

厚生労働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 14 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 太田 伸生

平成 15 (2003) 年 3 月

目次

I. 総括研究報告

| | |
|--------------------------------------|---|
| 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 太田伸生 | 1 |
|--------------------------------------|---|

II. 分担研究報告

| | |
|--------------------------------------|----|
| 1. 日本住血吸虫の予防法開発に関する研究 太田伸生 | 11 |
| 2. 住民の住血吸虫症に対する認識を高める方法の開発 青木克巳 | 15 |
| 3. 住血吸虫症の簡易診断法の開発 朝日博子 | 18 |
| 4. 新規殺貝剤の開発に関する研究 川中正憲 | 29 |
| 5. 住血吸虫のワクチン開発に関する研究 小島荘明 | 32 |
| 6. 対策のための数学モデル作成に関する研究 嶋田雅暁 | 36 |
| 7. 住血吸虫感染による凝固活性化因子誘導機構の解析 田邊将信 | 42 |
| 8. 国内監視体制の維持強化ーリモートセンシング/GIS 二瓶直子 | 51 |
| 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 | 59 |
| 10. 住血吸虫症の疫学・国内監視体制の整備に関する研究 松田 肇 | 63 |
| 11. 住血吸虫症対策における健康教育改善法に関する研究 門司和彦 | 82 |

| | |
|---------------------|----|
| III. 研究成果の刊行に関する一覧表 | 95 |
|---------------------|----|

| | |
|-----------------|-----|
| IV. 研究成果の刊行物・別刷 | 103 |
|-----------------|-----|

厚生労働科学研究費補助金（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 名古屋市立大学大学院医学研究科教授

研究要旨 寄生虫対策のモデルとして戦略的、戦術的研究の対象とされる住血吸虫症対策をモデルとした研究をおこなった。世界の疫学情報をもとにしてわが国の寄生虫疾患の新興及び再興の監視体制の維持強化を第一の目的とし、さらに寄生虫対策に求められる方法論のソフト及びハード面の開発や改善も図ってわが国の新興・再興感染症に関する行政対応を支援するための研究を進めた。研究は 3 つのアプローチから取り組み、それぞれ「既存の対策法の再検討と改善」、「寄生虫対策のための新しい方法論の開発」、そして「国内の監視体制の維持強化」を課題とした。第一のアプローチでは住血吸虫をはじめとする寄生虫疾患の対策でもっとも重要である流行地住民の mobilization と衛生教育、対策の立案と評価に用いる流行の数式モデル、ベクターコントロールとして住血吸虫の中間宿主貝に対する薬剤の再評価を進めた。主に野外調査データを基にした研究であるが、対策事業への主体的参加を導くための資料として詳細な KAP study を行なって解析した。寄生虫疾患は慢性に経過することから疾病の正しい認知が得にくいという特徴があるが、実際には住血吸虫症の存在を地域住民が比較的正しく把握していることがわかった。これをもとに衛生教育の効果をあげることが重要であるが、学校保健のスキームでは教育効果の永続性に問題があることが判明し、方法や教材の改善の必要性が結論された。流行の数式モデル開発は実用化によってきわめて大きな貢献となりうるが、住血吸虫症のように関与する因子が多様な場合に困難が大きい。今年度は Individual-based model を Swarm ソフトにてシュミレーションを構築して、ある程度疫学データと合致するモデルの構築まですすめた。殺貝剤はコストと環境毒性の問題を解決しなくてはならないが自然植生からの抽出物のスクリーニングで有効化合物の選定を進めた。しかし発ガン性の問題が明らかになりその解決を迫られている。第 2 のアプローチは主に実験室内の研究が中心である。住血吸虫ワクチンとしてパラミオシンとカルパインの作用機序、効果評価、実用化試験などをおこない、パラミオシンに対するモノクローナル IgE 抗体投与で住血吸虫の産卵抑制はないものの、形成される虫卵周囲肉芽腫サイズの有意な縮小が認められ、発病抑止効果の機序として新しい知見が得られた。カルパインは住血吸虫の幼虫段階での分泌タンパク質であることが明かとなり、抗体によるその直接の阻害が宿主体内での移行を妨げることが示唆された。カルパインはブタでのワクチントライアルに供し、産卵抑制効果を通じて発病抑止効果を持つことが確認された。非観血的な免疫診断法として尿中の住血吸虫特異抗体検出のシステムを開発した。日本住血吸虫の虫卵及び虫体抗原に対する尿中の IgG 抗体は十分な感度と特異性で検出できるが、さらに tegument 抗原である 22.6kD のリコンビナント抗原は尿の免疫診断用抗原としてさらに高い感度を与えた。尿中の抗体価は治療判定にも有用であった。住血吸虫感染宿主が産生する CILIP の機能解析の結果、抗凝固作用が証明され、食道静脈瘤破裂など合併症の発症との関連が示唆された。マウスやウサギに代る新しい住血吸虫感染モデル動物の開発はヒトの病態解析に重要である。クラウン系ミニブタは高い感染感受性を示すとともに従来の感染動物モデルでは得られなかった慢性病態も反映することがわかり今後この分野の貴重な研究材料となると考えられた。「国内の監視体制の維持強化」としては東アジアの住血吸虫症の流行状況に関する情報整理を行なって在留または渡航邦人の健康管理に努める他、それらの地区からの輸入住血吸虫症に対する診断、治療面での医療サービスの充実を図った。特に免疫診断では日本住血吸虫とメコン住血吸虫とで診断の特異性が違いがあり、従来は国内入手ができなかったメコン住血吸虫抗原の国内ストックも開始することにした。国内の住血吸虫中間宿主貝の生息モニタリングを地理情報システムで簡便に情報補足と解析を行うように山梨県の旧流行地で試験した。貝の生息が残存する地区、貝生息の可能性が推定される地区などの情報がパソコン上で簡単に描画され、

国内の監視システムとして活用するとともに現在流行が存在する地区の対策にも活用できると考えた。以上を通じて今年度は住血吸虫症対策の効率的運用についてその包括的な提言の取りまとめをおこなった。

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 国立感染症研究所寄生動物部・主任研究官
川中正憲 国立感染症研究所寄生動物部・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
田邊正信 慶応義塾大学医学部・講師
二瓶直子 国立感染症研究所昆虫医科学部・客員研究員
平山謙二 長崎大学熱帯医学研究所・教授
松田 肇 独協医科大学・教授
門司和彦 長崎大学熱帯医学研究所・教授

A. 研究目的

急速なヒトやモノの交流の増加や移動手段の高速化にともなって途上国を中心に流行が蔓延している寄生虫感染症に対してわが国としても国内的な監視体制や医療対応整備が望まれる状況に置かれている。そのためには寄生虫対策に必要な方法論のハードとソフト両面の見直しを行なって保健行政分野での危機管理を整備することが求められている。寄生虫症に関してはわが国を含めて多くの国や地域で“neglected diseases”と評され、今日なお未解決のまま放置された問題も数多く存在する。今日流行が続いている海外の多くの地域はもとより流行が終息したわが国でも寄生虫病の流行監視、対策の効率的な方法開発などの研究を継続していかななくてはならない。本研究では寄生虫対策に求められる様々な因子を住血吸虫症対策のあり方をモデルとして研究し、世界の寄生虫対策に応用しうる新しい技術と対策ソフトの開発、国内の医療対応と流行再興防止に向けた監視体制強化を目的として研究を進めた。住血吸虫症対策では寄生虫対策に必要なコンポーネントを総合的に活用することが要求されるために寄生虫対策のモデルケースとしてWHOは位置付けている。住血吸虫症の駆逐に成功したわが国はその成果を整理して方法論的改善をはかり、寄生虫症流行再興の監視や国際的な医療協力に向けた研究成果の発信を継続する責任がある。寄生虫対策のための基礎的、応用的研究が進められてきたにも拘らず多くの途上国では対策の実効が必ず

しも十分に上がっていない。この研究班では問題解決のために3つのアプローチから研究を進めて、それぞれの成果を寄生虫病対策の開発と改善という形にまとめる目標設定をした。それぞれのアプローチからは寄生虫対策の方法論の改善に関する検討、緊急性の高い新技術の開発研究、および医療対応整備や行政施策への提言などを通じた国内体制強化についての研究を行ない、最終的にわが国の新興・再興感染症対策に資する体制整備や行政への助言にとりまとめることを図った。

B. 研究方法

三つのアプローチから研究を進める総括的研究戦略をとり、班会議で情報の相互交換を行なって目的達成を進めた。用いたアプローチとして①従来の対策方法/技術の見直しと改善、②寄生虫対策に用いうる新規の技術開発、そして③国内の監視体制の維持強化である。

B-1. 従来の対策方法の見直しと改善

アフリカの流行地における野外調査データを用いた住血吸虫感染に対する流行地住民の意識調査と衛生教育の方法論の検討、流行監視に用いうる住血吸虫症の流行数式モデル開発、環境汚染を考慮した植物抽出物由来の新規殺菌剤スクリーニングを今年度の課題とした。寄生虫病対策の効率化に最も重要なことは地域住民のmobilizationであるが、流行地住民の意識調査を通じて寄生虫病の流行という事実をどの程度正確に認識しているかを調査した。主に質問表配布

による聞き取り調査で、排尿障害については尿流量計を用いた客観データも集めた。衛生教育を学校保健のスキームで実施した場合の効果を評価した。実施した学校の児童を対象とした質問表調査と実際の再感染パターンを比較分析した。住血吸虫症流行の数式モデルを開発する目的で Swarm2.1.141 ソフトを用いて individual-based model (IBM) によるプログラミングを試みた。ヒト、住血吸虫成虫、セルカリア、ミラシジウムをコンポーネントとして扱い、一定の村の面積、人口および多様な行動パターンのもとでのシミュレーションを行なった。新規殺虫剤は化合物をミヤイリガイに対する実験室内での殺作用を指標に調べた。それらの発ガン性試験のために EBV 活性化試験も同時に行なった。

B-2. 寄生虫対策に用いる新規の技術開発

このアプローチでは日本住血吸虫のワクチン開発とその効果発現機構の解析、新規住血吸虫感染予防薬の開発とスクリーニング、ヒト尿を用いた非観血的免疫診断法の開発と疫学的応用、住血吸虫症の病態解析と発症機構、ミニブタの新規住血吸虫感染モデル動物としての開発と実用化などを行なった。ワクチン候補物質としてはパラミオシンとカルバインを検討してきたが、パラミオシンでは発病抑止効果を新たに検討し、抗パラミオシン IgE 抗体を投与した感染マウスで虫卵肉芽腫サイズがどのように変化するかを調べた。カルバインはブタでのワクチントライアルを実施した他、日本住血吸虫の様々な発育ステージにおける発現部位をモノクローナル抗体を用いて検討した。新規予防薬のスクリーニングではマウスに薬剤を投与して回収虫体数の減少を指標にした。尿を用いた非観血的免疫診断の実用性をフィリピンの日本住血吸虫症感染者血清を用いて感度と特異性を調べた。さらに感染者の駆虫薬投与後の尿中抗体価の時間経過を追跡して治療効果判定への実用価値を検討した。病態解析については住血吸虫感染宿主血中に増加する CILIP の生理機能の検討を行なった。血液凝固系への影響が判ってきたので凝固因子への影響を評価する実験系を組んだ。住血吸虫の新しい動物実験モデルとしてクラウン系ミニブタを検討した。中国産日本住血吸虫セルカ

リア 200 隻を経皮感染させて虫の発育、抗体応答、超音波による肝臓の病変追跡、病理所見の評価などを実施した。

B-3. 国内の監視体制の維持強化

アジア地域に存在する 2 種の住血吸虫、日本住血吸虫とメコン住血吸虫感染の疫学情報、臨床所見の比較、疫学調査法などについて野外調査を通じて研究した。メコン住血吸虫症については血清疫学によって地域住民の感染率を調べ、またメコン住血吸虫感染による肝脾病変の超音波所見も調べた。さらに日本住血吸虫症の場合と比較して超音波診断の基準作製を進めた。野外で簡便に実施できる検査システムとして迅速 ELISA 法の開発を進めた他、中間宿主貝から住血吸虫の DNA 検出の系を検討した。山梨県の旧流行地のミヤイリガイ生息モニタリングをリモートセンシングにて行なうシステムを手がけてきたが、今年度は引き続き山梨県内の定点を ArkView を用いて図化する作業を進めたのに加えて木更津の貝生息地での図化も行なった。

(倫理面への配慮)

動物実験は各所属機関の動物実験倫理規定に従って実験承認を受けて実施した。ヒトの試料を用いた研究はカウンターパートの国の実施承認を得た上でインフォームドコンセントの下で実施した。

C. 研究結果

C-1. 従来の方策方法の見直しと改善

流行地住民の住血吸虫症の認識度：今回の調査では尿路系住血吸虫ということで排尿に関する聞き取り調査と尿流量計のデータとの比較を行なった。流行地の学童では非流行地の学童に比較して排尿困難を訴える割合が有意に高かったが、尿の流量計による客観評価では流行地、非流行地で差はなく、自覚の点で病気を住民が認識しているという結果が得られた。

衛生教育の効果の評価：学校保健のスキームで教育を受けた学童に治療後の経過や自覚を追跡したところ、治療後には確かに自覚症状の軽減が認められた。このような学童の意識があるにも関わらず、再感染をフォローして行くと健康教育を受けた学童と受けない学童の再感染の頻度は 12 ヶ月後の調査では差がなかった。

流行の数式モデルによるシュミレーション：作製したモデルに因子をインプットしてシュミレーションした結果、異なった条件が感染率の違いがおこすこと、ヒトの行動、中間宿主貝の分布の条件を振ることで異なった流行様態を与えること、そしてこれらの対策項目の選択による効果の予測がある程度つくことなどが示された。

殺菌剤のスクリーニングから茶種子、ツバノコバド種子、ルリハコベなどが効果を示したがこれらには同時に発ガンプロモーターの活性が検出された。

C-2. 寄生虫対策に用いる新規の技術開発
日本住血吸虫ワクチンの開発と作用機序解明：従来パラミオシンワクチンにおいては発病抑止効果はないと考えられていた。しかし抗パラミオシンモノクローナルIgE抗体投与による虫の産卵数には変化がなかったが形成される虫卵周囲肉芽腫のサイズが有意に低下した。一方、カルパインはマウスの実験で感染阻止と発病抑止の両方に効果があったが、プタで試験した場合にも虫の産卵数が有意に減少して発病抑止効果を確認した。しかし感染阻止効果は確認できなかった。カルパインは幼虫時期には分泌タンパク質であることがわかった。

非観血的免疫診断法の開発：尿を用いた非観血的免疫診断システムをヒトの感染集団で検証し、尿中の虫卵抗原に対するIgGの検出によって血清による免疫診断とほぼ同等の診断精度が得られた。虫体抗原に対する尿中IgGは治療後1年以内に70%が陰性化することがわかり、治療効果の評価に応用できることがわかった。

CILIPの病態的意義：住血吸虫感染宿主に高濃度で産生誘導されるCILIPはProcoagulant活性を持ち、これは宿主寄生虫相互作用としての免疫応答と関連して宿主のマクロファージが産生していることを明らかにした。

感染モデル動物の開発：新しい感染モデル動物として検討したミニプタは日本住血吸虫に対して高い感受性を示し、宿主体内での虫の生育、多覚的臨床所見、特に超音波検査所見などがヒトの経過とよく相関することが観察された。

C-3. 国内の監視体制の維持強化

アジアの住血吸虫症の臨床と疫学：日本住

血吸虫症とメコン住血吸虫症との臨床的な異同を比較検討した。免疫診断に相互の住血吸虫抗原を用いることによる診断精度の比較では、前者をメコン住血吸虫症の診断に用いた場合に感度が低下した。超音波診断による肝脾病変のパターンでは日本住血吸虫感染の場合の特徴的所見がメコン住血吸虫症では出現せず、病態の違いが大きい可能性が示唆された。メコン住血吸虫症の疫学情報がこれまで未確定であったが、今年度の研究によってラオスからカンボジアにかけてのメコン川流域の各集落の感染率のデータが揃った。

リモートセンシングによる中間宿主貝モニタリング：山梨県の旧流行地の定点120カ所の調査を終了し、この数年間のミヤイリガイの生息動向資料が揃った。定点全体の貝の採集総数はほぼ一定であるが地点によってはより高密度化していたり貝の生息可能域と推測した地点での新たな貝の分布確認がなされたりした。監視に簡便且つ有用な方法と考えた。木更津の貝の分布についてもGISの資料解析を行ない、生息域の制約された状況を確認した。

D. 考察

本研究班では3つの異なったアプローチからの研究を平行しているため、各グループで得られた結果を互いの視点で解釈し、且つそこから全体としての結論を導くことが必要である。理想的寄生虫対策とは戦略として住民参加を得て病気の知識と予防法を教育し、それと同時に信頼性の高い評価システムから対策事業の効果を判定する。そして戦術面ではそのような事業のモニタリングに簡便、安全且つ安価な方法を用いることが理想的である。そのような全体像をめざして3つのサブグループをおいた。第一のアプローチでは寄生虫病流行が再興した場合の対応が考察されたが、流行地住民の対策に対するmobilizationの誘導を如何に進めるかが困難なポイントであるため病気に対する認識状況が評価された。興味深い点は住民が客観指標に表れない自覚愁訴をもっていたことで、対策事業立案に先立つKAP studyで病気の認識度合いを評価することによって戦略の立案が容易になる。学校保健を寄生虫対策に用いる動きが今日一般的であるが、今回の調査地域では衛生

教育の成果はかなり限定的であった。教育の実施面での問題解決を図る必要がある。流行の数式モデルは現時点でどの程度の信頼性を持つものかは判らない。今年度の研究でも異なった因子を設定することによって明らかに感染率の違いが生じることから、対策の成果を予測するモデルとなるとしたら今後の利用価値は高い。当面は疫学データとの整合性を調べる必要がある。

第2のアプローチで得られた成果は寄生虫対策の効率化とコンプライアンス向上などに利用される。特に非観血的免疫診断法は流行の実態調査を容易にするものであり、住民協力が得やすいことで疫学調査の信頼性も向上する結果をもたらす。未だヒト感染集団での実施例数が充分でないので異なった地域・流行状況下での実用性を検討して行く必要がある。ワクチンの当面の標的は家畜動物である。アジアの住血吸虫症は人獣共通感染症であるため保虫宿主対策としてワクチンの使用が他の住血吸虫症の場合よりもより現実性がある。今年度までに日本住血吸虫ワクチンとしてパラミオシンとカルパインの効果についてマウス及びブタで一定の効果を観察することができたので、細かな点の改良を加えた上でパイロット的に実施することが考えられてよい。これらの新しい武器をヒトで使用するに当たっては可能な限りヒトに近い動物感染モデルで検証することが必要であるが、従来、ヒトの住血吸虫感染を反映するモデル系がなかった。特に慢性感染病態はマウスでは得られない。今年度に明らかにしたミニブタの有用性は今後の診断、治療、ワクチンなどの予防法等の研究に活用して行くことで大きな進展を期待している。問題はミニブタの価格であるがそれでも実際の家畜動物よりも安価ではある。

第3のアプローチで整備が進んだ点は輸入住血吸虫症に対する医療レベルでの情報整備と従来情報が乏しかったメコン住血吸虫症流行情報の提供システムの立ち上げである。輸入住血吸虫症の血清診断を実施する場合、感染が疑われる住血吸虫種の抗原を用いることが望ましいが、ヘテロの抗原を用いた場合の問題店の整理がかなり進んだと考えている。また肝脾病変の超音波診断基準は WHO でもアジアの住血吸虫症に

関しては基準が確定しておらず、今回示唆されたように日本住血吸虫とは異なった基準がメコン住血吸虫症に必要ということになれば、まだまだ基準整備までの途は遠いとも思われた。一方、住血吸虫流行監視のファクターとして中間宿主貝の生息分布をモニターすることが情報として有用であるが、昨年来、山梨県の旧流行地で実施してきた定点設置に基づくリモートセンシングによる監視システムは日本国内の監視のみでなく、外国の流行地での活用も大いに期待された。実施上、いくつかの困難要因が考えられるがパイロットエリアでの使用を試みたい。

このように3つのアプローチの最終的な到達目標は「効率的な寄生虫対策法の整備」である。得られた成果をどのように活用するかは、問題とする寄生虫、その流行の疫学的特徴、流行地の社会背景などにより異なると考えるが、利用可能なものを取捨していけるように本研究班として情報を公開し、必要に応じて助言や提言を行なうことを進めて行きたい。

E. 結論

寄生虫対策の効率化という観点から本研究では以下の点を明らかにした。寄生虫対策に求められる住民参加の Mobilization を推進するための衛生教育は現状では効果の持続性に乏しく、実施面での改善を図る必要がある。効率的対策実施のために流行予測の数式モデル開発や GIS による住血吸虫中間宿主貝の簡便なモニタリングシステム、流行地住民のコンプライアンスを高めるための非観血的免疫診断法の導入などは実用化のメドが立つ状況まで進行したがなお方法論上の改善の余地を残した。しかしこれらはいずれも実用化が進めば極めて強力な武器となる。新規の対策方法開発からは日本住血吸虫ワクチンのうちパラミオシンの発病抑止効果の情報とカルパインに関する効果発現機構の新情報が加わった。これらワクチン効果の検討は当面動物実験を通じて行なわれるが、よりヒトに近いモデル動物としてクラウン系ミニブタの有用性が確認できた。マウスでは作製できなかった肝臓線維化など慢性症病変の導入も可能であることから今後の病態、診断の研究への応用が期待される。この他輸入住血吸虫症に

対する医療対応上の問題点の整理や新しい殺剤開発も進み、これらを駆使して新しい寄生虫対策戦略の構築が図られる見通しとなった。

F. 健康危険情報

日本国内での住血吸虫症流行がおこる可能性は現状では高くないが、山梨県の旧流行地のミヤイリガイ生息モニタリングからは一部の地域で依然高密度での生息が確認されている。輸入住血吸虫症としてのメコン住血吸虫が発生した場合は国内の医療機関では診断、特に免疫診断を実施する場合、正確な情報が得られない場合があるのでメコン住血吸虫抗原の保管施設で診断を確認する必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

Yoshida A, Maruyama H, Kumagai T, Amano T, Kobayashi F, Kuribayashi K & Ohta N. : Enhanced UV γ 1 tumor growth in CBF1 mice infected with *Schistosoma mansoni* due to modulation of Th1-like responses. *Parasitol Int*, 51 177-186 2002.

Kumagai T, El-Malky M, Maruyama H & Ohta N. : Effects of CpG oligo-nucleotides on *Schistosoma japonicum* infection in mice. *Nagoya Med J*, in press.

Itoh M, Ohta N., Kanazawa T, Nakajima Y, Sho M, Minai M, Zhou D, Chen Y, He H, He Y & Zhong Z. : Sensitive enzyme-linked immunosorbent assay with urine samples: A tool for surveillance of schistosomiasis japonica. *Southeast Asian J Trop Med Hyg*, in press

Asahi H., Ohmae H, Sy O S, Tanabe M, Matsuda H, Kanazawa T, Yamada K, Kajima J, Ohta N. : Detection of specific antibodies in the urine as markers of human *Schistosoma japonicum* infection. *Proceedings of 10th International Congress of Parasitology*, 303-305, 2002.

大前比呂思、朝日博子、千種雄一、松田 肇 : 輸入感染症としての日本住血吸虫症をどう捉えるか。 *Clinical Parasitology*, 13:148-150, 2002.

Jiwajinda S, Santisopasri V, Murakami A, Kawanaka M., Sugiyama H, Gasque M, Elias R, Blansard G. & Ohigashi H. : In vitro anti-tumor

promoting and ant-parasitic activities of the quassinoids from *Eurycoma longifolia*, a medical plant in Southeast Asia. *J. Ethnopharmacol*, 82, 55-58, 2002

川中正憲、森嶋康之 :

中国西部寄生虫紀行 (1) 青海省のエキノコックス。 *BMSA 会誌*, 14(2) : 15-20, 2002

川中正憲、森嶋康之 :

中国西部寄生虫紀行 (2) 日本住血吸虫症の元流行地 : 広西チワン族自治区の寄生虫症。 *BMSA 会誌*, 14(3) : 15-21, 2002

川中正憲、森嶋康之 : 中国西部寄生虫紀行

(3) 貴州省の土壌媒介線虫対策とパイオガストイレ。 *BMSA 会誌*, 14(4) : 19-25, 2003

Kojima S. : Schistosomiasis vaccine. In *Progress of Medical Parasitology in Japan*, ed. By Otsuru M, Kamegai S. & Hayashi S. in press.

Fukao T, Tanabe M., Terauchi Y, Ota T, Matsuda S, Asano T, Kadowaki T, Takeuchi T, Koyasu S. : PI3K mediated negative feedback regulation of IL-12 production in DCs. *Nature Immunology*, 3(9): 875-881, 2002.

Nihei N., Hashida Y, Kobayashi M. & Ishii A. : Analysis of malaria endemic areas on the Indochina Peninsula using remote sensing. *JIID*, 2002.

二瓶直子 : 感染症の拡大を予測する。 *地理*, 48, 74-83, 2003.

平山謙二 : 感染症の遺伝解析。 *医学のあゆみ*, 202(10): 877-882, 2002.

Hirayama K. : Genetic factors associated with development of cerebral malaria and fibrotic schistosomiasis. *Korean J Parasitol*, 40(4):165-72, 2002.

Matsumoto J. : Adverse effects of praziquantel treatment of *Schistosoma japonicum* infection: involvement of host anaphylactic reactions induced by parasite antigen release. *Int J Parasitol*, 32:461-471, 2002.

Matsumoto J and Matsuda H. : Mast cell-dependent histamine release after praziquantel

treatment of *Schistosoma japonicum* infection: implications for chemotherapy-related adverse effects. *Parasitol Res*, 88: 888-893, 2002.

Matsumoto J, Sinuon M, Duong S and Matsuda H. : The first reported cases of canine schistosomiasis mekongi in Cambodia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 33:458-461, 2002.

Hirose Y, Kirinoki M and Matsuda H. : Efficacy of administration of praziquantel on 2 days 2 weeks apart against *Schistosoma japonicum* eggs in mice. *Parasitol Int*, in press.

2.学会発表

Ohta N & Colley DG. : Schistosomiasis and other zoonotic parasitic diseases: Prospect for control. 7th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim, October 31-November 1, 2002, Shanghai.

Ohta N. : Research on vaccine development and new prophylactics in Japan. The Centenary Symposium for Discovery of *Schistosoma japonicum*, March 30, 2003, Kurume.

Aoki Y, Watanabe Y, Muhoho N D, Kiliku F N, Ohki T. & Katsumata T. : Inst of Trop Med, Nagasaki Univ.; CMR, Kenya Medical Research Institute :Hidden morbidity of schistosomiasis haematobia. 37th Joint Conference on Parasitic Diseases. The Japan-United States Cooperative Medical Science Program. August, 2002. Nagasaki

渡部幹次、野口 満、野俣浩一郎、N D Muhoho、青木克己 : ビルハルツ住血吸虫感染の排尿機能に与えるインパクト。第43回日本熱帯医学会大会、2002年9月、高知

朝日博子, Osman A, Lo Verde P T & Stadecker M J. : 新規に見い出されたマンスン住血吸虫卵由来のヘルパーT細胞刺激抗原分子150/166-kDa成分の免疫学的、分子学的特性。第71回日本寄生虫学会大会、2002年3月、伊勢原

Asahi H, Ohmae H, Sy O S, Tanabe M, Matsuda H, Kanazawa H, Yamada H, Kajima J & Ohta

N. : Characteri of specific antibodies in the urine as markers of human *Schistosoma japonicum* infection. 10th International Congress of Parasitology, August, 2002, Vancouver, Canada.

Asahi H & Stadecker M J. : Analysis of egg antigens inducing hepatic lesions in shistosome infection. Centenary symposium to Celebrate the Discovery of *Schistosoma japonicum*. 日本住血吸虫発見100年記念国際シンポジウム、2003年3月、久留米

Kawanaka M & Ohigashi H. : Laboratory evaluation of plant molluscicides using *Oncomelania nosophora*. Emerging & Reemerging Parasitic Zoonosis in the Pacific Rim, October, 2002, Shanghai.

川中正憲、坂本京子、杉山 広、森嶋康之 : ミヤイリガイの実験室内殺貝効果試験法の改良。第62回日本寄生虫学会東日本大会、2002年10月、新潟

Kojima S.: Overview: from the horse experimentation by Prof. Akira Fujinami to paramyosin. Centenary Symposium to Celebrate the Discovery of *Schistosoma japonicum*. 72nd Annual Meeting of the Japanese Society of Parasitology, April 2003, Kurume.

田邊将信、永田博司、関塚永一、奈良武司、宮崎耕司、谷 正人、小川 勝、小泉 周、三好俊一郎、金子章道、青木 孝、北 潔、竹内 勤 : マンソン住血吸虫卵性肉芽腫に存在する痙攣誘発リポ蛋白(CILIP)の作用発現機構。第71回日本寄生虫学会、2002年3月、伊勢原

Tanabe M. : The induction of convulsion-inducing lipoprotein (CILIP) by *Schistosoma mansoni* infection is dependent on PTK and PKC activation. 第72回日本寄生虫学会、2003年3月、伊勢原

Asahi H, Ohmae H, Sy O S, Tanabe M, Matsuda H, Kanazawa H, Yamada H, Kajima J. & Ohta N. : Detection of specific antibodies in the urine as markers of human *Schistosoma japonicum* infection. 10th International Congress of Parasitology, August, 2002, Vancouver, Canada.

Fukao T, Tanabe M, Terauchi Y, Ota T, Matsuda

S, Asano T, Kadowaki T, Takeuchi T & Koyasu S.: PI3K-Mediated Negative Feedback Regulation of IL-12 Production in Dendritic Cells. 第32回日本免疫学会、2002年12月.

Yamazaki M, Okada E, Matsumoto T, Okamoto R, Nakamura T, Kanai T, Tanabe M, Takeuchi T & Watanabe M.: Transfer of highly interleukin-7 receptor expressing mucosal T cells into immunodeficient mice induced chronic severe colitis. 第102回 Annual Meeting of the American Gastroenterological Association, 2002年5月.

Yamazaki M, Okada E, Okamoto R, Nakamura T, Kanai T, Tanabe M, Takeuchi T, Ishikawa H & Watanabe M.: Transfer of highly interleukin-7 receptor expressing mucosal T cells into immunodeficient rag2^{-/-} mice induced chronic severe colitis. 第11回 International Congress of Mucosal Immunology, 2002年6月.

二瓶直子、梶原昭徳、斉藤康秀、桐木雅史、千種雄一、松田肇、太田伸生：GPS/GISによる甲府盆地のミヤイリガイ分布監視体制について。第71回日本寄生虫学会大会、2002年3月、伊勢原

二瓶直子、小林睦生、関根智子、高阪宏行、土井睦雄、神谷正男：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。第71回日本寄生虫学会大会、2002年3月、伊勢原

小林睦生、前鼻三雄、二瓶直子、栗原毅：北海道留辺蘂町で見られた戦後マラリアに関する考察。第71回日本寄生虫学会大会、2002年3月、伊勢原

小林睦生、二瓶直子、佐々木年則、栗原毅：メッシュ気候図による東北地方のヒトスジシマカの分布解析。第54回日本衛生動物学会、2002年4月

橋田良彦、二瓶直子、小林睦生、高阪宏行、石井明：インドシナ半島のマラリア分布指標としての植生指数NDVIについて。第54回日本衛生動物学会、2002年4月

二瓶直子、吉田政弘、小林睦生、金田弘幸、

嶋村竜太、高阪宏行、安居院宣昭：地理情報システムによる大阪府におけるセアカゴケグモの分布解析。第54回日本衛生動物学会、2002年4月

二瓶直子、小林睦生、斉藤康秀：モバイルシステムによるハマダラカ類の採集地点の図化と地理情報収集の試み。第54回日本衛生動物学会東日本支部大会、2002年9月

二瓶直子：GISは流行発生予測に使えるか。「節足動物媒介性疾患と媒介動物の防圧戦略」集会、2002年10月

小林睦生、Sudipta Roychoudhury、二瓶直子、佐々木年則：デング熱媒介蚊の防除に応用するためのAscogreggorina原虫に関する予備的研究。日米医学協力寄生虫疾患専門部会日米合同会議、2002年8月、長崎

小林睦生、二瓶直子、栗原毅：北海道北東部の能取湖畔で採集されたセスジヤブカの産卵について。第54回日本衛生動物学会東日本支部大会、2002年9月

佐々木年則、小林睦生、二瓶直子、飯塚信二 Jetsumon Sattabongkot、坪井敬文：VecTestによるハマダラカ唾液腺中のスポロゾイトの検出。第54回日本衛生動物学会、2002年4月

K Hirayama, M Kikuchi, R Ubalee, H Chen, T Yin, X Gu, S Zhang, H Yuan.: Synergistic effect of two susceptible genetic markers, hla-drb5*0101 and il-13p-a/a, on the development of post-schistosomal liver fibrosis. 10th International congress of Parasitology, Vancouver, Canada, 2002年8月

菊池三穂子、渡部幹次、M Raafat Taha、平山謙二、青木克己：日本住血吸虫感染モデルとしてのミニブタ。第2回ミニブタ研究会、2002年11月、東京

Yu Chuanxin、菊池三穂子、Zhu Yinchang、Yin xeren、平山謙二：日本住血吸虫（中国株）のcDNAライブラリーからの主要抗原遺伝子の単離。第44回日本熱帯医学会大会、2002年11月、高知

菊池三穂子,久保達也, Ratawan Ubalee, Xiaojun Zeng, Honggen Chen, 平山謙二 : 日本住血吸虫感染後肝線維化症と相関を示した IL-13 プロモーター遺伝子多型の機能解析。第 32 回日本免疫学会総会、2002 年 12 月、東京

渡部幹次、菊池三穂子、M. Raafat Taha、平山謙二、青木克己 : 日本住血吸虫感染モデルとしてのミニプタ。日米寄生虫研究部会 2003 年 1 月、名古屋

Chigusa Y, Ohmae H, Otake H, Matsumoto J, Kirinoki M, Sinuon M, Saem C, Socheat D, Ilagan EJ, Barzaga NG, Kawabata M, Hayashi M and Matsuda H : Comparison of ultrasonography and liver function tests of *Schistosoma mekongi* and *S. japonicum* infection. 3rd RNAS workshop, May, 2002, Phnom Penh.

Chigusa Y, Ohmae H, Otake H, Kirinoki M, Ilagan EJ, Barzaga NG, Kawabata M, Hayashi M and Matsuda H : Follow up studies on liver ultrasonography of schistosomiasis japonica with special emphasis on relationship with frequency of praziquantel treatment in the Philippines. 3rd RNAS workshop, May, 2002, Phnom Penh.

Chigusa Y, Ohmae H, Sinuon M, Saem C, Socheat D and Matsuda H : Comparison of ultrasonographic images of liver and spleen by age group and the relationship between frequency of praziquantel treatment and ultrasonographic images of patients suffering from *Schistosoma mekongi* infection in Kratie Province, Cambodia. 37th Joint Conference on Parasitic Diseases, August, 2002, Nagasaki.

Matsumoto J and Matsuda H : Adverse effects of praziquantel treatment of schistosomiasis japonica: involvement of host anaphylactic reactions due to parasite antigen release. 37th Joint Conference on Parasitic Diseases, August, 2002, Nagasaki.

Matsumoto J and Matsuda H : Mast cell-dependent histamine release after praziquantel treatment of *Schistosoma japonicum* infection: implications for the development of chemotherapy-associated adverse effects. 第 62 回日本寄生虫学会東日本大会、2002 年 10 月、新潟市

大前比呂思, 朝日博子, 千種雄一, 松田肇 : 輸入感染症としての日本住血吸虫症をどう捉えるか。第 13 回日本臨床寄生虫学会大会、2002 年 6 月、浦安市

松本淳, 松田肇 : 日本住血吸虫症のプラジカンテル治療にともなう副作用の発現機序 : 虫体抗原の放出により惹起される宿主アナフィラキシー様反応の関与。第 10 回分子寄生虫学ワークショップ、2002 年 8 月、草津市

佐々木由利, 桐木雅史, 瀬尾直美, 松田肇, 古田恵美子 : 日本住血吸虫感染に差のある二地域のミヤイリガイの体液性防御因子。日本比較免疫学会第 14 回学術集会、2002 年 8 月、名古屋市

Asahi H, Ohmae H, Sy O, Tanabe M, Matsuda H, Kanazawa T, Yamada K, Kajima J and Ohta N : Detection of specific antibodies in the urine as markers of human *Schistosoma japonicum* infection. 10th International Congress of Parasitology, 2002 年 8 月, Vancouver, Canada

佐々木由利, 桐木雅史, 瀬尾直美, 古田恵美子, 松田肇 : 日本住血吸虫感受性および抵抗性ミヤイリガイ血球の貪食能。日本動物学会第 73 回大会、2002 年 9 月、金沢市

千種雄一, 大前比呂思, Ilagan E, Barzaga N, Sinuon M, Saem C, Socheat D, 川端真人, 松田肇 : フィリピンの日本住血吸虫症患者とカンボジアのメコン住血吸虫症患者の年齢階層別のプラジカンテル治療回数と肝臓及び脾臓の超音波所見の比較。第 43 回日本熱帯医学会大会、2002 年 11 月、高知市

大前比呂思, 千種雄一, 大竹英博, Sy O, Ilagan E, Sinuon M, Socheat D, 松田肇 : 日本住血吸虫症とメコン住血吸虫症における腹部超音波検査所見の比較。第 43 回日本熱帯医学会大会、2002 年 11 月、高知市

大橋眞, 松本淳, 桐木雅史, Kitikoon V, 松田肇 : メコン住血吸虫卵由来の白血球遊走因子。第 43 回日本熱帯医学会大会、2002 年 11 月、高知市

大橋眞, 松本淳, 桐木雅史, Kitikoon V, 石井明, 松田肇: 住血吸虫虫卵由来の白血球遊走因子、メコン住血吸虫と日本住血吸虫の比較。第72回日本寄生虫学会大会、2003年3月、久留米

桐木雅史, 松本淳, Sinuon M, Socheat D, Portillo L, Kitikoon V, 千種雄一, 松田肇: メコン住血吸虫症と日本住血吸虫症の抗体応答および抗原の比較。第72回日本寄生虫学会大会, 2003年3月、久留米

千種雄一, 大前比呂思, Sinuon M, Saem C, Socheat D, 松田肇: カンボジアのメコン住血吸虫症患者の年齢階層別のプラジカンテル治療頻度と肝臓及び脾臓の超音波画像の比較。第72回日本寄生虫学会大会、2003年3月、久留米

大前比呂思, 千種雄一, Sy O, Portillo G, 朝日博子, 田邊将信, 松田肇: 日本住血吸虫症における肝線維化マーカーの有用性。第72回日本寄生虫学会大会、2003年3月、久留米

Matsuda H, Matsumoto J, Kirinoki M, Tsuji M, Pholsena K, Sinuon M, Socheat D, Kitikoon V and Yasuraoka K: Current status of schistosomiasis mekongi in Laos and Cambodia. Centenary Symposium to Celebrate the Discovery of *Schistosoma japonicum*, 2003年3月、久留米

Moji K, Karama M, Muhoho N, Shimada M, Aoki Y.: Schistosomiasis control in developing countries: Sensitivity and specificity of self-diagnosis after treatment. 13th Congress of The European Anthropological Association, September, 2002, Zagreb

Moji K, Karama M, Muhoho N, Shimada M, Aoki Y.: Schistosomiasis control in developing countries: Re-infection and symptoms after treatment. 7th Nagasaki-Singapore Symposium on Medical Sciences, October, 2002, Nagasaki

門司和彦, Karama M, Muhoho N, Chwaya H, Ali-Foum, Khamis S, 安高雄治, 嶋田雅暁, 青木克己: ケニア沿岸州およびザンジバルの小学校におけるビルハルツ住血吸虫症簡易質問表調査。第43回日本熱帯医学会大

会、2003年11月、高知

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし。

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

日本住血吸虫の予防法開発に関する研究

分担研究者 太田伸生 名古屋市立大学大学院医学研究科教授

研究要旨 日本住血吸虫の新規の感染予防法としてカルパインワクチンおよび N89 投与による感染予防の開発について検討した。カルパインワクチンはマウスにおいて有意な感染防御効果が得られたことに基づいてブタで試験したところ、感染虫体数の有意な減少はなかったが宿主臓器内の虫卵数で有意な抑制効果が観察された。しかし投与方法、投与量、アジュバント等についてさらに検討が必要と思われた。ブタの感染実験の経過においてカルパインに対する抗体産生のブースター効果が見られておらずワクチン実用化に向けた問題点と考えられた。ワクチン効果発現機序を検討する目的でカルパインの組織分布を調べ、カルパインがセルカリア期には分泌タンパク質として放出されていること、抗体による分泌カルパインの阻害によって虫体排除効果があることなどの新知見を得た。住血吸虫の新規予防薬のスクリーニングをおこなった結果、Artemisinin によって約 70%、N89 の投与によって約 50%の回収虫体数の減少が認められ、それぞれ新規予防薬として有望であることが明らかになった。

A. 研究目的

住血吸虫症対策の新しい武器としてワクチンや予防薬など生物学的方法論によるアプローチを検討することにした。前年度までに日本住血吸虫カルパインを用いたワクチン開発の基礎実験をおこなってきたが、疾病対策における実用化の当面の標的である大型家畜動物としてブタで効果が見られるか否かを検討し、近い将来の実用を前提とした準備の進展に努めることとした。さらにワクチンの効果発現機序を明らかにすることは住血吸虫症の新しい予防・治療薬開発の標的検索にも直結することから、カルパインの組織分布をモノクローナル抗体を用いて検討した。一方、住血吸虫の予防薬として最近ではマラリアの治療薬である Artesunate や Artemether などのチンハオス誘導体が極めて有効なことが報告されている。その効果発現機構の詳細は未だ不明であるが、実用化の点では投与量や回数、さらにコストの改善が必要な状況である。今年度はより安価で安全性の高い薬剤をスクリーニングして今後の予防対策への応用を進めることも目標として加えた。

B. 研究方法

大腸菌にて作製した日本住血吸虫のリコンビナントカルパインを用いてブタにおける防御効果を検討した。用いたのは GST 融合タンパクであったので GST-カルパイン投

与群のほかは無処置群、アジュバントのみの処置群、GST 単独投与群の 3 種のコントロール群を含む、計 4 群を各群 5 頭ずつで設定した。アジュバントはすべて Complete/Incomplete Freund adjuvant を用いた。リコンビナントカルパインまたは 3 種の対象群を 2 週間間隔で計 4 回皮下免疫した後で日本住血吸虫中国株のセルカリア 500 隻を経皮感染させ、感染 8 週で虫体回収数、♀1 匹あたりの産卵数、および総虫卵数を観察した。

カルパインの住血吸虫体内での発現を観察するためにリコンビナントカルパインに対するモノクローナル抗体(KG-2E11)を作製し、これを用いた免疫組織化学と蛍光抗体法で検討した。日本住血吸虫とマンソン住血吸虫の雌雄の成虫体およびそれぞれの人工的シストソミューラを材料に用いた。カルパインが分泌タンパクである可能性を試すためにスライドガラス上でセルカリアを室温で 1 時間放置して遊泳させ、スライドガラス上に残されたカルパインを蛍光抗体で検出した。

住血吸虫予防薬のスクリーニングとして Artemisinin および類似の活性が期待される N89 を経口または腹腔内投与で BALB/c マウスに与え、日本住血吸虫のセルカリア 40 隻を感染させて 8 週後に肝門脈環流法にて虫体を回収した。回収虫体数及び虫卵数を比較検討して薬効評価とした。

(倫理面への配慮)

マウスを用いた動物実験は名古屋市立大学の動物実験倫理規定に沿って計画し、実験計画は動物委員会による審査を経て承認された。ブタの感染実験は中国湖南省の規定に従って実施した。いずれの場合も実験動物の苦痛を可能な限り軽減する条件下で実施した。

C. 研究成果

ブタを用いた日本住血吸虫カルパインによるワクチン効果を検討したが、回収虫体数の比較ではアジュバントコントロールと比較して GST-カルパイン免疫群では有意な減少は観察できなかった(15.0% vs 24.0%)。しかし虫卵数の比較では GST-カルパイン群で♀1匹あたりの産卵数および総虫卵数の減少が認められた(♀1匹あたりの産卵数、682,666 for Adjuvant alone vs 149,228 for GST-calpain; 総産卵数、30,867,739 for Adjuvant alone vs 7,999,166 for GST-calpain)。特に総産卵数の減少は統計学的に有意差を認めた($p < 0.05$)。

住血吸虫の異なった発育ステージにおけるカルパインの発現を比較した所、成虫では上皮、間質などに発現を認めた。しかしマウスの実験で得られた anti-fecundity 効果を説明するような生殖器での発現を観察することはできなかった。一方、セルカリアを調べた所、尾部断面と分泌腺開口部に強いシグナルを観察した。特に後者の所見からカルパインが分泌されている可能性を考えてスライドガラスの幼虫との接触痕を抗体で染めたところ、無数の反応シグナルが観察された。(図-1)。このことから住血吸虫のカルパインは分泌腺からカルパインを分泌しながら宿主への侵入をおこなっていることが明らかとなった。

薬剤による日本住血吸虫の予防効果をスクリーニングした結果、Artemisinin が経口投与にて極めて強力な感染予防効果を示した。一方でチンハオスと同様に構造上 endoperoxidase 活性を持つことが予想される N89 の腹腔内投与でも約 50%の感染予防効果が観察された。

D. 考察

蠕虫ワクチンに期待する効果として感染阻害効果と発病阻害効果がある。日本住血

吸虫カルパインはマウスでの実験によりその両方の効果を持つユニークなワクチン候補タンパク質であることをこれまでに明らかとした。今回のブタでのワクチントライアルではカルパインの感染防止効果を確認することはできなかったが産卵抑制効果が観察された。従ってその発病抑制の意味でのワクチン効果はブタのような大型家畜動物でも見られるとあってよい。最終的な結論は病理組織学的観察を待つ必要があるが、現在その検討を急いでいる。ブタで感染抑制効果が認められなかった点は今後の検討に委ねたいが、カルパイン免疫ブタでは抗カルパイン抗体価の上昇を認めているので至適な免疫条件であったか否か、投与ルートでの再検討、用いたりコンビナント抗原に問題がなかったかなどを今後検討する必要がある。さらに用いたりコンビナント抗原は日本住血吸虫の山梨株に由来するものである一方で感染実験に用いた住血吸虫は中国湖南株であったことも問題であったかも知れない。用いたアジュバントは FCA であり、ヒトでの使用はできないのでアジュバントの選定も課題として残った。

一般に住血吸虫ワクチンではシストソミューラのステージで殺滅効果を示すことが推定されているが、カルパインもセルカリアからシストソミューラのステージで分泌タンパクとして機能している事実はこのワクチンの効果発現機構の解明に有用な情報を与えるものであった。カルパインの機能自体は未知の点が多く残されているが、プロテアーゼであることを考えると幼虫ステージでの宿主組織への侵入の過程で重要な役割を持つことが考えられる。そこでカルパインをブロックすることでワクチン効果が期待され、予備実験の段階ではあるが抗カルパイン抗体投与によって宿主肺からのシストソミューラ回収数に 44%の減少効果を観察している。この事実を確認できたならばさらに新しいコンセプトでの予防・治療薬開発にも利用できると考えている。

新規住血吸虫予防薬では中国を中心にチンハオス誘導体の研究が進んでいるがコストの点で解決すべき問題が大きい。われわれも Artemisinin が強い住血吸虫感染予防効果を持つことを確認したが同剤も価格の点では多くの途上国で実用に供するには困難

といわなくてはならない。チンハオス誘導体と同様にマラリアの治療薬として期待される N89 にも約 50%の予防効果が認められた。コスト的にはチンハオス誘導体と比べて N89 は大きなメリットをもっている。現状では至適投与条件や類似構造体との比較などの点で未解決のことが多いが、今後の検討を通じて実用化に向けた情報整備を急ぐ予定である。

E. 結論

住血吸虫対策のための新しい武器の開発としてワクチンの検討を進めた。カルパインの日本住血吸虫ワクチンとしての有用性をブタで検討した結果、少なくとも発病抑制効果を確認することができた。カルパインワクチンの効果発現機序に関する興味ある知見が得られ、少なくとも一つのエフェクター機序が明らかになった。これらワクチンの開発は当面は大型家畜動物など保虫宿主対策として実用をめざし、また Artemisinin や類似構造体を新規予防薬としてヒトでの疾病対策に用いる方法の開発を併せることによって新しい住血吸虫症対策の戦略展開が可能となるものと考えている。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Yoshida A, Maruyama H, Kumagai T, Amano T, Kobayashi F, Kuribayashi K & Ohta N.

Enhanced UV γ 1 tumor growth in CBF1 mice infected with *Schistosoma mansoni* due to modulation of Th1-like responses. *Parasitol Int*, 51 177-186 2002.

Kumagai T, El-Malky M, Maruyama H & Ohta N. Effects of CpG oligo-nucleotides on *Schistosoma japonicum* infection in mice. *Nagoya Med J*, in press.

Itoh M, Ohta N, Kanazawa T, Nakajima Y, Sho M, Minai M, Zhou D, Chen Y, He H, He Y & Zhong Z. Sensitive enzyme-linked immunosorbent assay with urine samples: A tool for surveillance of schistosomiasis japonica. *Southeast Asian J Trop Med Hyg*, in press

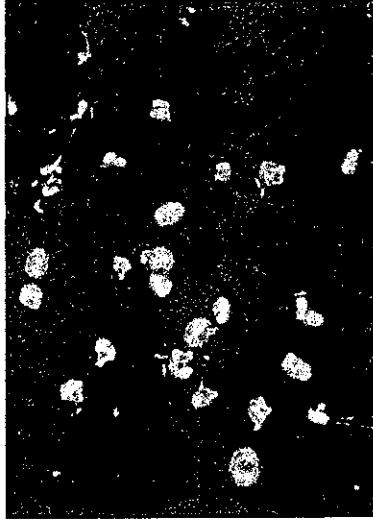
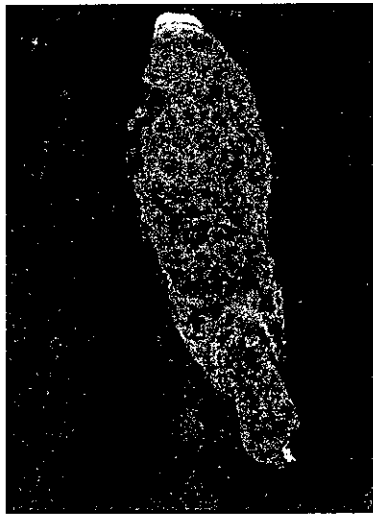
2. 学会発表

Ohta N & Colley DG. Schistosomiasis and other zoonotic parasitic diseases: Prospect for control. 7th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim, October 31-November 1, 2002, Shanghai.

Ohta N. Research on vaccine development and new prophylactics in Japan. The Centenary Symposium for Discovery of *Schistosoma japonicum*, March 30, 2003, Kurume.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。



機械的シストソミュラーの両端とその接触部位にみられた抗カルパインモノクローナル抗体との反応性

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

住民の住血吸虫症に対する認識を高める方法の開発：
住民に受け容れられる病害の新しい測定法の開発に関する研究

分担研究者 青木克己 長崎大学熱帯医学研究所教授

研究要旨

流行地における住血吸虫症対策を効果的に進めるにあたり、住民の疾病認識を高めることが必要である。そのために住民が住血吸虫症を自らの問題と認識することを誘導していくための病害性の客観的な evidence を集める事にした。平成 12 年度は尿中の上皮細胞の悪性度を細胞診で調べ、ビルハルツ住血吸虫症流行地で膀胱癌の出現頻度が高いこと(日本の約 100 倍)を確認した。平成 13、14 年度はビルハルツ住血吸虫感染による排尿障害の有無を、自覚症状に関するアンケート調査と尿流量計で測定した。その結果、①流行地に住む子供は非流行地の子供に比し、残尿感、排尿切迫、頻尿など種々の自覚症状を訴えること、②流行地の子供は尿流量計の測定結果、尿意をもよおしてから排尿までの時間が短いこと、③しかし他の排尿機能は正常であること、が明らかとなった。ビルハルツ住血吸虫感染によっておこる膀胱癌、排尿困難は、これまで住民に住血吸虫症の重篤さを啓蒙する手段として使用されていない。これらの指標は住民が自ら訴えている病害であるので、これらを衛生教育にとり込むことで、対策計画への住民参加が高くなることが期待される。

A. 研究目的

住血吸虫症対策計画を成功させるには、いかなる対策手段を用いようと、地域の住民の対策計画への参加を高める事が不可欠である。

住民参加を得る唯一の手段は、住民への衛生教育、その中でも特に住血吸虫感染による病害についての教育である。本研究は、住民に住血吸虫症が重篤な疾病で対策の必要性が高いことを理解してもらうには、住民にどのように病気を説明すればよいかを研究することを目的とする。本研究は、ビルハルツ住血吸虫症の流行地、ケニア沿岸州のクワレ地区で行われている。

長年にわたるケニアでの調査研究から、我々は、住民に住血吸虫症を正しく認識してもらうには、現在我々が調査に用いている病害測定指標である血尿と膀胱の超音波画像を用いての説明では不十分であることを知った。

そこで本研究では住血吸虫症に関しての住民の訴えを尊重した病害の調査を開始した。

平成 12 年度に、住民への KAP (Knowledge, Attitudes and Practices) 調査結果が示した住民の訴え「住血吸虫感染で人は死ぬので、住血吸虫症は怖い疾患である」によって実施した流行地における膀胱癌調査成果を報告した。

平成 13 年度からは、住民が住血吸虫感染によって悩むと訴える「排尿困難」の調査を開始した。平成 13 年度にこの調査の初期研究成果を報告した。本年度は排尿困難に関するより広範囲な研究結果を報告する。

住民が訴える住血吸虫感染に伴う病害が医学的に定量的に測定されれば、これらの訴えを科学的に住民に説明でき、対策計画への住民参加を高めることが可能となる。

B. 研究方法

ケニア沿岸州クワレ地区（ビルハルツ住血吸虫症流行地）と中央州キアンブ地区（非流行地）で主に学童（男子のみ）の排尿困難の調査を下記の3方法で行った。

- 1) 排尿困難に関する自覚症状のアンケート
International Prostate Symptoms Score(I-PSS)を用いた。I-PSSは、残尿感、頻尿、尿の途切れ、排尿切迫、尿線の細さ、排尿のための力み、夜尿、の7項目の質問表よりなる。
- 2) 尿流量計を用いた排尿パターンの測定
携帯用尿流量計を用いて、尿意をもよおしてから排尿までの時間、排尿時間、尿流速など、多岐に渡る排尿機能を定量的に測定した。
- 3) 残尿量の測定
超音波を用いて、上記尿流量計測定を終えた被験者の膀胱内残尿量を測定した。

〔倫理面への配慮〕

本研究の概要は、ケニア中央医学研究所のScientific CommitteeとEthical Committeeで審議され、調査研究許可が与えられている。被験者への説明は、研究の目的、期待される成果、本研究の住血吸虫症対策への貢献、協力内容などを含み、共同研究者のケニア中央医学研究所寄生虫部主任 Mr. Muhohoが行った。被験者への説明に先立ち、地域の行政官と学校の職員への説明もなされている。住血吸虫感染者に対しては、調査後直ちにプラジカンテルによる治療を行った。

C. 結果

1) I-PSSを用いた排尿困難アンケート調査結果

非流行地キアンブ村の男子学童40名、住血吸虫症流行地クワレ地区の男子学童82名の中で、排尿困難の自覚症状を有すと考えられる学童(I-PSS総点8点以上)の数は、前者で4名、後者で45名で、明らかに流行

地に住む多くの学童が何らかの排尿困難症状を呈している事が明らかとなった。排尿困難の7つの項目ごとについて比較しても、全ての項目で流行地の学童が高い値を示した。

尚、被験者の年齢・体重は、非流行地と流行地に住む学童の間で違いはなかったが、身長と血圧は流行地の学童が低かった。

- 2) 尿流量計による排尿パターンの測定結果
排尿パターン(排尿機能)の解析に、a) 尿意をもよおしてから排尿までの時間(T.Delay)、b) 排尿開始より排尿終了までの時間(T.Void)、c) T.Voidより排尿が途切れた時間を差し引いた時間(T.Flow)、d) 排尿開始より尿流速が最高値に達すまでの時間(T to Q Max)、e) 尿流速最高値(Q Max)、f) 平均流量(Q.Avg= V.Void/T.Flow)、g) 全排尿量(V.Void)、h) 計測時間(T.Total)を用いた。非流行地学童40名と流行地学童82名の各調査項目(a~h)の値には有意の差はみられなかったが、流行地学童のT.Delayは非流行地学童に比し、短縮する傾向がみられた。

上記解析に加え、尿量と尿流速の関係を流行地と非流行地の学童で比較したが、両者の間で違いはみとめられなかった。

大人(男性)でも同様の観察を行った(非流行地住民37名、流行地94名)。流行地住民のT.Void、T.Flowは非流行地住民に比べ有意に延長し、T.Delayは短縮する傾向がみられた。

3) 超音波による膀胱残尿量の測定

非流行地学童40名の残尿量は、平均17.9mlで、流行地学童82名の残尿量は平均28.8mlで両者で差はなかった。

D. 考察

I-PSSを用いたアンケート調査結果は、明かにビルハルツ住血吸虫感染により人々は何らかの排尿困難を訴えることが明らかとなった。しかし排尿困難は自覚症状のため、定量的に測定することが出来ない。自覚症状と他

覚的病変との関係を明らかにする研究が必要である。そのために我々は尿流量計と超音波を用いて膀胱の機能を調べた。期待に反して流行地の学童の膀胱機能は非流行地の学童と全く同じであった。唯一注目されるのは、尿意をもよおして排尿までの時間が流行地の学童で短い傾向があることである。このことは刺激的排尿障害を示しているのであろう。虫卵の尿路への沈着が刺激症状の原因と考えられる。

大人では子供にみられた尿意から排尿までの時間の短縮に加え、排尿時間の延長がみられた。この変化は、しかし、住血吸虫感染によるものとは結論しにくい。理由は前立腺肥大の検診を併せて行っていないからである。

以上の結果から、ビルハルツ住血吸虫に伴う排尿困難は、下記のごとくまとめることが出来るであろう。

住血吸虫感染により、住民は何らかの排尿困難を訴える。その多くは刺激性排尿困難であろう。しかしこれらの自覚症状を定量的に測定することは出来ず、また尿流量計による排尿パターン観察、超音波による残尿量測定によって裏付ける事も出来なかった。

結論として、ビルハルツ住血吸虫感染学童は、種々の排尿困難の自覚症状には悩まされるが、排尿機能は正常に保たれているといえる。

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) Aoki, Y., Watanabe, Y., Muhoho, N.D., Kiliku, F.N., Ohki, T., & Katsumata, T. (Inst. of Trop. Med., Nagasaki Univ.; CMR, Kenya Medical Research Institute):
Hidden morbidity of schistosomiasis haematobia.
37th Joint Conference on Parasitic

Diseases.

The Japan-United States Cooperative Medical Science Program.

August, 2002. Nagasaki

2) 渡部幹次、野口 満、野俣浩一郎、N.D.Muhoho、青木克己 (長崎大・熱研、医学部；ケニア中央医学研究所)：

ビルハルツ住血吸虫感染の排尿機能に与えるインパクト

第43回日本熱帯医学会大会

2002年9月 高知

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

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：
住血吸虫症の簡易診断法の開発

| | | | |
|-------|-------|----------|-------|
| 分担研究者 | 朝日 博子 | 国立感染症研究所 | 主任研究官 |
| 研究協力者 | 大前比呂思 | 筑波大学 | 講師 |
| 研究協力者 | 金澤 保 | 産業医科大学 | 教授 |

研究要旨

[1] ヒト日本住血吸虫症における尿中特異抗体の特徴：

ヒト日本住血吸虫症を non-invasive な検査法を用いて診断する簡便な方法を開発することを目して、第一段階として感染者から得た尿中の抗体産生状況を調べ、日本住血吸虫感染者の尿中には診断に用いることが十分に期待できる程度の高い濃度の抗体が検出出来ることを先に報告した。抗体産生の特徴としては、1) 高い *Schistosoma japonicum* 成虫体 (SWAP) および 虫卵 (SEA) に対する IgG 抗体、2) SEA に対する低い IgA 抗体、3) SWAP に対する中程度の IgA 抗体、4) 幾つかのサンプルにおける高い 抗 SWAP および 抗 SEA IgM 抗体の検出であった。これらのことから更に日本住血吸虫感染者尿中の特異抗体の特徴を、抗体クラス、排出虫卵数、年齢、病態等との相互関連や治療後の動態の観点から詳細な比較検討を行った。

[2] ヒト日本住血吸虫症の免疫診断へのレコンビナント蛋白抗原の応用：

S. japonicum 成虫体の tegument に局在し、22.6kDa の理論上分子量をもつ蛋白のレコンビナント抗原 (rSJ22.6) のヒト日本住血吸虫症の免疫診断への応用を試みた。その結果、本抗原は尿中特異抗体の検出に優れることが判明した。また rSJ22.6 に対する抗体価は尿中の抗 SWAP および抗 SEA 抗体と強い相関を示し、更に治療後急速に陰性化する特徴を有していた。このレコンビナント蛋白抗原は尿中の抗体検出を用いた簡易免疫診断法への応用が充分期待出来ると考えられた。