

表2 日本国内で報告された、虫体が発見されたトキソカラ症例

	患者	雑誌名	臨床診断	病変部位	幼虫確認	報告者
確診例	8歳女児	臨床眼科	左眼の網膜腫	網膜肉芽腫	摘出眼球 幼虫断端	吉岡 (1966)
	成人女性	Lancet	好酸球性肺炎	皮疹	皮膚生検 幼虫断端	Aragane ら (1999)
	成人女性	私信	不明	頸髄	頸髄生検 幼虫断端	大津市民病院 (2008)
疑診例	成人女性	臨床眼科	ぶどう膜炎	硝子体*	硝子体手術 摘出標本	伊集院ら (1999)
	成人女性	臨床寄生虫誌	ぶどう膜炎	硝子体*	硝子体手術 摘出標本	赤尾ら (2004)

*硝子体液中の犬回虫幼虫排泄物抗原に対する抗体陽性

の生食が犬回虫症のハイリスクであることが報告されている。近年、日本国内で報告される犬回虫症の大部分が犬・猫回虫の待機宿主となる獣肉や肝臓の生食が原因の「食品媒介寄生虫感染症」である。

疫学

国内でこれまでに幼虫が確実に検出された症例は表2に示すように3例である。このほかに、幼虫様の断端がみつきり、さらに抗体検査で犬回虫に対する特異抗体が検出された例が2例ある。いずれの症例も、幼虫の断端からだけでは犬回虫幼虫なのか猫回虫幼虫なのかを鑑別することはできない。しかし、どちらの回虫も *Toxocara* 属であることから、トキソカラ症として報告されることが多い。

幼虫様の断端がみつかった2例はいずれも眼型トキソカラ症といわれる病型を呈した症例で、治療を兼ねた硝子体手術時に採取された硝子体液中に、犬回虫幼虫排泄物に対する抗体が検出されている。このように、ヒトに寄生する犬回虫あるいは猫回虫の幼虫は体長が約400 μ mで体幅は約20 μ mと非常に小さく、病理組織学的検索で発見されることはまれである。それゆえ、幼虫が排泄する抗原物質に対してヒトが産生する抗体の有無を免疫学的手法により検査し診断に役立てている。

表3は、過去12年間に日本国内で報告されたトキソカラ症（および血清学的に豚回虫幼虫移行症などと診断された動物由来回虫症例を含む）と我々の研究室にトキソカラ抗体検査の依頼があった症例数を集計したものである。これによると、年間10例程度の症例が報告され、その4、5倍以上の患者がトキソカラ症を疑われ検査されていると推定される。

抗体検査に用いられる幼虫排泄物抗原は、子宮内虫卵を0.5%ホルマリン水に入れ、25℃の孵卵器内で2カ月以上経過した幼虫包蔵卵から幼虫のみを回収し、D-MEM培地で幼虫を無菌的に飼育して得られた培養上清を濃縮、

表3 過去12年間のトキソカラ症症例数と抗体検査依頼数

発表年	症例数 ¹	うち豚回虫幼虫が原因とされた症例	抗体検査依頼数 ²
2008	4	0	18
2007	5	0	24
2006	17	1	32
2005	11	0	39
2004	13	0	25
2003	25	3	35
2002	9	1	52
2001	6	2	70
2000	10	3	56
1999	10	0	61
1998	9	2	81
1997	10	3	36
合計	129	15	529

¹医学中央雑誌収録の論文に記載された症例数

²東京医科歯科大学に抗体検査依頼のあった症例数

凍結乾燥して作製している。幼虫はこの培養液の中で2年間は生存し、その間培養液中に代謝産物を排泄し続けている。これを犬回虫幼虫排泄物抗原 (larval excretory-secretory: LES) とよんでいる。この抗原は、成虫や幼虫から抽出した蛋白抗原に比べ特異性が高く、抗体検出に最も適した抗原であると言われている。

このLESを用いてトキソカラ症の血清疫学調査をはじめに行った報告によれば、臨床的に健康な83名のヒトの中で3名(3.6%)が抗体陽性と判定されたという。また、同じ研究者による別の報告では530名のうち20名(3.8%)でLESに対するIgG抗体が検出され、さらに犬

規模な疫学調査でも、一般住民の1.6%が抗体陽性者であるという結果が報告されている。これらの抗体陽性者は既感染あるいは潜伏感染者であろうと推測されている。

豚回虫幼虫移行症と診断された15例はいずれも南九州の養豚業のさかんな地域から報告されたものであるが、豚回虫幼虫が患者から直接検出された症例はなく、血清中の抗体価が犬回虫よりも高いことが唯一の診断根拠となっている。しかし、検査に使用された豚回虫の抗原がLESと同じようにして作製された幼虫の排泄物抗原ではなく、成虫由来の抽出蛋白質抗原であることから、豚回虫幼虫LESを用いた検討が必要であると思われる。

臨床症状・症例

ここからは犬・猫回虫症(トキソカラ症)に絞って述べる。トキソカラ症は幼虫が体内を移行してさまざまな病態を引き起こすが、便宜的に内臓型、眼型、神経型、潜伏型の4型に分類されることが多い。

1. 内臓型トキソカラ症

経口的に人体内に侵入した幼虫包蔵卵は胃液により卵殻周囲の蛋白質膜が薄くなり、次いで腸の蠕動運動の間に卵殻が破壊され、腸管腔内に幼虫が脱出する。その後幼虫は腸粘膜に侵入して、大部分の幼虫は血流に乗り門脈から肝臓に至る。一部の幼虫はリンパ管性に心臓に至り全身の筋肉に移行する。肝臓を通過した幼虫は肺から心臓を通過して大循環に乗り全身に散布される。

臨床症状の程度は侵入した幼虫の多寡や宿主側の免疫応答の程度に左右されるが、発熱、全身倦怠感、肝腫大、好酸球増多などの症状がみられ、さらに全身あるいは局所の皮疹やネフローゼ症候群、関節リウマチ様関節炎、血球食食症候群といった多彩な病態と合併することもある。

最近注目されているのは、鶏や牛といった犬回虫の待機宿主の筋肉や肝臓の生食による発症が挙げられる。Morimatsuらが報告した症例では、ニワトリの生肝を食べた親子(75歳と45歳)が3週間後に発熱と倦怠感、頭痛、呼吸困難を訴えて国立熊本病院呼吸器科に入院した⁸⁾。2人とも肺野に多発性小結節陰影がみられ、時間の経過とともに肺炎病巣が移動していったという。気管支洗浄液中に多数の好酸球がみられ、さらには血清のみならず気管支洗浄液中にもLESに特異的な抗体が検出され、トキソカラ症の診断が下された。父親は1年4カ月後にネフローゼ症候群を発症し、死亡の転帰をとった。45歳の息子はその後の血液検査でも好酸球増多が持続しており、引

き続き経過観察となっている。

2. 眼型トキソカラ症

米国の眼病理学の技術員であったWilder女史が1950年に、網膜芽腫の診断で摘出された46例の小児の眼球組織標本を数千枚作製して詳細に検査したところ、26眼(56.5%)から回虫幼虫の断端を発見した。後にこれが犬回虫幼虫のものであることが明らかになって以来、眼型トキソカラ症は小児に多い疾患であると考えられてきた。しかし、Yoshidaらの報告では38例の眼型トキソカラ症のうち34例(89%)は20歳以上の成人であった⁹⁾。過去12年間に我々の教室に抗体検査の依頼のあった529例の中で、年齢と性別の記載があった眼型トキソカラ症を疑われた134例について集計してみたところ、12歳以下の児童の占める割合は7例(10.4%)で、眼型トキソカラ症が小児に多い感染症ではないことを示していた。

犬回虫幼虫の網膜内の移行経路については血行性と神経行性の2通りが推測されてきたが、Hayashiらは眼型トキソカラ症の動物モデルであるスナネズミの大脳内に直接注入した幼虫が視神経を介して網膜内に出現することを見だし、脳内に移行した幼虫が眼型トキソカラ症を発症させることを報告した¹⁰⁾。

3. 神経型トキソカラ症

マウスやラットを使った実験から、犬回虫幼虫は容易に中枢神経系に移行し、脳内に移行した幼虫によって行動異常や迷路学習能力の低下が引き起こされることが知られている。ヒトを対象とした症例対照研究では犬回虫抗体陽性者で神経症状を呈する例はそれほど多くはない。Otaらは、21歳の女性で、発熱と前頭部痛、痙攣を認めた犬回虫幼虫が原因と考えられる好酸球性髄膜炎の1例を報告している¹¹⁾。この例では血清中のみならず脊髄液中にもLESに対する抗体が証明された。九州大学の吉良はこのような症例について「アトピー性脊髄炎」あるいは「寄生虫性脊髄炎」という新しい疾患概念を提唱し、LESに対するアレルギー反応によるものではないかと考えている。

しかし、大津市民病院長澤ら(2008)は最近、両肩、両上腕、両足底に痛みや知覚低下を自覚した30代の女性の脊髄生検組織内に犬回虫幼虫断端を見だし、幼虫が直接の原因となる脊髄炎が日本国内にも存在することを報告した。



図1 寒天ゲル内二重拡散法によるトキソカラ症患者血清と犬回虫幼虫排泄物抗原と他の寄生虫抗原との交叉反応

患者血清は犬回虫幼虫排泄物抗原と強く反応し(黄矢印)、豚回虫抗原とも弱く反応することがある(赤矢印)。しかし、その沈降線は犬回虫幼虫のそれとは融合せず、犬回虫のものとは異なった抗原性をもつことがわかる。

4. 潜伏型トキソカラ症

中程度の好酸球増多症があり腹痛、頭痛、倦怠感、発熱、貧血といった非特異的な症状をもつヒトで血清中のLESに対する抗体価が有意に高い場合を潜伏型トキソカラ症と分類している。喘息の既往症をもつヒトたちの中に潜伏型トキソカラ症の症状をもつヒトが多いことから、アレルギー疾患とトキソカラ症との間に相関があるのではないかと注目されている。

検査・診断

先にも述べたが、幼虫を直接検出することは困難なため、臨床的にトキソカラ症が疑われる症例ではLESを用いた抗体検査を行って感染の有無を間接的に証明する。通常行われている検査では、血清中のLES特異的IgG抗体を検出する方法が用いられているが、眼型トキソカラ症では特異的IgE抗体が病勢とよく一致すると報告されている。また、眼型トキソカラ症では硝子体液や前房水といった眼内液の中にIgG抗体が検出できれば確定診断に役立つ。

抗体検出にはplate-ELISA法やdot-ELISA法が比較的短時間で結果が得られるため頻用されている。しかし、短時間といってもいずれの方法も結果が得られるまでに2～3時間必要なことから、我々は検査に必要な時間がわずか3分程度でplate-ELISA法との相関も高い迅速診断キットを作製した。すでにいくつかの大学病院で実際に使用されている^{10,11)}。

検査に用いるLESは抗原特異性が高いと言われているが、やはり他の線虫類との間で交叉反応がみられる。そのため、より特異性の高い組換え抗原を用いたplate-ELISA法が試みられている。また、交叉反応の程度を定性的に判定するためには寒天ゲル内二重拡散法を用いている(図1)。我々はこれらの結果を総合してトキソカラ症の診断を下すようにしている。

治療・予防

血清抗体が陽性であっても他に自覚症状がない、いわゆる潜伏型トキソカラ症の場合には治療の必要はない。しかし、好酸球数の異常高値や活動性の感染が疑われる時には治療の対象となる。治療にはアルベンダゾール10～15mg/Kg/日、分2～3(1日分を2,3回に分けて投与)を4～8週間経口投与する。しかし、肝機能障害が高い頻度で出現するので、投薬期間中は注意深い観察が必要である。必要に応じてステロイド剤を併用する。アルベンダゾールは内臓型のみならず神経型トキソカラ症においても良好な治療効果が報告されている。

眼型トキソカラ症に対するアルベンダゾールの治療成績は一定していない。著効を示したという報告もあれば無効であったというものもある。眼型トキソカラ症の新しい動物モデルであるスナネズミを用いた我々の検討でも、眼内に出現した幼虫に対してアルベンダゾールは何ら効果を示さなかった。しかし、ステロイドの眼内注射は炎症を抑制した(未発表)。そのため、内臓型だけでなく、眼型トキソカラ症についても、駆虫薬はステロイドとともに投薬するのがよいとされている。また、網膜内を幼虫が飛行して黄斑部に病変が拡大すると急激な視力低下や失明に至ることがあるため、光凝固術や冷凍凝固術を考慮する。ぶどう膜炎が遷延した場合には硝子体手術が必要である。

トキソカラ症の予防には、ペットからの感染を防ぐために犬では子犬の時期における駆虫の徹底、猫では子猫のみならず成猫においても定期的な糞便検査と駆虫が必要である。さらに、子供の砂場遊びの後や食事の前の手洗い励行も効果的である。また、現実的には難しいが生肉や内臓の生食を中止することによって食品からの感染を未然に防止することができる。

■参考文献■

1. 齋藤哲郎, 橋口正大, 鳥谷和子, 他 (2004): 2002 年度福山市内の飼育犬及び飼育猫の内部寄生虫感染状況. 獣医畜産新報, 57: 11-14.
2. Uga, S., Matsumura, T., Aoki, N., et al. (1989): Prevalence of *Toxocara* species eggs in the sandpits of public parks in Hyogo Prefecture, Japan. *Jpn J Parasitol*, 38: 280-284.
3. 内田明彦, 川上泰 (1995): 犬・猫回虫の新しい感染ルート. 第 54 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 東京, 434.
4. Wolfe, A., Wright, I. P. (2003): Human toxocarosis and direct contact with dogs. *Vet. Rec*, 152: 419-422.
5. Taira, K., Saeed, I., Lind, P., et al. (2003): Population dynamics of *Toxocara canis* in pigs receiving a single or multiple infection. *Parasitology*, 127: 593-602.
6. Morimatsu, Y., Akao, N., Akiyoshi, H., et al. (2006): Case Reports: A familial case of visceral larva migrans after ingestion of raw chicken livers: The specific antibody in bronchoalveolar lavage fluid. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 75: 303-306.
7. Yoshida, M., Shirao, Y., Asai, H., et al. (1999): A retrospective study of ocular toxocarosis in Japan: correlation with antibody prevalence and ophthalmological findings of patients with uveitis. *J. Helminthol*, 73: 357-361.
8. Hayashi, E., Akao, N., Fujita, K. (2003): Evidence for the involvement of the optic nerve as a migration route for larvae in ocular toxocarosis of Mongolian gerbils. *J. Helminthol*, 77: 311-315.
9. Ota, S., Komiyama, A., Johkura, K., et al. (1994): Eosinophilic meningo-encephalo-myelitis due to *Toxocara canis*. *Rinsho Shinkeigaku*, 34: 1148-1152 (in Japanese).
10. Akao, N., ChuAlbert, E., Tsukidate, S., et al. (1997) A rapid and sensitive screening kit for the detection of anti-*Toxocara* larval ES antigens. In: *Parasitology International*: 189-195.
11. Dubinsky, P., Akao, N., Reiterova, K., et al. (2000): Comparison of the sensitive screening kit with two ELISA sets for detection of anti-*Toxocara* antibodies. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 31: 394-398.

臨床検査に必要な 寄生虫感染症の知識

東京医科歯科大学大学院准教授 国際環境寄生虫病学分野

赤尾信明

糞便検査は必要か？

わが国では寄生虫感染症がなくなってしまい、もはや臨床検査技師にとって寄生虫に関する知識は必要ないと考えている人はいないだろうか。寄生虫卵の検査依頼があった時には外注に出してしまっていないだろうか。マラリア原虫のようにみえるけれど、自信がない。寄生虫について身近に相談する人もいないので、できれば自分では検査はしたくない。そんな人はいないだろうか。

図1は、東京都予防医学協会が2007年に発行した年報に掲載されていたデータをもとに作成した、1949年からの寄生虫検査依頼数と陽性率の推移を示したものである。これをみると、寄生虫に感染している人の割合は1968年に1%を割り、検

査数も1974年には前年と比べて1/3に激減している。これは1973年に学校保健法が改正され、中学生の寄生虫検査の義務化が廃止されたことによる影響が大きいと推測される¹⁾。この法律が制定された背景には、寄生虫感染者の長期減少傾向があつたことだと思われる。そして、とうとう2002年以降は糞便検査さえ行われなくなってしまった。もはや東京では、寄生虫に感染している人数を知るすべはなくなってしまったのである。それでも、2000年には2,110件の検査を行い0.09%の陽性者、すなわち20名の糞便内に何らかの虫卵を発見したことを年報は語っている。

この20名という数字が、衛生観念の発達した現在の日本社会において、多いか少ないかはさて

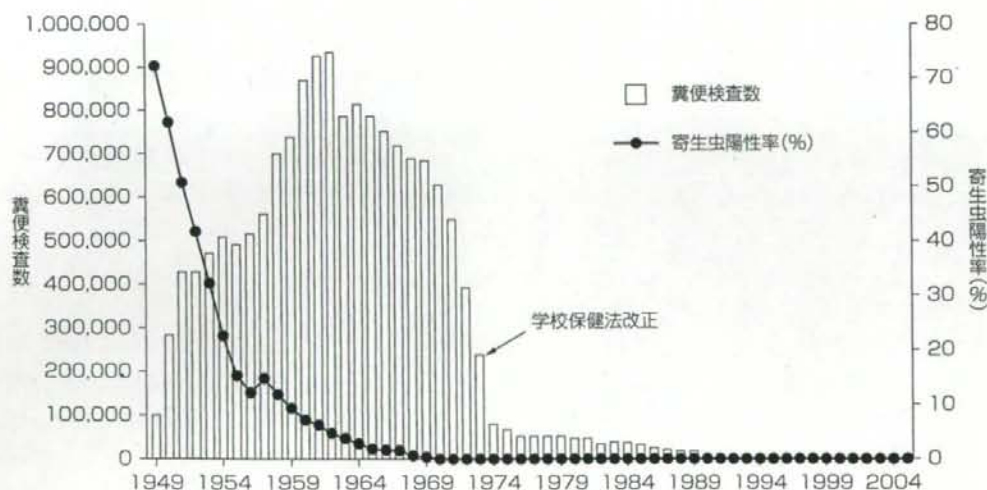


図1 東京都予防医学協会に依頼のあった寄生虫検査成績¹⁾

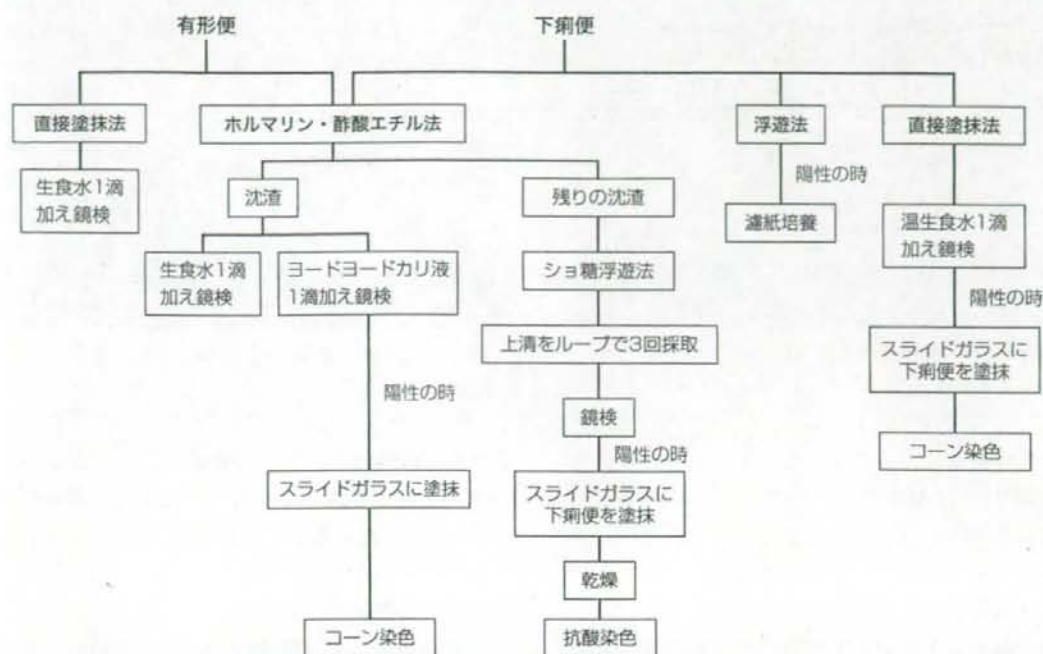


図 2 当分野で実施している糞便検査要領

において、この人達が何かの病気になって病院を訪れた時に、主治医が「糞便の寄生虫検査をしよう」と考えたとしたら、その検体があなたのところにやってきたかもしれない。

海外へ出かける日本人は年間 1,700 万人をこえている。出かける先も世界中にわたっている。これらの国中には、いまだ寄生虫感染症が猖獗を極めていところがたくさんある。また、航空機を使えば地球の反対側からも 24 時間以内で日本に戻ることができる。寄生虫を媒介する蚊やダニが飛行機によって密入国する機会などいくらでもありそうである。さらにまた、海外からは短期旅行者だけでなく、長期間滞在する在留外国人の方も 150 万人以上にのぼっているといわれている。日本ではもはやみられなくなった寄生虫に感染している人がいるかもしれない。

寄生虫感染症の診断の基本は、寄生虫それ自身

をみつけて同定することである。寄生虫はウイルスや細菌と違って虫卵を産む。感染するとヒトは、寄生虫に対して抗体を産生する。もちろん、産卵などしない原虫や抗体産生が悪い寄生虫感染症もある。何事にも例外はあるが、いずれにしても、ムシ自体をみつける以外に、寄生虫感染症では虫卵をみつけたり感染の間接的な証拠である抗体を検出したりすることによって診断していくことになる。

臨床検査技師にとって必要な寄生虫感染症の知識とは何か？

医学の他の分野と同様、寄生虫学の分野でも 10 年前の教科書と最新のものとを比べてみると、その内容の変化に驚かれると思う。これまでなかった寄生虫（旋尾線虫や *Entamoeba dispar*、日本海裂頭条虫など）や寄生虫ではなく真菌ではな

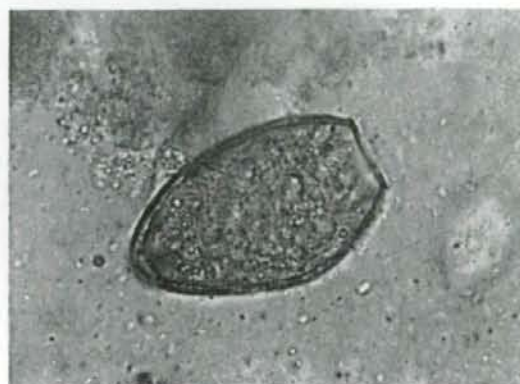


図3 胸水の沈渣からみつかったウエステルマン肺吸虫卵



図4 粘血便の患者からみつかった赤痢アメーバ栄養型

いかといわれるようになってきたニューモシスチス、Wolbachia やレジオネラ菌のように寄生虫の中に共生あるいは寄生する細菌が病原性に深くかかわっているなど、旧来の知識のままでは正しい判断すらできない状況になってきている。

臨床検査技師にとって必要最低限の寄生虫感染症の知識とは、個々の寄生虫の生活史や形態、感染経路を覚えることも必要だろうが、それよりも目の前にある検体からどのようにして正しい情報を引き出すか、そのためには何を、何が、必要なかを体系づけて理解しておくことだと考えている。

糞便検査を依頼されたらどうするか？

糞便にもいろいろ形状がある。ウサギのような硬い糞便、白い便、水のような便、粘液の混じった便、チョコレート色をした便などである。このようにいろいろな便の性状や色を呈するには病態生理学的な必然性がある。図2に、虫卵検査を依頼された時に私達が実施している検査方法をあげておく。

肺吸虫症を例にあげて考えてみよう。肺吸虫の感染は、第二中間宿主に寄生しているメタセルカリアの経口摂取によって起こる。第二中間宿主になるものとしては、サワガニやモクズガニ、アメリカザリガニがある。冬場の味覚として珍重され

る上海ガニはモクズガニの仲間で、上海ガニのええ酒漬けを食べて感染した例が国内でも報告されている²⁾。メタセルカリアを摂取後、2カ月ほど経過すると肺症状が出現する。

肺吸虫の疑いがある患者さんの検査の依頼があり、糞便が届いた。直接塗抹法では虫卵が見つからない。集卵法の一つであるホルマリン・酢酸・チル（遠心沈殿）法で集卵を行ってみた。しかし虫卵はみつからない。どうしたらよいだろう。「虫卵は陰性」と検査結果を返すだけではいけない。喀痰や、もしも胸水貯留があるのなら、それも検査する必要がある。喀痰の検査では粘液溶解剤を加えて遠心する。胸水は、そのまま遠心して鏡すると虫卵が見つかることがある（図3）。それも何もみつからない時はどうすればよいのだろうか。次章をお読みいただきたい。

もう一つ例をあげておく。アメーバ赤痢の症が猛烈な勢いで増えてきている。1999年に感染法が改正され、赤痢アメーバ症が全数把握の五感染症に指定されてから2005年までの統計をしても、患者数は1999年の278名から698名と2.5倍の増加が報告されている。赤痢アメーバでは、いわゆる粘血便をみる腸アメーバ症と、臓に膿瘍を形成する肝アメーバ症が多くみられる。

粘血便の中に生きた赤痢アメーバの栄養型を見つけ出すためには、検体をできるだけ早く検査

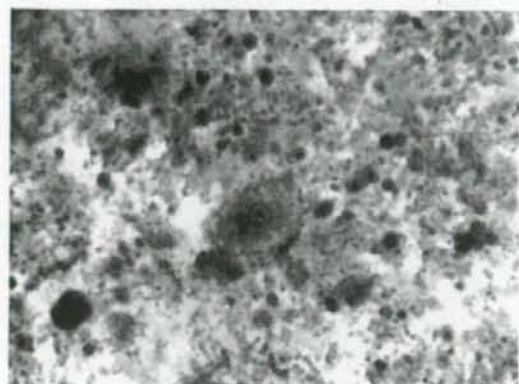


図5 図4の検体のコーン染色標本

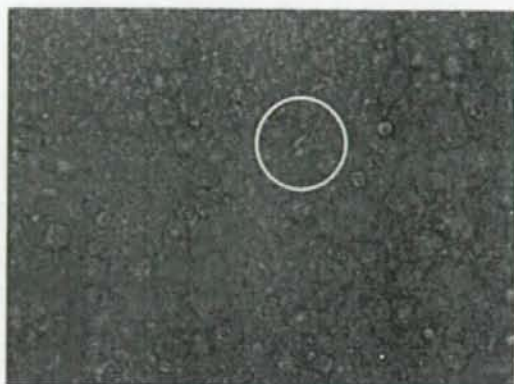


図6 肝アメーバ症患者の膿瘍液からみつかったシャルコライデン結晶(円内)

なければならない。それができない時には、「人肌」に温めながら検体を検査室まで運んでもらうように依頼する。そして、今度はホルマリン・酢酸エチル法ではなく、粘血便を爪楊枝などですくい取り、温めた生理食塩水をのせたスライドガラスの上のせて鏡検する。この時、400倍の倍率で、あまり急いで視野を動かさずゆっくりとみている。赤痢アメーバの栄養型は運動能をもっているが、ランブル鞭毛虫の栄養型に比べてその動きは緩慢で、あまり早く視野を動かさないと見逃してしまう。動くアメーバの中に赤血球をみつけることができれば、それが病原性をもつ赤痢アメーバの栄養型である(図4)。

後日の確認のためにも、スライドガラスに粘血便を薄く塗抹して、コーン染色を施して永久標本を作っておく必要がある(図5)。肝膿瘍液も同じように検査するが、栄養型がみつからない場合でもシャルコライデン結晶がみつかる場合がある(図6)。このような時には赤痢アメーバ症の疑いが非常に高いので、慎重に検査をしなければならない。

糞便検査が役に立たない寄生虫感染症

糞便検査がまったく役に立たない寄生虫感染症もある。ヒト本来の寄生虫にもかかわらず糞便内に虫卵が出てこない旋毛虫症や、組織侵入性のあ

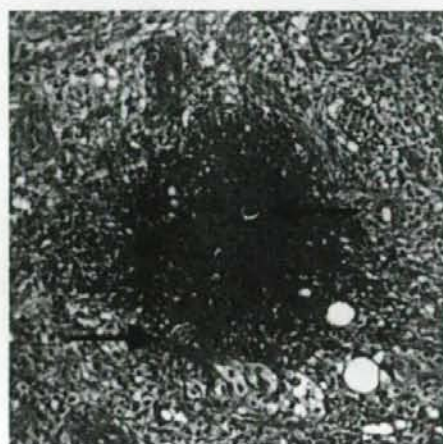


図7 トキソカラ症患者の皮膚痒疹の生検で発見されたイヌ回虫幼虫断端(矢印)

る寄生虫である。とくに、動物由来の蠕虫類寄生虫がヒトに感染した場合には、ヒトの身体の中では成熟することができないので、決して虫卵はみつからない。肺吸虫症や赤痢アメーバ症も、虫卵や栄養型がみつからない場合がある。その時は、血清中の抗体検査を行って感染の有無を推測する。しかし、寄生虫感染症の抗体検査はあくまでも補助的な診断であるということを常に念頭におく必要があり、あまり結果を重要視しすぎると思わぬ失敗をすることがある。マラリアやフィラリアなどの一部の寄生虫感染症については、血液中の抗原を検出できるキットも市販されている。

寄生虫感染症の抗体検査でもっとも大切なのは、抗体検出に使った抗原が特異性の高いものかどうかという点である。たとえばイヌ・ネコ回虫症では、原因となるイヌやネコの回虫の幼虫が400×20 μ mと非常に小さいので、病理組織検査で発見するのはよほど運のよい場合に限られる(図7)。そのため、しばしば血清抗体検査が行われるが、使用する抗原が成虫由来の虫体抗原では、他の寄生虫抗原との間で非特異反応が強く出てしまう。ヒトの身体に侵入している形である幼虫の排泄物を抗原とした検査では、このような反応を低くおさえることができる³⁾。

■ 経験と知識の伝承—寄生虫の輪

寄生虫卵や原虫などは、一度でもみたことがあるれば自信をもって同定することができると思う。しかし、今まで一度もみたことがないものを同定するのはむずかしいものである。研究会や講習会に積極的に参加して、寄生虫感染症の「トレンド」を把握することも大切である。他人のもっている知識を自分のものにするのと同時に、自分の経験を積極的に公開してゆくことは、正しい診断のもとに治療の開始を待ち望んでいる患者さんにとっても利益になることだと思う。

あなたの身近に寄生虫感染症に精通した人を見つけないことができなくても大丈夫です。日本寄生虫学会では、医療専門家からの質問に答えるシステムを学会ホームページ(<http://jsp.tm.nagasaki-u.ac.jp/>)に開設しています。これまでに寄せられた質問のなかでよくあるものについてはすでに公開が始まっており、また、これまでに寄せられたすべての質問とそれに対する回答は、データベース化してもうすぐ公開される予定です。さらに、ご自身で経験された寄生虫に関する質問についても随時受け付けていますので、ぜひ利用してみてください。

臨床検査技師の資格を得る前の学生時代、寄生虫卵をはじめ顕微鏡でみた時に「美しい」とひそかに思った人であれば、誰もが「寄生虫の輪」に加わることができると思う。

文献

- 1) 東京都予防医学協会検査研究センター：寄生虫検査(学校保健分野)の実施成績。東京都予防医学協会年報 第36号。東京都予防医学協会, 2007.
- 2) 杉山 広, 森嶋康之, 荒川京子, 他：平成16年秋に集団発生した肺吸虫による食中毒事例—原因の寄生虫学的精査—。臨床寄生虫学雑誌, 17(1): 63-66, 2006.
- 3) Akao, N., Ohta, N.: Toxocariasis in Japan. *Parasitol. Int.*, 56 (2): 87-93, 2007.

* * *

末梢血におけるマラリア原虫の検出

おおともひろし あかおのぶあき
大友弘士*1・赤尾信明*2

新しい知見

最近の遺伝子工学の進歩により、ポリメラーゼ連鎖反応(polymerase chain reaction, PCR)法による病因原虫特異遺伝子の検出も可能になったが、医療機関を問わずいつでもできる検査法ではない。その点、本稿で述べる抗原検出法は特別な装置や顕微鏡を必要とせず、簡便性、再現性、迅速性が高いものである。特異抗原に対するモノクローナル抗体が帯状にコーティングされた濾紙(ディップスティック)に少量の末梢全血をしみこませると、陽性検体ではモノクローナル抗体の位置に赤い線が出現する。HRP(histidine-rich protein)-2 検出系が熱帯熱マラリア原虫の診断にやや優れているが、稀に高度の虫血症を呈する患者でも偽陰性を示すことがあるので注意を要する。また、原虫性乳酸脱水素酵素(parasite lactate dehydrogenase, pLDH)検出系も補助診断として有用性が高い。いずれも、流行地滞在中の発熱時の自己診断にも利用でき、有効なスタンバイ治療の可否を判断することも可能である。

用語解説

マラリア

夜間吸血性の雌ハマダラカに媒介される熱発作、貧血、脾腫のほか、悪性の熱帯熱マラリアでは治療の遅延により脳症、肺水腫/急性呼吸窮迫症候群(acute respiratory distress syndrome, ARDS)、急性腎不全、重症貧血、アシドーシスなどを発現する熱帯病で、年間2億人以上が感染し、200万人以上が死亡すると推定されている。わが国では熱帯地からの輸入症例が毎年100例前後あり、熱帯熱マラリアによる死亡例も散発している。なお、マラリアは感染症法の四類感染症に分類されており、診断したらただちに届出の義務が課せられている。

赤血球の原虫感染率

三日熱マラリア原虫と卵形マラリア原虫は幼若赤血球にの

み侵入し、その最大感染率は2%以下、四日熱マラリア原虫は老熟赤血球に侵入し、その感染率は通常1%を超えない。しかし、熱帯熱マラリア原虫は赤血球の日齢に関係なく侵入し、無治療のまま放置された場合は原虫の赤血球感染率が50%を超えることがある。

輸血マラリア

マラリアはハマダラカの刺咬のほか、感染血輸血によっても感染する。この場合、赤血球内無性原虫がただちに増殖するため、肝細胞内発育環は形成されない。わが国では1935年の第1例以来77例の発生があり、1983～1991年には全血ではなく成分(血小板)輸血による感染も5例確認されているので注意を要する。

はじめに

マラリア(malaria)の診断は今日でも末梢血塗抹ギムザ染色(Giemsa stain)標本を光学顕微鏡で鏡検し病因原虫を検出するのが標準法である。しかし、正確な検査結果を得るには、人体に感染する4種マラリア原虫の生活史、検査手技、血中への原虫の出現時期、同定に必要な赤血球内発育環の形態学的特徴などに精通しておくことが必要で

ある。

マラリアの感染

自然界では雌の感染ハマダラカの吸血時にその唾液腺からスポロゾイト(sporozoite)が注入されて感染する。このスポロゾイトは1時間以内に肝細胞に侵入、そこで発育増殖して赤外型分裂体(シゾン、schizont)になるが、この時期の発育

*1 東京医科歯科大学大学院国際環境寄生虫病学分野・非常勤講師 *2 同・准教授

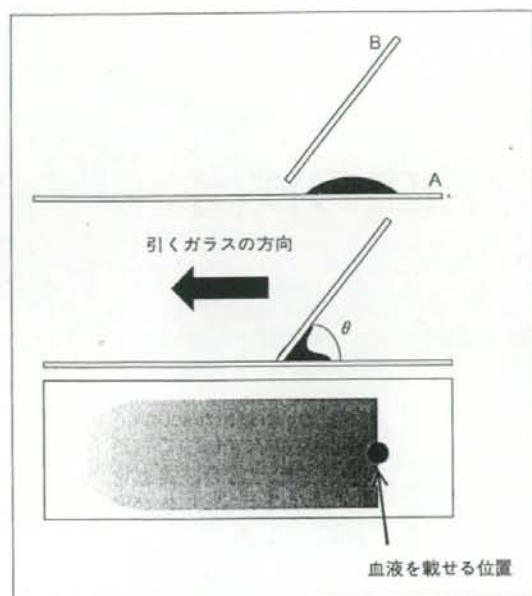


図1 薄層塗抹標本の作製

標本作製時に、スライドガラス(A)と引きガラス(B)との角度(θ)が大きいと塗抹距離は短く、小さいと長く塗抹される。

速度は熱帯熱マラリア原虫が最も速く、四日熱マラリア原虫が最も遅い。このような分裂体の発育増殖は虫種により5~20日間続く。やがて、赤外型分裂体が成熟して破れ、放出されたメロゾイト(merozoite)が流血中に移行して赤血球に侵入、赤内期の発育を開始するが、熱帯熱と四日熱マラリア原虫では、赤外型分裂体がほとんど同時に破裂して肝細胞内に残らない。一方、三日熱と卵形マラリア原虫では、肝細胞に達したスポロゾイトの一部はただちに発育しない休眠原虫(ヒプノゾイト, hypnozoite)になって肝細胞内に残存し、数か月後、ときに数年後に増殖して両種特有の再発の原因になる。なお、マラリア原虫はいったん赤内期の発育を開始すれば、再び肝細胞に侵入し赤外型に逆行することはない。したがって、輸血感染では肝細胞内に赤外型が形成されることはない。

流血中に移行した赤外型のメロゾイトは赤血球に侵入して環状体、栄養体、分裂体と赤内期の発育を開始し、その成熟により感染赤血球が破裂して、種により6~24個(時に32個)のメロゾイトを放出し、それぞれ新たな赤血球に侵入するシゾゴニー(schizogony)を繰り返す。なお、感染後、流血中に初めて感染赤血球が出現するまでの期間

を潜在期といい、熱帯熱マラリアで5~12日、三日熱マラリアで8~17日、四日熱マラリアで14~37日、卵形マラリアでは8~16日である。さらにシゾゴニーを繰り返す、流血中の感染赤血球数が発熱限界数を超えると熱発作を呈するようになり、感染からそれまでの期間が症候上の潜伏期となり、その平均日数は熱帯熱マラリアで12日、四日熱マラリアで30日、三日熱と卵形マラリアで14日であるが、熱帯熱マラリア以外ではさらに長期化する例もある。なお、いずれのマラリアでも発病初期には頭痛、嘔気、倦怠感などともに次第に上昇する発熱が約5日間続く。5~6日ごろからこの発熱は、赤内型原虫のシゾゴニーに同調する三日熱と卵形マラリアでは48時間、四日熱マラリアでは72時間ごとの周期熱となるが、熱帯熱マラリアの熱型は不規則で高熱を持続する例が多い。

血中に出現する病原原虫の発育環

無免疫の急性マラリア患者では、有熱期と無熱期を問わず血中に原虫が出現するが、発病初期や抗マラリア薬を服用しながらの受診者の場合は原虫数が少なく、その検出が困難なことがある。熱帯熱マラリア以外の3種のマラリアでは、赤血球内無性原虫のシゾゴニーの同調とともに悪寒期、灼熱期、発汗期から成る熱発作と無熱期を繰り返すようになり、悪寒期には後期栄養体と分裂体、灼熱期には環状体、発汗期には幼若栄養体、無熱期にも栄養体、分裂体がみられ、発病後数日以上経過していれば、いずれの時期にも雌雄生殖母体が検出される。しかし、熱帯熱マラリアでは、環状体以降の発育は脳などの深部臓器の微小血管内で行われ、血管内皮に接着して閉塞するため(sequestration)、通常末梢血中には環状体と生殖母体しか出現せず、全発育環が出現する他種マラリアとは著しく異なり、もし環状体以後の発育環が検出された場合は、緊急を要する重症例と考えてよい。

塗抹標本の作製法

マラリア感染が疑われる患者から採血した末梢血を用いて薄層および厚層塗抹標本作製する。薄層塗抹標本の作製には、図1に示したごと

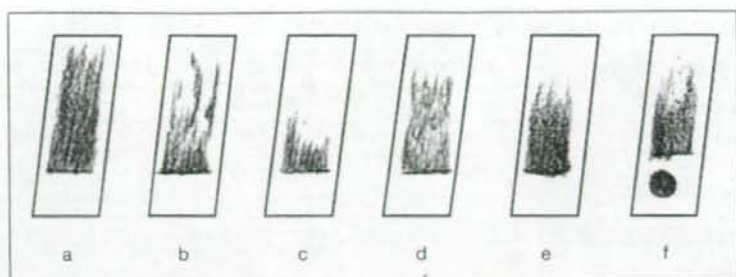


図2 作製された血液塗抹標本

血液量が多すぎる(a), 引きガラスの血液が不均一(b,c), 血液量が少なすぎる(c), スライドガラスが汚れている(d)ときれいな標本が作製できない。e, f は適切に作製された塗抹標本。f は厚層塗抹標本を同じスライドガラスに作製した場合。

く、清浄なスライドガラス(A)の一端に血液1滴を滴下する。引きガラス(B)とAとの角度(θ)を滴下した血液量により調節し、血液量が多いときは θ を大きく、少ないときは小さくすることにより、塗抹面末端の血球が一層になっていなければならない。引きガラスに接する赤血球が均一になった状態で塗抹を始める。引きガラスのスピードをゆっくり行くと長い範囲まで塗抹面が伸び、速く行くと短い塗抹となるが、スライドガラスが汚れていると、きれいな塗抹標本が作製できないので注意を要する(図2)。

薄層塗抹標本を作製したスライドガラスの端に厚層塗抹標本を作製するとギムザ染色を同時に行うことが可能であるが、緊急に検査しなければならぬときは別のスライドガラスに作製したほうがよい。厚層塗抹は抗凝固剤を含まない血液をスライドガラス上に2, 3滴滴下し、ガラス棒などで小さく円を描くように10数回静かに攪拌して脱フィブリン操作を行ってから完全に風乾する。その後、蒸留水を入れたピーカーなどにこの部分だけを浸し、1, 2分後にゆっくりと引き出すと、ヘモグロビンが溶出して塗抹面が桃色になる。このように溶血させた検体を再度風乾し、メタノール固定後、ギムザ染色する。

抗凝固剤含有血液もマラリア原虫の検査に用いることが可能であるが、感染赤血球膜上にみられるシュフナー斑点(Schuffner's dot)などの染色性が劣化することがある。また、ヘパリンを加えた場合は、感染密度の算定に影響を及ぼすことがあるので注意を要するが、エチレンジアミン四酢酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)を

添加した場合の影響は比較的少ない。なお、塗抹標本は採血後、ただちに作製すべきである。なぜなら、抗凝固剤の入った血液を放置しておくことと雌性生殖母体が鞭毛を放出したり、原虫が発育するなどして感染赤血球の形態が変化し、虫種の同定に混乱をきたすことがあるからである。

ギムザ染色法

作製した塗抹標本はスライドガラスの両端を拇指と中指で挟み、素早く振って風乾させる。多数のスライドガラスを乾燥させるときはドライヤーの冷風を使えばよいが、温風や熱風はヘモグロビンを熱凝固させるので使用してはならない。固定はメタノールで1~2分間行う。

染色は市販のギムザ染色液(原液)をpH 7.2~7.4のリン酸緩衝液で希釈して使用する。血液像の検査に用いるpH 6.8のリン酸緩衝液でも感染赤血球の観察は可能ではあるが、マラリア原虫感染赤血球膜上に出現し、種の同定に役立つシュフナー斑点やモーラー斑点(Maurer's dot)などがきれいに染色されない難点がある。通常、希釈液1 mlにつき原液1~2滴を加え(20~10倍希釈)、40分間染色するが、早急に診断を要する場合は染色時間を短縮するため1 mlに原液5滴を加え20分間染色することもある。いずれの場合も水平に置いたスライドガラスに希釈染色液を満載して染色する。

染色後はスライドガラスの一端から希釈に用いたリン酸緩衝液または中性の蒸留水を静かに注いでギムザ染色液を洗い流し、洗液からギムザ液の色調が消えるまで続ける。このようにすれば、塗

表1 末梢血に見られるマラリア原虫の特徴(血液塗抹ギムザ染色標本)

	熱帯熱マラリア	三日熱マラリア	四日熱マラリア	卵形マラリア
病原体	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. ovale</i>
発育周期	36~48時間	48時間	72時間	48時間
血中に出現する発育環	通常, 輪状体, 生殖母体	全発育環	全発育環	全発育環
感染赤血球	膨大せず Maurer 斑点出現	膨大し, Schüffner 斑点出現	やや縮小	円形または卵形で一端鋸歯状, Schüffner 斑点
環状体	環は小さく, ときにクロマチンが2個	環は大きく細い	三日熱原虫よりやや小さく, 環は太い	三日熱原虫より緻密
栄養体	大きく, 空胞は不顕著(濃青)*	大きく, 空胞があり, アメーバ状(淡青)	細胞質が緻密で, しばしば帯状体になる(青)	やや大きく緻密, 円形または卵形(濃青)
分裂体	赤血球より小さく円形または類円形(濃青)*	赤血球より大で, 円形(淡青)	赤血球より小さく, 円形または類円形(青)	赤血球またはそれより大で円形(濃青)
メロゾイト数	8~32個	8~24個	8~12個	6~16個
色素顆粒	黒色または黒褐色で粗大	黄褐色で微細	黒褐色粗大	黒褐色微細
生殖母体	半月状	球形	球形	球形

* 通常, 末梢血には出現しない。

(文献4より転載)



図3 ギムザ染色標本の鏡検風景(タイ国チャントブリ・マラリアセンター)

抹表面への沈着物の付着を防ぐことができ, きれいで鏡検に支障のない標本に仕上がる。

マラリア原虫の検出

マラリア原虫の検査で, どのくらいの視野を鏡検すべきかについては, 当該患者標本の病因原虫の種類, 採血時の病期および虫血症の多寡などに加えて, 鏡検者のマラリア診断の経験の有無とその習熟度などにより大きく左右されるため一概には決められない。しかし, かなり熟練した検査担当者であっても, 油浸レンズを用いて少なくとも200~300視野を観察すべきである(図3)。この場合, 1,000倍で100視野を観察すると, およそ0.0005 μ lの血液を検査したと等しいと算出され,

厚層塗抹標本の検出率はその約50倍(0.025 μ l)である。






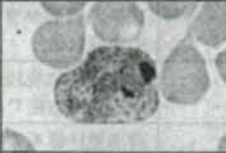
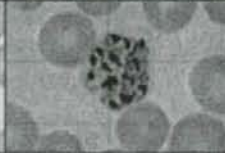









最初の検査時の患者白血球数が正常範囲にある場合, 白血球を300個以上数える視野数を鏡検してマラリア原虫が検出されなければ, 一応陰性とするが, 発熱が持続する場合は12時間および24時間後に再検査を行う。また, 白血球数が多い場合は, さらに多い白血球数を数える視野における原虫の有無を検索する。

陽性の場合, まず短期間で重症化し, 致命的になる危険性がある悪性の熱帯熱マラリアであるか, 他の3種のマラリアであるかを鑑別することが重要であり, もしそれができなければただちに専門家に同定を依頼するか, マラリア治療に習熟している医療機関に患者を移送し, 間違っても検査を外注して時間を浪費することがないように留意することが重要である。このとき, 鏡検される4種マラリア原虫の形態学的特徴および顕微鏡写真を表1, 2⁴⁾に示すが, ときに2種以上の混合感染もあるので注意を要する。

感染密度の把握

原虫感染赤血球の割合を求めるときは, 薄層塗抹標本を油浸レンズを用いて鏡検し, 通常, 赤血球1,000個を数え, その間に見られる感染赤血球

表2 4種マラリア原虫の鏡検像(血液薄層塗抹ギムザ染色標本)(×1,000)

種	環状体	栄養体	分裂体	雌性生殖母体
熱帯熱マラリア原虫				
三日熱マラリア原虫				
四日熱マラリア原虫				
卵型マラリア原虫				

* 通常、末梢血中出现するのは稀。

(文献4より転載)

を百分率で表し、この数値を血算で得られた赤血球数に乗ずれば1 μ l当たりの感染赤血球数を知ることができる。また、白血球200個を数える間に見られる感染赤血球数aと血算で得た白血球数(/ μ l)をbとして下式で算出することも可能である。

$$\text{感染赤血球数}(\mu\text{l}) = a \times b / 200$$

なお、原虫数が少なくaが9個以下のときは白血球が500個出現するまでのaを求め、感染赤血球数(μ l) = $a \times b / 500$ に代入して感染密度を推定する。患者の原虫感染密度を知ることは、単に診断確定の根拠になるだけでなく、感染の重度および病態把握に役立つ。さらに、経日的に血液検査を行って臨床症状の発現には関与しない生殖母体を除く無性原虫の感染密度の消長を知ることが治療薬の効果確認や治癒判定に重要である。

さらに、マラリア患者の白血球数はやや減少または正常範囲であるが、重症例では増加することもある。また、熱帯地ではしばしば流行がみられる Dengue 熱や腸チフスでは白血球減少を呈することが多く、逆に細菌感染症では白血球数が増加する例が多いが、輸入感染症のなかにはこれらの疾患

との混合感染もあり、正確な感染密度を推定することが困難なこともあるので注意を要する。なお、マラリア原虫の感染密度と臨床症状の関連を表3⁵⁾に示す。

迅速性の高い抗原検出法

マラリアの確定診断は、これまで述べた血液塗抹ギムザ染色標本の鏡検により原虫感染赤血球を確認し、その種別を鑑別することによる。しかし、検査者の技量が低く、また原虫数が少ない場合は、感染赤血球の検出が必ずしも容易ではない。そのために短期間で重症化し、致命的になる可能性が高い熱帯熱マラリアの感染を見落とすことになれば重大な問題である。このような場合のために、海外ではマラリア迅速診断試薬試験キット(rapid diagnostic test kit)が開発されている。これには、熱帯熱マラリア原虫の可溶性蛋白 HRP-2 と4種のマラリア原虫が共通して保有するアルドラーゼ(aldolase)を検出する方法と熱帯熱マラリア原虫に対して特異的あるいは他の3種の原虫が共通して産生する原虫性乳酸脱水素酵素(pLDH)を検出するものがあり、前者の製品については、現在のところ Binax Now[®] Malaria

表3 マラリア虫血症と臨床症状

感染赤血球率(%)	感染赤血球数(μ l)	臨床症状
10以上	500,000	交換輸血を考慮する。死の転帰をとることが多い。
2~5	100,000~250,000	高度虫血症状態。重症マラリア*。死亡率が上昇する。
2	100,000	幼若な赤血球に感染する三日熱マラリアや、卵形マラリアでは2%を超える虫血症は稀。
0.2	10,000	マラリアに免疫をもつヒトでも、これ以上の虫血症では症状が出現する。
0.004	200	薄層塗抹標本での原虫検出限界。
0.002	100	この程度以下の虫血症でもマラリア特有の症状を発現することがある。
0.0001~0.0004	5~20	厚層塗抹標本で原虫を確認することのできる虫血症の限界。

* WHOの基準では感染赤血球数 10,000/ μ l 以上でヘモグロビン値が 5 g/l 以下。
(文献5より改変して転載)



図4 マラリア特異抗原検出例
a: HRP-2 検出系(熱帯熱マラリア陽性)例, b: pLDH 検出系(熱帯熱マラリア陽性)例。

(Inverness Medical, USA), 後者では Diamed OptiMAL®-IT (TSC Biociences LTD, UK) が汎用されている。いずれも 15 分間程度で検査が終了し、熱帯熱マラリア原虫と他の 3 種のマラリア原虫種の判定が可能である(図4)。

感度については、通常 0.002% 前後の虫血症を検出できるとされ、熱帯熱マラリア原虫を HRP-2 検出系で 95~100%, pLDH 検出系で 94% 程度、三日熱マラリア原虫を前者で 95% 程度、後者で 90% 以上検出できるとされており、特異度も高い。

また、HRP-2 抗原は治療後、1~2 週間、ときに 4 週間にわたって検出されることもあるため治

癒判定に用いることはできない。なお、これらのキットは国内でも入手可能ではあるが、わが国では体外診断用としては認可されておらず、保険診療が適用されないので注意を要する。

おわりに

マラリアは今なお熱帯、亜熱帯地に広く蔓延している有数の疾患であり、わが国では輸入感染症として重要な位置を占めている。しかし、一般の医療機関での遭遇頻度はそれほど高くはなく、経験不足から感染が見逃された熱帯熱マラリアの死亡例が散見されることが憂慮される。

一方、マラリア診断の標準法はギムザ染色標本の鏡検であり、熟練すれば診断確定も比較的容易である。また、どのマラリアも迅速に適切な治療を開始すればなんら後遺症を残さずに治癒する疾患であり、それには検査技術の習熟が強く求められる。

文献

- 1) WHO: New Perspectives Malaria Diagnosis. WHO, pp 1-47, 2001
- 2) WHO (Western Pacific Region): Towards quality testing of malaria rapid diagnostic tests: Evidence and methods. WHO, pp 1-23, 2006
- 3) 大友弘士: マラリア診療における診断と治療のコツ。齊藤厚(編): 感染症診療のコツと落とし穴。中山書店, pp 188-189, 2004
- 4) 大友弘士, 水野泰孝: マラリア。検査と技術 27(増): 906-908, 1999
- 5) Garcia LS: Diagnostic Medical Parasitology, 4th ed. ASM press, p 173, 2001

ヒトのトキソカラ症と新しい動物モデル

赤尾 信明

東京医科歯科大学国際環境寄生虫学分野

Human toxocariasis and a novel animal model

Nobuaki Akao

Section of Environmental Parasitology, Graduate School of Tokyo Medical and Dental University

はじめに

ヒトの回虫は幼虫包蔵卵を経口摂取することによって感染する。消化管内で孵化した幼虫は門脈から肝臓を通過して肺臓に至る。ここで第4期幼虫にまで発育する。そして、幼虫は肺臓腔内に出て気管支を逆行し、喉頭、咽頭を経由して消化管に戻り、ここで第4回目の脱皮が起こり、その後成虫に発育する。

戦後の一時期には国民の70%以上が回虫に感染しており、国民病とも呼ばれていた。しかし、衛生環境の改善や堆肥に代わる化学肥料の使用により回虫感染者は激減した。これに反して、近年のペットブームや伴侶動物としてのイヌとヒトとの距離が縮まるにつれて、イヌ回虫によるヒトの感染症が増加してきている。また、イヌ回虫と同じトキソカラ属のネコ回虫卵が公園の砂場から高頻度に見つかり、ヒトへの感染源としての注目されている。そこで、最近ではイヌ回虫とネコ回虫によるヒトの感染症をトキソカラ症という名前で報告されることも多くなってきている。

さらに、ヒトに感染する動物由来回虫類の幼虫にはイヌ回虫やネコ回虫以外に、ブタ回虫、アライグマ回虫、コウモリ回虫、小兎唇回虫があり、またヒトの感染する可能性のある回虫類にはクマ回虫やタヌキ回虫もあげられている。このように、動物由来回虫類のヒトへの感染を巡る問題は拡大しつつある。

動物の回虫がヒトに侵入すると、肺臓内で大きく発育することなく、肺臓内の毛細血管を通り、心臓に戻り、左心室から全身の臓器、組織に散布されてしまい、成虫にまで発育することはない。そして、全身に散布された幼虫によってさまざまな病害が引き起こされる。ここでは、イヌ・ネコ回虫による感染症を中心に、発見から半世紀以上たったトキソカラ症の最近の話題について解説

する。

感染源

1. イヌ回虫の感染率

イヌ回虫はイヌ科の動物の小腸内に寄生する回虫であるが、通常、イヌでは子イヌにしか寄生できず、1歳以上に成長したイヌでは、成虫は腸管から自然に排泄されてしまう。しかし、免疫能の低下した成イヌでは糞便内に虫卵を排泄していることがある。

イヌにおけるイヌ回虫の寄生状況については、齋藤ら(2004)が広島県福山市内の獣医科医院を受診した家庭内飼育犬について、1972年以来調査を実施している [16]。それによると、福山市におけるイヌ回虫の寄生率は1972年度の37.4%から1995年31.0%、2002年25.9%と漸減傾向にあるという。しかし、2007年度に我々が行った栃木県動物愛護センターに搬入された3ヶ月齢の子イヌ43頭の糞便検査では29頭(67%)からイヌ回虫卵が検出されており、子イヌの糞便がイヌ回虫症の感染源として重要であることに変わりがないことを示していた。

2. イヌ回虫卵の感染力

排便直後の糞便内の虫卵は1個の卵細胞からなり、感染力はない。しかし、25~27℃の湿潤な環境では10日程度で幼虫包蔵卵にまで発育する。この時期の幼虫包蔵卵でもまだ感染力は低く、さらに1~3週間経過しないと十分な感染力を発揮しない。虫卵内の幼虫は低温には抵抗性を示し、湿潤状態であれば2年以上感染力を保持している。乾燥にも数週間は耐えうる。しかし、高温には弱く、70℃以上の熱水中では瞬時に死滅してしまう。回虫卵の外殻は厚いタンパク膜で取り囲まれ、手指などに虫卵が触れると剥がれやすく、粘着物質として作用する。

3. 感染経路

イヌ回虫卵のヒトへの感染経路については3通りが考えられている。(1) 虫卵を含んだ糞便が砂場の砂などを汚染し、その砂場で砂遊びをした子供の手に幼虫包蔵卵が付着し、それが経口感染する。(2) 虫卵がイヌの被毛に付着し、それがヒトへの感染源となる。(3) イヌ回虫の待機宿主となりうるニワトリやシャモ、ウシ、ブタなどの筋肉あるいは肝臓を生食して感染する。

(1) の経路は最も古くから指摘されてきた感染経路で、我が国でも多くの公園の砂場から虫卵が見つかった。宇賀ら(1989)は兵庫県下の公園の砂場371カ所を調査し、その37%で虫卵の汚染を認めた。しかし、検出された虫卵はほとんどがネコ回虫卵であったという[25]。

この経路での感染の典型的な症例を紹介する。患者は発熱と肝腫大と好酸球増多を主訴に開業医から北海道内の某市立病院に紹介のあった1歳5ヶ月の女児で、入院時末梢血好酸球の比率は73%であった。患児には以前から土などを口に入れる、いわゆる異食症が見られたという。我々の施設で行った血清学的検査からトキソカラ症が強く疑われた。そこで、患児が兄と共によく遊んでいた近所の公園の砂場を郵送してもらい検査したところ、イヌ回虫卵によく似た虫卵が多数回収された(図1)。さらにこの虫卵内の幼虫は卵殻内で動いており、生きていることが確認された。幸いなことに、兄の抗体検査では感染は証明されなかった。

(2) のイヌの被毛を介した感染も重要な感染経路のひとつである。内田ら(1995)は、イヌ回虫に感染した

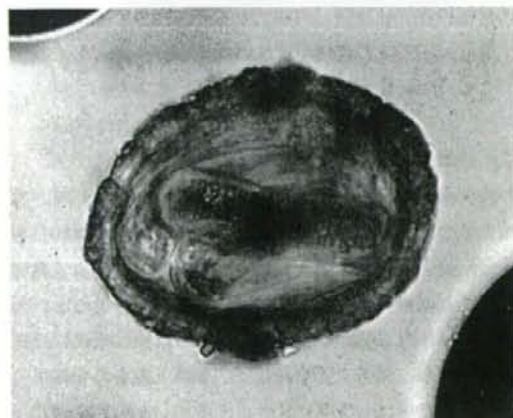


Fig.1. A *Toxocara* egg recovered from sandpit where a patient frequently played with her brother. A fully developed live larva was contained in the egg.

イヌの被毛をセロファンテープ法により検査したところ、虫卵は肛門周囲のみならず、口腔周囲や腹部の被毛からも見つかった。さらに、被毛をシャンプーしたあとの排液を検査したところ、感染イヌではすべての検体で虫卵が確認された[24]。2003年にアイルランドと英国で行われた調査でも、60頭のイヌの検査で、15頭の被毛に虫卵を認め、71個の虫卵が回収できた。そのうち3個の虫卵内には完全に発育した幼虫が見られ、20個の虫卵は発育途中の生きた虫卵であったという[26]。これらの報告は、イヌ回虫に感染したイヌとの濃厚な接触は感染の機会を高めることを示唆するものである。

イヌ回虫の待機宿主を介した(3)の経路による感染が最近非常に増えてきている。第1例は酒井らにより1983年に発表された[17]。患者は57歳の男性で、1980年8月に発熱と体重減少を主訴として福岡県内の病院を受診した。患者は6月末に同僚3名と共に、自宅で飼育していたニワトリの肝臓を生食し、直後から下痢、腹痛、嘔吐が出現したが、これらの食中毒症状は数日で軽快したため放置していたところ、主訴が出現したので来院したという。血液検査の結果、末梢血液中の好酸球数が58%を上昇しており、総IgE量も正常の10倍以上に増加していた。血清抗体反応の結果からイヌ回虫幼虫による内臓幼虫移行症が疑われた。同じグループによって、ニワトリあるいはウシの肝臓を生食後に同じような経過を辿った2症例が追加された[11]。その後も、ニワトリ、ウシ、シャモなどの肝臓を生食後に発症した『食品媒介トキソカラ症』は、我が国のみならず、諸外国からも報告されている[7, 10, 13, 18]。

しかし、感染源と推測されているこれらの獣肉や肝臓から幼虫を証明することは困難である。実験的に感染させたブタやウシの肝臓、筋肉から検出することでさえ非常に労の多い作業である。Taira(2004)は実験的にイヌ回虫幼虫包蔵卵を経口投与したブタの内臓や筋肉の一部を経時的に検査した結果、1週目には投与した虫卵の1.4%程度が回収されたが、6週目になると0.2%程度にまで減少し、しかも回収できた幼虫のほとんどは肺臓からであり、筋肉や肝臓から回収される幼虫数は少なかったと報告した[20]。しかし、少数とはいえこれらの組織から幼虫が回収できたことはヒトへの感染源になりうることを示している。

肺に移行した幼虫はヒトでも肺炎を引き起こし、咳嗽や発熱、胸部CTで境界不鮮明でハローを伴った小結節が短期間の内に出現と承知を繰り返す症例としてしばしば報告されている[28]。このようなヒトの症例では気管

支洗浄液中の抗体の証明が診断に有用である [14]。また、患者が生食したニワトリからイヌ回虫の幼虫が検出された症例もある [14]。

4. イヌ以外の感染源

欧州では今、キツネの生息域が都市部にも広がるにつれて、多包虫症だけでなく、キツネから感染する人獣共通感染症としてのイヌ回虫症が注目されている [19]。1982年から2006年までに10の研究機関で実施された調査では7139頭のキツネの42.6%にイヌ回虫の寄生が見られた (表1)。野生キツネによるイヌ回虫卵の土壌汚染は、イヌによる砂場汚染と同様にヒトへの感染源として重要であると考えられている。日本でも本州へのキタキツネの生息域拡大による多包虫症の流行が懸念されているが、同時にイヌ回虫症についても注意を向ける必要がある。

ヒトのトキソカラ症

1. 診断と検査

寄生虫感染症の診断では、寄生している虫体を直接見つけ出すことが最も確実な診断法である。しかし、トキ

ソカラ症の場合、ヒトに寄生する幼虫の大きさは体長が約400 μ m、体幅が20 μ m程度と非常に小さく、病理組織学的な検査で見つかることは稀である。国内でこれまで幼虫が確実に検出された症例は表2に示すように3例で、虫体の断片様の物体が見つかり、これを幼虫と判断した疑診例が2例とそれほど多くはない。しかし、臨床所見や血液検査に加えて、血清や眼内液中の抗体検査結果に基づいて診断された症例は過去12年間だけで129例に上っている。ただし、この中には血清学的にブタ回虫幼虫による感染が疑われた症例が15例含まれている。

抗体検査には抗原特異性の高いイヌ回虫幼虫排泄物 (*Toxocara canis* larval excretory-secretory antigen, TES) を用いてELISA法や寒天ゲル内二重拡散法、あるいは迅速診断キット [2] などが行われているが、悪性腫瘍の患者の中にはこの抗原と交叉反応を示すものもあり、注意が必要である [23]。血清抗体検査でブタ回虫幼虫移行症と診断された多くの症例は、ブタ回虫成虫抽出抗原を用いた検査が行われており、成虫抗原よりも特異性の高いブタ回虫幼虫排泄物抗原を用いた再検査が今後必要になると思われる。

2. 臨床症状

イヌ回虫やネコ回虫によるヒトの感染症は内臓型、眼型、神経型、潜在型の4型に分類されてきた [22]。内臓型が日本で最初に報告されたのは1963年で、患者は発熱と肝腫大、好酸球増多症等の典型的な症状が見られた14歳の男児であった。当時はまだトキソカラ症の血清診断法が確立される前であり、抗体検査などは実施されていないが、その臨床経過から国内での第1例であると考えられている [8]。これ以降、国内からも数多くの症例が報告されてきた。

それらの報告を見ると、米国で最初にこの病気が報告されたように、トキソカラ症は砂場などで遊ぶ機会の多い12歳以下の子供に多い感染症であると考えられていたが、最近の報告では子供よりもむしろ成人の報告例が増

Table 1. *Toxocara* infection of foxes in Europe

No of foxes examined	Infectivity (%)	Country	Year
587	61.6	U.K.	2003
843	55.9	U.K.	1995
139	73.7	Netherlands	1998
68	23.5	Netherlands	1996
228	44.3	Switzerland	2007
201	23.7	Spain	1995
310	8.1	Slovakia	2004
1040	59.4	Denmark	2006
3573	32.0	Germany	1982
150	44.0	French	1990

Table 2. Confirmed and suspected cases of toxocarasis detected a larva or larva-like material from the patient

	Patient	Journal	Clinical diagnosis	lesion	Identification	Report
Confirmed cases	8-y-old female	Rinsho Ganka	L) retinoblastoma	retinal granuloma	Enucleated eyeball, histopathologically	Yoshioka (1966)
	Adult female	Lancet	Eosinophilic pneumonia	skin rash	Skin biopsy, histopathology	Aragane et al (1999)
	Adult female		personal communication	cervical spinal cord	Spinal cord biopsy, histopathology	Otsu City Hospital (2008)
Suspected cases	Adult female	Rinsho Ganka	Uveitis of unknown etiology	vitreous body*	Vitrectomy, histopathology	Ijyuin et al (1999)
	Adult female	Clin Parasitol	Uveitis of unknown etiology	vitreous body*	Vitrectomy, microscopic observation	Akao et al (2004)

*Positive antibody titers for *Toxocara canis* larvae excretory were detected in vitreous fluid of the patient.

えている。眼型トキソカラ症も、半世紀以上に、米国の眼病理の専門家であったであった Wilder (1950) が46例の小児の摘出眼球の内26眼からイヌ回虫の幼虫断端を見つけ、以来、小児に多い疾患であると思われていた。しかし、Yoshidaら (1999) の集計では、38例の眼型イヌ回虫の内34例 (89%) が20歳以上の成人であった [27]。我々の研究室に過去12年間にイヌ回虫症が疑われて抗体検査の依頼のあった529例の内、性別と年齢の記載のあった444例について集計してみると、12歳以下の児童は47例と10.6%を占めるに過ぎなかった。眼型イヌ回虫症の134例だけを見ても、12歳以下患者は男女ともに7例で全症例に占める割合は10.4%であった。

このように、イヌ回虫症は、かつていわれていたような小児に多い感染症ではなく、獣肉の喫食や虫卵で汚染された被毛や土壌に触れる機会のある、どんな年齢層にも発症する可能性のある疾患であると考えなければならない。

内臓型トキソカラ症では、発熱や肝腫大、好酸球増多といった典型的な症状を呈する以外に、きわめて多彩な症状が見られる。ネフローズ症候群や関節リウマチ様関節炎、血球貪食症候群と合併したり [1, 29-31]、アレルギー疾患を併発しやすくなり、全身に皮疹が出現したりする例も報告されている。さらには、髄膜炎や脊髄炎の原因となって重篤の神経症状を呈する例まで知られるようになってきた [12]。

眼型トキソカラ症の新しい動物モデル

トキソカラ症の病態を理解する上で、動物モデルの果たしてきた役割は非常に大きい。マウスを用いた実験では幼虫の体内移行経路や好酸球増多の機序などが解明され、感染宿主の免疫応答について詳しい解析が行われた。ウサギのモデルからは病態生理学的解析や血清抗体の推移、また、モルモットを用いた実験系からはIgE抗体の消長が明らかにされてきた。

眼型トキソカラ症の実験モデルとしては、これまでにマウスやラット、ウサギ、サルなどを用いた実験が行われてきた。マウスに幼虫包蔵卵を経口投与すると幼虫は眼内に移行するが、その頻度は極めて低い [15]。ラットやウサギ、サルを使って実験でも経口感染では眼病変を惹起することはできず、幼虫を眼内に直接注入することによって激しい炎症を起こすことが出来たという。このように、我々がスナネズミを使った新しい動物モデルを発表するまでは、ヒトの眼トキソカラ症の実用的な動

物モデルはなかった。

スナネズミを用いたイヌ回虫症の研究はあったが、眼内に幼虫は見いだせなかったと報告されていた [5]。しかし、我々が小動物用の眼底カメラを用いてイヌ回虫幼虫包蔵卵を経口投与したスナネズミを経時的に観察したところ、感染後3日目以降、さまざまな網膜病変が出現すると共に、眼底に幼虫も観察できた [21]。幼虫は感染させたスナネズミの70%以上に見られ、出血や血管炎などの病変は95%以上の個体で観察できた。このような病変はイヌ回虫だけでなくネコ回虫卵の経口投与によってもスナネズミの網膜に見ることができた [3]。

さらに興味深いことには、スナネズミは眼トキソカラ症の動物モデルとしてだけでなく、神経型トキソカラ症のモデルとして有用であることが明らかになった。スナネズミ体内に侵入した幼虫は、マウスと同様に中枢神経系をはじめとして全身に分布する [6]。しかしマウスと異なり、脳内に侵入した幼虫によって不可逆性の神経症状が発症することが明らかになった [4]。また中枢神経系に侵入した幼虫が視神経を介して網膜内に出現することも明らかにすることができ、幼虫の眼内への移行経路には視神経を介するものがあること証明することができた [9]。

このように、スナネズミはイヌ回虫やネコ回虫の感染に対して高い感受性を有しており、トキソカラ症の病態を理解する上で極めて有用な動物モデルであることが明らかになった。また、感染スナネズミの眼底は経時的に観察することが可能なため、新しい眼トキソカラ症の治療薬の効果判定にも威力を発揮するのではないかと期待されている。

おわりに

イヌ回虫は先進国や開発途上国を問わず、世界中に分布する寄生虫であり、ヒトに感染すると多彩な症状を引き起こす寄生虫の原因となる。この病気が広く知られるようになって50年余りが過ぎようとしているが、いまだ解明されていない問題が多く残されている。幼虫の母子間移行機序や眼トキソカラ症の半数以上の患者で血清抗体が上昇しないのはなぜか。あるいは神経型トキソカラ症の発症機序など、まだまだ解明されなければならない問題点が残されている。

謝 辞

本稿の内容は平成20年3月29日に麻布大学で開催された第145回日本獣医学会のシンポジウムで発表した内容を基に補足してまとめた。

文 献

- Ahn, T., Houki, N., Ohkura, Y., Masui, K., Fukui, H., Shimada, K., Yamasaki, H., Nakamura-Uchiyama, F. and Yoshikawa, M. 2006. Serologically diagnosed toxocariasis with hemophagocytic syndrome in a patient with primary biliary cirrhosis. *Intern. Med.* 45 : 31-32.
- Akao, N., Chu, A. E., Tsukidate, S. and Fujita, K. 1997. A rapid and sensitive screening kit for the detection of anti-*Toxocara* larval ES antigens. *Parasitol. Int.* 46 : 189-195.
- Akao, N., Takayanagi, T. H., Suzuki, R., Tsukidate, S. and Fujita, K. 2000. Ocular larva migrans caused by *Toxocara cati* in Mongolian gerbils and a comparison of ophthalmologic findings with those produced by *T. canis*. *J. Parasitol.* 86 : 1133-1135.
- Akao, N., Tomoda, M., Hayashi, E., Suzuki, R., Shimizu-Suganuma, M., Shichinohe, K. and Fujita, K. 2003. Cerebellar ataxia due to *Toxocara* infection in Mongolian gerbils, *Meriones unguiculatus*. *Vet. Parasitol.* 113 : 229-237.
- Burren, C. H. 1972. The distribution of *Toxocara canis* larvae in the central nervous system of rodents. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 66 : 937-942.
- Cho, S., Egami, M., Ohnuki, H., Saito, Y., Chinone, S., Shichinohe, K., Suganuma, M. and Akao, N. 2007. Migration behaviour and pathogenesis of five ascarid parasites, *Toxocara canis*, *Baylisascaris procyonis*, *B. transfuga*, *Ascaris suum*, and *A. lumbricoides* in the Mongolian gerbil, *Meriones unguiculatus*. *J. Helminthol.* 81 : 43-47.
- Espana, A., Serna, M. J., Rubio, M., Redondo, P. and Quintanilla, E. 1993. Secondary urticaria due to toxocariasis : possibly caused by ingesting raw cattle meat? *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 3 : 51-52.
- 伏見純一、西村猛、村上圭司. 1963. Dithiazanine iodineの奏功した人体イヌカイチュウ症と思われる1例について. *寄生虫誌* 12 : 303-304.
- Hayashi, E., Akao, N. and Fujita, K. 2003. Evidence for the involvement of the optic nerve as a migration route for larvae in ocular toxocariasis of Mongolian gerbils. *J. Helminthol.* 77 : 311-315.
- Hoffmeister, B., Glaeser, S., Flick, H., Pornschlegel, S., Suttorp, N. and Bergmann, F. 2007. Cerebral toxocariasis after consumption of raw duck liver. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 76 : 600-602.
- 伊藤孝一郎、酒井健二、岡島泰一郎. 1986. 鶏肝や牛肝の生食により発症したと考えられる内臓幼虫移行症の3例. *日本内科学会誌* 75 : 759-766.
- 吉良潤一. 2006. 寄生虫性脊髄炎. *日本内科学会誌* 95 : 1255-1259.
- Kwon, N. H., Oh, M. J., Lee, S. P., Lee, B. J. and Choi, D. C. 2006. The prevalence and diagnostic value of toxocariasis in unknown eosinophilia. *Ann. Hematol.* 85 : 233-238.
- Morimatsu, Y., Akao, N., Akiyoshi, H., Kawazu, T., Okabe, Y. and Aizawa, H. 2006. Case Reports : A familial case of visceral larva migrans after ingestion of raw chicken livers : The specific antibody in bronchoalveolar lavage fluid. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 75 : 303-306.
- Ollero, M. D., Fenoy, S., Cuellar, C., Guillen, J. L. and Del Aguila, C. 2008. Experimental toxocariasis in BALB/c mice : effect of the inoculation dose on brain and eye involvement. *Acta Trop.* 105 : 124-130.
- 齋藤哲郎、橋口正大、島谷和子、宮野寿美子、山足清、山口裕之、吉田邦恵、池田文雄、久家光雄、宇都宮敬三、頓宮廉正. 2004. 2002年度福山市内の飼育犬及び飼育猫の内部寄生虫感染状況. *獣医畜産新報* 57 : 11-14.
- 酒井健二、岡島泰一郎、大内和弘. 1983. 鶏肝の生食により発症したと考えられる内臓幼虫移行症の1例. *内科* 51 : 963-967.
- Salem, G. and Schantz, P. 1992. Toxocaral visceral larva migrans after ingestion of raw lamb liver. *Clin. Infect. Dis.* 15 : 743-744.