

## [1] ヒト日本住血吸虫症における尿中特異抗体の特徴

### [1] A. 研究目的

慢性の経過を辿り、この慢性期が最も重要な病因となる住血吸虫症では、感染の Intensity と Morbidity を的確に評価することが望まれる。本研究ではヒト日本住血吸虫症を non-invasive な検査法を用いて診断する方法に尿中に検出される特異抗体を利用するためにその特徴を詳細に調べ、抗体のクラス、排出虫卵数、年齢、病態マーカーとの相互関連や治療後の動態の観点から詳細な解析を行った。

### [1] B. 研究方法

日本住血吸虫の流行地であるフィリッピン国レイテ島にある Schistosomiasis Control and Research Hospital (SCRH) に住血吸虫症治療のために来院した患者から、便、血清、尿等を採取し、検便によって *S. japonicum* 虫卵の確認できたものを active 感染と判定した。この陽性者から得た尿中における抗 *S. japonicum* adult (SWAP) および抗 *S. japonicum* 虫卵抗体 (SEA) をビオチン-アビジン系の高感度酵素抗体法を用いて測定した。調べた抗体は IgG, IgA, IgM, である。尿は 1:10-20 に、血清は 1:

4000 に希釈して用いた。また加えて、血清を用いて組織線維化のマーカーの測定およびその他の生化学的検査を実施した。一部の人たちについては、投薬後の検体も採取して投薬前後の抗体の動態も測定した。

### (倫理面への配慮)

血液および検体は、提供者が自由意志のもとで、本研究に関してその研究目的、内容につき十分な説明を受けた上で、提供者の同意を得て採取した。

### [1] C. 研究結果

総数 164 名の日本住血吸虫感染者から、糞便、尿および血清を採取できた。その中で MGL 法による糞便検査で虫卵の確認できた個体 77 件 (男 60、女 17) を用いて各種の検査、測定を実施した。日本住血吸虫流行地ではない地域で、回虫、鞭虫等のかくにんされたヒトから得た尿 (R、9 例) および日本人の非感染コントロール (N、55 例) も同様に検査し、特異性を確認した。日本住血吸虫感染者の年齢構成は、17 才以下が 25 名、17 才から 40 才迄が 41 名、40 才以上が 10 名である。

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認められた。

抗体産生の特徴としては、1) 高い SWAP および 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 IgM の検出である。加齢に伴って検出率は低下する。(Fig. 1 および Fig. 2)

抗体検出の感度を Table 1 に示した。抗体検出という点だけから考えるならば、SEA に対する IgG 抗体を検出する組み合わせが最も高感度であり、17才以下の群では100%検出できた。またいくつかの抗原/抗体クラスを組み合わせることによって更に高い感度を得ることができる。

EPG は、尿中の抗 SWAP および抗 SEA IgG 抗体レベルと弱い相関が認められた以外、いずれの抗体とも相関はなかった。

血清中の特異抗体もまた、抗 SEA IgM 抗体が尿中の抗 SEA IgM 抗体と強い相関を示した以外、その他の抗 SWAP IgG, 抗 SWAP IgM, 抗 SEA IgG との相関を示さなかった。

尿中抗体、特に抗 SWAP IgG 抗体は、治療後比較的早期に低下し、6-12ヶ月の間に70%が陰性化した。

尿中抗体は肝線維化マーカーとして用いた血清中のIV型コラーゲンとの相関は認められなかった。もう一つ肝線維化マーカーとして用いた血

清中のP-III-Pは、抗SWAPおよび抗SEA IgM 抗体陽性者に有意に高いことが判明した。

#### [1] D. 考察

日本住血吸虫感染者の尿中の特異抗体は高く、血清に代わり感染の検出に非侵襲的検査用検体として十分に期待できよう。特にいくつかの抗原/抗体の組み合わせることによってさらに高い感度を確保することができる。それぞれの抗原/抗体の組み合わせで、陽性、陰性と差異が出る理由については正確な解析は困難であろうが、抗SWAPおよび抗SEA IgM 抗体については感染初期や再感染初期の虫卵排出前の段階を検出出来る可能性が高いことから、IgG 抗体に加えて試験することが望まれよう。

本研究に用いた患者群は、集団治療が繰り返された地域であり、各人の感染の経過を明確に把握することは困難であり、典型的な虫卵排出や症状を示す例が減少していると共に、糞便検査の sensitivity もかなり低下している。こうしたことが EPG と尿中および血清中の抗体と相関しない原因となっているものと考えられる。

また尿中抗体と血清抗体レベルに相関が認められないことは、尿中抗体を用いて、血清抗体を基盤にした

ときとは異なる観点から、感染状況の解析を可能にするものと考えられる。

#### [1] E. 結論

日本住血吸虫感染者の尿中の特異抗体は、血清に代り感染の検出に非侵襲的検査用検体として十分に期待できよう。今後は誰でもが簡単に使用できる簡易な検出システムを導入する必要がある。また抗原の作製に多くの困難を伴うことから、主要抗原を特定し、レコンビナント抗原の応用等を導入する必要がある。

#### [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

##### [2] A. 研究目的

日本住血吸虫感染者の尿中の特異抗体は高く、血清に代わり感染の検出に非侵襲的検査用検体として充分使用出来ることが判明した。次の段階として診断用抗原作製に伴う困難を回避するために、粗製 SWAP および SEA 抗原と同等の感度を付与できるレコンビナント抗原を応用出来れば理想的である。

##### [2] B. 研究方法

*S. japonicum* 成虫体の tegument に局在する理論分子量 22.6kDa をもつ

蛋白 (Chen, L. et al., Parasitology International 47:289-300, 1998) を pET システム、及び *E. coli* を用いてレコンビナント蛋白 (rSJ22.6) を作成した。このレコンビナント蛋白を精製したのち抗原として用いて、日本住血吸虫の流行地であるフィリッピン国レイテ島にある Schistosomiasis Control and Research Hospital (SCRH) に住血吸虫症治療のために来院した患者の中で、感染の確認できたヒトから得た血清、尿中の特異 IgG 抗体をビオチン-アビジン系の高感度酵素抗体法を用いて測定した。

(倫理面への配慮)

血液および検体は、提供者が自由意志のもとで、本研究に関してその研究目的、内容につき十分な説明を受けた上で、提供者の同意を得て採取した。

##### [2] C. 研究結果

本抗原は血清中の特異抗体検出には感度が低く適当ではないが、尿中の抗体の検出には優れることが判明した (Fig.3)。

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た。

更に rSJ22.6 に対する抗体価は治療後急速に陰性化する特徴を有していた (Fig. 4)。

## [2] D. 考察

rSJ22.6 は尿中の特異抗体測定に特に優れていることから、粗製 SWAP や SEA の代わりに診断に利用出来ると考えられる。

なぜ血清抗体の検出感度は低いのに尿中抗体には優れるのかは不明だが、相対的蛋白濃度が影響するのも知れない。また治療後の抗体価低下が早急であることは循環抗原の検出と同様に、治療効果判定やワクチン効果判定等に応用出来る可能性が高い。

## [1] E. 結論

rSJ22.6 を用いて、尿を検体とし、患者も含めて誰でもが簡単に使用出来る簡易な検出システムを導入することが次は考えられる。もし、尿試験紙等による住血吸虫感染の診断が可能になれば、国内でも日本住血吸虫症浸淫地からの帰国、入国者が入国時に簡単に検査を受けるということが充分可能になり、その用途と意義は大きいであろう。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Asahi, H., Ohmae, H., Sy, O.S., 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

Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Congress of Parasitology 303-305, 2002

Asahi, H., Osman, A., LoVerde, P.T. and Stadecker, M.J.

Albumin precursor homologue is a novel T helper cell immunogenic egg component in murine infection with *Schistosoma mansoni*.

In preparation, 2002

### 2. 学会発表

朝日博子, Osman, A., LoVerde, P.T. and Stadecker, M.J.

新規に見い出された Manson 住血吸虫中卵由来のヘルパー 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 平成 14 年 3 月

Asahi, H., Ohmae, H., Sy, O.S., Tanabe, M., Matsuda, H., Kanazawa, T., Yamada, K., Kajima, J. and Ohta, N.  
Characteristics of specific antibodies in urine from *Schistosoma japonicum*-infected individuals.

The 10<sup>th</sup> International Congress of

Parasitology, in Canada, August,  
2002.

Asahi, H. and Stadecker, M.J.

Analysis of egg antigens inducing  
hepatic lesions in schistosome infection.

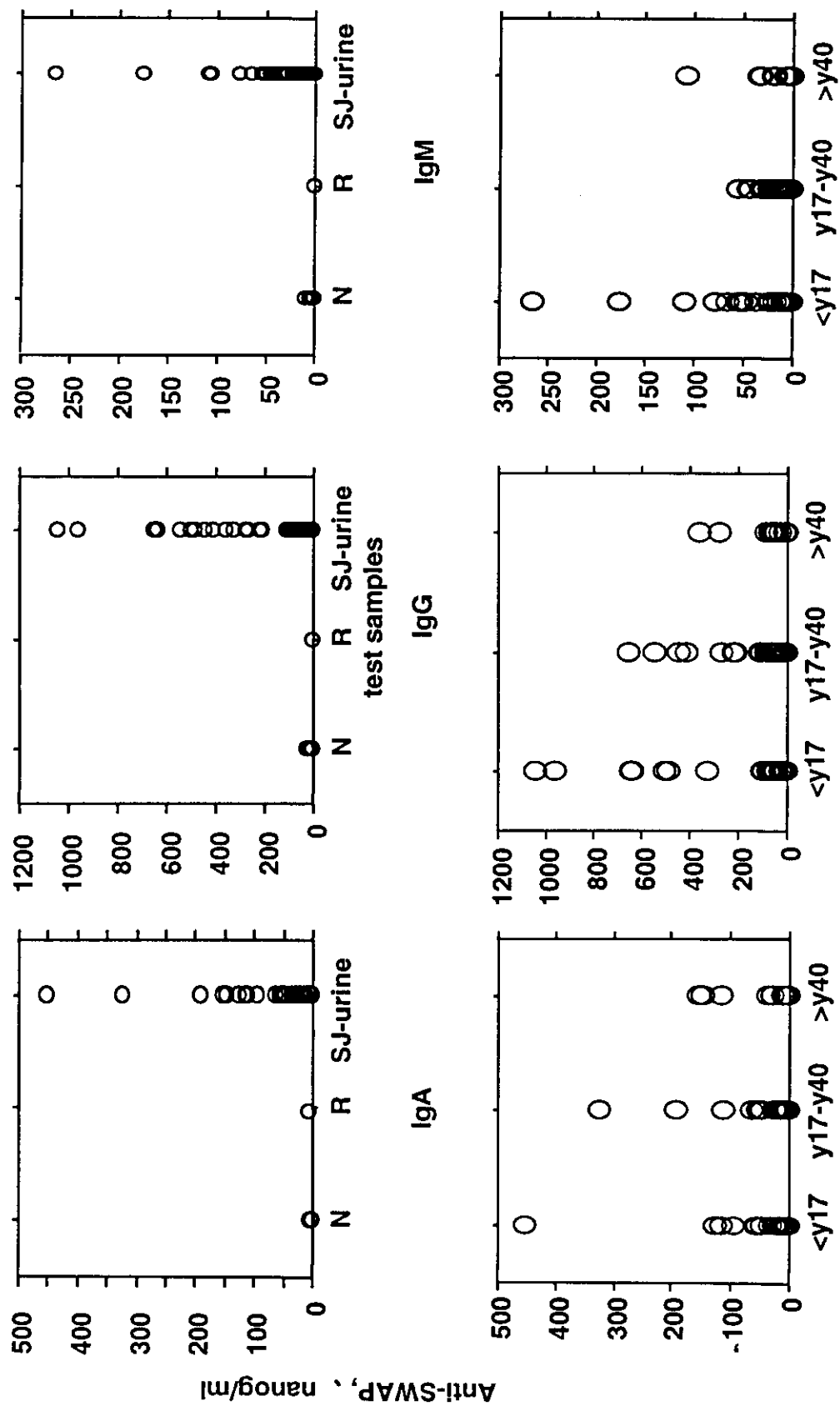
Centenary Symposium to Celebrate the  
Discovery of Schistosoma japonicum

(日本住血吸虫発見 100 年記念国際  
シンポジウム) 平成 15 年 3 月

H. 知的財産権の出願. 登録状況

1. 特許取得: なし
2. 実用新案登録: なし
3. その他: なし

Fig. 1 日本住血吸虫感染者の尿中に検出される抗SWAP抗体および年齢による差異



R : *S. japonicum* 以外の感染者  
N : 非感染者

age group

Fig. 2 日本住血吸虫感染者の尿中に検出される抗SEA抗体および年齢による差異

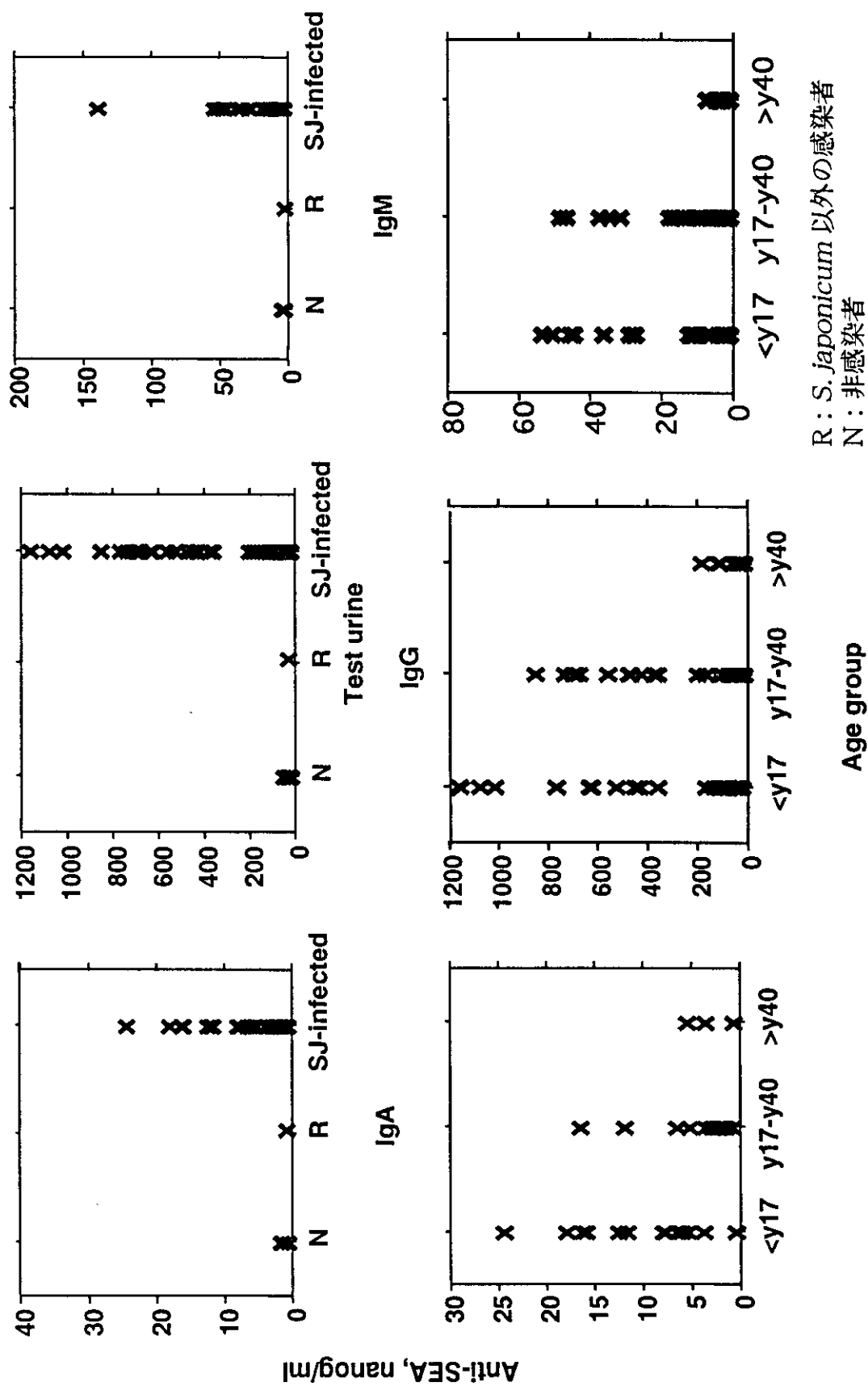


Table 1. *S. japonicum* 感染検出における異なる抗原／抗体の組み合わせによる感度

Antibody tested	% positive		
	Age group, years		(no. of individuals)
	<17 (25)	17-40 (41)	>40(10) all (76)
anti-SWAP-IgA	76.9	60.5	70.0 67.5
anti-SWAP-IgG	88.0	82.9	80.0 84.2
anti-SWAP-IgM	70.0	43.6	50.0 53.4
anti-SEA-IgA	50.0	39.5	20.0 40.5
anti-SEA-IgG	100.0	82.9	70.0 86.8
anti-SEA-IgM	75.0	59.0	10.0 57.5
anti-SWAP-IgG & -IgM	91.7	87.8	80.0 88.0
anti-SWAP-IgG, -IgM & -IgA	92.0	95.1	90.0 93.4
anti-SWAP-IgG & anti-SEA-IgG	100.0	90.2	100.0 94.7
anti-SEA-IgG & IgM	100.0	87.5	100.0 93.4
anti-SWAP-IgG & -IgM & anti-SEA-IgG & -IgM	100.0	95.1	100.0 97.4

# N および R は全て陰性



Fig. 3 日本住血吸虫感染者から得た尿および血清中の抗rSJ22.6 IgG レベル

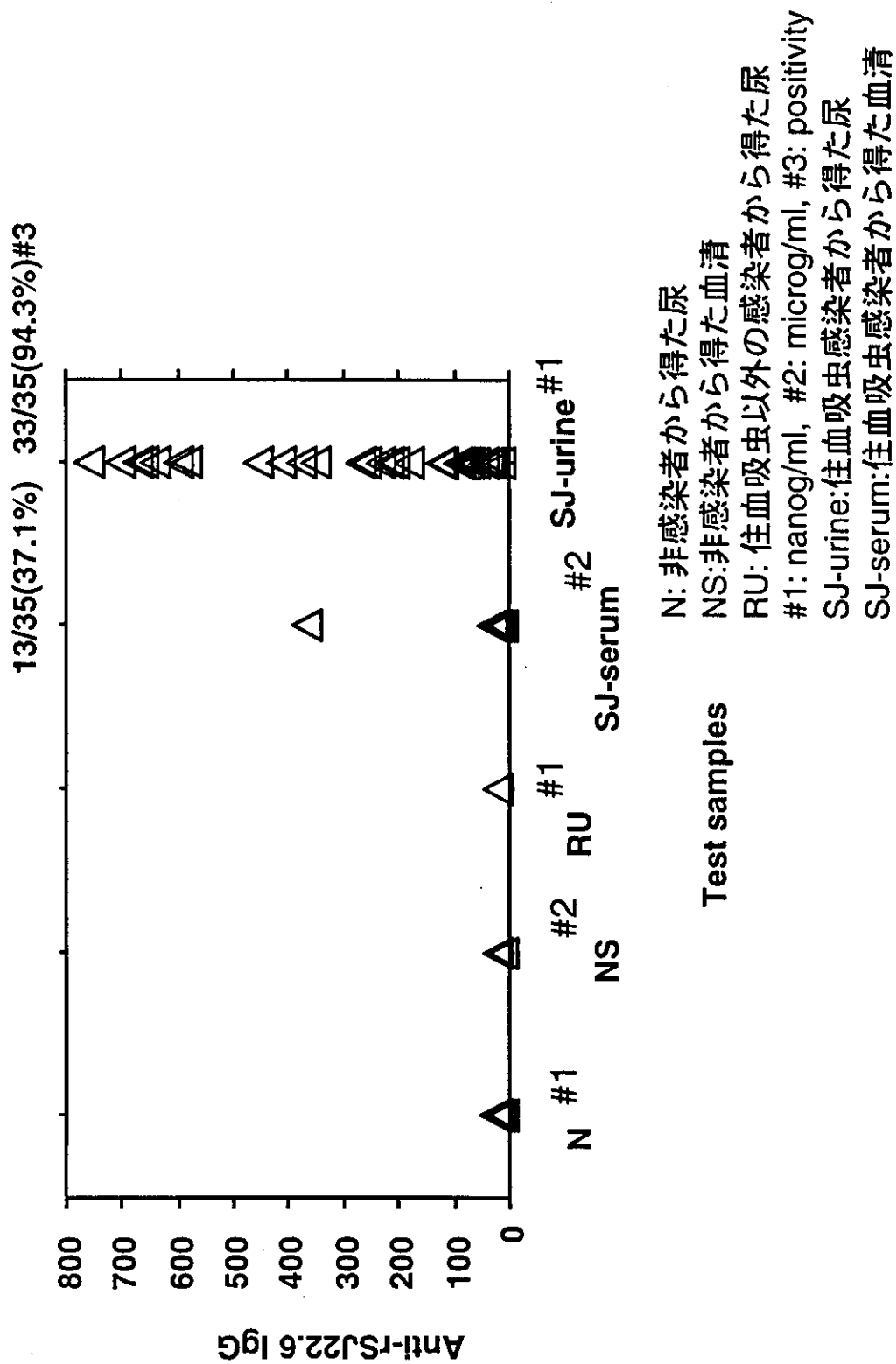
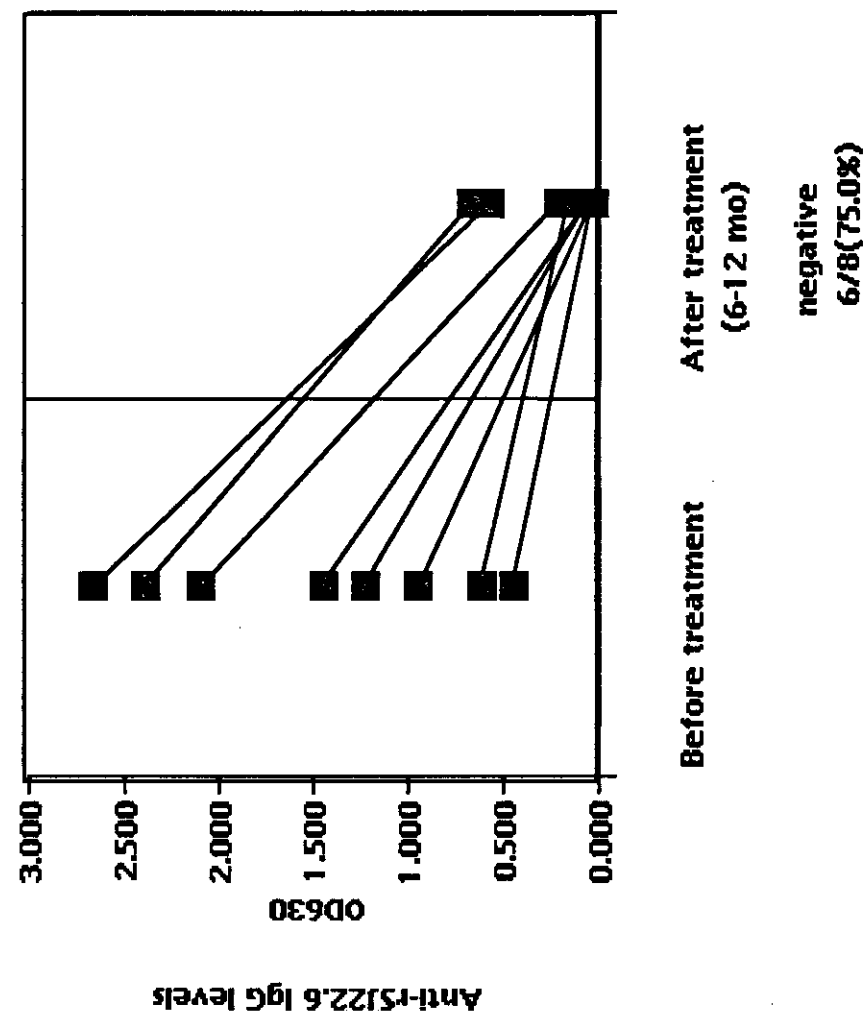


Fig. 4 治療後の尿中抗rSJ22.6 IgG 抗体レベルの変化



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

新規殺虫剤の開発に関する研究

三种植物由来殺虫剤の検討

分担研究者名：川中正憲 国立感染症研究所寄生動物部室長

研究要旨 昨年度はミヤイリガイの実験室内殺虫効果試験法の改良を行ったので今年度はその実験系を用いて従来からの三種の植物（ルリハコベ、茶種子、ツバネバコド）について更に検討を加えた。茶種子に関しては分離精製したTeasaponinE1及びTeasaponinE2と同一とされた二種のサポニンに殺虫活性が認められた。ツバネバコドについては、発癌プロモーターであるホルボールエステルの含有が疑われているのでEBV活性化試験を行った。

A. 研究目的

我々はこれまでに住血吸虫症流行地での中間宿主対策を念頭においた植物由来殺虫剤としてそれぞれ、ルリハコベ：*Anagallis arvensis*（エジプト）、茶種子：*Camellia sinensis*（中国）、ツバネバコド：*Jatropha curcas*（フィリッピン）に関して検討を行ってきた。1970年代後半に住血吸虫の特効的駆虫薬（ピラジカンテル）が登場して以来一時期は中間宿主対策が軽視される傾向があった。しかし今日では、媒介対策なしに有病地に於ける子供の感染と大人の再感染を防ぐ事はできず、たとえニコソマイドのような高価な殺虫剤であろうとそれを使用する方が化学療法の方に重点を置く対策に比べて長期的に見ればより経済的かつ効果的であると認識されている。しかしながら住血吸虫症流行地を抱える発展途上国において、高価な合成殺虫剤の使用には経済的な限界があるという状況は変わらず依然として安価で安全な殺虫剤の探索は必要である。

B. 研究方法

改良した実験室内殺虫効果試験法を用い、試験溶液 50ml に 10 個の *Oncomelania nosophora* を入れて希釈系列を作成し、同時に3連の実験を行い浸漬24時間の条件でLC50 (ppm) と 95%信頼限界を求めた。三種の植物由来成分を比較する為に、それぞれのメタノール抽出物を作成し殺虫効果試験を同一条件で行い活性の比較を試みた。茶種子(*Camellia sinensis*) サポニンについては、カラムクロマトグラフィを繰り返して2種の精製サポニンを得、質量分析、赤外吸収スペクトル、NMRなどによるデータから化学構造を決定した。ツバネバコド(*Jatropha curcas*) については、種子、果実、葉それぞれの抽出成分について発癌プロモーターの検索の為に、EBV 活性化試験 (Epstein-Barr ウイルス早期抗原誘導試験) を行った。

C. 研究結果

これら植物のメタノール抽出分画について

て *Oncomelania nosophora* に対する 24 時間活性を比較する為に LC<sub>50</sub> (ppm) と 95% 信頼限界を求めた。その結果、活性の高い順に茶種子：13.1 ppm [10.8-16.3]、ツバンバコドの種子：13.8 ppm [12.0-15.7]、ルリハコベ：53.8 ppm [44.4-68.6] というデータが得られた。茶種子に関しては、この粗サポニンから更に 2 種の精製サポニンを精製し TeasaponinE1 及び TeasaponinE2 と同定されたものを用いて 24 時間活性を求めたところ、前者の LC<sub>50</sub> 及び 95% 信頼限界は 2.2 ppm [1.34, 3.36] であるのに対して後者は 8.9 ppm [6.38, 13.33] であった。ツバンバコドの種子、果実、葉それぞれのエタノール、ブタノール抽出成分について EBV 活性化試験を行ったところ、種子では両方の抽出成分に、果実及び葉ではブタノール抽出成分だけに発癌プロモーター活性が認められた。

#### D. 考察

従来から検討を行っている三種の殺虫活性を持つ植物(ルリハコベ、茶種子、ツバンバコド種子)についてミヤイリガイへの殺虫効果をメタノール抽出成分で比較してみると、茶種子、ツバンバコド種子は LC<sub>50</sub> が 10 ppm 台であるが、ルリハコベに関しては 50 ppm 台で 5 倍もの差があることが明らかになった。茶種子に関しては、分離精製した TeasaponinE1 及び TeasaponinE2 と同定された二種のサポニンの間で 4~5 倍もの活性濃度の差異が検出されるという興味ある結果が得られ化学構造と殺虫活性との関連を解明する上で重要な知見が得られたと思われる。フィリピンのレイテ島で採集したツバンバコド (*Jatropha curcas*) か

らホルボールエステルを予想させる発癌プロモーター活性物質が検出されたこと云うことは、当地での実際使用に当たっては注意が必要である事を示している。

#### E. 結論

茶種子のサポニン成分は殺虫効果の高い TeasaponinE1 が含まれている事が明らかとなった。フィリピンのレイテ島産のツバンバコドから発癌プロモーター活性物質が検出された事は、その実用使用上で一定の注意が必要である事を示した。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

論文発表・著書

1. 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
2. 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、Vol.14, No.2, 15-20, 2002
3. 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、Vol.14, No.3, 15-21, 2002

4. 川中正憲、森嶋康之、中国西部寄生虫  
紀行（3）貴州省の土壤媒介線虫対策と  
バイオガストイレ、BMSA 会誌、Vol.14,  
No.4, 19-25, 2003

2. 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

学会発表

1. Kawanaka ,M and Ohigashi, H,  
Laboratory evaluation of plant  
molluscicides using *Oncomelania*  
*nosophora*. Emerging & Reemerging  
Parasitic Zoonosis in the Pacific Rim,  
Shanghai, 30.Oct – 2. Nov. 2002

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含  
む）

現在のところなし

## 研究要旨

パラミオシン断片（297-451 アミノ酸）を認識するモノクローナル IgE 抗体（SJ18 ε 1）をマウスに投与することによって、肝線維化が抑制されるかどうかについて検討した。日本住血吸虫感染 BALB/c マウスに対し、虫卵産生が増加してくる感染 6 週以降に、精製 SJ18 ε 1 を 50 μg 週 2 回腹腔内に投与し、感染 8 週後に剖検し、肝組織切片標本内の虫卵肉芽腫の大きさを測定した。その際、DNP 特異的 IgE 抗体（B53）を投与したマウスを対照群として、肉芽腫形成における抗パラミオシン IgE 抗体の投与効果を比較した。その結果、肝臓内虫卵数では SJ18 ε 1 投与群と対照群の間で差はなかったが、SJ18 ε 1 投与群において肉芽腫の有意な縮小が認められた。また、肉芽腫形成の指標であるヒドロキシプロリン量および DNA 量のいずれも SJ18 ε 1 投与群で有意に少なかった。一方、感染 8 週以降に抗体投与を開始した場合にはヒドロキシプロリン量および DNA 量どちらにおいても有意な差は認められなかった。これらの結果は、虫卵性肉芽腫形成においてパラミオシンがメディエーターとして関与している可能性を示すとともに、パラミオシン特異的な IgE 抗体の誘導は肝線維化を抑制する可能性があることを示唆する。

### A. 研究目的

住血吸虫症ワクチンに関する WHO の基本的な構想として、完全に感染を阻止できない場合でも、何らかの機構により感染による病原性を緩和するものであればワクチン候補として考慮すべきであるとしている。パラミオシンは住血吸虫の主要抗原であり、WHO も住血吸虫症ワクチンの有力な候補分子として挙げている分子である。本分子は、成虫の体表および筋層、そして幼虫の postacetabular gland に存在する。我々は、日本住血吸虫症患者の抗体が認識するパラミオシン上のエピトープについて解析を行なった結果、パラミオシン断片（297-451 アミノ酸）を認識する IgE 抗体価が高い患者ほど、肝線維化が抑制されている事実を見出した（昨年度報告書）。そこで本研究では、パラミオシン断片（297-451 アミノ酸）を認識するモノクローナル IgE 抗体（SJ18 ε 1）をマウスに投与することによって、肝線維

化が抑制されるかどうかについて検討した。

### B. 研究方法

日本住血吸虫を BALB/c マウスに感染させ、虫卵産生が増加してくる感染 6 週以降に、腹水より精製した抗パラミオシンモノクローナル IgE 抗体（SJ18 ε 1）を 50 μg、週 2 回マウス腹腔内に投与し、感染 8 週後に虫卵肉芽腫の大きさを測定した。DNP 特異的モノクローナル IgE 抗体（B53）を投与したマウスを対照群として、肉芽腫形成における抗パラミオシン IgE 抗体の投与効果を比較した。

### C. 研究結果

その結果、肝臓内虫卵数では SJ18 ε 1 投与群と対照群の間で差はなかったが、SJ18 ε 1 投与群において肉芽腫の有意な縮小が認められた（Table 1）。また、肉芽腫形成の指標であるヒドロキシプロリン量および

DNA 量のどちらも SJ18  $\epsilon$  1 投与群で有意に少なかった。一方、感染 8 週以降に抗体投与を開始した場合にはヒドロキシプロリン量および DNA 量どちらにおいても有意な差は認められなかった。

#### D. 考察

マンソン住血吸虫感染マウスでは肝臓内でパラミオシンがコラーゲンに結合して蓄積しており、また補体 C1 の機能を阻害することが知られている。C1 は IgG 抗体-抗原複合体に結合し、古典経路を介して免疫系を活性化させ、また膜侵襲性複合体 (MAC) を形成して病原体膜を破壊する過程のメディエーターであり、C1 コンポーネントのひとつ C1q 分子にはコラーゲン様部位が存在する。パラミオシンは疎水性に富んだ分子であり、コラーゲンに類似した  $\alpha$ -ヘリックス構造を取ることから、パラミオシンが C1q 分子に結合することで dose-dependent に C1 活性を競合阻害すると考えられている。一方で、住血吸虫感染における病原性は虫卵性肉芽腫によるものであるが、虫卵のみ、あるいは虫卵抗原をコートしたビーズを組織内に注入しても肉芽腫形成が感染におけるほど広汎には認められないことから、肉芽腫形成の誘導および増悪化には成虫が持続感染することにより分泌されるなんらかの抗原が関与している可能性がある。さらに、住血吸虫がその生活環を成立させるためには虫卵が宿主体外へ排除されることが必須の条件である。組織内に存在する虫卵が宿主体外へ出るためには、虫卵性肉芽腫が周囲組織の壊死を惹起し、肉芽腫と共に虫卵が腸管腔（あるいは膀胱内）へ脱落することが必須であり、また唯一の方法であろう。このような観点に立って、パラミオシンの補体結合能を考察すると、パラミオシンの新たな機能的側面が浮かび上がってくる。すなわち、パラミオシンは非常に抗原性が強く、感染マウスにおいてはパラミ

オシンに対する抗体産生がドミナントであることから、生体内で容易に抗原抗体複合体が形成されと考えられる。一方で、肝門脈・腸間膜静脈に栓塞した虫卵により血管内皮が傷害を受け、コラーゲンなどから成る細胞外マトリックスが露出する。血中のパラミオシン・IgG 複合体はコラーゲンに接着し、パラミオシンが単独で C1 を阻害するよりはむしろパラミオシン・IgG 複合体が C1 を活性化する可能性が考えられる。その結果として、虫卵周囲では炎症が誘導され、肉芽腫形成が促進されるという仮説が成り立つ。しかしながら、本研究において、SJ18  $\epsilon$  1 投与により肉芽腫形成の抑制が認められることが明らかとなった。IgE 抗体には C1 結合能はないので、IgE がパラミオシンに結合することによって IgG を介する C1 の活性化が抑制され、その結果線維化が抑制されたと考え、この結果は先の我々の仮説を支持するものと考えられる。

#### E. 結論

本研究の結果、虫卵性肉芽腫形成においてパラミオシンがメディエーターとして関与している可能性が示唆されるとともに、パラミオシン特異的な IgE 抗体の産生を誘導することによる肝線維化抑制ワクチンとしてのパラミオシンの新しい可能性が示された。（共同研究者：奈良武司、大前比呂思、田邊将信）

#### F. 健康危険情報

日本住血吸虫症は、中国揚子江流域では依然として流行がみられ、とくに家畜（ウシ、ブタなど）の保虫宿主および感染源としての役割が改めて注目され、これらを用いたワクチン開発研究が行なわれている。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Kojima, S.: Schistosomiasis vaccine. In Progress of Medical Parasitology in Japan, ed. By Otsuru, M., Kamegai, S. and Hayashi, S., Vol. 7, in press.

## 2. 学会発表

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

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし



Table 1. Significant reduction in granuloma size in mice treated with SJ18  $\epsilon$  1

Treatment	Granuloma size	% Reduction
B53 (anti-DNP IgE mAb)	94.2 $\pm$ 5.8	
SJ18 $\epsilon$ 1	59.0 $\pm$ 4.8	37.4 (p<0.0001)

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

数学モデル作成

分担研究者 嶋田 雅暁 長崎大学熱帯医学研究所熱帯感染症研究センター教授

研究要旨： stochastic approach（確率論的アプローチ）による住血吸虫症伝搬数学モデル構築の為に、本年度は1）Swarmと呼ばれるソフトウェアパッケージによる Individual-based model(IBM)を作成するとともに、2）作成されたモデル上で、人間および伝搬員の分布の変動が疫学全体像に与える影響を検討した。その結果、流行地における人間の住居の位置、水系における伝搬員の分布状態が、疫学全体像に大きく影響することが明らかになった。この結果は、住血吸虫症の疫学像を理解する（従って流行の早さ、広がり、重篤度などの予測や検討を行なう）ためには、これまでほとんど無視されていた地理的情報（各個人の行動範囲、伝搬員の局地的分布など）が極めて重要であることを示している。

#### A. 研究目的

本年度の研究では、1）住血吸虫症の流行をリアルに表現できる数理モデルの作成と、2）そのモデルによるシミュレーションを利用して、住血吸虫症流行地における人間の川との接触行動と感染の関係を明らかにすることを目的とした。

住血吸虫症感染防禦のひとつの方法として、近年、住血吸虫症のワクチン開発が精力的に試みられている。その理由は、一連の動物実験において一定のワクチン効果が見られる抗原候補が近年数多く発見されたことと、何よりもまず、激しい流行地に置いてさえ、住血吸虫に「感染しにくい住民」が観察される事実が存在するからである。これらの住民は、住血吸虫感染に対して抵抗性の遺伝学的、免疫学的背景を持つと考えられ、その住民の遺伝学的、免疫学的特徴を解明することによって、ワクチン開発への道を切り開くことができる。

そこでこれまで、住血吸虫虫体が多数感染している住民と、虫体が少数感染あるいはまったく感染していない住民とを比較し、感染抵抗性個体と非抵抗性個体の間の遺伝学的、免疫学的差異を検討する試みがなされてきた。しかし、必ずしも明確な結論が得られているとは言えない。現在寄生虫学分野で最もホッ

トに議論されている分野であるが、明確な結論が得られない最大の理由は、住民の病原体への暴露を量的に把握することが困難だからである。

病原体への暴露量を無視して、「真に感染し易い」非抵抗性個体と「真に感染しにくい」感染抵抗性個体を識別することは無意味である。

このような理由から、我々は病原体への暴露量を人と河川との接触量に置き換え、水接触の程度を量的に測定する試みを続けてきた。しかし、調査地域集団における性・年齢別の接触頻度はある程度解明できるものの、だれがどの程度川の水と接触し、どの程度感染しているかについて個体別のデータを収集することは極めて困難であるという問題に直面する。

この流行地調査現場におけるデータ収集の困難性を克服するひとつの方法としてシミュレーションを利用するため、特に人の水接触行動に注目してモデルを開発した。

なお、数学モデルを使ったシミュレーションの利点の一つは、流行地の人間から現実データを得る場合に生じる可能性のある倫理的問題を回避・解決できる点にある。今回の研究は純粋に数学モデルの検討であったために現場研究と関連する倫理的問題は生じなかった。

## B. 研究方法

最終年度に当たる本年度は、昨年度までの Individual-based model(IBM)の基礎的研究や IBM のデザインの検討の結果に基づいて具体的に IBM を導入したモデルを作成するとともに、作成したモデル上におけるシミュレーションを行なった。

住血吸虫症数学モデルの作成に当たっては、マンソン住血吸虫症を対象とした。

### 1) モデルの作成

#### 1. ソフトウェア

使用したソフトウェアはサンタフェ研究所で開発された Swarm2.1.141 で、プログラムは object C 言語で記述した。

#### 2. アルゴリズム及びプログラミング

モデルの基本は IBM によるものなので、住血吸虫伝搬（住血吸虫生活環）過程のアルゴリズムは特に作成しなかった。各個体が勝手に生きるアルゴリズムを作成し、それぞれが持つ特徴だけをパラメータとして与え、その後シミュレーションの世界で何が起きるかを観察した。シミュレーションを開始すると各個体は独立に、与えられたアルゴリズムとパラメータに従って勝手に生きつづける（あるいは死亡する）。パラメータの一部は確率的であるが、一部は確定的である。

本 IBM の個体として理論的に対象とすべきは、1) 終宿主（人間）、2) 中間宿主（伝搬員）、3) 病原体（虫体、虫卵、ミラシジウム、セルカリア）であるが、実際に真の個体として扱ったのは、このうちの 1) と 3) の一部（虫体、ミラシジウム、セルカリア）であり、2) と 3) の一部（虫卵）については真の個体として扱わなかった。従って、コンポーネント（各個体の基本的動きのルールをプログラム化したもの、プログラム中では object という）として作成したのは、人間、住血吸虫虫体、セルカリア、ミラシジウムに限られた。

シミュレーションの舞台となる村の広さは横軸 1000 ピクセル縦軸 2000 ピクセルで、中央縦に幅 20 ピクセルの川が直線状に流れている。シミュレーション期間は最大 10,000 日である。

人間：

人口は 100 名、シミュレーション開始時にランダム（一様に）またはクラスターとして

（局地的に偏って）村に配置される。個体が始めに配置された位置がその個体の住居で一日 1,000 ステップ行動する。行動はステップごとに角度、速度、歩数（時間）が乱数によって決定され自由に動き回るが、毎日 500 ステップを越えると住居に向かって帰還する。

その間に川の水に接触すると個体ごとにその量が記録され、セルカリアに接触するとある確率のもとに体内への侵入を許す（感染する）。排便による環境の汚染は単純化されており、川との接触があると 0.1 の確率でミラシジウムを放出する。

本シミュレーションでは、人間に加齢はなく死亡もない。

セルカリア・虫体：

伝搬員から放出されたセルカリアは人間との接触がない限り 6 時間で感染能力を失うが、感染員一個体から毎日 20 隻 50 日間遊出する。人間に感染したセルカリアは人間の体内で自由に動き回り 20 日以内に雄雌が接触した場合のみ生き残り生殖能力を獲得する。

生殖能力を獲得したペアの死亡率は 0.001 で、毎日 300 の虫卵を産卵しつづける。糞便中に排泄される虫卵はそのうちの 20% である。

ミラシジウム：

川に放出されたミラシジウムは水中をランダムに動き回り、12 時間以内に伝搬員と接触すると感染するが、接触がなければ死亡する。

シミュレーション開始時、川には 5 個体の感染員と 15 個体の非感染員が存在する。シミュレーションが始まると人間の糞便からミラシジウムが川に供給され、伝搬員と接触しない限り感染員になることはない。

伝搬員の位置の移動はなく、死亡もない。

### 2) シミュレーションの実行

シミュレーションを、人間の住居、伝搬員の分布が異なる条件で実行し、水接触量と感染強度（感染虫体数）を比較するとともに、集団全体の陽性率、感染強度、個体に感染している虫体数の度数分布を検討した。

### 3) 結果の表示

個体別の感染状況（排泄虫卵数、感染虫体数、川の水との接触量）のデータを基礎に、集団全体の陽性率、感染強度、感染している

虫体数の度数分布、川におけるセルカリア数などの変動、川との接触量と感染虫体数の関係などがグラフとして表示されようように設定した。

### C. 研究結果

条件別シミュレーションの結果を示す。

- 1) 人間、伝搬員がともにランダムに（一様に）分布している場合（図1）

シミュレーション開始後約 3,000 日目に住民の陽性率は約 40%に達し、その後そのままのレベルで推移した。

人間と川との接触量と感染虫体数の間には極めて明確な正の相関が認められ（散布図）、個体に感染した虫体数のヒストグラムはポアソン分布を示した。

- 2) 人間の住居はランダムに分布するが、伝搬員がランダムではなくクラスターとして（局地的に偏って）分布している場合（図2）

シミュレーション開始後約 4,000 日目に住民の陽性率は 15-20%に達し、その後そのままのレベルで推移した。

人間と川との接触量と感染虫体数の関係は、これらの間に極めて明確な正の相関を示すグループと、水接触量の増加にもかかわらず感染虫体数が増加しないグループのふたつが認められた。個体に感染した虫体数のヒストグラムは負の二項分布を示した。

- 3) 伝搬員はランダムに分布するが、人間の住居がランダムではなくクラスターとして分布している場合（図3）

シミュレーション開始後約 4,000 日目に住民の陽性率は約 20%近くに達し、その後そのままのレベルで推移した。

人間と川との接触量と感染虫体数の関係は、居住地によって、極めて明確な正の相関を示すグループと、明確な相関が認められないグループに分かれた。個体に感染した虫体数のヒストグラムは負の二項分布を示した。

- 4) 人間、伝搬員がともにクラスターとして（局地的に）分布している場合（図4）

シミュレーション開始後約 4,000 日で住民の陽性率は約 10%に達し、その後そのままのレベルで推移した。

人間と川との接触量と感染虫体数の関係は、どの居住地の住民も正の相関を示したが、水接触量の増加にもかかわらず感染虫体数の変動の幅が増大し、相関の強さは弱かった。個

体に感染した虫体数のヒストグラムは負の二項分布を示した。

### D. 考察

本研究では、特に人の水接触行動が観察されるような IBM を開発した。その理由は、伝搬員、虫卵、ミラシジウムを IBM 化することの技術的困難さにもあるが、一般的に感染症の流行や伝搬においては、もっとも重要なファクターが病原体と宿主の接触（の頻度、量）にあると考えられるからである。病原体と宿主の接触、住血吸虫症においては人間とセルカリアの接触のような、フィールドにおいて観察が困難または不可能な現象を、数学モデルを利用して観察することは極めて有意義である。

IBM による今回のシミュレーションでは、現実にはあり得ないが理論的には問題のない状況、すなわち人間、伝搬員がともにランダムに（一様に）分布している場合を仮定すると、実際のフィールドで得られるデータからは著しく異なる結果となった。それに対し、現実によく観察されるように、人間、伝搬員が局地的に偏って分布する条件を仮定すれば、実世界から得られるデータに近似した結果が得られた。

これまでの我々のフィールドにおける経験では、実世界で観察される住民の水接触量と感染強度（排泄虫卵数）の関係は全体として正の相関を示すものの、感染強度の変動幅は非常に大きく、個々人の感染を水との接触量で推定することは困難であった。その大きな変動幅の原因が、主に住民の水接触活動を 24 時間観察することが不可能に近いために避けられない観察の精度の低さによるものか、それとも他の原因によるものかは現在でも明らかではない。

しかしながら、本シミュレーションによって、個体の住居の位置、伝搬員の分布が局地的に偏るだけで、水接触量は同じでも感染強度に著しい違いが起こる可能性が示唆された。もしそうであれば、今後のフィールドにおける観察では、これまでほとんど無視されていた地理的情報（各個人の住居の位置、伝搬員の分布など）を収集することが極めて重要であることを意味している。

IBM シミュレーションの最大の問題点はモデルの評価である。今回のようにパラメータを変化させて現実のフィールドデータと一致