

厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

輸入蠕虫性疾患の監視と医療対応整備に関する研究

(H15-新興-8)

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 太田伸生

平成17(2005)年3月

目次

I. 総括研究報告書	
輸入蠕虫性疾患の監視と医療対応整備に関する研究 太田伸生	1
II. 分担研究報告	
1. 輸入蠕虫感染症監視のための PCR 診断法開発と データベース整備に関する研究 太田伸生	9
2. 輸入蠕虫症調査とヒト腸管寄生虫感染の 小腸粘膜免疫に関する研究 有菌直樹	15
3. 輸入蠕虫症の疫学調査と蠕虫病疫学情報の データベースについて 川中正憲	22
4. ミニブタを用いた日本住血吸虫感染動物モデルの 開発に関する研究 平山謙二	31
5. 動物由来回虫症の発症病理に関する研究	34
大都市圏で拡大する広東住血線虫症の疫学調査 中間宿主からの感染幼虫の発見 赤尾信明	44
6. 蠕虫病の病態解析に関する研究 田邊將信	50
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	65
IV. 研究成果の刊行物・別刷	71

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

輸入蠕虫性疾患の監視と医療対応整備に関する研究

主任研究者 太田伸生 名古屋市立大学大学院医学研究科

研究要旨

わが国の輸入蠕虫性疾患の発生動向をモニターし、診断や治療、予防などの保健医療上の対策が未整備である現状を改善して国民の健康福祉に貢献する目的下に研究を遂行した。わが国の蠕虫性疾患の発生を正確に把握するための情報整備を行い、さらに診断法の標準化と病態解析に基づく予防・治療の新しい戦略確立を進めた。まず情報整備事業として、国内の蠕虫感染症発生事例を文献的に収集し、その分析を加えるとともにデータベースとして情報提供システムの開発を行った。日本国内への定着が危惧される輸入蠕虫性疾患として広東住血線虫の実態把握を引き続いて実施し、沖縄県における近年の再流行の特徴を過去のものと比較検討した。また東京、大阪など大都市圏では港湾地区のみでなく住宅地でもネズミの感染が知られていることから、その感染源調査を行い、今年度は首都圏で初めて終宿主と中間宿主の両方が同一地所内に生息するフォーカスを同定した。また外国人の日本国内居留に伴う新しい蠕虫性疾患発生要因が見られるようになり、それぞれの母国における食習慣を日本において日本の食材を用いて行うことによる蠕虫症再興がみられ、今後の留意すべき点であった。医療対応整備としては、簡便で正確な診断法開発を引き続いて検討し、蠕虫症をPCRで診断する方法の開発を試みた。マウスの実験的感染において宿主血清中からの日本住血吸虫DNA検出によって従来の診断法に比べて診断効率が大幅に改善する結果を得た。動物由来線虫による幼虫移行症の免疫診断法標準化もほぼ完了した。蠕虫性疾患の病態解析を *in vitro* 及び *in vivo* で行った。幼虫移行症の病態を解析するモデル動物は得られていないが、クマ回虫感染におけるヒトと類似の病態を示すスナネズミでの病理変化の解析データが得られた。さらに大型家畜動物の病態モデルとしてミニブタを用いて住血吸虫感染の病態、感染防御、ワクチン開発の基礎研究等を進めたほか、住血吸虫症の重症化機序を説明する分子としてCILIPの研究を行い、新しい診療法開発に向けた基礎的情報を得た。

分担研究者

有菌直樹 京都府立医科大学・教授
川中正憲 国立感染症研究所・室長
平山謙二 長崎大学熱帯医学研究所・教授
赤尾信明 東京医科歯科大学・助教授
田邊将信 慶應義塾大学・講師

A. 研究目的

この数年間に様々な輸入感染症が国内で報告され、SARS や鳥インフルエンザなど臨床時に重篤なものについては行政的にも厳重な監視と防疫が施された。しかし臨床的に重篤な感染症は発生時に case-detection の点では容易であるが、不特定愁訴のまま経過する慢性感染症は症例捕捉が困難であり、今日の国内体制ではそれらの実態把握は不可能に近い。蠕虫性疾患はその代表的なものであり、日本と交流が進む多くの熱帯・亜熱帯地方の諸国でさまざまな蠕虫感染症の流行が存在している以上、わが国に何らかの形で持ち込まれることを想定する必要がある。そのような客観情勢に加えて最近の蠕虫性疾患は多様化しているため、従来の国内でのサーベイランス技術では対応が困難であり、わが国の輸入蠕虫性疾患の発生動向に関して信頼に足る情報は得られない。さらに最近のアライグマ回虫やクマ回虫など新しい幼虫移行症に対しては治療法がないだけでなく、その診断法さえ確立していない。

本研究班はそのような輸入蠕虫性疾患に関する監視体制と医療対応整備に資するために現状の問題点を改善し、安全な社会構築に必要な技術開発と情報整備を行うことを目的に研究を開始した。当面の緊急課題は輸入蠕虫性疾患に関する情報整備であり、そのために国内の発生動向に関するデータベース構築を目指した。さらに国内の蠕虫感染症について疫学研究を行い、国内で輸入蠕虫性疾患が定着するリスクの評価、有効な対策法の確立などを行っている。そしてわが国への侵入を監視するための診断法・検出法の開発を行うことも重要課題に挙げている。従来の検便で診断可能な蠕虫感染症も含めて、検便の経験や技術がなく

でも簡単に検出する方法を確立し、日本国内の一定レベルの検査施設であれば監視体制を取ることが可能な技術を検討する。一方で基礎的研究の重要性も考慮し、実験動物を用いて幼虫移行症など従来から病理、病態が不明であった新興の幼虫移行症その他の研究を行い、有効な治療法開発の基礎資料を得ることの必要性を考えた。

このようにさまざまなアプローチから総合的にわが国の輸入蠕虫性疾患を研究して、わが国の輸入蠕虫症を監視する適正な方法の確立と、どの医療機関でも適切な医療対応を取りうる体制を構築していくかを研究することが本研究班の目的である。

B. 研究方法

本年度は3年計画の2年目にあたり、輸入蠕虫性疾患の発生に関する情報整備、診断法開発と標準化、動物モデルによる蠕虫感染症の病態解析などが主要な実施項目であった。

B-1.国内の蠕虫感染症発生に関する実態調査：輸入蠕虫性疾患のうち国内に定着した可能性のあるものを調査しているが、昨年に引き続いて広東住血線虫症のフォローアップ調査を行った。昨年は東京都内住宅地でドブネズミの濃厚感染フォーカスが見つかったが、中間宿主は発見されず、その生活環の把握は出来ていなかった。そこで東京都内および近郊で感染の発生場所の特定を試みた。沖縄県における広東住血線虫症流行再興を受けて、ネズミと中間宿主について全県的な調査を行った。また、最近の定住外国人の増加がもたらす影響として外国の食習慣の持ち込みによる蠕虫感染症発生に関する情報収集をおこなった。

B-2.国内の輸入蠕虫性疾患発生に関する情報解析とデータベースの整備：代表的な輸入

蠕虫感染症の一つである食肉由来の条虫症について文献的な調査と自験例とを併せて過去 21 年間の発生動向と感染地域の解析を行った。さらに過去の報告症例を和文文献から求め、2000 年以降の日本寄生虫学会での報告例と併せて約 3,000 の報告事例をデジタル情報化してデータベース化を実施した。

B-3. 蠕虫感染症の DNA 診断法開発：蠕虫症診断に PCR を応用するモデルとして日本住血吸虫症について検討した。ゲノムデータを基に可能性の高い標的遺伝子を同定して、PCR の条件を検討した後に、マウス、ミニブタおよびヒトの感染血清を用いて住血吸虫 DNA の検出による診断法としての感度および特異性の検討をおこなった。

B-4. 新しい蠕虫感染モデル動物としてのミニブタの検討：マウスなど小型動物では解析が困難な蠕虫の慢性感染病態やヒト感染の予防・治療の研究モデルとしてミニブタの実用性を継続して検討した。日本住血吸虫ワクチンの基礎研究としてパラミオシンの点鼻投与による感染防御効果を調べ、併せてアジュバントとしてコレラ毒素サブユニット B の実用性も検討した。

B-5. 蠕虫感染症の病態解析：新興輸入寄生虫感染症であるクマ回虫症の病態を感染後の経過が異なるマウスとスナネズミの間で病理を比較検討した。それぞれの動物に感染させた後の脳、心臓、肺、肝臓、消化管などの病理標本を作製して幼虫の体内移行や病理所見を観察した。ヒトの腸管寄生虫感染による局所免疫応答をタイの流行地住民について調べ、病態発現に関わる宿主側の因子を調査した。また、住血吸虫感染に伴って出現する抗凝固活性物質、CILIP のその他の病態に与える影響を検討するためにエンドトキシンショックにおける病態修飾を調べた。また他の病原体感染時に出現する

CILIP との質的差異を検討した。

(倫理的配慮) ヒト試料を用いた研究は倫理規定に従って書面によるインフォームドコンセントを得た上で実施した。動物実験はすべて分担研究者所属機関の動物実験審査の承認を得て実施したものである。

C. 研究成果

今年度は以下に示す結果が得られた。

C-1. 国内の蠕虫感染症発生に関する実態調査：東京首都圏の広東住血線虫感染フォーカスを今年度の調査で初めて明らかにした。羽田空港と隣接する川崎市内の空地で捕獲した 24 匹のドブネズミ中 22 匹に広東住血線虫感染が認められ、同地内で得たチャコウラナメクジ 17 個体から幼虫が見つかり、首都圏で初めて中間宿主と終宿主の両方が生息するフォーカスを同定した。沖縄県においてはネズミの成虫感染率が全県的に 10%内外で認められたが、新たな事実としてヒラコウラベッコウガイとニューギニアヤリガタリクウズムシが中間宿主となっていることがわかった。また、淡水産のカニを生食する習慣を持つタイ、韓国、中国などの在留外国人が日本国内で得られる食材としてサワガニやモクズガニを用いた結果、肺吸虫感染が発生するようになったことがわかった。

C-2. 国内の輸入蠕虫性疾患発生に関する情報解析とデータベースの整備：国内の無鉤条虫発生動態を京都府内の動向を基にして検討したところ、日本全国では年間 50 例の感染が起こっていると推定された。感染地は無鉤条虫が多いアフリカ、東南アジア、南米が多かったが国内感染もあり、それについては囊虫を包蔵した輸入牛肉からの感染も疑われた。国内の輸入蠕虫性疾患の発

生を把握し、医療対応に資する情報提供を目的にデータベース作成を進め、文献的に或いは学会発表がなされた報告事例約 3,000 件についてデジタル化を完了し、データベースとしての一般公開の体制をほぼ整えた。関係方面の許諾を待って早急に正式公開する運びである。

C-3. 蠕虫感染症の DNA 診断法開発：日本住血吸虫を検出するために 2 つの候補遺伝子 (*SjR2* 及び *Sjal*) を選定して検討したところ、ゲノム DNA を鋳型に用いた場合にはそれぞれ 10 fg 及び 0.1 fg の感度で増幅できた。感染マウス血清で検討したところ、どちらの遺伝子も感染 4 週で検出され、ミヤイリガイにも応用可能であった。ヒト及びミニプタの感染血清に用いたが、特異バンドは検出できず、今後の検討に持ち越した。

C-4. 新しい蠕虫感染モデル動物としてのミニプタの検討：ミニプタを用いて経鼻感作による住血吸虫ワクチンの検討を進め、ヒトでの実用化に予想される副作用などの危険性を調べた。経鼻感作でもパラミオシンは雌成虫の回収数を減じる効果があったが、コレラ毒素サブユニット B を用いることによって肺炎や細気管支炎など気道系の副反応が見られた。

C-5. 蠕虫感染症の病態解析：幼虫移行症の原因となる動物由来の回虫をヒト同様に非好適宿主であるスナネズミに感染させると虫種毎に異なった体内移行パターンを示すことがわかった。また、クマ回虫による幼虫移行症でヒトと同様に重篤な神経症状を示すスナネズミと発症しないマウスとで感染後の病理を比較すると、スナネズミでは脳の各所で細胞浸潤と脳軟化巣が観察された。腸管寄生線虫感染を持つヒトの腸管では Th2 優位のサイトカイン環境が局所に誘導されていることがわかり、今後の経口粘

膜ワクチンの効果に影響を及ぼす可能性が示唆された。さまざまな感染症の宿主では抗凝固リポ蛋白である CILIP が出現するが、住血吸虫感染で出現する CILIP は肝臓病変促進に機能する一方で、細菌感染などに伴う LPS ショックに対しては救命的に働くことがわかった。

D. 考察

輸入蠕虫性疾患の国内発生についての情報は早急に整備する必要がある。当面の課題は今後海外から日本に持ち込まれるのを監視して保健行政の施策に反映させるシステム作りと、過去の発生事例を整理して医療現場に提供することである。前者の目的にはさまざまな様態、経路で侵入する病原体を簡便に検出する技術の開発が必要であり、そのために昨年度には輸入蠕虫による幼虫移行症の免疫診断法を確立し、今年度は蠕虫の検出に PCR 診断を応用するための研究を行った。今年度の成果として掲げた住血吸虫症の PCR 診断法は従来の方法では不可能であった虫卵排出前の早期確定診断が可能であること、血清診断では困難であった感染住血吸虫種の同定が確実に行えること、検便による方法よりも感度が高いこと、などの特長をもち、また検便検査の経験がない検査技師にとっても実施が可能であるため、国内のサーベイランスへの応用性が高いと考えられる。これらの方法は感染者の診断に用いるだけでなく、輸入食品や農林産物など蠕虫の持ち込み媒体との検査に応用が図られるべきであり、次年度はその方向を目指すことになる。

過去の事例を整理して提供することは医療サイドに対する支援になるが、特に問題となる疾患については後フォローの継続も必要である。広東住血線虫症はアフリカマ

イマイなど軟体動物の国内移入に伴って持ち込まれた蠕虫性疾患であるが、これまでも単発的に好酸球性髄膜炎の発症を見ており、国内定着を医療関係者は推定していた。今回、首都圏で広東住血線虫の生活環が成立しているフォーカスを同定したことは、同様なリスクが国内の主要港湾の後背地区に普通に存在することを示唆する。沖縄県で見られたように従来とは異なる中間宿主の確認の情報とも併せて、国内のリスクマップのようなものを作っていく努力が必要である。

輸入感染症というのは病原体の持ち込みによるものが本来の用語の意味であるが、日本国内の在留外国人の増加に伴って、それぞれの食習慣を日本の生鮮食材によって継続すると今回確認したように蠕虫感染症の増加要因になりうる。これをどのように啓蒙しつつ監視するかは今後の課題である。以上のような情報も含めて、わが国の蠕虫感染症発生に関するデータベースは近々に公開することになるので、医療、研究ならびに行政の関係者に活用いただくように促進に努めたい。データベースに関しては、今後国内の症例登録による情報ソースの拡大を進め、国内の発生事例を網羅するものを目指す必要がある。

動物実験で得られた成果のうち、幼虫移行症の研究から重要な成果が得られた。動物回虫による幼虫移行症でもイヌ回虫、クマ回虫、ブタ回虫、アライグマ回虫など虫種によって体内移行パターンが異なっており、臓器障害に見られる多様なプロフィールとも相関することが考えられる。従来不明であった幼虫移行症病態解析の第一歩と考えたい。クマ回虫など *Bayisascaris* 属の幼虫移行症はヒトでは重篤な神経症状が見られるが、スナネズミの実験的感染でも類似

の症状が起こり、病理でも脳軟化巣や細胞浸潤フォーカスなどが見られた。これらの現象の病因的意義を今後検討する必要がある。ヒトの感染モデルとして検討を続けているミニブタの住血吸虫感染で、ワクチンの点鼻感作系が重篤な副作用も伴うことがわかり、蠕虫症ワクチンの開発に新たな情報を与える結果となった。腸管寄生線虫感染ヒト宿主における腸管粘膜の免疫学的観察データと併せて、現在多くの施設で開発が試みられている粘膜感作ワクチンに対して、効果を左右する蠕虫寄生の影響や投与方法自体のリスクなど重要なデータを示した。

病態解析の結果を実際の治療法に活用するには解決すべきブラックボックスが多いが、CILIPの研究で得られた現象のように、同じ物質でも特定の蠕虫寄生で誘導されてくるものが特異的な機能を有するのであれば、病態に影響したり宿主防御に働いている多面的な機能分子の調節によってある種の蠕虫に限って有効な治療、予防の開発の可能性が考えられる。継続して検討する課題であると考えている。

E. 結論

輸入蠕虫性疾患の監視と医療対応整備のために必要な課題解決を目指して研究を行った。いくつかの蠕虫については集中的に調査を行い、広東住血線虫の大都市部でのリスクマップの作製が進んだ。輸入蠕虫症の診断に供する新たな診断方法もほぼ当初の目標に沿うものを確立した。国内の輸入蠕虫性疾患発生動向を把握するためのデータベースの作成も順調に進めたので、研究班発足当初に指摘した問題点のいくつかは解決に向かったと考えられる。今後はさらに基礎的研究成果も実際の対策に応用できる形にして、病理病態の理解から予防・治

療面への応用を図ることを目指すことにした。今年度の成果をもとにして、次年度の計画を進め、輸入蠕虫性疾患に対する国内対応に一定の指針を与えるように努めたい。

F. 健康危険情報

首都圏の人口密集地において広東住血線虫の生活環が維持されたフォーカスを見出した。中間宿主であるチャコウラナメクジを介した感染の危険がある旨、情報提示をするものである。

G. 研究発表

1. 論文発表

Ohta N, Kumagai T, Maruyama H, Yoshida A, He Y & Zhang R. : Research on calpain of *Schistosoma japonicum* as a vaccine candidate. *Parasitol Int*, 53:175-181, 2004.

Kumagai T, Maruyama H, Hato M, Ohmae H, Osada Y, Kanazawa T & Ohta N. : *Schistosoma japonicum* : localization of calpain in the penetration glands and secretions of cercariae. *Exp parasitol*, 109:53-57, 2005.

Tanaka Y, Hanada K, Orito E, Akahane Y, Chayama K, Yoshizawa H, Sata M, Ohta N, Miyakawa Y, Gojobori T & Mizokami M. : Molecular evolutionary analyses implicate injection treatment for schistosomiasis in the initial hepatitis C epidemics in Japan. *J Hepatol*, 42:47-53, 2005.

Lu SH, Otsuki S, Ohta N. : Detection of *S. japonicum* a1 gene by polymerase chain reaction. (manuscript in preparation)

Fujiwara A, Kawai Y, Sekikawa S, Horii T, Yamada M, Mitsufuji S, Arizono N.: Villus epithelial injury induced by infection with the nematode *Nippostrongylus brasiliensis* is associated with upregulation of granzyme B. *J Parasitol*, 90:1019-26, 2004.

Miyake T, Ikoma H, Hoshima M, Yamane E, Hasegawa H, Arizono N: Case of acute ileus caused by a spirulina larva. *Pathol Int*, 54:730-733, 2004.

Lertanekawattana S, Wichatrong T, Chaisari K, Uchikawa R, Arizono N.: Immunological characteristics of patients with common intestinal helminth: results of a study based on reverse-transcriptase PCR. *Ann Trop Med Parasitol*, 99:71-80, 2005.

Sugiyama H, Morishima Y, Kameoka Y & Kawanaka M.: A multiplex PCR for discrimination between *Paragonimus westermani* and *P. miyazakii* at the metacercarial stage. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 35:327-330, 2004.

Sugiyama H, Morishima Y, Kameoka Y & Kawanaka M.: *Paragonimus ohirai* Metacercariae in Crabs collected along the Arakawa River in Tokyo, Japan. *J Vet Med Sci*, 66:927-931, 2004.

Asato R, Taira K, Nakamura M, Kudaka J, Itokazu K, Kawanaka M.: Changing Epidemiology of Angiostrongyliasis Cantonensis in Okinawa Prefecture, Japan. *Jpn J Infect Dis*, 57:184-186, 2004.

Watanabe K, Kikuchi M, Ohno A, Mohamed R T, Nara T, Ubalee R, Senba M, Iwasaki T, Chen H, Aoki Y, Hirayama K.: The miniature pig: A unique experimental model for *Schistosoma japonicum* infection. *Parasitol Int*, 53:293-9, 2004.

Hirayama K.: Immunogenetic analysis of post-schistosomal liver fibrosis. *Parasitol Int*, 53:193-7, 2004.

Ayi I, Akao N, Bosompemb KM, Akafo SK, Clarke J, Nyadore L, Apea-Kubi KA, Fujita K.: Development of membrane-based tests for the detection of urinary antigens and antibodies in human toxoplasmosis: preliminary studies in Ghanaian patients. *Acta Tropica*, 93:151-159, 2005.

Akao N.: Zoonotic filariasis in Japan. In: *Asian Parasitol Tokyo*, in press.
0

Akao N.: Critical assessment of existing and novel model systems of toxocarasis. In: *Toxocara: The Enigmatic Parasite*, in press.

Ohnishi K, Kogure H, Kaneko S, Kato Y, Akao N.: Strongyloidiasis in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *J Infect Chemother*, 10:178-180, 2004.

Sato H, Matsuo K, Osanai A, Kamiya H, Akao N, Owaki S, Furuoka H.: Larval migrants by *Baylisascaris trasfuga*: Fatal neurological disease in Mongolian jirds, but not in mice. *J Parasitol*, 90:774-781, 2004.

太田伸生：北米・ヨーロッパでかかる寄生

虫症。治療、86:139-142, 2004.

太田伸生：現代寄生虫病事情—住血吸虫症。医学のあゆみ、211:1157-1161, 2004.

有菌直樹：幼虫移行症の薬物治療。治療、86:2787-2790, 2004.

杉山広、森嶋康之、荒川京子、川中正憲、堀川禎夫、西山秀樹：喀痰から虫卵が検出され形態と塩基配列から種同定したウエステルマン肺吸虫症の1例。日本臨床寄生虫学雑誌、15, 39-39, 2004.

赤尾信明：イヌからうつる感染症。治療、86:102-106, 2004.

嶋田雅暁、赤尾信明、石渡賢治、奥祐三郎、奥沢英一、竹内勤、名和行文、西山利正、原 樹、濱田篤郎、堀尾政博：日常診断で役に立つ寄生虫情報システム。治療、86:29-34, 2004.

赤尾信明：気になる病気 旋尾線虫症。日経ヘルス、7:35, 2004.

赤尾信明、西（中川）佳代、西 起史：硝子体手術時の標本中に幼児様異物を認めた眼トキソカラ症の1例。日本臨床寄生虫学会誌 14:71-73, 2004.

北山沙知、兵地信彦、木島敏樹、岩井安芸、高沢亮治、松岡 陽、大塚幸宏、矢野雅隆、増田 均、藤井靖久、川上 理、小林 剛、木原和徳、赤尾信明：日本人に発症したビルハルツ住血吸虫症の1例。泌尿器科紀要、50:191-194, 2004.

2. 学会発表

Sen-Hai Y, Kawanaka M & Xue-Ming L :
Epidemiological Investigation on Parasitic
Diseases in Human Population in Former
Endemic Area of Schistosomiasis, South
China: Field research on the epidemiological
factors of *Clonorchis sinensis* infection. Final
Report of the JHSF funded project, 2004.

Hirayama K. : The miniature pig as unique model
for human *Schistosoma japonicum* vaccine
experiments. Forth world congress on vaccines
and immunization. Tsukuba Science City/ Tokyo,
Japan, Sep. 30 – Oct. 3, 2004.

Watanabe K, Kikuchi M, Hamed E, Nara T,
Arakawa T, Ishii K, Senba M, Iwasaki T, Aoki Y
& Hirayama K.: The miniature pig as a unique
experimental model for human Schistosomiasis
japonica. U.S.-JAPAN Cooperative Medical
Science Program Parasitic Diseases Panel
Annual Meeting. Kyoto, Japan, Dec. 7 - 9, 2004.

田邊將信、永田博司、関塚永一、宮崎耕司、
奈良武司、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血液
凝固活性化因子の病態生理学的機能の解析。
第 73 回日本寄生虫学会、平成 16 年 4 月

大槻茂男、川口 仁、尾藤真由美、太田伸
生 : 日本住血吸虫感染宿主の PCR による簡
易診断法に関する研究。第 60 回日本寄生虫
学会西日本支部大会、2004 年 11 月、西宮

川中正憲、荒川京子、森嶋康之、杉山 広、
安里龍二、平良勝也 : 沖縄県における広東
住血線虫症の血清疫学的調査、日本寄生虫
学会東日本大会、2004 年

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

輸入蠕虫感染症監視のための PCR 診断法開発とデータベース整備に関する研究

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

研究協力者 金澤 保 産業医科大学寄生虫学・熱帯医学教授

大槻茂男 ヒューマンサイエンス財団リサーチレジデント

研究要旨：輸入蠕虫性疾患を監視するために、簡便な診断法確立と広く一般からアクセス可能な情報整備を進めるための研究を行った。蠕虫性疾患の多様化に対応すべく、一般の検査室で寄生虫学のバックグラウンドなしに診断可能な方法として PCR の応用を考えた。研究対象として日本住血吸虫症の診断を昨年に引き続いて取り上げ、今年度は Sja1 配列を標的としてゲノム DNA にて 0.1fg の検出感度を持つプライマー設計まで進めた。この PCR ではマンソン住血吸虫ゲノムは増幅されず、特異性も高いことがわかった。マウスの感染実験ではセルカリア 10 隻感染の 4 週間後には血清からの PCR で検出できた。実際の疫学調査への応用を検討するために日本住血吸虫感染ミニプタの血清と中国の感染ヒト血清を用いて PCR を試みたが、いずれも特異バンドを観察することが出来ず、血清中の住血吸虫 DNA の量が少ないためか検査法改良で克服できる問題であるのかはさらに検討の要を認めた。わが国の蠕虫性疾患の発生に関する実態把握に情報のデータベース化が必要であると考え、今年度は具体的な運用の検討を行った。今年度は蠕虫性疾患についての報告事例を収集し、2000 年以降に国内で学会及び和文誌に掲載の報告をパソコンに入力した。Data base Management System は MySQL で、表示と操作は PHP で自作したプログラムで行うことにして、論文 2900 件および学会報告約 150 件の情報ソースを作成した。今後は運用上の問題点を調整した上で一般公開するとともに、未報告ではあるが国内各検査施設に問い合わせた事例の登録を依頼し、国内発生事例をほぼ網羅したデータベースの作成にも取りかかっている。

1. 日本住血吸虫症の PCR 診断法開発

A. 研究目的

蠕虫性疾患の診断に関する問題点として、従来の検便で確定診断できないものが増加していることに加えて、一般の検査室では検便技術を備えた技師の人材も少なくなってきたおり、蠕虫性疾患として新しい方法の導入が必要である。PCR は様々な感染症の診断技術に応用されてきており、国内の

地域基幹施設においては特殊検査とは最早いえないものであり、輸入蠕虫性疾患のうち PCR による監視が可能なものについてはその診断法整備の意義は大きい。本分担課題においては、近年アフリカからの輸入蠕虫症と位置づけられている住血吸虫症の診断に PCR を応用することを目的に検討を進めた。アフリカからの住血吸虫症については尿路系と腸管系の感染があることから検便か検尿で診断する必要があるが、末梢血

を用いた PCR 診断が可能ならば網羅的に診断を進めることが可能であり、当面の目的は血清を用いた PCR 診断法の開発に置いた。対象とする住血吸虫は未だ情報の乏しい日本住血吸虫とした。

B. 研究方法

B-1. 標的となる日本住血吸虫遺伝子の探索：近年日本住血吸虫ゲノムの情報も整備されてきたので、それを利用して PCR 診断の標的遺伝子を探した。日本住血吸虫に特異的な配列を持ち、ゲノムあたりのコピー数が多いものを探した。

B-2. 日本住血吸虫ゲノムの単離と PCR の条件設定：日本住血吸虫感染マウス腸管より得た虫卵を孵化させてミラシジウムを集め、DNA 抽出液 (150 mM NaCl, 10 ml Tris-HCl pH8.0, 10 mM EDTA, 0.1% SDS) と proteinase K 100 µg/ml として加えた後、常法通りエタノール沈殿にて DNA を回収した。OD 260nm にて吸光度を測定して定量した。PCR の鋳型として抽出した DNA を 10 pg から 10 倍希釈の系列として用意し、2 種類の標的遺伝子を増幅する PCR に用いて感度の測定に用いた。

B-3. 日本住血吸虫検出のための PCR 診断用標的遺伝子決定とプライマー設計：ゲノム情報に基づき、日本住血吸虫に特異性の高い配列を持ち、コピー数の多いものとして 2 つの transposon 遺伝子 (*SjR2* 及び *Sjal*) を候補として選定した。それぞれ 1 個体当たり 10,000 コピー程度存在する。その配列に

基づいてプライマーを設計した。感度を上げるために nested PCR のシステムを確立するべく検討を進めた (*SjR2*: 1st PCR, Fwd: 5' TG ATTGATATAATCGCCTTCGCGTAC3', Rvs: 5' AGGGATTTGTTCTGGCACGCATTAGCCG GAGTTC3', 2nd PCR, Fwd: 5' AGTTCGTCCA GACAACCTCTCTCGCT3', Rvs: 5' TCGT CATTCCGGAAGACTTCC3') (*Sjal*: 1st PCR, Fwd: 5' CATAGAAGCGATGTAGTC3', Rvs: 5' TG GACTGAAACTGGTCAG3', 2nd PCR, Fwd: 5' GAAATATAAAGGAACCGGTGG3', Rvs: 5' ATCCTAAGCGAATTGCCTCG3')。

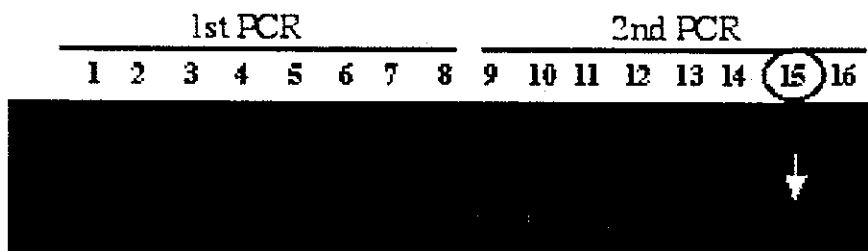
B-3. 感染血清による検討：実験的に日本住血吸虫を感染させた ICR マウスより経時的に採取した血清 200 µl より DNA を分離して PCR の鋳型とした。マウスに感染させたセルカリアは 10~60 隻で検討した。対照として Manson 住血吸虫感染マウス血清を用いた。

疫学応用の可能性検討のために、ミニブタの実験的日本住血吸虫感染血清と検便にて虫卵排出が確認されているフィリピン日本住血吸虫感染ヒト血清を用いて同様の PCR による診断を試みた。

C. 研究結果

C-1. 日本住血吸虫トランスポゾン遺伝子 2 種 (*SjR2* 及び *Sjal*) による PCR 診断：日本住血吸虫ゲノム DNA を鋳型とした場合に前者では 10fg、後者では 0.1fg の検出感度が得られた (図 1)。

図1 日本住血吸虫のPCR診断の感度



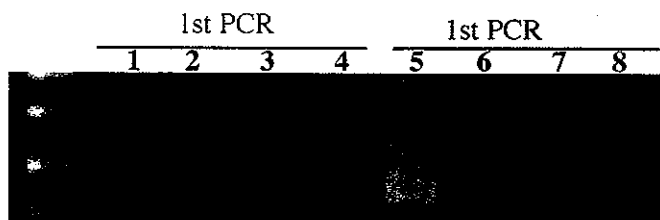
Lane 7 & 15: 0.1fg DNA

また、ミラシジウム1隻またはセルカリア1隻より抽出したDNAにて特異バンドをPCRにて検出可能であった。

C-2.日本住血吸虫感染マウス血清を用いたPCRでは10セルカリア感染で4週後に特異バンドが検出された。一方、マンソン住血

吸虫感染マウス血清では検討した条件下ではシグナルを検出できなかった(図2)。実際の流行地住民血清や実験的に感染させたミニプタ血清を用いたPCRでは今回の検討条件下では住血吸虫DNAを検出できなかった。

図2 日本住血吸虫PCR診断の特異性



1/5: *Sj* genome DNA
2/6: DNA-free
3/7: *Sm* genome DNA
4/8: *Sm*-infected sera

D. 考察

日本住血吸虫感染宿主血清を用いたPCRによって検出可能であることを証明した。血液中にはなぜ寄生虫DNAが存在するかの説明は現時点では困難であるが、血管内に寄生している住血吸虫から産下された虫卵または脱落した細胞核由来のDNAが微量であるが循環していることが考えられた。

この方法の最大のメリットは感染4週で感染を検出することが可能であることであり、従来の検便では感染6~7週まで待たねばならなかったこと、及び血清診断ではきわめて困難であったヒト寄生の住血吸虫種

の同定が明確に行うことができることなど、従来からの問題を克服する手段となる。さらに血液で診断が可能であれば検体の保存や輸送が比較的容易であり、遠隔地の地方衛研や基幹病院検査室でも十分に対応が可能であることも衛生行政に大きく貢献する新しい診断法となることが期待される。

疫学的には確定診断を要求される大量検体処理に際して有用な方法となりうるが、今回の検討ではヒトや家畜動物の血清を用いた場合の実用性について明確な解答を出すことができなかった。これはマウスに比べてヒトや家畜動物の末梢血液中の住血吸

虫 DNA 量が PCR による検出限界を下廻っていることが考えられた。その問題に対しては検査試料を血清ではなく糞便など住血吸虫 DNA の濃度が比較的高いと推定される試料を用いる必要があるのかもしれないが、それでも検便に比べて大量検体処理の効率としては優れている。

診断の特異性については、今回の条件では類縁種である Manson 住血吸虫を検出しないことを確認したが、アジアでは日本住血吸虫の近縁種としてメコン住血吸虫があり、それとの鑑別がどうかは今後の課題である。

E. 結論

日本住血吸虫の PCR 診断法の開発を進めた。ゲノム DNA 量による感度検討では検便による検出感度を 100 倍以上上廻ることを確認したが、実際の感染宿主由来の血清試料を検討した場合に未だ十分な感度を得ることはできなかった。特異性については Manson 住血吸虫感染と鑑別可能であることがわかった。当面は血清を用いた診断を検討することになっているが、将来のヒトへの応用を考えると、糞便を用いる方法を考える必要性を認めた。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

論文発表

Ohta N, Kumagai T, Maruyama H, Yoshida A, He Y & Zhang R. : Research on calpain of *Schistosoma japonicum* as a vaccine candidate. *Parasitol Int*, 53:175-181, 2004.

Kumagai T, Maruyama H, Hato M, Ohmae H,

Osada Y, Kanazawa T & Ohta N. : *Schistosoma japonicum* : localization of calpain in the penetration glands and secretions of cercariae. *Exp parasitol*, 109:53-57, 2005.

Tanaka Y, Hanada K, Orito E, Akahane Y, Chayama K, Yoshizawa H, Sata M, Ohta N, Miyakawa Y, Gojobori T & Mizokami M. : Molecular evolutionary analyses implicate injection treatment for schistosomiasis in the initial hepatitis C epidemics in Japan. *J Hepatol*, 42:47-53, 2005.

Lu SH, Otsuki S, Ohta N. : Detection of *S. japonicum* a1 gene by polymerase chain reaction. (manuscript in preparation)

学会発表

大槻茂男、川口 仁、尾藤真由美、太田伸生：日本住血吸虫感染宿主の PCR による簡易診断法に関する研究。第 60 回日本寄生虫学会西日本支部大会、2004 年 11 月、西宮

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

2. わが国の蠕虫性疾患のデータベース整備について

A. 目的

わが国の輸入蠕虫性疾患を監視する上で最も問題となっていることは情報の未整備である。一般に蠕虫性疾患は慢性に経過し、いわゆる penetrance が低く臨床的に感染を見逃している例が相当数あることが推定されている。しかし、これからの国内監視を整備していくためには国内で見出された事例を登録し、発生動向に関する情報整備をすることが必要である。本課題では国内の蠕虫性疾患発生に関するデータベースを整備し、正確な発生動向把握、発生した場合の医療対応への情報提供のシステムを確立することを進めている。本年度は発生状況を論文や学会で報告のあったものを情報ソースに網羅的に記載したデータベース開発を行った。

B. 研究方法

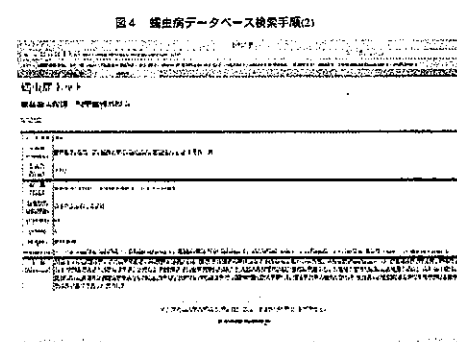
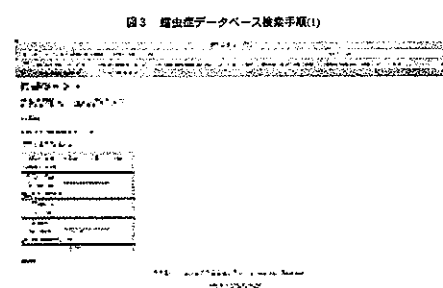
B-1.情報収集：集めた情報は2000年以降、学会発表と和文論文で報告のあったものに求めた。学会発表としては日本寄生虫学会の総会及び地方支部会で発表されたものを各学会抄録より得た。論文報告例は医学中央雑誌に掲載されたものを用いた。

B-2.データベース作成手順：学会および論文抄録のハードコピーをデータソースとしてOCRソフト「読ん de ココ」を用いてテキストデータとした。テキストデータはファイルメーカー形式で一時保存し、それを.csv形式に変換してサーバーへアップロードした。

C. 研究結果

学会発表の抄録は153例の入力が完了し、

和文発表論文として2888症例を入力した。これらはデータベースとしての公開に向けて検索から情報提示についてのシミュレーションを行い、図に示すような検索手順を立ち上げた(図3,4)。



D. 考察

蠕虫性疾患の国内発生に関する情報整備のためには、いわゆる active な症例捕捉と passive な捕捉を行うことが当面考えられる。今年度の研究では passive な症例捕捉として国内の学会または論文で報告された事例を集めてデータベースとして整理した。本研究班で行ったのは学会発表の2000年以降のものであるが、日本寄生虫学会ではすでに2000年以前の報告をデータベース化しているので、それと併せると国内の報告症例はほぼ捕捉したデータベースが完成したことになる。今後とも更新を加えながら維持していくことにより、国内の輸入蠕虫感染症の情報はかなりのレベルで整備されていく

ことになる。

特になし

一方で、activeな症例捕捉を進めることが重要であり、蠕虫感染症のような慢性に経過する不特定愁訴の病態は実際の症例捕捉率がかなり低いことが推定される。また、例えば「回虫症の1例」というようなものは学会などの症例報告にも上がってこないと思われ、それだけに積極的な情報収集を進めないと実態の解明には及ばない。今後のデータベース化の計画では、蠕虫症の診断依頼が持ち込まれると思われる大学・研究所などの検査機関に症例の登録を依頼して、現状では水面下に潜んでいる国内発生事例を拾い出すことを次年度には行う必要があると考えている。

E. 結論

国内の輸入蠕虫性疾患の発生動向を把握し、医療機関にも医療対応上の参考となる情報提供のシステムとして、国内の症例報告についてのデータベースを作成し、公開に至るところまで整備を行った。さらに個々の症例登録システムも整備して、わが国の輸入蠕虫性疾患の監視を行い、診断や治療面での医療対応の向上を図った。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

論文発表

太田伸生：北米・ヨーロッパでかかる寄生虫症。治療、86:139-142, 2004.

太田伸生：現代寄生虫病事情—住血吸虫症。医学のあゆみ、211:1157-1161, 2004.

H. 知的財産権の出願・登録状況

輸入蠕虫症調査とヒト腸管寄生虫感染の小腸粘膜免疫に関する研究

分担研究者 有菌直樹 京都府立医科大学医学研究科寄生病態学教授

研究要旨：輸入蠕虫症調査の一環として、本年度は無鉤条虫症の発生動向について文献的調査と自検例の解析を行った。その結果、無鉤条虫症の発生件数は過去 21 年間で大きな変動は見られず、コンスタントに発生が見られることが明らかになった。その多くは海外、特に無鉤条虫の多いアフリカ、東南アジア、南米における感染が中心と考えられたが、国内での感染が疑われる例も少数存在していた。東アジア、東南アジアには無鉤条虫 *Taenia saginata* と形態的に区別できず、ブタから感染することで知られる *Taenia asiatica* が分布しているが、この両種（亜種）の鑑別が今後の疫学的課題と考えられた。

開発途上国において最もコモンな腸管寄生蠕虫症が健康に及ぼす影響を免疫学的側面から解析する目的でタイ国ノンカイ市住民 31 名を対象に小腸粘膜免疫に関する研究を実施した。対象者 31 名中、回虫 1 名、糞線虫 2 名、無鉤条虫 6 名、合計 9 名の寄生虫感染者が含まれていた。十二指腸粘膜における各種サイトカインと好酸球、マスト細胞マーカーの発現を RT-PCR 法で解析した結果、寄生虫感染者において Th2 優位の粘膜免疫状態を示すことが明らかになった。Th2 タイプの腸管免疫は腸管寄生虫の排除あるいは感染防御に働く一方で、Th1 リンパ球の増殖に antagonistic に作用することによりウイルス、細菌、原虫感染、あるいは経口ワクチンに対する免疫反応を阻害する可能性もあり、これらの腸管寄生虫感染者の粘膜免疫は望ましい状態であるとはいえないと考えられた。

1. 輸入蠕虫症の調査

A. 研究目的

わが国から回虫、鉤虫等の土壌媒介寄生虫症が実質的に消失してから久しいが、開発途上国においては現在もなお数十億人に感染が見られ、日本への再侵入に対する継続的な監視が必要である。一方、条虫症は土壌媒介寄生虫症とは異なり食品（食材）媒介寄生虫症であり、その感染が食生活の様式に強く依存することから、その発生動向は回虫、鉤虫

等と必ずしも同一ではない。大型腸管寄生条虫として広節/日本海裂頭条虫と無鉤条虫がある。日本人における広節/日本海裂頭条虫の発生比率は無鉤条虫症の約 5 倍である。広節/日本海裂頭条虫はサケ、マス類の生食によって感染し、中でもサクラマスが主要な感染源であると考えられることから、現在のところわが国においては輸入蠕虫症とはみなされていない。無鉤条虫のわが国における発生件数は広節/日本海裂頭条虫よりも低い、諸外国、特に開発途上国においては無鉤条虫症が

非常に多い。無鉤条虫は牛肉が感染源であり、日本産牛肉からは感染が報告されていないことから、現在の日本人に見られる無鉤条虫症は輸入感染症としての側面が極めて強いことが指摘されている。そのような意味において、無鉤条虫症の近年の発生動向を解析することは、輸入蠕虫症の動向を推測する上でも重要であると考えられる。また近年、東アジアおよび東南アジア各国には無鉤条虫 (*Taenia saginata*) と形態的に区別不可能な *Taenia asiatica* が多数存在することが明らかになっている。*T. saginata* と *T. asiatica* の最も大きな違いは前者が牛肉を感染源とするのに対して、後者は *T. solium* と同様に豚肉を感染源とすることである。

このような背景のもとに、本調査では過去 21 年間に遡って無鉤条虫症症例報告の文献的調査を行い、さらに自験例を加えて発生動向および感染地域の解析を行った。

B. 研究方法

文献調査は医学中央雑誌から無鉤条虫症の症例報告（学会報告および原著論文）を抽出し行った。自験例は、研究分担者の所属研究室に保存されている資料に基づいた。

C. 研究結果

1983 年から 2003 年までの 21 年間に検索することのできた無鉤条虫症例報告数は 22 例、同一期間内における京都府立医科大学自験例も 22 例であった。両者間に症例の重複はない。京都府立医科大学症例はほぼ京都府内に限定されるため、人口比から推測するところの間日本全体で約 1,000 名の感染、年間約 50 人程度が感染していたと推測される。

年次動向は、表 1、表 2 に示したごとく過去 21 年間に 7 年ごとに集計した結果では、特に増減は見られなかった。

現在の日本産牛肉からは無鉤条虫の感染は報告されていないことから、多くの症例は輸入感染と推測される。しかし、聞き取り調査がかならずしも十分でなく感染地を推定できた例は必ずしも多くなかった。聞き取り調査の結果海外での感染と推測されたのは、症例報告、京都府立医科大学例計 44 例中 15 例で、感染地域は表 1、2 に示したごとく、アフリカ、中近東、東南アジア、南米であり、いずれも無鉤条虫症が多数見られる地域であった。

表 1. 無鉤条虫群症例報告から見た感染地域の推定

年度	総数	国内感染	不明	海外感染	推定感染地
1983-1989	7	-	5	2	ベトナム, アフリカ
1990-1996	8	2	6	-	
1997-2003	7	-	4	3	タイ, ベトナム, アフリカ
計	22	2	15	5	

表 2. 京都府立医科大学無鉤条虫群症例における感染地域の推定

年度	総数	国内感染	不明	海外感染	推定感染地
1983-1989	9	1	4	4	韓国, タイ, トルコ, ブラジル
1990-1996	5	-	4	1	エチオピア
1997-2003	9	1*	3	5	エチオピア, タイ, ベトナム
計	22	2	15	10	

*印を付した症例は、中国から日本にひそかに持ち込まれ痩せ薬として販売されていた幼条虫 (cysticercus) を摂取したことによる感染。

一方、聞き取り調査を行った結果海外旅行の経験がなく、国内での感染と推定された例が44例中4例存在した。

D. 考察

上述のごとく、無鉤条虫の発生数は過去21年間で大きな変動はなく、現在のところ特に増加している傾向は見られない。多くは海外、特に無鉤条虫の多いアフリカ、東南アジア、南米における感染が中心であることが明らかになったが、国内での感染を疑わせる例も少数存在した。ごく一部に検疫を通り抜けた感染牛が存在し、それが感染源となった可能性もあるが、推測の域をでない。

海外での感染地としてタイ、ベトナムなど *T. asiatica* が分布する地域が含まれていることが注目された。輸入無鉤条虫症はヒトの問題にとどまらず、感染者から排出される虫卵により日本国内のウシ、ブタなどの畜産動物へ感染が拡大する可能性もあることから、今後ヒト症例における *T. saginata* と *T. asiatica* のDNA鑑別診断を実施し、疫学的実態を明らかにしていくことが必要であろう。

E. 結論

輸入蠕虫症の調査の一環として、無鉤条虫症の発生動向について文献調査と自検例の解析を行った。その結果、無鉤条虫症の発生件数は過去21年間で大きな変動は見られず、コンスタントに発生が見られることが明らかになった。発生件数は年間約50例程度と考えられる。感染の多くは海外、特に無鉤条虫の多いアフリカ、東南アジア、南米における感染が中心と考えられたが、国内での感染が疑われる例も少数存在していた。

II. ヒト腸管寄生虫感染の小腸粘膜免疫に関する調査研究

A. 研究目的

回虫、鉤虫、条虫などの古典的消化管寄生虫の感染は目に見える形での人体への影響が小さいことから neglected disease と呼ばれてきた。しかし、これら消化管寄生虫は小児の知的、身体的発育や成人の就労に影響を及ぼし、その結果、社会に全体に与える影響は決して小さなものではないことが明らかになりつつある。免疫学的には、実験的に腸管寄生線虫の感染により Th2 リンパ球サブセットが誘導され、この Th2 反応が腸管寄生虫感染防御に重要な役割を果たすことが示されているものの、Th2 反応は Th1 リンパ球の増殖を抑制することにより、ウイルス、細菌、原虫の感染に対する防御免疫に影響を与え、さらには経口ワクチンに影響を及ぼすことも考えられる。このような意味において、古典的腸管寄生虫症のヒト腸管粘膜免疫に及ぼす影響を明らかにすることは、トータルな感染防御を考えていくうえで重要である。

本研究では、腸管寄生虫流行地に居住する住民の十二指腸粘膜における IFN- γ 、IL-5、IL-13 などのサイトカイン、好酸球やマスト細胞のマーカー分子の発現を調べることに、寄生虫感染者において Th2 にシフトした粘膜免疫が誘導されているか否かを明らかにすることを目的として、タイ国ノンカイ市住民を対象に研究を実施した。

B. 研究方法

1) 対象者と倫理的配慮

何らかの消化器症状を有しタイ国ノンカイ病院消化器内科を受診し、担当医の診察の結果、診断のために上部消化管内視鏡検査が必要と判断され、検査を受けることに同意した患者を対象とした。

上記対象者に十二指腸における各種サイトカインや炎症マーカーの発現を調べる研

究の目的と意義について説明し、診断のための上部消化管内視鏡検査の際に、「十二指腸生検を同時に行い生検材料をその研究のために提供する」ことへの協力の意思を問うた。協力の意思があり、さらに同意書へのサインが得られた 31 名を最終的な研究対象者とした。本研究における対象者は全員が消化器症状を有し、その診断のために上部消化管内視鏡検査が必要であると担当医によって判断されたものであり、必要のない内視鏡検査は行われていない。

2) 方法

内視鏡検査実施予定日の 1 週間以内に便検査を実施した。内視鏡検査時に Papilla Vater から 3 cm 遠位側の十二指腸粘膜から生検材料 1 片を採取し、ただちに 1 ml の RNA 保存液 (RNA later) に浸漬し、RNA 抽出まで 4-50 日 (平均 22.6 日間) 4°C で保存した。

Trizol 試薬を用いて Total RNA 抽出後、IFN- γ , IL-5, IL-13, Fc ϵ RI, mast cell tryptase (McTr), Charcot-Leyden crystal protein (CLC), glucose transporter (GLUT)-1, GLUT-5, β -Actin について RT-PCR 実施した。RT-PCR は Takara RNA LA PCR kit を用いた。

C. 研究結果

対象者は全員ノンカイ県居住者である。ノンカイ県の学童と一般住民における寄生虫卵保有率はおおよそ 20% 台であり、回虫、鉤

虫、糞線虫、無鉤条虫などが一般的に見られる (表 1)。対象者 31 名は、方法に示したごとく全員が消化器症状を有し、ノンカイ病院消化器内科を受診し、診断確定のために内視鏡検査を実施したものである。内視鏡検査の結果 17 名に慢性胃炎、6 名に消化性潰瘍、4 名に食道炎、3 名に糜爛性胃炎が見出され、残りの 3 名は特に所見が見出されなかった。

一般検査結果を表 2 に示した。対象者 31 名中 9 名に、受診時あるいは受診 3 ヶ月以内に腸管寄生虫感染が見出された。その内訳は糞線虫 2 名、無鉤条虫 6 名および回虫 1 名であった。赤痢アメーバ、ランブル鞭毛虫などの原虫は見出されなかった。*Helicobacter pylori* に対する urea tests では 31 名中 7 名で陽性であった。表 2 に示したごとく、腸管寄生虫感染者と非感染者の間には一般検査で特に有意な差は認められなかった。

十二指腸粘膜における IFN- γ , IL-5, IL-13, Fc ϵ RI, mast cell tryptase (McTr), Charcot-Leyden crystal protein (CLC), glucose transporter (GLUT)-1, GLUT-5, β -Actin mRNA 発現を RT-PCR で解析した。IL-5 と IL-13 以外は対象者全員に発現が認められた。IL-5 発現は、対象者を末梢血好酸球 6% 以上と以下の 2 群に分けた場合、好酸球増多者でより高率に発現が認められたが、寄生虫保有者と非保有者の間では IL-5 の発現率に有意な差は認められなかった (図 1)。

Table 1. Stool examination for helminth eggs in Nongkhai Province, Thailand
(Data from the Provincial Health Office, Nongkhai)

Year		No. examined	Overall positive (%)	<i>Ascaris</i> (%)	Hookworm (%)	<i>Strongyloides</i> (%)	<i>Taenia</i> (%)	<i>Opisthorchis</i> (%)
2000	School	9,062	26.5	4.8	6.0	0.1	11.7	1.4
	General	4,110	24.4	-	-	-	-	-
2001	School	13,288	19.3	1.4	3.5	0.2	6.9	2.6
	General	9,406	33.3	-	-	-	-	-
2002	School	4,646	28.2	1.0	11.4	0.6	11.9	0.8
	General	5,523	22.0	0.6	6.4	1.4	7.0	3.8