

200829022A

厚生労働科学研究費補助金  
新興・再興感染症研究事業

慢性寄生虫感染症の侵入監視及びその健康管理体制の確立  
(H20-新興-一般-007)

平成 20 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 宮 平 靖

平成 21 (2009) 年 3 月

## 目次

I. 総括研究報告書	…	1
慢性寄生虫感染症の侵入監視及びその健康管理体制の確立 宮平靖		
II. 分担研究報告	…	240
1. シャーガス病感染制御手法の新規開発 宮平靖	…	243
2. マラリア感染制御手法の新規開発 宮平靖	…	247
3. 脳マラリア感染制御手法の新規開発 宮平靖	…	249
4. 慢性期シャーガス病の調査研究 竹内勤	…	252
5. 組織寄生虫症の免疫血清抗体検査 赤尾信明	…	257
6. 我が国に居住する外国人の慢性寄生虫症を念頭においた肝・胆の超音波検査 及び血清住血吸虫抗体の測定 大西健児	…	261
7. 慢性寄生虫症/原虫症の罹患状況調査とトキソプラズマ感染防御における STAT6 シグナルの役割の検討 高本雅哉	…	276
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	…	
IV. 研究成果の刊行物・別刷	…	

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

慢性寄生虫感染症の侵入監視及びその健康管理体制の確立

研究代表者 官平 靖 防衛医科大学校

研究要旨:急増する在留外国人の出身国では、国内では発生が無いまたは既に撲滅された感染症群が流行している可能性が高い。その中で、慢性感染する感染症群の国内侵入の可能性が指摘されているが詳細は明らかではない。本研究では慢性感染する寄生虫症/原虫症の在留外国人における罹患状況の把握とその監視体制の確立、迅速診断/治療法の開発や健康管理/教育体制の整備、地方自治体と協調し本健康事案に対するガイドライン作成を行い厚生労働行政に寄与することを目的とする。この目的の達成のために在留外国人の多い地方自治体をモデルケースに解析を推進している。手順としては、慢性感染する寄生虫症/原虫症に着目し、在留外国人の方々を対象に生活歴、家族歴、病歴調査を行い、続いて、出身地ごとに現地での上記寄生虫症/原虫症の流行現況に関し詳細な疫学データを収集する。対象者には、公式説明会の開催、戸別訪問等を通じて、調査研究の意義と必要性を十分な説明と十分な質疑応答を重ねることでインフォームド・コンセントの下に調査研究への参加協力を得ている。研究対象者に対する人権擁護上の配慮に努め、個人情報等の管理については遺漏の無きよう周知徹底を図り、個人情報の守秘義務の遵守を確認し進めている。このことを「同意書」を得ることで文書化して記録として保管し、倫理上問題とならぬよう細心の注意を払っている。検査項目としては、採血(抗体検査、DNA検査等)および検便、検尿(寄生虫卵、原虫嚢子等の検索)を実施しており、慢性寄生虫症/原虫症の罹患率を確定すると共に、必要に応じて超音波検査や心電図などの簡便な画像・機能検査も行って病態の把握にも努め、また対象者の受診意欲を刺激することにも努めて来ている。検便、検尿に関しては、古典的な診断手法がゴールド・スタンダードであると思われるが、血清を検体材料とする抗体検査、DNA検査に関しては、新規迅速診断手法の開発も視野に入れ、新たな技術革新を模索する。特に、シャーガス病、リーシュマニア症の血清学的診断法の信頼性は十分ではないことから、将来の献血用血液からのスクリーニングによる感染検体検出手法への応用も念頭に置き、感度、特異度ともに高い診断手法を開発する。また、新規治療法の開発研究については、既存薬剤療法の投与プロトコルの改良等結果重視の観点からアプローチし、一方、予防的/治療的免疫療法の開発研究については、マラリア、シャーガス病、リーシュマニア症等に対し、旧来の免疫療法の殻を打ち破るT細胞免疫応答の誘導手法に着目したアプローチで、感染制御手法の新規開発を目指している。

研究分担者

竹内 勤	慶應義塾大学医学部	教授
赤尾信明	東京医科歯科大学	准教授
大西健児	東京都立墨東病院	部長
高本雅哉	信州大学医学部	講師



## A. 研究目的

特別永住者を除く在留外国人は、平成19年末において170万人を超えた(参考資料1)。一般国民の隣人となった在留外国人の慢性感染症の罹患状況の調査、監視体制の確立、迅速診断/治療法の開発や健康管理/教育体制の整備、地方自治体と協調した本健康事案に対するガイドライン作成は、安全・安心な社会の形成のために必要不可欠である。日本は、世界の中でも感染症の大、中、小規模を問わず流行が少ない、極めて衛生的な国である。50、60年ほど前までは多くの乳幼児が下痢によって落命していた時代からはまさに隔世の感があると言ってよいであろう。しかし、この厚生労働行政の成功は逆に、日本の常識が世界の非常識、世界の常識が日本の非常識といった傾向を生み、多くの日本人はトリインフルエンザ等日本国土へ侵入する可能性の高い感染症のニュースにより、国外の感染症の動向を感じるだけである。専門家の間では周知のことであるが、多くの国々においては日本ではかつて存在したことが無い感染症、またはかつては流行していたが既に撲滅に成功した感染症が流行蔓延している。ある種の感染症は、検疫体制の強化により水際で日本への侵入を防ぎうるが、人的交流の拡大とともに人自身により持ち込まれる慢性感染症の実態の把握は困難である。本研究で調査対象とする寄生虫症/原虫症は慢性感染症を構成するひとつの疾

患群であり、外国人の急激な在留数の増加により国内へ持ち込まれている可能性が指摘されている。米国は移民の国家と言われるとおり世界中の多くの人々が永住を希望し、またそれを受け入れている国である。しかし、シャーガス病を例にとっても、献血時に本症を念頭に置いたスクリーニングテストが実施され始めたのはほんの最近に過ぎず、中南米からの移民増加により輸血、臓器移植を介した感染危険性の増大が議論されている(Kirchhoff LV, N.E.J.M., 329:639, 1993)。その実態を把握するために欠かさない大規模な調査研究に着手できない理由は不法就労者が多く、疾患の実態把握以前に在留外国人の実数すら把握できないという現状が影響しているものと考えられる。わが国でも不法就労者の問題は潜在的に大きな法的問題であり、本研究の遂行に当たっても重要な障壁となる可能性がある。このような法的問題が絡むことによって世界的に対策手法のあり方につき明快な統一見解の無い本健康事案に対し、代表的な慢性感染症である寄生虫症/原虫症を選び対策ガイドラインの作成までを目指す本研究を遂行は、先進的な結果を生む可能性があるだろう。さらに解析を行う研究者は上記、マラリア、シャーガス病、リーシュマニア症、土壌伝播寄生虫症、住血吸虫症の研究領域で広範な業績を残してきており、日本国内において急増する在留外国人の本疾患群への罹患状況の

把握からガイドライン作成までを一貫して解析遂行出来る研究組織であると自負している。疫学、行政、教育の側面からの解析に加えて、新規予防的/治療的免疫療法の開発研究にもエフォートを投入し、マラリア、シャーガス病、住血吸虫症等慢性疾患の対策手法としては最もコスト・エフェクティブなワクチン手法の開発を目指す統合的調査研究を行えるという特色を有している。

## B. 研究方法

B-1. 本研究の主要テーマである在留外国人の方々の慢性寄生虫症/原虫症の罹患状況の把握のため、着々と在留外国人対象健診を進めている。受診者獲得、研究推進に向けたアプローチとしては、以下の通りである。

### (1) 在留外国人の診察を行う医療機関を中心とする健診の実施。

在留外国人が多く在住する地域では、口コミで彼らが信頼し受診する医療機関が固定されていることがしばしば見受けられるという。在留外国人と本研究班との信頼関係の醸成が十分ではない現状では、信頼関係を既に構築している医療機関での健診は、本研究班への信頼獲得の上で有効であると推測された。神奈川県では、大和市の小林国際クリニック、小林米幸院長が適任の方であった。しかし、このアプローチの問題点は本研究の最終目的である本健康事案に対する

対策マニュアルを策定した上でそれをモデル自治体である神奈川県以外の他46都道府県へ配布し、在留外国人の慢性寄生虫感染症罹患状況の実態調査を行ううえで、在留外国人の信頼を勝ち得ている医療機関が存在しない地方自治体が存在しうることである。

### (2) キリスト教信仰在留外国人対象の、キリスト教会での健診実施。

キリスト教の教会は、各地方自治体にある程度存在することが期待できる。最初のトライアルでは、大和市のカトリック大和教会を健診場所として設定し健診を行った。教会では日本人牧師と信徒代表者と十分な話し合いを持ち、健診の目的と意義、期待される結果について納得いただくことに成功し、定期的に健診を実施することが可能となった。このアプローチは、後に藤沢教会、平塚教会においても実践された。

### (3) コミュニティー・リーダーを介した健診実施。

在留外国人のコミュニティーでは、異国下で助け合って生活している事例も多く、そのリーダーに健診実施の仲介の労を取っていただくことで受診者が獲得出来ると考えられた。このアプローチは、平塚教会でのポリビア人コミュニティー対象の健診においてその有効性が実証された。

### (4) 在留外国人への健康手帳の配布。

在留外国人の方々への本健康事案に関する教育啓蒙活動が重要であることは



言うまでもない。これら慢性寄生虫感染症の問題を、在留外国人の方々へ理解していただくことで、不測の感染拡大が予防できる可能性が高まるものと考えられる。この目的達成の一助として、研究班では「在留外国人の方々への健康手帳」(参考資料 2)を日本語、英語、スペイン語、中国語の 4ヶ国語で策定し、本健康事案の重要性と健診実施の目的、意義をわかりやすい言葉で説明し、さらに各慢性寄生虫感染症の実体を平易な言葉で解説を加えた。これを健診受診者へ無料で配布した。

#### (5) 特殊健診項目の選別。

在留外国人の方々の受診意欲を刺激するために、一般健診には通常含まれない特定の健診項目を加えることを考えた。この一例が、腹部超音波検査、胸部超音波検査の実施である。特に肝臓の超音波検査上での異常発見に努めることとした。この試みは、健診受診者らの受診意欲を高めたと思われる言動がしばしば聞かれたことから、有効であると考えられた。

#### (6) 神奈川県庁の訪問と職場健診への参加の可能性の協議。

行政側との共同作業によるマニュアル作成は、本健康事案の解決に向けて重要な情報になるものと考えられる。平成 19 年 12 月下旬に神奈川県庁を訪問し、関連すると思われる部署の方々とは本件に関し協議する機会を持った。この在留外国人の事案への行政側の参画は、彼ら

の警戒感を高め実質不可能との回答があった。職場健診への参加については、極めて悲観的であるとのことであった。しかし、職場健診参入の可能性を探る努力を重ねることを今後の課題とした。

B-2. 調査研究への同意を得られたの方々を対象に、出身国、出身地、出身地域での感染症情報、疾患特に感染症罹患歴、家族歴、現病歴等の情報収集に当たって行く。倫理上の問題を排除するために、調査研究への同意を得るため 4ヶ国語(日本語/英語/中国語/スペイン語)並書の説明文書(参考資料 3)と母国語の通訳の方同席のうえ、調査研究の主旨をご理解いただいたという同意書(参考資料 4)に御署名をいただいた。

B-3. 血清学的診断手法、DNA 診断法の遂行を目的とする採血、また寄生虫学的診断法の遂行を念頭に置いた検便、検尿を実施している。血液検体は、マラリア、トリパノソーマ等検査のために薄層塗抹標本、厚層塗抹標本を作製の後、残りの血液は血清分離の後、検査実施まで適切に凍結保存している。便、尿検体は、採取日または翌日までには速やかに検査を終了できるよう、迅速な作業遂行を原則としている。さらに、より多くの在留外国人の方々から検体を得ることが出来るように努めている。寄生虫/原虫の微量抗原、微量遺伝子の検出を念頭に置いた診断手技の実効性についてもあ

らゆる可能性を検討する。健診時には、健診票(参考資料 5)に各所見を記入し各検査および検体の収集を進めた。

検体回収で問題になったのは、糞便検体の入手である。検体郵送に関しては、食品衛生法で定める飲食店従業員の方々の糞便定期検査では郵送と言う手順を採用しており当初郵送による回収を考慮したが、時代の背景もあって感染可能性がある検体輸送に関しては厳しい制限が加えられるようになって来ており、議論が分かれたが郵送は不可能との結論に至った。したがって、事前に糞便採取容器を配布し、健診当日に持参いただく手順を採用したが、糞便検体の回収率は非常に低い割合に留まり、334名中147名の糞便検体提出に留まった。

B-4. 新規迅速診断手法の開発研究に関しては、血清学的免疫診断、DNA 診断手法等を改変、応用し、対象とする各寄生虫症/原虫症個々の疾患に対し推進して行く。

B-5. 新規治療手法の開発研究に関しては、免疫学的アプローチから計画を推進している。慢性感染症に対する対策手法としては、薬剤療法ももちろん重要ではあるが、コスト・エフェクティブなアプローチとしてはワクチン開発が最適であると考えられる。慢性感染症に対するワクチンとして予防ワクチンと治療ワクチンが

あり、各寄生虫症/原虫症に応じた戦術が重要となる。マラリアやシャーガス病に対してはT細胞免疫応答の誘導手法開発を念頭に置き、研究計画を構成し進めている。これら感染症は、細胞内寄生と言う性質上、感染制御の目的を達成する上で抗体応答誘導のみでは限界があると思われることから、新しい概念であるT細胞の免疫応答を予防的/治療的ワクチン手法へと応用することを目指している。

B-6. 在留外国人の方々が罹患する慢性寄生虫症/原虫症の監視体制の確立、健康管理/教育体制の整備に関しては、在留外国人の方々に4ヶ国語(日本語/英語/中国語/スペイン語)並書の健康管理手帳を独自に作成し配布(参考資料 2)しているが、さらに、在留外国人の方々のコミュニティーに複数人の健康管理を担当する主要協力者を募り、その方々を通じ新規転入者の慢性寄生虫症/原虫症罹患調査の遂行、転出先の情報収集等に力を注ぐ計画である。

B-7. 在留外国人の方々については、日本語/英語だけでなく出身地の言葉で書かれた感染症情報を入手し、それらを用いて積極的に啓蒙活動を行う。

B-8. 在留外国人のみならず、隣人である日本人を対象にした教育講演会を主催し、在留外国人数の増加に伴う先入



観の排除、不要な不安の払拭に努めて行く。

B-9. 平成21年度には、2年間の研究に基づいて本健康事案に対する対策ガイドラインを調査対象地方自治体の担当者らとともに作成し、その合理性、信頼度を調査した後に全国の他46都道府県へ配布する。

### C. 研究結果

C-1. 本研究の主要テーマである在留外国人の方々の慢性寄生虫症/原虫症の罹患状況の把握のため、在留外国人の方々の健康診断を実施した。平成19年12月23日に実施した健診では51名(男性17名、女性32名、不明2名)、平成20年1月6日の健診では63名(男性26名、女性29名、不明8名)の受診者があり、初年度の受診者総数は114名(男性43名、女性61名、不明10名)であった。年度が変わって平成20年6月1日の健診では43名(男性18名、女性24名、不明1名)、6月15日の健診では22名(男性11名、女性11名)、8月10日の健診では12名(男性2名、女性10名)、8月24日の健診では46名(男性20名、女性24名、不明2名)、9月7日の健診では97名(男性26名、女性53名、不明18名)の受診者があり、受診者総数は220名(男性77名、女性122名、不明21名)であった。2年間の総計は、334名

(男性120名、女性183名、不明31名)であった(参考資料6,7)。出身別の内訳は、中南米出身者126名(アルゼンチン5名(男2/女3)、コロンビア2名(男0/女2)、チリ1名(男0/女1)、ドミニカ2名(男2/女0)、ブラジル51名(男20/女31)、ペルー38名(男13/女24/不明1)、ボリビア26名(男12/女12/不明2)、メキシコ1名(男0/女1)、アジア出身者191名(韓国1名(男0/女1)、カンボジア1名(男0/女1)、スリランカ12名(男8/女0/不明4)、タイ18名(男5/女13)、日本11名(男6/女5)、フィリピン61名(男21/女40)、ベトナム87名(男24/女47/不明16)、その他の地域出身者17名(タンザニア1名(男1/女0)、ナイジェリア4名(男3/女0/不明1)、オーストラリア1名(男1/女0)、ニュージーランド1名(男1/女0)、イラン1名(男1/女0)、不明9名(男0/女2/不明7)である。この内、血液あるいは血清検体採取の採血応諾者306名、糞便検体提出者は147名であった(参考資料8)。受診者の性別、年齢、国籍、滞在期間などについては、表および図の通りである。(表1-18、図1-30)また、個人情報漏洩の問題が無い範囲内で各健診受診者の健診結果を掲載しておく(参考資料9,10)。採血応諾者は306名(男111/女172/不明23)であり、免疫学的血清診断陽性者はのべ90名であった。内訳は、抗内臓リーシュマニア症抗体陽性者2名(ベトナム国籍2名)、抗シャーガス病抗体陽性者1名



(ボリビア国籍 1 名)、抗トキソカラ症抗体陽性者 17 名(ベトナム国籍 6 名、フィリピン国籍 5 名、タイ国籍 3 名、ボリビア国籍 2 名、韓国国籍 1 名)、抗顎口虫症抗体陽性者 5 名(ボリビア国籍 3 名、フィリピン国籍 1 名、不明 1 名)、抗赤痢アメーバ症抗体陽性者 1 名(ベトナム国籍 1 名)、抗旋毛虫症抗体陽性者 1 名(ボリビア国籍 1 名)、抗住血吸虫症抗体陽性者 1 名(ナイジェリア国籍 1 名)、抗多包条虫症抗体陽性者 1 名(フィリピン国籍 1 名)、抗トキソプラズマ症抗体陽性者 61 名(ブラジル国籍 20 名、ボリビア国籍 20 名、ペルー国籍 9 名、コロンビア国籍 1 名、アルゼンチン国籍 1 名、ベトナム国籍 4 名、フィリピン国籍 2 名、日本国籍 1 名、ナイジェリア国籍 2 名、不明 1 名)であった。抗トキソプラズマ症抗体陽性者 61 名(検査は平成 20 年度のみ)を除けば、血清診断陽性者はのべ 29 名となり、在留外国人の約 10%の方々が寄生虫感染症を現症として罹患しているまたは既往として罹患していた可能性を示唆した。一方、糞便検体提出者は 147 名(男 54/女 80/不明 13)であり、糞便検査陽性者は 14 名(うち 1 名は、3 種寄生虫症混合感染)であった。内訳は、*Entamoeba* 属感染症(*E. histolytica* か *E. dispar* は未確定)陽性者 6 名(ブラジル国籍 3 名~うち 1 名は 3 種寄生虫症混合感染~、ペルー国籍 1 名、ボリビア国籍 1 名、ベトナム国籍 1 名~この 1 名は免疫学的血清診断でも陽性~)、ランブル鞭毛虫症陽性者

3 名(ブラジル国籍 1 名、ペルー国籍 1 名、ボリビア国籍 1 名)、クリプトスポリジウム症陽性者 6 名(ブラジル国籍 1 名、ベトナム国籍 5 名)、鉤虫症陽性者 1 名(フィリピン国籍 1 名)であった。糞便検査の結果も 147 名中 14 名が陽性と言うことで、免疫学的血清診断陽性者同様、在留外国人の約 10%の方々が寄生虫感染症を現症として罹患している可能性を示唆した。

健診結果とは別に浮かび上がった問題点としては、結果返却の際に結果を受け取りに来ない在留外国人の方々が 334 名の総受診者中 134 名も居たことである(参考資料 11)。この要因としては推測の域を出ないが、我々は不法在留者問題が関係していることを懸念している。在留外国人には不法就労という法的問題の可能性が常に絡んで来る。不法就労者の存在を知りえた場合には法的手続きを取らなければならない一方、法を前面に押し出した対応は在留外国人の警戒感を高め、受診者数の獲得が期待できなくなる可能性を招くと言う相矛盾する事案が存在している。本研究事案では、在留のための法的手続きを終えた方々では慢性寄生虫感染症に罹患している可能性は低く、むしろ不法就労者の方々にその罹患の可能性が高いと言う予測もあった。この相反する懸案を解決するために、各研究機関における研究開始前の倫理審査は厳しい議論が為されたが、ぎりぎりの在留条件で就労して

いる方々こそまさに本調査研究の対象とされるべきであることを確認し、法を露骨に前面に出した健診スタイルは極力避けるような方向で調整がついた。しかし、受診前の同意書署名の際には、住所、氏名、連絡先を尋ねるなどその大掛かりな書式から警戒感を抱いた方々も居るものと推測される。この点は、マニュアル作成の折に何らかの対応が必要になると考えられた。

C-2. 実験シャーガス病を用いた T 細胞免疫応答誘導手法(ワクチン手法)開発研究については、組換えウイルスベクターを用いた研究を推進して来た。用いた組換えウイルスベクターは、いずれも高度に弱毒化されたアデノウイルス(Ad)、ワクシニアウイルス(MVA)、インフルエンザウイルス(FLU)である。*T. cruzi* 由来 TSSA 抗原上に見出された CD8 陽性 T 細胞誘導配列にメチオニンを加えた配列である MANYNFTLV の配列より、組換え体を「MANY」と命名している。これら組換えウイルスベクター三種を組み合わせた免疫手法は、単独または二種免疫手法に比べて抗原特異的 CD8 陽性 T 細胞の誘導能が優れていた。三種免疫では、(1) FLUMANY 初回, AdMANY 二回, MVAMANY 終回免疫、(2) AdMANY 初回, FLUMANY 二回, MVAMANY 終回免疫は、(3) AdMANY 初回, MVAMANY 二回, FLUMANY 終回免疫に比較して、より高レベルの抗原

特異的 CD8 陽性 T 細胞分化を誘導することが明らかになった。また、(1)の免疫条件では(2)の免疫条件に比較して、より多くの IFN- $\gamma$  産生細胞を誘導することが明らかになった。そして、感染実験においても(1)の三種免疫手法は二種免疫手法に比べて、血中出现原虫数および生存マウス数においても、高い感染防御能を誘導した。

C-3. TSSA エピトープである H-2K<sup>b</sup> 拘束性 ANYNFTLV 配列、およびこの配列を GFP の C 末端に融合させたものを HSP70 プロモーターにより発現するコンストラクトを作製し、ネズミマラリア原虫である *P. yoelii* の DHFR 領域に相同組換えにより導入した。各組換えマラリア原虫はクローニング後、ゲノム DNA を抽出し *Bgl II* で切断後、サザンブロッティングにより組込み部位の確認を行った。さらに赤内型における増殖および致死株としての性質を保持していることも確認した。また、GFP 発現マラリア原虫については、赤血球内での GFP 発現および、血中原虫密度と GFP 発現率の相関も確認した。組換えマラリア原虫が TSSA エピトープを発現しているかを確認するために、各組換えマラリアを感染させたマウスより感染赤血球を分離し、これを粗抗原としてアジュバントと混合し、マウスの足蹠に皮下注射、二週後に膝下リンパ節を取り出し、TSSA エピトープ特異的 CD8T 細胞の誘導を IFN- $\gamma$  産生を指標として



ELISPOT アッセイにて検討した。さらに二度の特異抗原刺激による増殖誘導を行った。その結果、抗原特異的 CD8T 細胞が誘導されており、これらの組換えマラリア原虫が目的のエピトープを発現していることが確認された。次に各組換えマラリア原虫をマウスに感染させた後、血中原虫密度が 20-40 % になった時点でクロロキシン投与を行ない、治癒後に抗原特異的 CD8T が誘導されているかを同じく ELISPOT アッセイにより検討した。その結果、組換えマラリア感染によってもエピトープ特異的 CD8T が誘導されることが確認された。エピトープ特異的 CD8T 細胞をさらに効果的に誘導する目的で、組換えアデノウイルスと組換えワクシニアウイルスを用いた prime-boost 接種を行った。組換えアデノウイルス接種二週間後、組換えワクシニアウイルス接種三週間後に各組換えマラリア原虫を免疫マウスに感染させ、血中原虫密度および生存率について検討したところ、コントロールとなるエピトープを持たないマラリア原虫に感染したマウスに対し、TSSA エピトープ発現マラリア感染マウスにおいては血中原虫密度に有意差は認められなかったが、生存率の改善が認められた。

C-4. ネズミマラリア株の一つ、*P. berghei* ANKA を C57BL/6 マウスに感染させたときには、脳組織への血液成分の漏出が確認されたが、*P. berghei* NK65 を

C57BL/6 マウスに感染させた場合には、ほとんど漏出がみられなかった。このことから、ANKA 株の C57BL/6 マウスへの感染が脳マラリア発症のモデルとして有用であることが確認できた。

C-5. 南米からの移住者はブラジル人が 80% を占めるといわれるが、今回はブラジル人集団からは感染を示唆する者は検出されなかった。しかし、ボリビア人集団(1/26 名 3.8%)に抗体陽性者を検出した。その他の中南米諸国からの集団にも抗体陽性者は見出せなかった。迅速キットの開発については既存の検査キットと結果は略一致し、なおかつ献血現場で充分判定が可能なキットの試作が出来た。

C-6-1. 被検者の概要 : 平成 20 年度に実施した健診に参加した在留外国人は男性 77 名、女性 122 名、性別不明 21 名の合計 220 名であった。この内、血液あるいは血清の採取に同意して検体を採取し得たのは 107 名であった。受診者の性別、年齢、国籍、滞在期間などについては別途報告されるので、詳細はここでは記さない。

C-6-2. マラリア原虫抗原検査 : OptiMAL を用いてマラリア抗原検査を実施し得たのは今年度 151 検体であった。検査結果、1 名が OptiMAL で陽性を示した。しかし、pan-R Malaria Cassette (panbio 社)を用いた検査では陰性、熱

帯熱マラリア及び三日熱マラリア特異プライマーを用いた PCR 法でもマラリア原虫の存在は否定された。さらに、末梢血塗抹標本のギムザ染色でもマラリア原虫を検出することは出来ず、OptiMALでの陽性反応は疑陽性反応と判定した。

C-6-3. 血清寄生虫抗体スクリーニング検査 : ToxocaraCHEK の結果、抗体陽性と判定されたのは今年度 9 検体 (4.5%)、疑陽性 1 検体であった。dot-ELISA によるスクリーニング検査の結果、赤痢アメーバ抗体陽性者及び疑陽性者 23 名について、ToxoaraCHEK と同じ原理の元に作製したアメーバ抗体迅速検査キット (InstantAmoeba CHEK) をもちいた再検査では、1 名の抗体陽性者が見いだされた。

C-7-1. 肝疾患所見 : 超音波検査実施の肝・胆の異常所見として、脂肪肝、胆石が観察された。住血吸虫症で観察される網状や線維状の異常所見、アメーバ肝膿瘍やエキノコックス症でみられる低エコー域などの寄生虫疾患を示唆する異常所見は観察されなかった。国別・性別脂肪肝陽性者数では、ペルー、ナイジェリア、ニュージーランド、ベトナム、ブラジル出身者に脂肪肝が観察された。国別・性別胆石陽性者数では、ペルー、ベトナム出身者に胆石が観察された。いずれも無症候性の胆石保有者であった。国別・性別、脂肪肝と胆石合併者数として、1 人のベトナム出身の女性が確認さ

れた。この女性は無症状であった。

C-7-2. 住血吸虫に対する血清抗体測定 : 1 人の男性ナイジェリア人の血清でマンソン住血吸虫抗体が陽性であった。ELISA 値は 0.268 であった。この男性は肝・胆の超音波検査で脂肪肝がみられたが、慢性の住血吸虫症を示唆する異常所見はなく、かつ自覚症状もなかった。残りの 304 人の血清では、住血吸虫抗体は陰性であった。

C-8-1. 慢性寄生虫症/原虫症の罹患状況の調査 : 糞便検査陽性者は以下のとおりであった。なお寄生蠕虫卵陽性者は確認されなかった。

*Entamoeba* (*E. histolytica* か *dispar* は不明) : Brasil 3 名 (うち 1 名は Giardia+, Crypto+)、Peru 1 名、Bolivia 1 名、Viet nam 1 名 (血清診断でも陽性)。

Giardia : Brasil 1 名 (Entamoeba+, Crypto+)、Bolivia 1 名、Peru 1 名。

Cryptosporidium : Brasil 1 名 (Entamoeba+, Giardia+)、Viet nam 5 名。

ブラジル国籍の 1 名は 3 種の原虫に重複して感染していた。また、昨年ペルーに帰国した際に出身国で Giardia 症と診断され、治療を受け来日した 1 名については、下痢は治ってはいるものの多数の Giardia シストが見出された。

また、血清学的診断によるトキソプラズマ陽性者は 61 名であった、その国籍別



内訳は以下のとおりであった。  
ブラジル 20名、ポリビア 20名、ペルー 9名、コロンビア 1名、アルゼンチン 1名、ベトナム 4名、フィリピン 2名、日本 1名、ナイジェリア 2名、不明 1名。

C-8-2. 症例報告「長野県内の〇〇病院より紹介された、皮膚筋炎治療により糞線虫症を発症した在日外国人の1例」

(症例)53歳、男性

(現病歴)ブラジルサンパウロ内のソロカバまたはレジストロの近くの村出身、16年前に来日した。2004年頃から糖尿病にて当院内科に通院していた。2007年夏ごろから顔面、背中に皮疹が出現し、徐々に広がってきた。皮膚科受診し、顔面は脂漏性皮膚炎、上肢は乾燥性皮膚炎と診断された。2008年2月頃から易疲労感と下肢特に大腿部の筋肉痛を自覚しはじめた。食欲が低下し、体重が約10kg減少した。4月になり疲労感強くなり、トイレに行くのも困難になったため、精査加療目的で4/10入院となった。

(入院後経過)

入院時顔面、鼠径部、背中全面及び上腕部に掻痒を伴う暗紫色の皮疹あり、眼瞼周囲を中心とした浮腫、大腿部の把握痛が認められた。血液検査では汎血球減少、高CK血症、肝逸脱酵素の上昇が認められた。皮膚生検では血管周囲性のリンパ球浸潤が認められた。これらの所見から皮膚筋炎が最も疑われたため、悪性腫瘍の合併の有無の精査を行ったが、GIF、CF、造影CTにて悪性腫

瘍を示す所見は認められなかった。なおMRIでは筋力の低下の認められる部位に明らかな炎症を示す所見は認められず、筋生検は施行できなかった。ステロイド療法開始前に高ビリルビン血症、高度の黄疸が生じたため、造影CTにて認められていた慢性胆のう炎の増悪と考へ、SBT/CPZによる治療を行ったが効果が認められなかった。結局高ビリルビン血症の原因は皮膚筋炎に伴う肝細胞性障害による肝内胆汁鬱滞と考へてステロイド治療を開始した。ソルメドロール500mg点滴3日間の後、PSL80mgの内服に切り替えた。経過をみながら2週間毎にPSLを漸減したが、病勢の再燃はなく経過した。ステロイドによる耐糖能の低下に対してはインスリンを使用した。PSLを40mgまで減量し、7/3退院となった。

(退院後経過)

7/4に腹部膨満感と下痢を訴えて救急外来受診。その後も同症状で連日外来受診した。7/9Na<sup>+</sup>111mEq/lと低Na血症を認め再入院した。

(再入院後経過)

入院時38.8℃の発熱を認め、ホスミンの点滴を開始した。

7/10ベッドサイドで転倒、意識混濁状態になっているのを発見された。頭部CT施行し。右内包前脚部に長径17mmの淡い高濃度域を認め、急性期血腫の可能性があるので、ペルジピンで血圧のコントロールを行った。

7/11 3%塩化ナトリウム溶液によるNaの補正を開始した。Na;121 で呼びかけに対して小さな返事をするようになった。ホスミシンをスルペラゾンに変更した。

7/13 pO<sub>2</sub>;69.4, pCO<sub>2</sub>;21.1 発語あり。

7/14 HR;130-150/min で洞性頻脈を認めた。Na;146。呼びかけに開眼するも意味のある会話できず。Plt;29000, DIC score;4 点で FOY 開始。マスク5L pO<sub>2</sub>;52.9, pCO<sub>2</sub>;26.9。ソルメドロール1000mg 開始。抗生剤フィニバックスに変更。

7/15 マスク10LでもSpO<sub>2</sub><80%となり、深夜に挿管、ICU管理となる。呼吸器SIMV FiO<sub>2</sub>;80%、PEEP;12、VT;440mlでSpO<sub>2</sub>;99%。SRDSと考え、エラスポール開始。プレドパ2γで開始。

7/16 FiO<sub>2</sub>;60%でSpO<sub>2</sub>;99%

7/17 プレドパをハンブに変更。PSL80mgにする。泥状便多量でCDトキシシン(+)。バンコマイシン経管投与開始。フィニバックスをユナシンに変更。

7/18 β-D-グルカン;91.3pg/ml,カンジテック(-)。ベナンバックス、ジフルカン開始。

7/20 Plt;5000となり血小板20単位輸血。

7/21 FiO<sub>2</sub>;40%、PEEP;6 抗生剤をチエナムに変更。Hb;6.6で赤血球4単位輸血。

7/22 FiO<sub>2</sub>;35%までおとす。Na;127、ハンブ中止。ラシックス開始。

7/23 FiO<sub>2</sub>;30%、PEEP;6で抜管可能なレベルにまでなる。

喀痰細胞診から線虫多数みつか。培養により尾端にV字型の切れ込みが見られ、糞線虫症と診断される。

7/23 より ストロメクトール15mg投与(5日間)により軽快する。

C-8-3. トキソプラズマ感染防御におけるSTAT6シグナルの役割の検討：トキソプラズマ感染防御におけるSTAT6シグナルの役割をSTAT6ノックアウト(STAT6<sup>-/-</sup>)マウスと野生型(WT)マウスを用いて検討した。感染後28および56日目における脳内シスト数はWTマウスに比べSTAT6<sup>-/-</sup>マウスで有意に多かった。トキソプラズマ抗原刺激による感染STAT6<sup>-/-</sup>マウス脳脊髄液および脾臓中のCD8<sup>+</sup>T細胞からのIFN-γの産生はWTマウスCD8<sup>+</sup>T細胞より有意に低下していた。CD25発現や細胞傷害性について比較すると、STAT6<sup>-/-</sup>マウスのCD8<sup>+</sup>T細胞はWTマウスに比べ機能が低下していた。感染したWTマウスのCD8<sup>+</sup>T細胞をSTAT6<sup>-/-</sup>マウスに移入することにより脳内のシスト数は減少した。しかし、非感染WTマウスのCD8<sup>+</sup>T細胞をSTAT6<sup>-/-</sup>マウスに移入してもCD8<sup>+</sup>T細胞の活性化も脳内シスト数の減少も認められなかった。WTマウスより採取した脾Adherent cellをSTAT6<sup>-/-</sup>マウスに移入するとCD8<sup>+</sup>T細胞が活性化し、脳内シスト数も減少した。トキソプラズマ感染後の脾樹状細胞におけるCD86の発現やIL-12p40産生はSTAT6<sup>-/-</sup>マウスに比べWTマウスで有意に高かった。



これらの結果は、厚生労働省中間評価会議(平成21年2月19日)で要旨を発表した(参考資料12)。

#### D. 考察

D-1. 平成19年度、20年度の2年間の調査研究実施の結果、採血応諾者306名(男111/女172/不明23)のうちトキソプラズマ症を除いた免疫学的血清診断陽性者はのべ29名であり、約10%の方々が寄生虫感染症に現在罹患しているか、または過去に罹患既往があるということが推測された。また、糞便検体提出者147名中(男54/女80/不明13)、糞便検査陽性者は14名(うち1名は、3種寄生虫症混合感染)であり、やはり約10%の方々が寄生虫感染症に罹患していることが推察された。この両検査手法の陽性率は非常に似通った数値であることから、10%と言う数字はかなりの確度で実態を反映しているのではないだろうか。しかし、現代日本の社会基盤の整備状況を考慮すれば、大部分の寄生虫感染症は感染拡大を起こすとは考えにくい。感染拡大が潜在的に脅威となる寄生虫感染症は、輸血を介して拡大する可能性のある場合である。今回、一般健診で抗シャーガス病抗体陽性者が1名見出された事実を我々は重く受け止めている。中南米出身の移民が多い米国では、地域によっては5,400名の献血のうち1件の割合で抗シャーガス病抗体陽性検体が出ると

言われている(MMWR, 56(7), 141-143, 2007)。この事態を受けて、米国FDAは2006年12月にシャーガス病抗体検査試薬を正式に認可し、米国赤十字は献血検体のシャーガス病スクリーニングを2007年1月に開始した。このスクリーニングはまだ必須の検査項目には含まれてはいないものの、FDAが必須と判定する日は近いものと推測されている(MMWR, 56(7), 141-143, 2007)。米国の現状及び現在のわが国における中南米出身の在留外国人の急激な増加を鑑みれば、万一輸血感染事故が明らかになった場合には、輸血行政の大きな失態となることは可能性として十分に考えられる。我々のこの調査研究結果は、合理的な対応の選別の際に科学的議論の礎となるであろう。その他、ベトナム国籍の方2名に抗内臓リーシュマニア症抗体陽性者が見出されているが、これも輸血で感染拡大を起こす可能性があり、やはり輸血行政上の議論が不可欠となるであろう。

D-2. 実験シャーガス病モデルを用いた三種組換えウイルスベクター組合せ免疫手法は、従来知られてきた二種免疫原組合せ手法より抗原特異的CD8陽性T細胞誘導能に優れていた。感染実験においてもこの結論を支持する結果が得られ、新たなワクチン手法として注目される。

D-3. TSSA エピトープ発現組換えマラリ

ア原虫由来粗抗原を用いて免疫したマウスにおいて TSSA 抗原特異的 CD8T 細胞が誘導されていたことから、組換えマラリア原虫において TSSA エピトープが発現していることが確かめられた。また、原虫感染によっても抗原特異的 CD8T 細胞が誘導された。このことは、ナチュラルコースの感染によっても抗原特異的 CD8T 細胞が誘導されることを示している。

現在最も免疫誘導効率の高いワクチン手法である組換えアデノウイルスと組換えワクシニアウイルスを用いた prime-boost 接種を行った後、各組換えマラリア原虫を免疫マウスに感染させ、血中原虫密度および生存率について検討したところ、コントロールとなるエピトープを持たないマラリア原虫に感染したマウスに対し、TSSA エピトープ発現マラリア感染マウスにおいては血中原虫密度に有意差は認められなかったが、生存率の改善が認められた。MHC クラス I を持たない赤血球に感染するマラリア原虫に対してエピトープ特異的 CD8T 細胞が感染防御能を示す機構は明らかではないが、誘導されたエピトープ特異的 CD8T 細胞によって産生される IFN- $\gamma$  が感染赤血球を殺滅する可能性が考えられ、現在その機構の解析を行っている。

D-4. ネズミマラリア *P.berghei* ANKA 株の C57BL/6 マウスへの感染実験系にお

いて、TSSA 抗原特異的 CD8<sup>+</sup>T 細胞を予め静脈から移入したマウスに遺伝子改変マラリアを感染させ、CD8<sup>+</sup>T 細胞の機能を解析しつつある。

D-5. ポリビアは現在最もシャーガス病の感染対策が遅れている国である。ポリビアからの定住者は2%に過ぎないが、すでに全国医療機関からのシャーガス病除外診断検査依頼の集中している地域のラテンアメリカ人中心に調査を継続すれば、更に潜在感染者が検出されるはずである。開発途上の迅速抗体検査キットはスクリーニング用には十分な感度であり、献血現場で問診中に結果が出せると思われる。

D-6. 平成 20 年度は、研究初年度に於いて構築した健診システムと抗体検査方法をもちいて、インフォームドコンセントの得られた受診者を対象に、出来るだけ多数の在留外国人について、慢性寄生虫感染症の罹患状況を把握することを目的に検査を実施した。

マラリア感染の有無については迅速診断キット OptiMAL®で検査したところ 44 歳のペルー人がスクリーニング検査で陽性と判定された。しかし、pan-R Malaria Cassette を用いた再検査では抗原陰性と判定され、さらに、PCR 法によっても熱帯熱マラリア原虫と三日熱マラリア原虫 DNA は検出されなかった。OptiMAL はマラリア原虫が共通して持つ原虫性乳酸



脱水素酵素 (pLDH) を検出することにより原虫の有無を検査するが、pan-R Malaria Cassette はマalaria原虫が共通して持つアルドラーゼを検出する。このような測定原理の相違により疑陽性反応が見られることはしばしば経験されることであり、マalaria迅速診断キットを用いる場合には注意を要すると考えられた。

dot-ELISA による寄生虫抗体スクリーニング検査で、赤痢アメーバ抗体陽性者が202名中8名(4.0%)に見られた。また疑陽性者は15名(7.4%)であったが、より精度の高い迅速診断キットを用いた検査でも1名が抗体陽性と判定された。陽性と判定されたのは50歳のベトナム女性であった。今回実施した dot-ELISA の感度・特異性に関してはさらに検討すべき課題が残されている。抗体陽性検体についてのさらに詳細な検討システムの構築が次年度以降の検討課題だと考えられた。

D-7. 今回の超音波を用いた検査で、肝に寄生虫症を示唆する所見がある受診者はみられなかったが、一部の受診者で肥満あるいは栄養過多を示唆する脂肪肝や胆石が観察された。このことは、日本に居住する外国人においては、慢性寄生虫症のみならず、栄養過多や肥満対策が重要な健康対策であり、将来は適切な過栄養政策がより重要となることを示すものであろう。

住血吸虫に対する ELISA 法による血清

抗体の測定は普遍的に行われており、いわゆる特殊な検査ではない。しかし、本報告でみられるように、多量の血清抗体を測定するには優れた方法である。今回、肝・胆の超音波検査で慢性住血吸虫症を示唆する所見がなく、かつ、自覚症状もない1人で陽性となったことは、感染の疑いがある人を1次的に広く探索する目的のスクリーニング検査に適した方法であると考えられる。

D-8. *Entamoeba*、*Giardia*、*Cryptosporidium* は病原性のあるなしは別としていずれも感染源となるシスト・オーシストの陽性者が見出された。国により偏りがあるようにも思われるが、陽性者は受診者数の多いブラジル、ボリビア、ペルー、ベトナム国籍であった。したがって受診者数が増えるとこれらの感染症が流行している国より来日している人々の一定の割合は陽性者であると考えられる。

今年度は検診の時期が夏季であり、便検体が長時間高温にさらされた。また、鉤虫類の再検査のために便を冷蔵せず運搬・保管したため *Entamoeba* のシストの同定ができなかった。昨年度は鉤虫類の虫卵が見出されたが、便を低温で保存していたためろ紙培養ができなかった。便の回収方法および、回収後冷蔵と室温保存の2つに分けるなど工夫が必要である。

慢性感染症は、トキソプラズマ・糞線虫

のような日和見感染症をはじめ、症状がなくシストがほとんど見出されない日和見的な感染症も多い。今回の健診でも複数回の検査ではじめて陽性となった例もあり、検出感度の問題で陰性となっている例もあると思われる。

長野県での皮膚筋炎症例からもわかるように、外国人が長期間日本で生活することにより、ステロイド投与の必要な疾患を発症するケースも今後増加すると思われる。また、AIDSをはじめとする免疫力の低下する疾患を発症する場合、臓器移植のレシピエントやドナーとなる事もある。その際日本人患者では考慮に入られていない種々の日和見感染症が発症することが考えられるが、見落とされて大事に至るケースが起ころぬよう注意が必要である。今回の症例も発見が遅れば死に至ることも考えられたケースである。医療機関に向けて外国人患者の治療に際し日和見感染症に対する注意を呼びかける必要もあると考えられる。米国は移民の国家と言われるとおり世界中の多くの人々が永住を希望し、またそれを受け入れている国である。しかし、シャーガス病を例にとっても、献血時に本症を念頭に置いたスクリーニングテストは近年漸く実施され始めたばかりであり、中南米からの移民増加により輸血、臓器移植を介した感染危険性の増大が議論されている (Kirchhoff LV, N.E.J.M., 329:639, 1993)。本研究推進によって、世界的に見て対策手法のあり方につき

明快な統一見解の無い本健康事案に対し、代表的な慢性感染症である寄生虫症/原虫症を選び対策ガイドラインの作成までを目指すために、わが国がその先鞭を付けるべきであると思われる。

衛生基盤がしっかりと整備された現代の日本で、慢性寄生虫症/原虫症罹患者の流入が国内で再流行を引き起こす可能性は高くないと考えられるが、在留外国人の慢性感染症の罹患状況の調査、監視体制の確立は国民の先入観や根拠の無い不安の払拭に寄与し、健康管理/教育体制の整備は予測外の感染事例の可能性を未然に防ぎ、作成ガイドラインは本事案に対する先駆的な対策マニュアルとなる成果が期待される。また、輸血や臓器移植によって感染する可能性があるシャーガス病やマラリアなどに関して、国内において実態調査を行うとともに新規迅速診断技術を開発することは、安全な献血・輸血システムを確立するうえでも重要である。

## E. 結論

E-1. 衛生基盤がしっかりと整備された現代の日本で、慢性寄生虫症/原虫症罹患者の流入が国内で再流行を引き起こす可能性は輸血感染を除けば高くないと考えられるが、在留外国人の慢性感染症の罹患状況の調査、監視体制の確立は国民の先入観や根拠の無い不安の払拭に寄与し、健康管理/教育体制の整



備は予測外の感染事例の可能性を未然に防ぎ、作成ガイドラインは本事案に対する先駆的な対策マニュアルとなる成果が期待される。また、輸血や臓器移植によって感染する可能性があるシャーガス病やマラリアに関して、国内において実態調査を行うとともに新規迅速診断技術を開発することは、安全な献血・輸血システムを確立するうえでも重要であり、新規治療手法の開発研究は、研究資金の不足から遅滞している寄生虫症/原虫症の研究領域発展に寄与し、新規予防/治療的免疫療法の開発研究は、本領域に留まらない、ウイルス感染症、細菌感染症、腫瘍のような他領域の制御手法へと応用される成果が期待できる。

E-2. 平塚で行ったように、各地のラテンアメリカ人支援 NPO, NGO の実施するネットワークを通じシャーガス病検診呼びかけ啓発講演を行い、検査希望者についての *T. cruzi* 抗体検査を行うのが理想である。同時に日赤などで行う献血現場で実施する問診票の改訂にも及び抗体スクリーニング検査実施を提言すべきである。

E-3. 本年度の研究で、神奈川県下に在住する外国人 202 名を対象に血清寄生虫抗体スクリーニング検査並びに全血を用いたマラリア原虫検査を実施した。寄生虫抗体スクリーニング検査では赤痢アメーバ抗体陽性者が 1 名見られた。ま

た、トキソカラ抗体、顎口虫抗体、旋毛虫抗体陽性者も見いだされた。次年度以降、これらの抗体陽性者に対するフォローアップ検査体制の確立が必要と考えられた。

E-4. 主に神奈川県に居住する 187 人の外国人を対象に、慢性寄生虫症にみられる所見を念頭におき、肝・胆の超音波検査を行ったところ、7 人に脂肪肝、2 人に胆石、1 人に脂肪肝と胆石の合併が観察された。慢性寄生虫症を示唆する所見を呈した受診者は 0 人であった。日本に居住する外国人においても、今後は栄養過多対策の必要性が高まるであろう。一方、主に神奈川県に居住する外国人 305 人の血清を用い、ELISA 法で住血吸虫に対する抗体を測定したところ、肝・胆の超音波検査で慢性住血吸虫症を示唆する所見がなく、かつ、自覚症状のない 1 人のナイジェリア人でマンソン住血抗体が陽性であった。ELISA 法による抗体測定はスクリーニング法として有用な手法であろう。

E-5. (1) 慢性寄生虫症/原虫症の罹患状況の調査：在日外国人の慢性寄生虫症/原虫症の罹患状況の調査をおこない、腸管寄生原虫症では *Entamoeba*、*Giardia*、*Cryptosporidium* 陽性者が見出された。出身国による偏りは見いだされなかった。また、血清学的検査によりトキソプラズマ感染者が多数見出された。

(2)トキソプラズマ感染防御における STAT6 シグナルの役割の検討 : STAT6 シグナルは抗原提示細胞の機能調節にもとづく CD8+ T 細胞の活性化に重要で、このことがトキソプラズマ感染後の脳内シスト形成の抑制に関与していると考えられる。本研究の結果により、STAT6 ノックアウトマウスでは CD8+ T 細胞の活性化が抑制されていることが明らかとなった。今後他の感染症研究において、STAT6 ノックアウトマウスをもちいることにより CD8+ T 細胞機能の重要性を明らかにすることができるかと予想される。

#### F. 健康危険情報

在日ボリビア人の抗体陽性者については本疾患、慢性感染キャリアーの可能性を強く示唆する者である。非発症者であるので、献血輸血の禁止など健康管理面での注意を喚起する必要がある。

#### G. 研究論文

1. Chagas 病に対する臨床医の対応と、日系人、非日系人との意識の差  
三浦左千夫;竹内勤;臨床寄生虫学会誌 19 巻-1 号、65~68 頁—2008

2. 赤尾信明, 太田伸生. 動物由来回虫症. SA Medicine. 2008;10(5):64-9.

3. 赤尾信明. イヌ回虫症. 化学療法の領域. 2008;24(9):1351-7.

4. 赤尾信明. ヒトのトキシカラ症と新しい動物モデル. 獣医寄生虫学雑誌. 2008;7(1):7-12.

5. Yoshikawa M, Ouji Y, Nishiofuku M, Moriya K, Kasahara K, Mikasa K-i, Mizuno Y, Ogawa S, Akao N. Visceral toxocariasis from regular consumption of raw cow liver. Internal Medicine. 2008;47:1289-90.

6. Yoshikawa M, Nishiofuku M, Moriya K, Ouji Y, Ishizaka S, Kasahara K, Mikasa K, Hirai T, Mizuno Y, Ogawa S, Maruyama H, Akao N. A familial case of visceral toxocariasis due to consumption of raw bovine liver. Parasitology International. 2008;57(4):525-9.

7. Maeda T, Yamada H, Akao N, Iga M, Endo T, Koibuchi T, Odawara T, Iwamoto A, Fujii T. Unusual radiological findings of Fasciola hepatica infection with a huge cystic and multilocular lesions. Internal Medicine. 2008;47:449-52.

8. Jin ZF, Akao N, Nobuta T, Ohta N. An improved method for recovery of muscle-stage larvae from mice infected with *Toxocara canis*. Journal of Parasitology. 2008;94(5):1164-5.