環境は、移植された腫瘍細胞の増殖を有意に促進した。A/J マウスはネズミマラリアである

Plasmodium chabaudi を感染させると、Th2 優位の応答をして 1 週間以内に全例が死亡する。しかしマンソン住血吸虫をあらかじめ感染させておくと A/J マウスはマラリア感染があっても全例生存するように変化した。その時のサイトカイン産生を調べると IFN_γ の産生が有意に亢進していた。

(2) 日本住血吸虫にみられる感染パラメータの評価と測定方法に関する検討

日本住血吸虫感染のヒト尿中に日本住血吸虫の虫卵抗原に対する抗体が存在している。尿中の抗体各アイソタイプの血中濃度との比較をすると IgA の尿中/血中の濃度比が最も高く、IgA 抗体が何らかの機序で尿中に排泄されていることが考えられた。そして、ELISA で用いる 2 次抗体として抗ヒト IgA 抗体を用いた時に、血中抗体レベルと尿中のレベルとが高い相関を示した。尿中の抗体を検出する ELISA で、抗原として KLH を用いても住血吸虫に対する特異抗体の検出システムとして十分に有用性が確認された。しかし、KLH はロットや原材料によって必ずしも特異性が高くない場合もあった。

HP によって肝線維症をモニターする試みは、マウスの系で十分に機能した。IL-4 ノックアウトマウスは虫卵肉芽腫を作らず、血中の HP レベルも野生型マウスと有意な差があった。感染 10 週以降では IL-4 欠損マウスの HP レベルは減少して非感染マウスの値とほ

ば同等になったが、野生型マウスでは継続してHP値の増加があった。肝臓の病理所見との比較から、血中のHP値が肝線維化を十分に反映するパラメーターであることがわかった。

住血吸虫の感染感受性を「再感染抵抗性」という観点から評価し、中国江西省の濃厚流行地住民についてHLA領域遺伝子の型を判定した。抵抗性と判定された群ではHLA-DRB1*1602を持つ者の頻度が高く、この遺伝子を持つ者が日本住血吸虫の再感染抵抗性の素因を持つと考えられた。

D. 考察

住血吸虫症を新興・再興感染症という観点から考えるならば、国内的には中間宿主貝が依然として存在する以上、再流行の可能性が考えられる地域での流行の監視を、国際的には外国の流行地の実態の正確な把握を行っていかなくてはならない。外国にこの寄生虫病が存在している以上、日本からの渡航者が感染しないこと及び患者が発生した場合の臨床的な対応体制を整えておかななくてはならない。感染症の予防にはワクチンの開発が一般に望まれるが、日本住血吸虫を含む蠕虫の寄生適応戦略には寄生虫の側が宿主の免疫応答を利用することがしばしば認められ、ワクチンによって誘導される宿主応答が却って寄生虫に利することもありうる。免疫不全マウスでは逆に住血吸虫が寄生できないという観察はそのことを支持する。したがって、免疫学的に住血吸虫感染の予防・治療法を考えるならば、感染防御のエフェクターを同定して、そこを直接改変する戦略の方が現時点では実現性が高い。また、蠕虫感染は一般に慢性症をおこす病原体であるため、感染しても病気をおこ

させない、ということだけでも十分に意義のあることである。この研究はそのような視点から進められている。

住血吸虫の感染防御や発病阻止に宿主の免疫応答、特にTh1/Th2のバランスがどのように関与しているかについての十分な解決は未だついていない。従来のマンスン住血吸虫感染の実験から、Th1が感染防御に関与する一方、Th2は発病の過程に関与することが推定されてきた。Th1とTh2は相互に抑制しあう応答パターンであり、Th1/Th2バランスをどのようなタイミングでどの程度に調節するか、と考えることが一つの方向性である。今年度の研究で、日本住血吸虫感染においてもTh1応答が感染防御免疫の誘導に不可欠であることが確認された。一方、Th2応答は住血吸虫が産卵開始後に宿主体内に残存した虫卵の周囲で肉芽腫形成を促進し、それが肝臓などの重要臓器で虫卵からの直接または間接の細胞毒性を抑止する機能がこれまで考えられていた。しかし、今回の検討ではIL-4を欠損して虫卵周囲の肉芽腫形成がないマウスでも肝機能障害は確認されなかった。このことから、住血吸虫感染では相互の利益のために感染時期に応じてTh1とTh2のスイッチングがおけると推定されたが、感染の経過を通じてTh1優位であることに自体に宿主の不利益はない可能性が示された。宿主の応答を経過を通じてTh1優位にしておく方法を予防・治療の戦略として考えることの意味が十分にあると思われる。その点でIL-12またはIL-18などのTh1誘導サイトカインの住血吸虫症への応用を再評価することを考えても良いと思われる。

住血吸虫感染によって宿主に生体防御機能の変化がおこることが確認された。その機序としてTh2応答が優位になることで説明可能

な場合とそうでない場合とがあった。A/J マウスが住血吸虫感染を先行させておくことによってマラリアで死ななくなる現象は一見パラドックスである。この現象は従来の「住血吸虫は Th2 応答の誘導源である」という概念では説明ができず、宿主の免疫応答の決定には宿主-寄生体相互作用のみでなく、寄生体が同時に複数存在する場合は寄生体-寄生体相互作用が加わることを予想させる。いずれにしても住血吸虫寄生によってある種の感染症に対する感受性を劇的に変化させるという実験的事実は、ヒト集団においても住血吸虫感染集団の疾病構造にこの寄生虫の存在が影響している可能性がある。

住血吸虫症の流行監視という観点からは、この研究を通じて明らかになった簡便な、かつ被検者の苦痛を軽減させる診断法の開発が重要な貢献を為しうると考える。特に非観血的免疫診断は、途上国における流行の実態調査においてコンプライアンスを上げるために重要であるばかりでなく、日本国内の旧流行地における再流行監視事業を考える場合にも通常の健康診断の中に簡単に加えることができ、住民のニーズに対しても与える利益が大きい。尿を用いた免疫診断のさらに詳細な条件が決まったならば、これをプレートを使った ELISA ではなく、ディップスティップなどの方法に応用して、より有用性の高いものにしていくことが望まれる。尿中に抗体が存在することについての疑問があるが、この研究で尿中の抗住血吸虫抗体のアイソタイプとして IgA が最も重要であることを観察した。IgA が多く存在する理由は不明であるが、腎糸球体～尿細管で尿中に分泌されている可能性が考えられる。その点の解明は引き続き進めていく予定である。

HLA をマーカーとした住血吸虫の感染または発病感受性の個体差の検討では、昨年度の肝線維化の感受性と今年度の再感染防御素因とのデータが揃った。流行地の規模が大きい場合は、感染または発症のリスクの高い集団から対策を重点的に実施する戦略が考えられる。住血吸虫感染において HLA を指標としたハイリスク集団の特定の試みはいくつか報告されている。ここで観察した日本住血吸虫感染の場合の結果を実際の疾病対策にどのように応用するか、またそれによってどのようなメリットがあるか、などのシミュレーションを試みる必要がある。また、HLA の型判定は DNA タイピングによっているが、そのコストと技術的な問題を今後どのように改善して行くかという課題も残っている。

E. 結論

住血吸虫の感染防御活性や病理発現に関与する宿主応答の影響を Th1/Th2 バランスの面から検討した。Th1 応答は感染防御の発現にきわめて重要であるが、Th2 が発病防止に一定の役割があり、というこれまでの報告に対して、前者は確認できたが後者を支持するデータは得られなかった。IFN γ は住血吸虫に対する感染防御の誘導に中心的な役割を果たし、その生物学的機能の裏付けも得られた。IL-4 ノックアウトマウスの住血吸虫感染実験では、Th2 応答の欠損が直接宿主に不利益をもたらす証拠は得られなかった。しかし、それが住血吸虫の種によって違うのか否かの検討はさらに必要である。これらの情報をもとに、マウスの感染実験で、サイトカイン環境をどのように改変していくことが新しい予防・治療の方法になるのかの検討を今後進めていく。一方、住血吸虫症の実態把握の簡便な方法と

して安全、低コストで簡便な方法の確立を尿でおこなった。肝線維症のモニタリングに血中の HP 定量もよい相関を示し、野外調査における有用性が認められた。これらの方法の実際の流行現場での検証が必要であるが、今後は海外の流行地の研究・行政機関との共同研究で応用する計画である。以上の様な研究結果から、わが国の感染症対策に流行監視の点で貢献すると共に、住血吸虫感染防止を通じて国民の健康福祉に貢献するように期した。

F. 研究発表

(1) 論文発表

1. Yoshida A., Uchida JY., Ishii A., Leafasia JL., Zhou D., Chen Y., Tang LP., Lie CY., Qiu DC., Ohmae H. and Ohta N. Polymorphism of the promotor region of tumor necrosis factor α gene in the Melaesian and East-Asian populations. *Immunogenetics*, 47: 497-498, 1998.
2. Maruyama H., Nawa Y. and Ohta N. *Strongyloides venezuelensis*: Binding of orally secreted adhesion substances to sulfated carbohydrates. *Experimental Parasitology*, 89: 16-20, 1998.
3. Zhang R., Takahashi S., Orita S., Yoshida A., Maruyama H., Shirai T. and Ohta N. Mutations in p53 gene in Chinese patients with rectal cancer associated with schistosomiasis japonica. *Cancer Letters*, 135: 215-211, 1998.
4. Ohta N., Yoshida A., Leafasia JL., Bobogare A., Kere N., Kirimaoma S., Tang L., Chen Y. Ohmae H. and Ishii A. Analysis of genetic polymorphism of TNF- α in humans: A comparative study in individuals in malaria-endemic and -nonendemic areas. *In: Malaria Research in the Solomon Islands*, Ishii A., Nihei N. and Sasa M. (Eds), pp. 82-85, Inter Group Corp., Tokyo, 1998.
5. Ohta N., Fu J., Leafasia JL., Bobogare A., Kere N., Kirimaoma S., Tanabe K., Hirayama K. and Ishii A.: Analysis of specificities and functional profiles of MSP1-reactive T cells observed in individuals with or without previous infection with *Plasmodium falciparum*. *In: Malaria Research in the Solomon Islands*, Ishii A., Nihei N, and Sasa M, (Eds), pp.92-98, Inter Group Corp., Tokyo, 1998.
6. Yoshida A., Maruyama H., Yabu Y., Amano T. and Ohta N. Immune responses against protozoal and nematodal infection in mice with underlying *Schistosoma mansoni* infection. *Parasitology International.*, 48: 73-79, 1999.
7. 太田伸生：住血吸虫症，最新医学、印刷中
8. Bosompem, K. M., Asigbee, j., Otchere, J., Haruna, A., Kpo, K. H. and Kojima, S: Accuracy of diagnosis of urinary schistosomiasis: Comparison of parasitological and a monoclonal antibody-based dipstick method. *Parasitol. Int.*, 47: 211-217, 1998
9. Chen, L., Gao, P., Yamashita, T., Nara, T., Kojima, S., Sando, F. and Araki, Y.: Molecular cloning and expression of a *schistosoma japonicum* tegumental membrane-associated antigen, a potential immunodiagnostic and vaccine candidate. *Parasitol. Int.*, 47: 289-300. 1998.
10. Kojima, S.: Schistosomes. *In: Topley and Wilso's Microbiology and Microbial Infections*, 9th Edition, vol. 5 Parasitology, ed. by Cox, F.E.G., Kreier, J. P., and Wakelin, D., Arnold, London, 479-505, 1998.
11. Osada, Y., Chen, X., Mohamed, R. T., Shin, E-H., Horie, T. and Kojima, S.: The involvement

- of Th1/Th2 cytokines in protective immunity against *Schistosoma japonicum* infection. Proceedings of the 9th International Congress of Parasitology, ed. by Tada, I., Kojima, S. and Tsuji, M., Monduzzi Editore, Bologna, 433-437, 1998
12. Hirayama, K, Chen, H., Kikuchi, M., Yin, T., Gu, X., Liu, X., Zhang, S., and Yuan, H C. HLA-DR-DQ alleles and HLA-DP alleles are independently associated with susceptibility to different stages of post-schistosomal hepatic fibrosis in the Chinese population. Tissue antigens, 53: 269-274,1999
13. Hirayama, K, Chen, H, Kikuchi, M, Tong, Y, Itoh, M., Gu, X, Zhang, Z, and Yuan, H C. Glycine-Valine dimorphism at the 86th amino acid of HLA-DRB1 influenced the prognosis of post-schistosomal hepatic fibrosis. J. Infect. Dis. 177, 1682-1686, 1998.
14. W. Evan Secor, H del Corral, M.G. dos Reis, EA.G.Ramos, AE. Zimon, E.P Matos, E A. G. Reis, T M. A. do Carmo, Hirayama, K, R A. David, J R. David and D A. Harn Jr.: Association of Hepatosplenic Schistosomiasis with HLA-DQB1*0201: J. infect. Dis., 174,1131-1135, 1996
- 15 Nihei N., Kanazawa T., Blas B.L., Saitoh Y., Itagaki H., Pangilinan R., Matsuda H. and Yasuraoka K. Soil factors influencing the distribution of *Oncomelania quadrasi*, the intermediate host of *Schistosoma japonicum*, on Bohol Island, Philippines. Annals of Tropical Medicine & Parasitology, Vol. 92 699-710, 1998.
16. 金澤 保、注目される疫学動向と診断-エキノコックス症. Bio Clinica 14(1), 58-61,1998.
17. 金澤 保、耐性マラリア. 臨床検査 42(11),1475,1998.
18. M. Itoh et al. (1998) The use of whole blood absorbed on filter paper to detect *Wuchereria bancrofti* circulating antigen. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg 92, 513-515
19. M. Itoh et al, (1999) *Wuchereria bancrofti* antigenaemia in Sri Lanka, Trop. Med. Int. Health, in press.
- (2) 学会発表
1. 吉田彩子、丸山治彦、天野皓昭、田辺和祐、太田伸生：*Plasmodium chabaudi* の感受性に対する *Shistosoma mansoni* 感染の影響
第 67 回 日本寄生虫学会 1998.4. 神戸市
2. 張仁利、高橋智、織田信一郎、吉田彩子、丸山治彦、白井智之、太田伸生：中国人における日本住血吸虫症に合併した直腸癌の p53 癌抑制遺伝子の突然変異分析
第 67 回 日本寄生虫学会 1998.4. 神戸市
3. Nihei N., Kawabata M., Matsuda H., Ohta N., and Ishii A. : An application of remote sensing for the analysis of distributions of parasitic diseases. IXth International Congress of Parasitology 1998.
8. 千葉市
4. Itoh M., Ohta N., Kimuta E., Hashiguchi Y., Furuya M., Gunawardena NK., Mirani VW., Kanazawa T., Nakajima Y., Sho M., Minai M., Daren Z., Yan C., Yong-Kang H. and Zhinan Z.: Urino-diagnosis of schistosomiasis japonica bancroftian filariasis and leishmaniasis. IXth International Congress of Parasitology 1998.8. 千葉市
5. Zhang R., Takahashi S., Orita S., Yoshida A., Maruyama H., Shirai T. and Ohta N.: Analysis of P53 gene mutations in the chinese patients with rectal cancer Associated with schistosomiasis japonica. IXth International Congress of

Parasitology 1998.8. 千葉市

6. Yosida A., Maruyama H., Kuribayashi K.,
Amano T., Kobayashi F. and Ohta N.: Effects of
Schistosoma mansoni infection on Tumor Growth
in Mice.

IXth International Congress of Parasitology

1998.8. 千葉市

7. 吉田彩子、丸山治彦、天野皓祐、田辺和祐、
太田伸生: *Plasmodium chabaudi* の感受性に対
する *Shistosoma mansoni* 感染の影響

第 39 回 日本熱帯医学会 1998.10. 那覇市

8. 吉田彩子、丸山治彦、栗林景容、天野皓昭、
小林富美恵、太田伸生: マンソン住血吸虫感
染宿主における腫瘍増殖抑制能の阻害

第 28 回 日本免疫学会 1998.12. 神戸市

遺伝子操作マウスを用いた住血吸虫症の防御免疫に関する研究

分担研究者 小島 莊明 東京大学医科学研究所教授

研究要旨 住血吸虫症の防御免疫機構を分子レベルで解析する目的で、本年度は、IRF-1遺伝子欠損（IRF-1^{-/-}）マウスを用い、住血吸虫感染に対する防御免疫の誘導とサイトカイン応答について検討した。その結果、 γ 線照射マンソン住血吸虫セルカリアを用いて免疫した場合、野生型C57BL/6マウスにおいては有意の抵抗性が誘導されたのに対し、IRF-1^{-/-}マウスでは全く抵抗性が誘導されなかった。そこで、脾細胞のサイトカイン応答について検討したところ、Th2サイトカインであるIL-10、IL-4の産生は、野生型及びIRF-1^{-/-}マウスにおいて同様であったのに対し、Th1サイトカインであるIFN- γ の産生は後者において極めて低かった。また、産生されたサイトカイン総体としてのマクロファージ（m ϕ ）刺激能を、シストソミユラ傷害性およびNO産生で検討したところ、IRF-1^{-/-}マウスではいずれも顕著に低下していた。さらに、野生型マウスの腹腔m ϕ は、IFN- γ で刺激した場合、高いシストソミユラ傷害能を示したのに対し、IRF-1^{-/-}マウスm ϕ はシストソミユラ傷害能を示さず、NO₂産生も認められなかった。

A. 研究目的

本研究は、種々のサイトカイン遺伝子ないしサイトカイン関連遺伝子操作マウス及びそれらの野生型正常マウスを用い、住血吸虫感染の各ステージ毎に防御的に作用し得るTh1/Th2応答とエフェクター機構を明確にすることを目的としている。 γ 線照射セルカリアにより誘導されるマンソン住血吸虫に対する防御免疫においては、IFN- γ の関与が報告されているが、本年度は、IFN- γ によって誘導されるiNOS、MHC class I & class II、IL-12、IL-15などの発現に関与している転写因子interferon regulatory factor-1(IRF-1)の遺伝子欠損（IRF-1^{-/-}）マウスを用いて、マンソン住血吸虫感染に対する防御免疫の検討を行った。

B. 研究方法

γ 線照射マンソン住血吸虫セルカリア500隻をIRF-1^{-/-}（KO）マウス及びその野性株（C57BL/6）マウスの尾部から経皮的に感染させ免疫した群、及び無処置対照群に、それぞれ正常セルカリア120隻で攻撃感染を行い、①攻撃感染後5週目に、門脈からの虫体回収率を指標として防御効果を検討するとともに、②免疫後並びに攻撃感染後の脾細胞及び肺におけるサイトカイン応答及び抗体産生、並びに③マクロファージのシストソミユラ傷害作用とNO₂産生について検討した。

C. 研究結果

1)虫体回収率：野生型マウスでは、 γ 線照射セルカリア免疫によって攻撃感染後の虫体回収率の有意な減少が観察されたが、KOマウスでは有意な減少は観察されなかった。2)サイトカイン産生：免疫された野生型マウスおよびKOマウスの両者の脾細胞において、SWAP刺激により同程度のIL-4やIL-10が産生された。これに対し、KOマウスのIFN- γ 産生は野生型に比べて極めて低かった。3)マクロファージのシストソミユラ傷害とNO₂産生：野生型のマクロファージは、組換えIFN- γ 刺激によってシストソミユラを効果的に傷害した。これに対し、KOマウスのマクロファージは、同刺激によってもシストソミユラを傷害しなかった。また、同刺激によるNO産生（NO₂）も野生型に比べて低下していた。免疫された野生型マウスの脾細胞培養上清は野生型のマクロファージを活性化して、NO産生（NO₂）が起こり、シストソミユラを効果的に傷害した。これに対し、KOマウスの脾細胞培養上清は、野生型のマクロファージを刺激してNO産生やシストソミユラ傷害を惹

起することができなかった。4)肺におけるIFN- γ 発現：免疫の後攻撃感染を受けた野生型マウスの肺では、非免疫・攻撃感染マウスに比べて肺におけるIFN- γ 発現が高い傾向がみられた。KOマウスでは、同様の傾向は観察されなかった。5)抗体：免疫KOマウスでは、SWAPに対するIgG産生が野生型に比べて低かった。

D. 考察

上記の実験成績から、IRF-1遺伝子欠損マウスにおける住血吸虫感染に対する防御免疫の低下は、Th1（IFN- γ ）の2次免疫応答が極めて弱いこと、マクロファージ由来のlarvicidal moleculeの一つであるNOの産生が低いこと、およびIgG産生が低いことなどによるものと考えられた。

E. 結論

IRF-1は γ 線照射セルカリア免疫マウスにおけるマンソン住血吸虫感染防御に必須であると考えられた。
（研究協力者：長田良雄）

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Bosompem, K. M., Asigbee, J., Otchere, J., Haruna, A., Kpo, K. H. and Kojima, S.: Accuracy of diagnosis of urinary schistosomiasis: Comparison of parasitological and a monoclonal antibody-based dipstick method. *Parasitol. Int.*, 47: 211-217, 1998.

2) Chen, L., Gao, P., Yamashita, T., Nara, T., Kojima, S., Sendo, F. and Araki, Y.: Molecular cloning and expression of a *Schistosoma japonicum* tegumental membrane-associated antigen, a potential immunodiagnostic and vaccine candidate. *Parasitol. Int.*, 47:289-300, 1998.

3) Kojima, S.: Schistosomes. In: Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections, 9th Edition, vol. 5, Parasitology, ed. by Cox, F.E.G., Kreier, J.P., and Wakelin, D., Arnold, London, 479-505, 1998.

4) Osada, Y., Chen, X., Mohamed, R.T., Shin, E.-H., Horie, T. and Kojima, S.: The involvement of Th1/Th2 cytokines in protective immunity against *Schistosoma japonicum* infection. *Proceedings of the 9th International Congress of Parasitology*, ed. by Tada, I., Kojima, S. and Tsuji, M., Monduzzi Editore, Bologna, 433-437, 1998.

研究要旨 楊子江領域の日本住血吸虫侵淫地における集団治療後の住民の急性住血吸虫感染症すなはち再感染に対する感受性と宿主遺伝要因の関わりについて解析を行なった。翻陽湖周辺の高侵淫地（感染率30%以上）である南山島住民のうち、ハイリスク集団として漁民に焦点を絞って過去5年の再感染記録を検討して再感染に対する抵抗性群（R群）として、19名、また、通常の再感染をする通常群（N群）13名を拾い出した。これらのHLA-DRB1多型を調べた。その結果、R群に、DRB1*1602が増加する傾向にあることが示された。

A. 目的

1. 集団治療後の容易に再感染する群（Susceptible : S）と再感染しにくい群（Resistant : R）を判別する基準を作る。
2. 住血吸虫に対する感染抵抗性を左右する遺伝的調節機構を解析し、繰返し感染することにより獲得される免疫の本態を解明する。

B. 研究方法

疫学調査は平成10年度も継続して上海医科大学袁鴻昌教授が行った。対象としたのは、翻陽湖周辺の高侵淫地（感染率30%以上）である、Nanshan村である。同村では1991年から5年にわたって集団治療を施行しており、それらの結果を基に、再感染に対する抵抗性あるいは感受性について検討を加えた。

C. 研究結果

R & Sの判定。最も感染危険度の高い漁民32名で3年以上のデータがあり、虫卵数がいずれの年も10以下の者を抵抗性とした。その結果13名が抵抗性と判定された。（図1）今回の対象は漁民に絞ったため人数が少なく十分な統計解析に耐えうる数ではなかったがHLAクラスII遺伝子であるDRB1の多型について表1に挙げたような結果を得た。

図1

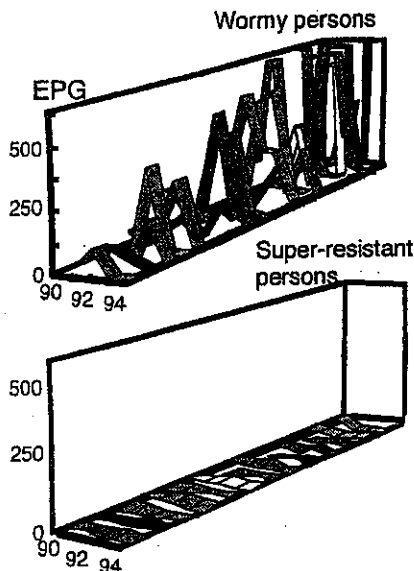


表1. DRB1 allele frequencies in the high risk population (fishermen) in Nanshan island

DRB1 alleles	Super resistant n=13	Infected n=19
DRB1*1101	4 (30.8%)	4 (21.1%)
DRB1*1201	1 (7.7%)	3 (15.8%)
DRB1*1401	2 (15.4%)	2 (10.5%)
DRB1*1501	2 (15.4%)	2 (10.5%)
DRB1*1502	2 (15.4%)	4 (21.1%)
DRB1*1602	3 (23.1%)	2 (10.6%)
DRB1*0803	1 (7.7%)	6 (31.8%)
DRB1*0901	3 (23.1%)	6 (31.6%)

D. 考察

昨年度報告したように感染危険度を測る手段として水に対する接触度を指標とする方法では、湖沼型の場合、山岳型と比較して、はっきりとした危険度との相関が得られなかった。そこで今年度は漁民がきわだって感染の機会が多いことからこのハイリスク集団に絞って解析し明白な抵抗性を示すと思われる集団を決定することができた。この抵抗性群は数が13名と少なく、統計解析には不十分であったが特にHLA-DRB1*1602増加する傾向が示され、このタイプが感染抵抗性と関わりを持つと考えられた。現在感染強度の指標として循環抗原濃度や急性期待異抗体を測定しより確度の高い感染強度の評価を行っている。これにより抵抗性群の大きさを十分なものにして遺伝解析を進める予定である。

E. 結論

漁民のうち感染抵抗性を示す者が確かに存在し、特にHLA-DRB1*1602が増加する傾向が示された。

F. 研究発表

Hirayama, K., Chen, H., Kikuchi, M., Yin, T., Gu, X., Liu, X., Zhang, S., and Yuan, H.C. HLA-DR-DQ alleles and HLA-DP alleles are independently associated with susceptibility to different stages of post-schistosomal hepatic fibrosis in the Chinese population. *Tissue antigens*, 53: 269-274, 1999

Hirayama, K., Chen, H., Kikuchi, M., Tong, Y., Itoh, M., Gu, X., Zhang, Z., and Yuan, H.C. Glycine-Valine dimorphism at the 86th amino acid of HLA-DRB1 influenced the prognosis of post-schistosomal hepatic fibrosis. *J. Infect. Dis.* 177, 1682-1686, 1998

W.Evan Secor, H del Corral, M. G. dos Reis, E A.G. Ramos, A E. Zimon, E.P Matos, E A.G.Reis, T M.A.do Carmo, Hirayama, K., R A.David, J R. David and D A. Harn Jr. :Association of Hepatosplenic Schistosomiasis with HLA-DQB1*0201: *J. infect. Dis.*, 174,1131-1135, 1996.

分担研究報告書

ビルハルツ住血吸虫の実験室内維持に関する研究

分担研究者 金澤 保 産業医科大学医学部寄生虫学・熱帯医学教室

研究要旨 ビルハルツ住血吸虫は靈長類なかでもヒトに適合した寄生虫であり、自然界ではヒトが唯一の終宿主と考えられている。そのため本寄生虫を実験室内で維持することは、感染性を有した適当な動物種がないことから困難とされている。そのためビルハルツ住血吸虫症の研究は日本住血吸虫症、マンソン住血吸虫症に比べ甚だしく遅れている。われわれの研究室では、ケニア産ビルハルツ住血吸虫をマウスを用いて維持することを試み、維持可能なことを見いだした。他の二種の住血吸虫との病態を比較検討するモデル動物として応用しうる可能性がある。

A. 研究目的

ビルハルツ住血吸虫を実験室内で維持することは適当な終宿主動物がないため困難が多い。他の住血吸虫の実験室内維持に使用されているマウスは本寄生虫に対し感染抵抗性であることが知られているものの詳細な研究はなされていない（表1、表2）。本研究の目的はビルハルツ住血吸虫を実験室内で維持するため、系統マウスに対する本寄生虫の感受性を検討することである。

B. 研究方法

ICRマウスおよびBALB/cマウスに、ゴールデンハムスターで維持しているケニア産ビルハルツ住血吸虫セルカリアを200隻から1000隻感染させた。感染後4か月から5か月頃にマウスを解剖し門脈灌流法で成虫を回収後、回収虫体数、およびその形態的特徴を調べた（表3）。さらに回収虫卵からミラシジウムを孵化させ、中間宿主である

*Bulinus globosus*に感染させ、生活環の維持を試みた。

C. 研究結果

維持の経過を表4と表5に示す。ICRマウスを用いた群では、セルカリアの感染経路として経皮感染法と腹腔内接種法を用いて行ったが、それぞれ4サイクルおよび3サイクル目で虫体を維持できなくなった。それに対し、BALB/cマウスを用いた実験では現在7サイクル目に入っている。成虫回収率は平均、約2%であった。回収虫体の体長はヒトで報告された数値より、またわれわれがハムスターより回収した成虫の実測値より小さかった（表6）。約1000隻のセルカリアを感染させてもマウスが死ぬことはなかった。感染セルカリア数と回収成虫数との間にもなんら関係は認められなかった。

D. 考察

われわれの研究室で維持しているケ

ニア産ビルハルツ住血吸虫はマウスを用いて維持できること、寄生部位は他の実験小動物の場合と同様に肝門脈が主であること、成虫の回収率は数%であることが明らかにされた。

マウスの系統間のビルハルツ住血吸虫に対する感受性の差異は興味ある研究課題である。しかし今回の結果からは系統間で差異のある可能性も示唆されるとはいえ技術面での問題もあり、今後さらなる検討が必要である。

成虫回収率が低いこと、1000隻もの多数のセルカリアを感染させても死亡するマウスはみられないことからマウスはビルハルツ住血吸虫にとって低感受性であると考えられる。さらに病原性も低いものと考えられる。そのためヒトのビルハルツ住血吸虫症を免疫学的あるいは生化学的な面から解析するのに、マウスモデルが利用できる可能性はある。しかし、その応用範囲は限定されたものであろう。

E. 結論

マウスを終宿主としてビルハルツ住血吸虫を維持することができる。しかしマウスは本寄生虫にとって好適な終宿主ではなく感受性はきわめて低い。病原性も低く、成虫の寄生部位もヒトとは異なる。そのため、ビルハルツ住血吸虫症のモデル動物としてマウスは限られた範囲において応用可能と考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Nihei N., Kanazawa T., Blas B.L., Saitoh Y., Itagaki H., Pangilinan R., Matsuda H. and Yasuraoka K.

Soil factors influencing the distribution of Oncomelania quadrasi, the intermediate host of Schistosoma japonicum, on Bohol Island, Philippines. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, Vol.92, 699-710, 1998.

金澤 保、 注目される疫学動向と診断—エキノコックス症. *Bio Clinica* 14(1), 58-61.

金澤 保、 耐性マラリア. *臨床検査* 42(11), 1475.

2. 学会発表

Hayashi M., Shimada M., Masuda K., Habe S. and Kanazawa T., A new attempt of maintain of Schistosoma haematobium in a laboratory.

第68回日本寄生虫学会大会 1999年4月

G. 知的所有権の取得状況

なし

表1 大型実験動物に対するビルハルツ住血吸虫*の感染性 (文献より)

動物種	成虫の回収率	寄生部位
サル (Cercopithecus)	約15%	門脈・腸間膜静脈 (90%以上) 膀胱直腸静脈 (5%以下)
ヒヒ (Papio hamadryas)	約20%	門脈・腸間膜静脈 (90%以上) 膀胱直腸静脈 (5%以下)
ヤギ	1%以下	門脈・腸間膜静脈
ネコ	1%以下	門脈
イヌ	—	
ウサギ	—	

*東アフリカ、西アフリカ産

表2 実験小動物に対するビルハルツ住血吸虫*の感染性 (文献より)

動物種	成虫の回収率	寄生部位	虫卵の回収	ミラジウム ¹ の感染性
ゴールデンハムスター	約 2%	門脈・腸間膜静脈	+	+
マウス	albino 約 5%	門脈・腸間膜静脈	+	?
	CBA 約17%	門脈・腸間膜静脈	+	—
ラット	1%以下	門脈・腸間膜静脈	±	
コットンラット	約 2%	門脈・腸間膜静脈	±	
ギニアピッグ	1%以下	門脈・腸間膜静脈	±	

*東アフリカ、西アフリカ産

表3

材料および維持方法

ビルハルツ住血吸虫の由来：ケニア産		
用いたマウス：	ICR	BALB/c
感染経路：	経皮感染	腹腔内接種
(麻酔下に腹壁より)		
感染セルカリア数：	200 ~ 1000 隻	
感染日数：	感染後 18週~ 21週	
成虫回収法：	門脈灌流法	

表4

ICRマウスを用いたビルハルツ住血吸虫維持経過

腹腔内接種				
	1サイクル	2サイクル	3サイクル	
使用頭数：	6頭	5頭	5頭	
感染セルカリア数：	100隻	475隻	344隻	
感染日数：	120日	124日	120日	
回収成虫数：	38隻	113隻	7隻	
成虫回収率：	6.3%	4.8%	0.4%	
経皮感染				
	1サイクル	2サイクル	3サイクル	4サイクル
使用頭数：	6頭	3頭	5頭	5頭
感染セルカリア数：	200隻	1001隻	202隻	256隻
感染日数：	123日	143日	126日	136日
回収成虫数：	32隻	38隻	13隻	6隻
成虫回収率	2.7%	1.3%	1.3%	0.5%

表5

BALB/cマウスを用いたビルハルツ住血吸虫維持経過

経皮感染				
	1 サイクル	2 サイクル	3 サイクル	4 サイクル
使用頭数:	3 頭	5 頭	5 頭	5 頭
感染セルカリア数:	414 隻	368 隻	425 隻	420 隻
(1 頭あたり)				
感染日数:	126 日	120 日	125 日	151 日
回収成虫数:	36 隻	—	28 隻	25 隻
成虫回収率:	2.9%	—	1.3%	1.2%

	5 サイクル	6 サイクル	7 サイクル
使用頭数:	5 頭	4 頭	5 頭
感染セルカリア数:	312 隻	192 or 280 隻	917 隻
(1 頭あたり)			
感染日数:	139 日	145 ~153 日	
回収成虫数:	8 隻	43 隻	
成虫回収率:	0.5%	4.2%	

表6

回収された成虫の計測値

動物種	体長	
	♂	♀
マウス	9.3 mm (4.3 - 13.6)	12.7 mm (8.6 - 18.6)
ハムスター	9.8 mm (7.2 - 14.3)	16.0 mm (14.3 - 16.8)
		実測値
ヒト	13.4 - 17.1 mm	15.2 - 23.1 mm
		文献*

* Belding(1952), Craig and Faust(1951)による

ヒト尿サンプルを用いた日本住血吸虫症の診断法に関する研究

分担研究者 伊藤 誠

愛知医科大学寄生虫学教室

研究要旨：日本住血吸虫症患者の尿中には、微量ながら抗原特異的な抗体が検出されるが、特に IgA は血液からの漏れではなくそのほとんどが尿中に分泌されていることが明らかとなった。そして二次抗体に IgG, IgM, IgA すべてに対する抗体を使うことにより、感度・特異性とも高くすることができ、流行地に適した、簡便で住民の協力の得やすい尿を用いた免疫診断法を確立することができた。また入手が困難となりつつある日本住血吸虫虫卵抗原のかわりに、Keyhole limpet hemocyanin (KLH) の尿診断法への応用を試み、抗 KLH 抗体価が抗虫卵抗原抗体価と良く相関することを明かした。

A. 研究目的

尿を用いた日本住血吸虫症の疫学調査のための診断法を確立することを本研究の目的とする。

B. 研究方法

中国湖南省の日本住血吸虫症患者の血清、尿を用いた。尿は窒化ソーダを加え、4℃で保存した。血清は凍結し、-20℃で保存した。日本住血吸虫虫卵可溶性抗原 (SEA) および KLH に対する抗体は ELISA 法で検出した。尿中の抗原特異的な IgA が分泌型かどうか確かめる目的で、抗 IgA 分泌片に対する抗体を用いて分泌型 IgA を検出した。

C. 研究結果

尿中の抗原特異的な IgA 抗体価は、抗 IgA 分泌片抗体を用いた場合の抗体価と極めて良く相関し、尿中の IgA が分泌型であることが分かった。そして二次抗体に抗ヒト IgG, IgM, IgA 抗体を別々に用いるより、すべてに対する抗体を用いたほうが感度・特異性ともに高くなることが分かった。抗原に KLH を用いても、日本住血吸虫症患者尿中に抗体が検出され、その価は SEA に対する抗体価とよく相関した。

D. 考察

尿を用いた寄生虫症の診断は、採血に比べて採尿がいかに簡便であるかを考えれば、流行地における疫学調査をきわめて容易にすることがわかる。本研究により確立された日本住血吸虫症の尿診断は、流行地における対策（治療など）の効果判定、気候の変動や人為的な原因によっておこる新たな流行地の出現などを速やかに見つけ出すなどの調査に、有効な手段になるものと期待される。また、尿診断法に抗原として KLH が使えるとの結果

を得たことは、この方法の普及をさらに容易にするものと考えられる。

今後この尿診断法を流行地において実際に使いながら、さらに改良していく方向での研究が必要であろう。

E. 結論

日本住血吸虫症の流行地における疫学調査のための尿診断法を確立した。またこの尿診断法に使用する抗原として KLH が使えることを示唆する結果を得た。

F. 研究発表

1. 論文発表

M. Itoh et al. (1998) The use of whole blood absorbed on filter paper to detect *Wuchereria bancrofti* circulating antigen. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* 92, 513-515

M. Itoh et al. (1999) *Wuchereria bancrofti* antigenaemia in Sri Lanka. *Trop. Med. Int. Health*, in press

2. 学会発表

伊藤 誠ら(1998) 非血清材料を用いたリーシュマニア症の免疫診断法の開発. 第67回日本寄生虫学会総会

伊藤 誠ら(1998) クリプトスポリジウム症の血清疫学. 第39回日本熱帯医学会総会

M. Itoh et al. (1998) 'Urino-diagnosis' of schistosomiasis japonica, bancroftian filariasis and leishmaniasis. IXth International Congress of Parasitology

E. Kimura et al. (1998) Finding new endemic foci of *Wuchereria bancrofti* in Sri Lanka using immunological tests. IXth International Congress of Parasitology