

平成 17 年度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」班
分担研究報告書

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

分担研究者	川中正憲	国立感染症研究所寄生動物部
協力研究者	杉山 広	国立感染症研究所寄生動物部
同	森嶋康之	国立感染症研究所寄生動物部
同	荒川京子	国立感染症研究所寄生動物部
同	平野敬之	佐賀県衛生薬業センター微生物課
同	池添博士	佐賀県唐津保健所衛生対策課
同	安里龍二	沖縄県衛生環境研究所微生物部

研究要旨： 輸入蠕虫症としては、日本に滞在している外国人の症例、当該病原体が日本には存在せず外国で邦人が感染し帰国したと思われる症例、及び外国人が母国の食習慣を日本に持ち込んで感染したと思われる症例などがある。例えば有鉤条虫は現在のところ国内には存在せず、従って有鉤囊虫症の発生は国外に由来すると考えられる。医療機関において臨床的に見逃されやすい蠕虫疾患、特に輸入症例について、今までの事例を整理しデータベース化することによって予防、診断、治療に役立たせるということが重要なものとなる。今年度は、昨年度に引き続き外国の食習慣が国内に持ち込まれたことによって起きた肺吸虫症の事例の調査、及びタイ人のこうした事例が多い事からタイ産肺吸虫の分類学的検討を行った。また、アフリカ・マダガスカル島原産のアフリカマイマイの伝播と共に世界的に分布を拡大したといわれる広東住血線虫の沖縄における感染危険因子をアンケート調査にもとづいて解析した。

1. 平成 15 年以後 3 ヶ年に当研究室で抗体検査陽性であった輸入蠕虫症の事例

された平成 15 年から同 17 年までに受け付けた検体は 70 例であり、このうち輸入蠕虫症と見られる事例について述べる。

A. 研究目的

感染研寄生動物部では、血清などの体液中の抗体検査が診断上で重要な位置を占める蠕虫疾患について、医療機関からの依頼検査を受け付けている。当該研究班が組織

B. 研究方法

検査は通常、酵素抗体法（DOT-ELISA）により実施した。抗原として、線虫類 6 種（日本顎口虫、犬回虫成熟虫卵、アニサキス、

豚回虫、犬糸状虫、広東住血線虫)、条虫類 3 種 (広節裂頭条虫、マンソン孤虫、多包条虫)、吸虫類 4 種 (ウエステルマン肺吸虫、宮崎肺吸虫、肝蛭、日本住血吸虫) の 13 種類を用いた。酵素抗体法で得られた結果のみで判断がつけがたい場合は、上記以外の抗原も含め、ウエスタンブロット法、ゲル内沈降反応、あるいは薄切標本を用いた酵素抗体法などをあわせて行った。

C. 研究結果

平成 15 年以後 3 ヶ年に 70 検体の抗体検査を実施し、そのうち抗体陽性例は 21 件であった。その内訳は、ウエステルマン又は宮崎肺吸虫：7 件、有鉤囊虫症：4 件、旋尾線虫症：5 件、日本住血吸虫症：2 件、ビルハルツ住血吸虫症：1 件、マンソン孤虫症：1 件、トキシカラ症：1 件であった。輸入症例としては、外国人の症例、或いは病原体が日本には存在せず外国で邦人が感染したと思われる事例、及び母国の食習慣を日本に持ち込んで感染したと思われる事例がある。それらは、有鉤囊虫症 4 例 (モンゴル人、中国人、ザンビア人、日本人)、ケニアに居住歴のある日本人のビルハルツ住血吸虫症 1 例、そして、肺吸虫症 3 例 (全てタイ人)、合計 8 例が挙げられる。

D. 考察

今回、検査された肺吸虫感染者 8 名のうち 3 名がタイ人で、いずれも我国の淡水カニを感染源としていたと推定されている。このことは食習慣の輸入という事実に関連して、国内でのエスニック料理について実態調査の必要性を示している。また、有鉤囊虫に感染した外国人が我国の医療機関に

おいて画像によりそれを疑われ、抗体検査の依頼を受ける例が少なからず存在した。

E. 結論

医療機関において臨床的に見逃されやすい蠕虫疾患、特に輸入症例について、今までの事例をデータベースによって整理し、今後の診断、予防、治療に役立たせるという課題は、今後益々重要なものとなる。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

松本ルミネ、宇羽野恵、上坂義和、國本雅也、川中正憲：PET 検査が鑑別の一助となった脳有鉤囊虫症の 1 例、神経内科、Vol. 63 No. 5, 473-476, Nov. 2005

2. 平成 16 年秋に集団発生した肺吸虫による食中毒：原因の寄生虫学的精査

A. 研究目的

佐賀県の某ホテル内にある中華料理店を原因施設として 2004 年秋に、肺吸虫症が集団発生した (計 4 名)。患者は神奈川県 (1 名)、佐賀県 (1 名)、福岡県 (2 名) に在住し、2 名は呼吸器症状を呈したが、他の 2 名は血清反応のみが陽性の無症者であった。中華料理として有名な「上海ガニの老酒漬」を模して、地元産のモクズガニを同様に調理し、これを非加熱で提供した事が原因であった。原因食品がモクズガニであり、患者に特徴的な臨床症状・血清反応が認められたことから、本事例の原因物質はウエステ

ルマン肺吸虫と判定され、食品衛生法に基づき食中毒として届け出された。しかしながら、感染予防対策をより万全なものとし、事故の再発を確実に予防すると云う観点からは、原因物質についての寄生虫学的精査が必要と判断された。そこでモクズガニからの肺吸虫メタセルカリアの検出を試み、形態同定・分子同定を行う事にした。

B. 研究方法

患者からの聞き取り調査で、佐賀県の某ホテル内にある中華料理店が感染場所である事は既に特定されていた。この料理店に情報を求めたところ、料理に用いたモクズガニは、佐賀県東松浦郡浜玉町（現・唐津市）を流れる玉島川由来である事が明らかとなった。そこで玉島川のモクズガニから肺吸虫のメタセルカリアを検出して、形態と塩基配列から種の同定を試みた。

C. 研究結果

玉島川で捕獲されたモクズガニ 69 匹を検査材料とした。59 匹については鰓だけを、また 10 匹については全身を調べ、メタセルカリアを探した。その結果、鰓を調べた群では 11 匹が、また全身を検索した群では 2 匹が陽性で、検査方法によらず寄生率は共に約 20% と高い値を示した。カニ 1 匹あたりのメタセルカリアの検出数は、鰓を調べた群では 1 - 12 個、全身を検索した群では 12 個と 167 個であった。全身を検索して 167 個のメタセルカリアが見出されたカニについて、その体内分布を詳しく見ると、鰓が 39 個、肝が 3 個、生殖器が 1 個、胴体部筋肉が 63 個、脚部筋肉が 61 個で、肝や筋肉と云う可食部にも多数のメタセルカリアが

寄生していた。

検出したメタセルカリアを顕微鏡下に観察・計測したところ、何れも球形を呈し、直径は平均約 0.42mm で、体肉内には赤色の微細顆粒が多数認められた。これらのメタセルカリアから DNA を抽出し、リボソーム DNA の ITS2 領域を PCR 増幅して塩基配列を解読した。その結果、PCR 産物は 2 倍体型・3 倍体型に共通するウェステルマン肺吸虫の配列に一致した。そこでミトコンドリア DNA の 16S リボソーム DNA 領域を PCR 増幅した。その結果、3 倍体型ウェステルマン肺吸虫に特徴的な配列が増幅された。以上の結果から、玉島川のモクズガニには、実際にウェステルマン肺吸虫（3 倍体型）のメタセルカリアが高率に寄生しており、2004 年秋に集団発生した肺吸虫症の原因になったと判定された。

D. 考察

肺吸虫による集団感染は 1984 年に北九州市でも発生し（19 名）、食中毒として記録されている。原因食品は本事例と同様にモクズガニの老酒漬（酔蟹）で、ウェステルマン肺吸虫が原因物質とされている。しかしながら、肺吸虫種の同定は不十分で、またモクズガニの産地も特定されていない。

今回の調査では、患者からの聞き取り調査と料理店からの情報により、原因食品が玉島川産のモクズガニであることを先ず特定した。その上で現地に赴き、実際にモクズガニを捕獲して検査したところ、69 匹のうち 13 匹（約 20%）から肺吸虫のメタセルカリアが検出された。更に得られた肺吸虫について形態と遺伝子配列を調べ、何れもウェステルマン肺吸虫である事を確認し

た。しかも2倍体型ではなく3倍体型であることも明らかにした。

玉島川産のモクズガニに関する肺吸虫検査は過去にも行われており、24匹を調べて総て陰性と報告されている(岡部ら、1961)。一方、支流の横田川では陽性個体が検出されているが、検査した109匹の中のわずか1匹だけで、寄生率は0.9%に留まった。今回の調査では、玉島川での寄生率が約20%で、しかも可食部に多数のメタセルカリアが寄生する例もあった。玉島川漁業協同組合の関係者によると、地元では「肺吸虫(肺ジストマ)と云う寄生虫が居て、モクズガニを食べて罹る。」と云う事を知る者も多く、従って「モクズガニは必ず加熱調理する。」と云う。しかしながら、原因施設である料理店の調理担当者にはこの知識が欠落しており、地元産の食材を加熱せずに提供して今回の事例を発生させた。このような形の肺吸虫症を予防するには、先ず料飲店関係者に対して、寄生蠕虫症の予防に関する教育と啓発が必要であると痛感した。一般住民に対しても、同様の教育と啓発が望ましいと考えられた。

E. 結論

佐賀県の某ホテル内にある中華料理店を原因施設として、2004年秋に集団発生した肺吸虫症事例の原因物質の精査を試み、ウエステルマン肺吸虫の3倍体型である事を確認した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 学会発表

1. 池添博士、平野敬之、古賀 悠、廣松 寛、野口昌英、杉元昌志、森田満雄、ウエステルマン肺吸虫症による食中毒事例について、第54回九州地区獣医師大会(2005年10月)

3. タイ産肺吸虫の塩基配列の解読・登録と分子生物学的手法を用いた種鑑別法の開発

A. 研究目的

日本に長期間在住するアジア系外国人が、サワガニやモクズガニを用いて出身国固有の料理を作り、加熱せずに賞味して肺吸虫に感染する事例が、近年増加の傾向にある。我々が診断に関与した、カニ入りパパイアサラダを原因食とするタイ人の症例(杉山ら、2003)も、この中に含まれる。この症例では、患者の腹腔から検出された成虫がパラフィン包埋ブロックとされていたので、これを用いて原因虫の同定を試みた。先ず虫体の連続薄切標本を作製して形態学的特徴に基づく同定に努めた。しかし結局は、宮崎肺吸虫(日本に限局分布)なのか、ヒロクチ肺吸虫(タイに分布)なのか、最終判定ができなかった。そこで薄切標本からDNAを抽出し、ITS2領域をPCR増幅・配列解読した。その結果、塩基配列の相同性から宮崎肺吸虫と同定する事ができた。この様に、配列の相同性に基づく種同定は、形態同定を補う手段として極めて有用と考えられた。しかしながら、遺伝子配列が解読されていない肺吸虫に関しては、この方法が適用できない。例えばタイでは6種類の肺吸虫が分布するが、その内のバンコック肺吸虫は配列が一切登録されていないため、

塩基配列に基づく同定ができない。すなわちタイでは、検出された総ての肺吸虫を遺伝子配列で同定する事が困難と云う状況になっている。この問題を解決するために、タイでバンコック肺吸虫のメタセルカリアを確保し、更に他種肺吸虫のメタセルカリアも可及的に多数集めて、塩基配列の解読と登録を試みる事にした。併せて、配列に基づく種同定、種鑑別に適用できるような簡便で迅速な方法の確立を目指した。

B. 研究方法

タイ中部のサラブリー県とナコンナヨク県および南部のスラータニ県で淡水産のカニを採集し、肺吸虫メタセルカリアの検出に努めた。その結果、バン肺コック吸虫 *Paragonimus bangkokensis* の他、ヒロクチ肺吸虫 *P. heterotremus*、ウェステルマン肺吸虫 *P. westermanni*、タイ肺吸虫 *P. siamensis* およびハリナスタ肺吸虫 *P. harinasutai* の計 5 種類の肺吸虫をメタセルカリアとして集める事ができた。これらのメタセルカリアから DNA を調整し、吸虫類のリボソーム DNA に対するコンセンサスなプライマー・ペア (3S および A28) で ITS2 領域を PCR 増幅させ、その塩基配列を解読した。次に、ヒロクチ肺吸虫とウェステルマン肺吸虫の配列を比較し、両者に著差を認める部位に、種特異的プライマーを設計した。その際、PCR 増幅された時の産物のサイズが、夫々で異なるよう工夫した。この様にして設計・作製した 2 つの種特異的プライマーと上述のコンセンサスなプライマー・ペアとを同時に加え、5 種類の肺吸虫 DNA を別々にテンプレートとして、PCR 増幅を試みた (マルチプレックス PCR)。更

に、配列の違いから種特異的プライマーでの増幅はないと予想したタイ、バンコック、ハリナスタの各肺吸虫について、マルチプレックス PCR で得た増幅産物を制限酵素 (ScrFI) で処理し、バンドの切断パターンで種の鑑別が可能となるかを調べた (PCR-RFLP)。

C. 研究結果

バンコック肺吸虫の ITS2 領域の塩基配列を解読して GenBank に登録した (アクセッションナンバー: AB248091)。他の 4 種類の肺吸虫についても ITS2 領域の配列を解読したが、それらは何れも既に GenBank に登録されているものと完全に一致した。

タイ産 5 種類の肺吸虫 DNA をテンプレートとしてマルチプレックス PCR を行った。その結果、サイズの異なる種特異バンドが、ヒロクチ肺吸虫 (約 310bp) とウェステルマン肺吸虫 (約 140bp) から増幅された。これに加えて、共通サイズのバンド (約 520 bp) が何れの肺吸虫からも増幅された。共通バンドの増幅だけで、種特異バンドの増幅がなかったタイ、バンコック、ハリナスタの各肺吸虫について、各々の共通バンドを制限酵素 (ScrFI) で処理した。結果は各肺吸虫の塩基配列から予想されたとおりで、タイ肺吸虫の共通バンドは切断されず (約 520 bp のまま)、これに対してハリナスタ肺吸虫は 3 本 (約 60, 210 および 250 bp) に、またバンコック肺吸虫は 2 本 (約 250 および 270 bp) に切断された。

D. 考察

バンコック肺吸虫の ITS2 領域の配列を解読し、GenBank に登録した。これにより、

タイ産の全種肺吸虫を対象として、ITS2 領域の遺伝子配列の違いで種を同定する事が可能となった。各肺吸虫の遺伝子配列の違いを利用して、2 種類の種特異的プライマーを設計・製作し、また種鑑別に有用な制限酵素 (*ScrFI*) を選択した。そして実際に、種特異的プライマーとコンセンサスなプライマー・ペアを同時に用いたマルチプレックス PCR を行い、また増幅されてきた PCR 産物を制限酵素 (*ScrFI*) で処理した。その結果、タイ産 5 種類の肺吸虫が相互に鑑別・同定できることが明らかになった。この方法は正確で迅速・簡便なことから、患者材料 (成虫・虫卵) に関する同定・診断や食品材料 (メタセルカリア) に関する検査に活用できると考えられた。

E. 結論

バンコック肺吸虫の ITS2 領域の配列を解読し、GenBank に登録した。タイ産 5 種類の肺吸虫をその遺伝子配列の違いに基づいて迅速・簡便に鑑別・同定する手段として、マルチプレックス PCR に制限酵素 (*ScrFI*) 処理を組み合わせる方法を開発した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 杉山 広、森嶋康之、A. ラングシルジ、S. ビンチャイ、P. ケツダット、亀岡洋祐、川中正憲 (2005) : 分子生物学的手法によるタイ産肺吸虫の種鑑別・同定 : メタセルカリアでの検討. 獣医寄生虫学会誌 4,

53.

2. Sugiyama H, Morishima Y, Rangsiroji A, Binchai S, Ketudat P, Kameoka Y and Kawanaka M (2005) : Molecular discrimination between individual metacercariae of *Paragonimus heterotremus* and *P. westermani* occurring in Thailand. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 35 (suppl. 4), 102-106.

3. Sugiyama H, Morishima Y, Rangsiroji A, Binchai S, Ketudat P and Kawanaka M (2006) : Application of multiplex PCR for species discrimination using individual metacercariae of *Paragonimus* occurring in Thailand. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 36 (suppl. 1), in press.

2. 学会発表

1. 杉山 広、森嶋康之、A. ラングシルジ、S. ビンチャイ、P. ケツダット、亀岡洋祐、川中正憲 (2005) : 分子生物学的手法によるタイ産肺吸虫の種鑑別・同定 : メタセルカリアでの検討. 第 139 回日本獣医寄生虫学会、埼玉県和光市、2005 年 3 月.

2. Sugiyama H, Morishima Y, Rangsiroji A, Binchai S, Ketudat P and Kawanaka M. Application of multiplex PCR for species discrimination between individual metacercariae of *Paragonimus* occurring in Thailand. Joint International Tropical Medicine Meeting 2005. Bangkok, Thailand. September 30 to December 2, 2005.

4. 沖縄県における広東住血線虫感染の危険因子に関する研究

A. 研究目的

広東住血線虫症は中間宿主である軟体動物を生（民間薬としての摂取を含む）あるいは加熱不十分な状態で摂食することにより引き起こされる食品由来感染症とされる。日本国内における発生は、1969年の第一例以来、沖縄県を感染の場とする報告が全体の6割以上を占め、その多くで感染源（アフリカマイマイ等）が特定されてきた。しかし、1990年以降、沖縄県での感染と考えられるのに、患者の食歴に従来の中間宿主動物が含まれない感染例が多発するようになった。新たな感染源の存在が示唆されたので、これを特定することを目的として、本虫への感染曝露の危険因子の抽出を試みた。

B. 研究方法

前年度実施の血清疫学調査の結果にもとづいて症例対照研究を行った。すなわち、ウエスタンプロット法（以下WB）陽性者を症例群、WB陰性者を対照群と定義し、性別および年齢の2項目でマッチングさせた上で、広東住血線虫感染の危険因子に関する質問票調査を行った。調査対象者は症例97名・対照266名の合計313名であった。本研究は対象者からのインフォームドコンセント取得後に実施されている。

質問票における危険因子候補には、既知感染源の「中間宿主動物」のほか、感染幼虫に汚染される可能性がある食品として「野菜類」を加え、これらの摂食頻度・摂食様式等を尋ねた。自記式選択回答形式と

し、質問票を郵送して調査を進めたが、一部は同一調査票を用いて面接形式で調査を行った。

データの解析は2×2分割表にもとづいて行った。すなわち、アウトカム（WB結果から定義された症例・対照）と曝露要因（危険因子候補の有無）とを対応させ、オッズ比の95%信頼区間（CI）を求めて統計学的有意差を決定した。

C. 研究結果

2006年1月31日までに返送された調査票は109名分で、完全回答は100名から得られ、その回収率は27.5%であった。しかし症例群と比べ対照群からの回収率は低く（34%対25%）、解析時のマッチングは1:2にとどまった。回答者の内訳をみると（平均±標準偏差年齢）、症例群男性16名（67±15歳）、症例群女性17名（63±13歳）、対照群男性32名（67±13歳）、対照群女性35名（65±13歳）であった。

想定した危険因子候補のうち、既知感染経路である「中間宿主の摂食」はオッズ比1.163 [95%CI 0.414-3.271]で、症例群と対照群とで有意な差を示さなかった。一方、「野菜類」では「摂食頻度」および「摂食様式」では有意な差を示さなかったが、「調理時または摂食時、野菜に付着した軟体動物を発見」では有意な差を認めた（オッズ比2.786 [95%CI 1.165-6.659]）。調理作業への従事に関する性差を考慮し、性別に層化を行ってさらに検討を加えても両者の差は同様に有意であった（調整オッズ比2.783 [95%CI 1.165-6.649]）。

D. 考察

今回の症例対照研究では「調理時または摂食時、野菜に付着した軟体動物を発見」したことが危険因子として抽出された。無論このこと自体は直接的な危険因子を示すものでなく、中間宿主から遊出した感染幼虫が野菜を汚染している、あるいは野菜とともに意図せず中間宿主を摂取する機会の多寡を示すものと推察される。一方、これまで知られてきた感染様式である中間宿主の直接摂取については、食歴保持者は少数で、実際の摂食もすべて20年以上前であった。これらのことから、現在の沖縄県では従来と異なる新たな感染経路によって広東住血線虫症が引き起こされるものと考えられた。したがって野菜を摂取する際、洗浄の徹底によって本症の予防は可能と思われる。

アジア諸国をはじめとする本種流行地から近年多くの農産物が輸入され、その量は増加する一方である。これらの輸入野菜を原因とする広東住血線虫症の国内発生の可能性も危惧されることから、輸入野菜を対象とした本虫汚染状況についても検討を進める必要がある。

E. 結論

沖縄県において広東住血線虫感染に関する症例対照研究を行った。その結果、抗体陽性と食用野菜への中間宿主の付着を目視した経験とのあいだに有意な関係を認め、本虫への曝露は汚染野菜によるものと考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

ミニブタを用いた日本住血吸虫感染動物モデルの開発

分担研究者 平山謙二 長崎大学 熱帯医学研究所 疾病生態分野

中国の日本住血吸虫症流行地においては水牛、牛、家豚などが重要な保有宿主となっており、このことが撲滅対策を困難なものにしている。カンボジア、ラオスのメコン住血吸虫症の流行地でもブタが重要な保有宿主であるとの報告がある。またヒト感染後の肝脾疾患特に肝硬変は慢性の合併症として重要である。この住血吸虫症の感染防御免疫あるいは慢性感染による合併症の病態解析のために、マウスに比してより実際のヒト感染系に近いと考えられるクラウン系ミニブタ日本住血吸虫感染モデルについて解析を進めた。これまでの解析から、ミニブタが実験動物モデルとして、感染防御ワクチン開発および住血吸虫感染後の肝線維症予防治療モデルの開発等に応用が可能であることが示された。昨年度には、家畜に対する、より実践的なワクチンとしてコレラトキシンと組み換えパラミオシンの混合経鼻ワクチンを用い粘膜免疫による感染防御効果についての検討を行った。この結果、ある程度の効果は認められたものの、副作用による重篤な症状が問題となった。今年度は、経鼻ワクチンの副作用について解析を進めるとともに、新たにメコン住血吸虫感染実験を試みた。また、診断キットの開発をめざして循環抗原に反応するモノクローナル抗体を用い、虫体数の明らかなミニブタの血清サンプルの抗原のレベルを測定し、実際に虫体数との相関するかどうかについても検討を行ったので報告する。

A. 研究目的

ミニブタが日本住血吸虫の感染防止ワクチントライアルとしての実験動物モデルの可能性について検討し、実際のワクチン開発の効果判定用のモデル実験動物として応用することを本研究の目的とした。

B. 研究方法

ミニ豚への合成パラミオシン、コレラトキシン混合経鼻ワクチンの副作用についての検討

免疫群（CT+PM, PM）で起こった重篤な肺臓炎は、おそらく、PMに対する過敏反応がCTにより増幅されたものと推測された。解剖後、病理標本を作製し鏡検したところ、CT+PM群にのみ肺に器質化肺炎と見られる所見が認められたが、回虫感染防御を目的とした回虫抗原を用いた家豚への粘膜経鼻ワクチンなどの研究報告結果では、このような重篤な副作用についての報告はない。粘膜経鼻ワクチンの手法そのものが、悪いわけではなく、住血吸虫由来パラミオシンの蛋白とブタとの相同性が高く、この事が過剰な免疫応答が喚起されたのではないかと推測した。この免疫応答性について免疫過程における各種サイトカインの産生量の推移に

ついてELISA法を用いて検討した。

循環抗原に反応するモノクローナル抗体の反応性テスト

日本住血吸虫感染マウスよりハイブリドーマ細胞を作製し、その上清を日本住血吸虫成虫体切片の蛍光染色法によりスクリーニングし、腸粘膜関連抗原(GAA)に反応する抗体を産生するハイブリドーマ株を樹立した。これらのモノクローナル抗体を組み合わせたサンドイッチELISA法を確立し、最も感度の高いGAA検出系を確立した。この系を用いてクラウン系ミニブタにセルカリア200隻を2頭に感染させ感染4週目から便中の虫卵数を検査（メッシュ法）すると共に血清を採取し樹立した検出系を用いて血清中の循環抗原を測定し、実際の感染負荷量（門脈寄生虫体数）および虫卵数との比較検討を行った。

ミニ豚へのメコン住血吸虫の感染実験

生後5週令のミニ豚2頭にメコン住血吸虫セルカリアを各50隻感染させ、その感染経過を観察した。感染は便中虫卵検査によって行い、感染後10ヶ月経過した時点で解剖を行い灌流し虫体の回収を試みた。

C. 研究結果

ミニ豚への合成パラミオシン、コレラトキシン混合経鼻ワクチンの副作用についての検討

IL-10, IFN-gamma)をチャレンジ後に測定したところ、2週間後より CT+PM 群で IL-4 の上昇を認め約6週間後にピークを示した。

循環抗原に反応するモノクローナル抗体の反応性テスト

作製したモノクローナル抗体のうち、成虫腸

管内皮に存在する腸管関連抗原に対し反応が良好であった 10 種類を選択し、このサブクラスを調べた。このモノクローナル抗体を用いて日本住血吸虫 200 隻をミニブタに感染させ、週毎に採取した血清を用いて行った試験では、感染後 1~2 週間で、ピークを示したが感染 8 週間にはほとんど検出されなくなった (図 2)。

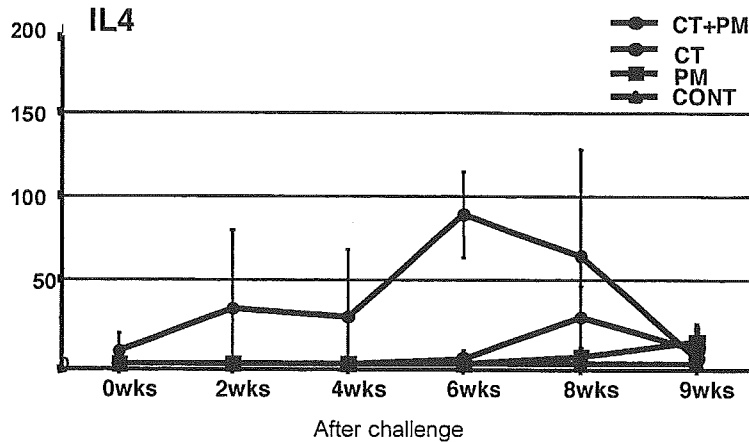


図 1. 感染実験後の血中 IL4 サイトカイン濃度(pg/ml)

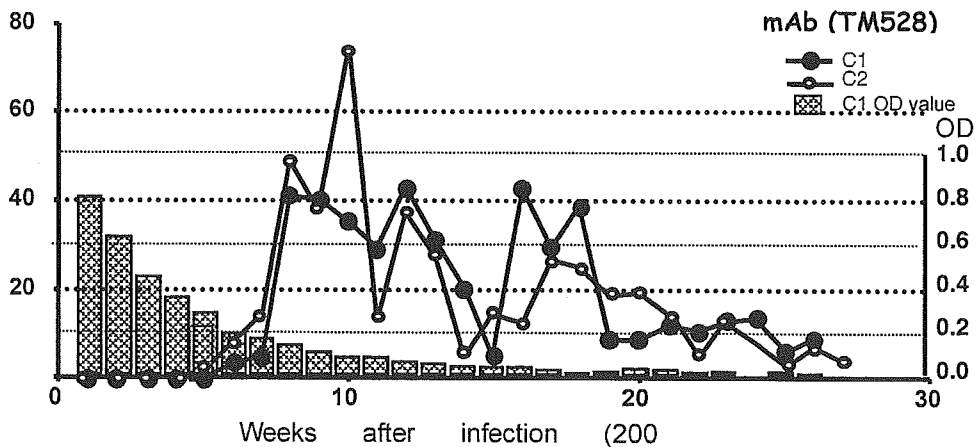


図 2 日本住血吸虫感染ミニブタ血清中の循環抗原の検出と便中虫卵数との比較

ミニ豚へのメコン住血吸虫の感染実験

メコン住血吸虫セルカリアを感染後、5 週目から便中に虫卵を認めた。感染後 5 週から 8 週までは EPG 20 前後であったが、8 週目以後 24 週目までは EPG 10 で前後し、24 週目以後は便中の虫卵は確認できなかつた。経過途

中において、肝臓の超音波診断も行ったが特に異常が認められるような所見は観察されなかつた。感染後 40 週目で灌流実験を行ったが成虫虫体は回収できなかつた。

D. 考察

ミニ豚への合成パラミオシン、コレラトキシン混合経鼻ワクチンの副作用についての検討

IL-4 の産生量が免疫群において高いレベルを示した事から、アラジックな反応によって、重篤な副作用を示した事が示唆されている。しかしながら、この事象を確認するために、保存してある抹消血リンパ球を用いて、感染経過各時期における、各種サイトカイン (IL-4, TNF-alpha, IFN-gamma) mRNA の発現レベルを定量 PCR 法を用いてさらに詳細な検討を行う必要があると考えている。また、合成パラミオシンが原因であったのかについても検討を行う必要がある。

循環抗原に反応するモノクローナル抗体の反応性テスト

今回の結果からは実際の感染強度を反映した検出結果とは考えられなかったが、早期感染を検出できる可能性、あるいは、抗体による中和効果などによる検出力の低下等が問題と思われた。今後さらに、検出感度の検討、及び定量性について検討が必要であると考えている。

ミニ豚へのメコン住血吸虫の感染実験

感染実験の結果では、感染の成立は認められたが、顕著な特徴をしめすようなメコン住血吸虫感染症状を観察することはできなかった。このことは、感染数が少なかったことが原因なのか、あるいは、ミニ豚の感受性によるものなのかについては、今後検討する必要がある。

F. 結語

本年度に行った実験は、ミニ豚の実験動物モデルとしての可能性を探るための様々な過程における予備実験的なものが多く、今後さらに実験を行う事により確立を目指す必要性があることが明らかになった。今後は、メコン住血吸虫の重度感染による病態の観察、マンソン、ビルハルツ住血吸虫などの感染も試みていく予定である。これらの実験を行うことにより、新たな動物実験モデルとしての可能性を検討するとともに、新たな知見を得ることを期待している。

G. 研究発表

1. 出版

1. Ming-gang Chen Xiao-nong Zhou and Kenji Hirayama. Asian Parasitology. Vol.5 Schistosomiasis in Asia. The committie of

Asian unique strategy for controlling Asias Parasitic diseases by Asian Parasitologists

(AAA) and The federation of Asian Parasitologists (FAP). 195-278, 2005

2. 平山謙二 住血吸虫症と体質 住血吸虫症と宮入慶之助ーミヤイリガイ発見から90年- p 103-108 宮入慶之助記念誌編集委員会編 九州大学出版会 2005年

2. 学会発表

1. 平山謙二 Vaccine and Diagnosis tool development for Schistosomiasis control. 日本熱帯医学会九州支部会 1月21~22日平成17年
2. Honggen Chen, Shuying Xiew, Jun Ge, Dan Dan Lin, 菊池三穂子, 平山謙二 日本住血吸虫の感染負荷量を決定する循環抗原測定系の開発 日本寄生虫学会第74回大会 鳥取 平成17年4月8-9日
3. Kenji Hirayama Immunity in Schistosomiasis. Scientific Working Group Meeting on Schistosomiasis. WHO/TDR, Switzerland, Geneva, 14-16, Nov. 2005.

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

動物由来回虫症の動物モデルとしてのスナネズミの特性に関する研究

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

長 哲(麻布大学獣医学部)

大貫仁美(東京医科歯科大学保健衛生学科)

研究要旨: ヒト以外の動物を固有宿主とする寄生虫がヒトに侵入した場合, 成虫にまで発育できず, 幼虫のままヒトの体内を移行し幼虫移行症 larva migrans を惹起する。本症の原因となる寄生虫の種類は多く, 人獣共通感染症の大部分を占めているが, 最も典型的なものは回虫幼虫移行症である。幼虫移行症はその幼虫が深部臓器や組織の中に滞留あるいは移動することから重篤で診断困難な症状を引き起こすことが知られてきた。スナネズミは赤痢アメーバやある種の糸状虫の感染に対してきわめて高い感受性をもつことが知られている。本研究では, 回虫幼虫移行症の病態モデル動物としてこれまで詳しい検討が行われていなかったスナネズミを対象に 5 種類の回虫について, 各臓器(心肺, 消化管, 肝臓, 筋, 脳)の病理組織学的変化と消化法による幼虫の回収率を経時的に観察した。イヌ回虫とクマ回虫幼虫は脳と筋に分布して炎症反応を惹起したが, アライグマ回虫は脳に強い指向性を示した。ブタ回虫とヒト回虫は肺臓以降の移行が見られず, 感染後期には病変は消失して軽快に向かった。

A. 研究目的

ヒトを固有宿主としない回虫幼虫感染では深部臓器に幼虫が移行していくために診断が困難である。また多数感染の場合には複数臓器に移行するために様々な病態を示す。近年ペットを飼うヒトが急増している。イヌやネコなどの伴侶動物のみならず様々な動物が日本に輸入され, これらのエキゾチック動物に接する機会も増加している。このような社会的な背景もありイヌ回虫をはじめとする動

物由来回虫幼虫によるヒトへの感染が注目されているが, 診断法や病態に関する情報はきわめて限られたものでしかない。この原因のひとつには動物由来回虫感染症に対する適切な動物モデルがなかったことが挙げられる。そこで, 本研究ではスナネズミが回虫幼虫移行症のどのような病態モデルになりうるかを検討した。

B. 研究方法

1. 動物

実験に用いたスナネズミ *Meriones unguiculatus* は2〜3ヶ月齢の雄で、被毛色が黒色であるものを用いた。これらのスナネズミは日本医科大学実験動物室で繁殖され、東京医科歯科大学学動物実験審査委員会の承認のもとに東京医科歯科大学大学院国際環境寄生虫学教室において実験に供した。

2. 各種回虫の幼虫包蔵卵：イヌ回虫 *Toxocara canis* は埼玉県内の獣医科病院を受診したイヌのうち、糞便検査で虫卵を認めたものについて、駆虫剤（ミンテゾール）を投与し、翌日に排泄された糞便内より成虫を回収し、その子宮内より虫卵を得た。それを0.5%ホルマリン水中で1ヶ月以上培養し、完全に幼虫包蔵卵にまで発育させたものを感染実験に供した。アライグマ回虫 *Baylisascaris procyonis* は感染アライグマ回虫の剖検時の腸管から回収したものを用い、クマ回虫 *Baylisascaris transfuga* は秋田県内の一クマ牧場で、冬眠に入るクマから自然排虫された成虫を回収して用いた。ブタ回虫 *Ascaris suum* は感染ブタの腸管内から回収されたもので、また、ヒト回虫 *Ascaris lumbricoides* は人体感染例から駆虫にて排虫されたものである。いずれの虫種の虫卵もイヌ回虫卵と同様に培養し、幼虫包蔵卵にまで発育したものを用いた。

3. 幼虫の回収と病理組織学的検査

蛋白膜を除去した回虫成熟卵1000個をスナネズミにゾンデ管を用いて胃内に直接投与し感染させた。感染させたスナネズミを6時間、12時間、24時間(1日)、3日、5日、7日(1週間)、2週間、3週間毎に剖検し、各臓器から幼虫を分離回収するとともに病理組織学的検索をおこなった。

幼虫の回収は人工消化法によっておこなった。即ち、経時的に解剖した3匹のスナネズミの消化管（内容物を除去したのちの胃から直腸）、肝臓、心肺、筋肉（皮膚を除去したあとの脂肪組織を含む）を人工胃液（ペプシン5g、塩酸7ml、蒸留水1000ml、pH1.5）で37℃、2〜3時間消化して得られた沈渣を実体顕微鏡下に精査して幼虫を検索した。また、脳については細切した脳組織を2枚のスライドガラスで圧平して顕微鏡下に虫体数を算定し、各時点の3個体から回収された幼虫数の平均を求めた。

また、各時点で剖検した残りの1匹のスナネズミを用いて病理組織標本を作成し、ヘマトキシリンエオジン染色を施して病変の有無を観察した。

4. 倫理面への配慮

東京医科歯科大学動物実験委員会の定める倫理規定に基づき実験計画書を

作成し、同委員会の書面による承認のもとにすべての実験を行った。

C. 研究結果

1. スナネズミ体内における各幼虫の移行態度

5種類の回虫感染後のスナネズミ体内での幼虫の移行態度については図1に示した。イヌ回虫感染スナネズミでは、幼虫は感染3日目には肝臓に到達し、肺臓を通過後全身の筋肉と脳にほぼ均等に分布した。アライグマ回虫とクマ回虫感染では、幼虫は感染後24時間以内に肺臓に到達し、激しい出血性肺炎を惹起した。また一部の幼虫はこの時期にすでに脳に到達し、小出血病変をおこした。24時間以降、アライグマ回虫は脳に幼虫が集積する傾向が見られたが、クマ回虫では幼虫が筋肉により多く分布する傾向があった。ブタ回虫とヒト回虫では、幼虫は感染後5日目でも肝臓から多く回収され、その後肺に出血性病変を引き起こした。しかしこの出血性病変は5日目以降には消失し、幼虫は全く回収されなくなった。眼病変はイヌ回虫感染個体でもっとも高率に見られたが、病変の強さはアライグマ回虫幼虫でもっとも強く見られた。クマ回虫感染では眼病変はほとんど見られなかった。また、ブタ回虫とヒト回虫感染

では、網膜や中枢神経系への幼虫移行は全く観察されなかった。アライグマ回虫感染では感染後2週間目以降、激しい中枢神経症状が出現し、感染させたスナネズミは3週間以内にすべて死亡したが、クマ回虫感染でも神経症状は出現したが、死亡する個体は観察されなかった。

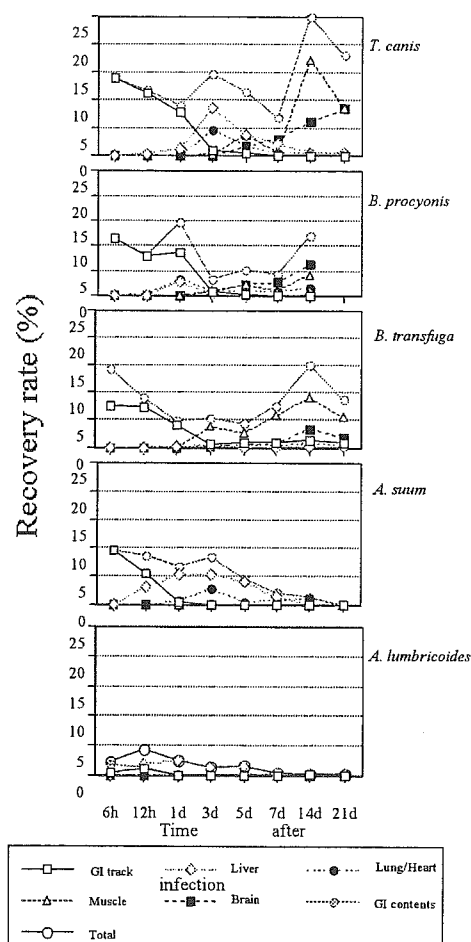


図1 スナネズミにおける5種回虫感染後の幼虫移行

2. 各種回虫感染による病理組織所見

イヌ回虫感染スナネズミ：幼虫は感染 12 時間後には小腸に達し，粘膜固有層内に観察された。幼虫の周囲には好酸球の浸潤が見られたが，粘膜筋板への浸潤は認められなかった。さらに 12 時間経過した 1 日目では小腸の粘膜固有層と粘膜筋板で幼虫が観察できた。幼虫の周囲には広範囲に渡って好酸球が浸潤し，固有層と粘膜筋板の境界部に出血巣が見られた。その後 3 日目からは幼虫を観察できなくなったが，3 日目と 5 日目には粘膜筋板内に好酸球の強い浸潤があり，筋層の破断が観察された。7 日目と 14 日目では絨毛組織内の広範囲に渡る好酸球の浸潤が確認できた。5 日目以降は筋層への好酸球浸潤は消失した。心肺では 3 日目から病変が確認できた。3 日目では肺小血管周囲へのリンパ球浸潤が主体で，好酸球の浸潤はわずかであった。肺胞構造の崩壊も観察できた。5 日目になると広範囲に渡る出血を伴う好酸球性肺炎を観察した。7 日目には出血病変は消失したが，好酸球の強い浸潤が見られる好酸球性肺炎が見られた。14 日目では 7 日目よりも出血は伴わない好酸球性肺炎がさらに悪化した。脳では感染後 5 日後以降に病変が観察できた。5 日目では大脳灰白質部にリンパ球の浸潤が観察できた。

7 日目には大脳白質に細胞浸潤を伴わない幼虫が観察された。しかし大脳溝に巨細胞様の細胞と，リンパ球，好酸球が出現していた。14 日目は大脳灰白質部に好酸球優勢の浸潤が観察できた。筋では 5 日目から筋線維と筋線維との間に好酸球の浸潤が見られた。しかし，この浸潤は筋組織そのものに及ぶことはなかった。

クマ回虫感染スナネズミ：感染後 6 時間目に回腸部の固有層から絨毛組織にかけて好酸球の浸潤が観察できた。12 時間目の回腸部の絨毛組織に幼虫を観察した。幼虫周囲には広範囲に好酸球の浸潤が観察できた。感染後 1 日目では胃の粘膜筋板で好酸球浸潤を伴う壊死組織内に幼虫が見られた。この病変は粘膜筋板に局限していた。3 日目から 5 日にかけては十二指腸や胃の固有層や粘膜筋板に好酸球の浸潤が観察されたが，7 日目以降では病変部は観察されず，炎症反応は終息に向かった。脳では 12 時間目に幼虫が大脳白質に出現した。幼虫の周囲には機械的刺激によると思われる白質の破壊が観察でき，さらにその周りを好酸球とリンパ球が浸潤していた。激しい炎症細胞の浸潤周囲には空胞変性が見られた。その後 3 日目では小脳灰白質部に好酸球の浸潤が見られ，白質側に向かって空胞変性が観察できた。5 日目には小脳灰白質部に，7 日目に

は大脳灰白質部に好酸球の浸潤が見られた。14日目では小脳の顆粒層に幼虫が観察できた。また、顆粒層に強い好酸球の浸潤があり、幼虫周囲のプルキンエ細胞は脱落していた。病変部の周囲には空胞変性が観察できた。心肺では3日目以降から病変が観察できた。3日目ではリンパ球と好酸球を主体とする肺炎が観察できた。5日目と7日目では出血を伴う好酸球性肺炎が惹起された。14日目には幼虫を取り囲むように肉芽腫を形成していた。筋の病変は感染後7日目から観察され、筋線維間に好酸球とリンパ球の浸潤がみられた。14日目の筋線維間に観察された幼虫周囲にはリンパ球を主体とする細胞浸潤が見られた

アライグマ回虫感染スナネズミ：感染後6時間で回腸のいたるところに幼虫を観察した。粘膜筋層や固有層、絨毛組織内に虫体は見られ、その周囲には好酸球の浸潤を伴っていた。しかし、12時間目から1日目では絨毛組織にわずかな好酸球の浸潤が残るのみであった。その後は特に目立った病変部は観察できなかつた。心肺では、感染後1日目で出血を伴わない好酸球性肺炎が惹起され、5日目をピークに12日目まで出血性の好酸球肺炎が持続していた。12日目には気管支粘膜下に虫体が観察できた。幼虫周囲にはリンパ球を伴う出血性の好酸球性肺炎が

見られた。脳では3日目から病変部が観察できた。3日目では大脳白質に新鮮な出血を伴う好酸球の浸潤があった。5日目には小脳軟膜に、好酸球とリンパ球、巨細胞が出現し、7日目では大脳灰白質にリンパ球の浸潤がみられた。12日目では小脳のいたるところに幼虫が出現して、特に顆粒層近傍に幼虫による病変が見られた。幼虫周囲には広範囲に渡って好酸球の浸潤が見られ、灰白質部に向かって新鮮な出血と空胞変性が観察された。筋では5日目より病変が観察できた。5日目ではリンパ球と好酸球を伴う囲管性血管炎が惹起されていた。7日目では筋線維間に好酸球の浸潤があった。12日目に幼虫が観察され、幼虫は漿液様物質に包まれていて、激しい好酸球の浸潤があり、筋組織内にもその浸潤は及んでいた。

ブタ回虫感染スナネズミ：心肺と肝臓のみ病変を認め、他の臓器には著変を見なかつた。肺臓では感染後1日目より好酸球性肺炎が出現し、2日目以降その肺炎は出血を伴うものとなり、7日目に最大となったが、14日目には消失した。

ヒト回虫感染スナネズミ：消化管、心肺、肝臓のみに病変が観察された。肺臓では感染後12時間目後に出血を伴うリンパ球の強い浸潤が見られた。1日目と3日目では出血は消失したが

時間経過とともに好酸球浸潤が強くなる傾向にあった。5日目では再び出血を伴うリンパ球の浸潤が現れた。7日目には幼虫を観察した。出血巣は消失し、激しい好酸球性肺炎が見られた。14日目では組織内に好酸球が散見されたが、肺炎像は消失して肺胞壁は肥厚していた。消化管では14日目まで特に目立った病変は確認できなかった。14日目に胃から続く大網部にいくつかの肉芽腫を観察した。その中に幼虫を取り囲んだ肉芽腫を観察した。しかし胃や他の消化管の組織には病変は全く認められなかった。

D. 考察

今回の研究では5種類の回虫移行症に対するスナネズミの体内での幼虫の移行経路とその病変を検討した。イヌ回虫感染スナネズミの消化管壁と肝臓の組織病変は、幼虫が回収されなくなった感染後2週目まで軽快することがなく見られた。イヌ回虫感染スナネズミでは他の回虫と比べても最も多臓器にわたって感染後期まで病態が軽快しないことが特徴的だった。これは、ごく少数の幼虫がこれらの臓器にとどまっていたか、たとえ幼虫が寄生していなくても幼虫の代謝物に対してスナネズミが長期間炎症反応を惹起しうることを示唆してい

た。

アライグマ回虫とクマ回虫による病変の特徴としては感染初期の脳における巣状出血性病変と後期における脳軟化巣および小脳プルキンエ細胞の変性所見であった。その程度はアライグマ回虫でより強く見られた。これはクマ回虫とアライグマ回虫が、感染後期では成長することに関係するのではないかと考えた。成長とともに幼虫の排泄物や代謝物は増加し、それが重篤な病変を引き起こすと考えられる。また両回虫で見られた持続的な病態がより重篤な中枢神経症状を引き起こしているとも推測された。クマ回虫に特徴的だった病変部は肝臓である。幼虫の検出率が最も少なかったのにもかかわらず、病変部は最も多く、感染後の時間経過につれて、軽快と増悪を繰り返した。これは肝臓には留まることはないが通過する際に排泄された老廃物や代謝物が肝臓を強く傷害する可能性を示唆していた。

ブタ回虫とヒト回虫は共に同じような病態が観察でき、それは病理組織学的にも確認された。注目すべき病態を示したのは肺臓と肝臓である。両回虫とも肺臓では感染初期の段階からリンパ球浸潤を伴う出血性肺炎を起こしたが、後期になると好酸球性肺炎に移行した。そしてこれらの病変は14日目には消失した。肝臓の病変は徐々

に増加していくが、14日目にはやはり減少傾向を示すという同じパターンを示した。脳、筋、消化管には目立った病変が見られることはなかった。これは各臓器からの幼虫回収実験でも同傾向が見られた。ヒト回虫とブタ回虫では主に肝臓と肺臓に病変が局限した。肺臓をでた幼虫の運命について今回の実験では明らかにすることはできなかった。

以上述べたように、5種類の回虫を臓器別に観察したところ、移行時期と感染率、最終寄生部位に相違が見られた。また幼虫の回収率がゼロになった時点の組織標本においてもなお、幼虫が観察できる場合も見られ、幼虫による病態変化の観察には組織からの幼虫回収とともに好酸球性の病変や肉芽腫などの特徴的な病変部を観察できることから、病理組織学的手法を用いた観察も必要であることが示唆された。今回の実験から、スナネズミは動物由来回虫感染症に対するヒトのいくつかの病態モデルとして有用であると考えら得られた。

E. 結論

スナネズミにイヌ回虫、アライグマ回虫、クマ回虫、ブタ回虫、ヒト回虫幼虫包蔵卵のそれぞれ1000個を経口投与し、経時的に幼虫の移行経路

を観察したところ、次のようなことが判明した。イヌ回虫幼虫は3日目に肝臓、その後心肺を通り、最終的に全身の筋肉内と脳内にほぼ均等に分布した。マウスを用いた実験結果とほぼ同様な移行・分布を示した。アライグマ回虫とクマ回虫幼虫では、腸管壁から侵入した幼虫は24時間以内に肝臓から心肺を経て、一部脳内に達するものも見られた。その後の移行は、アライグマ回虫では脳に移行する幼虫数が多かった。クマ回虫では、全身の筋肉に移行する幼虫数は脳に移行したものよりも常に多かった。ブタ回虫とヒト回虫幼虫は、肝臓に速やかに達したあと5日目まで肝臓内に留まり、肺へと移行して出血性病変を起したが、1週目以降これらの病変は漸次消失した。その後、ブタ回虫とヒト回虫ではこれらの臓器をはじめ体内からは全く検出されなくなった。

また、これら5種の回虫を感染させたときのスナネズミの病態の特徴としては、幼虫の眼内移行はイヌ回虫とアライグマ回虫でもっとも高率に観察された。クマ回虫の眼内移行は稀であった。ブタ回虫とヒト回虫は眼内移行のみならず中枢神経系に移行するものは殆ど無かったが、唯一、ブタ回虫感染個体1例の脳内から1隻の幼虫が検出されたのみであった。これら2種の回虫幼虫は最終的にスナネズ

ミの体内からは検出できなくなり、慢性感染を引き起こすことはなかった。アライグマ回虫とクマ回虫の感染によって急性の致死的な神経病変が引き起こされた。イヌ回虫感染では感染3ヶ月目以降に神経症状が見られるようになった。5種類の回虫を臓器別に観察したところ、移行時期と感染率、最終的な寄生部位に相違が見られた。

F. 健康危険情報

該当項目なし

G. 研究論文

1. Akao N. Human dirofilariasis in Japan. In: Kimura E, Rim, H.-J., Dejian, S. & Weerasooriya, M.V., editor. Filariasis in Asia and Western Pacific Islands. Tokyo: AAA Committee, The Federation of Asian Parasitologists; 2005. p. 145-152.
2. Akao N. Critical assessment of existing and novel model systems of toxocariasis. In: Holland C, Smith H, editors. *Toxocara: The Enigmatic Parasite*. Oxfordshire: CABI Publishing; 2005. p. 74-85.
3. Ayi I, Akao N, Bosompemb KM, Akafo SK, Clarke J, Nyador 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*. 2005;93:151-159.
4. Horiuchi A, Satou T, Akao N, Koike K, Fujita K, Nikaido T. The effect of free and polyethylene glycol-liposome-entrapped albendazole on larval mobility and number in *Toxocara canis* infected mice. *Veterinary Parasitology*. 2005;129:83-87.
5. Sato H, Une Y, Kawakami S, Osanai A, Kamiya H, Akao N, et al. Fatal *Baylisascaris procyonis* larva migrans in a colony of Japanese macaques in a safari-style zoo. *Journal of Parasitology*. 2005;91:716-719.
6. Satou T, Horiuchi A, Akao N, Koike K, Fujita K, Nikaido T. *Toxocara canis*: Search for a potential drug amongst beta-carboline alkaloids-in vitro and mouse studies. *Experimental Parasitology*. 2005;110:134-139.
7. Suzuki T, Joko T, Akao N, Ohashi Y. Following the migration of a *Toxocara* larva in the retina by optical coherence tomography and fluorescein angiography.

Japanese Journal of Ophthalmology.
2005;49:159-161.

8. 川瀬正昭, 赤尾信明, 名和行文,
影井昇, 渡辺直熙, 新村真人. 旋尾
線虫幼虫type-Xによるcreeping
eruptionの1例. 臨床皮膚科.
2005;59:490-493.

9. 芦田敦子, 河内繁雄, 斎田俊明,
高木雅哉, 赤尾信明. 旋尾線虫幼虫
によるcreeping disease-自家製ホタ
ルイカ沖漬けの生食により生じた1
例. 皮膚科の臨床.
2005;47(5):749-752.

10. 赤尾信明, Chu AE. 演者開発によ
る寄生虫抗体迅速検査キット. 臨床
寄生虫学雑誌. 2005;16:11-14.

11. 鈴木崇, 上甲武志, 陳光明, 大
橋裕一, 赤尾信明. 眼トキソカラ症
の診断におけるトキソカラチェック
の有用性. あたらしい眼科.
2005;22:263-266.

12. Hayashi E, Tuda J, Imada M, Akao N,
Fujita K. The high prevalence of
asymptomatic *Toxocara* infection among
school children in Manado, Indonesia.
Southeast Journal of Tropical Medicine
and Public Health, 2005: 36; 1399-1406.

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当項目なし