

の異常が見られた。さらに症状が進むと後躯が麻痺し、失禁する個体が続出した。

このような異常はイヌ回虫感染スナネズミでは感染後50日目頃から出現し始めたが、ネコ回虫感染スナネズミでは120日を経過した頃から出現し始めた。神経症状が進行するとまったく起立不能に陥ったが、食欲は正常に保たれていた。非感染のスナネズミにはこのような異常を呈する個体はまったく出現しなかった。

(2) 組織学的所見

組織学的に、脳内の諸処に幼虫の断面が認められたが、幼虫の周囲には炎症性の反応はまったく認められなかった。これらの幼虫断端は、幼虫排泄物抗原に対するモノクローナル抗体を用いることによって明瞭に分別することができた。

嗅脳、大脳、視床下部には異常を認めなかったが、小脳にさまざまな異常所見が認められた。即ち、プルキンエ細胞や神経線維、髄鞘の消失、壊死が観察された。また、小脳髄質部には白色小円形の病巣が点在し、この病巣は抗 GFAP 抗体で陰性、抗ライソゾーム抗体染色で陽性であったことから、マクロファージの集簇巣であることが示唆された。

ネコ回虫感染スナネズミの小脳で

もイヌ回虫感染スナネズミとまったく同じ病変が見られた。

D. 考察

イヌ回虫あるいはネコ回虫を感染させたスナネズミでみられる不可逆性の神経症状は小脳におけるプルキンエ細胞の変性や消失、グリア細胞神経線維の消失を原因とするものであることが明らかになった。また、幼虫が寄生しているにもかかわらず小脳以外の部位には明らかな変化を認めなかったことから、感染スナネズミでは幼虫による小脳の変性により運動失調が惹起されると考えられた。

これまでイヌ回虫感染マウスで神経症状を呈したという報告はあるが (Summers et al, 1983)、その症状は弱く、小脳皮質にはほとんど病変が見られなかったという。また、カニクイザルでは16頭のうち3頭で眼振や運動失調が見られ、その病変は小脳に限局していたというが、プルキンエ細胞の変性については言及されていないし、運動失調は徐々に消失していったという (Glickman & Summers, 1983)。このほかの動物 (ラットやモルモット、ウサギ、ヒヒ) ではまったく神経症状は見られない。これらのことから、スナネズミは神経型トキシカラ症の最良の動物モデ

ルであると思われる。

神経症状の発現はネコ回虫感染スナネズミで遅れたが、これは脳に移行する幼虫数がネコ回虫ではイヌ回虫に比べ少ないことに起因するものと推測されたが、両回虫ともに結局は不可逆性の神経症状が発現することから、回虫幼虫の病原性には違いがないことが示唆された。

イヌ回虫幼虫の眼内への移行経路についてはこれまで、網脈絡膜血管、網膜中心動脈、毛様体血管を介する移行が主な経路であると考えられてきた(Shields 1984; Maguire et al., 1990; Parke & Shaver 1996)。一方、カニクイザルの眼球に生きたイヌ回虫幼虫を注入すると、一部の幼虫は視神経繊維内に見られたことから、幼虫は網膜から中枢神経に逆行性に移行しうることが示唆されていた (Watzke et al., 1984)。

われわれの今回の実験から、イヌ回虫の幼虫は脳から視神経を通り網膜内に直接移行することが証明された。幼虫包蔵卵の経口投与では、感染後3日目から網膜の出血病変が出現し始めるが、その後、出血病巣は繰り返し出現と消失を繰り返す。幼虫を直接脳内に接種した今回の実験では、6日目に初めて網膜病変が出現した。また、脳内接種によって惹起される網膜病変の出現頻度は

経口感染でみられる病変の出現頻度に比べて低いことから、経口感染によって網膜に移行する経路には、神経行性と血行性の両経路があり、初期に網膜内にあらわれる病変は血行性に移行した幼虫によって引き起こされるが、その後に出現する病変は中枢神経系から直接移行した幼虫によって起きる病変であるのではないかと考えられた。

E. 結論

眼トキシカラ症の有用な動物モデルであるスナネズミを用いて、眼内移行経路について検討したところ、頭蓋腔内に直接注入されたイヌ回虫感染幼虫は9日以内に視交叉、視神経を通過して網膜下に出現し、網膜深層出血を引き起こした。このような出血病変は接種されたスナネズミの56.3%に出現した。経口感染スナネズミでは幼虫包蔵卵投与後4日目ですでに出血性病変が出現することから、スナネズミにおける眼病変出現には血行性による網膜への移行と、脳内に移行した幼虫が視神経を介して眼内に移行する2通りの移行経路があることが証明された。また、イヌ回虫やネコ回虫幼虫包蔵卵を経口投与したスナネズミで感染後50日を経過して発現する不可逆的で重度の運動失調は、小脳のプルキンエ細

胞の変性やグリア細胞神経線維の消失によるもので、スナネズミは中枢神経型のトキシカラ症の動物モデルとして、ヒトにおける病態解明に有用であると考えられた。

F. 健康危険情報

該当項目なし

G. 研究論文

1. 論文発表

1. Akao N, Hayashi E, Sato H, Fujita K, Furuoka H. Diffuse retinochoroiditis due to *Baylisascaris procyonis* in Mongolian gerbils. *Journal of Parasitology* 2003;89(1):174-175.
2. Akao N, Tomoda M, Hayashi E, Takayanagi TH, Fujita K. Cerebellar ataxia due to *Toxocara* infection in Mongolian gerbils. *Veterinary Parasitology* 2003;113:229-237.
3. Hayashi E, Akao N, Fujita K. Evidence for the involvement of the optic nerve as a migratory route for larvae in ocular toxocariasis in Mongolian gerbils. *Journal of Helminthology* 2003;77:311-315.
4. Higashide T, Akao N, Shirao E, Shirao Y. Angiographic and optical coherence tomographic features of presumed ocular toxocariasis in the adult macula. *American Journal of Ophthalmology* 2003;136(1):188-190.
5. Satou T, Akao N, Koike K, Watanabe I, Fujita K, Nikaido T. A new method for identifying potential remedies for larva migrans using crude drug extracts (1). *Natural Medicines* 2003;57(1):7-11.
6. Satou T, Akao N, Koike K, Watanabe I, Fujita K, Nikaido T. A new method for identifying potential remedies for larva migrans using crude drug extracts (2). *Natural Medicines* 2003;57(1):23-26.
7. 広岡昌史, 堀池典生, 金子恵理, 阿部雅則, 道堯浩二郎, 坪井敬文, 赤尾信明, 恩地森一. 肝内に多発性小結節像を呈した犬回虫症の1例. *肝臓* 2003;44(5):237-242.
8. 吉川正英, 城井 啓, 王寺幸輝, 美留町潤一, 西村文彦, 横田 浩, 石坂重昭, 米田 諭, 松森篤史, 山根佳子, 安藤 稔, 西村公男, 山尾純一, 福井博, 内山ふくみ, 名和行文, 赤尾信明. 腸閉塞症状を来した旋尾線虫幼虫type X感染例. *奈良医学雑誌* 2003;54(1):43-47.
9. 西浦 博, 角田隆文, 赤尾信明. 著明な好酸球増多を認めたタイ肝吸虫症の1例. *感染症学雑誌* 2003;77(9):677-681.
10. 赤尾信明. ペットを介する病気ー原虫・蠕虫感染症ー. *小児科* 2003;44(5):789-798.
11. 赤尾信明. スナネズミと眼トキシカラ症. *治療学* 2003;37(6):584-585.

12. 赤尾信明. 気になる病気 アニサキス症. 日経ヘルス 2003;6(4):36.

13. 赤尾信明. 十億人を悩ます鉤虫感染. 別冊日経サイエンス 世界を脅かす感染症とどう闘うか. 東京: 日経サイエンス社, 2003: 136-143.

2. 学会発表

1 Ayi, I., Akao, N., Busompen, K. M. and Fujita, K. (2003): The search for a non-invasive alternative diagnostic test for acute human toxoplasmosis: Preliminary studies, 第 72 回日本寄生虫学会総会, 久留米,

2 堀内朗子, 佐藤忠章, 赤尾信明, 小池一男, 藤田紘一郎 and 二階堂保 (2003): 新しい評価方法を導入した抗寄生虫活性生薬エキスの探索, 第 72 回日本寄生虫学会総会, 久留米,

4 長 哲, 齋藤康秀, 茅根士郎, 菅沼真澄, 七戸和博, 赤尾信明 (2003): スナネズミにおける動物性回虫類幼虫移行症に関する研究～イヌ回虫およびブタ回虫幼虫の移行経路の比較, 第 63 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 横浜,

5 林栄治, 赤尾信明, 小泉信夫, 谷川力, 藤田紘一郎 (2003): 東京都心部における野ネズミの広東住血線虫の寄生状況と中間宿主の調査, 第 63 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 横浜,

6 林栄治, 赤尾信明, 谷川力, 藤田紘

一郎 (2003): *Angiostrongylus cantonensis* 成虫虫体由来成分の血液抗凝固活性の検討, 第 72 回日本寄生虫学会総会, 久留米,

7. 赤尾信明, 西-中川佳代, 西 起史 (2003): 硝子体手術時の摘除組織中に幼虫様異物を認めた眼トキソカラ症の 1 例, 第 14 回日本臨床寄生虫学会, 長崎.

8. ラオス国内で, 発熱と好酸球増多にて発症したタイ肝吸虫症の 1 例, 西浦博, 角田隆文, 赤尾信明, 第 14 回日本臨床寄生虫学会, 長崎.

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当項目なし

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

難治性動物由来回虫感染症の dot-ELISA による
血清診断法の確立に関する研究

分担研究者 赤尾信明

東京医科歯科大学大学院国際環境寄生虫病学分野

共同研究者

荒木国興（東京医科歯科大学大学院国際環境寄生虫病学分野）

研究要旨：海外から輸入される動物が持つ病原体によるヒトへの感染が懸念されている。なかでも動物由来回虫幼虫移行症は国内での発症例が少ないこともあって、検査診断体制が確立されていない。国内で発生したウサギにおけるアライグマ回虫幼虫移行症を契機として、ヒト感染例に対応しうる検査診断体制を整えるために、動物由来回虫幼虫移行症の免疫学的血清診断法の確立に向けた検討を開始した。今年度は、各種回虫幼虫排泄物(LES)抗原を用いた、dot-ELISA による鑑別診断のための基礎的条件の検討と標準化のための抗体検査手技の改良を行った。用いた動物由来回虫属抗原はいずれもヒトに感染する発育期の幼虫から無菌的に作製した LES で、イヌ回虫、ブタ回虫、アライグマ回虫、クマ回虫を1枚のニトロセルロース膜上に吸着させた。また、抗原性の比較のために、サバから分離したアニサキス幼虫飼養液を濃縮したものも同時に用いた。これら抗原と、イヌ回虫幼虫包蔵卵を、実験的にラットに経口投与して6週後に採血して得たイヌ回虫感染血清を用いて、dot-ELISA の反応条件並びに異種回虫属 LES 間の交差反応性を検討した。イヌ回虫感染ラット血清とイヌ回虫 LES を用いた検討から、膜への吸着に必要な抗原量は 35ng/dot と plate-ELISA 法の約 1/3 量でも十分に結果を視認できることが明らかとなった。また、イヌ回虫感染ラット血清はアライグマ回虫 LES やクマ回虫 LES とほとんど反応しなかったが、アニサキス LES との間には強い交差反応が認められた。また、これらの結果は plate-ELISA の結果ともよく一致した。以上より、イヌ回虫幼虫感染症におけるイヌ回虫 LES の血清診断法における有用性が確認されたが、特異性においてはなお改善の余地が示唆された。また、微量の抗原で抗体を検出でき、特別な設備を必要としない dot-ELISA 法はその簡便さにおいても寄生虫症のスクリーニングに有効であることが示唆された。

A. 研究目的

海外から輸入される動物が持つ病原体によるヒトへの感染が懸念されている。なかでも動物由来回虫幼虫移行症は国内での発症例が少ないこともあって、検査診断体制が確立されていない。平成12年にアライグマ飼育施設で発生したウサギにおけるアライグマ回虫幼虫移行症を契機として、国内におけるヒト感染例に対応しうる体制を整えるために、動物由来回虫幼虫移行症の免疫学的血清診断法の確立に向けた検討を開始した。今年度は、各種動物由来回虫 LES 抗原を用いた dot-ELISA による、鑑別診断のための基礎的条件の検討と標準化のための抗体検査手技の改良を行った。

B. 研究方法

1. 抗原の作製

動物由来感染症の診断のために作成した抗原は、イヌ回虫 *Toxocara canis*, ネコ回虫 *Toxocara cati*, アライグマ回虫 *Baylisascaris procyonis*, クマ回虫 *Baylisascaris transfuga*, ブタ回虫 *Ascaris suum* の5種類の LES 抗原である。LES 抗原は、雌成虫の子宮から回収した虫卵を 0.5%ホルマリン水中に懸濁し、25℃で1ヶ月培養したものから無菌的に幼虫を分離し、D-MEM (Sigma) 中で飼育し、その飼

養液上清を濃縮、透析、凍結乾燥したものをを用いた。イヌ回虫とネコ回虫は感染イヌあるいはネコに駆虫薬を投与して排泄された虫体を用いた。アライグマ回虫は国内で発生したウサギの集団感染事例で感染源となったアライグマの剖検時に発見されたものをを用いた。クマ回虫は北海道の某クマ牧場で飼育されていたニホンツキノワグマから得た。ブタ回虫は芝浦臓器(株)から購入して使用した。

さらに、アニサキス幼虫の飼養液とイヌ糸状虫成虫飼養液も上記回虫幼虫飼養液と同様に調製し実験に用いた。

2. 感染血清

実験に用いた感染血清は、イヌ回虫幼虫包蔵卵経口投与マウス(300個/匹)あるいはラット(1000個/匹)、ウサギ(3万個/匹)から経時的に採血した血清を用いた。

3. プレート酵素抗体法 (plate-ELISA)

実験的に感染させた動物血清中の抗体は、LES 抗原をプレートに固相化した plate-ELISA 法で測定した。それぞれの抗原 5 µg/mL を炭酸緩衝液 (pH 9.5) に溶解し、100 µL ずつプレートに分注し、一晚感作した。被検

血清は 0.2%ウシ血清アルブミンと 0.05%Tween20 添加リン酸緩衝液 (pH7.2) で 1:100 に希釈し、それぞれの動物種に対するペルオキシダーゼ結合抗 IgG 血清と反応させ、ABTS (Sigma) で発色させ、その吸光度を求めた。

4. Dot-ELISA 手技

- 1) 各LES抗原35ngをニトロセルロース膜に吸着後37℃30min乾燥
- 2) Blocking (1%BSA, PBS)後封緘してビニール袋に入れ、使用時まで冷蔵庫に保存
- 3) 被検血清を1:100に希釈し、100μLずつ膜に滴下して37℃ 40min環反応
- 6) 3回洗浄

させる

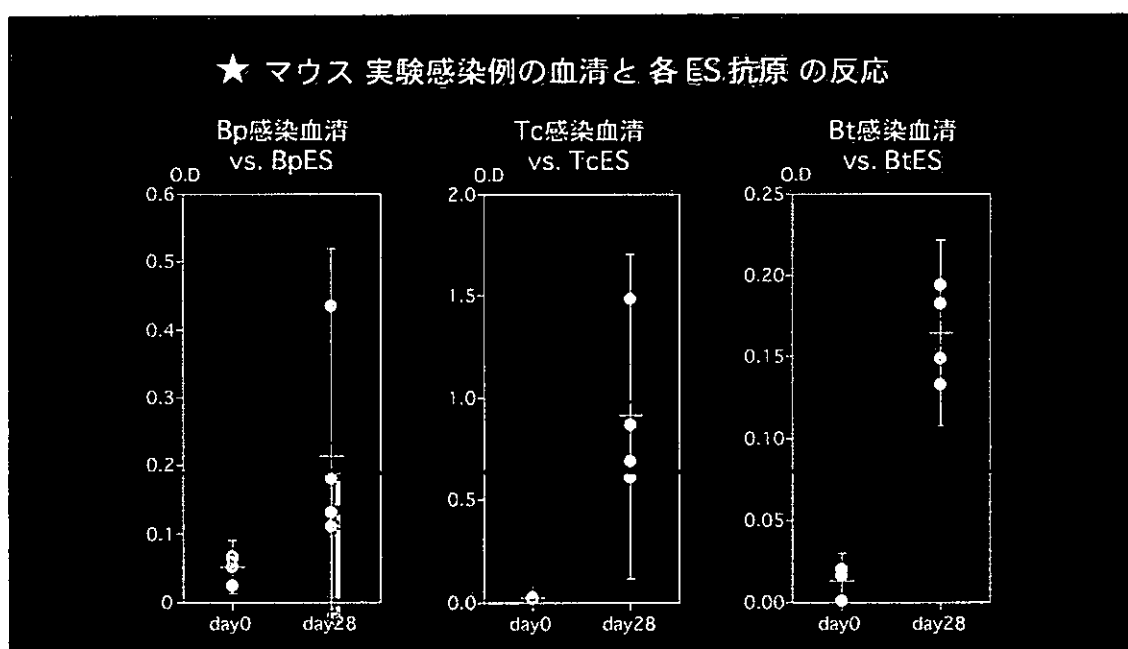
- 4) Washing (PBS-Tween20) 3回
- 5) POD抗ラットIgG で37℃, 40min間反応
- 7) 4-chloro-1-naphtholで7min間発色
- 8) 発色駅を捨て、流水で発色停止後風乾して保存

C. 研究結果

1. 感染マウスの同種 LES 抗原に対する反応

Fig 1 に同種 LES に対する各感染マウス血清の反応を示した。作製した LES は同種感染血清を感染後 4 週目には確実に検出することができた。

Fig 1.

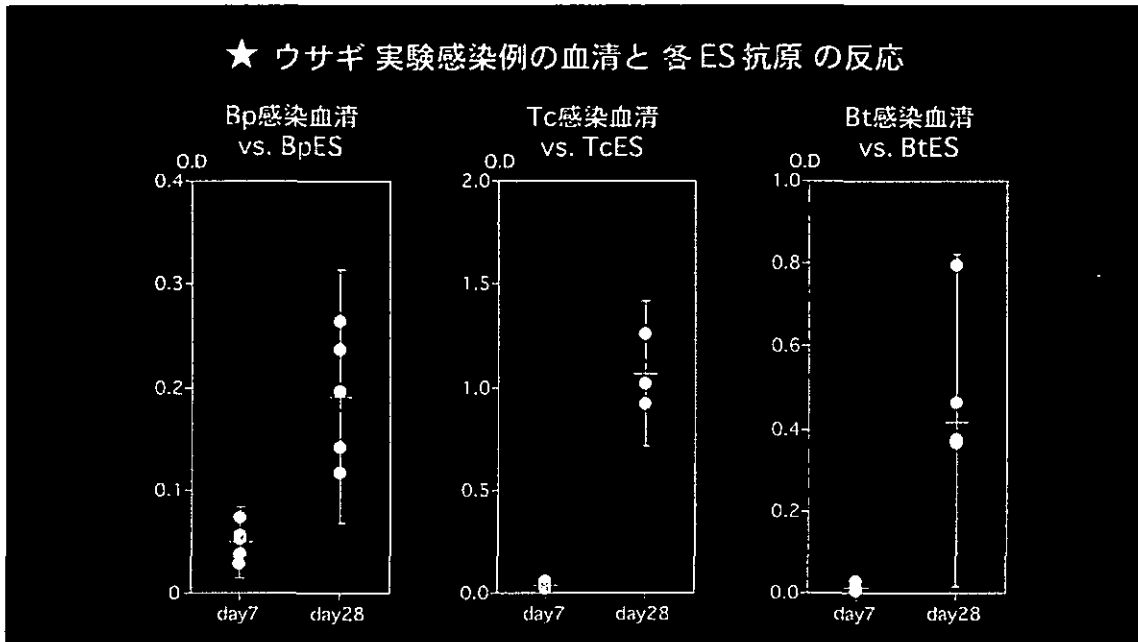


2. ウサギ感染血清と同種 LES 抗原との反応

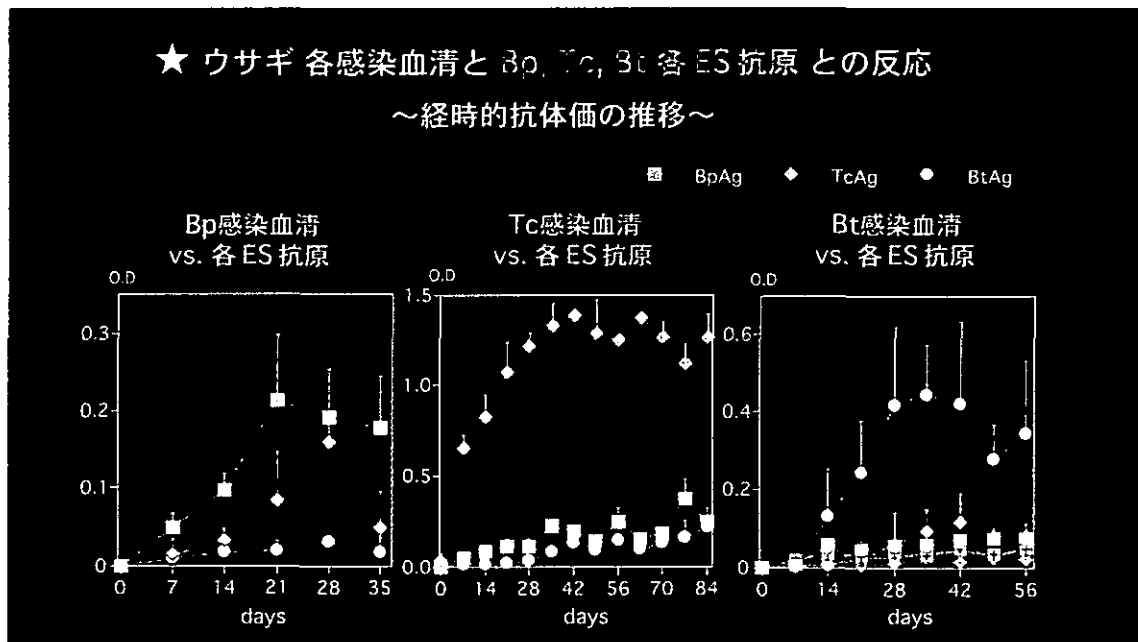
LES 抗原は抗体を検出することができた (Fig. 2)。

ウサギ感染血清においても同種

Fig. 2



3. 異種 LES 抗原を用いたときのウサギ感染血清中抗体価の経時的変化

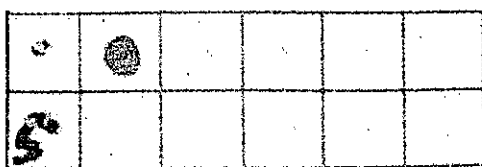


ウサギ感染血清の抗体を経時的に追跡したところ、イヌ回虫とクマ回虫感染血清は、いずれの時期においても、感染4週目にイヌ回虫幼虫 LES と強く反応する個体が1匹出現し、個体によってはアライグマ回虫 LES とイヌ回虫 LES との間には共通抗原が存在している可能性が示唆された。

4. Dot-ELISA

予備実験の結果、ニトロセルロース (NC) 膜に吸着させる抗原タンパク濃度は 35 ng/0.5 μ L/dot で発色後の結果を視認することができたので、以後の実験に使用したすべての抗原は 35 ng/0.5 μ L/dot とした。

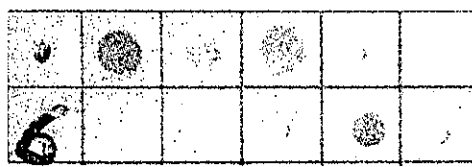
陽性対象	アライグマ	アニサキス	イヌ系状虫	
		クマ	イヌ回虫	ブタ回虫



【非感染ラット血清】

でも同種 LES に対する反応が、異種 LES に対する反応よりも高値を示していたが、アライグマ回虫感染にお

今回は、イヌ回虫感染ラット血清を用いて反応時間、血清希釈濃度、交叉反応性について検討を行った。抗原吸着パネルは以下の表のような順に抗原を吸着させた。イヌ回虫感染ラット血清はイヌ回虫 LES 抗原と強く反応したが、アニサキス幼虫抗原とも弱く反応した。しかし、あらかじめアニサキス抗原で被検血清を吸収すると、この反応は減弱した。非感染ラット血清はいずれの抗原とも反応しなかった。



【イヌ回虫感染ラット血清】

D. 考察

動物由来回虫症の診断法確立のために、今回作製したイヌ回虫 LES 抗

原、アライグマ回虫 LES 抗原、クマ回虫抗原は、それぞれ同種回虫の感染マウスやウサギの血清抗体を特異的に検出することができた。また、経時的な経過を追究したところ、ア

ライグマ回虫感染ウサギ3頭のうち1頭が、一過性に感染28日目でイヌ回虫幼虫抗原と強い交叉反応を示したが、それぞれの抗原は経時的な経過を観察することで、同種の感染を的確に診断しうると考えられた。

動物由来回虫 LES 抗原を大量に作製することは困難であり、かつ plate-ELISA では1回に使用する抗原量が多くなるため、dot-ELISA による抗体検出を試みたところ、使用抗原量は plate-ELISA の10分の1以下で十分抗体を検出できることが明らかになった。また、動物由来回虫感染ラット血清ではしばしばアニサキス LES 抗原に対する交叉反応が見られ、LES 抗原の精製の必要性が示唆された。

E. 結論

イヌ回虫幼虫感染症における LES 抗原の血清診断法における有用性が確認されたが、特異性においてはなお改善の余地が示唆された。また、微量の抗原で抗体を検出でき、特別な設備を必要としない dot-ELISA 法はその簡便さにおいても寄生虫症のスクリーニングに有効であることが示唆された。

F. 健康危険情報

該当項目なし

G. 研究論文

1. 論文発表

1. Akao N, Hayashi E, Sato H, Fujita K, Furuoka H. Diffuse retinochoroiditis due to *Baylisascaris procyonis* in Mongolian gerbils. *Journal of Parasitology* 2003;89(1):174-175.
2. Akao N, Tomoda M, Hayashi E, Takayanagi TH, Fujita K. Cerebellar ataxia due to *Toxocara* infection in Mongolian gerbils. *Veterinary Parasitology* 2003;113:229-237.
3. Hayashi E, Akao N, Fujita K. Evidence for the involvement of the optic nerve as a migratory route for larvae in ocular toxocariasis in Mongolian gerbils. *Journal of Helminthology* 2003;77:311-315.
4. Higashide T, Akao N, Shirao E, Shirao Y. Angiographic and optical coherence tomographic features of presumed ocular toxocariasis in the adult macula. *American Journal of Ophthalmology* 2003;136(1):188-190.
5. Satou T, Akao N, Koike K, Watanabe I, Fujita K, Nikaido T. A new method for identifying potential remedies for larva migrans using crude drug extracts (1). *Natural Medicines* 2003;57(1):7-11.
6. Satou T, Akao N, Koike K, Watanabe I, Fujita K, Nikaido T. A new method for identifying potential remedies for larva migrans using crude drug extracts (2).

Natural Medicines 2003;57(1):23-26.

7. 広岡昌史, 堀池典生, 金子恵理, 阿部雅則, 道堯浩二郎, 坪井敬文, 赤尾信明, 恩地森一. 肝内に多発性小結節像を呈した犬回虫症の1例. 肝臓 2003;44(5):237-242.
8. 吉川正英, 城井 啓, 王寺幸輝, 美留町潤一, 西村文彦, 横田 浩, 石坂重昭, 米田 諭, 松森篤史, 山根佳子, 安藤 稔, 西村公男, 山尾純一, 福井博, 内山ふくみ, 名和行文, 赤尾信明. 腸閉塞症状を来した旋尾線虫幼虫type X感染例. 奈良医学雑誌 2003;54(1):43-47.
9. 西浦 博, 角田隆文, 赤尾信明. 著明な好酸球増多を認めたタイ肝吸虫症の1例. 感染症学雑誌 2003;77(9):677-681.
10. 赤尾信明. ペットを介する病気ー原虫・蠕虫感染症ー. 小児科 2003;44(5):789-798.
11. 赤尾信明. スナネズミと眼トキソカラ症. 治療学 2003;37(6):584-585.
12. 赤尾信明. 気になる病気 アニサキス症. 日経ヘルス 2003;6(4):36.
13. 赤尾信明. 十億人を悩ます鉤虫感染. 別冊日経サイエンス 世界を脅かす感染症とどう闘うか. 東京: 日経サイエンス社, 2003: 136-143.

2. 学会発表

- 1 Ayi, I., Akao, N., Busompen, K. M. and Fujita, K. (2003): The search for a non-invasive alternative diagnostic test for acute human toxoplasmosis: Preliminary studies, 第 72 回日本寄生虫学会総会, 久留米,
- 2 堀内朗子, 佐藤忠章, 赤尾信明, 小池一男, 藤田紘一郎 and 二階堂保 (2003): 新しい評価方法を導入した抗寄生虫活性生薬エキスの探索, 第 72 回日本寄生虫学会総会, 久留米,
- 4 長 哲, 齋藤康秀, 茅根士郎, 菅沼真澄, 七戸和博, 赤尾信明 (2003): スナネズミにおける動物性回虫類幼虫移行症に関する研究〜イヌ回虫およびブタ回虫幼虫の移行経路の比較, 第 63 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 横浜,
- 5 林栄治, 赤尾信明, 小泉信夫, 谷川力, 藤田紘一郎 (2003): 東京都心部における野ネズミの広東住血線虫の寄生状況と中間宿主の調査, 第 63 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 横浜,
- 6 林栄治, 赤尾信明, 谷川力, 藤田紘一郎 (2003): *Angiostrongylus cantonensis* 成虫虫体由来成分の血液抗凝固活性の検討, 第 72 回日本寄生虫学会総会, 久留米,
7. 赤尾信明, 西-中川佳代, 西 起史 (2003): 硝子体手術時の摘除組織中に幼虫様異物を認めた眼トキソカラ症の1例, 第 14 回日本臨床寄生虫学会, 長崎.
8. ラオス国内で, 発熱と好酸球増多

にて発症したタイ肝吸虫症の1例, 西浦博, 角田隆文, 赤尾信明, 第14回日本臨床寄生虫学会, 長崎.

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当項目なし

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

大都市圏で流行する広東住血線虫症の疫学調査

分担研究者 赤尾信明

東京医科歯科大学大学院国際環境寄生虫病学分野

共同研究者

林 栄治（東京医科歯科大学大学院国際環境寄生虫病学分野）

研究要旨:大都市圏における広東住血線虫症の流行疫学を明らかにするため、終宿主となる野鼠を捕獲し、その肺動脈内に寄生する広東住血線虫の寄生状況を調査した。また、感染野鼠が確認された地域での中間宿主の調査を実施した。調査を実施した3都県21地区で140頭を超えるドブネズミあるいはクマネズミを捕獲した。このうち、1都1県の2地区のドブネズミに広東住血線虫成虫の寄生を確認した。特に西東京市の住宅街に流れる小河川で捕獲されたドブネズミ8頭すべてに寄生が見られ、この地域での濃厚な流行が推測された。また、千葉県内の遊戯施設のドブネズミでは12頭中7匹に感染が見られた。広東住血線虫の中間宿主として最も重要なチャコウラナメクジをこの2地区で採取して消化法にて感染幼虫の有無を検査したが、この地域のチャコウラナメクジから感染幼虫は検出されなかった。

A. 研究目的

広東住血線虫はネズミを終宿主とする寄生虫で、成虫は肺動脈内に寄生し、糞便内に多数の第1期幼虫を産出する。中間宿主であるナメクジ類や陸生貝類内で感染幼虫にまで発育して、これをネズミが捕食することによって生活環が完成する。ヒトが中間宿主内の感染幼虫を何らかの経路で摂取すると、脳軟膜下に寄生し、激しい頭痛を伴う髄膜脳炎症状

が現れる。

わが国では、各地の港湾施設周辺で捕獲されたネズミに広東住血線虫の寄生が確認されることから、輸入船舶とともに国内に感染ネズミが侵入する可能性が指摘されている。さらに、沖縄県や東京都下小笠原諸島ではアフリカマイマイやナメクジ類に高い頻度で感染幼虫の寄生がみられ、日本各地で散発的な患者の発生が報告されている。沖縄県では2000

年に集団感染事例の報告もなされ、広東住血線虫症の全国的な蔓延が懸念されている。

東京や大阪などの大都市圏では、広東住血線虫感染ネズミの疫学調査は港湾施設周辺部に限られており、人口密集地における調査は皆無であった。われわれは、東京都下近辺の人口密集地における広東住血線虫症の流行状況を把握する目的で、ネズミにおける感染状況と中間宿主の調査を行った。

B. 研究方法

1. ネズミの捕獲

民間害虫駆除業者の協力を得て、東京都、千葉県、神奈川県 の 6 市 2 1 カ所で捕獲されたドブネズミとクマネズミについて、捕獲後の個体を研究室に搬入後、剖検した (Table 1)。開胸後、心臓と肺臓を摘出して、実体顕微鏡下に肺動脈内を精査し、広東住血線虫の寄生の有無を検査した。

2. 中間宿主の調査

ネズミの調査で広東住血線虫の寄生を確認した 2 カ所で、中間宿主の調査を実施した。今年度は、広東住血線虫の中間宿主として最も可能性の高いナメクジ類 (特にチャコウラナメクジ) を対象として調査を実施した。採取されたナメクジは 20 ~ 30 個体ずつ細切し、人工消化液 (0.5% ペプシン, 0.7% 塩酸) で 1 時間消化し、消化後の液の沈渣をペトリ皿に取り感染幼虫の有無を検査した。

C. 研究結果

1. ネズミにおける広東住血線虫の寄生状況

今回の調査で捕獲されたネズミ (ドブネズミとクマネズミ) の総数は 160 個体以上であった。捕獲場所は、駅ビル地下の飲食店街や工場周辺、繁華街周辺の植え込み、河川敷、住宅地、遊戯施設など人口密集度の高い地域であった。

結果を Table 1 に示す。

Table 1

捕獲場所			捕獲日	捕獲個体	陽性個体数
<東京都>	千代田区	大手町地下鉄	01.7~	40 以上	0
	品川区	港湾部	02.9	2	0
	台東区	ビル内	01.6	4	0
		上野公園	02.6	2	0

	豊島区	池袋駅前	02.8	18	0	
		ビル内	01.8	10	0	
		要町	03.6	4	0	
		千川路上植込み	03.4	10	0	
	江東区	新木場	03.2	1	0	
		荒川河川敷	03.2	3	0	
	新宿区	路上植込み	03.4	12	0	
		ビル内	01.5	4	0	
	大田区	高田馬場	01.11	1	0	
		蒲田駅ビル	00.10	5	0	
	<神奈川県>	西東京市	住宅街	02.4, 11	8	8
		横浜市	工場	01.5	8	0
		戸塚区	駅周辺	01.9	5	0
	<千葉県>	平塚市	工場	01.5	2	0
千葉市		若葉区	03.4	3	0	
		都賀	03.6	7	0	
市川市		遊戯施設	01.4	12	7	

捕獲された2カ所のネズミ（すべてドブネズミ）から広東住血線虫の成虫が確認された。その寄生率は西東京地区の陽性地区では8匹中8匹（100%）、千葉県の陽性地区では12匹中7匹（58%）であった。

2. 中間宿主の調査

成虫の寄生を認めた2地区でナメクジ類を採取して、感染幼虫の調査を行った。結果をTable 2に示した。採取できたナメクジはすべてチャコウラナメクジであった。

Table 2

捕獲場所			中間宿主調査	採取数	L3
<東京都>	千代田区	大手町地下鉄			
	品川区	港湾部			
	台東区	ビル内			
		上野公園			
	豊島区	池袋駅前			
		ビル内			
		要町			
		千川路上植込み			
	江東区	新木場			
	新宿区	荒川河川敷			
	路上植込み				
	ビル内				
	高田馬場				
	蒲田駅ビル				
	西東京市	住宅街	チャコウラナメクジ	100	検出されず
<神奈川県>	横浜市	工場			
	戸塚区	駅周辺			
	平塚市	工場			
<千葉県>	千葉市	若葉区			
		都賀			
	市川市	遊戯施設	チャコウラナメクジ	30	検出されず

2 地区で採取された合計 130 個体のチャコウラナメクジからは広東住血線虫第 3 期幼虫は認められなかった。

D. 考察

今回、広東住血線虫の寄生がみられたドブネズミが確認された 2 地点のうち市川市の遊戯施設は、港湾部

に近く、かつ海外からの人とモノの交流の盛んな地域であり、現在の感染が以前の感染を引き継いで、流行が持続しているとは断言できないが、さらに監視が必要と思われた。西東京市の陽性地区は、近くの某大学前を流れる小河川流域の斜面に生息していたネズミに感染が認められた。この地区では捕獲されたドブネズミすべてに成虫の寄生を認め、極めて濃厚な流行地域であると考えられた。

ドブネズミに成虫の寄生が確認された2カ所で採取されたチャコウラナメクジからは広東住血線虫の感染幼虫は認められず、ネズミにおける濃厚な感染状況から推測すると、この両地区ではチャコウラナメクジ以外の中間宿主が広東住血線虫の生活環に関与していることが強く推測される。今後、さらに調査を継続する必要がある。

なお、この両地域では殺鼠剤によるネズミの駆除が実施され、その後の調査では感染ネズミは確認されていないが、引き続き監視が必要であろう。

E. 結論

東京都、神奈川県、千葉県の人

水流域で捕獲されたドブネズミと千葉県市川市の遊戯施設内で捕獲されたドブネズミに効率に寄生が認められた。この地区でチャコウラナメクジを採取して感染幼虫の有無を調査したが、130固体中からは陽性個体は発見できなかった。

F. 健康危険情報

東京近辺の人口密集地で広東住血吸虫に感染したドブネズミの濃厚な流行地が認められた。しかし、ヒトへの感染源となる中間宿主は不明であった。

G. 研究論文

1. 論文発表

1. Akao N, Hayashi E, Sato H, Fujita K, Furuoka H. Diffuse retinochoroiditis due to *Baylisascaris procyonis* in Mongolian gerbils. *Journal of Parasitology* 2003;89(1):174-175.

2. Akao N, Tomoda M, Hayashi E, Takayanagi TH, Fujita K. Cerebellar ataxia due to *Toxocara* infection in Mongolian gerbils. *Veterinary Parasitology* 2003;113:229-237.

3. Hayashi E, Akao N, Fujita K. Evidence for the involvement of the optic nerve as a migratory route for larvae in ocular toxocariasis in Mongolian gerbils. *Journal of Helminthology* 2003;77:311-315.

4. Higashide T, Akao N, Shirao E, Shirao Y. Angiographic and optical coherence tomographic features of presumed ocular toxocariasis in the adult macula. *American Journal of Ophthalmology* 2003;136(1):188-190.
5. Satou T, Akao N, Koike K, Watanabe I, Fujita K, Nikaido T. A new method for identifying potential remedies for larva migrans using crude drug extracts (1). *Natural Medicines* 2003;57(1):7-11.
6. Satou T, Akao N, Koike K, Watanabe I, Fujita K, Nikaido T. A new method for identifying potential remedies for larva migrans using crude drug extracts (2). *Natural Medicines* 2003;57(1):23-26.
7. 広岡昌史, 堀池典生, 金子恵理, 阿部雅則, 道堯浩二郎, 坪井敬文, 赤尾信明, 恩地森一. 肝内に多発性小結節像を呈した犬回虫症の1例. *肝臓* 2003;44(5):237-242.
8. 吉川正英, 城井 啓, 王寺幸輝, 美留町潤一, 西村文彦, 横田 浩, 石坂重昭, 米田 諭, 松森篤史, 山根佳子, 安藤 稔, 西村公男, 山尾純一, 福井博, 内山ふくみ, 名和行文, 赤尾信明. 腸閉塞症状を来した旋尾線虫幼虫type X感染例. *奈良医学雑誌* 2003;54(1):43-47.
9. 西浦 博, 角田隆文, 赤尾信明. 著明な好酸球増多を認めたタイ肝吸虫症の1例. *感染症学雑誌* 2003;77(9):677-681.
10. 赤尾信明. ペットを介する病気ー原虫・蠕虫感染症ー. *小児科* 2003;44(5):789-798.
11. 赤尾信明. スナネズミと眼トキソカラ症. *治療学* 2003;37(6):584-585.
12. 赤尾信明. 気になる病気 アニサキス症. *日経ヘルス* 2003;6(4):36.
13. 赤尾信明. 十億人を悩ます鉤虫感染. 別冊日経サイエンス 世界を脅かす感染症とどう闘うか. 東京: 日経サイエンス社, 2003: 136-143.
2. 学会発表
- 1 Ayi, I., Akao, N., Busompen, K. M. and Fujita, K. (2003): The search for a non-invasive alternative diagnostic test for acute human toxoplasmosis: Preliminary studies, 第 72 回日本寄生虫学会総会, 久留米,
- 2 堀内朗子, 佐藤忠章, 赤尾信明, 小池一男, 藤田紘一郎 and 二階堂保 (2003): 新しい評価方法を導入した抗寄生虫活性生薬エキスの探索, 第 72 回日本寄生虫学会総会, 久留米,
- 4 長 哲, 齋藤康秀, 茅根士郎, 菅沼真澄, 七戸和博, 赤尾信明 (2003): スナネズミにおける動物性回虫類幼虫移行症に関する研究~イヌ回虫およびブタ回虫幼虫の移行経路の比較, 第 63 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 横浜,
- 5 林栄治, 赤尾信明, 小泉信夫, 谷川

- 力, 藤田紘一郎 (2003): 東京都心部における野ネズミの広東住血線虫の寄生状況と中間宿主の調査, 第 63 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 横浜,
- 6 林栄治, 赤尾信明, 谷川力, 藤田紘一郎 (2003): *Angiostrongylus cantonensis* 成虫虫体由来成分の血液抗凝固活性の検討, 第 72 回日本寄生虫学会総会, 久留米,
7. 赤尾信明, 西-中川佳代, 西 起史 (2003): 硝子体手術時の摘除組織中に幼虫様異物を認めた眼トキソカラ症の 1 例, 第 14 回日本臨床寄生虫学会, 長崎.
8. ラオス国内で, 発熱と好酸球増多にて発症したタイ肝吸虫症の 1 例, 西浦博, 角田隆文, 赤尾信明, 第 14 回日本臨床寄生虫学会, 長崎.

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当項目なし

蠕虫病の病態解析に関する研究

分担研究者 田邊將信

慶應義塾大学医学部専任講師

研究要旨

住血吸虫症の主な死亡原因である食道静脈瘤破裂による大量出血は本症の病態の中で最も重要なものである。この大量出血には肝線維化に伴う門脈圧亢進が第一義的な意味を有していると考えられるが、DIC の診断基準に一致した凝固異常の関与も推定されている。報告者らは、住血吸虫感染マウスの肝脾に誘導される産生誘発リポ蛋白（CILIP）が強い凝固活性化因子であり、本症における凝固異常、さらには肝の病変形成に関連している可能性を推定している。本年度は、CILIP の病態生理学的機能、特に本症の肝病変形成、肝線維化、さらには消化管出血における役割を明らかにするための解析を行い、以下の成績を得た。

- ① 各種系統マウスにマンソン住血吸虫を多数感染させることで、消化管出血を高頻度に起こし高死亡率を示す系統（C3H、BALB/c、ICR）、逆に消化管出血をほとんど起こさず低死亡率を示す系統（DBA/2、C57BL/6J）が明らかとなった。
- ② 消化管出血に関連するリスクファクターを解析するため、高率に出血を示す BALB/c マウスと出血を起こしにくい B6 マウスの比較検討を行い、前者が後者に比べ、有意に高い肝組織内 CILIP 活性や肝線維化レベル（肝内ハイドロキシプロリン量高値）を示すことが明らかとなった。
- ③ CILIP に特異的な MoAb(MoAb)の作製を試み、CILIP の凝固活性化作用を dose-dependent に阻害する 4 種類の MoAb が得られた。これら 4 種類の MoAb はいずれも IgM (λ) であり、CILIP に対して高い特異性を示した。しかし、CILIP を SDS 処理するとその反応性が消失することから、これらの MoAb は CILIP の立体構造を認識している抗体と推定された。また、二種類の MoAb を用いたサンドイッチ ELISA 法確立され、CILIP 分子の定量が可能となった。
- ④ この CILIP の活性阻害作用を有する MoAb を 60 隻のセルカリア感染 BALB/c および B6 マウスに投与し（感染後 5～8 週）、肝臓の病変や線維化への影響を調べた。解析途中でもあり、最終的な結論には至っていないが、抗体投与群と非投与群との間に、肝湿重量、脾湿重量、肝線維化レベルでの有意な差異は観察されなかった。
- ⑤ マンソン住血吸虫感染 BALB/c マウスに CILIP を連続投与し（感染後 8～11 週）、肝臓の病変や線維化への影響を調べた。非投与群と比較し、CILIP 連続投与群では、肝湿重量、脾湿重量、肝線維化レベルにおいて有意な低下が観察された。

以上の成績から、我々が予想していた機構、すなわち CILIP の誘導が住血吸虫症における肝病変や肝線維化を増悪させるリスクファクターであることを直接的に証明することはできなかった。しかし、CILIP が住血吸虫症における肝病変や肝線維化過程に何らかの機能を果たしていることは間違いなさそうである。CILIP は数多くの蛋白および脂肪分子からなる巨大なリポ蛋白であることから、多機能性分子である可能性が考えられ、CILIP の機能を知るためにはより詳細な解析が必要と考えられた。