

厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

エキノкокクス症の監視・防御に関する研究

平成 14 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 神谷正男

平成 15 (2003) 年 3 月

## 目 次

### I. 総括研究報告書

エキノコックス症の監視・防御に関する研究----- 1

神谷正男

### II. 分担研究報告書

キツネに対する駆虫薬散布実験、動物疫学、終宿主診断法の改善、犬猫の調査、終宿主に  
対するワクチン開発の基礎研究----- 22

神谷正男

ハエ類等が多包条虫感染に関与する可能性の検討とキタキツネ巢穴周辺土壌および  
ゴルフ場バンカーからの多包条虫虫卵検出の試み----- 29

金澤 保

北海道におけるエキノコックスの動物間流行、宿主動物の生態、対策法の検討----- 37

田村正秀

東北地方におけるエキノコックス症流行実態調査並びに監視体制の構築----- 39

神谷晴夫

養殖豚への感染を指標とする関東甲信越地方へのエキノコックス症侵入の監視----- 43

松田 肇

関東甲信越地方の野生動物および全国の飼い犬におけるエキノコックスの感染調査----- 48

内田明彦（研究協力者）

エキノコックス症の疫学----- 50

土井陸雄

エキノコックス流行モデル．季節的要因の影響と流行----- 71

石川洋文（研究協力者）

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-----	73
野崎智義	
多包条虫、単包条虫および胞状条虫の代替終宿主の開発に関する研究 -----	75
伊藤 守	
地理情報システムによる北海道エキノコックス症の空間的拡散の解析 -----	77
二瓶直子	
下大静脈閉塞を伴った多包性肝エキノコックス症2切除例 -----	81
佐藤直樹	
エキノコックス症に関する住民意識の研究—地域をフィールドとした衛生教育の試み— -----	90-a
伝法公麿	
<b>III. 研究成果の刊行に関する一覧表-----</b>	<b>91</b>
<b>IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----</b>	<b>93</b>
Chapter 3 Echinococcosis in animals: clinical aspects, diagnosis and treatment. Eckert, J., Deplazes, P., Craig, P. S., Gemmell, M. A., Gottstein, B., Heath, D., Jenkins, D. J., Kamiya, M. and Lightowlers, M. -----	94
エキノコックス ～宿主の移動とともに広がる病原体 神谷正男, 巖城隆, 横畑泰志 -----	123
Control and management of parasitic zoonoses maintained in wildlife: A trial of Hokkaido University against echinococcosis Nonaka, N., Oku, Y. and Kamiya, M. -----	126
3. 寄生虫性人獣共通感染症 1) エキノコックス症 a) 感染源対策を中心に 神谷正男 -----	132

多包条虫症の疫学的検討のための北海道小清水町における肉食動物3種の糞分析 永井加奈子、横畑泰志、巖城隆、神谷正男-----	138
北海道における多包条虫の現状、終宿主診断と感染源対策 奥祐三郎-----	143
Potential remedy against <i>Echinococcus multilocularis</i> in wild red foxes using baits with anthelmintic distributed around box breeding dens in Hokkaido, Japan Tsukada, H., Hamazaki, K., Ganzorig, S., Iwaki, T., Konno, K., Lagapa, J. T., Matsuo, K., Ono, A., Shimizu, M., Sakai, H., Morishima, Y., Nonaka, N., Oku, Y. and Kamiya, M.-----	156
動物・ヒト共通感染症の実際 3) エキノコックス症 神谷正男-----	167
我が国におけるエキノコックス症の現状と対策ー特に動物の側から考察してー 神谷晴夫-----	171
キツネ用駆虫薬入りベイトを用いたエキノコックス症感染源対策法の検討 高橋健一、浦口宏二、Thomas ROMIG、畠山英樹、田村正秀-----	177
Simulations on prevalence of <i>Echinococcus multilocularis</i> in Hokkaido on the basis of vole population dynamics Ohga, Y., Ishikawa, H., Doi, R. and Ishii, H. -----	180
新しい局面を迎えたエキノコックス症予防 伝法公磨-----	185
寄生虫は如何にしてその分布を広げるのか？ーエキノコックスの伝播・流行を考慮してー 神谷晴夫-----	194

多包性エキノкокクス症の職業、病態、診断と治療	
佐藤直樹、中川隆公、神山俊哉、松下道明、藤堂省	199
エキノкокクス症	
神谷正男	203
エキノкокクス症、多包性エキノкокクス (alveolar echinococcosis) を中心に	
佐藤直樹、小笠原和弘、神山俊哉、松下道明、藤堂省	206
感染症の拡大を予測する	
二瓶直子	209
最近注目される人獣共通寄生虫症(上) エキノкокクス症	
神谷晴夫	214
エキノкокクス	
土井陸雄	218
北海道および海外からの畜犬を介するエキノкокクス本州侵入の可能性	
土井陸雄、松田肇、内田明彦、神田栄次、神谷晴夫、紺野圭太、玉城英彦、野中成晃、奥祐三郎、神谷正男	220
単包虫症-わが国における発生動向と対策	
土井陸雄、伊藤亮、山崎浩、森嶋康之	235
A model for the transmission of <i>Echinococcus multilocularis</i> in Hokkaido, Japan.	
Ishikawa H, Ohga Y and Doi R	245

## エキノコックス症の監視・防御に関する研究

主任研究者 神谷正男 北海道大学大学院獣医学研究科教授

研究要旨：エキノコックス症感染源対策を中心にした総合防除法の確立を目標に以下の研究を実施した。

本年度も昨年度に引き続き駆虫薬散布による感染源対策とキツネのエキノコックス感染率の調査を行った。

小清水町では昨年度と同様、水産廃棄物を利用したキツネ用の駆虫薬入り餌（ベイト）の作成を最終目標に、魚のすり身とフィッシュミールを材料とした蒲鉾様のベイトを作成し、駆虫薬散布に使用した。昨年度は自動車から道路沿いにベイトを等間隔に散布する方法を試みた（約 40 個/km<sup>2</sup>）が、本年度はキツネ行動範囲の検討からその生息場所として防風林・山林に注目して、林と道路の交点約 200 カ所で 4～11 月に毎月ベイトを散布し（約 40 個/km<sup>2</sup>）、4、7、10 月にキツネ糞便を採取した。散布区域ではキツネのエキノコックス流行状況が顕著に抑えられていた。同時に自動撮影カメラを用いてベイト消費率を調べた結果、散布ベイトの約 3 割がキツネに摂取されると推測された。

小樽市では、小清水町と同じベイトに駆虫薬の他にテトラサイクリン（TC）を混入し、歯におけるテトラサイクリンの沈着の有無からキツネによるベイト消費の評価を試みた。ベイトは 5～7 月、調査地域の道路沿いに 20 個/km<sup>2</sup>の割合で散布した。駆虫効果の判定は 5～10 月に有害鳥獣駆除により捕獲されたキツネで検査した。昨年度分と合わせるとベイト散布後に捕獲されたキツネ 87 検体中 17 検体（19.5%）の犬歯から TC が検出された。TC 陽性 17 検体のうち、犬歯のラベル像からその年にベイトを摂取したことが推測された 15 検体中 14 検体に多包条虫が感染していないことが確かめられた。さらに小樽市ではキツネ個体群の遺伝的構造に関する予備的な研究を行い、局所的な移動分散や家族集団の存在、それらに対する駆除効果の解析の手段となりうることを示した。

根室市においてもエキノコックスの動物間での流行状況を調査するとともに、宿主動物であるキツネと野ネズミの生態、そして、ドイツから輸入した駆虫薬入りベイト剤を用いて駆虫薬散布による対策法の検討を行った。

札幌市では市街地のみでのエキノコックス生活環の成立の可能性について検討するため、市街地に分布する緑地帯におけるげっ歯類の分布、種類構成、環境要因について調査し、21 地点中 11 地点から北海道でエキノコックスの主要な中間宿主であるエゾヤチネズミが捕獲された。なお、感染個体は捕獲されていない。

多包条虫の感染源を明らかにする一環として、小清水町のキタキツネ巣穴周辺の土壌および網走市のゴルフ場のバンカーから虫卵の検出を試みたが、虫卵は全く検出されなかった。

ペットの調査では、平成 14 年度（12 月まで）に 216 頭の検査を行い、糞便内抗原陽性犬 7 頭、虫卵陽性犬 1 頭が認められた。この虫卵陽性犬は札幌市の室内飼育犬であり、感染機会の少ない室内飼育犬の感染例は北海道でのペットへの高い感染圧を示しているものと考えられた。これらの状況を受けて、ペット用迅速診断キットの作成に着手し、検査用糞便採取容器の試作・改良を行った。

また、駆虫薬散布に代わる感染源対策として、エキノкокスの成虫ワクチンの開発を目的に、スナネズミを用いてエキノкокスに対する腸管内免疫応答について解析を試みた。多包条虫原頭節を経口投与したスナネズミでは血清および腸管洗浄液中の多包条虫特異的抗体が上昇したが、多包条虫抗原に対する脾臓・腸間膜リンパ節・パイエル板のリンパ球の特異的増殖反応は顕著ではなく、マイトジェン刺激によるリンパ球の増殖は抑制されていることが示された。

さらに、中国産の齧菌類 *Rhombomys opimus*、*Meriones erythrourus*、*Cricetulus migratorius* およびゴールデンハムスターをPA（酢酸プレドニゾロン）処置し、多包条虫、単包条虫および胞状条虫の代替終宿主としての有用性を調べた。多包条虫感染実験では、ゴールデンハムスターでは10日まで *R. opimus* では4日まで、*M. erythrourus* では3日まで回収されたが、*C. migratorius* では全く回収されなかった。単包条虫感染実験では、ゴールデンハムスターでは4日まで、*R. opimus* でも4日まで、*M. erythrourus* では8日まで、*C. migratorius* では3日まで回収された。胞状条虫感染実験では、ゴールデンハムスターでは5日まで、*M. erythrourus* では9日まで、*C. migratorius* では2日まで回収された。全体的には *R. opimus*、*M. erythrourus* の有用性が示唆された。

一方、本州においてはエキノкокス侵入の可能性について調査した。まず、東北地方および関東地方では野生動物の疫学調査を実施した。

東北地方では、青森県を中心にエキノкокス症の流行実態調査を継続して実施し、その監視体制の整備を行なった。継続的監視のために疫学調査を行なっているが、ホンドキツネ、ホンドタヌキなど野生終宿主動物、ハタネズミなど野生中間宿主動物、また、イヌ、ネコ、ブタ等の家畜からの感染は検出されなかった。

関東地方では、終宿主のキツネやタヌキ、中間宿主の野鼠について主として神奈川、山梨、静岡、長野、岐阜各県と東京都で調査した。その結果、野生動物からは多包条虫の成虫、包虫共に寄生は認められなかった。さらに今年度は全国の開業獣医師に飼い犬の糞便（861検体）を送付してもらい糞便検査による調査をおこなった。全国の飼い犬についても種々の寄生虫卵、嚢子、オーシストは検出されたが多包条虫の虫卵は検出されなかったことから、関東甲信越地方では、現時点ではエキノкокス症の侵入を確認することは出来なかった。また、関東甲信越地方1都10県（東京・新潟・栃木・群馬・茨城・埼玉・千葉・神奈川・山梨・長野・静岡）の食肉検査場で検査される豚についてエキノкокス感染の有無を調べることによって、同地域内へのエキノкокス症侵入の監視をおこなった。この一年間で約560万頭のブタ肝臓を検査した結果、エキノкокス感染ブタは発見されなかった。本州へのエキノкокス症感染源侵入を早期に摘発するためには、今後も監視を続けていく必要がある。

さらに今までのデータをもとにエキノкокス症の流行に対して疫学的解析を試みた。

多包性エキノкокス症の流行地（北海道）以外での実態を明らかにする目的で、1) 北海道から道外へのペット輸送実態調査、2) 単包性エキノкокス症患者の発生動向とその疫学調査、を行った。また、3) 北海道におけるエキノкокス症流行要因を把握するため虫卵散布について推計学的解析を行った。1) 北海道に乗り入れる航空3社とフェリー3社により、毎年、北海道から道外各地へ約1万頭のペット犬が輸送されていることが分かった。その大半は道外から飼い主とともに来道して道外へ帰る犬だが、狂犬病予防法に基づいて把握された移動数よりはるかに多数の畜犬が北海道から道外へ移動しており、早急にその実態把握と対策実施の必要がある。2) 単包性エキノкокス症は、明治、大正期に西南～西日本を中心に患者が多発したが、近年の症例はすべて海外の流行地で感染した帰国日本人あるいは来日外国人の国内発症例だった。そして、屠場法制定（明治39年）以降の屠場衛生管理の整備が

日本国内での流行抑制にきわめて有効だったと考えられる。3) 北海道におけるキツネ、野ネズミ個体群動態の数理学的解析により、地域によりエキノコックス虫卵の散布に著しい季節差があり、とくに根釧地域では夏季に人への感染リスクが高いと考えられた。

また、北海道におけるエキノコックス症の患者の発生動向を、地理情報システム (GIS) を用いて解析した。初期の段階では農業・酪農地域に患者の発生が見られていたが、患者の発生密度は低下したものの、広域にまた都市域に拡大したこと、感染源の拡大後、約 10 年後に患者の地理的拡散が生じたことを GIS 解析の立場からも指摘した。エキノコックス症の発生機序を従来水系感染として上水道の整備を行ってきたが、これ以外の感染ルートの存在を検証する必要があることが示唆されている。今回は感染ルートの一つとしてキツネの糞に集まるハエの伝播の可能性を検討するため野外調査を開始した。また畜産業の発展と本症の拡大との関係も言及されていることから、道内の牛舎やキタキツネの生息状況を観察した。今後、感染症新法にともなう患者情報の収集・開示と患者への還元を GIS で解析する必要がある。

ヒトについては、弘前大学への検査依頼数は 28 件と多く、広く東北地方の医療機関からの依頼があり、ヒトの免疫診断による検査体制ならびにそれに伴うコンサルテーションへの対応体制は概ね整備されたといえる。なお、ヒトの感染は特定されなかった。これと並行して、ヒトエキノコックス症の新しい診断法の開発に向けた努力も行った。抗原タンパク質の機能を理解することを目的として、本年度は抗酸化酵素の一つであるペルオキシレドキシシン (Prx) について検討した。我々が今回検討した多包虫 Prx 遺伝子のコードするタンパク質の推定分子量は約 21kDa で、48 および 169 アミノ酸残基には Prx 群で保存されているシステインが認められた。この 2-Cys 型 Prx のアミノ酸配列は現在まで報告されている様々な寄生動物種およびヒトを含む様々な哺乳動物種と高い同一性を示した。更に、大腸菌組換えタンパク質を用いた *in vitro* の系で thiol mixed-function oxidation (MFO) assay を行ったところ、10 $\mu$ g/ml 以上で酵素活性が認められた。中間宿主体内での多包虫は好氣的環境に寄生し、酸化的ストレスに曝露されている。Prx が多包虫の抗酸化機構に重要な役割を果たしていると考えている。

ヒトの治療に関しては、今日まで切除不能とされてきた下大静脈に浸潤し閉塞した多包虫性肝エキノコックス症 2 例に対し、肝切除を施行しえた。症例 1 : 71 才、女性。近医で下大静脈浸潤の肝エキノコックス症だが手術適応なしとされた。Second opinion を求め北大病院受診、入院し、肝右 3 区域切除および肝部下大静脈切除、横隔膜および右副腎の部分切除を行った。症例 2 : 37 才、女性。下大静脈閉塞と心臓右房浸潤を伴う肝エキノコックス症の診断にて当科紹介入院。右房の外側および肝部下大静脈左縁への浸潤が強固であったため、一部病巣を残して肝左葉切除を施行し得た。これらのような高度進行例にも、積極的な肝切除術を行い、術後にアルベンダゾールを投与することで長期生存が期待できる。

また、本症のヒト外挿モデルの開発を考慮し、脾臓摘出处置あるいは副腎皮質ホルモン投与のモルモットを用いて検討したが、6 ヶ月後には、虫体の発育は認められず、極めて強い抵抗性を有する事が明らかになった。さらに、エキノコックスの 2 方向性発育を培養系で検討し、スフェロイド・プレートで培養したエキノコックス細胞は包虫に発育し、加えて、イヌから回収した幼若成虫をマウス、スナネズミの腹腔に投与したところ包虫化への発育が認められた。これらの事から、エキノコックス細胞から包虫への発育実験系の確立と、成虫形成へと進んだ幼若成虫がなお包虫化への発育能力を有している事が示された。さらに石灰小体とエキノコックスの発育との係わりに関して検討を加えた。その結果、エキノコックス培養細胞の中で石灰顆粒産生細胞が特定された。また、宿主血中カルシウム濃度と、虫体発育や培養原頭節の石灰小体の消長と、培養液中のカルシウム濃度との間に相関があり、エ



キノコックスは宿主のカルシウム代謝になんらかの影響を及ぼしている事が推測された。さらに、 Manson 住血吸虫やエキノコックスなど扁形動物の薬剤耐性発現に関する生化学的機序を検討するために、扁形動物の排泄系（原始腎）の排泄動態を解析・評価できる実験系を確立した。その他、ヒバ油の成分であるヒノキチオールは殺包虫作用を検討し、*in vitro* で強い組織浸潤性と殺虫作用が明らかになった。このような、予防治療法への開発に向けた取り組みにより、本症に対する総合的な対応が可能になるものと考えられる。

さらに、北海道全域を視野に入れつつ、札幌市近郊にある石狩市をフィールドとして、地域住民を対象としてエキノコックス症の一次予防、二次予防に関する衛生教育を目指した。最近の知見では、エキノコックス症を拡大させる媒介動物として家庭で飼育している犬や猫の取り扱いが問題となっており、このことについても衛生教育する必要がある。しかし、石狩市民も市の行政担当者もエキノコックス症についての関心は薄れており、官民一体となった効果的な衛生教育の充実が必要である。

#### 分担研究者

神谷正男 北海道大学大学院獣医学研究科 教授  
金澤 保 産業医科大学医学部 教授  
田村正秀 北海道立衛生研究所 所長  
野崎智義 国立感染症研究所 室長  
伊藤 守 (財) 実験動物中央研究所 室長  
土井陸雄 横浜市立大学医学部 教授  
佐藤直樹 北海道大学医学部 助教授  
神谷晴夫 弘前大学医学部 教授  
松田 肇 獨協医科大学医学研究科 教授  
二瓶直子 国立感染症研究所 客員研究員  
伝法公磨 藤女子大学人間生活学部 教授

#### A. 研究目的

北海道ではエキノコックスの主たる終宿主であり、人への感染源であるキツネの感染率が過去 10 年間で急激に増加しており、さらに飼い犬が感染していることもわかってきた。また、1999 年に青森県で感染豚が確認されて本州への侵入・定着が危惧され、エキノコックスを巡る状況は深刻化している。このような現状では、感染源対策の確立が急務であり、あわせて、感染源となりうるイヌ、ネコの感染状況調査が必要である。また、人への感染経路については不明な点が多く、寄生虫卵の拡散や人を含む中間宿主への伝播様式を解明する必要がある。さらに、エキノコック

ス症は著効を示す治療薬がなく、治療は外科的切除に頼っているが、人の発症は感染後十数年を経たからで、現在の深刻化した状況から将来的な患者数の増加が懸念されている。従って、人の診断法の改善、有効な治療薬の開発は必要である。本州においては、これまでも原発例を含む多包性エキノコックス症の臨床例が報告されていたが、エキノコックスの本州における流行を明らかにし、その流行域拡大の監視体制を整備する必要性は言うまでもない。

流行地の汚染環境修復を目的とした駆虫薬散布による感染源対策は、水産廃棄物を利用した駆虫薬入り餌の生産につながり、地域産業の振興とゼロエミッション化が期待される。また、汚染環境の修復はエキノコックス虫卵による農産物汚染の危惧を取り除く。人への感染経路の解明は効果的な予防策立案へつながり、診断・治療の改善とあわせて、地域医療の改善が図られる。さらに、本州におけるエキノコックス症流行の監視体制の整備は、地域住民の予防対策や検診、教育活動などの早期対策を可能とする。以上のように、この研究成果は広い意味で経済損失に対応すると考えられる。すなわち、社会全体や個人の医療費負担、QOL の損失といった直接的な抑制の他に、地場農産物流通の活発化、安心してできる農業や観光業の発展にも貢献する。

本研究ではエキノコックス症の感染源対策

の確立を主眼として、さらに、人への感染経路の解明、人の診断・治療の改善、および本州におけるエキノコックス症調査と監視体制の構築を含む総合的エキノコックス症対策の確立を行うことを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 終宿主動物の感染状況と感染源対策の試行

本年度は、終宿主動物の感染状況について北海道保健福祉部が実施している解剖検査の結果を基に近年の感染状況についてとりまとめるとともに、小清水町、小樽市および根室市において、キツネを対象とした駆虫薬入り餌散布による感染源対策を行った。

#### a. 小清水町

本年度は前年度のキツネ行動範囲の検討からその生息場所として防風林・山林に注目して、林と道路の交点約 200 カ所で 4～11 月に毎月駆虫薬入り餌（ベイト）を散布し（約 40 個/km<sup>2</sup>）、4, 7, 10 月にキツネ糞便を採取した。対照として散布区域外縁の市町村に非散布区域を設定した。ベイトは昨年度と同様、水産廃棄物を利用したキツネ用のベイトの作成を最終目標に、魚のすり身とフィッシュミールを材料とした蒲鉾様のベイトを用いた。

採取したキツネ糞便には糞便内抗原検出法および蔗糖浮遊法による虫卵検査を実施してキツネの感染率の変化を解析した。また、キツネによるベイト摂取率を評価するためにベイト散布地点に自動撮影装置を設置して、キツネによるベイト摂取の確認を行った。

#### b. 小樽市

小樽市でも上記蒲鉾様ベイトを用いてベイト散布による感染源対策を平成 13 年度から実施し、本年度、その効果を解析した。小樽市のベイトには駆虫薬（プラジカンテル）の他にテトラサイクリン（TC）を混入し、菌におけるテトラサイクリンの沈着の有無からキツネによるベイト消費の評価を試みた。平成 13 年度と 14 年度の 5～7 月に 2 回調査地域

の道路沿いに自動車から 20 個/km<sup>2</sup>の割合で散布した。駆虫効果の判定は各年 5～10 月に有害鳥獣駆除により捕獲されたキツネを用い、小腸内容の成虫検査（平成 13 年度）および直腸便の糞便内抗原検出および虫卵検出法（平成 13 年度および 14 年度）で検査した。さらに、キツネの局所的な移動分散や家族集団の存在、それらに対する駆除効果の解析の手段とするため、キツネ個体群の遺伝的構造に関する予備的な研究を行った。

#### c. 根室市

ドイツから輸入した駆虫薬入りベイト剤を散布し、その効果について検討を行った。調査地はエキノコックス症の流行地である道東の根室半島で、平成 11 年 11 月以降これまでに 12 回、駆虫薬入りベイト剤を散布した。そして、その効果判定のために、中間宿主及び終宿主の感染状況について検討を行った。

### 2. 札幌市でのエキノコックス感染リスクの評価

札幌市では市街地のみでのエキノコックス生活環の成立の可能性について検討するため、市街地に分布する緑地帯におけるげっ歯類の分布、種類構成、環境要因について調査した。

### 3. キタキツネ巣穴周辺土壌およびゴルフ場バンカーからの多包条虫虫卵検出の試み

#### a. 土壌（砂も含む）からの虫卵検出法

土壌の採取は大型スプーンで一カ所あたり 30～50g の試料を採取した。採取した試料は本症感染防止のため、予め-80℃で 1 ヶ月間ディープフリーザーに保存し、殺卵しておいた。また、試料については単位あたりの虫卵数（EPG）を算出するために、処理をする前に重量を測定した。検査方法は基本的に飽和硫酸亜鉛水溶液（比重 1.49）による浮遊法で行い、より検出しやすいようにメッシュ法と併用した。鏡検に際してはフィルター法で用いた 14 ミクロンのメンブレンフィルターをスライドガラスの上に載せ、エオジン希釈液で染色した。

b. 検出材料の採取場所

キタキツネ巣穴周辺の土壌の採取地域は平成14年7月、北海道小清水町で4カ所、ゴルフ場のバンカーの砂は網走市で3カ所である。

4. 飼い犬および猫の多包条虫感染状況調査

北海道の飼い犬および猫の多包条虫の感染状況を検討するため、糞便の虫卵検査および糞便内抗原検出法による調査を継続して行った。なお、対象は犬および猫で、これらの飼育状況のアンケートを同時に実施し、ペットにおける多包条虫流行状況とともに危険因子の解析を行った。

5. ペット用迅速診断キットの作成

臨床獣医師が現場で検査できるよう、迅速診断キットの作成に着手した。また、昨年度試作した検体の輸送用容器の評価・改良を行った。

6. 終宿主のワクチン開発に向けて

代替終宿主モデルのハムスターを用いて、終宿主に対するワクチン開発の基礎研究として、エキノコックス原頭節経口投与による感染後のIgAとリンパ球幼若化反応を調べた。IgAは血清および小腸内洗浄液、リンパ球はパイエル板、腸間膜リンパ節、脾臓細胞を採取し、実験に用いた。

7. 多包条虫、単包条虫および胞状条虫の代替終宿主の開発

実験に用いたすべての動物はPA（酢酸ブレードニゾロン）処置した。単包条虫感染実験には中国で捕獲された *Rhombomys opimus* 3頭、*Meriones erythrourus* 6頭、*Cricetulus migratorius* 5頭、さらにコントロールとしてこれまで代替終宿主として頻用されているゴールデンハムスター7頭を用いた。それぞれ原頭節20,000個を経口投与された。多包条虫感染実験には中国で捕獲された *R. opimus* 2頭、*M. erythrourus* 5頭、*C. migratorius* 5頭、さらにゴールデンハムス

ター7頭を用いた。それぞれ原頭節2,500もしくは5,000個を経口投与された。胞状条虫感染実験には中国で捕獲された、*M. erythrourus* 5頭、*C. migratorius* 4頭、さらにゴールデンハムスター6頭を用いた。5もしくは10虫体の囊虫頭節を経口投与された。すべての動物は経時的に剖検し、小腸に寄生する虫体数を比較した。

8. 本州へのエキノコックス侵入の可能性についての調査

a. 青森県および近県

青森県および近県において、野生動物とブタ等の家畜の調査を実施した。

b. 関東甲信越等

キツネ、タヌキ、ハクビシン、アライグマの消化管を、アカネズミ、ハタネズミ、ヒミズ、タイワンリスなどの小動物は主に肝臓、肺臓を調べた。飼い犬については宮城県、東京都、静岡県、愛知県、大阪府、兵庫県、香川県、広島県、福岡県の開業獣医師から送付してもらったのをMGL法と飽和食塩水浮遊法で検査した。

また本年度も引き続いて、関東甲信越地域の1都10県（新潟・栃木・群馬・茨城・埼玉・千葉・東京・神奈川・山梨・長野・静岡）において、各地の食肉衛生検査所において検査されるブタのエキノコックス症感染を指標として、調査地区内へのエキノコックス症感染源侵入を監視した。

9. エキノコックス流行に関する疫学的考察

1) 北海道から道外へのペット輸送実態：

北海道へ乗り入れる航空3社（日本航空、全日空、日本エアシステム）およびフェリー3社（三井商船フェリー、新日本海フェリー、東日本海フェリー）へのアンケートにより、北海道から道外へ輸送しているペット数を調査し、畜犬の道外移動によるエキノコックス本州侵入の可能性を検討した。

2) 単包性エキノコックス症患者の発生動向とその疫学：

単包性エキノコックス症は、しばしば多包性エキノコックス症と混同され、最近、本州各地で本症患者が発生している。しかし、本症は多包性エキノコックス症と寄生虫種も感染源も異なり、独自の対応が必要である。文献的に本症患者発生の動向を調査し、中間宿主（主に牛）の動態および屠畜場の衛生管理に関する解析を行った。

### 3) エキノコックス虫卵散布の季節性に関する推計学的解析：

北海道で流行している多包性エキノコックス症は、キツネおよび野ネズミ（主にエゾヤチネズミ）個体群の動態とキツネによる虫卵散布によってヒトへの感染が左右されると考えられる。我々はキツネおよび野ネズミ個体群の推移を推計学的に解析してきたが、今年度はとくに虫卵散布の季節性について解析を行った。

### 4) GIS を用いた解析

地理情報システム (GIS) を利用してエキノコックス症の地理的監視と空間的拡散課程の解析を試みた。

### 5) ハエ類等が多包条虫感染に関与する可能性の検討

ハエ類の採集は、平成 14 年 7 月末に斜里郡清里町および同 9 月中旬に羊蹄山の麓の真狩、京極村で行った。採集は必ずキツネの糞にとまったハエ類に限った。採集後は本症の感染を防ぐため虫卵検出処理前に予め-80℃で1ヶ月間ディープフリーザーに保存し、殺卵した。ハエ類を採集した糞便は研究室へ持ち帰り、熱処理を加えて殺卵後、飽和ショ糖液を用いた浮遊法で虫卵検査を行った。解凍したハエ類は種を検索した後、磷酸緩衝液に入れ、20G の注射針で解剖して中腸と後腸を取りだした。その後、腸管をスライドグラス上で細切して直接法で鏡検した。今回は内容物が少なかったため集卵法は用いなかった。鏡検後、資料は磷酸緩衝液に戻し、PCR 法による多包条虫特異バンドの検出を試みた。

## 10. ヒトの診断および診断法の開発

### a. ヒトの診断

今年度は弘前大学で 28 件のエキノコックス感染検査依頼があった。

### b. ヒトの診断法の開発

1. Prx を構成するアミノ酸配列を既知のペルオキシレドキシシンと比較し、ClustalW にてアライメントを行い、比較を行った。

2. 大腸菌で発現させた Prx の組換えタンパク質を用いて thiol mixed-function oxidation (MFO) assay を行い、antioxidant activity (抗酸化活性) を調べた。

## 11. ヒトの治療法

本症の第一選択の治療は、肝切除による病巣の全切除であるが、進行例では減量手術も有効とされている。今回我々は下大静脈に閉塞をきたし従来は切除不能とされた多包性肝エキノコックス症 2 例に対し、1 例に下大静脈切除を伴う肝切除、1 例に減量手術を行った。

## 12. エキノコックス症動物モデルの検討と治療法開発を目的とした生物学的検討

### a. エキノコックス症動物モデルの検討

モルモット：モルモットは多包虫の感染に対して強い感染抵抗性を有する。脾摘、免疫抑制剤投与したモルモットの門脈に包虫を外科的に投与し、6ヶ月にわたって、その虫体発育、抗体推移、好酸球動態を追った。

また、今回の研究事業の中で作出されたモノクローナル抗体を用いて、モルモットのサイトメガロウイルスの感染細胞表面表出 MHC I への反応性を評価した。

### b. エキノコックスの 2 方向性発育動態の検討

エキノコックスの原頭節を終宿主のイヌに経口投与すれば、成虫への発育が開始される。しかし、マウスなど中間宿主の腹腔内に接種すると再び包虫化、すなわち幼虫への発育が開始される。その発育性状は、医学的に病原性とも深く関連する。そこで、この 2 面性の発育方向を規制する因子を検討するために、

多包虫細胞ならびに、原頭節、感染させたイヌから得た幼若成虫を培養、あるいはマウスやスナネズミの腹腔に接種し、その多能性発育動態を調べた。

c. 石灰小体とエキノコックスの発育との関連

条虫は虫体成分として石灰小体を持つことが特徴であるが、その役割や宿主への影響については十分に解析されていない。そこで、エキノコックス感染スナネズミおよび BALB/c マウスの血清カルシウムを測定し、石灰小体の形成との関連を生化学的および組織学的に検討した。

d. 扁形動物排泄管系の能動的排泄機序の解析

吸虫・条虫が分類される扁形動物の排泄管系(protonephridium)は、炎細胞を基点とした単層上皮の分枝管系で、縦走する主排泄管を経て外界に開口している。この原始腎は、代謝不要物といった内因性の、あるいは駆虫剤などの外因性有害物質の排出に係わっていると推測されるが、観察技法が確立されていないこともあって、その生理機構についてはほとんど知られていない。今回、癌細胞あるいは原虫の薬剤耐性と関連して研究が進んでいる P-gp (P-glycoprotein)あるいは MRP(multidrug resistance-associated protein)といったトランスポーターが、多包虫・マンソン住血吸虫の原始腎機能と関わっている可能性について検討した。

e. ヒノキチオール殺包虫作用

ヒバ油の成分であるヒノキチオールの *in vitro* での組織浸潤性と殺虫作用について検討した。

13. エキノコックス症に関する住民意識の研究

モデル地域として石狩市を選定し、同市と協議してエキノコックス症の一次予防、二次予防のために衛生教育の実施に向けて検討し

た。

C. 研究結果

1. 終宿主動物の感染状況と感染源対策の試行

北海道における主たる終宿主であるキツネのエキノコックス感染状況は、全道規模の調査の結果では、1980年代にエキノコックスの分布域の拡大、そして、1990年代に感染率の上昇が認められている。平成13年度は469頭の検査を行い、183頭から虫体が確認され、感染率は39.0%であった。

また、多包虫症の流行地である根室地区では、平成元年から平成10年までの過去10年間の調査から、キツネの感染率は30%から80%の間で年変化していることが観察されている。平成13年度は29.4%で、前年度の69.2%と比較して感染率の大幅な低下が確認された。なお、今年度分については、冬期間を中心にキツネの検体収集を行っており、現在感染状況を検討中である。

近年、北海道ではキツネに疥癬症が流行し、このことに起因すると考えられるキツネの個体数の減少が一部地域で認められている。根室市の調査地区でも、平成12年のキツネの繁殖ファミリー数は平成9年以前と比較して1/4に減少していたが、平成14年5月に実施した調査では、平成9年以前の1/2程度にまで回復していることが確認された。一方、根室市内で行っているエゾヤチネズミに関する生態調査の結果では、本種の生息数は2年から4年の周期で変動することが観察されている。近年の調査では、平成13年に生息数が減少した後、翌年の平成14年には回復に向かい、夏から秋にかけてエゾヤチネズミの個体数は大きく増加した。

a. 小清水町

散布区域ではキツネのエキノコックス流行状況が顕著に押さえられ、昨年度のベイト散布効果を維持することができた。同時に自動撮影カメラを用いてベイト消費率を調べた結

果、散布ペイトの約3割がキツネに摂取されると推測された。

#### b. 小樽市

ペイト散布後に捕獲されたキツネ87検体中17検体(19.5%)の犬歯からTCが検出され、これらのキツネのペイト摂取が確認された。幼獣では32検体中11検体(34.4%)、成獣では55検体中6検体(10.9%)からTCが検出され、幼獣は成獣に比べ高いTC陽性率を示した。TC陽性17検体のうち、犬歯のラベル像からその年にペイトを摂取したことが推測された15検体中14検体に多包条虫が感染していないことが、剖検と糞便内抗原検査により確かめられ、散布したペイト摂取により野生のキツネの駆虫がなされたことが示された。また、ペイト散布地域における6～10月のキツネ個体群における多包条虫感染率を平成12年度の同地域のキツネの感染率と比較すると、平成12年度に46.5%であった区域で、平成13年度には18.5%に、平成12年度に49.1%であった区域で、平成14年度には14.8%に減少していた。

これに加えて、キツネ21個体についてチトクロームbおよびミトコンドリアDNAの制限領域を解析した結果、3種類のハロタイプが確認され、キツネの個体群動態を解析する手段としての有効性が示された。

#### c. 根室市

中間宿主に関する調査では、平成12年以降に実施した捕獲検査では感染個体は2個体確認されたのみであった。一方、ペイト剤散布開始以降に捕獲されたキツネの感染状況は、ペイト剤散布地域では32.0%(8/25頭)であったのに対し、非散布地域では65.9%(27/41頭)であった。この地域では、エゾヤチネズミの個体数の増減によってキツネのエキノコックス感染率が変化することが確認されており、そのような宿主動物の密度変化が起こってもキツネの感染率を低く維持できるか、観察を継続する必要がある。

## 2. 札幌市でのエキノコックス感染リスクの評価

札幌市市街地およびその周辺部21地点でげっ歯類の捕獲調査を行い、11地点から北海道でエキノコックスの主要な虫間宿主であるエゾヤチネズミ72頭が捕獲された。なお、感染個体は捕獲されていない。

## 3. キタキツネ巣穴周辺土壌およびゴルフ場バンカーからの多包条虫虫卵検出の試み

ゴルフ場のバンカーの砂はキタキツネの格好のトイレになっているということから、網走市内の山間部に囲まれたゴルフ場のバンカーの砂を採取したが、これからも多包条虫の虫卵は検出されなかった。

小清水町のキタキツネ巣穴周辺の土壌からは多包条虫卵は全く検出されなかった。

## 4. 飼い犬および猫の多包条虫感染状況調査

本年度(4月～12月)に216頭の検査を行い、糞便内抗原陽性犬7頭、虫卵陽性犬1頭が認められた。この虫卵陽性犬は札幌市の室内飼育犬であった。猫は20頭の検査を行い、抗原陽性猫1頭を確認したが、虫卵の排泄は認めなかった。

## 5. ペット用迅速診断キットの作成

糞便内抗原検出法に使用する試薬(ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体)が迅速診断法に適用可能かどうかを15検体(陽性5、擬陽性3、陰性5)を用いて判定したところ、プレートELISA(従来法)とほぼ同様の結果が得られた。また、検体輸送用容器は輸送用ラベルの作成、糞便採取用ピンセットの改良および液体漏れを改善した。

## 6. 終宿主のワクチン開発に向けて

多包条虫原頭節を経口投与したスナネズミでは血清および腸管洗浄液中の多包条虫特異的抗体が上昇した。一方、多包条虫抗原に対する脾臓・腸間膜リンパ節・パイエル板のリンパ球の特異的増殖反応は顕著ではなかった。そこで、リンパ球にマイトジェンと多包虫抗

原を混合刺激したところ、マイトジェン刺激によるリンパ球の増殖は抑制されていることが明らかになった。

#### 7. 多包条虫、単包条虫および胞状条虫の代替終宿主の開発

今回用いたゴールデンハムスターはプレドニゾロン投与により感染症を引き起こし、多くの個体が実験の途中で早期に死亡した。単包条虫感染実験では、ゴールデンハムスターでは4日まで(<60虫体)、*R. opimus*でも4日まで(<14虫体)、*M. erythraeus*では8日まで(<13虫体)、*C. migratorius*では3日まで(<18虫体)虫体が回収された。多包条虫感染実験では、ゴールデンハムスターでは10日まで(<3虫体)、*R. opimus*では4日まで(<14虫体)、*M. erythraeus*では3日まで(<17虫体)虫体が回収されたが、*C. migratorius*では全く虫体は回収されなかった。胞状条虫感染実験では、ゴールデンハムスターでは5日まで(<1虫体)、*M. erythraeus*では9日まで(<2虫体)、*C. migratorius*では2日まで(<3虫体)虫体が回収された。

#### 8. 本州へのエキノコックス侵入の可能性についての調査

##### a. 青森県および近県

調査した野生動物および家畜からは感染個体は確認できなかった。

##### b. 関東甲信越

キツネ、タヌキ、ハクビシン、アライグマ、アナグマからは単包条虫、多包条虫の成虫はいずれも検出できなかった。しかしながら他の蠕虫類（串間鉤虫、ミヤザキタヌキ鉤虫、タヌキ回虫、イヌ回虫、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見られなかった。全国の犬の糞便検査では犬回虫卵、犬鞭虫卵、犬鉤虫卵、瓜実条虫卵、ランブル鞭毛虫の嚢子およびコクシジウムのオーシストが検出されたが、単包・

多包条虫卵は検出されなかった。

豚の調査では、調査地区内全28ヶ所の食肉衛生検査所に、本調査研究の主旨と重要性を改めて説明し、本調査に対する一層の理解と協力を要請した。その上で、組織固定液を入れたポリ容器を各検査所に配布し、検査対象であるブタ肝臓にエキノコックス症を疑う病変が発見された場合には、直ちにその部位を固定液内に入れて、本研究班（獨協医科大学熱帯病寄生虫学教室、麻布大学環境保健学部医動物学研究室、横浜市立大学衛生学教室のいずれか）宛に送付してもらう体制をとった。ブタ肝臓検体が届けられた場合には、これまでと同様の諸検査に供する体制をとった。すなわち、検体を本研究班において組織学的に検査して病巣部のエキノコックス虫体組織を検索すると同時に、エキノコックスに特徴的な構造であるクチクラ層をPAS反応により検出することで、エキノコックス感染の有無を判定することとした。さらに必要に応じて、エキノコックスに特異的なDNA塩基配列をPCR法によって検出する診断をおこなうこととした。以上のような体制のもとで、関東・甲信越地区へのエキノコックス症感染源侵入を1年間にわたって監視したところ、本年度は神奈川県より1検体の多包虫症を疑う病変組織が届けられた。本研究班において、多包虫感染の有無を組織学的に調べた結果、陰性と判定された。さらに、PCR法による診断をおこなった結果、陰性であることが確認された。

#### 9. エキノコックス流行に関する疫学的考察

##### 1) 北海道から道外へのペット輸送実態：

総数約1万2千頭余のペット（犬、猫、他）が航空機への機内持ち込み手荷物あるいは動物貨物として北海道から本州へ輸送され、その約77%は航空機、23%はフェリーで輸送されていた。フェリーによる輸送数は3社間でほぼ均衡していたが、航空3社間では各社の北海道便数と必ずしも比例していなかった。

輸送形態は、航空機の場合、一部は機内持ち込み手荷物、他は動物貨物として運搬され

ているが、その割合は把握できなかった。フェリーでは、通常、船内動物室のケージに収容されていた。

運搬中の糞便処理は、航空機では必要に応じて到着空港で飼い主が行い、ときに貨物取り扱い者が処理を行う。フェリーでは到着港の清掃会社が糞便除去とケージ洗浄を行うが、糞便は焼却するなど衛生管理には十分な配慮が行われており、清掃者への感染リスクは低いと思われた。

## 2) 単包性エキノコックス症患者の発生動向とその疫学：

日本最初の単包性エキノコックス症例は明治 14 年熊本市で確認された。その後、これまでに約 80 例の単包性エキノコックス症患者が報告されているが、有鉤囊虫症の誤認例や確認に不備がある疑問例を除くと平成 14 年末までに合計 75 例が国内で発病していた。そのうち太平洋戦争終結前の症例が 47 例、戦後の症例が 28 例だった。昭和 61 年以降の症例はすべて海外の流行地で感染し、日本国内で発病した輸入例である。

明治初期～大正初期には国内とくに九州、四国、中国など西南～西日本で牛と犬の間に感染環が維持されていたと思われる。この時期の日本は欧米列強に伍して急速に工業化を進め、日清・日露戦争により中国大陸への進出を目指していた。そのための兵站基地とされたのが西南～西日本であり、兵員の蛋白源として牛肉が推奨され、また兵員の靴・背囊など装備品の皮革原料として牛飼育が西南～西日本で盛んになった。そして、冷凍冷蔵保存技術が未発達な当時、牛を屠畜して新鮮な食肉や皮革を軍隊に大量供給するため衛生管理の不十分な小規模屠畜場が各地に乱立した。しかし、明治 39 年、屠場法が制定され、屠畜場の衛生管理とくに屠畜臓器の処理が徹底され、不衛生な小規模屠畜場は急速に減少し、日本国内の単包性エキノコックス症感染は激減した。太平洋戦争後は、戦後の混乱期に感染したと思われる国内感染例が少数認められるが、昭和 61 年以降は国内感染と思われる症例は完全に跡を絶っている。

## 3) エキノコックス虫卵散布の季節性に関する推計学的解析：

北海道における多包性エキノコックス症流行は、主要な終宿主であるキツネと中間宿主の野ネズミの間で感染環が維持され、人はキツネ糞便中の虫卵を経口摂取することによって感染する。従って、本症予防の基本は人患者の治療ではなく、野生動物間の感染環を遮断することである。また、人への感染を抑制するためには、人が虫卵と接触する機会を減らすことが重要である。しかし、エキノコックス虫卵をどのようにして経口摂取するか、虫卵散布がもっとも盛んなのは何時かなど、人への感染リスクを左右する因子の解明は十分とは言えなかった。

我々は北海道におけるキツネおよび野ネズミ（エゾヤチネズミ）個体群動態の数学的モデルによる解析を行い、キツネによって環境中に散布される虫卵密度に季節差があり、とくに根釧地域では夏季に感染リスクが高まるという推計結果を得た。しかし、札幌など北海道中部以南では、このような顕著な季節差は認められなかった。

## 4) GIS を用いた解析

北海道におけるエキノコックス症については本年も患者の発生数や発生場所について市町村別資料も得られず、患者の分布や拡散過程、その要因の解明は困難であった。

既往資料を用いて保健所管轄区の境界図を用いた昨年度の解析の不足データを収集し、まとめている。また広域の環境調査に、衛星画像の導入を進めている。研究費の入金が遅かったため、国勢調査やデジタルマップの新しいデータを利用しての解析はできなかったが、データ入手後検討を続ける予定である。北海道における地域差、疫学的解析および、近年報告されている本州における犬や、豚の感染の報告をデータとして、GIS による監視体制を検討する予定である。

## 5) ハエ類等が多包条虫感染に関与する可能性の検討

多包条虫虫卵（*Taenia* 科虫卵）検出のためのハエ類の解剖は多量に糞を摂食し、人家



の中に入って食物に摂食する可能性の高い大型および中型種に限った。その結果、いずれのハエ類、甲虫、ミミズからも *Taenia* 科の虫卵は検出されなかった。顕微鏡での虫卵検査だけでは見落としの危惧があるため、PCR法で多包条虫特異 DNA の検出を試みた。今回の結果では PCR を行ったハエ類からは特異 DNA を全く検出することは出来なかった。

## 10. ヒトの診断および診断法の開発

### a. ヒトの診断

抗体陽性者は特定されなかった。

### b. ヒトの診断法の開発

生体が酸素を利用しエネルギーを産生する際、酸素分子がプロトンを受け取り水へ還元される過程で活性酸素種と呼ばれる中間体が発生する。細胞内に活性酸素を発生させる刺激が酸化ストレスであり、細胞内のタンパク質、脂質、DNAなどを酸化し生体に障害をもたらす。このような酸化ストレスに対する生体防御機構として、グルタチオン、チオレドキシンとその関連酵素群、スーパーオキシドジスムターゼ、カタラーゼなどが知られている。Prxは還元下でペルオキシダーゼ活性を示すタンパク質で、活性部位のシステイン(Cys)を中心とするドメインの個数によって、1-Cys型と2-Cys型に分類される。現在まで原核生物から哺乳類までの幅広い生物層からPrxの遺伝子が単離されている。我々が得た多包虫Prx遺伝子のコードするタンパク質の推定分子量は約21kDaで、48および169アミノ酸残基にはPrx群で保存されているシステインが認められた。またSalinas, G.ら(1998)により *Echinococcus granulosus* から報告された2-Cys型Prxとは97%の同一性を示し、マンソン住血吸虫、オンコセルカ糸状虫、リーシュマニア原虫、ヒトなどから報告されているPrxとも高い同一性を示した。また大腸菌で作製した組換えEmPrxタンパク質はMFO assayで10 $\mu$ g/ml以上の濃度で抗酸化酵素活性を示した。現在、組換えタンパク質を用いた生化学的解析を継続するとともに、

幼虫内での局在、そして診断抗原としての有用性を検討中である。

## 11. ヒトの治療法

症例1:71才、女性。近医で下大静脈浸潤の肝エキノコックス症だが手術適応なしとされた。Second opinionを求め北大病院受診、入院し、肝右3区域切除および肝部下大静脈切除、横隔膜および右副腎の部分切除を行った。症例2:37才、女性。下大静脈閉塞と心臓右房浸潤を伴う肝エキノコックス症の診断にて当科紹介入院。右房の外側および肝部下大静脈左縁への浸潤が強固であったため、一部病巣を残して肝左葉切除を施行し得た。

## 12. エキノコックス症動物モデルの検討と治療法開発を目的とした生物学的検討

### a. エキノコックス症動物モデルの検討

モルモットで移植虫体の発育は認められなかった。

また用いたモノクローナル抗体により、モルモットのサイトメガロウイルスの感染細胞表面表出MHC Iが特異的にダウンレギュレートされることが明らかになった。

### b. エキノコックスの2方向性発育動態の検討

①エキノコックス細胞の培養:感染スナネズミより多包虫組織を採取しコラゲナーゼで消化し、得られた細胞をスフェロイド・プレートあるいはコラーゲンスポンジ・シャーレを用い10%FCS加MEM培地で培養し、包虫へ発育させた。

②石灰顆粒形成細胞の特定:同様な培養系を用いて、石灰小体の前駆体と考えられる石灰顆粒を形成する細胞が明らかとなった。

③培養虫体の包虫化の検討:原頭節とイヌから感染後3、13日目に回収した幼若成虫を培養系で検討した。虫体の膨化と包虫化との関連性が示唆された。

④幼若化虫体の包虫化の検討：幼若虫体をマウス、スナネズミの腹腔に投与しその発育を追ったが、なお包虫化することが示唆された。

c. 石灰小体とエキノコックスの発育との関連

感染後6週目において回収されたシストでは石灰小体がいずれの動物においても形成されており、シスト重量と血中カルシウム濃度は相関傾向が見られた。このことからエキノコックスは宿主のカルシウム代謝に何らかの影響を与えていると考えられた。また、エキノコックス原頭節を培養し、虫体の形態的変化および石灰小体数の消長と培養液中のカルシウム濃度との関わりを観察した。培養日数が進むに伴い膨化虫体が出現し、膨化虫体内部の石灰小体数は減少していた。培養液中のカルシウム濃度は膨化虫体が多いほど高いことが示された。石灰小体は虫体周囲の環境変化によって速やかに消失し、カルシウムとして虫体内外で利用されている可能性が示唆された。

d. 扁形動物排泄管系の能動的排泄機序の解析

哺乳類細胞 P-gp あるいは MRP の基質となる resorufin, fluo-3, monoclorobimane, fluorescein を加えた MEM 培地に虫体を浸漬 (37°C、30~60 分)、よく洗浄し、蛍光顕微鏡下で観察したところ、蛍光物質の原始腎への能動的排泄が確認された。特に、P-gp 基質となる resorufin の原始腎への流入・集積が顕著であった。P-gp 阻害剤あるいは MRP 阻害剤の前処置により、蛍光物質の原始腎への流入が消失したことから、これらのトランスポーターが扁形動物原始腎の上皮細胞に表出されていることが強く示唆された。

e. ヒノキチオール殺包虫作用

ヒバ油の成分であるヒノキチオールは *in vitro* で多包虫塊に対して強い組織浸潤性と殺虫作用が明らかになった。今回の実験では、プラジカンテルに比してより強い殺虫作用が

認められた。

13. エキノコックス症に関する住民意識の研究

石狩市役所で健康施策を担当する部局と協議し、衛生教育の実施に向けて意見交換したが、実施が極めて困難なことがわかった。その要因は主として次の2つに集約できる。その第一は、エキノコックス症問題が緊急の健康問題として捉えられていないことであり、第二の要因は、エキノコックス症対策を総合的に調整するシステムがないことである。これには人の健康問題を扱う部局と媒介動物であるキツネやイヌを担当する部局が異なっており、必ずしも連携していない、いわゆる縦割り行政の壁が大きいことが原因としてあげられる。

D. 考察

1. 終宿主動物の感染状況と感染源対策の試行

a. 小清水町

本年度は、小清水ではキツネ行動範囲の検討からその生息場所として防風林・山林に注目して、林と道路の交点にベイトを散布したが、キツネからのエキノコックス虫卵排出量および糞便内抗原の陽性率ともに減少し、虫卵による環境汚染を軽減する効果が確認された。しかしながら、散布地区におけるエキノコックスの生活環を完全に遮断することはできず、低いレベルでの感染が認められ、駆虫薬散布を継続する必要性が示された。今後ベイト散布の累積効果を評価する必要がある。

また、水産廃棄物を利用した駆虫薬入り餌の試作品に対してもキツネが嗜好性を示すことがわかり、水産廃棄物の再利用が可能であることが示された。

b. 小樽市

テトラサイクリンによりベイト摂取が確認されたキツネの駆虫効果が確認されたが、ベイト摂取率は低く、今後、さらに駆虫効果が高まるように、散布方法や散布回数などにつ

いて改善する必要がある。しかしながら本年度の結果は駆虫薬入りベイトの野外散布によりキツネの駆虫が可能であり、都市周辺部での多包虫症の感染源対策における有用性を示唆するものである。また、キツネ個体群の分布をDNA解析から知ることにより、より効率的な散布が可能になると考えられる。

### c. 根室市

昨年度の全道のキツネの感染率は39.0%であったのに対し、根室地区では29.4%で前年の69.2%と比較して感染率の低下が認められた。全道的にキツネに疥癬の流行がみられるが、調査地では前年と比較して、キツネの生息数が回復する傾向が認められた。一方、エゾヤチネズミの生息数に関しては、調査地では平成13年の低密度状態から、平成14年には生息数の増加が観察された。多包虫症の流行地で駆虫薬入りのキツネ用ベイト剤を散布し、宿主動物の感染率の低下傾向が観察された。

## 2. 札幌市でのエキノコックス感染リスクの評価

本年度の調査ではエキノコックスに感染したエゾヤチネズミは見つかっていないが、エゾヤチネズミ捕獲地周辺ではキツネが出没しており、都市部でエキノコックスの生活環が成立している可能性は高いと思われる。従来より、キツネの感染率が高くてもネズミの感染率が低いことが報告されてきたが、札幌市周辺でエゾヤチネズミが生息していることは、キツネのみならず、ペットへの感染につながる。今後、都市周辺部でのエゾヤチネズミの生息環境評価を行って、リスクマップの作成を行うなど、継続調査が必要である。

## 3. キタキツネ巣穴周辺土壌およびゴルフ場バンカーからの多包条虫虫卵検出の試み

土壌から全く多包条虫が検出されなかったが、その理由の一つとして小清水地域は多包条虫対策プロジェクトが行われていることが上げられる(Tsukadaら;2002)。平成10年度

からプラジカンテル加ベイトを小清水一帯に緻密にまいているために、キタキツネの多包条虫感染率は実に数%に落ちていることから、土壌採取地域のキタキツネは感染していなかったことが推定される。また、一カ所あたりの土壌採取量は30~50gと微量であることも検出効率を悪くしているものと考えられる。

また、試料を採取したゴルフ場は高いフェンスで周囲が被われ、キタキツネの糞も見つからなかったことから、ゴルフ場自ら多包条虫に対する対策を行っているものと思われた。

今回の調査は元々、多包条虫卵のないところから土壌を採取していたという反省がある。今後は感染率の高い地域のキタキツネ巣穴周辺の土壌を検査する必要がある。

## 4. 飼い犬および猫の多包条虫感染状況調査

今年度、犬では約3.2%のエキノコックス陽性率が確認され、室内飼育犬から初めての虫卵陽性例が見つかった。感染機会の少ない室内犬の感染例、および再感染例が確認されたことは、北海道でのペットへの高い感染圧を示すものである。アンケート調査では、市部よりも郡部での飼育、屋外飼育、放し飼いが犬の抗原陽性率を高めていることが示唆され、ペットの飼育管理と感染予防の重要性を啓蒙する必要がある。

本調査は臨床小動物獣医師を介して行っているため、検査対象には明らかに感染の可能性がきわめて低い集団（都市部のみで室内飼育される小型の愛玩種等）が含まれているため、感染を獲得する可能性が高い屋外飼育グループの実態を反映しているとは考えにくい。つまり、今回の結果は実際の感染率より低い数値と思われる。さらに、人と身近に接するペットの感染は、飼主のみならず、周辺地域の住民もかかわる公衆衛生上の問題であり、感染動物の早期発見とその適切な処置が必要なことは言うまでもない。

## 5. ペット用迅速診断キットの作成

本年度は少数の検体を用いて迅速診断法への適用の可能性を評価したが、今後試薬濃度

の最適化、標準化、保存有効性の評価を行う必要がある。また、糞便容器も安全性、使いやすさをさらに改善する必要がある。

#### 6. 終宿主のワクチン開発に向けて

齧歯類終宿主モデルにおいて、多包条虫による免疫抑制と宿主のエキノコックスに対する免疫応答の両方の存在が示唆された。多包条虫抗原の解析と多包条虫特異的抗体（特に腸管内 IgA）の役割についてさらに検討する必要がある。

#### 7. 多包条虫、単包条虫および胞状条虫の代替終宿主の開発

特に、エキノコックスに対して好適なネズミは発見できなかったが、すでに知られているゴールデンハムスターと比べると、全体的に *R. opimus* と *M. erythrorurus* の有用性が示唆された。

#### 8. 本州へのエキノコックス侵入の可能性についての調査

##### a. 青森県および近県

北海道のエキノコックスの流行状況を考えれば、本州へエキノコックスが伝播し、流行が拡大する可能性が増大していると考えなければならない。しかも地理的にも経済圏からも、もっとも関係が濃厚で、流行が広がる可能性が高いのは青森県であろう。したがって、家畜や野生動物での感染疫学調査を実施し、結果が陰性であろうと継続的に実施することが必要であろう。

##### b. 関東甲信越

終宿主および中間宿主での寄生虫の検索結果からは、エキノコックス症が関東甲信越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。

食肉として供されるブタへの感染を指標と

するエキノコックス症感染源モニタリングは、極めて合理的で有効な方法のひとつと考えられる。ブタは、ヒトと同様にエキノコックスの虫卵を経口的に摂取することで感染し、主に肝臓に病変が形成される。各食肉検査所では、肝臓を含むブタ内臓について異常所見の有無を厳密にチェックしており、仮にエキノコックスによる病変が存在すれば検出される。さらに、ブタは年間の検査頭数が非常に多いこと、生産者・生産地域の特定が可能であること、生後比較的早期にと殺・検査されること、全国のほとんどの地域で広く飼育されていることなどの特徴を備えており、エキノコックス症の流行状況を把握するための指標動物として適している。

国内におけるエキノコックス症流行域の拡大を食い止めるための現実的な対策としては、潜在的感染源としての飼育犬の移動を監視、さらには制限することが挙げられる。このことによって、感染源そのものの拡散阻止に直接寄与することが期待される。これと並行して、ブタへの感染を指標とする全国規模のモニタリング体制を確立することで、一層厳密な監視体制が実現することになる。ブタへの感染を指標とする方法は、現行の食肉検査システムを基盤のうえに比較的容易に確立し得るものであることから、早急に実行可能な行政施策のひとつとして、その実現を提言したい。

#### 9. エキノコックス流行に関する疫学的考察

##### 1) 北海道から道外へのペット輸送実態：

航空機およびフェリーによって輸送されるペット犬数は、平成 13 年度に我々が狂犬病予防法に基づいて把握した北海道から本州方面への移動畜犬数（届出数 140 頭、無届犬を考慮した推計値 300~400 頭）をはるかに上回っており、その中にエキノコックス感染犬がどれだけいるかの実態把握が急務である。しかし、営業に差し支えるという理由で、航空会社およびフェリー会社による輸送中のペット犬の虫卵検査は拒絶された。輸送犬の感染実態を把握する検査は、国あるいは自治体