

厚生科学研究研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

日本住血吸虫等世界の寄生虫疾患の疫学及び予防に  
関する研究 (H12-新興-18)

平成 12 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 太田 伸生

平成 13 (2001) 年 3 月

## 目 次

### I. 総括研究報告

住血吸虫ワクチン開発・輸入住血吸虫症に関する研究 太田伸生	1
----------------------------------	---

### II. 分担研究報告

1. 住血吸虫ワクチン開発に関する研究 太田伸生	10
2. 新しい対策効果判定法の開発に関する研究 青木克巳	17
3. 住血吸虫の簡易診断法開発に関する研究 朝日博子	25
4. 新規殺貝剤の開発に関する研究 川中正憲	31
5. 住血吸虫のワクチン開発に関する研究 小島荘明	33
6. 対策のための数学モデル作成に関する研究 嶋田雅暁	35
7. 住血吸虫症の病態解析に関する研究 田邊将信	45
8. リモートセンシング/GISに関する研究 二瓶直子	61
9. 住血吸虫の診断用抗原探索、ワクチン開発に関する研究 平山謙二	68
10. 住血吸虫症の疫学に関する研究 松田 肇	73
11. 衛生教育法の開発に関する研究 門司和彦	81

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	98
---------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	101
-----------------	-----

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

日本住血吸虫等世界の寄生虫疾患の疫学及び予防に関する研究

主任研究者 太田伸生 名古屋市立大学教授

研究要旨 これまでの精力的な住血吸虫対策の実施にもかかわらず、途上国を中心に現在なおこの寄生虫症流行が広がっていることを踏まえ、対策のあり方の再検討、新しい予防・診断技術と対策ソフトの開発、国内の行政的対応に向けた検討、および関連する寄生虫症対策への応用展開を進めた。本研究課題は3つのアプローチから進められた。まず既存の住血吸虫症対策の再検討として、流行地での対策を阻む社会的、生物学的要因の排除と効率的衛生教育の手法、流行予測の数理モデルや中間宿主貝対策の新規薬剤開発などを進めた。住血吸虫症対策においては、衛生教育を通じたヒトの行動改善が重要視されるが、流行現場で何を重視した衛生教育が効果的であるか、住民の住血吸虫症対策へのモチベーションを如何にして持たせるかなどを、地域の文化的背景を勘案しつつ考察した。それを基に住民の衛生教育カリキュラムの策定に応用を図った。住血吸虫症対策の第2のアプローチとしては、簡便な診断法開発、発病機構の解明と制御機構解明に基づく新しい予防治療法の開発、ワクチン開発など医学的な問題解決の試みをとった。ワクチン応用は感染症制圧に不可欠な手段であるため、ここでも日本住血吸虫ワクチンの開発を手掛けた。日本住血吸虫症は人獣共通寄生虫症であるため、保虫宿主動物の対策が有効であるとの考えに立ち、日本住血吸虫のパラミオシンとカルパインの家畜におけるワクチン効果を調べた。これらは各々異なった作用機序を示すワクチン分子であり、その投与方法の検討によって、少なくとも動物で使用可能なワクチン開発の目途が立った。発病に関与する住血吸虫側分子の同定や、症状発現/修飾タンパク質などの情報が得られ、これらは新規予防治療法の開発のための情報となった。第3に、住血吸虫症に関する監視体制の整備に向けて、国内の対応を強化する目的で疫学評価技術の新規導入を図った。地理情報システムは水利、土地利用や植生など環境因子から流行成立の危険因子を推定し、対策をより重点的に行なうことを可能にする。その実用化の基礎資料として国内の旧流行地でミヤイリガイの生態分布解析を実施した。地理的特徴を明らかにし、さらに近隣諸国の住血吸虫症流行情報を整理し、渡航者や在留邦人のための指導、助言も行なった。これら住血吸虫症対策の総合的検討をもとに、今後の対策の指針作りにあたった。

分担研究者

青木克己 長崎大学熱帯医学研究所・教授  
朝日博子 国立感染症研修所・主任研究官  
川中正憲 国立感染症研究所・室長  
小島荘明 国際医療福祉大学・教授  
嶋田雅暁 長崎大学熱帯医学研究所・教授  
田邊将信 慶応大学医学部・講師  
二瓶直子 国立感染症研究所・客員研究員  
平山謙二 埼玉医科大学・教授  
松田 肇 独協医科大学・教授  
門司和彦 長崎大学医療短期大学部・教授

ない事実の背景には、この寄生虫感染症流行の成立要因に医学生物学的因子ばかりでなく、自然環境、文化および社会経済的因子の関与が大きいことがある。住血吸虫を含むヒトの蠕虫感染は、他の感染症と様々な点で異なっており、その流行を支える因子はユニークである。蠕虫寄生の多くは mortality の点ではあまり大きなインパクトを与えないが、感染が長期に亘って持続することから、流行地住民集団の社会生活に無視できない影響を与える。そして持続する慢性症状によって、小児の発育阻害や発がんなど成人への健康被害、および社会生産性にも大きな被害を与えている。従って、蠕虫症対策には医学生物学的に制圧

A. 研究目的

世界の住血吸虫症対策の実効が上がってい

するというコンセプトと同時に、流行地住民が病気とともに生きているという事実から、ヒトの社会文化的背景に立脚した対策の議論が必要である。

本研究では、従来の住血吸虫症対策の方法論をこれまで蓄積されてきた流行地での野外調査データをもとに、寄生虫学的、人類生態学的な視点に立って再検討し、その改善と強化を図る一方で、ワクチン、診断法開発や新しい流行監視法の導入など方法論の新規開発・導入を進めることにした。これらのアプローチから得られる成果を組み合わせることによって住血吸虫症制圧のブレイクスルーを求めて行く戦略である。また、国内的問題として輸入住血吸虫症の実態調査、地理情報システムを用いた国内の旧流行地での中間宿主貝生息モニター調査の試みなどを行ない、わが国における輸入症例への医療対応、保健衛生面での海外安全情報提供など感染症対策への貢献を目指すこととした。流行監視体制強化も目的の一つであり、本研究で応用を図る新しい疫学調査法は、流行のリスク評価基準を明らかにすることで、対策実施の効率化、重点化などを進めることに有用である。

それらの目的のために、住血吸虫症研究に深い経験を持つ国内の研究者を募り、野外調査研究と実験室レベルでの研究の有機的統合をはかり、世界の住血吸虫症対策に助言、指導を発信できる研究班体制を組むことができた。得られる成果からは、WHO が緊急の対策課題と認定した住血吸虫症制圧の世界戦略にわが国からの発信情報として利用されることとなるばかりでなく、他の蠕虫感染の対策事業にもモデルとなりうる提案ができると考えている。さらに、地球環境変化による各種感染症の分布拡大へのわが国の危機管理体制整備にも指針を与え、日本の保健行政面への貢献も目指している。

## B. 研究方法

研究は全体として 3 つのグループに分けて進め、それを全体の班会議で調整しつつ取りまとめを行なった。

### B-1. 従来の対策法の再検討

#### 1. 住民の住血吸虫症に対する認識を高める方

## 法の開発

流行地住民は住血吸虫感染による病害を感性的に認知しているが、これを客観的に表わす指標とするために、ビルハルツ住血吸虫症流行地住民の膀胱癌、生殖器病変、排尿困難などの頻度と程度を調査した。

ケニア国クワレ地区 2 村の 20 才以上の成人 1516 名の尿を採取し、ビルハルツ住血吸虫卵の検索と細胞診のためのスメア標本を作製し、パパニコロウの分類で判定した。対照として住血吸虫感染がないキアンブ地区の成人 294 名についても同様の検査を実施した。

#### 2. 衛生教育法改善のための基礎調査

流行地では効果的な衛生教育が普及していないという認識の下に、流行地住民が住血吸虫症に対してどのような認識、症状自覚、行動、知識、態度などをとっているのかを調査した。

ケニア国クワレ地区の小学校 22 校の児童 1082 名を対象に、尿検査、糞便検査、ビルハルツ住血吸虫症に関係する自覚症状の有無、感染の危険がある水との接触や排尿行動、住血吸虫症に関する知識、既往歴、健康教育を受けた経験、便所の有無などを聞き取り調査した。

#### 3. 住血吸虫症流行の数理モデルの構築

感染症流行の数理モデル化は、対策効果のシミュレーション、効果の判定などに必要であるが、従来実用に足る数式モデルの開発には成功していない。そこで、住血吸虫症伝播数理モデルの方法論選択 (mean-field model vs individual-based model および deterministic approach vs stochastic approach)、モデルの模式図化、それを構成するコンポーネントのプログラミングとシミュレーションを進めた。

#### 4. 新規殺貝剤開発

住血吸虫症流行地であるエジプトナイルデルタに自生する植物 177 種からの抽出物をスクリーニングし、効果が認められたものについては殺貝成分の分析を行なった。その他に中国またはフィリピンの植生中の殺貝物質のスクリーニングも行なった。

### B-2. 新しい対策武器の開発

#### 1. 日本住血吸虫ワクチンの開発

日本住血吸虫症のワクチン候補としてパラミオシンとカルパインを検討した。それぞれのタンパクをレコンビナント分子として大腸菌で作製し、精製した後、すでにマウスでの予備実験が終了しているパラミオシンについてはブタでのワクチン効果の試験を行なった。生後 8 週のブタに紫外線照射セルカリア、組み換え GST、組み換え GST+パラミオシンをそれぞれ免疫した。接種時にアジュバントとしてタイターマックスを用いた。4 週後にブーストした後、2 週後に 120 隻の日本住血吸虫セルカリアをチャレンジ感染させ、10 週後に感染虫体を回収した。カルパインはマウスでワクチン効果の有無を調べた。BALB/c マウスに 25  $\mu$ g レコンビナントカルパインを CFA と共に皮下接種し、2 週後に ICFA と共に同量のレコンビナントカルパインを皮下接種し、さらに 2 週後にもう 1 度同量をブーストした。陰性対象にアジュバントのみの接種群、陽性対象に X 線照射セルカリア 100 隻接種群マウスを用意した。各々の群のマウスに日本住血吸虫セルカリア 30 隻を感染させ、6 週後に門脈灌注法によって感染虫体を回収し、その数を記録した。マウスから虫体を回収した後、小腸と肝臓を摘出し、虫卵回収数と、肝臓で形成された虫卵周囲肉芽腫の大きさを測定した。

ワクチン効果機序を明らかにするために、IL-5 トランスジェニックマウスから好酸球を集め、日本住血吸虫幼虫を感染マウス血清で処理して、幼虫の殺滅効果を調べた。

## 2. 肉芽腫性病変を誘導する寄生虫側分子の検討

住血吸虫感染宿主体内で形成される虫卵周囲肉芽腫が慢性病変の主病変であるが、その形成に宿主 T 細胞が関与する。その T 細胞応答を誘導する寄生虫抗原の同定を行なった。マンソン住血吸虫感染マウスから虫卵抗原特異的 T 細胞クローンを分離し、その認識分子を同定した。その分子構造を決定し、それをレコンビナント分子として作製した。その診断抗原としての有用性についても検討した。

## 3. 住血吸虫感染マウス中の瘰癧誘発リポタンパクの解析

マンソン住血吸虫感染マウス組織をホモジナイズし、硫酸塩析で活性分画を得た。それ

を濃縮した後、精製し、成分分析を行なった。精製標品に対する抗体を作り、2 次元電気泳動で詳しく調べると共に、精製標品のマウスの微小循環に及ぼす影響、特に瘰癧誘発効果を *in vivo* で調べた。

## B-3. 住血吸虫症の疫学と監視体制

### 1. 日本住血吸虫の地理系統と中間宿主貝の感受性検索と PCR による感染の検出

アジアに分布する住血吸虫株に対する日本産中間宿主貝への感受性を検討した。中国、日本、フィリピンの日本住血吸虫株の山梨または木更津産の *Oncomelania* への感染性を、ミラシジウム感染後 24 週まで追跡した。また、PCR による貝からの住血吸虫幼虫の検出を行なうため、その検出系の基礎実験を行なった。

### 2. メコン住血吸虫症の疫学情報収集

カンボジアのメコン住血吸虫症流行地区のうち、Sdau および Pluk 地区の小学生を対象に、血清疫学、糞便検査、知識や行動に関するアンケート調査を行ない、また、成人を対象に肝脾病変の有無を超音波検査で調べた。

### 3. ミヤイリガイの生息地域の環境調査

山梨県の旧流行地でミヤイリガイ生息に関する定点観測を行なった。各定点の貝の生息密度が、土の pH、植生、水流、土地利用、地形などによってどのような影響を受けているかを調べ、さらに GPS カメラで位置を確認した。中国の流行地での調査は、流行地の Landsat の人工衛星画像を入手し、Spot 画像で解析を行なった。

## (倫理面への配慮)

動物実験は各研究施設が定めた動物実験規定に従って実施した。ヒトの試料による研究は、各実施地域の政府による実験承認を得た後、実施にあたってはインフォームドコンセントを得て行なった。

## C. 研究結果

### C-1. 従来の対策法の再検討

非流行地のキアンプ地区の 294 名の検査では、尿中の白血球の検出頻度は 5.4%に認め、尿路感染症の存在はあるものの、細胞診では異常細胞は全く検出されなかった。一方、流

行地の 2 村の 1516 名の検査では 27.0%が虫卵陽性であった。細胞診で明らかな異常と判定されるグレードⅢ以上は男で 2 名、女で 8 名みられ、扁平上皮化生は 19 名に見られた。白血球+の頻度も男 8.8%、女 11.5%であり、いずれの所見においてもビルハルツ住血吸虫感染者集団で異常所見の頻度が高かった。

小学生の知識、行動などに関する調査では、ビルハルツ住血吸虫感染者は 46.3%で男児の方が高かった。感染しているものの自覚症状を解析すると、血尿、排尿困難などが多かったが、尿路症状以外でも喘息を訴えるものでは感染率が高かった。これらの自覚症状 3 項目だけで感染者の 63%、非感染者の 88%を正しく把握できた。水との接触でも、接触が多いものでは感染頻度が高い。小学生の住血吸虫病の知識は比較的浸透しているが、全く過った知識の者もみられた。

住血吸虫伝播の数理モデルとして immigration-death model を利用して 2 つのアプローチを比較した。determination approach ではある初期条件設定下では一定の感染濃度に収束したが、stochastic approach では、検討した初期設定の範囲では収束する傾向は得られなかった。これは偶然の影響が大きいためと思われ、各因子の重要度を改めて検討する必要があることがわかった。

新規殺虫剤としては、エジプトの *Anagallis arvensis* 由来のサポニン成分が *Biomphalaria grabratus* と *Oncomelania quadrasi* に対して 0.625ppm から 2.0ppm の濃度範囲で殺活性があった。中国産茶種子のサポニンにも殺虫活性があり、解析に着手した。

## C-2. 新しい対策武器の開発

日本住血吸虫ワクチンの候補分子として、すでにマウスでの検討が終了しているパラミオシンをブタで効果を検討したが、今年度の実験では有効な防御効果を確認することは出来なかった。すでに予備実験でブタでも効果のあることを観察しているの、再現できなかった因子についての解析が必要であるが、陽性対照とした紫外線照射セルカリア投与群でも防御効果が観察されなかったの、何らなかの技術的な問題かも知れない。

カルパインは分子精製を行ないつつ、マウスでの基礎データを得た。カルパインを BALB/C に接種した場合に、アジュバントのみの接種群に比べて、回収虫体数の有意な低下が観察された。WHO によるワクチン効果認定の「40%超の低下率」をクリアしていた。陽性対照の X 線照射セルカリア接種群とほぼ同等の防御効果であった。防御効果だけではなく、カルパイン接種群では雌成虫 1 匹あたりの産卵数が有意に低下し、産卵抑制効果もあることが明かとなった。X 線照射セルカリア接種群では陰性対象群と雌 1 匹あたりの産卵数に全く変化がなく、産卵抑制効果は認められなかった。虫卵周囲に形成される肉芽腫が慢性症状発現の原因であるが、カルパイン接種群では平均肉芽腫サイズがアジュバント接種群に比べて有意に縮小していることがわかった。

マウスの住血吸虫感染における好酸球の働きを観察したがマウス好酸球は幼虫に付着するものの、幼虫殺滅活性はラット好酸球に比べてきわめて低いことがわかった。

マンソン住血吸虫虫卵抗原特異的マウス T 細胞クローンの認識分子として 62KD の phosphoenolpyruvate carboxykinase (SM-PEPCK) と 26KD の thioredoxin peroxidase (SM-TPx) が同定された。これらの抗原に対する T 細胞応答の機能を、肉芽腫形成の強いマウスと弱いマウスとで比較すると、弱いマウスでは Th1/Th2 バランスが取れており、極端な Th2 への偏位は起っていなかった。

痙攣症状誘発因子としての CILIP をマンソン住血吸虫感染マウスから分離し、各種動物由来のものと比較した。単一バンドとして精製され、比活性は 400-800 U/mg protein であった。2 次元電気泳動で 60KD 前後で等電点が 7.7-8.0 および 8.0-8.2 のペプチド群であった。この分子に対する抗体を作製し、マウスに投与することによって痙攣は完全に抑止された。In vitro でもこの CILIP は微小循環系への効果を観察することができた。

## C-3. 住血吸虫症の疫学と監視体制

中間宿主員のモニタリングの目的で、国外の日本住血吸虫株の国内産ミヤイリガイへの

感受性を調べると、日本株住血吸虫は日本産ミヤイリガイに高い感受性を示したが、中国株は日本のミヤイリガイには感受性がきわめて低かった。しかし、フィリピン株は山梨のミヤイリガイには感受性が低いものの、木更津産ミヤイリガイには十分な感受性（感染率30-80%）があった。

中間宿主貝の住血吸虫感染の有無をPCRで調べるためのプライマー設計を確認する目的で日本住血吸虫成虫のDNAからの増幅を行ない、当該領域の増幅が確認された。

カンボジアのメコン住血吸虫症流行の疫学情報を収集した。メコン側流域沿いの各地域の抗体陽性率を整理し、カンボジア国内では上流で陽性率が高く、下流に行くに従って低下した。高い陽性率を示す地域では、住民のほぼ100%が陽性であった。保虫宿主の状況について、イヌを調べたところ、28例中1例で感染が確認された。小学生の住血吸虫に関するアンケート調査から、濃厚感染地域では住血吸虫を知っている児童が多いが、それでも便所の使用は少なく、また上流地域では生活用水としてのメコンの川水利用が多かった。

GIS、リモートセンシングの住血吸虫中間宿主貝監視モニタリングの結果、貝の生息密度の年次変化と土地利用、土壌成分などの間に一定の関係が認められた。中国の流行地での中間宿主貝分布と土壌成分や植生との関係を検討したが、地区によって好適生息条件が異なり、貝の環境条件への適応に多様性があることがわかった。

#### D. 考察

住血吸虫症対策の方法に加えるべき改善点として、住民のモチベーションを上げることを考えるべきであるとの認識の下で、まず流行現場での検討を行なった。住血吸虫症は慢性症であるので、地域の社会文化に適応している面もあり、どのような被害を自分達が被っているのかの認識を求めなくてはならない。今回の研究では、ケニアのビルハルツ住血吸虫症流行地域で、尿路感染、尿路の腫瘍化などの危険性が明らかに高いことがわかった。しかし、その頻度は女性で高く、エジプトの調査結果と異なっていた。子宮頸癌由来の癌

細胞のコンタミの可能性もあり得るが、移行上皮の異形度が高かったことから、その可能性は考えにくいと判断した。これらの結果は、ビルハルツ住血吸虫感染による尿路の炎症が癌発生にも関連することを示唆し、住民に説明可能な病害性の証拠となるものである。

ケニアの住民のアンケート調査から、住民が住血吸虫症に関して一定の知識、認識をしており、自覚症状としても感染の有無を判断しうるパラメータが明かとなった。住血吸虫に関する知識を持ち、水との接触など感染危険行動の有無と感染率に有意な相関があり、衛生教育の際の重要ポイントとして上げられる。ビルハルツ住血吸虫症は血尿という比較的はっきりした症状が現われるために、自己診断としても正しい情報が得られる。これらを如何に衛生教育に還元して行くかが今後の問題である。カンボジアでも住民アンケートを実施したが、質問項目が違うので比較は困難である。しかし、住血吸虫の感染ルートなど一定の知識を持っていながら、便所の使用が十分でないなど、対策に向けた住民の行動として結びついていないことが明かとなった。

住血吸虫伝播の数理モデルは、偶然による影響を排除するものが得られず、どの因子をどうすれば流行が抑えられるか、というシミュレーションを組むことが出来ない。パラメータの検討として、従来の疫学調査で上がって来た感染率や感染濃度の情報を再考し、方法的な改変を考える必要を示唆するものである。

新しい診断、治療の方法、病態解明のパラメータ開発などは疫学調査や対策実施を容易且つ信頼性向上をもたらす、ワクチン実用化が加われば住血吸虫症の制圧はかなり実現性が大きくなる。これら実験室内の研究は、まだ初年度ということで十分な成果までには到達していないが、被検者に苦痛を与えない診断法には大きな前進が見られている。尿を用いた免疫診断などは対策へのコンプライアンスを向上させる武器となる。住血吸虫のワクチンは感染防御と発病阻止の両面を満たすものが最も望ましい。パラミオシンは感染防御効果が見られるワクチン分子であるが、今年度のブタでのトライアルで効果を確認するこ

とが出来なかった。その原因はわからないが、実験系全体がうまく行かなかったことから、技術的なことに問題があったのではないかと考えている。なるべく早い時期に再試験する予定である。カルパインは感染防御と発病阻止の両方に効果をもつ。また、カルパインに対する抗体産生は、住血吸虫感染者でも稀であり、抗体ができれば感染防御や発病抑止効果があるということが確認されれば、ワクチンとしてかなりの実用性が期待される。大型家畜動物での試験を早い時期に行なう予定である。

発病コントロールを行なう目的の実験を進め、T細胞の応答制御を通じた調節機序をマウスで調べる段階である。従来からT細胞の機能改変をもたらすワクチンの構想はあるが、実際に効果を見ることには成功していない。この研究ではT細胞の応答標的を明らかにしたので、その情報をもとに発病調節の可否を検証したい。

住血吸虫症の流行監視としては中間宿主貝の生息モニタリングが重要な柱である。国内でやれることとしては、病気の持ち込みがあり得るか、ということであるが、日本産のミヤイリガイにはフィリピン株の日本住血吸虫は十分に適応しうる。その意味で警戒は必要である。感染貝の検出も、従来はミヤイリガイを潰してセルカリアの遊出を見ることによっていた。今後の検査の効率化を図るには、一定数の貝を潰してPCRサンプルとし、感染貝の有無をスクリーニングする方法に変えれば容易になる。流行地で感染貝の頻度が高いところでは1個1個の貝を調べることが重要であるが、流行が終息しつつある課程ではPCR検査は有用であろう。

リモートセンシングも貝の生息モニタリングに今後大きな期待がかけられている。しかし、今年度の検討では、生息している貝の環境への適応が比較的多様であり、土壌成分、植生、pHなどのパラメータで、特定の条件がすべての中間宿主貝の繁殖条件として考えてよいとはいえないことが確認された。今後より多くの条件の地域で調査を行ない、リスクファクターを抽出できるならば、流行対策の効率化に大きな貢献となるであろう。

## E. 結論

住血吸虫症対策のより一層の効率化を目指して、流行地の疫学情報、流行地住民の意識、行動、態度などの調査を行ない、問題点を明らかにした。今後の対策実施に必要なモチベーション、インセンティブなどについて明らかにした。医学生物学的面からの住血吸虫対策のための方法開発では、ワクチン開発に新知見が得られ、近い将来に家畜での実用化をめざす。病態解析のための生物学的パラメータや発症誘導分子の解明も進めた。中間宿主貝のモニタリングの方法としてリモートセンシングや感染貝のPCR診断法の開発も行ない、また環境毒性の低い殺貝剤開発も進出した。これらの成果をもとに、具体的に対策法をどのように改良、開発して行くべきかを次年度の課題として行くこととした。

## F. 健康危険情報

本研究班からはなし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Zhang R, Yoshida A, Kumagai T, Kawaguchi H, Maruyama H, Suzuki T, Itoh M, El-Malky M, Ohta N. : Vaccination with calpain induces Th1-biased protective immune response against *Schistosoma japonicum*. *Infect Immunity*, 69:386-391, 2001.

He H, Zhang R, Kawaguchi H, Yoshida A, Itoh M, Chen Y, Ohta N. : Role of testosterone in host-parasite interaction during murine experimental infection of *Schistosoma japonicum*. *Jpn J Trop Med Hyg*, in press.

太田伸生、吉田彩子：寄生虫と生体防御、*Biotherapy*, 14:597-602, 2000.

Asahi H, Cook M R, Osman A, LoVerde P T, Stadecker M J.: *Schistosoma mansoni* phosphoenolpyruvate carboxykinase (Sm-PEPCK), a novel egg antigen: Immunobiological properties of the recombinant protein and identification of T cell epitope. *Infect Immunity*, 68:3385-3393, 2000



Williams D L, Asahi H, Botkin D J, Stadecker M J. : Schistosome infection stimulates host CD4<sup>+</sup> T helper cell and B cell responses against a novel egg antigen thioredoxin peroxidase. *Infect Immunity*, 69:1134-1141, 2001

Stadecker M J, Hernandez H J, Asahi H. : The identification and characterization of new immunogenic egg components: implications for evaluation and control of the immunopathogenic T cell response in schistosomiasis. *Memorials do Instituto Oswaldo Cruz, in press.*

Mahfouz M, Abdel-G, Samir M El-A, Ohigashi H, Watanabe Y, Takeda N, Sugiyama H, Kawanaka M. : Molluscicidal saponins from *Anagallis arvensis* against schistosome intermediate hosts. *Jpn J Infect Dis*, 53:17-19, 2001

Osada Y, Janecharut T, Hata H, Yuvadee M C, Chen X W, Nara T, Kita K, Kojima S. : Protective immunity to *Schistosoma japonicum* infection depends on the balance of T helper cytokine responses in mice vaccinated with  $\gamma$ -irradiated cercariae. *Parasite Immunol.*, 23:1-9, 2001

Shin E-H, Osada Y, Sagara H Takatsu K, Kojima S. : Involvement of complement and fibronectin in eosinophil-mediated damage to *Nippostrongylus brasiliensis* larvae. *Parasite Immunol.*, 23: 27-37, 2001

二瓶直子、小林睦生：地理情報システムを利用した感染症分析の解析。*感染症*, 174:129-140, 2000

土井陸雄、神田栄次、二瓶直子、内田昭彦：北海道における多包条虫症発生の実態と今後の対策への提言。*日本公衆衛生雑誌*, 47:111-126, 2000

二瓶直子：中国の寄生虫症—見た夢見たい夢。*日中医学*, 14:12-13, 2000

二瓶直子、小林睦生：地理情報システム GIS の感染症領域への応用。*Laboratory and Clinical Practice* 19 (4月号に投稿中).

Nihei N, Kobayashi M, Tanaka H : The probable

expansion of malaria infested areas in East and Southeast Asia as a result of global warming. *国際保健医療*, 15:3-13 (印刷中)

Chen H, Nara T, Zeng X, Satoh M, Wu G, Kojima S, Zhang Z & Hirayama K. : Vaccination of domestic pig with recombinant paramyosin against *Schistosoma japonicum* in China. *Vaccine* 20:2142-2146, 2000

林 正高、松田 肇、千種雄一、大竹英博、久保田友子、松永絹子：山梨における治療 33 年後の日本住血吸虫症群の病態追跡調査。*山梨医学*, 28:12-19, 2000

Hayashi M, Chigusa Y, Matsuda H : Post-treatment follow-up studies on the clinical features of schistosomiasis japonica over a 33-year period in Kofu district, Japan. *Proc 6th Asian-Pacific Congress for Parasitic Zoonoses, (Taipei)*, 47-54, 2000

大前比呂思、高橋宏行、岩井晶子、岩田広香、木下牧子、隅谷護人、千種雄一、松田肇：住血吸虫症の合併症としての肺高血圧症の考え方。*Clin Parasitol*, 11:59-62, 2000

佐々木由利、桐木雅史、瀬尾直美、古田恵子、松田 肇：日本住血吸虫中間宿主ミヤイリガイの血球。*東京医科大学紀要*, 27:29-37, 2001

## 2. 学会発表

Asahi H, Osman A, Cook RM, Hernandez HJ, Ohta N, LoVerde PT, Stadecker MJ. : *Schistosoma mansoni* phosphoenolpyruvate carboxykinase, a novel egg antigen: Immunological properties of the recombinant protein and identification of a T-cell epitope. 35<sup>th</sup> Joint Conference on Parasitic Diseases, Jpn-US Cooperative Medical Science Program, July 2000, Nagoya.

Yoshida A, Maruyama H, Kumagai T, Amano T, Kobayashi F, Kuribayashi K, Ohta N. : Influence of *Schistosoma mansoni* infection on tumor rejection in mice. *Ibid.*

Zhang R, Yoshida A, Kumagai T, Kawaguchi H, Maruyama H, Suzuki T, Itoh M, El-Malky M, Ohta

N. : Immunopathological analysis of calpain, a calcium-activated neutral proteinase, of *Schistosoma japonicum* and its efficacy in schistosome vaccine through induction of strong type 1 responses in BALB/c mice. *Ibid.*

熊谷 貴、吉田彩子、丸山治彦、太田伸生：モノクローナル抗体を用いた日本住血吸虫カルパイン発現の解析。第 30 会日本免疫学会総会、2000 年 11 月、仙台市

吉田彩子、丸山治彦、熊谷 貴、天野皓昭、小林富美恵、栗林景容、太田伸生：マンソン住血吸虫感染による腫瘍排除への影響。同上

Aoki Y, Ohki T, Anami M, Muhoho N D, Iseki M : Urine cytology in an endemic area of Schistosomiasis haematobia in Kenya. Oxford 2000, September 2000, Oxford.

大木智春、山内秀彦、松山拓史、穴見正信、井関充及、Muhoho N D、青木克巳：ケニアのビルハルツ住血吸虫症流行地における尿細胞診。第 41 回日本熱帯医学会、2000 年 11 月、東京

Asahi H, Hernandez H J Stadecker M J. : *Schistosoma mansoni* phosphoenolpyruvate carboxykinase (Sm-PEPCK), a novel schistosoma egg antigen, induces potent CD4<sup>+</sup> T helper cell response in the C57BL/6 mouse. 第 69 回日本寄生虫学会大会、2000 年 4 月、松江

Williams D L, Asahi H, Botkin D J, Stadecker M J. : Thioredoxin peroxidase of *schistosoma mansoni* is a novel T cell and B cell egg antigen. The 49<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Society of Tropical medicine and Hygiene, November 2000, USA

川中正憲、杉山 広、大東肇：茶種子サポニンの殺菌活性成分について。第 60 回日本寄生虫学会東日本大会、2000 年 10 月

Mohamed F Y, Shiratori K, Massawe E S, Shayo R J, Kisu T, Shimada M. : A population study of the intermediate host of *Schistosoma mansoni* and the application of remote sensing. 第 41 回日本熱帯

医学会、2000 年 11 月、東京  
Kisu T, Tanimura S, Massawe E S, Shayo R J, Shiratori K, Mohamed F Y, Shimada M. : A questionnaire study to quantify the human behavior at river infested *Schistosoma mansoni*. 第 41 回日本熱帯医学会、2000 年 11 月、東京

田邊将信：マンソン住血吸虫感染マウスに見いだされる癒癢誘発リポ蛋白(CILIP)の性状。第 69 回日本寄生虫学会大会、2000 年 4 月、松江

Nihei N. Use of GIS/RS for the analysis of endemic parasitic diseases. Alos シンポジウム, March 2001

平山謙二：住血吸虫感染に対するヒト免疫応答の遺伝子支配。第 4 回皮膚病研究、治療フォーラム、2000 年 6 月、札幌

Kikuchi M, Liu J, Hirayama K, He N, Jianghong Y, Zhao Q, Yuang H C, Lin T T : Genetic control of *Schistosoma Japonicum* infection by Phenylalanine at the 67<sup>th</sup> amino acid of HLA-DRB1. Jpn-US Cooperative Medical Science Program, July 2000, Nagoya.

菊池三穂子、平山謙二、Liu J、He N、Zhao Q、Yuang H C、Lin T T、Shoji Z：日本住血吸虫症浸淫地における集団治療後の再感染抵抗性の解析。第 41 回日本熱帯医学会、2000 年 11 月、東京

菊池三穂子、Liu J、He N、Zhao Q、Yuang H C、Lin T T、Shoji Z、平山謙二：日本住血吸虫症浸淫地における集団治療後の再感染抵抗性の解析。第 30 回日本免疫学会、2000 年 11 月、仙台

Kenji Hirayama : Molecular Biology in Tropical Disease. 3<sup>rd</sup> MOH-AMM scientific meeting & International congress of Medicine in the Tropics. November 2000, Kuala Lumpur

平山謙二：寄生虫感染の重症化に関与する遺伝子。第 46 回臨床アレルギー研究会、2000 年 12 月、東京

大竹英博、千種雄一、大前比呂思、Sinuon M、  
Dung S、松本 淳、桐木雅史、林 正高、  
松田 肇：日本住血吸虫症とメコン住血吸虫  
症はどの程度違うのか？第 41 回日本熱帯医学  
会大会、2000 年 11 月、東京

大前比呂思、松田 肇、入江勇治、Balonga I、  
Portillo L、Pacheco R B、Guiritan V S、Blas B L、  
安羅岡一男、田中 寛：日本住血吸虫症低浸  
淫地において COPT の果たす役割と限界。第  
41 回日本熱帯医学会大会、2000 年 11 月、東  
京

今瀬敦子、桐木雅史、松田 肇、大前比呂思、  
岩村幸雄：マンソン住血吸虫に存在する宿主  
関連配列。第 23 回日本分子生物学会年会、2000  
年 12 月、神戸

Moji K: Epidemiology and control of urinary  
schistosomiasis in Zimbabwe. Anthropology and  
Health: Disease Profiles in Developed and  
Developing Countries. June 2000, Hvar, Croatia,

栗澤俊樹、山本太郎、青木克巳、門司和彦：  
ジンバブエ国における国家住血吸虫症対策の  
モデル事業。第 15 回日本国際保健医療学会、  
2000 年 8 月、長崎

Moji K, Aoki Y, Shimada M : Subjective symptoms  
and morbidity related to schistosome haematobium  
infection in Kenyan communities. 12th Congress of  
the European Anthropological Association.,  
Septembe 2000, Cambridge

Moji K: School-based control of schistosomiasis  
haematobium in Zimbabwe. The 6th Japan-Korea  
Parasitologist's Seminar, November, Kagoshima

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし。

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

新しい日本住血吸虫ワクチンとしてのカルパインの効果と抗原解析  
分担研究者 太田伸生 名古屋市立大学教授

研究要旨 日本住血吸虫の新しいワクチン候補分子としてカルパインの効果をマウスの実験的住血吸虫感染で調べ、感染防御効果と発病抑止効果の両面で有意なワクチン効果を持つことが観察された。その効果は宿主免疫系に強い Th1 型応答が誘導されることによると考えられたが、抗体の関与も否定できなかった。レコンビナント分子に対する単クローン抗体を作製して虫体ないの分布を調べたところ、雌雄で異なる分布を示した。中国の流行地住民の血清疫学調査ではレコンビナントカルパインに対する抗体価と感染濃度には逆相関が認められ、ヒトにおいても住血吸虫ワクチンとして機能しうる可能性が示された。

A. 研究目的

住血吸虫症に対する医学的対応としては、感染の回避が第一であることは言うまでもないが、本症が慢性に経過する病気であることからすると、発病防止も重要な視点といえることができる。このようなコンセプトを満たす方法としてはワクチンが唯一のもので、感染症制圧の可否は有効なワクチンが存在するか否かによるといわれる。ワクチン開発には膨大な基礎データの蓄積に加えて、安全性、簡便性、輸送手段、マンパワーなど周辺事情の整備が必要であり、特に安全性については倫理的にも厳しい基準が適用される。住血吸虫ワクチンにおいてもそのような基準に従ってワクチン開発の試みが続いているが、今日までにヒトで用いる有効なワクチン開発には誰も成功していない。一方、ヒト寄生性の住血吸虫のうち、アジアに分布する日本住血吸虫、メコン住血吸虫は人獣共通寄生虫であり、流行コントロールにはヒト患者のみでなく、保虫宿主動物の対策が重要である。日本住血吸虫では水牛、ブタ、イヌなど家畜動物が主な保虫宿主であり、本症対策の重要な標的となっている。家畜動物に対してはヒトと比較してやや緩い基準での実用が可能であり、日本住血吸虫ワクチンは他の住血吸虫ワクチンに比べて、その実用化に期待が大きい。

日本住血吸虫ワクチンとしてこれまで数種のワクチン候補が提唱されたが、近年、

カルパインもワクチンとなりうる可能性が考えられるようになった。そこで、日本住血吸虫由来のカルパインがワクチンとして効果を持ちうるのか、持つ場合にはその生物学的機序は何か、などについて実験的に解析するとともに、ヒト患者集団での免疫学的検討を進める必要があるが、これまでにそれに答える研究成果の報告がない。この研究では、日本住血吸虫カルパインを分子クローニングし、それをを用いてワクチン効果を観察するとともに、効果の免疫学的機序解析を行ない、さらに単クローン抗体を作製して生体内分布を明らかにすることをおこなった。

B. 研究方法

日本住血吸虫カルパインの感染防御誘導効果の検討

日本住血吸虫カルパイン L サブユニットのドメイン 2 部分 (N 末側 219-376) をクローニングし、レコンビナント抗原を大腸菌で作製した。BALB/c マウスに 25  $\gamma$ g レコンビナントカルパインを CFA と共に皮下接種し、2 週後に ICFA と共に同量のレコンビナントカルパインを皮下接種し、さらに 2 週後にもう 1 度同量をブーストした。陰性対象にアジュバントのみの接種群、陽性対象に 48 x 10<sup>3</sup> rad X 線照射セルカリア 100 隻接種群マウスを用意した。各々の群のマウスに日本住血吸虫セルカリア 30 隻を感染させ、6 週後に門脈灌流法によって感染虫体を回

収し、その数を記録した。

#### 日本住血吸虫カルパインの病理発現抑止効果

マウスから虫体を回収した後、小腸と肝臓を摘出し、4%KOHで消化した後、虫卵を回収した。また肝臓は固定してH-E染色を行ない、成熟虫卵周囲に形成される肉芽腫の大きさを測定した。

#### ワクチン接種マウスにおける免疫応答

レコンビナントカルパイン接種マウスの抗原特異的免疫応答を、サイトカイン産生を指標に検討した。脾臓細胞を分離後、24穴プレートで抗原またはCon Aで刺激し、上清中のIL-4およびIFN- $\gamma$ をELISAにて定量した。

#### カルパインの日本住血吸虫成虫における分布

レコンビナントカルパインで免疫したマウスから単クローン抗体を作製し、免疫染色法によって成虫内における組織分布を調べた。

#### ヒトにおけるカルパインに対する抗体保有と感染抵抗性の相関

中国湖南省の日本住血吸虫症流行地住民の血清を用いて、レコンビナントカルパインに対する抗体産生をELISAで調べ、各ドナーの感染濃度をEPGで評価した場合の抗体レベルとの相関を検討した。住民はEPG=25 eggs/1g fecesをcut-offとして、軽度感染者と濃厚感染者とに分けた。

#### (倫理面への配慮)

感染実験は本学の動物実験指針にそって実施し、動物に対する苦痛の少ない方法によって実験を進めた。ヒト血清の採取は中国湖南省の規定に従って行ない、インフォームドコンセントには十分配慮した。

#### C. 研究結果

日本住血吸虫カルパインをBALB/Cに接種した場合に、アジュバントのみの接種群に比べて、回収虫体数の有意な低下が観察された。WHOによるワクチン効果認定の

「40%超の低下率」をクリアして、41.2%の防御効果を認めた。陽性対象のX線照射セルカリア接種群とほぼ同等の防御効果であった(図-1)。

防御効果だけではなく、カルパイン接種群では雌成虫1匹あたりの産卵数が有意に低下し(23,434 in adjuvant control vs. 13,481 in calpain-immunized)、産卵抑制効果もあることが明かとなった。腸管及び肝臓からの平均回収虫卵数はカルパイン免疫群(13,946 in liver 及び 15,743 in intestine)、X線照射セルカリア接種群(18,423 in liver 及び 24,516 in intestine)ともアジュバントコントロール群(34,150 in liver 及び 47,478 in intestine)と比べて減少していたが、雌成虫1匹あたりの産卵数ではX線照射セルカリア接種群では陰性対象群と全く変化がなく(23,434 in control vs. 22,509 in cercaria-immunized)、この場合には産卵抑制効果は認められなかった。

虫卵周囲に形成される肉芽腫が慢性症状発現の直接の原因であると考えられるが、カルパイン接種群では成熟虫卵周囲の平均肉芽腫サイズがアジュバント接種群に比べて有意に縮小していることがわかった(図-2)。

カルパイン接種による免疫応答修飾を調べたところ、アジュバントコントロール群に比べてカルパイン接種群では、カルパイン刺激に特異的にIFN- $\gamma$ 産生が増強し、いわゆるTh1型有意に偏位していることが観察された。

カルパインに特異的な単クローン抗体を作製したので、それを用いた虫体組織の免疫染色を行なったところ、雄成虫では外被下層を中心に染色されるのに対して、雌成虫では間充織細胞が主に染まり、雄と雌とでカルパインの組織分布が異なる可能性が示された。

ヒト感染者集団におけるカルパイン特異抗体の保有と感染濃度の比較を行なったところ、軽感染者集団と濃厚感染者集団との間で虫卵抗原に対する抗体レベルには差がなかったが、カルパインに対する抗体は軽度感染群で高い傾向が認められた(図-3)。しかし有為差は認められず、今後症例数を増やす必要がある。

#### D. 考察

日本住血吸虫由来のカルパインがワクチンとしての効果を担いうる事がマウスの感染実験で明かとなった。住血吸虫ワクチンには感染防御効果誘導ワクチンと発病阻止ワクチンの2通りの考え方があるが、カルパインはその両方に有意な効果を誘導しうるワクチンであることが示唆された。日本住血吸虫に対する防御免疫の機構は明らかではないが、サイトカイン産生パターンを指標とする限り、ヘルパーT細胞応答がTh1型に偏位することが効果誘導に重要である可能性が考えられた。Th1型応答がどのような機序で感染防御に働くのかは不明であるが、ワクチン効果判定のパラメータとして用いることが可能であれば、将来のヒトでの実用化の際に有用であるかも知れない。

一方、中国の流行地住民の血清疫学調査から、カルパインに対する抗体レベルと感染抵抗性が一定の相関を持つ可能性が考えられた。現時点では有意差ではないが、T細胞応答のみでなく、抗体産生もワクチン効果誘導に関与する可能性は否定できず、今後の検討に待つこととなる。この検討では虫卵抗原に対する抗体レベルは感染濃度と関係なく、何れの場合でも高い抗体産生が認められた。このことは虫卵抗原は免疫診断のための抗原として用いうるのに対して、カルパインは診断用抗原としては用いることができないと考えるべきであろう。

抗体がワクチン効果に関与すると考えた場合、カルパインが細胞表面に存在するのかわという疑問が生じる。通常はカルパインは細胞質内または核内に存在し、抗体産生誘導にはどの程度関与しうるのか疑問である。単クローン抗体を用いた免疫染色では虫体表面にカルパインが存在する所見は認められなかった。このことから、宿主が住血吸虫カルパインの感作を受けるためには分泌や組織破壊などの何らかの機序の介在が必要であるのか、今後の検討の課題である。

これらの結果を踏まえて、ブタなど大型家畜動物でのワクチン効果を検討する実験を計画中である。

#### E. 結論

日本住血吸虫のカルパインL鎖のサブユニット2領域は、大腸菌によるレコンビナント抗原を用いた場合に、宿主BALB/cマウスに有意な感染防御免疫と発病抑止免疫を誘導した。その機序は不明であるが、Th1応答が重要と考えられ、ヒト宿主においてもカルパインの日本住血吸虫ワクチンとして有用であることが示唆された。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Zhang R, Yoshida A, Kumagai T, Kawaguchi H, Maruyama H, Suzuki T, Itoh M, El-Malky M, Ohta N. : Vaccination with calpain induces Th1-biased protective immune response against *Schistosoma japonicum*. *Infect Immunity*, 69: 386-391, 2001.
- 2) He H, Zhang R, Kawaguchi H, Yoshida A, Itoh M, Chen Y, Ohta N. : Role of testosterone in host-parasite interaction during murine experimental infection of *Schistosoma japonicum*. *Jpn J Trop Med Hyg*, *in press*.
- 3) 太田伸生、吉田彩子：寄生虫と生体防御、*Biotherapy*, 14: 597-602, 2000.

##### 2. 学会発表

- 1) Asahi H, Osman A, Cook RM, Hernandez HJ, Ohta N, LoVerde PT, Stadecker MJ. : *Schistosoma mansoni* phosphoenolpyruvate carboxykinase, a novel egg antigen: Immunological properties of the recombinant protein and identification of a T-cell epitope. 35<sup>th</sup> Joint Conference on Parasitic Diseases, Jpn-US Cooperative Medical Science Program, July 2000, Nagoya.
- 2) Yoshida A, Maruyama H, Kumagai T, Amano T, Kobayashi F, Kuribayashi K, Ohta N. : Influence of *Schistosoma mansoni* infection on tumor rejection in mice. *Ibid*.
- 3) Zhang R, Yoshida A, Kumagai T, Kawaguchi H, Maruyama H, Suzuki T, Itoh M, El-Malky M, Ohta N. :

Immunopathological analysis of calpain, a calcium-activated neutral proteinase, of *Schistosoma japonicum* and its efficacy in schistosome vaccine through induction of strong type 1 responses in BALB/c mice.  
*Ibid.*

- 4) 熊谷 貴、吉田彩子、丸山治彦、太田伸生：モノクローナル抗体を用いた日本住血吸虫カルパイン発現の解析。第30回日本免疫学会総会、2000年11月、仙台市
- 5) 吉田彩子、丸山治彦、熊谷 貴、天野皓昭、小林富美恵、栗林景容、太田伸生：マンソン住血吸虫感染による腫瘍排除への影響。同上

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし。

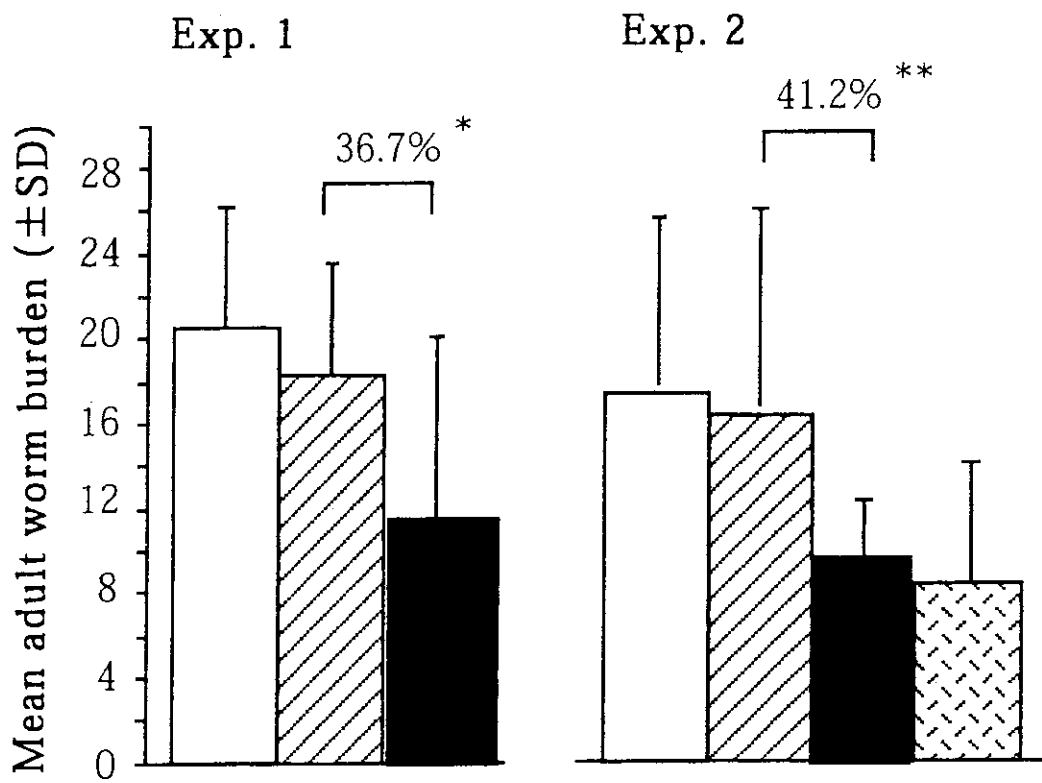


図-1 カルパイン接種による日本住血吸虫感染防御効果  
(斜線：アジュバントのみ、黒塗り：カルパイン免疫)



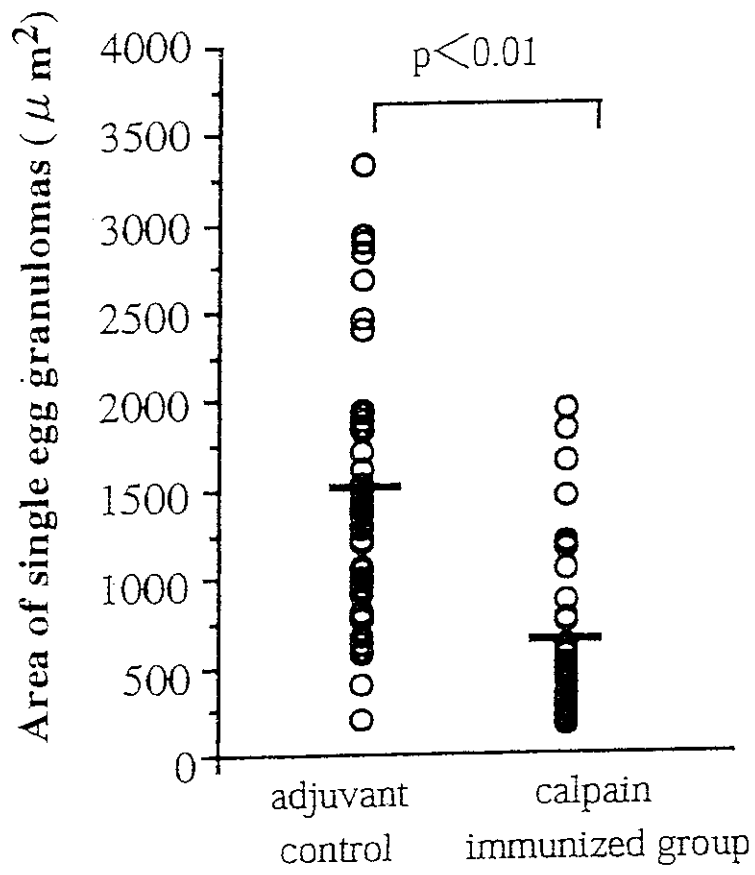


図-2 カルパイン接種による虫卵肉芽腫縮小効果

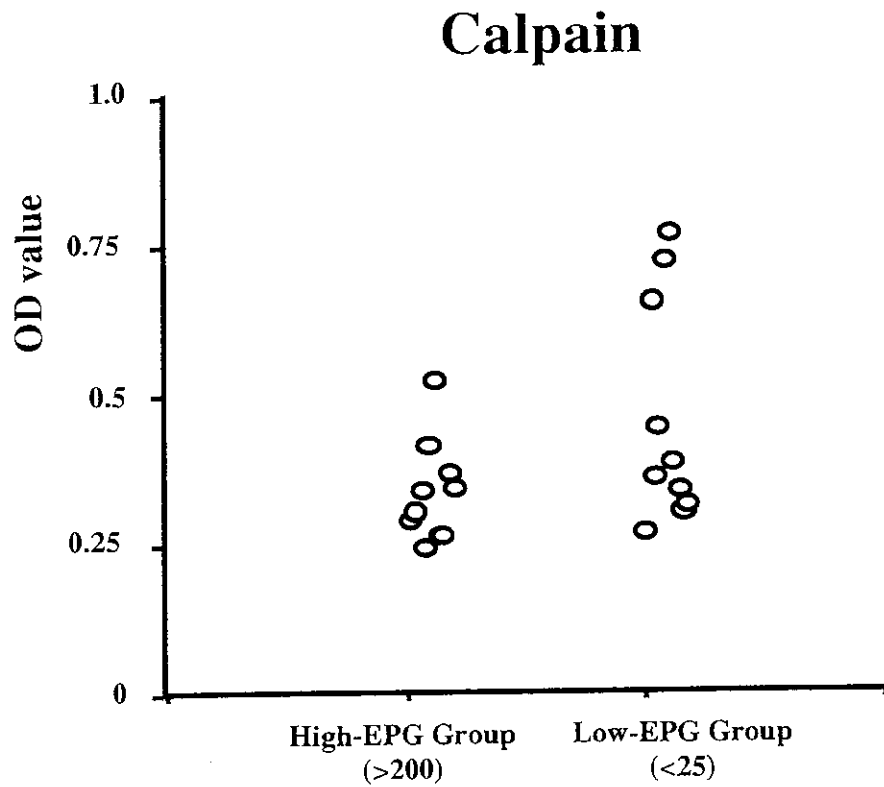
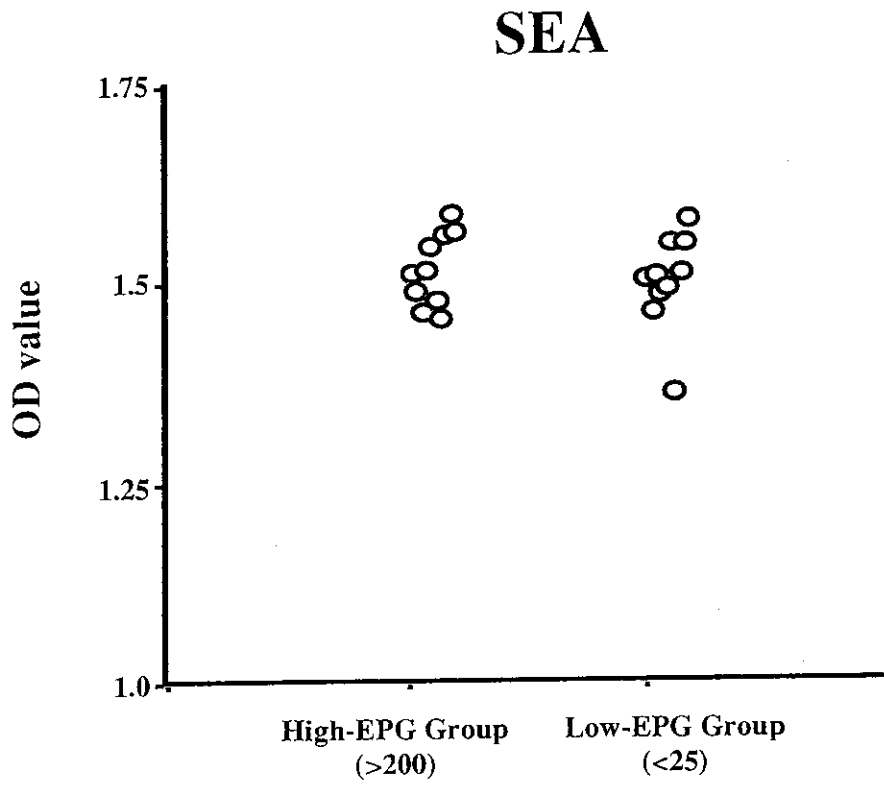


図-3 抗カルpain抗体レベルと日本住血吸虫感染濃度

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

日本住血吸虫等世界の寄生虫疾患の疫学及び予防に関する研究

一住民の住血吸虫症に対する認識を高める方法の開発：

住民に受け入れられる病害の新しい測定法の開発一

分担研究者 青木克己 長崎大学熱帯医学研究所 教授

ビルハルツ住血吸虫症の重篤さを流行地住民に認識させる一手段として、ビルハルツ住血吸虫感染と膀胱癌との関係をケニアの流行地でコミュニティーレベルで調査した。膀胱癌の診断は尿細胞診を用いた。流行地の20才以上の住民1516名について尿細胞診を行った結果、パパニコロー分類でグレードV2名、IV2名、III6名が診断された。これら10名の年齢は20才から70才で女性が8名であった。グレードV、IVの4名の内2名が扁平上皮癌、2名は移行上皮癌であった。上記の調査結果はビルハルツ住血吸虫症の流行地では高頻度で膀胱癌がみられることを示している。膀胱癌がビルハルツ住血吸虫感染で起こることを住民に教育すれば、住民の住血吸虫症に対する認識が高まり、住民の住血吸虫症対策への協力が得られ、住血吸虫症対策が成功することが期待される。

A. 研究目的

住血吸虫症は世界で74カ国で猛威を振っている。感染者の数は2億人、感染の危険に曝されている人は5～6億人に達すると推定される。住血吸虫感染者は労働意欲の低下、労働力の低下がみられること、子供では就学率や学力の低下がみられることから、住血吸虫症は開発途上国の社会的経済的發展を阻害している重要な因子の一つに数えられている。また住血吸虫症は開発途上国で行われている土地水資源開発（ダム、灌漑用水路の建設）に伴ってその流行地を広げている。この様な理由で近年、開発途上国に於いては住血吸虫症対策の必要性が叫ばれる様になった。

日本や中国の成功例で明らかのように、我々は住血吸虫症を撲滅できる武器（対策手段）を有している。しかしこれらの武器が期待通り、その効果を発揮するには種々

の条件が必要である。これまで開発途上国に於いても、各地で住血吸虫症対策が実施されてきた。しかしエジプト、ブラジル等の一部の地域を除いては、対策の成果はあがっていない。上に述べた条件が整っていないからである。例えば、対策の費用の不足、インフラストラクチャーの欠如、住民の疾病に対する認識の欠如とそれに起因する対策計画への非協力などである。

現在世界は住血吸虫症対策の目標をcontrol of disease（疾病管理）に置いている。かつて日本や中国で目標とし、成功したeradication（撲滅）を諦め、より現実的な目標としている。しかしこの低い目標ですら、上記理由で達成されてない。

そこで開発途上国で既存の武器を用いて住血吸虫症対策を遂行し、成功に導くには、対策の成果に悪影響を及ぼしている種々の附帯条件をとり除かねばならない。附帯条

件の中で最も重要と考えられ、かつなにかと取り除くことが可能と考えられるのが住民参加である。住血吸虫症対策計画への高い住民参加率を得ることが出来れば、対策の成果は決ずあがると期待してよい。

本研究は既存の住血吸虫症対策法の効果をあげるにはどうしたらよいかを追及する研究の一環で、特に住民参加を高める手段として、住民の住血吸虫症に対する認識を高める方法の開発を目指す。

我々はケニアにおけるビルハルツ住血吸虫症対策研究から、我々が一般の調査に用いている病害測定指標（虫卵、血尿、尿路超音波画像）を用いる限り、住民は住血吸虫症を重篤な疾患、村から撲滅すべき疾患と認識しないことに気づいた。虫卵や超音波画像は住民にとってはとても理解しにくい病害であり、血尿は彼らの伝統的観念（血尿が出て消失する時期が大人になる時期との伝承）に取り込まれているので、病害とみなされない。そこで我々は住民に住血吸虫症を重篤な疾患と認識させるには、住民が不快、苦痛、恐ろしく思っている症状の中で、住血吸虫感染によって惹起されていると考えられる症状を特定し、それを住民に医学的根拠をもとに説明し、住民の住血吸虫症への認識を高めるべきと考えている。

幸い我々が過去に行った調査で、流行地住民はビルハルツ住血吸虫に感染すると死ぬ、産道が破壊されるので怖い病気と認識していること、住血吸虫に感染するのはコショウの食べ過ぎと認識していることを知った。上記住民の認識はビルハルツ住血吸虫感染により、住民の多くが膀胱癌で死亡していること、生殖器にもかなりの病害が存在していること、排尿困難がひどいこと

（コショウの食べ過ぎによる苦しさは排尿困難の苦しさに近いと考えた）を暗示して

いるのかも知れない。

そこで我々は、これまで流行地ではほとんど調査が行われてない膀胱癌、生殖器病変、排尿困難の頻度と程度をケニア国沿岸州クワレ地区で3年間、コミュニティーレベルで調査することを計画した。

本年度は膀胱癌の疫学調査成績について述べる。

## B. 研究方法

調査地と被検者：本研究はビルハルツ住血吸虫症の流行地ケニア国沿岸州クワレ地区と住血吸虫症の非流行地中央州のキアンプ地区で行われた。クワレ地区は1981年以来我々が住血吸虫症の疫学と対策研究を続けている所である。クワレ地区の2村ムワチンガ村（1982年の尿検査で村全体の感染率は68.2%であった）とムサンガタム村（1986年の調査で村の感染率57.9%）で20才以上の住民の尿細胞診を行った。キアンプ地区では虫卵検査を行わず、尿細胞診のみ行った。

尿検査：尿は午前11時より午後1時の間に採尿された。尿細胞診に10ml使用した残りの尿を、まず尿試験紙で血尿・蛋白尿を調べた後、ヌクレポアフィルターを用いて尿10mlを濾過し、虫卵数を数えた。

尿細胞診：ケニアの流行地でもスメアーが作成できる様、通常の尿細胞診標本作成を下記のごとく幾分改めた。1) 村で尿10mlに99.9%エチルアルコール1mlを加える。2) 実験室で遠心後、沈査に2%ポリエチレングリコール3mlを加え15分放置、3) 遠心後スメアー作成、4) 長崎の研究室で染色、観察した。尿細胞診はパバニコローの分類に準じて行った。

倫理面への配慮：本研究はケニア中央医学研究所のScientific CommitteeとEthical Committeeの許可を得た研究である。ま