

写真11. 静岡県のシヤモ飼育者から分離された*Microsporium gallinae*の集落、サbroー薬天平板培地(a)、ポテトデキストロース薬天平板培地(b)、35℃、40日間、大分子子(c)と小分子子(d)、x200、



写真12 小学校で飼育されているニワトリの調査風景 (a), *Auxarthron kuehni* が分離されたシヤモ (b)と *Arthroderma simii* が分離されたシヤモ (c).

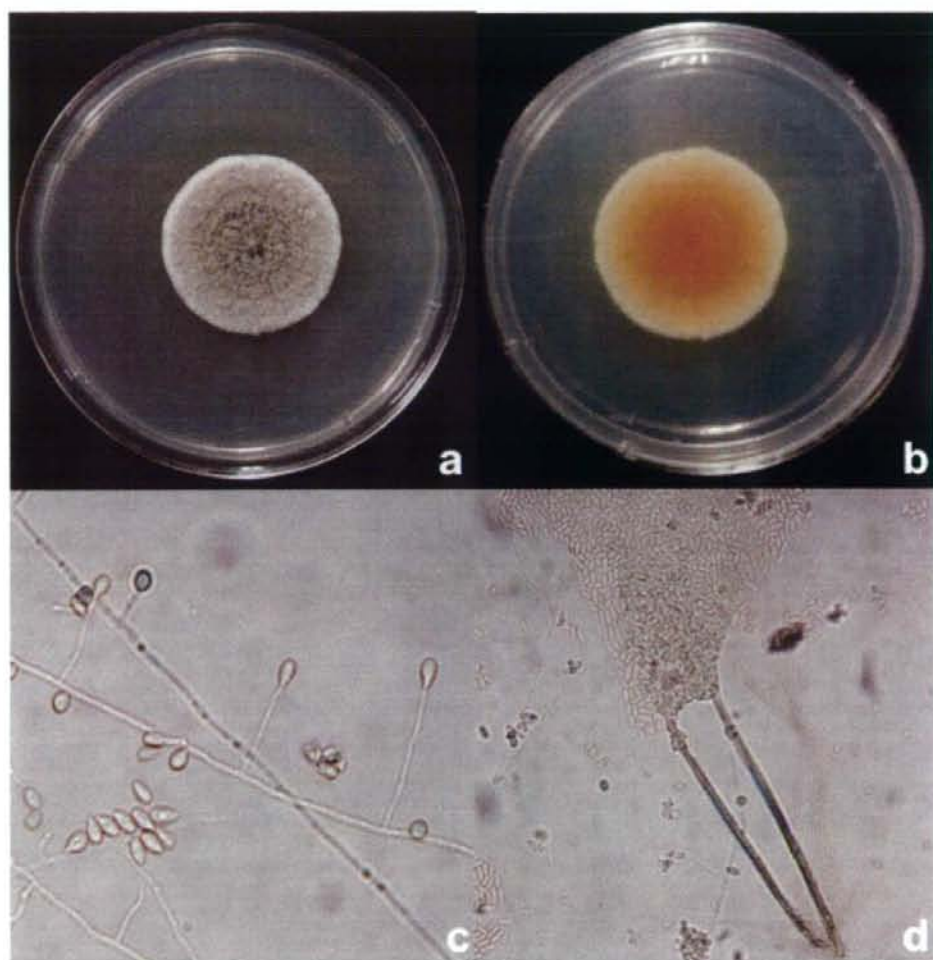


写真13 動物性腐食物を含む土壌から分離された*Scedosporium aurantiacum*の集落、ポテトデキストロース寒天平板培地(a)、同裏面の黄色色素(b)、25℃、14日間、分生子(c)シンネーマ(分生子柄束)(d)、x200、

動物由来感染症のコントロール法の確立に関する研究

1 2. 伴侶動物由来バルトネラ症に関する研究

研究分担者 丸山総一 日本大学生物資源科学部 教授

研究要旨

平成 16 年から 18 年に輸入された野生捕獲あるいは施設繁殖された愛玩用齧歯類 28 種 546 頭について *Bartonella* 属菌の保有状況を調査・検討した。血液培養の結果、17 種 142 頭 (26.0%) から *Bartonella* 属菌が分離された。動物の由来別にみた保菌率は、野生個体が 37.3% (136/367)、繁殖個体が 2.8% (5/179) であった。野生個体の輸入地域別にみた保菌率は、ヨーロッパの 27.7% (13/47) からアジアの 47.2% (42/89) であった。一方、繁殖個体では、中国産シマリスの 16.7% (5/30) からのみ本属菌が分離された。動物種別にみた保菌率は、カイロトゲマウスの 9.7% (3/31) ～フサオジャービルの 100% (10/10) であった。*gltA* 遺伝子領域の塩基配列に基づく系統解析の結果、分離株は、人の心筋炎、視神経網膜炎、心内膜炎、および猫ひっかき病等の原因となる *B. washoensis*, *B. grahamii*, *B. elizabethae*, *B. clarridgeiae* に近縁な 4 グループならびに、新種と思われる 6 グループに分類された。

A. 研究目的

近年、住宅事情の変化あるいは愛玩動物に対する嗜好の多様化から、犬猫のみならず様々な動物が家庭で飼育されるようになった。このような背景のもと、平成 18 年には、456,139 頭の齧歯類が輸入、販売されており、その割合は輸入哺乳類全体 (475,224 頭) の 96.0% を占めている。その一方で、齧歯類は種々の人獣共通感染症の病原巣あるいは感染源となる場合があり、実際に、2005 年に輸入されたアメリカモモンガを感染源とするレプトスピラ症も発生している。

齧歯類を自然病原巣とする *Bartonella* 属菌は 10 種 2 亜種が知られているが、そのうち *B. elizabethae*, *B. grahamii*, *B. vinsonii* subsp. *arupensis*, および *B. washoensis* は、人に対し心内膜炎や視神経網膜炎などを起こすことが報告されている。しかしながら、これまで輸入齧歯類における本属菌の保有状況については調査・検討されていないの

が現状である。そこで本研究では、平成 16 年から 18 年の間に輸入された愛玩用齧歯類における *Bartonella* 属菌の保有状況について細菌学および分子生物学的に検討するとともに、分離株の系統解析を行い、その公衆衛生的問題点について検討した。

B. 研究方法

1. 検体

平成 16 年から 18 年に輸入された野生捕獲あるいは施設繁殖された愛玩用齧歯類 6 科 23 属 28 種 546 頭から採取した血液を材料とした (表 1)。

2. 各病原体感染状況の測定方法

採取した血液を 5% 兔脱線維血液加ハートインフュージョン寒天培地で 35°C、5%CO₂ 環境下で 2 週間培養した後、培地上の *Bartonella* 属菌を疑う各分離株から DNA を抽出し、*gltA* 領域を標的とした PCR により本属菌であることを

確認した。

分離株とわが国の野生齧歯類由来株の系統解析は、*gltA* 領域の塩基配列 (312bp) から木村の 2 変数法を進化モデルに選択し、neighbor-join 法により系統樹を作成することにより行った。なお、系統樹の信頼性の評価はブートストラップ解析 (1,000 回) により測定した。

C. 研究結果および考察

血液培養の結果、17 種 142 頭 (26.0%) の輸入齧歯類から *Bartonella* 属菌が分離された。動物の由来別にみた保菌率は、野生個体が 37.3% (136/367)、繁殖個体が 2.8% (5/179) であった。野生個体の輸入地域別にみた保菌率は、アジアの 47.2% (42/89)、北米の 39.7% (27/68)、中近東の 33.7% (55/163)、ヨーロッパの 27.7% (13/47) であった。一方、繁殖個体では、中国産シマリスの 16.7% (5/30) からのみ本属菌が分離された。動物種別にみると、リス科動物の保菌率は、アメリカアカリスの 16.7% (3/18) ～パナナリスの 63.3% (19/30) であった。ネズミ科動物の保菌率は、カイロトゲマウスの 9.7% (3/31) ～フサオジャービルの 100% (10/10) であった。また、トビネズミ科では、オオミュビトビネズミの 81.3% (13/16) とヒメミュビトビネズミの 75.0% (6/8) から *Bartonella* 属菌が分離された。一方、デグー科、フクロモモンガ科およびハリネズミ科の動物からは本菌は分離されなかった (表 1)。

gltA 遺伝子領域の塩基配列に基づく系統解析の結果、検討した 407 分離株は、人の心筋炎、視神経網膜炎、心内膜炎、そして猫ひっかき病との関連が示唆されている *B. washoensis*, *B. grahamii*, *B. elizabethae*, *B. clarridgeiae* と近縁な 4 グループならびに、新種と思われる 6 グループに分類された。*B. washoensis* および *B. grahamii* 近縁株はいずれもリス科動物からのみ分離されたのに対し、*B. elizabethae* 近縁株はリス科、ネズミ科、トビネズミ科の 3 科の動物から分離された。また、本来猫を自然宿主とする *B. clarridgeiae* に近縁な株がアメリカアカリスから初めて分離された。さらに、

新種と思われる 6 グループのうち、新種の *Bartonella* 属菌と思われるグループ 1～5 はそれぞれ単一の動物種から分離されたのに対し、グループ 6 に属する *Bartonella* は、複数科の動物種から分離された (図 1)。現在、人に対し病原性を有する齧歯類由来 *Bartonella* 属菌は、いずれも複数科の動物種から検出されていることから、新種と思われるグループ 6 に分類された *Bartonella* 属菌は人に対し病原性を有する可能性があることが示唆された。

また、比較系統解析の結果、輸入齧歯類分離株はわが国の野鼠分離株はそれぞれ異なるグループを形成したことから、輸入齧歯類に分布する *Bartonella* 属菌は、わが国の野鼠には未だ浸潤していないことが示唆された。

D. 結論

本研究から、愛玩用輸入齧歯類は、高率 (26.0%) に *Bartonella* 属菌を保有していることが明らかとなった。また、齧歯類種により、人に病原性のある 4 種の *Bartonella* 属菌やわが国の野生齧歯類には分布していない菌種および病原性の不明な新種と思われる *Bartonella* 属菌が分布していることが明らかとなった。

現在では、平成 17 年から動物の輸入届出制度が開始され、輸入動物の種類、数量だけでなく、動物毎に特定の感染症にかかっていない旨等を記載した証明書を届け出ることにより、輸入動物の現状が把握できるようになった。しかしながら、*Bartonella* 属菌を含む多くの病原菌の保菌状況を把握することは困難であるため、今後、輸入齧歯類の飼い主および動物取り扱い業等に対しては飼育や公衆衛生面での指導を行うとともに、動物の放逐により輸入齧歯類が保有する *Bartonella* 属菌がわが国の野鼠に浸潤することを未然に防止する啓発が重要であると思われる。

E. 健康危険情報 なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Inoue, K., Maruyama, S., Kabeya, H., Hagiya, K., Izumi, Y., Une, Y., Yoshikawa, Y. 2009. Exotic small mammals as potential reservoirs of zoonotic *Bartonella* species. *Emerging Infectious Diseases* (in press).
- 2) 井上 快, 丸山総一, 壁谷英則, 瀧川裕一郎, 谷原 光, 泉 泰仁, 萩谷佳子, 宇根有美, 吉川泰弘: 輸入齧歯類における*Bartonella*属菌の保有状況ならびに分離株*glA*遺伝子の比較系統解析, 獣医畜産新報 61 (3):217-220, 2008.

2. 学会発表

- 1) 丸山総一, ヒトと動物の共通感染症にどう対処するか? 現状と将来展望. わが国のバルトネラ症の現状と課題—猫ひっかき病を中心として. 第82回日本感染症学会総会(松江), シンポジウム(2008, 4)
- 2) Inoue, K., Maruyama, S., Kabeya, H., Hagiya, H., Izumi, Y., Une, Y., Yoshikawa, Y. (2008.5): Imported small pet animals as potential reservoirs of zoonotic *Bartonella* species in Japan. 5th International Conference On *Rickettsiae* and *Rickettsial* Disease (France).
- 3) Bouchouicha, R., Durand, B., Monteil, M., Chomel, B., Birtles, R., Bretschwerdt, E., Koehler, J., Kasten, R., Petit, E., Maruyama, S., Arvand, M., Boulouis, H. J., and Haddad N. Epidemiological applications of multi-locus variable number tandem repeat analysis (MLVA) for *Bartonella henselae* isolates of human and feline origins. 5th International Conference on *Rickettsiae* and *Rickettsial* Diseases (France).
- 4) 井上 快, 大島夕佳, 壁谷英則, 野上貞雄, 坂田義美, 丸山総一 (2008.9): 関東の猫におけるトキソプラズマ, バルトネラ, FIV, FeLV, およ

びフィラリアの感染状況の年次推移. 日本獣医師会学会平成20年度地区学会(茨城).

- 5) Jittapalpong, S., Pinyopanuwat, N., Chimnoi, W., Kengradomkij, C., Arunwipat, P., Sarataphan, N., Maruyama, S., and Desquesnes, M. 2008. Seroprevalence of *Brucella abortus*, *Neospora caninum*, and *Toxoplasma gondii* Infections of Dairy Cows in the South of Thailand. The 15th congress of the Federation of Asian Veterinary Associations (Bangkok).
- 6) Arunvipas, P., Jittapalpong, S., Inpankaew, T., Pinyopanuwat, N., Chimnoi, W., Maruyama, S. 2008. Seroprevalence and risk factors for the transmission of *Toxoplasma gondii* in dogs and cats in dairy farms of western Thailand. The 15th congress of the Federation of Asian Veterinary Associations (Bangkok).

3. 著書

- 1) 微生物の事典 ペットと微生物, 2.2 ペットの細菌病と予防 p624-630. 朝倉書店(東京) 2008.9

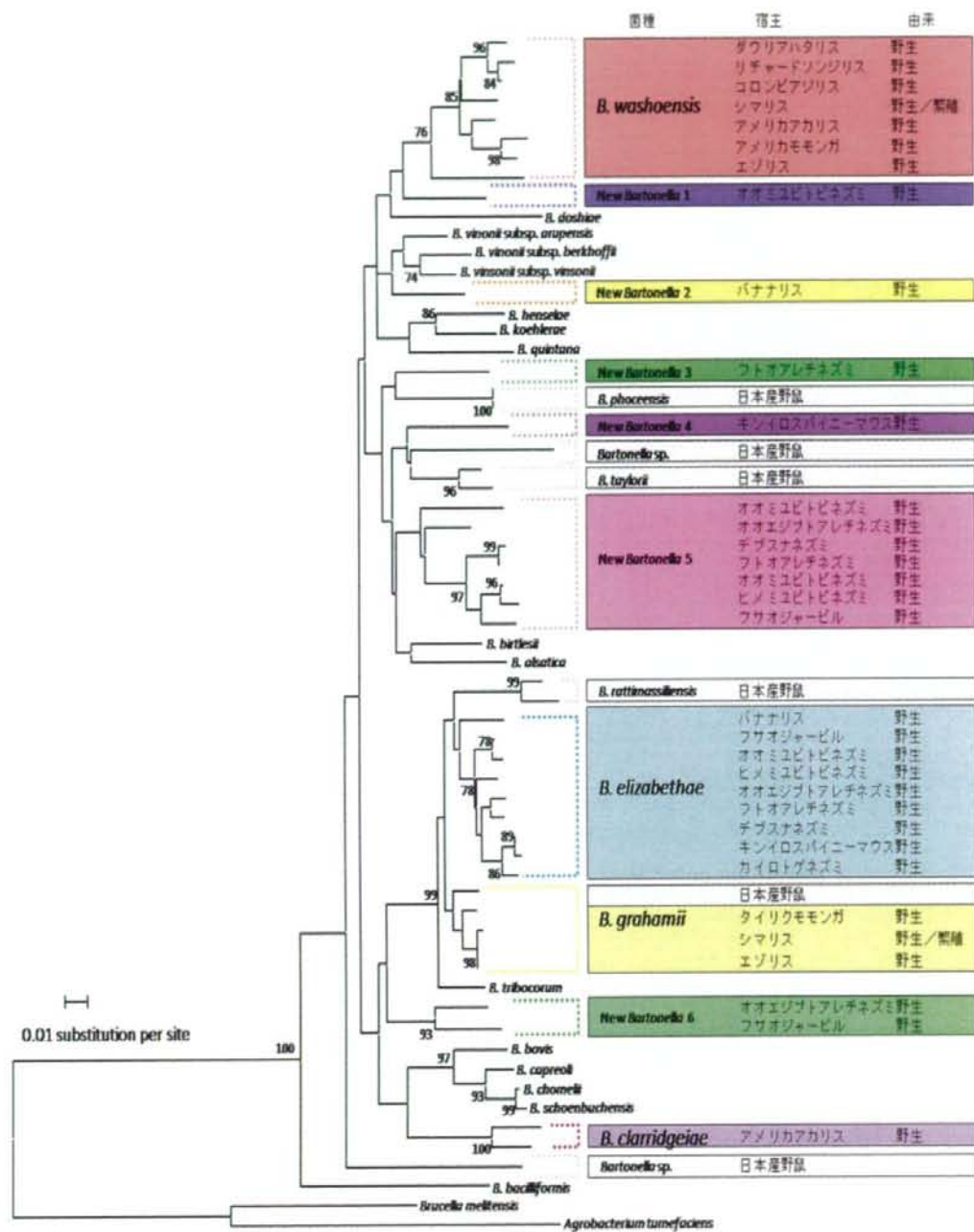
G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

表1. 輸入齧歯類における *Bartonella* 属菌の分布

	由来	動物	陽性率 (%)	小計 (%)	
野外捕獲	アジア	中国	ダウリアハタリス	4/10 (40.0)	42/89 (47.2)
		中国	エゾリス	2/10 (20.0)	
		中国	シマリス	12/29 (41.4)	
		中国	タイリクモモンガ	5/10 (50.0)	
		タイ	バナナリス	19/30 (63.3)	
	北米	アメリカ	アメリカアカリス	3/18 (16.7)	27/68 (39.7)
		アメリカ	アメリカモモンガ	6/10 (60.0)	
		不明	コロンビアジリス	6/20 (30.0)	
		不明	リチャードソンジリス	12/20 (60.0)	
	欧州	オランダ	フトオアレチネズミ	13/18 (72.2)	13/47 (27.7)
		オランダ・チェコ	デグー	0/29 (0.0)	
	中近東	エジプト	アフリカチビネズミ	0/20 (0.0)	55/163 (33.7)
		エジプト	カイロトゲマウス	3/31 (9.7)	
		エジプト	キンイロスバイニーマウス	8/13 (61.5)	
		エジプト	ステップレミング	0/11 (0.0)	
		エジプト	デブスナネズミ	6/10 (60.0)	
		エジプト	シナイスナネズミ	0/4 (0.0)	
		エジプト	フサオジャービル	10/10 (100)	
		エジプト	オオエジプトアレチネズミ	9/10 (90.0)	
		エジプト	オオミユビトビネズミ	13/16 (81.3)	
エジプト		ヒメミユビトビネズミ	6/8 (75.0)		
エジプト		ミミナガハリネズミ	0/10 (0.0)		
パキスタン		ビグミージェルボア	0/20 (0.0)		
			小計	137/367 (37.3)	
施設繁殖	アジア	中国	シマリス	5/30 (16.7)	5/60 (8.3)
		インドネシア	フクロモモンガ	0/20 (0.0)	
		タイ	フクロモモンガ	0/10 (0.0)	
	欧州	オランダ	ステップレミング	0/9 (0.0)	0/99 (0.0)
		オランダ	フトオアレチネズミ	0/10 (0.0)	
		オランダ	ゴールデンハムスター	0/20 (0.0)	
		オランダ	ロボロフスキーハムスター	0/10 (0.0)	
		オランダ・チェコ	ジャンガリアンハムスター	0/30 (0.0)	
		オランダ・チェコ	デグー	0/20 (0.0)	
	中近東	パキスタン	ビグミージェルボア	0/20 (0.0)	0/20 (0.0)
			小計	5/179 (2.8)	
			合計	142/546 (26.0)	

図1. 輸入齧歯類由来分離株, 日本の野鼠由来分離株および既存の *Bartonella* 属菌の *glA* 領域 (312bp) に基づく系統樹



「動物由来感染症のコントロール法の確立に関する研究」
分担研究報告書

1.3. 輸入蠕虫症の監視機構整備

研究分担者 太田伸生 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科・国際環境寄生虫学分野
研究協力者 赤尾信明（同上）・Katarina Macuhova（同上）、中村真理子（同上）、
有菌直樹（京都府立医科大学）

研究要旨 動物由来および輸入蠕虫症の国内発生監視のための研究を進めた。輸入寄生虫症のうち国内定着が進んでいる広東住血線虫は首都圏、近畿、東海などの人口集中地区のドブネズミに広く蔓延していることが考えられているため、今年度も首都圏で生活環の維持に関与している中間宿主の情報収集をすすめた。これまで東京・神奈川県境界部2地点でチャコウラナメクジに寄生する広東住血線虫幼虫を確認した。人獣共通寄生虫症として問題となるトキソカラ症が都市部の砂場の汚染を通じて拡大する可能性を簡便に検討するために、首都圏の公園砂場のサンプルからトキソカラ遺伝子を検出する方法で虫卵の種の同定を行う調査を試みた。その結果、調査した公園砂場の34サンプル中14サンプル(41.2%)で虫卵が分離され、イヌ回虫とネコ回虫の特異プライマーを使って実施したPCRでは68.4%の虫卵がネコ回虫であった一方、イヌ回虫は検出されなかった。しかし残りの31.6%はいずれのDNAも増幅されず、PCRによる虫種判定の今後の課題として残された。イヌ回虫症の検査依頼も継続して受入れており、平成20年度はトキソカラ症が疑われた27検体中で6検体(22.2%)が抗体陽性であった。

A. 研究目的

わが国の疾病構造が大きく変化した中で、蠕虫感染症は症状が不定愁訴にとどまり、診断法も感度・特異性を必ずしも十分に満たす状況にはないことから、感染症の中でも実態把握が困難な疾患カテゴリーである。最近わが国で問題となる蠕虫感染症は動物由来のもので、特に幼虫移行症は診断が困難であるばかりでなく、治療法も確立していないため、可能であれば感染機会を少なくする環境整備が望まれる。

幼虫移行症に関しては、従前より国内に存在が知られたいたもの、最近の国際化や生活様式の変化に伴い、新たに国内に導入されてきたものなど多様であり、公衆衛生学的にも問題は決して小さくない。感染症法による監視対象の外にあるこれらの蠕虫症については情報が散逸し、エビデンスに基づくリ

スク予測や医療対応策定に大きな支障となっている。本分担課題において、わが国が抱える動物由来および輸入蠕虫感染症の問題解決のためのアプローチを前年度に引き続いて実施した。

発生動向の実態把握については能動的な情報取得が必要であり、そのために首都圏における感染のリスク評価を整備することを進めた。対象疾患を、代表的な輸入幼虫移行症である広東住血線虫症と、臨床的に問題を抱えているトキソカラ症に絞り、より簡易なサーベイランスの手技を確立し、それによる疫学データ収集を実施した。

本研究室は、国内におけるトキソカラ症のレファレンス機能を担っていることから、国内の医療機関から診断依頼を広く受入れている。今年度についても国内の医療機関から受入れたトキソカラ症疑診例の検体について抗体検査

を実施し、国内の発生状況を把握するためのデータ蓄積を継続して行った。

以上に基づいて、国内の医療対応向上のための体制構築を推進した。

B. 研究方法

1. 広東住血線虫症に関する疫学情報収集

首都圏の住宅地を中心に広東住血線虫感染ドブネズミの存在は既に確認していたので、今年度はその中間宿主の感染状況の把握を目的とした実地調査を進めた。昨年度までに首都圏では川崎市内のチャコウラナメクジから広東住血線虫の幼虫が検出できていたので、首都圏における主要な中間宿主としてチャコウラナメクジを考え、サンプル採取と感染状況調査をおこなった。

サンプル採取地は東京湾岸の港湾施設周辺や前年度までの調査でネズミの感染が確認されていた地区の合計 9 地点で実施し、チャコウラナメクジ 349 個体を採取し、解剖によりナメクジ中の虫体検出をおこなった。

2. 首都圏公園砂場からのトキソカラ虫卵の検出調査

都市部の公園砂場がイヌ、ネコの糞便で汚染されており、トキソカラ虫卵が検出されることは既に知られていた。今回はその事実の確認と、検出されるトキソカラの種別判定、さらに検出を簡易化するために DNA 検出による方法の標準化を目指し、PCR および LAMP 法の応用を試みた。調査対象とした公園は都心部（お茶の水・秋葉原周辺、渋谷、品川、墨田、江東 12 公園）、東部郊外（市川市内 2 公園）および西部郊外（横浜、川崎、多摩地区 13 公園）で、合計 34 サンプルを得て、宇賀らの従来法による虫卵検出と DNA 抽出による判定を行った。

DNA 診断法は主にトキソカラの虫種鑑別に使い、イヌ回虫、ネコ回虫それぞれの Ribosomal DNA の ITS2 を標的とした特異プライマーを設計して PCR

および LAMP 法による鑑別を行い、公園砂場の虫卵汚染源がイヌ、ネコいずれによるものなのかを検討した。用いた特異プライマーは以下の通りである。
イヌ回虫：

5'AGTSTGATGGGCGCGCCAAT3'/NC
"(5'TTAGTTTCTTTTCTCCGCT3')

ネコ回虫：

5'GGAGAAGTAAGATCGTGGCACGCGT3'/NC2

3. トキソカラ症診断依頼検体を用いた抗体検査事業

国内の医療機関よりトキソカラ症の疑診例の免疫診断を受け入れ、今年度は 22 症例、27 生物試料の抗体検査（血清 22 検体、眼内液 3 検体、胸水、気管支洗浄液各 1 検体）を本研究室で開発した ToxocaraCHEK の迅速診断にて実施した。なお、擬診例の内訳は、内臓型トキソカラ症 7 例と眼トキソカラ症 15 例であった。

本事業は抗体検査であるため、診断用抗原の確保が最も大きな問題である。今後の継続的な事業継続を考えると、診断用抗原を考えなくてもよい技術の導入が必要である。そのため、今年度は LAMP 法による DNA 診断法の可能性を試験的に行ってみた。眼トキソカラ症のモデル動物であることが確認されているスナネズミにイヌ回虫を感染させ、眼試料を用いた LAMP 法による寄生虫 DNA の検出を試みた。

倫理面への配慮

倫理面への配慮症例登録システムにおける個人情報保護は昨年の本報告書で明示した通り、氏名、住所等の表示は行わないこと、データ保存媒体の保管を規則に準じて行なうこと等の注意を払っている。動物実験は全て東京医科歯科大学動物実験委員会による審査を受けて承認されたものである。

C. 研究結果と考察

1. 首都圏の広東住血線虫中間宿主の調

査

今年度調査した9地点、349個体のチャコウラナメクジから50隻の広東住血線虫幼虫の寄生が検出された。幼虫感染のあるナメクジが検出されたのは川崎市内の港湾関係の2地点であり、約500米離れたサンプル採取地区に由来したものであった。

広東住血線虫感染ネズミが比較的高頻度で国内でも検出される一方で、感染中間宿主の分布データが十分にわかっていたが、今年度の調査でも限られた地区のナメクジから幼虫が検出されたに留まり、依然として首都圏における広東住血線虫の分布マップに関しては謎が残った。

2. 首都圏の公園砂場におけるトキソカラ属虫卵の汚染実態

今年度調査を実施した首都圏の34試料から41.2%の試料にトキソカラ属虫卵が検出された。その中で12サンプルでは幼虫包蔵卵も見つかっており、感染力を持った虫卵が都市部の公園砂場を汚染していることになる。



トキソカラ属虫卵のうち、イヌ回虫とネコ回虫では形態的に鑑別が困難であり、公園砂場の虫卵汚染源がネコであるのかイヌであるのかについて議論があった。都市部ではイヌの飼育管理は比較的徹底しているため、従来からネコ回虫が問題であるとの推定がなされていたが、今回のDNA判定の結果からも、同定されたトキソカラ属虫卵はすべてネコ回虫であった。一方、約1/3の虫卵は今回検討したPCRの条件では同定ができず、今後

の改良が必要であった。

今後、国内の保健所、衛生研究所等での簡便な検査実施を考えて、特殊な機器を要しないLAMP法の実用も検討した。その結果、LAMP法による虫卵検出率はPCRを上回っていたが、これが感度の差であるのか、特異性で劣る結果なのか、今回の検討試料の範囲では十分な結論は得られなかった。

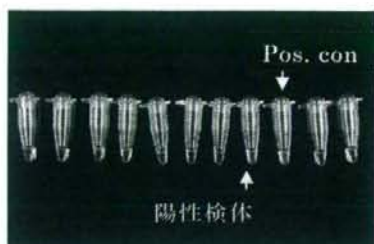
3. トキソカラ症診断依頼検体を用いた抗体検査事業

今年度のトキソカラ症検査受入れ検体は平成21年1月現在で擬診症例22名27検体であった。陽性は血清サンプル5/22(22.7%)、眼内液1/3(33.3%)で、臨床的にトキソカラ症が疑われた症例ではかなりの確率でトキソカラ抗体陽性であることが今年度も確認できた。これらは昨年度まで報告している「蠕虫症データベース」(http://ascaris.tmd.ac.jp:591/ohta_entry.html)に情報として入力し、わが国の蠕虫症発生動向把握の資料としていく。

	検査数	陽性	疑陽性	陰性
血清	22	5	1	16
眼内液	3	1	0	2
胸水	1	0	0	1
気管支洗浄液	1	0	0	1

臨床的にトキソカラ症を疑った症例の確定診断と治療方針については今日、未だ医療機関での対応が確立していない。眼トキソカラ症の場合は眼内液中にトキソカラ由来DNAの検出が可能であれば一つの解決策であると考え、スナネズミの実験動物モデルでの応用性を検討した。その結果、眼内に虫体が確認された4個体中、1個体のみでLAMP陽性に留まり、感度の点で方法論上の問題があることが示された。

感染2週のスナネズミ眼内液



D. 結論

ヒトの動物由来蠕虫感染の発生動向を把握し、エビデンスに基づくリスク評価と医療対応を可能とするためのシステム整備を行った。幼虫移行症は今日の社会背景に則れば増加が予想されるが、一般にヒトの幼虫移行症を把握する技術が未整備である事に加えて、国内都市部の生活環境ではトキソカラ症や広東住血線虫症の感染リスク低くないことが確認された。また、トキソカラ症についてはネコの関与が確認されたことから、今後は獣医領域との連携がより重要になると考えられた。トキソカラ症の免疫診断は未だ標準化が未整備であり、今後医療機関での簡便な対応を考えれば、特別な生物試料を用いる必要のない遺伝子診断技術の開発が必要であり、今回検討した PCR や LAMP 法の応用による技術開発とその応用が望まれる。

E. 健康危険情報

該当せず

F. 研究発表

論文発表

Jin Z, Akao N, Nobuta T, Ohta N. An improved method for recovery of muscle-stage larvae from mice infected with *Toxocara canis*. *J Parasitol*, 94:1164-1165, 2008.

Jin Z, Akao N, Ohta N. Prolactin evokes lactational transmission of larvae in mice infected with *Toxocara canis*. *Parasitol Int*, 57:495-498, 2008.

Chen R, Lu S, Lou D, Lin A, Zeng X,

Ding Z, Wen L, Ohta N, Wang J, Fu C. Evaluation of a rapid ELISA technique for detection of circulating antigens of *Toxoplasma gondii*. *Micobiol Immunol*, 52:180-187, 2008.

太田伸生 国内問題としての Neglected Diseases. *Clinical Parasitology*, 19:17-20, 2008.

学会発表

赤尾信明、宇城麻子、秋山隆志、太田伸生：眼トキソカラ症における眼内液中特異抗体の診断的意義-51 症例の解析 第 77 回日本寄生虫学会大会、2008 年 4 月 長崎市

N Akao, F Saruta, A Ushiro, R. Shimogawara-Furushima, N Ohta: Spiruroid larva migrans: A unique and mysterious parasitosis in Japan, 17th International Congress of Tropical Medicine and Malaria, September 2008, Jeju, Korea.

堂前裕一、熊谷 貴、赤尾信明、太田伸生：LAMP 法を用いた眼内液からのイヌ回虫幼虫 DNA の検出。第 68 回日本寄生虫学会東日本大会、2008 年 10 月、浜松市

K. Macuhova、熊谷 貴、堂前裕一、赤尾信明、太田伸生：砂場を汚染する動物由来回虫卵の LAMP 法を用いた種の同定。同上

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
------	--------	-----------	-----	------	-----	-----	-----

該当なし

雑誌

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
JinZ, Akao N, Nobuta T, Ohta N.	An improved method for recovery of muscle-stage larvae from mice infected with <i>Toxocara canis</i> .	Journal of Parasitology	94	1164-1165	2008
Jin Z, Akao N, Ohta N.	Prolactin evokes lactational transmission of larvae in mice infected with <i>Toxocara canis</i> .	Parasitology International	57	495-498	2008
Chen R, Lu S, Lou D, Lin A, Zeng X, Ding Z, Wen L, Ohta N, Wang J, Fu C.	Evaluation of a rapid ELISA technique for detection of circulating antigens of <i>Toxoplasma gondii</i> .	Microbiology and Immunology	52	180-187	2008
太田伸生	国内問題としての Neglected diseases	Clinical Parasitology	19	17-20	2008

動物由来感染症コントロール法の確立に関する研究

14. ミニブタ感染モデルを用いた住血吸虫ワクチンの開発研究

長崎大学・熱帯医学研究所・免疫遺伝学
平山 謙二

研究要旨

住血吸虫症は中間宿主の淡水産巻貝から放出される感染型幼虫(セルカリア)の経皮感染によって引き起こされるぜん虫感染症で中国揚子江流域、フィリピンなどに分布する日本住血吸虫症とアフリカ、中南米に分布するマンソン住血吸虫症が重要である。本研究では放射線照射セルカリア感染によるワクチン効果が確かめられたミニブタの血清中の特異抗体に反応する日本住血吸虫卵及び虫体由来の抗原の同定を行い、新しいワクチン候補の探索を行った。虫卵及び虫体の可溶性抗原分画を二次元液体クロマトグラフィシステム(2D-PF, BECKMAN Coulter 社)で分画し、抗体の反応性が認められる分画蛋白から、感染防御に関わるワクチン候補分子として、虫卵ステージ以外でも発現が確認できた AAW27472.1、AXX25883.1、AAW27690.1 の3つの候補分子を得た。これらの候補分子の組み換え蛋白で、マウスを免疫し抗血清を作成し培養ソーミユラ幼虫での発現部位について解析を行ったところ、AAW27472.1、AXX25883.1 はソーミユラ表面に発現していることが推察された。さらに、候補分子のワクチン効果を判定するための予備実験として、候補分子を pcDNA/V5/GW/D-TOPO (Invitrogen) に挿入し DNA ワクチンを作成しワクチン効果を判定した。陰性対象群 (Empty plasmid DNA) と比較した結果、AAW27690.1 と AAW27472.1 には、この結果感染防御効果が認められなかったが、AXX25883.1 は 27%程度の回収虫体数の減少が認められた。

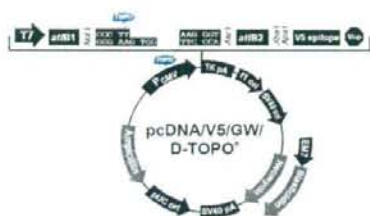
A. 研究目的

日本住血吸虫症はマンソンヤビルハルツ住血吸虫とは異なり、ヒト以外の終宿主となる動物種が多数存在する。ヒトの感染がよくコントロールされている中国やフィリピンにおいても水牛、家豚、犬などが汚染地域における流行を維持していることから、動物を対象としたワクチン開発への期待は大きい。これまでに、有効なワクチンが開発されていないが、ガンマ線照射処理を施した不活化感染型幼虫セルカリアワクチンにより感染防御免疫が成立することが知られているが、応用面では事実上不可能である。そこで、この不活化ワクチンの効果を再現するようなワクチン分子を同定することをミニブタによる住血吸虫感染モデルを用いた家畜向けワクチンの開発を行い住血吸虫感染のコントロールに寄与することを目的として本研究を推進した。

B. 研究方法

放射線照射セルカリア感染によるワクチン効果が確かめられたミニブタの血清中の

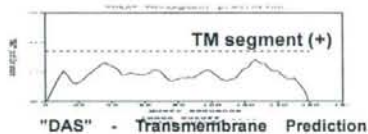
特異抗体に反応する住血吸虫抗原分画を同定し、新規ワクチン候補分子を虫卵及び虫体の可溶性抗原分画を二次元液体クロマトグラフィシステム (2D-PF, BECKMAN Coulter 社) で分画し、抗体の反応性が認められる分画蛋白から、感染防御に関わるワクチン候補分子として 4 分画の配列を決定し、相同性検索の結果と分子量、アミノ酸配列から想定される蛋白の等電点 (pI) の情報を元に 4 候補分子を決定した。これらの候補分子の虫卵、幼虫、成虫の各ステージにおける発現を確認し、虫卵ステージ以外でも発現が確認できた AAW27472.1、AXX25883.1、AAW27690.1 について組み換え蛋白を作成した。これらの候補分子の組み換え蛋白質で、マウスを免疫し抗血清を作成し培養ソーミユラ幼虫での発現部位について解析を行った。さらに、これらの候補分子のワクチン効果を判定するための予備実験として、候補分子を pcDNA/V5/GW/D-TOPO (Invitrogen) に



挿入し DNA ワクチンを作成し、Balb/C マウス (1 群 13 匹) に 3 回免疫後、血中抗体価を確認し日本住血吸虫セルカリアを 40 隻感染させた。感染後 6 週目に灌流し、成虫虫体を回収しワクチン効果を判定した。

C. 結果

新たなワクチン候補蛋白のうち、AAW27472.1 は 23% 程度の日本住血吸虫のカテプシン B・エンドペプチターゼ、26% の Manson 住血吸虫のカテプシン B との相同性が認められた。AXX25883.1 は similar to syntaxin と 83%、Glutathion S-transferase (GST) と 23% の相同性(図 1)を、AAW27690.1 は Dehydrogenase subunit 1 と 46% の相同性を示すことが確認された。



Homology search

SJCHGC06025 protein :similar to syntaxin" (83%)
GST28_SCHJA :Glutathione S-transferase (35%)

図 1. AAX25883.1 の蛋白キャラクター解析

組み換え蛋白免疫マウス抗血清による培養ゾーミュラ幼虫での発現部位について解析を行ったところ、AAW27472.1、AXX25883.1 はゾーミュラ表面に発現して

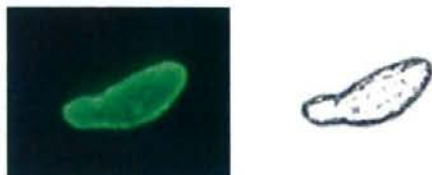


図 2. マウス抗血清を用いた AAX25883.1 の発現局在の解析

いることが推察された (図 2)。

DNA ワクチンによる免疫後、日本住血吸虫セルカリアを 40 隻感染させた結果、陰性対象群 (Empty plasmid DNA) と比較した結果、AAW27690.1 と AAW27472.1 には、感染防御効果が認められなかったが、AXX25883.1 は 27% 程度の回収虫体数の減少が認められた (図 3)。

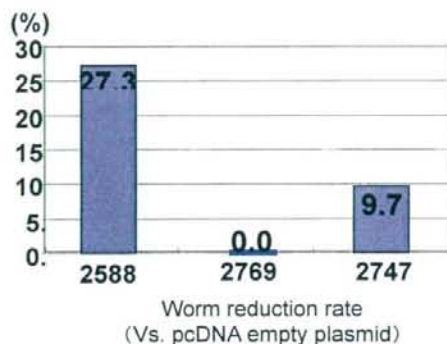


図 3. PcDNA plasmid を用いたマウスでのワクチン効果判定

D. 考察

放射線照射セルカリア感染によるワクチン効果が確かめられたミニプタの血清中の特異抗体に反応する住血吸虫抗原原画による新規ワクチン候補の探索は、ある程度の成果を得ることができたが、候補分子としてピックアップされた候補分子は決して多くはなかった。日本住血吸虫ゲノムプロジェクトが公開されれば、アミノ酸シーケンスによる一致率もあがり、本方法によりさらに多くの候補分子を得ることができると期待している。

今後、候補蛋白分子については組み換え蛋白を大量発現させた上で、特異的抗体を作成するなどの方法を用いて、候補蛋白の局在を含めた機能等について詳細な検討を行う。また、ミニプタを用いて候補蛋白の感染防御ワクチンとしての効果判定を行い、同様の結果が得られれば、ワクチン候補蛋白 AXX25883.1 の示した感染防御応答性と、放射線照射セルカリアの感染によって誘導された防御免疫応答性との相異性について解析を行うことにより、感染防御機序についての解明が期待できる。さらに、アジュバンド効果によるワクチン効果の増強などについて

て検討を行い、感染防御ワクチンとしての実現化を目指して研究を推進する。

E. 結論

放射線照射セルカリア感染によるワクチン効果が確かめられたミニブタの血清中の特異抗体に反応する日本住血吸虫卵及び虫体由来の抗原の同定を行い、新しいワクチン候補の探索を行い、マウスでのDNAワクチン実験で防御反応を示す新規ワクチン候補分子としてAXX25883.1を同定した。

G. 研究発表

1. 論文発表

和文論文

平山謙二. 糸状虫症 (フィラリア症); Today's Therapy 2008 今日の治療指針 Ed by: 山口徹, 北原光夫, 福井次矢 p.190, 医学書院, 2008年

英文論文

Yu C, Yin X., Kikuchi M., Hirayama K, Zhu Y. Isolation of the cDNAs encoding secreted and membrane binding proteins from egg of *Schistosoma japonicum* (Chinese strain), Acta Parasitol. 53(1): 110-114 2008.

Nguyen TPL, Kikuchi M, Vu TQH, Vu TTN, Hoang ND, Do QH, Tran TT, Vo T, Cao N, Tran D, Oyama T, Morita K, Yasunami M, Hirayama K. Protective and Enhancing HLA-alleles, HLA-DRB1*0901 and HLA-A*24, for Severe Forms of Dengue Fever, Dengue Hemorrhagic Fever and Dengue Shock Syndrome. PLoS Neglected Tropical Diseases. Volume 2 (10), e304, 2008.

Abdel-Hafeez EH, Kikuchi M, Watanabe K, Ito T, Yu C, Chen H, Nara T, Arakawa T, Aoki Y, Hirayama K. Proteome approach for identification of Schistosomiasis japonica vaccine candidate antigen. Parasitology International. in press, 2009

2. 学会発表

Hamed Abdel-Hafeez E, 菊池三穂子、渡部幹次、伊藤 敬、平山謙二. 新規日本住血吸虫症感染防御ワクチン候補分子の探索. 第77回日本寄生虫学会大会、2008

年4月3-4日、長崎ブリックホール、長崎県

原国哲也、菊池三穂子、奈良武士、宮田健、平山謙二、新川武. 日本住血吸虫パラミオシン抗原を用いた粘膜ワクチンに関する研究 第77回日本寄生虫学会大会、2008年4月3日-4日、長崎ブリックホール、長崎県

Abdel-Hafeez EH, Kikuchi M, Watanabe K, Ito T, Nara T, Arakawa T, Yu C, Chen H, Aoki Y, Hirayama K. Proteome approach for identification of protective vaccine candidate antigens for Schistosoma japonicum infection. ICTM2008, International Congress for Tropical Medicine and Malaria. September 29 ~ October 3, 2008, International Convention Center Jeju, Jeju island, Korea

菊池三穂子、エクラス・ハメド・ハーフィス、渡部幹次、伊藤敬、奈良武司、平山謙二. 日本住血吸虫の放射線照射セルカリアに誘導される感染防御機構の解析—新規ワクチン候補分子の解析— 第7回分子寄生虫・マラリアフォーラム 2008年10月10-11日、松山市男女共同参画推進センター、愛媛

菊池三穂子、エクラス・ハメド・ハーフィス、渡部幹次、伊藤敬、奈良武司、平山謙二. プロテオーム解析による日本住血吸虫症感染防御ワクチン候補分子の探索 第61回 寄生虫学会 南日本支部大会 11月1-2日、沖縄産業支援センター、沖縄

菊池三穂子、余伝心、陳紅根、平山謙二. 日本住血吸虫のゲノム解析—何が何処までわかる?— 第2回蠕虫研究会 2008年11月7-8日、サンマルク宮崎、宮崎

Kikuchi M, Watanabe K, Abdel-Hafeez EH, Boamah D, Chen H, Yu C, Hirayama K. Analysis of protective immunity induced by gamma-irradiated cercaria immunization with *Schistosoma japonicum* infection in miniature pigs. US-Japan Cooperative Medical Science Program. January 7-8, 2009, National Institute of Health, Tokyo

平成 20 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）
「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

15. 蠕虫類の疫学に関する研究

研究分担者	杉山 広	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	梅原梓里	国立感染症研究所寄生動物部
同	船津丸貞幸	佐賀県衛生薬業センター微生物課
同	平野敬之	佐賀県衛生薬業センター微生物課
同	吉川 亮	長崎県環境保健研究センター研究部保健科
同	川上 泰	麻布大学生命・環境科学部
同	田邊将信	慶応大学医学部
同	伊藤 誠	愛知医科大学医学部

研究要旨： 吸虫，条虫，線虫という多様な動物種から構成される蠕虫は，時に動物だけではなく人を宿主に寄生し，思いがけない病害を与える事がある。この様な寄生蠕虫の例として，今年度も継続して肺吸虫とアニサキスを取り上げ，コントロール法の確立を模索した。まず肺吸虫については，発生状況調査において有用なツールとなる免疫学的・分子生物学的手法の開発を試みた。輸入症例の発生が危惧される肺吸虫種については，流行地のタイの研究者に協力を仰ぎ，現地でウェステルマン肺吸虫材料を入手し，種の同定・鑑別と系統関係の解析に取り組んだ。アニサキスに関しては，人体症例の感染源の特定に向けた検討を進めた。

1. 肺吸虫症に関する研究

1-1. 佐賀県猟友会員を対象としたウェステルマン肺吸虫症に関連した調査研究

A. 研究目的

感染源が淡水産のカニではなく，イノシシ肉であるウェステルマン肺吸虫症の事例は，1970年代に九州の南部で世界に先駆けて発見された。以降も特に西日本の各地から，集団感染例を含めて多くの事例が報告されている。そこで昨年度は，イノシシ肉の摂食機会が多いと聞いたハ

ンターを対象として，肺吸虫症の発生実態とイノシシ肉の生食状況との関連を明らかにすべく，社団法人・佐賀県猟友会の会員に協力を仰ぎ，質問票調査と尿検査（尿中抗体価の計測）を実施した。その結果，315名から質問票および尿検体の提供を受け，その内の44名（14.0%）にイノシシ肉の生食歴がある事を明らかにした。一方，尿中抗体の陽性者は4名（1.3%）であった。しかしながら相関関係の解析の結果，イノシシ肉の生食歴と抗体の検出状況（陽性者）

とのあいだには、正の相関を認めなかった。むしろ抗体陽性者はいずれも、イノシシ肉の生食を強く否定し、肺吸虫感染に原因するような症状も全く認めなかった。肺吸虫に感染しても、約2割の者には、明らかな臨床症状がないとの報告もあるが、これとの一致を疑わせた。

尿中抗体陽性者4名に関し、血清を用いた抗体測定が重要と考えていたところ、この4名のうち、2名の主治医からそれぞれ、彼らの血液(血清)が我々に送付され、血中抗体の測定が依頼された。この依頼検査の機会を利用して、以下の検討を実施した。

B. 研究方法

血中抗体価の測定には、ウェステルマン肺吸虫の抽出粗抗原とヒトIgGに対する抗血清を用いたマイクロELISAを行ない、吸光度で力価を表示した。なお、陽性対象者の吸光度(平均)は0.856、陰性対象者の吸光度(平均)は0.046を示した。

血中抗体が陽性と判定された者には、駆虫薬ブラジカンテルが処方された(体重1kg・1日あたり75mgを分3にして3日間連続して経口服薬)。投薬後3ヶ月に再度血清を採取し、抗体価の推移を調べた。

C. 研究結果

まず尿で陽性とした#1(尿中抗体価:26.0、尿中抗体価は7.0をカットオフ値とした)は、血清の吸光度が0.083に留まり、感染が否定された。一方、尿で陽性とした#2(尿中抗体価:87.0)は、血清の吸光度が0.423と高く、感染が肯定された。この#2については、ブラジカンテルで駆虫が行なわれた。その3ヶ月後に採取された血清の抗体価を測定したところ(依頼検査)、吸光度は0.369と漸減していた。

D. 考察

尿を用いた寄生虫症の検査は、既に住血吸虫症、フィラリア症およびリーシュマニア症に適用されており、感染の有無を判定する方法として極めて優れている事が明らかにされてきた(次項1-2を参照)。従来の血清診断と比べ、

検体を非侵襲的に採取できることから、個人の診断のみならず、大規模疫学調査での応用が期待されている。ただし、肺吸虫の感染の有無を判定する方法としては、適用されてからの時間が短く、少数症例での検証に留まっている。昨年度の調査で見出された尿検査陽性4名のうち、2名の血液材料が、それぞれの主治医から依頼検査の検体として送付された。これを用いて尿と血清の両検査法を比較・検討する機会を今回得た。検査の結果、1例は血清も陽性である事が確認された。しかし尿抗体価が極めて低い他の1例は、血清は陰性と判定され、尿を用いた診断法との間に不一致を見た。尿診断法の精度向上には、肺吸虫感染が明らかな材料を数多く用いた検討が必要がある。肺吸虫症患者が多い中国・インドにおいて、現在、血清材料・尿材料を同時に採集・パネル化し、尿診断法の改良に取り組む予定を立てている。

E. 結論

佐賀県猟友会員を対象としたウェステルマン肺吸虫症に関する調査を通じて、尿を用いた肺吸虫症診断法の有用性を確認し、また今後の検討課題を明らかにした。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 坂本晃子, 増本久人, 平野敏之, 船津丸貞幸, 池添博士, 天草 務, 杉元昌志, 松崎祐己, 森田満雄, 山中和貴, 川上 泰, 杉山 広, 森嶋康之, 川中正憲. ウェステルマン肺吸虫による食中毒事例について: 発生概要と原因に関する疫学調査. 食品衛生研究, 58:39-42, 2008

2. 学会発表

なし

1-2. 肺吸虫症を始めとする動物由来感染症などの疫学調査に資する尿診断法の開発・検討

A. 研究目的

体からの情報を得る手段が少なかった時代には、毎日の糞便や尿は健康状態をあらわす格好の材料であった。尿の色、匂い、濁りなどは、古くから病気の診断に用いられ、レンブラントの弟子のヘーラルト・ダウ（17世紀）は、特製のフラスコに入れられた尿を観察している医師を描いている。種々の物質の検出技術が進んだ現在では、尿はさらに優れた検査材料となっており、糖、タンパク質、潜血、クレアチニン、ビリルビン、ケトン体などが、一片の試験紙で検査できるまでになっている。一般的に健常人では尿中にはタンパク質は排泄されないとされているが、実際には血液中のタンパク質成分が微量ながら尿中に出て来ている。これを利用して感染症が診断できないか、検討してきた。

感染症の診断には病原体の検出がもっとも確実な方法であるが、病原体によっては常に検出できるとは限らず、検出に煩雑な手技が必要となる場合もある。それをカバーするために、血液を検体としてその中に病原体由来の抗原や、病原体に対する宿主免疫応答の結果としての抗体を検出する方法が開発され、種々の診断キットが市販されている。これらは個々人の検査には適している。しかし特定の感染症の疫学調査、特に途上国における調査の場合、検査のための血液採取には、

- (1) それなりのスタッフが必要である
- (2) 被検者に少なからずの侵襲性が伴う
- (3) 血液を介しての医療事故の危険性がある
- (4) 住民にその感染症による健康被害の意識が低い場合には協力が得にくい

などの問題点がある。これらを解消する手段として、我々は尿を検体とする検査法の開発を進めてきた。尿中にも、血液中に比べれば数千分の一と量は少ないが、十分に検出できる抗体が含まれている。しかも採取は非侵襲的で手軽にできる。我々は尿を使った簡便な検査法の開発に努め、既に以下の成績を得た。寄生虫の種類別に簡単に触れてみたい。

[1] 日本住血吸虫症：本症は極めて重要な動物由来寄生性蠕虫症である。日本からは撲滅されたが、アジアにはいまだに多くの感染者がいる。

中国湖南省で行った調査で、尿中に日本住血吸虫抗原に対するIgG抗体が検出でき、尿が血液に代わる検体となり得る事を報告した (Itoh M et al., 2003: Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, 34: 469-472)。

[2] リンパ系フィラリア症：リンパ系フィラリア症は世界中で約1億人が感染しており、WHOが2020年までに、集団治療によってこの感染症をeliminateするプログラムを実施中である。従来の診断法である夜間に採取した血液中にマイクロフィラリアを検出する検査方法は感度が低いため、プログラムの早い段階で陽性率が低くなり検出が難しくなってしまうこと、夜間採血に労力が必要であることなどから、プログラムの評価には向いていない。このため血清中にフィラリア由来の抗原やそれに対する宿主抗体を検出する方法がプログラムの評価に有効とされている。スリランカでの調査研究から、尿中にフィラリア抗原に対するIgG4抗体が検出でき、尿がリンパ系フィラリア症の疫学調査に使えることを示した (Itoh M et al., 1999; Trop. Med. Int. Health, 4: 207-210)。スリランカにおいては本症が若年層に流行が続き (Weerasooriya, M.V. et al., 2008)、また胎盤を通じて母親の抗体が移行する事を明らかにした (Weerasooriya, M.V. et al., 2008)。なお、イヌを固有の宿主とするフィラリアとして犬糸状虫が知られているが、本虫は人にも感染する動物由来寄生性蠕虫であり、本症に対する尿診断法の開発も重要な課題となる。

[3] 内臓リーシュマニア症：内臓リーシュマニア症はアジアではバングラデシュ、インド、ネパールにまたがる流行地があり、治療しないと致死率の高い原虫症である。確定診断は脾臓生検材料や骨髄穿刺材料中に原虫を見つけることであるが、どこでもできるわけではなく、市販されている血清中のリーシュマニア抗原に対する抗体を検出するキットの結果と臨床症状によって診断を下すのが一般的である。バングラデシュでの調査研究から、患者尿中には血清と同様にリーシュマニア原虫に対するIgG抗体が検出され、疫学調査に有効であることを示した (Islam, M.Z., Itoh, M. et al., 2002; Clin. Diagn. Lab. Immunol., 9: 789-794)。リコンビナント抗原を用いた診断法を確立し、その有用性を証明した (Islam, M.Z.

et al., 2008)。

[4] 肺吸虫症: この疾患は中間宿主である淡水産のカニやザリガニ、待機宿主であるイノシシの肉の生食などで感染するため、これらの食習慣のあるアジア、中南米に多い。肺結核と誤診されるケースもあるといわれるが、その実態は明らかではない。感染しても虫卵は検出されない場合が多いため、血清診断が診断に用いられている。食習慣が感染の原因となるために、そのような集団の検査が新たな流行地、患者の発見につながる。尿中には血液と同様に、肺吸虫抗原に対する IgG、IgG4 抗体が検出され、尿を使った疫学調査が可能である。

我々は昨年度、佐賀県の猟友会会員 315 名から尿検体の提供を受け、肺吸虫に対する尿中抗体陽性者 4 名 (1.3%) を検出した。今年度は、肺吸虫症の診断に適用する尿検査法の更なる精度向上を目的に、中国の肺吸虫流行地から提供を受けた尿検体を用いて検討を試みた。

B. 研究方法

中国浙江省 (ウェステルマン肺吸虫の流行地) の患者 13 名に由来する尿検体を今回の検討に用いた。患者は何れも、フロースルー免疫測定法 (DIGFA 法) による血清診断で、肺吸虫感染が証明されている。尿中抗体価の測定には、ウェステルマン肺吸虫の抽出粗抗原と IgG4 に対する抗血清を用いたマイクロ ELISA を行ない、吸光度をもとに力価換算した。

C. 研究結果

尿中抗体価と ELISA による血中抗体価 (吸光度) との間には高い相関関係を認め、血中抗体陽性者 (患者) 13 名のうち、12 名を尿診断法で肺吸虫感染が陽性と判定した。この尿検体を用いて、尿診断法の精度管理と測定条件の検討に取り組みつつある。

D. 考察

尿中には量は少ないものの、血液と同様に抗体が検出される。尿中への経路として、血液やリンパ液の混入や腎病変による血液タンパクの漏出などが考えられる。しかし、健康人でも微量ながら血液タンパク質は尿中にも出現してお

り、糸球体を通過したタンパク質が完全には再吸収されないのか、またはその後になんらかのルートで尿中に出るのか、不明な点が多い。多量に水分を取ったときには尿量が増加し、含まれる抗原や抗体は希釈されるので、クレアチニン量や総タンパク量を使った補正はより正確な値を得たい場合には有効であろう。しかし、尿中の抗体価の日内変動を調べると抗体価が数百分の一に減少することもあり、水分摂取による希釈だけでは説明しにくい場合もある。

尿中の微量な抗原あるいは抗体を検出するためには、高感度な検出系が必要である。プレート ELISA は時間がかかること、プレートリーダーが必要であることなどから、フィールドで使うためには感度の高い、より簡便な凝集反応やイムノクロマト法を利用した方法などの開発が必要である。動物由来感染症の診断への応用を目的に、これらの検討に広く取り組む予定である。

E. 結論

中国浙江省のウェステルマン肺吸虫症患者から得た尿を用いた検討を実施し、尿診断法の有用性を確認した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Islam, Z.M., **Itoh, M.**, Takagi, H., Islam, M.A.U., Ekram, S.A.R.M., Rahman, M.A., Takesue, A., Hashiguchi, Y., Kimura, E. Enzyme-linked immunosorbent assay to detect urinary antibody against recombinant rKRP42 antigen made from *Leishmania donovani* for the diagnosis of visceral leishmaniasis. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 79:599-604, 2008
2. Weerasooriya, M.V., Isogai, Y.,