

E. 結論

コットンラットの腹腔から得た多包虫シスト塊を用いて、V-Capping 法により完全長の cDNA ライブライマーを作成し、11,000 のクローンを得た。今回多数のクローンが得られ、今後完全長 cDNA の解読が行われ、その機能についての解析が進むことが期待される。

5. トリヒナの分類と動物疫学調査

A. 研究目的

トリヒナ症は公衆衛生上重要な人獣共通線虫症で、かつては人の感染源として豚が重要視されていた。しかし、トリヒナの分子生物学的解析が発達し、これを用いた動物疫学調査や生物学的特徴の研究がなされ、様々な種が含まれることが知られるようになった。特に、ほとんどの種が野生動物において広く流行していることが明らかとなってきた。国内における人の集団発生に関連して行われた 1970-80 年代の調査で、野生動物におけるトリヒナの感染率はきわめて低いと考えられた。しかし、1999 年になって北海道でトリヒナが流行していることが示唆され、より大規模な動物疫学調査とトリヒナの分子生物学解析が必要と考えられた。

B. 研究方法

動物疫学調査として 2000-2006 年に北海道において捕獲されたキツネ 319 頭、タヌキ 77 頭、ヒグマ 126 頭、イタチ 4 頭、齧歯類 344 頭および食虫類 27 頭について、ペプシン消化法によって筋肉トリヒナの検索を継続した。

北海道のトリヒナの分子生物学的解析のために、上記の調査で検出された筋肉トリヒナを用いて multiplex PCR およびミトコンドリア COI 遺伝子の塩基配列を解析を継続した。

これらのトリヒナの伝播におけるキツネの重要な餌である齧歯類の関与の可能性を検討するために、北海道において分離された *T. nativa* および *Trichinella* T9 を用い、マウス、ラット、エゾヤチネズミ、スナネズミへの感染実験を行い、感受性を比較した。

国外において別種のトリヒナが野外において交雑することが報告されているが、北海道で分離された *T. nativa* と *Trichinella* T9 を用いて交雫の可能性について調べた。すなわち、両トリヒナの交雫実験を行なった。

交雫トリヒナ検出のために、*T. nativa* および *Trichinella* T9 の ITS2 領域を増幅し、制限酵素を用いた PCR-RFLP を試みた。

最後に、1968 年に札幌市円山動物園のホッ

キヨクグマ（スカンジナビア半島産）から分離された *Trichinella* sp. と北海道に分布するトリヒナとの近縁関係について検討した。

C. 研究結果

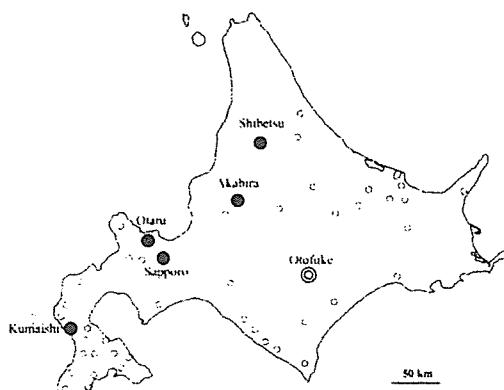
筋肉トリヒナの調査では、キツネ（感染率 =13.8%）、タヌキ（7.8%）、ヒグマ（3.2%）から筋肉トリヒナが検出され、キツネでは年齢に伴いトリヒナ感染率が上昇する事が示された。また、キツネの感染率における顕著な地域差が認められ、山林間の農地が主である小樽市では感染率が高く、市街化調整区域が主である札幌市では感染率が低かった。

Prevalences of *Trichinella* spp. infection in wild animals in Hokkaido, Japan from 2000-2006.

Host animals	Sampling places (no positive / no examined)		
	Otaru city	Sapporo city	Other areas
Carnivora			
Red fox (<i>Vulpes vulpes</i>)	41 / 254	1 / 39*	2 / 26
Raccoon dog (<i>Viverricula prionoides</i>)	6 / 77		6 / 77 (7.8)
Brown bear (<i>Ursus arctos</i>)		0 / 1	4 / 126
Japanese marten (<i>Martes melampus</i>)	0 / 4		0 / 4
Rodentia			
Gray red-backed vole (<i>Leptothrix rufocanus</i>)	0 / 62	0 / 72	0 / 134
Northern red-backed vole (<i>L. rufocanus rufocanus</i>)	0 / 3	0 / 4	0 / 7
Large Japanese field mouse (<i>Apodemus speciosus</i>)	0 / 114	0 / 43	0 / 157
Small Japanese field mouse (<i>Apodemus argenteus</i>)	0 / 28	0 / 13	0 / 41
Brown rat (<i>Rattus norvegicus</i>)		0 / 3	0 / 3
Black rat (<i>Rattus rattus</i>)		0 / 2	0 / 2
Insectivora			
Long-clawed shrew (<i>Spilogale thomasi</i>)	0 / 12	0 / 14	0 / 26
Shrewmouse (<i>Sorex arcticus</i>)	0 / 1		0 / 1

* One fox each captured in Sapporo and Otaru city were included

検出されたトリヒナについて multiplex PCR およびミトコンドリア COI 遺伝子の塩基配列を解析したところ、音更町のキツネ 1 頭から得られたトリヒナは *Trichinella nativa*、その他の 5 市町において捕獲されたキツネ 21 頭、タヌキ 2 頭およびヒグマ 4 頭から得られたトリヒナは *Trichinella* T9 と同定された。



Geographical distribution pattern of *Trichinella nativa* and *Trichinella* T9 in Hokkaido, Japan. The localities where foxes, raccoon dogs or brown bears were examined for *Trichinella* spp. are indicated by filled symbols (*Trichinella* T9 positive), double circle (*T. nativa* positive) or open circles (*Trichinella* not detected).

野ネズミの調査では筋肉トリヒナは検出されなかった。一方、北海道において分離された *T. nativa* および *Trichinella* T9 を用いた感染実験

では、エゾヤチネズミがこれらのトリヒナに対し高い感受性を有している事が示された。

両トリヒナの交雑実験では、*T. nativa*♀ vs. *Trichinella* T9♂の組み合わせ時にのみ両種のF1交雑個体が産出されることを示した。しかし、交雑群の筋肉トリヒナ数はコントロール群（同種感染群）に比べ少なく、また筋肉トリヒナの体長はコントロール群に比べ小さいことが示された。さらに、コントロール群の筋肉トリヒナの雄の比率が36-50%であったのに対し、交雑群では98-100%であった。これらの結果はF2世代が産出困難であること示唆し、*T. nativa*と*Trichinella* T9は生殖隔離されていると考えられた。

これらの交雑トリヒナ検出のために、*T. nativa*および*Trichinella* T9のITS2領域を増幅し、制限酵素を用いたPCR-RFLPを試みた。プライマーが適切でなかった為と予想されるが、PCR-RFLP法によるF1交雑個体の検出法の開発は出来なかった。しかし、ミトコンドリアCOI遺伝子の解析結果も含めて、今回作出したF1交雑個体が、*T. nativa*と*Trichinella* T9の両方の遺伝子を持つ交雑個体であることは確認された。

multiplex PCRによりホッキョクグマの虫体は*T. nativa*であることを解明した（以下*T. nativa*（札幌））。この*T. nativa*（札幌）、前述の*T. nativa*（音更）および他のトリヒナ種について詳細に比較したところ、*T. nativa*（札幌）が北欧の*T. nativa*より*T. nativa*（音更）に近いことが示唆された。また、*T. nativa*（札幌）と*T. nativa*（音更）の交雑実験では正常にF1が産出された。

D & E. 考察および結論

トリヒナについて北海道各地から、多数のキツネおよびクマの筋肉材料を採取し、筋肉トリヒナの調査をおこない、検出した虫体のDNA検査により小樽市以外にも*Trichinella* T9が分布すること、さらに道東（音更）からは*Trichinella nativa*を検出した。なおこれらの*Trichinella* spp.の生物学的性状がことなり生殖隔離していることが示された。トリヒナ伝播におけるエゾヤチネズミの関与の可能性が示めされた。

研究発表

1. 論文発表

- 1) Nonaka, N., Kamiya, M. and Oku, Y. (2006) Toward the control of *Echinococcus multilocularis* in the definitive host in Japan, *Parasitol. Int.*, 55, 263-266
- 2) Matoba, Y., Yamada, D., Asano, M., Oku, Y., Kitaura, K., Yagi, K., Tenora, F. and Asakawa,

- M. (2006) Parasitic helminths from feral raccoons (*Procyon lotor*) in Japan. *Helminthologia*, 43, 139-149
- 3) Kanai, Y., Inoue, T., Mano, T., Nonaka, N., Katakura, K. and Oku, Y. (2006) *Trichinella nativa* and *Trichinella* T9 in the Hokkaido island, Japan., *Parasitol. Int.* 55, 313-315
- 4) Kamiya, M., Lagapa, J. T. G., Nonaka, N., Ganzorig, S., Oku, Y. and Kamiya, H. (2006) Current control strategies targeting sources of echinococcosis in Japan. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*, 25(3): 1055-1066.
- 9) 野中成晃、井上貴史、佐野隆史、片倉賢、福井大祐、奥祐三郎(2006) 多包条虫疫学調査への応用を目的とした野外採取糞便の排泄動物種鑑別法の検討 日本獣医寄生虫学会誌、4(2), 38
- 10) 神廣創太、野中成晃、片倉賢、八木欣平、奥祐三郎(2006) 駆虫を組み合わせたプレパテント期における多包条虫感染のcopro-DNA診断 日本獣医寄生虫学会誌、4(2), 39
- 5) Okamoto, M., Oku, Y., Kurosawa, T. and Kamiya, M. (2007) Genetic uniformity of *Echinococcus multilocularis* collected from different intermediate host species in Hokkaido, Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 69 (2). 159-163
- 6) Kamiya, M., Lagapa, J. T., Ganzorig, S., Kobayashi, F., Nonaka, N. and Oku, Y. (2007) Echinococcosis risk among domestic definitive hosts, Japan. *Emerging Infectious Diseases*, 13:346-347
- 7) Kanai, Y., Inoue, T., Mano, T., Nonaka, N., Katakura, K. and Oku, Y. (2007) Epizootiological survey of *Trichinella* spp. infection in carnivores, rodents and insectivores in Hokkaido, Japan. *Jpn. J. Vet. Res.* (in press)
- 8) Kobayashi, T., Kanai, Y., Ono, Y., Matoba, Y., Suzuki, K., Okamoto, M., Taniyama, H., Yagi, K., Oku, Y., Katakura, K. and Asakawa, M. (2007) Epidemiology, histopathology, and muscle distribution of *Trichinella* T9 in feral raccoons (*Procyon lotor*) and wildlife of Japan *Parasitology Res.* (in press)

2. 学会発表

- 1) 井上貴史、野中成晃、水野文子、森島康之、片倉賢、奥祐三郎. 北海道のキツネのミトコンドリアDNAによる系統解析. 日本哺乳類学会, 平成18年9月14日
- 2) 奥祐三郎、巖城隆、スミヤ・ガンゾリック、野

中成晃、宮原俊之、岡崎克則、神谷正男 地域住民による北海道のエキノコックス感染源対策の試行 第53回日本寄生虫学会北日本支部会大会 平成18年10月10日 帯広

3) 松本淳、坂元君年、新庄記子、城戸康年、北潔、三芳秀人、八木欣平、野中成晃、片倉賢、奥祐三郎 多包条虫原頭節のミトコンドリア呼吸鎖の特性 第53回日本寄生虫学会北日本支部会大会 平成18年10月10日 帯広

4) 井上貴史、野中成晃、水野文子、森嶋康之、片倉賢、奥祐三郎 北海道のキツネのミトコンドリアDNAによる系統解析 日本哺乳類学会 平成18年9月14日 京都

5) 稲垣正和、野中成晃、井上貴史、八木欣平、片倉賢、奥祐三郎 犬の多包条虫感染初期における診断のための糞便DNA検出法の改善 第142回日本獣医学術集会 平成18年9月22日

6) 奥祐三郎、巖城隆、スミヤ・ガンゾリック、野中成晃、宮原俊之、岡崎克則、神谷正男 北海道のエキノコックス感染源対策の試みと今後の住民参加 第6回人と動物の共通感染症研究会学術集会 平成18年11月3日 東京

7) 奥祐三郎、巖城隆、スミヤ・ガンゾリック、野中成晃、宮原俊之、岡崎克則、神谷正男 北海道のエキノコックス対策のための地域住民による駆虫薬入りベイト散布とキツネ糞便採取 第76回日本寄生虫学会 平成19年3月29-30日 大阪(予定)

10) 松本淳 坂元君年、新庄記子、城戸康年、山本菜緒、北潔、三芳秀人、八木欣平、野中成晃、片倉賢、奥祐三郎 新規抗多包条虫薬の標的としての嫌

気的ミトコンドリア呼吸鎖 第76回日本寄生虫学会 平成19年3月29-30日 大阪(予定)

知的所有権の取得状況

特許申請

特願2007-22365 多包条虫由来の新規蛋白質

新聞記事

北海道新聞 平成19年2月15日 夕刊 1面
(俱知安におけるベイト散布についての記事)

健康危険情報

北海道の猫のエキノコックス虫卵排泄例について
(猫からの虫卵排泄は第一例)

研究班構成

分担研究者

奥祐三郎 北海道大学大学院獣医学研究科 助教授

研究協力者

巖城 隆 財 目黒寄生虫館 研究員

野中 成晃 北海道大学大学院獣医学研究科 講師

岡崎 克則 北海道俱知安町風土館 学芸員

多包虫の完全長cDNAライブラリー

遺伝子が推測され、エキノコックス由来と判定されたクローンのリスト
(多い順 途中まで)

予想遺伝子	クローン数
EmAgB8/1	139
large subunit ribosomal RNA	67
EmAgB8/3	48
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)	39
Phosphoenolpyruvate carboxykinase	34
Elongation factor 1-alpha	29
Actin 2	25
EmAgB8/2	24
Ferritin heavy chain	18
DF1 for atty acid binding protein homolog 1	16
Cysticercus cellulosae-specific antigenic	15
E.g tegumental protein	14
Glutathione S-transferase	14
ATP synthase beta chain	12
Cytochrome c	12
EF-hand protein EpC1 (epC1)	12
HSP 90-kDa heat shock protein HSP83	12
Protein phosphatase 2A inhibitor 2	12
Fructose-Bisphosphate-Aldolase (fbpa gene)	11
Ribosomal protein L36	11
14-3-3 protein	9
14-3-3 protein homolog 2	9
Actin-binding and Severin family group-like protein	9
Malate Dehydrogenase (MDH) cytoplasmic	9
Ribosomal protein L14	9
Ribosomal protein P2	9
Carbonic anhydrase	8
Cyclophilin Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	8
EmAgB8/4	8
HSP DnaJ (Hsp40) homolog (Chaperone)	8
Ribosomal protein S30	8
Thioredoxin (EgTRX)	8
EF-hand calcium-binding protein	7

HSP Heat shock 70 kDa protein (HSP70) (CHAPERONE)	7
Polyposis locus protein 1-like 1	7
Ribosomal protein L10a-3	7
Ribosomal protein L26	7
Ribosomal protein L6	7
Ribosomal protein S27	7
Tubulin alpha chain	7
Calmodulin	6
Dynein light chain 2	6
Enolase phosphopyruvate hydratase liver fluke	6
Eukaryotic translation initiation factor 4A (eIF4A) cell cycle control protein-related	6
Membrane Protein T24 Taenia solium	6
Ribosomal protein L13a	6
Ribosomal protein L24	6
Ribosomal protein S12	6
Ribosomal protein S15	6
Ribosomal protein S16	6
Ribosomal protein S21	6
Ribosomal protein S24	6
Ribosomal protein S25	6
RNA binding protein Rsf1	6
Ubiquitin	6
14-3-3 protein epsilon Tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan	5
ADP/ATP Carrier Protein	5
ADP-ribosylation factor	5
Antigen II/3 ezrin-like protein (EM10)ezrin/radixin/moesin-like	5
Carbonyl reductase-like protein	5
Dynein light chain 1 protein DLC-1	5
Glutathione peroxidase	5
malate dehydrogenase (mdhm gene) mitochondrial	5
Membrane Protein T24 Taenia solium	5
Ribosomal like protein	5
Ribosomal protein L27A	5
Ribosomal protein L13	5
Ribosomal protein L38	5

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

動物由来感染症のリスク除去システムの開発に関する研究

『内発的発展力』によるエキノコックス感染源対策

分担研究者 神谷正男 酪農学園大学環境システム学部環境動物学研究室教授
OIE エキノコックス症リファレンス・ラボラトリー

研究の要旨

エキノコックス症を例に実効性ある感染源（リスク）除去システムの開発を目的とする。

- 1) 『内発的発展力』による感染源対策：エキノコックス症の感染源（リスク）に対して地域に内在する資源（人材、資金など）を基に住民による企画、啓発活動（キッズプログラム、セミナーなど）、駆虫剤（ベイト）散布の実践で問題解決をはかる地域の活力をここでは『内発的発展力』と称し、これを用いて新しいリスク除去法の開発を試みた。リスクの状況が明らかでない地域（俱知安町）で住民によるキツネ糞便採取と専門機関による陽性率（ベースライン・データ）の把握と住民によるベイト散布の効果判定を実施した。2005年の事前調査で268個のうち陽性糞便は21%であった。2006年には陽性が集中していた地域周辺の山裾を重点的に、5-11月まで毎月計7回のベイトが住民により散布された。2006年10月に野外採取された糞便104個の検査では、抗原陽性が2005年の21%から2%に減少し、虫卵陽性も12%から0%へと減少し、顕著なエキノコックス駆虫効果が認められた。
- 2) その他：感染源動物（イヌ、ネコ）の調査：2006年1~12月にイヌ459頭、ネコ39頭を対象に糞便内抗原検査とテニア科虫卵のPCR検査を実施した。最終的にイヌ2頭の陽性例が確認されわが国の感染症法に基づく届け出がなされた。ならびに国際獣疫事務局（OIE）ネコ陽性例：2007年2月に北海道のネコ1例においてエキノコックス虫卵排泄が確認された。猫は感受性が低いが、希に虫卵を排泄することがある。国内では初めてのエキノコックス虫卵を自然排泄猫の症例である。ネコはイヌよりもネズミを捕食する機会が多く、人はネコからのエキノコックス虫卵を経口摂取すると感染するので、警戒が必要である。いずれの陽性例も民間専門機関『環境動物フォーラム』の協力でリスク対応が適切になされた。

以上、地域の『内発的発展力』によりリスクを早期に発見し、リスク除去システムを確立することは可能と考えられる。

エキノコックスは、20世紀の初頭、人間活動とともに媒介動物（主にキツネ）の移送によってわが国に侵入し、北海道に定着したと考えられる。以来、発生する患者に対して医療現場では病巣切除による外科手術を治療の第一選択とし、予防事業として『手洗いの励行、山菜、沢水に注意』を主にした啓発パンフレット等の配布を行ってきた。しかし、このままでは新たな患者発生を防ぐことはできない。1970年代には北海道東部でのキツネ駆除や野犬掃討を柱とした『感染源対策』が着手された時期もあったが予防効果は認められなかった。現在、北海道で年間20例前後の患者届け出がある。実効性のある組織的な『感染源対策』の実施が望まれている。1990年代には分担者らにより感染源動物の診断法、すなわち糞便内の成虫由来抗原や虫卵をマーカーにしたリアルタイムのリスク検出法が確立され、この技術を地域の汚染状況のモニタリングに、また、北海道東部、オホーツク海に面した田園地帯でキツネ用の駆虫剤（ベイト）散布の効果判定に用い地域の感染リスクを低減できることを実証した。2006年度から始った本研究は、これまでの成果の応用編で地域の『内発的発展力』による実効性ある感染源（リスク）除去システムの開発に関する研究である。

1. 地域住民参加による汚染環境修復：ベイト散布による感染源対策——俱知安町

研究から始まった小清水町に対して、俱知安町では、地域住民が主体となって企画されたプログラム

で感染源対策が開始された。NPO 法人「ニセコ・羊蹄再発見の会 WAO(理事長 古谷和之)」、「ディスカバリーU(代表:白木美恵子)」により 2005 年度から基礎データ収集が始った。地域のキツネ感染率の把握、キツネ用の駆虫剤(ペイト)散布の効果判定には「環境動物フォーラム(代表:細川裕俊)」が協力した。

A. 研究目的

エキノコックス症の感染源(リスク)に対して地

B. 研究方法

俱知安町で住民が主体となって実施した。

基本的には、分担研究者等が北海道東部、小清水町で実証したメニュー(上図:『エキノコックス汚

染環境の修復』)に沿って地域資源の調達ならびに①ペイト:駆虫剤の調整・開発、②ペイト散布システムの改善、③評価法の開発・応用から成り立っている。

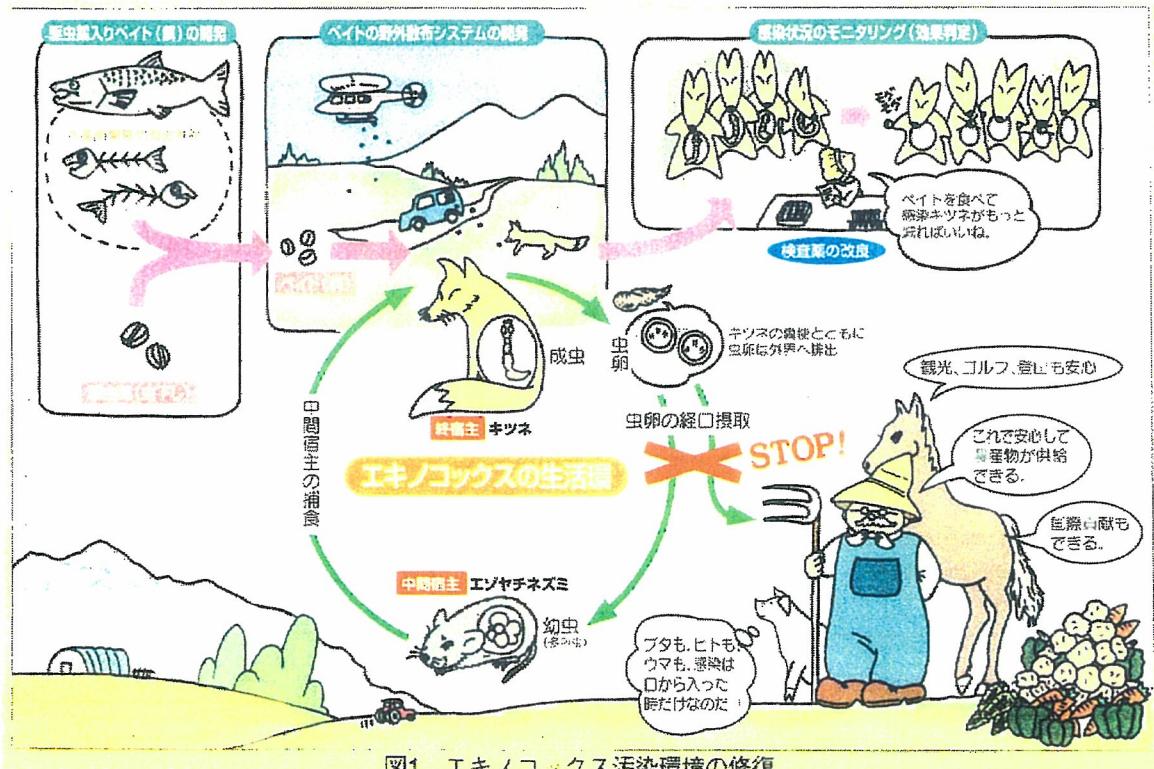
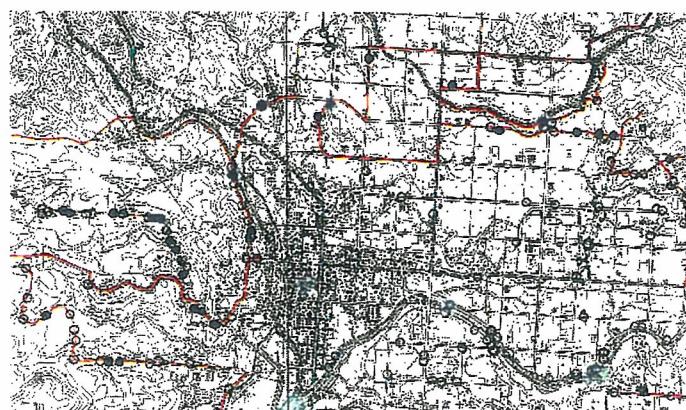


図1 エキノコックス汚染環境の修復

2005 年度に現地の地図および航空写真を利用し、糞便採取ルートを打ち合わせし、一度現地で糞便採取を地域住民とともに実施した(右図:ペイト散布ルート)。なお、この時、虫卵感染の危険性と感染予防については十分に注意を喚起した。町全体の虫卵汚染状況を把握するために、出来るだけ地域全体をカバーするように偏らないように採取することを説明した。また、今後の糞便採取を容易にするために、すべての採取ポイントを地図上にプロットした。季節変動を把握するために、7月、9月、11月に採取するように説



明した。

採取された糞便は『環境動物フォーラム』で虫卵と抗原検査を行ない、その結果とそれぞれの糞便の採取地点の関連を調べた。

ベイト散布の方法およびポイントについても地図を用いて説明し、地域住民とともに実施した。

2006 年度には前年度の結果で陽性糞便が町の周辺の山裾に集中していることから、この山裾を重点的にベイト散布することとした。毎月、1300-1500 個のベイトを道路沿いに散布し、10 月にキツネの糞便を採取した。

C. 研究結果

2005 年の糞便調査で、町の周辺の山裾にエキノコックス抗原陽性および虫卵陽性糞便が偏っていることから、この地域に集中的に 2006 年の 5 月から毎月 1 回ベイト散布を実施した。10 月に採取した糞便 104 個の検査で、抗原陽性率は 2%、虫卵陽性率は 0% となり、まだ完全ではないものの人体への直接的なリスク（虫卵）を排出する例はなく、顕著な駆虫効果が 7 ヶ月、計 7 回の駆虫作業で得られた（下表：キツネ糞便のエキノコックス抗原および虫卵陽性の推移）。糞主動物の確認（DNA 特定）については今後行うことになっている。また、2005 年度に抗原陰性

質上、リスク（虫卵）フリーの状態となった。従来、

小清水や小樽では全体的に散布してきたが、陽性糞便の検出された地域に集中的に散布する方法で効果があることが実証された。



作業は、5 年間継続する計画である。この実施母体は、同時に、ユニークな人材養成プログラム『キッズ・エキノコックス駆除隊』を実践した（写真上：住民参加プログラムの一例）。地域の小学生を対象に「自然界での生物の営みとともに、駆除の仕組みを身をもって」学んでもらうことになった。これには、大学生も参加し共に学んだ。「小学生と大学生との交流・連携」とでもいったユニークなプログラムに発展する可能性がある。また、活動基金を捻出するためのステッカー『エキノコックス駆除キャペーン』が作成された（写真下：『どう自然と向き合うの？』）。また、市民が安全にキツネ糞便採取できる容器が開発された。

俱知安町において野外採取された糞便のエキノコックス抗原および虫卵陽性の推移

	ベイト散布前 2005年(7-11月)	ベイト散布開始後 2006年(10月)
全検査数	268個	104個
抗原陽性	55個 (21%)	2個 (2%)
虫卵陽性	33個 (12%)	0個 (0%)
抗原・虫卵陽性	20個 (7%)	0個 (0%)

で虫卵陽性の糞便が多く発見され、他の *Taenia* 属の条虫感染が疑われたが、これらの虫卵の DNA による種鑑別についても今後検討することとなっている。

D. 考察

2005 および 2006 年度の野外での糞便採取の実績から、俱知安で住民による糞便採取は可能と考えられた。エキノコックスの流行状況については、従来、研究者が調査してきた小清水および小樽と比べると感染率が低かった。2005 年の陽性糞便は山沿いに多いことから、ベイト散布はこのような地点に重点的に行うと効果的と考えて、2006 年にはこの地域に集中的に散布したが、7 ヶ月 7 回のベイト散布で、実

E. 結論

リスク・マネジメントにおいて地域住民が主体となって、企画、実践（ベイト作成、散布、評価）が可能であることが示された。人へのエキノコックス感染リスクを 7 ヶ月 7 回のベイト散布で実質的に感染源・虫卵フリーにすることができた。キツネ陽性糞便が採取された地域に集中的にベイトを散布することにより、顕著な駆虫効果があることがあきらかとなった。



2. 地域住民参加による汚染環境修復：ベイト散布による感染源対策—小清水町

詳細については、奥分担研究者の報告を参照されたい。

1980 年代の半ばから小清水町で基礎研究を開始し、1998 年から 6 年間の北海道大学の研究チームに

よりベイト散布を中心としたエキノコックス感染源対策が試行された。その内、2003年および2004年においてはベイト散布を行わずキツネにおける感染率が徐々に上昇する傾向が確認されたので、2005年から住民主体の感染源対策が実施されることとなつた。研究レベルでは小清水町の農村地帯におけるベイト散布法についてはほぼ確立していた。

本年度の目的は、研究レベルで開発してきた技術を地域住民へ移転し、より適正技術へと精度などのレベルを上げながらベイト散布による汚染環境修復の状況を確認することにあつた。

主体は(財)小清水自然と語る会の会員に加えて、地域住民、全国からのボランティアで、専門機関『環境動物フォーラム』や酪農学園大学OIEエキノコックス症研究拠点機関、北海道大学(COE エキノコックス研究推進者：奥 祐三郎)などの協力を得て実施した。

2002年には2%程度にまで減少し、2002年にベイト散布を2004年まで中止したが、2004年には9%に上昇していた。2005年の5月から11月までの住民による毎月のベイト散布が実施された。その間に8月に採取したキツネの糞便について検査したところ、糞便の抗原および虫卵陽性率が2%に減少し、散布効果が認められた。2006年8月には糞便の抗原陽性率は0%に減少したことが確認され、住民によるベイト散布が効果があることが示された。これは、予め研究者がその地域についての情報(糞便採取地点、ベイト散布地点)を収集していれば、研究者から短時間の住民への講習で、ベイト散布およびキツネの糞便採取は可能であることを意味している。今後、広域に実施すれば、より効果的であるので、網走管内の他の周辺自治体、斜里町などとの連携が期待される。さらに北海道全域に展開する際、感染源対策の専門家育成と同時に一般市民が、科学的根拠に基づいてリスク管理対応ができる能力(リスク・リテラシー)を強化できる社会システム形成が重要になる。

3. 感染源動物調査：

A. イヌ、ネコの調査：2006年1～12月にイヌ459、ネコ39頭を対象に糞便内抗原検査とテニア科虫卵のPCR検査を実施した。最終的にイヌ2頭の陽性例が確認されわが国の感染症法に基づく届け出がなされた。ならびに国際獣疫事務局(OIE)への年次報告へ『環境動物フォーラム』と共同で実施した調査結果を報告した。

B. ネコ陽性例

平成19年2月に北海道のネコ1例においてエキノコックス虫卵排泄が確認された。人はエキノコック

スの虫卵を経口摂取すると感染する。一般的に猫は感受性が低い(エキノコックス成虫の発育が悪い)ことが知られているが、希に虫卵を排泄することがある。国内では初めてのエキノコックス虫卵排泄猫の症例である。

概要：ペットやキツネのエキノコックス診断を実施している民間専門機関『環境動物フォーラム』の検査で(平成18年12月6日受付)、依頼された帶広の猫1頭の糞便を検査したところ、糞便内のエキノコックス抗原(サンドイッチELISA)は陰性であったが、蔗糖液浮遊法によりテニア科条虫卵が陽性であった(エキノコックスおよびその近縁のテニア属条虫は類似の虫卵を出すため、虫卵検査では区別できず、まとめてテニア科条虫卵として扱っている)。ネコはテニア属条虫の猫条虫の感染率が比較的高く、また、糞便内抗原陰性であったため、猫条虫感染の可能性が高いと判断された。

しかし、テニア科条虫卵が検出されていたことから、後日(約1ヵ月後)確認のために北海道大学獣医学部(分担研究者奥祐三郎)において虫卵DNAを用いたPCR検査を実施したところ、多包条虫のミトコンドリア・Cytochrome Oxidase subunit Iに特異的なプライマーでDNAが増幅された。その後、確認検査を実施し、再度同じ結果が得られた。さらに、この増幅産物の塩基配列を解読したところ、多包条虫の配列と一致し、検出されたテニア科条虫卵が多包条虫卵であることが確定された。

なお、平成19年2月19日に分担研究者神谷正男および奥祐三郎から担当獣医師へ連絡し、猫から多包条虫卵が排出されていたこと、飼い主及び家族の血清検査が必要であることを説明してもらうよう要請し、今後の感染に対する再検査の必要性についても説明した。

上記の結果から、2つの可能性が考えられる。1) 猫が多包条虫に感染していたが、糞便内抗原偽陰性を示した。2) 猫が多包条虫卵を含むキツネ糞便を食べ、その虫卵が猫の糞便に出てきたので、糞便内抗原は陰性を示した。しかし、この猫は林の近くで飼育されており、よくネズミを捕獲していることが飼い主により目撃されており、1)の可能性が高いと予想される。

いずれの場合であっても、猫から多包条虫卵が排出されていた事実は公衆衛生上大きな問題となる。

北海道の調査では猫のエキノコックス感染率は4.9%(5/103)であるが、虫卵排泄例は見つかっていないため、現在北海道では猫のエキノコックスについては住民に対して全く注意喚起していない。因みに、

ヨーロッパや北米では虫卵を排泄する猫の症例があることはよく知られている。イヌやキツネだけでなく、今後、猫についても注意喚起する必要があると考えられる。

現在、剖検以外では、『環境動物フォーラム』で実施している糞便内抗原検出法は最も感度が高い診断法で、蔗糖液浮遊法による虫卵検出よりもかなり感度が高いことがイヌやキツネで報告されており、猫への実験でも、感染後、糞便内抗原が陽性となることが確認されている。

国内のエキノコックス症感染源リスクは、民間専門機関『環境動物フォーラム』でスクリーニングされ、感染症法に基づく全てののイヌ陽性例の届出やその後の処置、また、地域のリスク除去についてこの機関が寄与した。今後も『内発的発展』に重要な役割を果たすものと期待される。

研究発表

1. 論文発表（神谷正男、オセ・ラガバ、スマヤ・ガンゾリグ、小林文夫）

- 1) Chang, S. L., Ooi, H. K., Nonaka, N., Kamiya, M. and Oku, Y. (2006) Development of *Taenia asiatica* cysticerci to infective atage and its tapeworm stage in Mongolian gerbils. *J. Helm.*, 80(2): 219-223
- 2) 張秀玲、野中成晃、黃鴻堅、神谷正男 (2006) SCID マウスとスナネズミにおけるアジア条虫幼虫の発育と人および代替終宿主に対する感染能, 4 (2), 40
- 3) Nonaka, N., Kamiya, M. and Oku, Y. (2006) Toward the control of *Echinococcus multilocularis* in the definitive host in Japan, *Parasitol. Int.*, 55, 263-266
- 4) Kamiya, M., Lagapa, J. T. G., Nonaka, N., Ganzorig, S., Oku, Y. and Kamiya, H. (2006) Current control strategies targeting sources of echinococcosis in Japan. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*, 25(3): 1055-1066.
- 5) Kamiya, M., Lagapa, J. T., Ganzorig, S., Kobayashi, F., Nonaka, N. and Oku, Y. (2007) Echinococcosis risk among domestic definitive hosts, Japan. *Emerging Infectious Diseases*, 13(2), 346-347
- 6) Ganzorig, S., Oku, Y., Gardner, L. and Kamiya, M. (2007) Multification of ovaries in *Ctenotaenia marmotae* ((Frolich, 1802) (Cestoda: Anoplocephalidae). *Comparative Parasitology*,

74(1), 151-153

7) Kamiya, M. (2007) Echinococcosis/Hydatidosis. Annual report of OIE Reference Laboratories and Collaborating Centers, in press

8) Kamiya, M. (2004) Echinococcosis/Hydatidosis. Annual report of OIE Reference Laboratories and Collaborating Centers, 56-58

9) 奥祐三郎、巖城隆、スマヤ・ガンゾリック、野中成晃、宮原俊之、岡崎克則、神谷正男 (2007) 地域住民による北海道のエキノコックス感染源対策の試行. 獣医寄生虫学会誌, 5 (2), 36

10) 神谷正男 (2007) エキノコックス調査結果、俱知安町広報誌「くっちゃん」、3月号, 2-3

11) 神谷正男 (2007) 人と動物に共通の感染症——エキノコックス症を再考する、村井俊治他 (編) 人とわざわい 持続的幸福へのメッセージ (下巻) 、293-328, エス・ピー・ピー、東京

12) 神谷正男 (2007) エキノコックス症、新感染症学 (下巻) 、日本臨床 65 (増刊号 3) 、229-235

2. 学会発表

- 1) 神谷正男 地域づくり：エキノコックス対策技術を用いて 第3641回札幌ロータリークラブ例会 平成18年(2006)7月19日 札幌
- 2) 奥祐三郎、巖城隆、スマヤ・ガンゾリック、野中成晃、宮原俊之、岡崎克則、神谷正男 地域住民による北海道のエキノコックス感染源対策の試行 第53回日本寄生虫学会北日本支部会大会 平成18年(2006)10月10日 帯広
- 3) 神谷正男 あなたの隣のエキノコックス・・・住民と一緒にリスク対策 第13回サイエンスカフェ札幌、平成18年(2006)10月13日 札幌
- 4) 奥祐三郎、巖城隆、スマヤ・ガンゾリック、野中成晃、宮原俊之、岡崎克則、神谷正男 北海道のエキノコックス感染源対策の試みと今後の住民参加 第6回人と動物の共通感染症研究会学術集会 平成18年(2006)11月3日 東京
- 5) Kmaiya, M. Twinning laboratories. First International conference of OIE Refewrence Laboratories and Collaborating Centres, Florianapolis, Brazil, 3-5 Decemper 2006
- 6) 神谷正男 エキノコックス…『auto-generativo』な感染源対策へ向けて、タイレリア・エキノコックス・バベシア・ツエツエハエゲノム会議 平成19年(2007)1月27日 札幌市
- 7) 神谷正男 地域の『内発的開発力』に依拠した生物リスクの問題解決・・・エキノコックス症を例に。長崎大学熱帯医学『人間の安全保障』研究集会、平

成18年1月31日 長崎
 8) 神谷正男 地域の力で生物リスクの問題解決…
 エキノコックス症を例にして、NPO法人 WAO ニセコ
 羊蹄再発見の会総会講演会 平成19年(2007)3
 月8日 虹田郡留寿都村
 9) 神谷正男 自然学教室 エキノコックス、生物リ
 スクの問題解決へ向けて 平成19年(2007)3月11
 日 千歳
 10) 神谷正男 自然学教室 エキノコックス、生物リ
 スクの問題解決へ向けて 平成19年(2007)3月
 17日 虹田郡俱知安町
 11) 奥祐三郎、巖城隆、スミヤ・ガンゾリック、野
 中成晃、宮原俊之、岡崎克則、神谷正男 北海道の
 エキノコックス対策のための地域住民による駆虫薬
 入りベイト散布とキツネ糞便採取 第76回日本寄
 生虫学会 平成19年(2007)3月29-30日 大阪

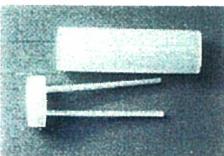
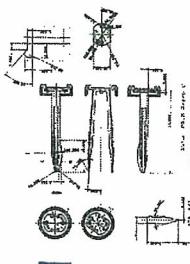
知的所有権の取得状況

1) 特許

特許番号 3919742

(平成19年2月23日)

野外用の多目的採集容器：ピンセットを付属しているので、野外でキツネなど、エキノコックスに汚染している可能性のある糞便などを安全に採取できる。

採集後、容器のままインキュベーターなどで殺卵処理(70℃)できるため、安全に検査することが出来る。半透明のため内容物の確認が容易

2) 商標：エキット/EKITTO

登録番号 商 4834488

糞便中のエキノコックス抗原簡易迅速検出キット(インムノクロマト ICG)



3) エキコロ/EKICOLO

登録番号 商 4830968

新聞記事

- 1) 読売新聞 平成18年10月22日 全国版
 からだの質問箱 エキノコックス感染が心配
- 2) 北海道新聞 平成19年2月15日 夕刊
 (感染キツネ域に駆虫剤集中…エキノコックス根絶に道…俱知安で実験 北大、2年で成果)
- 3) 日本経済新聞 平成19年2月20日 全国版、夕刊
 動物からの感染症⑫ エキノコックス症 イヌ連れ旅行に注意
- 4) 北海道新聞 平成19年3月13日 根絶へ エキノコックス⑮ アイディア奏功 高感染地域に駆虫剤

- 5) 北海道新聞 平成19年3月14日 根絶へ エキノコックス⑯
- 6) 東京新聞 平成19年3月20日 エキノコックス根絶作戦 キタキツネに駆虫剤入りエサ 行政及び腰「金錢的負担大きい」

健康危険情報

民間専門機関『環境動物フォーラム』から発したリスク情報(奥分担研究者報告済み)

北海道の猫のエキノコックス虫卵排泄例について(猫からの虫卵排泄は第一例)

研究班構成

分担研究者

神谷正男 酪農学園大学環境システム学部 教授

OIE エキノコックス症リファレンス・ラボ

研究協力者

苅込 洋一 小清水自然と語る会 事務局長

白木美恵子 ニセコ・羊蹄再発見の会 WAO
 プロジェクト・リーダー

岡崎 克則 北海道俱知安町風土館 学芸員

S. ガンゾリグ 環境動物フォーラム 研究員

小林文夫 環境動物フォーラム 研究員

J. ラガバ 酪農学園大学 客員研究員

(ヒューマンサイエンス振興財団)

平成 18 年厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
「動物由来感染症のコントロール法の確立に関する研究」班
分担研究報告書

アライグマ回虫症及び道外地域のエキノコックス症の実態調査と対策

分担研究者 川中正憲 国立感染症研究所寄生動物部

研究協力者 森嶋康之 国立感染症研究所寄生動物部
同 杉山 広 国立感染症研究所寄生動物部
同 古屋宏二 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 山口正則 埼玉県衛生研究所臨床微生物担当
同 山本徳栄 埼玉県衛生研究所臨床微生物担当
同 稲田貴嗣 神奈川県衛生研究所微生物部
同 木村明生 大阪府公衆衛生研究所微生物部
同 和栗 敦 青森県環境保健センター微生物部
同 東海林彰 青森県十和田食肉衛生検査所
同 吉野民子 青森県動物愛護センター
同 佐藤 宏 山口大学農学部（獣医寄生虫学）
同 土井陸雄 横浜市立大学医学部（衛生学）
同 余 森海 中国疾病予防センター寄生虫病研究所

研究要旨： 本分担研究者の第一の課題は、ヒトで重篤な神経障害を引き起こすアライグマ回虫による幼虫移行症の発生を予防する為の監視方法の研究である。平成 17 年 6 月から「外来生物法」が施行され、日本各地で野生化し繁殖を続けるアライグマの駆除事業が本格化している。今年度は、監視方法を検討する前提として、特に関東地域と関西地域で急増している野生化アライグマを対象にアライグマ回虫及びその他腸管内寄生虫の実態調査を実施した。同じく第二の課題は、平成 15 年 11 月の感染症法改正によりイヌの感染事例届出が義務づけられたエキノコックス症について、北海道以

外の地域への伝播状況の調査研究である。今年度は、捕獲犬から多包条虫寄生例が見出された埼玉県での動物疫学調査の継続と、大阪地域での捕獲犬調査を新たに実施した。また、多包虫か単包虫を原因とする人のエキノコックス症について、原因虫種を鑑別しうる血清診断法としてウエスタンブロットを応用した方法を検討した。また、本研究課題に関連し、HS 財団による外国研究機関への委託研究事業として「中国青海省におけるエキノコックス症の疫学的調査」を行っており、その一環として血清抗体検査を実施した。

(1) 関東及び関西地域での野生化アライグマのアライグマ回虫と腸管寄生虫調査

A. 研究目的

我々は1999年からアライグマ回虫に関する全国調査を開始し、動物園等の展示施設のアライグマ、ならびに捕獲された野生アライグマについての調査報告の収集や糞便検査等を実施した¹⁾ ²⁾。その結果、動物園等での飼育群からはアライグマ回虫の寄生例が少なからず確認されたが、全国の野生アライグマからは、現在のところアライグマ回虫の寄生例は発見されていない。一方で2005年6月から「外来生物法」が施行され、日本各地で野生化し繁殖を続けるアライグマの駆除事業が本格化している。このような中で、アライグマ回虫に関する有効な監視方法を検討する前提として、関東地域と関西地域で急増

している野生化アライグマを対象に、アライグマ回虫及びその他腸管内寄生虫の実態調査を行った。

B. 研究方法

神奈川県は、首都圏にあって最も野生アライグマ問題が先鋭化している地域であることから、この調査を開始して以来8カ年間にわたりアライグマの生息状況をフォローすると共に、駆除業者からの直接サンプル送付による糞便検査を実施してきた。今年度は288件の糞便が感染研に送付された。糞便検査の方法はホルマリンエーテル法による遠心沈殿法を用いた。回虫卵が検出されたときは、アライグマ回虫とそれ以外のタヌキ回虫等との区別するために、形態鑑別と共にPCR法による遺伝子解析を併用した。今年度はまた、行政レベルでの連絡体制が組織さ

表1. 神奈川県の野生アライグマ糞便検査数(1999年~2006年)

捕獲場所	捕獲年								総計(地区別)
	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	
鎌倉市	8	26	140	80	104	46	73	133	610
横浜市			5	4	4	19	20	71	123
横須賀市				9		4	96	1	110
藤沢市	3	38	22	5	5	9	19		101
逗子市			5	8		5	23	49	90
三浦市				5		2		5	12
相模原市	1	8							9
茅ヶ崎市							7		7
茅ヶ崎市				5			1		6
城山町			2						2
津久井町	2								2
寒川町	1								1
小田原市		1							1
不明			6				3		9
総計(年別)	8	33	199	139	113	81	222	288	1083

表2. 行政ルートで実施されたアライグマ回虫検査結果(06.4~07.2)

捕獲地域	捕獲数		寄生虫卵	
	オス	メス	回虫卵	その他
三浦市	6	6	不検出	
逗子市	13	10	不検出	3*
鎌倉市	4	6	不検出	
葉山市	0	4	不検出	
横須賀市	7	7	不検出	
横浜市	1	0	不検出	
計	31	33	不検出	

*: 図1に写真を示す

れつつあり、このルートを通じて神奈川県衛生研究所において 64 件の糞便検査が実施された。また、関西地域においては、5 府県（大阪、兵庫、奈良、和歌山、三重）で捕獲された 657 頭の野生化アライグマにつき、剖検による内臓寄生蠕虫の精密な検査が山口大学農学部で実施された。

C. 研究結果

表 1 に示すように、今年度の神奈川県内で捕獲したアライグマの検査数はこれまでに実施した中で最も多い 288 例を数えた。これまでの調査において、捕獲アライグマからはアライグマ回虫は検出されなかつたが、タヌキ回虫 (*Toxocara tanuki*) の寄生例が見つかっている。最初の例は、2001 年に相模原市で捕獲された野生アライグマからタヌキ回虫の虫卵と成虫が検出されたものである。アライグマ回虫卵の形態はタヌキ回虫卵と類似している為、これらの種鑑別には成虫を採取してその形態的特徴を確認する事が望ましいが、成虫が採集出来なかつた場



図1. アライグマ糞便から見つかったタヌキ回虫の卵

合でも、虫卵由来の DNA による PCR を実施し遺伝子を解析する事で同定が可能である。タヌキ回虫は、その後、鎌倉市からの 1 頭、横須賀市からの 2 頭を加えて、現在までに捕獲アライグマ 4 頭からその寄生例が確認されている³⁾。また、表 2 に示すように、今年度から行政ルートで実施された 64 頭の野生化アライグマの糞便検査の結果についても、アライグマ回虫卵は検出されなかつた。

関西地域で捕獲された野生化アライグマから検出された内臓寄生蠕虫を表 3 に示す。極めて多様な蠕虫類が検出されているが、アライグマ回虫の確認はなく、多くの蠕虫種は食餌に伴い、一過性に腸管に寄生（あるいは通過）しているところを検出したものと考えられた。現時点で、野生化アライグマが自然宿主として、その生活環の維持に一定の役割を果たしていると考えられる寄生虫は、*Physaloptera* 属胃虫 (*Physaloptera* sp.)、アライグマ糞線虫 (*Strongyloides procyonis*)、および *Metagonimus* 属吸虫（特に *Metagonimus*

takahashii)であった。但し、これらの寄生虫種の感染率が現時点で高い地域は、調査した5府県の中でも和歌山県に限られていた。

D. 考察

野生アライグマに関する行政的な対応は、2005年に「外来生物法」が施行されたことにより大きな転換期を迎えた。神奈川県においては、環境省からアライグマ対策モデル事業の指定を受けて2005年

の夏に横須賀市内の繁殖地を重点調査域として生態調査を行い、その調査結果を踏まえて2006年3月には10ヵ年で県全域からの完全排除を目標とした「神奈川県アライグマ防除実施計画」が策定された。しかし、この計画は県の環境農政部門が推進し市町村が実施母体となる為に衛生行政との連携が不十分であり、アライグマ回虫を始めとする動物由来感染症への対策が十分に実施され難いという問題点がある。

表3. 野生アライグマ捕獲県別の寄生虫検出状況

捕獲県	奈良県	三重県	大阪府	兵庫県	和歌山県	総計	(%)
検査個体数	2	14	121	186	334	657	
寄生虫検出個体数	0	7	64	91	160	322	49.0
鉤頭虫類	2	42	78	54	176	(26.8)	
線虫							
<i>Strongyloides procyonis</i>				64	64	(9.7)	
<i>Strongyloides</i> sp.	2	8			10	(1.5)	
<i>Physaloptera</i> sp.				16	16	(2.4)	
<i>Aonchotheca putorii</i>	10	2	1	13	(2.0)		
<i>Molineus legerae</i>	1	5	4	10	(1.5)		
<i>Contracaecum</i> sp. larva			2	4	(0.6)		
<i>Ancylostoma kusimaense</i>			2		2	(0.3)	
<i>Arthrostoma miyazakiense</i>				1	1	(0.2)	
<i>Capillaria</i> sp.	1				1	(0.2)	
<i>Porrocaecum</i> sp. larva			1		1	(0.2)	
<i>Acuarioid nematode</i> larvae		1	2	1	4	(0.6)	
Unidentified spirurid larva	1		1	1	3	(0.5)	
吸虫							
<i>Metagonimus takahashii</i>	4	4	3	60	71	(10.8)	
<i>Metagonimus yokogawai</i>	1			3	4	(0.6)	
<i>Isthmiophora hortensis</i>	1	7	1	17	26	(4.0)	
<i>Plagiorchis</i> sp.		8			8	(1.2)	
<i>Macroorchis spinulosus</i>	2			3	5	(0.8)	
<i>Echinostoma</i> sp.	1			2	3	(0.5)	
<i>Euryhelmis costariensis</i>	1			1	2	(0.3)	
<i>Acanthatrium ovatum</i>	1				1	(0.2)	
<i>Diplostomum</i>	2	2	2		6	(0.9)	
Unidentified tiny trematode				2	2	(0.3)	
条虫							
<i>Spirometra erinaceieuropae</i>			1		1	(0.2)	

今まで、神奈川県の野生アライグマからはアライグマ回虫検出例は1例もないが、動物園でアライグマ回虫が検出された事例があり、今後も何らかの機会に感染個体が野生郡に侵入する可能性を否定できない。アライグマ回虫に関しては、1頭でも感染獣の侵入があれば非感染獣への伝播は容易に起こりうること、しかも虫卵汚染の除去を徹底して行わない限り、容易に再感染を繰返すことが確認されている。また、アライグマ回虫卵は粘着性が強いため除去が容易でなく、また自然環境下での耐熱耐寒性が強く、クレゾールなどの消毒薬にも強い抵抗性を示す上、数年にわたって感染力を保持する。そのため一旦、野生アライグマの中に感染獣が発見された場合、その地域における虫卵汚染対策は困難を極めることが予想され、何よりも迅速な状況把握と対応が求められる。

一方、これまでに捕獲アライグマから4例のタヌキ回虫が検出されたが、これはタヌキの生息域にアライグマが侵入したために起きたことであり、今後はタヌキ回虫の伝播がアライグマ個体間でも容易に起こりうると推定される。タヌキ回虫は、イヌ回虫 (*Toxocara canis*) と同じトキソカラ属で、ヒトに対してイヌ回虫程度の幼虫移行症を起こしうると考えられているが、アライグマ回虫ほどの重篤な障害を起こす可能性は低い。従ってこれからは、捕獲アライグマから回虫卵を検出した際には、必ずタヌキ回虫卵との鑑別を行うことが必要になったと云える。

これらの事実を踏まえて、現在進行中のアライグマ駆除事業に、自治体レベルでのアライグマ回虫監視と緊急時に対応できる連絡体制を組み込むことが急務であると考える。

E. 結論

野生化アライグマについて関東地方では神奈川県、関西地方では5府県（大阪、兵庫、奈良、和歌山、三重）においてアライグマ回虫を含む腸管寄生蠕虫類の検査を実施した。その結果、これらの調査地域において現時点では、アライグマ回虫の寄生例は認められなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

- 1) 川中正憲、荒川京子、杉山 広、森嶋康之：アライグマとアライグマ回虫 (*Baylisascaris procyonis*) に関する全国調査. Clin. Parasitol. (臨床寄生虫学会誌), 12, 121-125, 2001
- 2) 川中正憲、荒川京子、杉山 広、森嶋康之：動物園、観光施設でのアライグマ回虫卵汚染問題. 病原微生物検出情報 Vol. 23, No. 8, 202-203, 2002
- 3) 川中正憲、荒川京子、杉山 広、森嶋康之：神奈川県におけるアライグマの駆除とアライグマ回虫の調査. Clin. Parasitol. (臨床寄生虫学会誌), 17, 56-59, 2006

(2) エキノコックス症の国内流行地域拡大防止対策に関する研究

A. 研究目的

2003年11月の感染症法改正により、エキノコックス症の届出はヒトへの感染源となるイヌの感染例についても義務づけられることになった。これまでの届出状況をみると、イヌでの感染届出は国内唯一の多包条虫常 在地である北海道からの報告のみにとどまってきた。しかしながら、我々が北海道からの移動犬調査で示したように¹⁾、流行地での飼育あるいは滞在歴をもつイヌを介した道外地域への伝播例が存在する。多包条虫の非流行地への拡散に果たすイヌの役割が重要と認識される中、埼玉県北部で捕獲されたイヌ1頭（メス、年齢不明）の糞便から多包条虫の虫卵が検出された²⁾。これは、感染症法改正後、北海道以外の都府県から届け出られた初めてのイヌの多包条虫感染例となった。今年度は、関東地域の調査に次いで大阪地域において新たに捕獲犬調査を行なった。また、埼玉県においては県北部での野鼠の捕獲調査を実施した。

B. 研究方法

大阪府での捕獲犬の調査： 平成18年6月から、大阪府・食の安全推進課（箕面、四条畷、藤井寺、泉佐野の計4分室）により府内全域（大阪市、堺市、東大阪市を除く）において捕獲された放浪犬を対象として糞便を採取した。捕獲した犬は年齢を推定し、性別および捕獲地域とあわせて記録を行った。糞便の検査はホルマリンエーテル

法及びショ糖浮遊法を用いた虫卵の検出によって行った。検出された虫卵は、主にその形態学的特徴にもとづき、検出種の記載を行った。エキノコックスを含むテニア科条虫の虫卵は互いに類似し、形態学的特徴のみでは鑑別が困難なため、このような虫卵が検出された場合には、虫卵1個よりDNAを分離し12SリボソーマルRNA領域及びU1snRNA領域を標的としたPCR法による分子鑑別を実施した。

埼玉県での野鼠の調査： 捕獲犬から多包条虫が検出された県北部の江南町と熊谷市が隣接する荒川の河川敷（以下、江南）、および本庄市内の元小山川の河川敷（以下、本庄）の2か所を対象とした。野鼠は衛生研究所の高度安全施設に搬入し、生きた個体では麻酔後、まず心臓穿刺により採血を行った。次に、生死に関わらず肝臓、脾臓、腎臓、肺を無菌的に摘出し、目視による観察を行った。さらに、肝臓については実体顕微鏡下にて観察を行い、結節病巣などの異常所見を認めた場合は、その部位を摘出し、70%エタノール、一部は10%ホルマリンに保存した。また、生の各臓器は-80°Cで凍結保存した。さらに血清および血餅は、小分けして-30°Cで凍結保存した。エタノール固定した結節病巣等の異物は、DNeasy Tissue Kit (QIAGEN)を使用し、添付書に従いDNA抽出を行った。PCR法は*E. multilocularis*の標的遺伝子の検出を目的とし、プライマーと反応条件はBretagne S, et al.(1993)の方法に準じて行った。また、10%ホルマリン固定後、常法に従ってHE

表1 大阪府における捕獲犬の腸管寄生蠕虫検査結果

検出蠕虫種	推定年齢			合計
	幼若犬	成犬	老犬	
イヌ回虫	10/33 (30.3)	4 /25(16.0)	0/6	14/64 (21.9)
イヌ糞虫	1/33 (3.0)	3/25 (12.0)	0/6	4/64 (6.3)
マンソン裂頭条虫	1/33 (3.0)	1 (4.0)	0/6	2/64 (3.1)
テニア科条虫	0/19	1 (4.0)	0/6	1/64 (1.6)
蠕虫陽性	10 ^a /33 (30.3)	9/25 (36.0)	0/6	19 ^a /64 (26.3)

a) 重複感染の2例を含む

染色組織標本を作成し、病理組織学的検査を行った。

C. 研究結果

大阪府での捕獲犬の調査： 平成18年6月から平成19年2月までの期間に大阪府内16市町村では放浪犬64頭が捕獲され、これらのすべてから糞便を採取して検査を行った。糞便検査の結果、19頭からテニア科条虫の虫卵を含む4種類の腸管寄生蠕虫卵が検出された。このうちイヌ回虫保有個体が最も多く、全体の20%以上を占めていた（表1）。また虫卵陽性個体のうち2頭は、2種類の蠕虫を保有していた。テニア科条虫卵については、エキノコックスに種特異的な12SリボソームRNA及びU1snRNA領

域を標的部位としたPCR法を行ったが、いずれの場合もエキノコックスに特異的バンドが観察されなかったことからエキノコックスの感染は否定された。

埼玉県での野鼠の調査： 捕獲した野鼠は、江南においては総数75匹で、アカネズミが67匹(89.3%)で最も多く、次いでハツカネズミ4匹(5.3%)、ハタネズミ3匹(4.0%)、ドブネズミ1匹(1.3%)であった（表2）。また、本庄における総数は27匹で、ハツカネズミが18匹(66.7%)で最も多く、次いでドブネズミ6匹(22.2%)、アカネズミ3匹(11.1%)であった。このように野鼠の生息相が異なる要因としては、江南の調査地点は広い草むらと林があり、野生動物の糞や野鳥の死骸がみられるな

表2 野鼠の肝臓における病巣所見と検査結果

	捕獲数	肝臓病巣有	病巣割合(%)	PCR実施	病理組織	<i>E. multilocularis</i>	
江南	アカネズミ	67	19	28.4	17	4	0
	ハツカネズミ	4	0	0	0	0	0
	ドブネズミ	1	0	0	0	0	0
	ハタネズミ	3	0	0	0	0	0
	合計	75	19	25.3	17	4	0
本庄	アカネズミ	3	1	33.3	1	0	0
	ハツカネズミ	18	2	11.1	2	2	0
	ドブネズミ	6	3	50.0	3	0	0
	合計	27	6	22.2	6	2	0

ど自然が残された環境であるが、本庄では比較的細い河川で、両側には民家が建ち並ぶ住宅街であることが考えられた。一方、野鼠は回収時に死亡、または現地で生存が確認された個体であっても、剖検時には死亡している例があった。剖検時の生存例は江南で 44 匹(58.7%)、本庄では 23 匹(85.2%)であった。野鼠の肝臓において結節病巣部を認めた個体は、江南では 19 検体(25.3%)でいずれもアカネズミであったが、本庄では 6 検体(22.2%)で、アカネズミ、ハツカネズミおよびドブネズミであった。これら 25 検体の結節病巣については、PCR 法または病理組織標本の観察、もしくは両法により検査した結果、*E. multilocularis* は検出されなかった(表 2)。八木ら(1991)はアカネズミに対する *E. multilocularis* の感染実験を行い、その結果、感染は成立しなかったと報告している。

一方、結節病巣の病理組織標本 6 検体のうち、*Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica*)がアカネズミ 1 検体から検出されたが、その他については *Cladotaenia* sp. または *Taenia* sp. と考えられた検体はあるが、同定には至っていない。

D. 考察

大阪府における今年度の調査では、エキノコックス感染個体は見いだされなかった。埼玉県の調査では、550 頭の捕獲犬のうち 1 頭の感染が確認されている(検出率 0.18%)。大阪府内における犬のエキノコックス感染

の実態を解明するためには、さらに調査を継続し、検査数を重ねる必要があると考えられる。今回の大阪府での調査では、イヌ回虫が全体の 21.9% から検出された。特に 1 歳未満の幼若犬の約 30% が感染していることが明らかとなった。イヌ回虫はヒトに幼虫移行症を引き起こす人獣共通感染症の原因として重要であり、犬の糞便中のイヌ回虫卵による砂場等の汚染が問題となっている。放浪犬のイヌ回虫保有に関しても、継続した調査が必要であろう。近畿地域では兵庫県下の捕獲犬を対象として行った腸管寄生蠕虫保有調査以来(宇賀ら、1982)、同様の疫学的調査は行われていない。今回の調査は近畿地域で 20 年ぶりに実施されたもので、今後調査を継続して行くことにより、エキノコックスの大坂府内への侵入の有無だけでなく、現在の放浪犬の腸管寄生蠕虫相も同時に明らかにできることから、これら各種寄生蠕虫類のヒトへの感染において犬が果たす役割を評価する際に役立つものと考えられる。また、今回は標本数が少ないため詳細な検討は加えなかったが、寄生蠕虫陽性犬の出現には地域的な偏りがあると思われ、環境等種々の条件とあわせて検討を進める予定である。

また、埼玉県については、北海道などの流行地における飼育犬が飼い主の転居などによって県内に移入される例、県内から北海道旅行に同伴した飼い犬が野鼠を捕食して感染する例など、県内に *E. multilocularis* が侵入する可能性はいくつか考えられる。従って、今後、さらに埼玉県内各地に生息する野鼠および犬に関

して、*E. multilocularis* の侵淫状況を調査し、監視する必要がある。

E. 結論

大阪府下で捕獲犬の腸管寄生蠕虫類流行調査を開始し、エキノコックス陽性例は発見されなかつたが、犬回虫感染が比較的高率に観察された。捕獲犬より多包条虫が検出された埼玉県北部において 102 頭の野鼠を捕獲して感染状況を調査した。その種別はアカネズミ 70 頭(68.6%)、ハツカネズミ 22 頭(21.6%)、ドブネズミ 7 頭(6.9%)、ハタネズミ 3 頭(2.9%)、であったが、いずれ検査個体にあっても多包虫の感染は認められなかつた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

- 1) Morishima, Y., Sugiyama, H., Arakawa, K. and Kawanaka, M. : *Echinococcus multilocularis* in dogs, Japan. Emerging Infectious Diseases, 12: 1292-1294. 2006.
- 2) Yamamoto, N., Morishima, Y., Kon, M., Yamaguchi, M., Tanno, S., Koyama, M., Maeno, N., Azuma, H., Mizusawa, H., Kimura, H., Sugiyama, H., Arakawa, K. and Kawanaka, M. : The first reported case of an infected dog with *Echinococcus multilocularis* in Saitama Prefecture, Japan. Jpn. J. Infect Dis., 59: 351-352 2006

H. 知的財産権の出願・登録 なし

(3) 多包虫症と単包虫症の鑑別を目的としたエキノコックス症血清診断法の検討

A. 研究目的

単包条虫と多包条虫とが混在分布している地域において、ヒトの単包虫症と多包虫症とを鑑別することは、個別患者の予後判定の為にも、有病地におけるコントロール対策立案の為にも、極めて重要な問題である。また、多包条虫のみが北海道に分布し単包条虫の外国からの侵入の危険にさらされているわが国にあっても、両症を鑑別することの重要性に関しては言うまでもない。両症の鑑別は確定的には病理検査に依らねばならないが、超音波など画像診断によつても可能とされている。しかし一方で、画像診断を補助或いは補完する手段として特異性の高い血清診断法が求められている。現在までに、「Em2-ELISA」(Gottstein ら)、「Em16/18」(Ito ら)及び、フランス製市販キット「Echinococcus Western Blot IgG」(EchWBIG, LDBIO) などが、両症の鑑別可能な診断用抗原ならびに方法として提起されてきた。我々は「EchWBIG」を参考とし、北海道由来の多包虫症患者血清及び中国青海省由来の単包虫症患者血清と、多包虫原頭節抗原などを用いて SDS-PAGE による低分子領域に着目した簡易化ウエスタンプロット法を開発し、その鑑別診断への応用可能性について検討した。