

## 分担研究報告書

### 多包虫症術前確定血清診断法(Em18-immunoblot, Em18-ELISA)の確立と 住民健診への適用の可能性

分担研究者 伊藤 亮 旭川医科大学教授・医学部・寄生虫学講座

**研究要旨** 現在、国際的に、多包虫症の確定血清診断法として最も信頼性が高いと評価されている Em18 抗原を用い、遺伝子組換え抗原 prototype (rEm18, EMAG5)の作製が完了している。この成果に基づき、Em18 に対するモノクロナル抗体作製を開始する時点である。また、国内外の研究検査機関と協力体制ができつつあり、Em18 を用いる血清検査法の住民健診への適用を視野に入れた研究を始める段階である。

#### 目的ならびに経緯

平成11年4月から施行されている感染症新法の下で、エキノкокクス症は届け出が義務づけられる寄生虫疾患の1つとして、4類感染症に含まれている。これまでの診断基準は外科的病巣摘出後の病巣確認であるが、新法施行後に本州から報告がなされたエキノкокクス症2症例では多包虫粗抗原を用いたイムノプロットによって陽性の疑いありという検査成績に基づき、外科的処置がなされている。平成11年の秋田県におけるエキノкокクス症では外科的処置がなされ、術後にエキノкокクス症が否定され、肝蛭症と確認された誤診結果になっている。平成12年の福島県における単包虫症でも、多包虫粗抗原を用いたイムノプロットによって陽性の疑いありという検査成績に基づき、外科的処置がなされている。

国内では殆ど知られていないが、多

包虫症と単包虫症とでは治療法が大きく異なっている(伊藤 2001a)。また、外科手術適応にならない症例もあり、病巣確認のためだけの開腹手術は避けられなければならない。21世紀に、術前確定診断法が確立されていない現況、それを容認する医療関係者、研究者を含めた世論の後進性を強く指摘せざるを得ない(伊藤 2001b)。

患者の侵襲を考慮すれば、術前確定診断法が確立されていない現状は社会的にも大変深刻な問題を提起しかねないと判断している。病理組織学的な術後確定診断は最終確認として最重要であるが、術前に他疾患を排除できるだけの、信頼性が高い、術前鑑別確定診断法の確立は急務である。

その意味から金澤保産業医科大学教授を代表とする第1期厚生科研費(新興・再興感染症研究費事業:流行が拡大しつつあるエキノкокクス症の監視・防遏に関する研究)に引き続

き、神谷正男北海道大学教授を代表とする第2期研究事業(エキノкокクス症感染源対策を中心にした総合防除法の確立)においても、ヒトにおける信頼性が高い診断法の確立無しにはいかなる対策もあり得ないという観点から、ヒトにおける術前確定血清診断法の確立と住民健診への適用の可能性についての新たな検討を目的とする研究分担者として参加している。

### 経緯

これまで検査することができた国内外の多包虫症確定症例については90-97%において、多包虫症特異抗原(Em18)に対する抗体を確認している(Ito et al. 1998. Parasitol Internat 47, 95-99; Ito et al. 1999. Am J Trop Med Hyg 60, 188-192; Craig et al. 2000. Acta Tropica 77, 167-177)。中国における多包虫症と単包虫症とが重複流行している地域から単包虫症と報告された症例の内の一部を除き、他の寄生虫疾患その他疾患からEm18に対する抗体応答は一例も証明されておらず、基本的には、術前確定診断が容易に可能であるという結論に達している。この見解については外国の研究グループによっても基本的に承認されているものと判断している(Qiu et al. 1999 Arch Internat Hydatidosis 33, 211-213; Liance et al. 2000 J. Clin. Microbiol. 38, 3718-21; Craig et al. 2000; Ito et al. 2000)。患者の侵襲を考えれば、術後確定診断によって多包虫症が否定される類の、エキノкокクス症を疑信するに当たっ

ての信頼性が乏しい検査、診断基準を抜本的に改善することは急務である(伊藤 2001a, b)。偽陽性(false positive)反応が全く生じない多包虫確定診断が可能な、血清学的鑑別診断法としてEm18 抗原に対する抗体応答をイムノプロット法、ELISA 法によって検出する基本研究はすでに完了しているので(Ito et al. 1999 Arch Internat Hydatidosis 33, 166-70)、本年度からの当講座におけるエキノкокクス症に関する新たな研究目標として(1) Em18 ペプチドに対するモノクロナル抗体作製、(2) 遺伝子組換え Em18 抗原(rEm18, rEMAG5)を用いた疫学調査への展開、(3) Em18 抗原の生理機能解析、(4) oxfendazole による治療効果解析、(5)多包虫の病原大腸菌 O-157 ベロ毒素リガンド活性解析、(6)諸外国における血清診断法との比較解析、(7) 国内行政研究機関による現行の血清診断成績との比較等から住民健診における検出率向上化の可能性についての検討を採択した。(2)についてはすでに基本的な組換え抗原は作製されており(rEMGA5)、予後判定にも非常に役立つことが判明している(Ishikawa et al. in prep.; Fujimoto et al. in prep.)、(3)については Em18 の性状が種々の protease によるエキノкокクス細胞骨格の分解産物であること(Sako et al. unpublished)、(4)についてはアルベンダゾールより治療効果が高いと期待されること(Nakaya et al. in prep)、(5)については多包虫組織、germinal layer、原頭節その他の表面に分布すること

などがすでに判明しており(Miyake et al. 2001 日米コレラ会議)、配分額に応じ、厚生科研費による研究テーマとしては(1)ならびに(6)、(7)を中心に研究を展開する方向で研究が始まっている。

#### 研究展開

まだ、あまり論文として公表できる段階の成果はまとまっていないが、1年目の総括として以下の4点を記録しておきたい。

- (1) Em18 抗原の性状解析に基づきモノクロナル抗体作製のためのキャンディデート抗原の絞り込みがほぼ完了し、マウスの感作が始まる場所である。
- (2) Em18 の確認作業無しに他のグループがおおよそその分子量から推測する危険性について、原頭節と micro vesicle との抗原性の比較解析を試み、それぞれに特有の成分があること、抗原材料として原頭節を用いる場合、micro vesicle の混在によって、Em18 が不明になる問題点を指摘し(Ito et al. J Helminthol in press)、現在、ヨーロッパの研究グループとブラインドテストによる血清学的鑑別診断法についての打ち合わせを行っている段階である。
- (3) 道内の関連病院から興味ある3症例を経験している。

第1症例：肝臓血管腫：行政検査（イムノプロット陽性）：Em18 陰性

第2症例：多包虫症：行政検査

(ELISA 陰性): Em18 陽性

第3症例：？：行政検査（イムノプロット陽性）：Em18 陰性

この第3症例についても、多包虫症ではないと予測している。現在、試験的に一部病巣の生検を行うべきではないかと臨床の先生方と相談している。

- (4) 福島県でのエキノコックス症については Em18 陰性、Antigen B 陽性から単包虫症と血清学的に確定した。その後、画像成績を検討する機会があり、画像診断からも典型的な単包虫症であることを再確認した(Hatakeyama et al. unpublished)。

上記4症例は行政検査機関同様の crude antigen を用いるイムノプロットでは、高分子量域を中心に全例でかなり強い反応を示している。これまでの経験から、これらの高分子量域の反応は非特異反応が多く、少なくとも鑑別確定診断には役に立たないと結論している(Ito et al. 1993 Trans Roy Soc Trop Med Hyg 87, 170-172; Liance et al. 2000)。これまでの成績に加え、今回の成績から推測するに、行政検査における crude antigen を用いるイムノプロットでは、多包虫に関係なく、少なくとも何らかの肝病変が認められる人は陽性になることが予測される（このこと自体が示唆する生物学的意義はあると予測している）。それゆえ、住民健診において肝多包虫症の拾い上げにある程度の役割を果たしてきた

ことはそれなりに評価できるが、あまりにも効率が低すぎるし、上記第2症例のごとく拾い上げられない症例もあり、また本州における2症例が2症例とも多包虫症でなかったことから、さらに術前確定診断が全く不可能であることから、画像診断、さらには試験的開腹手術を必要とすることになり、多包虫症感染者でない住民にとっての精神的、肉体的負担はかなり重いものになっていることから、抜本的な再検討が必要であると判断せざるを得ない。

これほど低い検出率と誤診例の多さから判断するに、現行の住民健診では住民の協力は得られにくいと危惧する。それゆえ、届け出が義務づけられた感染症新法の下で、Em18を用いる確定血清診断法を標準検査法として採用すべきであるし、さらに住民健診においても、より検出率の高い検診法として、Em18が利用できるか否かについての検討を加えるべき時期であると提案したい。

ヨーロッパでは、画像診断、その確認のための血清診断が健診の中心になっているが、日本を含むアジア各国では血清診断、その確認のための画像診断が基本であり、とにもかくにも血清診断法の信頼性の向上が鍵である。

以上の観点から

- (5) 本研究の分担者である、北海道大学、佐藤直樹先生、北海道立衛生

研究所、田村正秀所長との基本的協力体制ができつつあり、より信頼性の高い診断法の普及、住民健診への活用に向けて2年度目からの大きな進展が期待できる。

#### 研究班構成

分担研究者：伊藤 亮

学内協力者：迫 康仁、石川裕司、中尾 稔、中谷和宏

学内協力講座：外科学第1講座、外科学第2講座、整形外科学講座、内科学第1講座、内科学第2講座、内科学第3講座

#### エキノコックス症関連論文発表

Ito A et al. (2000) Neurocysticercosis and echinococcosis in Asia: Recent advances in the establishment of highly reliable differential serodiagnosis for international collaboration. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 31 (Suppl 1), 16-20.

Craig PS et al. (2000) An epidemiological and ecological study of human alveolar echinococcosis transmission in south Gansu, China. *Acta Tropica* 77, 167-177.

伊藤亮(2001b) エキノコックス症—世界・日本での現状、診断・治療・予防—。北海道プライマリ・ケア研究会会報 19, 31-41.

伊藤亮(2001a) 旭川医科大学におけるエキノコックス症研究の現状と日本におけるエキノコックス症の問題点。北海道医学雑誌 76, 3-8.

## 分担研究報告書

エキノコックス症の診断・治療法の開発-新規抗原遺伝子の獲得に関する研究

分担研究者 野崎智義 国立感染症研究所・寄生動物部・外来性寄生動物室長

協力研究者 藤田 修 国立感染症研究所・獣医科学部・人獣共通感染症室

**研究要旨** 多包虫幼虫組織より8個の抗原遺伝子を獲得した。このうちアクチンモジュレーター蛋白(AMP)、サイトピリン(Em10)、グルタチオン S 転移酵素(GST)の組換え蛋白を作成し、ELISA 法を用いて多包虫患者血清との反応性を検討した。その結果、既存の Em10 が最も優れた感度及び特異性を示した。一方 AMP は陰性コントロールや他の蠕虫感染症とも交叉反応を示したことより、単独では診断抗原に適さないことが示唆された。

### A. 研究目的

ヒト多包虫症の信頼性の高い早期診断法は確立されていない。今回我々は多包虫幼虫組織から抗原遺伝子の抽出を試み、これらの大腸菌組換え蛋白を作成し、簡便かつ信頼性の高い血清学的診断法の開発を目的とした基礎研究を行った。

### B. 研究方法

多包虫幼虫組織より抽出した mRNA から発現ライブラリーを作成し、患者血清でスクリーニングした。このうち未知のアクチン・モジュレーター蛋白(AMP)を選択し、その組換え蛋白と既知のサイトピリン(Em10)及びグルタチオン S 転移酵素(GST)の組換え蛋白とを ELISA 法を用いて多包虫及び他の蠕虫感染症患者血清、そして健常者(陰性コントロール)との反応性を比較し、これら組換え抗原を用いた検査法の感度及び特異性を粗抗原と比較検討した。

### C. 研究結果

GST のみ単独の組換え蛋白として分離精製できず、融合蛋白として用いた。Em10 は他のものとの交叉反応も呈さず、最も高い感度並びに特異性を示した。GST は他の蠕虫感染症患者血清との交叉反応は認めら

れたものの陰性コントロールとの間には明確な差が認められた。AMP は陰性コントロール及び他の蠕虫感染症患者血清とも交叉反応が認められた。

### D. 考察

未知の抗原として注目した AMP は陰性コントロールや他の蠕虫感染症とも交叉反応を示したことより、単独では診断用抗原として不適であると考えられた。また ELISA 値にはばらつきがみられ、これが感染の時期、患者の病態及び免疫反応による差なのかは不明である。GST 融合蛋白が示した陰性コントロールとの明確な差は一次スクリーニングに充分使用可能であると思われる。感度及び特異性が高かった Em10 は、全世界的に市販されている現時点で最も信頼性の高い血清診断法 Em2plus の主要抗原である。今回の結果はこの抗原の有用性を再確認することとなった。

### E. 結論

以上の結果から、様々な性質の複合組換え抗原の利用により高感度・高特異性をもつ診断抗原が得られる可能性が示唆された。

### E. 研究発表

なし

エキノコックス属条虫の増殖に関連する因子遺伝子の探索

研究者 伊藤 守

(財) 実験動物中央研究所

研究要旨：エキノコックス属条虫の増殖に関連する因子遺伝子の探索のための予備的な検討として、*C. elegans* およびマウス apoptosis 関連遺伝子の遺伝子断片を用いたマウスおよび *leishmania* 原虫 cDNA library スクリーニングを行った。その結果、*C. elegans* 遺伝子断片を用いてスクリーニングが可能と思われた。

緒言：駆虫薬、ワクチンの開発にはエキノコックス条虫自体の増殖、形態形成などの基礎生物学的情報が必要と考えられる。しかし、現在まで一部線虫を除き、これら情報が極めて少ないのが現状である。このことから、このプロジェクト期間中にエキノコックス条虫の増殖に関連する因子遺伝子を探索し、駆虫薬、ワクチンの開発のための標的分子を提供することを目標にする。その戦略として、エキノコックス条虫の完全長 cDNA とその library を作製し、それらを用いてヒト、マウスなどの高等ほ乳類や線虫である *C. elegans* で高度に保存されている増殖等に関連すると思われる遺伝子配列に相同性の高い遺伝子を特定していく。本年度は、遺伝子検索のための標的保存領域の設定と PCR の増幅条件設定およびマウスおよび *leishmania* 原虫 cDNA library を用いて、hybridization の条件設定などの検討を行った。

材料と方法：マウスおよび *leishmania* 原虫 cDNA library は、マウスでは C57BL/6J 系統マウス 4 週令の胸腺と脾臓より分離した lymphocyte より、*leishmania* 原虫は *in vitro* で増殖させた *L. amazonensis* (M1845) の promastigotes より MagExtractor -mRNA-(Toyobo 社製)で mRNA を精製し、これを材料として ZAP Express cDNA /Gigapack Cloning kit (Stratagene 社製)で作製したものを用いた。遺伝子検索の標的として、今回は、アポトーシスに関連する Ced4/Apaf1 と egl-1/Bcl2 の 2 遺伝子について検討した。これら遺伝子の保存領域を増幅する(前者は NB-ARC、後者は BH3 ドメインを標的とした) *C. elegans* およびマウスの primer を設計し、各々 *C. elegans* およびマウス cDNA を鋳型として DIG 標識 PCR プローブを作製した。増幅する塩基長はほぼ 300~500bp となるように設定した。これらプローブを用いて、上記のマウスおよび *leishmania* cDNA library を常法によるブランクハイブリダイゼーションによって、スクリーニングを行った。この際、ハイブリダイゼーションとその後の洗浄温度を段階的に変えながら、陽性ブランクが得られる条件を検討した。

得られたクローンを増殖させ、その一部について vector の univeresal primer を用いて big-dye sequence kit で反応後、シークエンサー (ABI 310) で塩基配列を決定した。

結果と考察

まず、マウス Bcl-2 homolog である BAX, BIS PCR 断片をプローブとして行ったマウス cDNA library からのスクリーニングで明瞭な陽性ブランク 4 個を得ることができた。これらの部分塩基配列を決定したが、一つは BIS で、残り三つは unknown な homolog であろうと思われた。マウスプローブ-マウス cDNA library での反応は容易におこなえたが、*C. elegans* の Ced4, egl-1PCR 断片をプローブ cDNA としたマウス cDNA library でのスクリーニングは難しく、条件をかなり緩やかなものにして行い、数個のブランクを拾い、その部分塩基配列を検討したが、特異的なものはと断じえなかった。これら *C. elegans* およびマウスプローブを用いて、同様に *leishmania* cDNA library をスクリーニングした。マウスのものでは困難であったが、*C. elegans* のものでブランクが得られた。この陽性ブランクの部分塩基配列の決定は現在行っている。今回行った塩基配列の相同性を利用した遺伝子の検索はある程度の相同性があれば、拾い上げることができる可能性があることが示唆された。来期は、本年度の結果を元に、エキノコックスの cDNA library の作製、*C. elegans* 由来各種プローブの作製、これを用いたスクリーニングを行い、エキノコックス増殖に関連する因子遺伝子の探索を行っていく。

## 多包性エキノコックス症の本州への侵入阻止に関する研究

土井陸雄<sup>1</sup>、石川洋文<sup>2</sup>、梶原 毅<sup>2</sup>、二瓶直子<sup>3</sup>、高阪宏行<sup>4</sup>、関根智子<sup>4</sup>  
松田 肇<sup>5</sup>、内田明彦<sup>6</sup>、神田栄次<sup>7</sup>、金子弥生<sup>8</sup>

(1) 横浜市立大学医学部衛生学、2) 岡山大学環境理工学部環境数理工学、3) 国立感染症研究所、  
(4) 日本大学文理学部地理学、5) 獨協医科大学熱帯医学寄生虫学、6) 麻布大学環境保健学部医動物学、  
7) 東京野生生物研究所、(8) 国土交通省土木研究所

要旨：多包性エキノコックス症の本州侵入を可及的早期に検知し、本州における感染環の拡大を阻止するために、環境数理学、地理画像などによる解析を行い、また食肉衛生検査所における豚肝臓検査および本州産キツネ、野ネズミの寄生虫学的検査のネットワークを構築した。

A. 研究目的：これまで本州で感染したと疑われる多包性エキノコックス症患者約 20 例が本州各地で発見されてきたが、本州産キツネ、野ネズミの感染は未だ証明されていない。しかし、1999 年青森県産ブタ 3 頭の肝臓から多包虫病巣が検出されて、本州へのエキノコックス症侵入の懸念が強まった。我々は、エキノコックス症感染環の動態を様々な学問領域から解析し、それが本州に侵入しているのか、本州での感染環拡大の可能性などを解明し、本州における本症感染環の拡大を防止しようと考えている。

B. 研究方法：(1) 疫学、動物生態学、寄生虫学、環境数理学、画像地理学などの方法を応用して、北海道における本症感染環拡大の様相を解析し、(2)そこで得られた成果を本州での本症の感染環拡大解析に応用し、(3)また本州に生息する動物（キツネ、野ネズミ、イヌ）の本症感染を監視し、さらに本州各都府県で屠殺されるブタ肝臓の多包虫病巣を検査監視することによって、本州における本症感染環の拡大を防止しようとするものである。

C/D. 結果/考察：(1) これまでに得られた北海道における本症流行に関する媒介動物個体数の資料を基に、キツネの個体数変動に関する基本関数を試作した。今後さらに、媒介動物の個体数に影響を及ぼすと考えられる生態系の諸要因（牧畜・畜産の動向、畜産廃棄物関連資料などを含む）を組み込んでより精密な個体数変動の関数を検討し、北海道におけるエキノコックス症感染環の変動がどのようにして進行してきたかを数理科学的に解明してゆく積もりである（石川洋文ら）。また、北海道における住民一次検診資料を基に、エキノコックス症血清反応陽性・疑陽性者の分布を経年的に画像化した。この画像は、さらに生態系要因（森林・牧草地面積、牧畜動物数など）を含めて、より精細な画像解析を加える予定である（二瓶直子ら）。

(2) 本州における動物生態学的・数理工学的解析は、北海道の解析が進展した後に行う。

(3) 本州各地におけるエキノコックス症監視体制は、まず食肉衛生検査所におけるブタ肝臓検査に重点を置くことにした。その理由は、ブタは感染率は低いが、各都府県とも毎年、数十万頭単位で屠殺されているため検査個体数がきわめて多数であり、病巣検出感度は検査個体数が少ないキツネや野ネズミよりはるかに高いと考えられるからである。我々は関東以西の監視体制整備に重点をおき、関東 7 都県のほか新潟、山梨、長野、静岡を加えた合計 11 都県の食肉衛生検査所にネットワークを構築し、すでに若干の検査試料が寄せられている（松田肇ら）。また、関東一円で捕獲されたキツネなどからの多包虫検索、野ネズミからの多包虫検索を行っているが、幸い陽性例は発見されていない（内田明彦ら）。しかし、検査個体数が少ないため、この結果だけで関東地方へのエキノコックス症侵入がないとは言い切れない。さらに、茨城県などで拾得したキツネ糞便 30 検体余の糞便内抗原検査結果はすべて陰性であった（金子弥生ら）。

なお、北海道から本州に移動してくる畜犬の糞便検査は、本州における感染環成立を阻止するためにきわめて重要であるが、感染犬が発見された場合の対策（駆虫、検査、安全確認）がまったく樹立されていないため、今後の課題として残さざるを得なかった。

### E. 結論：

本州におけるエキノコックス感染環は未だ検出されていないが、今後、その侵入を早期に検知し、感染環の拡大を阻止する体制は確立できた。ただし、北海道から移動してくる畜犬の糞便検査は残された最大の課題であり、北海道サイドにおける対策確立に期待したい。

### F. 研究発表

土井陸雄・神田栄次、あなたの愛犬はエキノコックス虫に感染していませんか、狩猟界、印刷中

平成12年度厚生省科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

関東地方の野生小哺乳類およびブタにおけるエキノコックスの感染調査

1内田明彦・2神田栄次・3二瓶直子・4土井陸雄・5松田 肇

(1麻布大学環境保健学部医動物学研究室, 2東京都野生生物研究所, 3国立感染症研究所,  
4横浜市立大学医学部衛生学教室, 5獨協医科大学熱帯病寄生虫学教室)

**研究要旨** 関東地方にエキノコックスが侵入しているか否かを終宿主のキツネやタヌキで、中間宿主の野鼠について主として神奈川県、山梨、静岡各県と東京で調査した。また、関東甲信越地方の食肉検査場にブタでの包虫症の調査を依頼した。現時点では野生小哺乳類からはエキノコックス症の侵入を確認することは出来なかった。

A. 研究目的：関東甲信越地方におけるエキノコックスの浸潤状況を明らかにするために、2000年2月～12月までの期間に神奈川県、山梨県、静岡県、東京都のキツネ、タヌキおよび野鼠を対象に、その包虫や成虫を、さらに食肉検査所に搬入されるブタでの包虫調査を依頼した。

B. 研究方法：キツネ18頭、タヌキ3頭、ハクビシン7頭、アライグマ6頭、アカネズミ57頭、ハタネズミ46頭、その他の小動物28頭を、主に消化管、野鼠は肝臓、肺臓を調べた。ブタについては食肉検査所で包虫の疑いが見られた臓器を譲り受け病理組織標本を作成して検査する。

C. 研究結果：キツネ（表1）、タヌキ（表2）、ハクビシン、アライグマ（表3）からは単包条虫、多包条虫の成虫はいずれも検出出来なかった。しかしながら他の蠕虫類（串間鉤虫、ミヤザキタヌキ鉤虫、タヌキ蛔虫、イヌ蛔虫、イヌ鞭虫、横川吸虫、マンソン裂頭条虫、豆状条虫など）が検出された。野鼠からは、各種蠕虫類が検出されたが包虫はみられなかった（表4）。

D. 考察：終宿主および中間宿主での寄生虫の検出結果からは、エキノコックス症が関東地方に侵入している証拠を発見することは出来なかった。しかし、今回は各種動物の調査頭数がすくないことから、今回の結果をもって関東地方にエキノコックス症の侵入がないと結論づけるには無理があり、今後さらにより詳細かつ継続的な調査が必須と考える。また、今年度から開始されたブタでの調査に期待が持たれる。

E. 結論：平成12年度の調査研究結果からはエキノコックス症がすでに関東地方に侵入しているという結論は出せず、これを確認するには、今後さらなる詳細な調査検討を継続する必要がある。



表1: 山梨, 神奈川, 静岡各県および東京都に生息するホンドキツネの寄生蠕虫類相

調査地/寄生虫種	調査頭数	感染頭数	感染率 (%)	寄生虫体数/頭
1) 山梨県				
	8			
イヌ蛔虫		4	50.0	1~8
イヌ鞭虫		3	37.5	3~10
<i>A. miyazakiense</i>		8	100	6~25
<i>M. patense</i>		6	75.0	18~157
豆状糸虫		1	12.5	59
2) 神奈川県				
	6			
イヌ蛔虫		2	33.3	2~6
イヌ鞭虫		2	33.3	2~7
串間鈎虫		4	66.7	5~16
<i>A. miyazakiense</i>		5	83.3	2~34
<i>M. patense</i>		3	50.0	13~268
マンソン裂頭糸虫		1	16.7	1
3) 静岡県				
	2			
串間鈎虫		2	100	4~32
<i>M. patense</i>		2	100	26~63
横川吸虫		1	50.0	7
4) 東京都				
	2			
イヌ蛔虫		2	100	3~5
<i>A. miyazakiense</i>		1	50.0	18
<i>A. miyazakiense</i> = <i>Arthrostoma miyazakiense</i> (鈎虫; 小腸内寄生)				
<i>M. patense</i> = <i>Molineus patense</i> (3mm程の線虫; 小腸内寄生)				

表2： 山梨，神奈川，静岡各県および東京都に生息するホンドタヌキの寄生蠕虫類相

調査地／寄生虫種	調査頭数	感染頭数	感染率 (%)	寄生虫体数／頭
1) 山梨県	4			
タヌキ蛔虫		3	75.0	3~7
<i>A. miyazakiense</i>		2	50.0	15~24
<i>C. felis-cati</i>		1	25.0	6
<i>M. lagerae</i>		4	100	18~171
<i>C. ten</i>		1	25.0	16
2) 神奈川県	16			
タヌキ蛔虫		12	75.0	2~9
串間鈎虫		14	87.5	8~64
イヌ鞭虫		8	50.0	3~7
犬糸状虫		1	6.3	2
<i>A. miyazakiense</i>		15	93.8	15~83
<i>M. lagerae</i>		13	81.3	23~251
<i>C. putorii</i>		3	18.8	4~32
マンソン裂頭条虫		2	12.5	1
3) 静岡県	5			
タヌキ蛔虫		4	80.0	3~5
<i>A. miyazakiense</i>		5	100	8~56
<i>M. lagerae</i>		5	100	31~165
イヌ鞭虫		2	40.0	1~5
4) 東京都	7			
タヌキ蛔虫		5	71.4	1~10
イヌ鞭虫		3	42.9	1~4
猫糞線虫		5	71.4	15~384
串間鈎虫		7	100	4~58
<i>A. miyazakiense</i>		7	100	8~98
<i>C. putorii</i>		1	14.3	3
<i>M. lagerae</i>		7	100	26~83

*A. miyazakiense* = *Arthrostoma miyazakiense* (鈎虫；小腸内寄生)

*C. felis-cati* = *Capillaria felis-cati* (膀胱内寄生)

*C. ten* = *Coneinnum ten* (吸虫；膀胱内寄生，槍型吸虫に似る)

*C. putorii* = *Capillaria putorii* (食道・胃内寄生)

*M. lagerae* = *Molineus lagerae* (3mm程の線虫；小腸内寄生)

表3： 山梨， 神奈川， 静岡各県および東京都に生息するハクビシン・アライグマの寄生蠕虫類相

調査地/寄生虫種	調査頭数	感染頭数	感染率 (%)	寄生虫体数/頭
1) 神奈川県	4			
Spiruridae sp.		1	25.0	1
2) 静岡県	1	0	0	0
3) 東京都	2	0	0	0

調査地/寄生虫種	調査頭数	感染頭数	感染率 (%)	寄生虫体数/頭
1) 神奈川県	6	0	0	0

表4： 山梨， 神奈川， 静岡各県および東京都に生息する野ネズミの寄生蠕虫類相

1. アカネズミ			
調査地／寄生虫種	調査頭数	感染頭数	感染率 (%)
1) 山梨県	15		
帯状囊虫		1	6.7
2) 神奈川県	21	0	0
3) 静岡県	12	0	0
4) 東京都	9	0	0
2. ハタネズミ			
調査地／寄生虫種	調査頭数	感染頭数	感染率 (%)
1) 山梨県	16	0	0
2) 神奈川県	18	0	0
3) 静岡県	12	0	0
3. ヒミズ			
調査地／寄生虫種	調査頭数	感染頭数	感染率 (%)
1) 山梨県	4	0	0
2) 神奈川県	6	0	0
3) 静岡県	18		
マンソン裂頭条虫		4	22.2

## 分担研究報告書

### 青森県の野生哺乳類におけるエキノコックス感染の調査および監視

研究者 小山田 隆 北里大学獣医畜産学部教授

研究要旨 2000年5月から2001年2月の期間内に、青森県内の23市町村(59地区)で集められた野生哺乳類(野ネズミ類: 1,718頭、その他動物:60頭)を対象に、エキノコックスの感染を調査したところ、いずれの動物にも感染を認めなかった。

#### A. 研究目的

青森県内におけるエキノコックス浸淫の有無を知る目的で、2000年5月から2001年2月の間に、23市町村(59地区)で集められた野生哺乳類を対象に、その成虫(多包条虫)及び幼虫(多包虫)の寄生調査を実施した。

#### B. 研究方法

野外で捕獲された野ネズミ類(5種)の総計1,718頭(アカネズミ:210、ヒメネズミ:22、ハタネズミ:1,150、ヒミズ:303、ジネズミ:33)、イタチ10頭、テン1頭については、剖検後、肝臓や内臓の実体顕微鏡的及び組織学的に多包虫の寄生を検査した。また、ホンドギツネ25頭とホンドタヌキ24頭については、消化管に凍結(-80℃、12日間)処理を行った後、内部における多包条虫の寄生の有無を検査した。

#### C. 研究結果

野ネズミ類及び他のゲツ歯類における肝臓および内臓の検査において、いずれの個体にも多包虫の寄生を認めなかった。しかし、野ネズミ類では他の幼条虫の寄生例が散見された。肝臓における囊尾虫の寄生は *Cysticercus fasciolaris* が25頭(アカネズミ:4、ヒメネズミ:1、ハタネズミ:20)、及び *Cladothyridium* spp. が173頭(アカネズミ:20、ヒメネズミ:3、ハタネズミ:143、ヒミズ:7)に認められた。また、ハタネズミの皮下・胸腔内・腹腔内に *Taenia polyacantha* (13頭)及び *T. crassiceps* (21頭)、ヒミズの皮下に *Plerocercoid* (1頭)などの幼条虫も観察された。ホンドギツネ(10頭)及びホンドタヌキ(1頭)の小腸にテニア科の条虫が検出されたが、エキノコックスの成虫寄生は認められなかった。その他、今回の調査では、ギツネ(1頭)とタヌキ(5頭)に県内では初めてと思わ

れるヒゼンダニ寄生による疥癬を認めた。

#### D. 考察

近年の北海道におけるエキノコックス流行域の拡大及び媒介動物の感染状況は危惧すべき状態にある。また現状では、その流行が道外のどの地域へも伝播する可能性を秘めていると思われる。事実、1998年には青森県東部の一養豚場で豚3頭に多包虫の寄生が確認された。その感染源や感染ルートは不明のままであるが、本県におけるエキノコックスの浸淫および生活環形成の有無を明かにすることは緊急の課題と思われる。今年度も感染豚の発生した周辺地域及び青函トンネルの出入口周辺地域も含めた継続調査を実施したが、媒介動物におけるエキノコックスの感染を認めなかった。県内で飼育されていた豚での発生、流行地北海道との間におけるヒト、伴侶動物、家畜などの頻繁な往来、畜産・農業関連物資などの盛んな流通を考慮すると、本県への侵入・流行域の拡大が懸念される。今後も媒介動物を中心に広範かつ詳細な野外調査の継続と監視体制の強化が必要と考えられる。

#### E. 結論

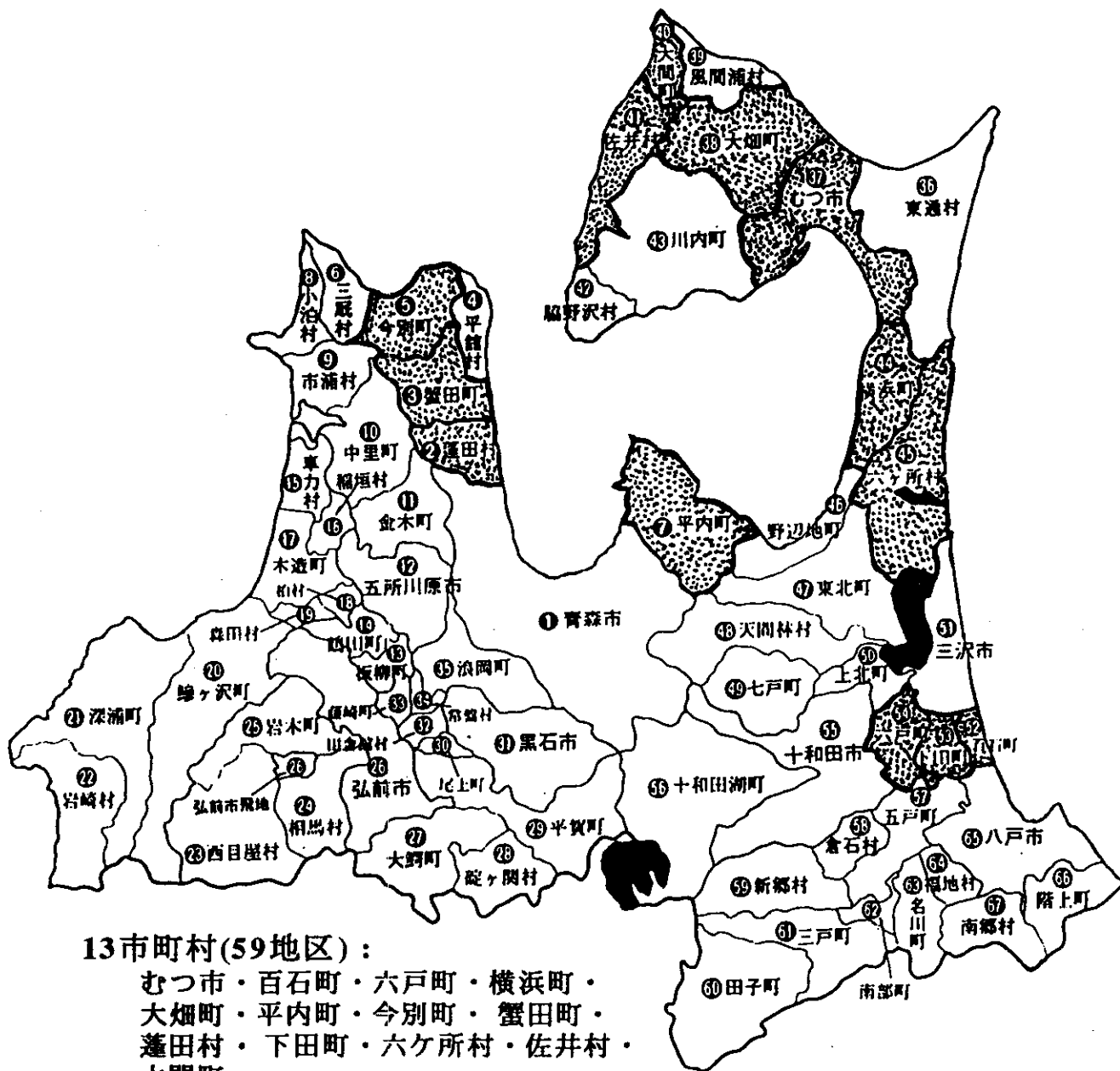
2000年5月から2001年2月にかけて、青森県内の23市町村(59地区)から集められた野生哺乳類を対象にエキノコックス感染の継続調査を行ったところ、その幼虫及び成虫のいずれの感染も認めなかった。

#### F. 研究発表

1. 論文発表: 準備中
2. 学会発表:
  - 1) 青森県東部地域におけるタヌキの寄生蟻虫類について. 第130回日本獣医学会

# 青森県内の野生哺乳類における エキノコックスの感染調査

--- 野ネズミ類の調査地域 (平成12年度) ---



野生小哺乳類の調査取組数（平成12年度）

（1）野ネズミ類

調査 市町村（地区数）	動物種					合計
	アカネズミ	ヒメネズミ	ハタネズミ	ヒミズ	ジネズミ	
1. 平内町 (3)	23	6	107	55	1	192
2. 横浜町 (6)	35	3	141	52	5	236
3. むつ市 (6)	11	2	107	26	4	150
4. 大畑町 (4)	6	0	97	8	2	113
5. 今別町 (6)	8	1	48	16	0	73
6. 蟹田町 (4)	4	0	48	23	0	73
7. 蟹田村 (3)	3	0	24	14	2	43
8. 百石町 (4)	37	3	118	35	8	201
9. 六戸町 (6)	21	2	119	20	2	164
10. 下田町 (6)	35	1	157	20	6	219
11. 六ヶ所村 (7)	20	4	93	19	3	139
12. 大間町 (3)	7	0	77	12	0	96
13. 佐井村 (1)	0	0	16	3	0	19
合計 (59)	210	22	1,150	303	33	1,718

調査期間：2000.5.13-10.17、\*：1999年調査地での追加

野生小哺乳類の調査取組数（平成12年度）

（2）その他動物

調査 市町村（地区数）	動物種				計
	キツネ	タヌキ	イタチ	テン	
1. 十和田市 (6)	6	10	1		17
2. 七戸町 (2)	1	1	2		4
3. 上北町 (3)	1		6		7
4. 六戸町 (1)	1	1			2
5. 福地村 (2)	3	2	1	1	7
6. 十和田湖町 (3)	4	2			6
7. 五戸町 (3)	1	4			5
8. 南部町 (1)	1				1
9. 八戸市 (3)	1	4			5
10. 三沢市 (2)	1	1			2
11. 階上町 (1)	1				1
合計 (27)	21	25	10	1	57

調査期間：2000年5月-2001年1月

野ネズミ類の消化管外寄生虫 (平成12年度)

寄生部位・寄生種	動物種(検査数)					計
	アカネズミ (210)	ヒメネズミ (22)	ハタネズミ (1,150)	ヒミズ (303)	ジネズミ (33)	
皮下・胸腔・腹腔						
<i>Plerocercoid</i>				1		1
<i>Taenia polyacantha</i>			13			13
<i>Taenia crassiceps</i>			21			21
肝臓						
<i>Cysticercus fasciolaris</i>	4	1	20			25
<i>Cladothyridium</i> spp.	20	3	143	7		173
<i>Capillaria hepatica</i>	1		13			14
Coccidia				55		55

ホンドギツネにおける  
内部寄生蠕虫類

(平成12年度: 21頭)

ホンドタヌキにおける  
内部寄生蠕虫類

(平成12年度: 25頭)

寄生種(寄生部位)	陽性頭数
線虫類 <i>Toxocara</i> sp. (小腸) .....	8
<i>Ancylostoma</i> sp. (小腸) .....	11
<i>Molineus</i> sp. (小腸) .....	6
<i>Strongyloides</i> sp. (小腸) .....	1
<i>Trichuris vulpis</i> (盲腸) .....	7
吸虫類 <i>Alaria alata</i> (小腸) .....	11
<i>Metagonimus takahashii</i> (小腸) .....	3
<i>Pygidiopsis</i> sp. (小腸) .....	1
糸虫類 <i>Spirometra erinaceieuropaei</i> (小腸) .....	2
<i>Mesocestoides</i> sp. (小腸) .....	1
<i>Taenia pisiformis</i> (小腸) .....	6
<i>Taenia crassiceps</i> (小腸) .....	1
<i>Taenia polyacantha</i> (小腸) .....	1
<i>Taenia</i> sp. (小腸) .....	4
鉤頭虫 <i>Acanthocephala</i> gen. sp. (小腸) .....	1

\* 疥癬 ..... 1例

寄生種(寄生部位)	陽性頭数
線虫類 <i>Toxocara tanuki</i> (小腸) .....	20
<i>Ancylostoma kushimaense</i> (小腸) .....	18
<i>Arthrostoma miyazakiense</i> (小腸) .....	15
<i>Molineus patense</i> (小腸) .....	9
<i>Strongyloides</i> sp. (小腸) .....	1
<i>Trichuris vulpis</i> (盲腸) .....	3
吸虫類 <i>Echinostoma macrorchis</i> (小腸) .....	6
<i>Echinostoma cinetorchis</i> (小腸) .....	3
<i>Metagonimus takahashii</i> (小腸) .....	8
<i>Pygidiopsis</i> sp. (小腸) .....	1
<i>Alaria alata</i> (小腸) .....	7
糸虫類 <i>Spirometra erinaceieuropaei</i> (小腸) .....	7
鉤頭虫 <i>Acanthocephala</i> faa. gen. sp. (小腸) .....	3

\* 疥癬 ..... 5例



## 分担研究報告書

### 中間宿主における多包虫のプロテアーゼ活性に関する研究

研究者 福本真一郎 酪農学園大学 獣医学部

研究要旨 多包条虫の中間宿主内での幼虫の発育において従来ほとんど検討されていなかった 蛋白分解酵素 (プロテアーゼ) に注目して実験的研究を行った。電気泳動法によりシスト液からは強力な活性を持つ酵素が検出され、従来報告されていないプロテアーゼ活性が確認された。さらに感染動物血清や組織での経時的発現を検討し共通抗原性の存在が確認された。

#### A. 研究目的

多包条虫の幼虫が中間宿主内で増殖転移する病理像は悪性腫瘍の転移や増殖のそれに酷似する。近年悪性腫瘍の転移増殖に腫瘍細胞が産生するプロテアーゼが組織器官を構成する細胞外マトリクスの消化に関与している点が注目されている。従来多包虫のプロテアーゼに関する報告は皆無に等しく、存在の証明もなかった。そこで中間宿主内でのプロテアーゼの存在や発現の検出を試みた。

#### B. 研究方法

虫卵または二次包虫症により感染を行ったスナネズ、マウス、コットンラットの腹腔内虫体組織及びシスト液、血清等を採取し、それらの材料を用いて 1) SDS-PAGE による電気泳動・gelatin zymography を行ない、プロテアーゼ活性の検出を試みた。3) プロテアーゼのインヒビターを用いて 2)シスト液を精製し、高いプロテアーゼ活性を示す分画を用いて家兎免疫血清を作成し、1) で得た組織標本上で、免疫酵素抗体染色法を用い組織での局在と発現を検討した。あわせて 乳腺腫瘍由来 MMP-9 家兎免疫血清についても同様の検索を行った。

#### C. 研究結果

いずれの実験動物から採取された材料 (虫体組織ホモジネイト・シスト液・血清) から複数のゼラチン分解プロテアーゼ活性パターンが確認され

た。また多くのバンドは EDTA で失活したが、最も強い活性を示したバンドは EDTA で失活しなかった。組織における免疫血清の反応性はシスト壁内側の胚層及びシスト液の部分に強い陽性パターンが認められた。この反応は感染後 2 週の組織で多包化が見られた段階から陽性であった。抗 MMP-9 抗体は原頭節が形成された繁殖胞内のみ陽性であった。

#### D. 考察

従来検出されていなかったプロテアーゼ活性が多包虫から検出された。特にシスト液中に認められた強い活性を示すプロテアーゼは局在や発現から増殖に関連する可能性が考えられた。また血清中にも認められ新たな診断 (虫体の生存) に応用の可能性が得られた。今後このプロテアーゼを中心に物質的な特性の解析をすすめることにより新たな診断方法・多包虫症の治療・中間宿主内での発育抑制などに応用可能と思われる。さらに世界中で問題となるその他の単包虫症・囊虫症への応用といった展開も大いに期待される。

#### E. 結論

多包虫感染動物の虫体などから従来方向のないプロテアーゼ活性が認められ、今後の診断や治療などに応用が期待された。

#### F. 研究発表

論文発表学会発表 準備中

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

肝エキノコックス症の病態と予防に関する研究  
—とくに職業との関連において—

分担研究者 佐藤直樹 北海道大学医学部附属病院手術部

**論文要旨**

肝エキノコックス症は、肝臓に腫瘍様塊状の病巣を形成し、発育にともない周囲臓器へ浸潤・転移する。放置すると予後は不良だが、早期発見により完全切除できれば治癒が約束される。最近12年間に、北大病院第一外科で経験した手術症例について、職業病の観点から職業・居住歴・生活習慣などの環境条件についてアンケート調査し、病態との関連について検討した。年齢は60歳代、次いで50歳代が多く、男女差はなかった。酪農業 25、農業 14、漁業・土木作業員 各7、公務員・会社員 各5、学生 3、運輸業・水産加工業・専業主婦 各2、その他 3であった。このうち71名はキタキツネの生活圏と職域が交錯していた。居住歴では、北海道東部・北部を中心にオホーツク海沿岸・北海道南部・中央部の広域にわたり、飲用水は上水道のみの使用が29%、井戸水のみが15%で、湧水 8%、沢水 7%であった。北海道ではキタキツネの生活圏と交錯する職域に作業場を持つ職業、とくに酪農業・漁業・土木作業員などは感染の危険性が高かった。

**A. 研究目的**

多包性エキノコックス症の発生は、スイス、ドイツ、フランスなど北半球の北緯38度以北の寒冷地に好発するが、本邦では北海道を中心に発生が認められる。

北海道における本症の予防対策は「礼文地区」、「根釧地区」での発生当初から行われ、北海道保健福祉部は地域保健所と連携して種々の衛生対策や行政指導を行ってきた。しかしながら、感染キツネ分布域の拡大とキツネにおけるエキノコックス感染率の上昇は「その他の地区」にも本症の発生を広げ、流行地域は全道一円となっている。最近では野犬の減少につれてキツネの市街地への侵入があり、いわゆる都市型感染による発生も散見されつつある。

これまで、酪農や養豚が盛んな地域との関連で本症の疫学調査が住民を対象に広く行われたことがあるが、本研究では患者を対象に職業との関連を主として明らかにするため、職業、居住歴、生活環境などについてアンケート形式による後向調査を行い検討した。

**B. 研究方法**

1987年1月から1999年12月までの12年間に北

海道大学第一外科で外科治療を施したエキノコックス症の75名の患者を対象にアンケート調査を行った。調査項目は、本症患者の「職業」、「居住歴」、「飲料水」、「飼育動物」、「生活習慣」、「汚染地域と接触期間」などであった。

患者の年齢分布は、10代が5名、20代が5名、30代が8名、40代が14名、50代が17名、60代が22名、70代が4名であり、平均年齢は50.1±16.3才であった。

職業を、その職域とキツネの生活圏との関連から、A群（キツネの生活圏と職域が密接する職種—野外作業など）、B群（キツネの生活圏と職域が疎に接する職種）、C群（キツネの生活圏と直接関連しない職種）の3群に分類して比較検討した。

**C. 研究結果**

(1) 職業

職業別にみると、最も多いのは酪農業（25名）や農業従事者（14名）で計39名（52.0%）、次いで漁業従事者7名（9.3%）、土木作業員7名（9.3%）、公務員5名（6.7%）、会社員5名（6.7%）、学生3名（4.0%）、運送業従事者2

名(2.7%)、水産加工業従事者2名(2.7%)、主婦2名(2.7%)、林業従事者1名(1.3%)、電設工事従事者1名、商店主1名の順であった。これら職業別患者を感染源であるキツネの生息域との関係から「キツネの生活圏と職域が密接する職種」のA群、「キツネの生活圏と職域が疎に接する職種」のB群および「キツネの生活圏と直接関連しない職種」のC群の三つに大別すると、52名(69.3%)がA群、11名(14.7%)がB群、12名(0.16%)がC群に分類された。

### (2) 居住歴

患者の診断時における居住区を保健医療圏別にみると、釧路・根室圏が33名(根室13・別海9・厚岸3・中標津2・釧路2・浜中2・標茶1・羅臼1)、オホーツク圏が10名(網走3・北見3・遠軽1・小清水2・紋別1)、道北圏が11名(旭川5・富良野3・礼文2・名寄1)、道央圏が10名(倶知安3・今金3・静内2・苫小牧1・小樽1)、道南圏が7名(函館2・森2・七飯2・戸井1)、十勝圏が3名(帯広2・本別1)に分布していた。

酪農業、農業、漁業などの第一次産業従事者を中心としてそのほとんどが、生来、あるいは長期間、一定の地域に23~73年間(平均42.4±17.9年間)居住していた。また、居住歴で感染時期を推定をしようものは、約16年前に石川県より北海道大成町へ転入した1名のみであった。

### (3) 飲水歴

飲料水別に患者を分けると、上水道(のべ58名77.3%)、井戸水(44名58.7%)、湧水(6名8.0%)、沢(川)水(5名6.7%)などと多岐にわたり、徐々に上水道への切り替わっていった。すなわち「上水道のみ」のもの22名(29.3%)、「上水道以前に他の水を飲水」のもの36名(48.0%)、「上水道以外の水を飲水」のもの15名(20.0%)、「不明」のもの2名であり、また、井戸水から上水道へ移り変わったものは、29名38.7%であった。

## D. 考察

北海道では、流行地域の拡大とともに終宿主であるキツネのエキノコックス感染率も徐々に高率となり、1999年度の北海道における媒介動物の調査結果では約60%に達している。

本症患者の居住区をみると、1987年当時、釧

路・根室圏およびオホーツク圏で、本症発祥の島、礼文とともにすでに患者が認められており、その後の道東、道北、道南そして道央地域への患者の地理的・年代的分布状況は北海道における本症流行の推移を血清疫学的に明らかにした調査結果とよく一致している。

北海道においては、以前から酪農を中心とする農業と魚・水産業の有病率が非常に高く、次いでサービス業、運輸・通信、公務員、建設業が高いと指摘されており、多数の患者を対象にした本研究でも同様の傾向にあることが分かった。患者の70%(52/75)が酪農業、農業、林業・土木・建築業などの“キツネの生活圏と職域が密接する職業”(A群)、即ち“野外作業に関連する職種”であったことは、感染の機会を考える上で特に興味深いと思われた。

また、“キツネの生活圏”との関連で、畜舎の周辺、海岸近傍の番屋周辺、水産加工工場周辺、自家用の畑や山野の遊び場などでキツネの出没を認めたとする患者は71名(94.7%)にも上り、本アンケート調査は、本症発生の背景に“キツネのヒトの居住区への接近”があることを示唆した。“キツネをヒトの居住区に近づけない”あるいはキツネの駆除が予防対策上いかに重要であるかをあらためて示唆するものと思われた。

また、生活環境条件として、上水道のみの使用は調べた75名の患者のうち22名(29.3%)に過ぎず、上水道以外の水、例えば井戸水、湧水、沢水の飲水歴との関係は無視できないことが分かった。しかしながら、1966年度末の根釧地域における水道水利用率は、0~60%であったが、エキノコックス症飲料水対策として、1968年度より、簡易水道施設整備事業が開始され、1985年以降は、全道の市町村を対象とした簡易水道等施設整備事業となり、1997年3月末における全道の市町村の水道普及状況は平均95.6%に達していることから、今後は発生に関わる環境条件としての飲料水の重要度は低くなると思われた。

本症の初発当初より、酪農家や農業従事者に対しては、多年にわたって本疾患の啓蒙と衛生教育が徹底的に行われてきた。その成果は、とくに釧路・根室医療圏においてエキノコックス感染ギツネが高率に認められるにもかかわらず、新規患者発生数は減少傾向にあることで明らか

である。しかしながら、エキノコックス症の発生は北海道本島での発祥地である釧路・根室医療圏から道北、道南、道央圏へと確実に広がりを見せている。さらにはこれまでキツネの生息域でなかった都市へのキツネの出没、都市周辺のキツネのエキノコックス感染率の上昇、そして近年のキツネと都市住民との接触頻度の増加などの新しい現象を考えると、近い将来、道内の都市周辺で患者が増加する可能性は高い。

#### E. 結論

過去12年間の北海道大学第一外科で外科治療を行ったエキノコックス症患者75症例のアンケート調査結果をもとに職業と病態について検討した。

1. 患者の年齢は10代から70代に分布(平均年齢は $50.1 \pm 16.3$ 才)した。
2. 職業は、酪農業従事者(25名)、農業従事者(14名)合計39名(52.0%)と最も多く、次いで漁業7名(9.3%)、土木作業員7名と、野外に関連する者が多かった。
3. 患者の発生した居住地は、釧路・根室圏3名、道北圏11名、オホーツク圏10名、道央圏の10名、十勝圏3名、青森の1名であり、北海道東部北部から道南、道央へと広域化しつつあった。
4. 上水道のみのものは、22名29.3%と少なく、井戸水、湧水、沢(川)水などと多岐にわたった。

#### F. 参考文献

- (1) Uchino J and Sato N(1993): Alveolar Echinococcosis of the Liver, Hokkaido University Medical Library Series. vol. 30, Kokoku Printing Ltd, Sapporo.
- (2) Uchino J, Sato N(1996): Surgical management for screened and unscreened patients with alveolar echinococcosis. p. 1-25. In Uchino J and Sato N(eds) Alveolar Echinococcosis of the Liver. Fuji Shoin, Sapporo.
- (3) WHO Informal Working Group on Echinococcosis (1996): Guidelines for treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. Bull WHO 74 231-242.

#### G. 論文発表

- (1) 佐藤直樹: エキノコックス, Medical Practice 17(5): 900-902, 2000.
- (2) 古屋宏二、川中正憲、佐藤直樹 ほか: 包虫症血清診断のための単包虫8kDa抗原-ウエスタン・プロット法の評価、道衛研所報 20: 1-5, 2000.