

200931007A

厚生労働科学研究費補助金

新型インフルエンザ等新興・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

(H19-新興-一般-007)

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 宮 平 靖

平成 22 年(2010)年 3 月

目 次

I. 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	… 1
宮平靖	
II. 分担研究報告	
1. シャーガス病感染制御手法の新規開発	… 362
宮平靖	
2. マラリア感染制御手法の新規開発	… 365
宮平靖	
3. 組織寄生虫症の免疫血清抗体検査	… 370
赤尾信明	
4. 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／マラリアおよび条虫症に関する知識の普及	… 377
大西健児	
5. 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	… 384
高本雅哉	
6. 慢性期シャーガス病の調査研究	… 400
竹内勤	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	… 404
IV. 研究成果の刊行物・別刷	

厚生労働科学研究費補助金 (新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)
平成 21 年度 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 宮平 靖 防衛医科大学校

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した。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3年間研究を推進し解析を行って来た。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した。健康診断では採血 (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・機能検査も行い病態の把握に努めつつ、対象者の受診意欲を刺激することに努力した。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が、血清を用いた抗体検査、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、革新的な新技術の開発を試みた。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く、将来の献血用血液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の開発を行って来た。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免疫応答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試みた。その一方で、在留外国人や医療関係者にも忘れられがちな慢性寄生虫症について啓発する目的で教育講演会を開催した。このような研究活動の成果は、地方自治体向けのガイドラインとしてまとめ、各自治体に在住する在留外国人の慢性寄生虫症罹患状況を把握し、その健康管理体制を構築するための指針を記載している。間もなく各地の地方自治体に配布されるこのガイドラインが広く参考にされて、在留外国人の健康状況が全国的に向上し、不測の事故発生を未然に防止出来ることを期待している。

研究分担者

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
竹内 勤	慶應義塾大学医学部	教授

A. 研究目的

A-1. 健診実施による実態調査研究

我が国における外国人登録者数は、平成11年から平成20年までの10年間で約1.5倍と増加し220万人を越えた(資料ガイドライン)。特に、ブラジル、ペルーなどの南米や、中国、韓国、フィリピンといったアジア諸国からの入国者が多い(資料ガイドライン)。今や一般国民の隣人とも言える在留外国人の健康管理については、十分な態勢になっているとは言いがたい。特に慢性寄生虫症に関しては、衛生的な環境に慣れた多くの日本人にとっては過去の感染症群という意識が強い。日本人の寄生虫症罹患者数は数十年前と比較して軒並み激減しており、現在、医療従事者の本感染症群に対する意識、関心は高いとは言えず、そのための医療態勢も十分整備されているとは言いがたい。まして在留外国人にとっては、たとえ彼らの本国で流行している慢性寄生虫症を罹患し日本に持ち込んだ可能性があったとしても(資料ガイドライン)、日本でそれに特化した健康診断や治療を受けることは困難である。日本人にとっても、そのような健康上の潜在的問題を抱えている在留外国人を放置するのは人道上、健康福祉上問題であるとともに、不測の事故発生を未然に防止する努力が必要であろう。このような慢性感染症の罹患状況の実態調査、監視体制の確立、迅速診断/治療法の

開発や健康管理/教育体制の不備を解消し安全・安心な社会を形成して行くためには、本健康事案に対して地方自治体が実行可能なガイドラインを提示することが必要である。世界の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している。感染症の種類によっては、例えば新型インフルエンザのように検疫体制の強化により水際で日本への侵入を防ぐ措置も考えられるが、特に慢性感染症の罹患者を入国時に見つけ出すことは現実的ではない。本事案は、そのような短期滞在者よりも、既に長期にわたって在住している外国人の生活上の問題と捉えられるべきである。外国人登録者数を都道府県別に比較すると、首都圏に集中していることがわかる(資料ガイドライン)。我々は、在留外国人が多く在住している神奈川県、群馬県、茨城県をモデルケースに選び、在留外国人を対象にした健康診断・相談会を3年間に渡って実施し、実態調査と結果の解析を試みた。

A-2 教育講演会

在留外国人登録者数が多い地域では、慢性寄生虫感染症に関する教育啓発活動が有効に機能する可能性が高い。一例として神奈川県では、外国人登録者数が年々増加し、県総人口に占める割合が顕著に増加している。こういった

地域では、啓発活動を効果的に実施することで、比較的数の多い集団への知識の浸透がインパクトのある試みになる可能性がある。我々は、神奈川県藤沢市、大和市、横浜市において、本研究班の活動目的と県内で行った健康診断の結果等を説明するとともに、慢性寄生虫感染症の啓発を目的とする教育講演会を3回実施した。

A-3 ガイドラインの作成

健康診断や教育講演会を組み合わせることで在留外国人の感染症の侵入監視、健康管理/教育体制を各地域で確立するために、地方自治体と協議を重ねながらガイドラインを作成している。

A-4 基盤研究

疫学、フィールドにおける実態調査研究を支えるのは、様々な基盤的な研究の推進である。慢性寄生虫感染症の診断手法の新規開発、旧診断手法の改良と共に、予防、治療の観点から重要となる新規予防/治療的感染制御手法を確立する目的で基盤研究も遂行した。

B. 研究方法

B-1. 健診実施による実態調査研究

B-1-1. 在留外国人へアプローチするための地域協力者・協力施設の選定

(1) 在留外国人の診察を行う医療機関

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。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考えられた。神奈川県大和市の小林国際クリニック(小林米幸院長)、群馬県太田市の伊藤産婦人科(伊藤英一院長)がこの点で適任であり、各医師生を通じてその患者に健康診断の受診を呼びかけた。

(2) キリスト教会等宗教施設

地域の教会は、各地方自治体にある程度存在することが期待出来ると共に、宗教を信仰する在留外国人が定期的に参集し、信者間のコミュニケーションの場になっている可能性が高い。最初のトライアルでは、神奈川県大和市のカトリック大和教会をベースにして健診を実施した。教会では日本人神父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が出来て、定期的な健診実施が可能となった。このアプローチは、後にカトリック藤沢教会においても有効であることが証明された。

(3) 教育施設

外国人学校の責任者に本健康事案の重大性、健診実施の意義を伝え賛同を得ることで、通学する外国人(児童)やその家族を対象とした健康診断の実施が可能となった。児童は日本国内で出

生した場合も多く、本健康事案の健診実施対象者として必ずしも適当ではないと考えられるが、児童の家族、親類の方々の受診が期待されることから、効果的なアプローチになる可能性があり、群馬県太田市と茨城県常総市においてその有効性が証明された。

(4) 非営利団体組織 (NPO)

外国人を非営利的に支援する団体である、NPO 法人 MAIKEN と NPO 法人国際社会貢献センター 在日ブラジル人支援プロジェクトの協力を得て、外国人への健診実施の宣伝、広報のみならず、健診実施時に必要な通訳などの人材確保の面で支援を得ることが出来た。

(5) 外国人コミュニティ・リーダー

在留外国人のコミュニティでは、異国下で助け合って生活している場合多く、そのリーダー (世話人) 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、カトリック平塚教会でのボリビア人コミュニティ対象の健診においてその有効性が実証された。

B-1-2. 会場の選定

受診者が物理的、精神的に来場し易い場所を選んだ。地域協力施設が望ましいが、中立的な公共施設を選ぶ可能性も考慮した。

B-1-3. 宣伝、広報活動

受診候補者に対して健診の意義や受

診者に還元されるメリットとして、地域協力者を介し以下の項目を十分に説明した。

- (1) 慢性寄生虫症の検査診断は日本では通常行われない貴重な機会である。
- (2) 寄生虫症検査以外に血算・生化学検査等は一般健康診断として有用。
- (3) 超音波検査等を受けられること。
- (4) 健康手帳の配布により慢性寄生虫感染症の正しい理解が得られること。
- (5) 受診費用は無料であること。

B-1-4. 実施要領と倫理面での配慮

倫理上の問題排除のために、調査研究同意書を6ヶ国語(日本語/英語/中国語/スペイン語/ポルトガル語/韓国語)で並書し、説明文書 (ガイドライン提示) 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に御署名をいただいた。また、在留外国人に対して6ヶ国語表記健康手帳 (ガイドライン提示) を配布し、寄生虫症への理解を深めてもらう一助とした。

B-1-5. 健康診断と検査

流行地居住歴や食歴を含めた問診、血圧測定、採血を行った。予め便容器や蟻虫検査用セロファンを配布した場合には、その場で回収した。主な検査として、血液 (白血球数、好酸球数、生化学一般)、糞便・尿検査、血清抗体検査を実施した。対象とした寄生虫症は、マラリア、リーシュマニア症、シャーガス病、赤

痢アメーバ症、肺吸虫症、住血住虫症、回虫症、顎口虫症、旋毛虫症、多包虫症、有鉤囊虫症、蟯虫症とした。

B-1-6. 検査結果返却・健康相談会および受診者のフォローアップ

健康診断を実施して 1、2 ヶ月の間に、検査結果返却会を開催した。平成 21 年度は結果返却受領の割合が高く、寄生虫症陽性と判定された受診者に適切に医療機関での受診を勧めることが可能となった。実際に医療機関を受診したかどうかは、医療機関からのフィードバックによって判定した。平成 21 年度の結果返却会は健康相談会としてもよく機能し、広く健康の相談も受けた。

B-2 教育講演会

B-2-1. 広報宣伝活動

広報宣伝活動では、次の様な手法を用いた。

- (1) 行政当局や医師会等の後援を取りつける。
- (2) 広報ポスターを作成し、教育研究機関へ送付し学内掲示を依頼する。
- (3) 感染症、国際保健関連学会を含む各種学会ホームページに広報ポスターを掲示し、会員へメール配信を依頼する。
- (4) 在留外国人の出入りする店舗や教会等に広報ポスターを掲示し、在留外国人コミュニティが運営するウェブサイトでの宣伝を依頼する。

(5) 行政当局の掲示板、保健所、病院等衛生管理施設に広報ポスターを掲示する。

(6) 生涯教育に関わる各種機関へ協力を依頼する。

B-2-2. 講演会の実施

教育講演会では、以下の 4 点を強調した。

- (1) 世界にはわが国では流行したことがないか、流行していたが根絶された慢性寄生虫感染症群が流行する地域があり、それらの地域から入国して来ている方々が居ること。
- (2) それらの感染症は、万一日本国内に流入したとしても現代の国内衛生基盤体制下では流行を起こす可能性が全く無いか、適切に対応すれば流行しない感染症群であり、在留外国人の方々へ偏見を抱いたり、過度に恐れしたりする必要は無いこと。
- (3) 慢性寄生虫感染症の正しい知識と適切な対応の修得のためには、その実態解明は必要であり、それによって在留外国人への人道支援、対策手法の合理的立案、不合理な偏見排除や不測の事故発生を未然に防止することにつながり得ること。
- (4) 慢性寄生虫感染症を含む国際感染症に関する正しい知識と適切な対処法の普及は、無知から偏見や不要な恐怖を抱くことなく、在留外国人と日本人が正しい姿で相対することに寄与すること。

また発表に際しては、以下の点に留意した。

- (1) 在留外国人の聴講を想定し、当該外国語通訳を配置する。
- (2) 専門家でも、学ぶべき点がある内容を盛り込む。
- (3) 一般聴講者でも理解出来るように、分かりやすいスライド作成を心掛ける。写真や絵を数多く用いるように工夫する。
- (4) スライドは英語表記を心がけ、日本語で明快に説明し、在留外国人の参加に応じて各種言語を挿入する。

なお、大和市と横浜市の講演会においては、アンケートを実施した。

B-3 ガイドラインの作成

3年間の健康診断と教育講演会の経験から、ガイドラインの素案を作成した(資料ガイドライン)。これを大和市、藤沢市と協議し、改良を重ねた。

B-4 基盤研究

分担研究報告書にある通り課題名は下記の通りである。

- ・ 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)の開発
- ・ ネズミマラリア実験系におけるウイルスワクチンの有用性に関する研究
- ・ シャーガス病の検査手法の検討
- ・ 組織寄生虫の免疫血清抗体検査
- ・ 肝疾患所見の解析

- ・ 住血吸虫に対する血清抗体測定
- ・ 慢性寄生虫症/原虫症の罹患状況の調査
- ・ 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
- ・ シャーガス病感染制御手法の新規開発: C57BL/6 マウスへ上記三種ウイルスベクターを組み合わせて免疫し、抗原特異的 CD8 陽性 T 細胞の誘導レベルを ANYNFTLV/MHC-pentamer 標識を用いたフローサイトメーター法およびインターフェロン-ガンマ (IFN- γ) 産生細胞数を ELISPOT アッセイ法によって解析し、血中出現原虫数の算出および生存マウス数の算定から感染防御能を判定した。

- ・ マラリア感染制御手法の新規開発: エピトープ発現組換え DNA の作製し、エピトープ発現マラリア原虫を作出した。組換えマラリア由来粗抗原接種マウス膝下リンパ節または組換えマラリア原虫感染マウス脾臓より細胞を調製し、エピトープ特異的 CD8T 細胞数を IFN- γ 産生を指標として ELISPOT 法にて検討した。また、組換えアデノウイルス接種二週間後に組換えワクシニアウイルスを接種、さらに 12 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。さらに、抗原特異的 CTL 移入およびワクチン接種との組み合わせによる感染実験を行い、感染防御効果についても検討した。

・組織寄生症の免疫血清抗体検査：慢性寄生虫感染症に対する血清抗体検査のために、健診当日に採血した血液は遠心分離後、血清生化学検査終了まで冷蔵保存され、その後冷蔵状態で当研究室に搬送され、事後の検査に供した。また、EDTA 添加試験管で採血した血液を用いて薄層塗抹標本を作製し、ギムザ染色を施した。残りの血液はマラリア迅速診断キット(OptiMAL®, DiaMed 社)を用いて検査した。OptiMAL で陽性となった検体については Pan-R Malaria (panbio diagnostics 社)を用いて再検査し、さらに 18S rRNA をターゲットとした PCR 法を実施し、マラリア感染の有無を最終的に確認した。また、血液の一部については FTA カード(ワットマン、WB120210)を用いて DNA を保存した。健診受診者の慢性寄生虫感染症に対する血清抗体検査は dot-ELISA 法によって実施した。用いた抗原は、イヌ回虫幼虫排泄物抗原、剛棘顎口虫幼虫抗原、旋毛虫筋肉内幼虫抗原、ウエステルマン肺吸虫抗原、有鉤囊虫抗原、多包虫抗原、赤痢アメーバHK-1抗原である。

・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：(1) 超音波検査

血清抗体測定や便の虫卵検査を主目的に来場した検査参加者のうち、超音波

検査を希望した主に神奈川県に居住する外国人 187 人(男性 62 人、女性 111 人、性別不明 14 人)に対し、寄生虫感染に起因する病変検索を目的に肝・胆の超音波検査を行った。国別・性別・年齢別超音波検査受診者数は、ベトナム出身者 68 人(男性 17 人:3-59 歳、女性 39 人:16-80 歳、性別不明 12 人:5-74 歳)、ブラジル出身者 42 人(男性 14 人:5-51 歳、女性 28 人:5-78 歳)、ペルー出身者 26 人(男性 9 人:46-73 歳、女性 17 人:27-73 歳)、ボリビア出身者 24 人(男性 11 人:7-61 歳、女性 12 人:2-47 歳、性別不明 1 人:27 歳)、フィリピン出身者 12 人(男性 4 人:34-58 歳、女性 8 人:26-63 歳)、アルゼンチン出身者 5 人(男性 2 人:34 と 77 歳、女性 3 人:55-65 歳)、ナイジェリア出身者 3 人(男性 2 人:39 と 44 歳、性別不明 1 人:30 歳)、コロンビア出身者 2 人(女性 2 人:44 と 48 歳)、ニュージーランド出身者 1 人(男性 1 人:37 歳)、オーストラリア出身者 1 人(男性 1 人:44 歳)、メキシコ出身者 1 人(女性 1 人:65 歳)、チリ出身者 1 人(女性 1 人:53 歳)、イラク出身者 1 人(男性 1 人:40 歳)であった。

(2) 血清抗体検査

ELISA 法を用いて血清の住血吸虫抗体を測定した。検査に供した血清は、主として神奈川県に居住する外国人 305 人分で、OD 値 cut off を 0.200 とした。

・ 慢性期シャーガス病の調査研究: 1) 疫学調査: 主任研究者と共に、調査研究参画への同意書が得られた方々を対象に抗体検査を行った。健診で得られた血清について病原体 *T. cruzi* に対する IgG 抗体の有無をクロマト法、IHA, IFA、Dot-ELISA 法で調べた。今回はラテンアメリカ人定住者の8割を占めるブラジル人に特化して群馬県、茨城県下のブラジル人学校関係者を対象に *T. cruzi* 抗体の有無について Chagas-Stat-Pack (CHEMBIO 社) および、開発途上キット Instant-ChagasCheck (EY-Labo) を用いて検討した。常総市の健診では母国での生活環境についてのアンケート調査を行った。

2) 簡易 *T. cruzi* 抗体スクリーニングキットの開発: 既存の慢性シャーガス病患者血清(ブラジル人・ボリビア人)を用いて迅速スクリーニング用検査キットの開発を検討した。開発キットの評価は中南米諸国で既に使用されている CHEMBIO 社の CHAGAS-STAT-PACK と結果の比較検討を行った。

・ 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: (1) 慢性寄生虫症/原虫症の罹患状況の調査: 糞便内の寄生虫卵検査にはホルマリン・エーテル遠心沈澱法を用いた。また、原虫類の嚢子(シスト)の検出にはホルマリン・エーテル法の沈渣にヨード染

色を施して観察した。また、クリプトスポリジウムオーシストの検出には簡易蔗糖浮遊法をおこなった。糞便を対象にして、クリプトスポリジウムのオーシストおよびランブル鞭毛虫のシストの検出を行った。得られた沈渣を乾燥、固定した後、クリプトスポリジウムのオーシストとランブル鞭毛虫のシストに対する特異抗体を有する蛍光抗体染色液と DAPI 液にて染色を行った。落射型蛍光顕微鏡を用いて B 励起光下で観察し、クリプトスポリジウムのオーシストおよびランブル鞭毛虫のシストの検出を行った。トキソプラズマ抗体価の測定はトキソテスト-MT(栄研)をもちいておこなった。(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: 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^{-/-})マウスと野生型(WT)マウスを用いて検討した。トキソプラズマは弱毒株である深谷株を使用した。深谷株 10 シストを含む感染マウス脳ホモジネートをマウスに経口感染させた。感染 4 週間後及び 8 週間後にマウス脳を取り出し脳内シスト数を算定した。脳脊髄液から細胞を分離し、トキソプラズマ強毒株である RH 株由来抗原を加えて 2 日間培養した。脾臓細胞も同様に培養を行い、培養終了後上清を採取し、産生されたサイトカインを CBA キット(Cytokine Beads Array; BD Bioscience)を用いて定量した。また、細胞内の IFN- γ 染色も行い、FACS Calibur を用いて検出をおこなった。

CD8⁺ T 細胞の分離は脾臓細胞懸濁液をモノクローナル抗体とマグネチックビーズ(Dynabeads M-450, Dynal)、ナイロンウールカラムなどを用いておこなった。得られた CD8⁺ T 細胞の純度は 95%以上であった。マウス腹腔細胞にトキソプラズマ抗原を加えて培養し、PKH67 で標識した後ターゲット細胞として細胞傷害性試験をおこなった。CD8⁺ T 細胞による傷害性の評価は 7-AAD に染色される細胞の割合を使用した。

C 研究結果

C-1 健診実施による実態調査研究

(健診結果概要資料を参照)

C-1-1 受診者のプロフィール

平成 19 年度(2 回)

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。

平成 20 年度(5 回)

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。

平成 21 年度(2 回)

平成 21 年 9 月 6 日の健診では 92 名(男 40 名、女性 52 名)、11 月 29 日の健診では 89 名(男性 36 名、女性 53 名)の受診者があり、受診者総数は 181 名(男性 76 名、女性 105 名)であった。

平成 19 年度~21 年度(9 回)の総計

3 年間の受診者は、総計 515 名(男性 196 名、女性 288 名、不明 31 名)であった。このうち、中南米出身者 298 名(アルゼンチン国籍 5 名(男 2/女 3)、コロンビア国籍 2 名(男 0/女 2)、チリ国籍 1 名(男 0/女 1)、ドミニカ国籍 2 名(男 2/女 0)、ブラジル国籍 220 名(男 89/女 131)、ペルー国籍 41 名(男 14/女 26/不明 1)、ボリビア国籍 26 名(男 12/女 12/不明 2)、メキシコ国籍 1 名(男 0/女 1)、アジア出身者 196 名(韓国国籍 1 名(男 0/女 1)、カンボジア国籍 1 名(男 0/女 1)、スリランカ国籍 12 名(男 8/女 0/不明 4)、タイ国籍 18 名(男 5/女 13)、日本国籍 16 名(男 9/女 7)、フィリピン国籍 61 名(男 21/女 40)、ベトナム国籍 87 名(男 24/女 47/不明 16)、その他の地域出身者 8 名(タンザニア国籍 1 名(男 1/女 0)、ナイ

ジェリア国籍 4名(男3/女0/不明1)、オーストラリア国籍 1名(男1/女0)、ニュージーランド国籍 1名(男1/女0)、イラン国籍 1名(男1/女0)、国籍不明13名(男3/女3/不明7)であった。血液あるいは血清検体採取の採血応諾者 473名、糞便検体提出者は 263名、蟯虫検査テープ提出者は 114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、表および図の通りである。

C-1-2 検査結果

採血応諾者は 473名(男181/女269/不明23)であり、免疫学的血清診断陽性者はのべ105名であった。内訳は、抗マラリア抗体陽性者2名(ブラジル国籍1名、ペルー国籍1名)、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19名(ブラジル国籍2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10名(ブラジル国籍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5名(ブラジル国籍3名、ペルー国籍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3名(ブラジル国籍2名、ナイジェリア国籍1名)、抗多包虫症抗体陽性者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、国籍不明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44名(重複感染を除けば41名)となり、在留外国人の8.7%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263名(男109/女141/不明13)であり、糞便検査陽性者は16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5名(ブラジル国籍3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、263名中16名が陽性すなわち6.1%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。なお、肛門セロファンテープ法では、115名のうち1

名(日本国籍)から蟻虫の虫卵が検出された。

平成19年度と20年度の健診事業では、結果返却会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名もいた。このことを重く受け止め、平成21年度には、ブラジル人学校に対しては返却会参加への呼び掛けや、返却会で受け取れなかった方へのフォローアップを依頼した。その結果、全ての検査結果を返却することができた。

C-2 教育講演会

C-2-1 講演会の概要

3回の講演会を同様の内容で行った。

概要は次の通りである。

第1回 藤沢市講演会 後援:藤沢市

日時 平成21年9月5日(土)午後3時開場 3時半開演(5時半まで)

会場 藤沢市保健所 3階大会議室(藤沢市鶴沼2131-1)

宮平 リーシュマニア症

竹内 シャーガス病

赤尾 食べ物やペットから感染する寄生虫感染症

大西 サナダムシ・マラリア

高本 日和見感染症・下痢症

第2回 大和市講演会 後援:大和市、(社)大和市医師会

日時 平成21年10月3日(土)午後3

時開場 3時半開演(5時半まで)

会場 大和市保健福祉センター4階講習室(大和市鶴間1-31-7)

宮平 リーシュマニア症

三浦 シャーガス病

竹内 食べ物やペットから感染する寄生虫感染症

中村 サナダムシ、マラリア

高本 日和見感染症・下痢症

第3回 横浜市講演会 後援:横浜市医師会

日時 平成21年10月10日(土)午後3時開場 3時半開演(5時半まで)

会場 TKP 横浜駅西口ビジネスセンター 横浜谷川ビルディング ANNEX 地下2階カンファレンスルーム 3(横浜市神奈川区鶴屋町2-24-1)

宮平 リーシュマニア症

三浦 シャーガス病

赤尾 食べ物やペットから感染する寄生虫感染症

大西 サナダムシ・マラリア

高本 日和見感染症・下痢症

なお、講演会で使用したスライドの一部を(資料ガイドライン)に掲載した。

C-2-2 アンケートの結果

大和市および横浜市における教育講演会では、来場した聴衆を対象にアンケートを実施した。概ね講演会の内容に満足したこと、聴衆は主に医療関係者であつ

たことが伺える。その集計結果を次に示す。(参加者 41 名のうち回答者 35 名、回収率 85%、一つの質問に対して複数の選択肢を回答した場合有り)

Q1 本講演を何でお知りになりましたか。

1 ポスターやチラシ	24
2 メーリングリスト	5
3 関係者から直接	3
4 その他	2
(神奈川県臨床検査技師会の会報 1、 大学の先生から 1)	
無回答	1

Q2 よろしければ職業を教えてください。

1 学生	0
2 医療関係者	26
3 研究・教育職	3
4 行政職	2
5 その他	4
(無職 1、医療通訳 1、団体職員(全く医療と関係していない団体)1)	

Q3 講演内容はいかがでしたか。

リーシュマニア症

1 簡単すぎた	1
2 やや易	0
3 適当	32
4 やや難しい	3
5 難解	0
・現地の隔離の状況よりも、不明熱で来院された外国人の患者を診た時に、い	

つ、何をもって疑い始めたら良いかの方が欲しい情報です。

・よくわかりました。外国からの方に対する配慮がなされていたと思います。

シャーガス病

1 簡単すぎた	0
2 やや易	0
3 適当	31
4 やや難しい	5
5 難解	0

・よくわかりました。サシガメの標本を見られたのは貴重でした。

・少々長かったです。

食べ物やペットから感染する寄生虫感染症

1 簡単すぎた	1
2 やや易	3
3 適当	31
4 やや難しい	0
5 難解	0
無回答	1

・私が授業で話していることに信頼度がアップしたと思いました。単純におもしろかったです。

・わかりやすかったです。復習もできたし、新たな知識も得ることができた。

サナダムシ、マラリア

1 簡単すぎた	2
2 やや易	11
3 適当	22
4 やや難しい	0

5 難解 0
無回答 1

・もっと時間があつたら、色々な症例について教えて頂きたかったです。大変わかりやすい説明ありがとうございました。

・2 つとも大好きなので楽しく拝聴しました。

・わかりやすかった。

・12 年前、ベトナム旅行中に(アメーバ(回細菌性だったかも))赤痢に感染した際、墨東病院に入院し、大西先生のお世話になったことがあります。(今日は大西先生の姿を拝見したく、参加させていただきました。)相変わらずの話しぶりで楽しめました。

日和見感染症・下痢症

1 簡単すぎた 1

2 やや易 3

3 適当 28

4 やや難しい 3

5 難解 0

無回答 1

・下痢をしたらプールに行かない！ そりゃそうだと思いつつ説得力がありました。

Q4 講演は全般的に役に立ちましたか。

1 大変役に立った 21

2 まあまあ 11

3 どちらともいえない 2

4 あまり役にたたなかった 1

5 全く役に立たなかった 0

Q5 全体を通して、ご意見・ご感想がありましたらお聞かせ下さい。

・大変有意義な講演でした。今後も、このような講演会が開催されれば是非参加したいと思います。

・寄生虫の講演をまた聞きたいです。

・身近に色んな病気があって、これから注意するようにします。

・日本海裂頭条虫は魚の生食をする日本人に多いと思います。犬回虫も日本国内での問題です。外国人の多い自治体での移民による寄生虫の侵入、及び、外国人が発症した時の対応が今日の主旨と思いましたが、それ以外の内容もとても多かったです。寄生学的な視点からの話し方が多く、臨床的な視点からの話が望まれます。

・素晴らしい講演であった。

・大変良かったです。また参加させて頂きたいです。ありがとうございました。

・大変勉強になりました。ありがとうございました。日本に移住してくる外国人(日本人)に目をつけた検査結果に興味を感じました。

・とてもわかりやすく話していただき理解できました。

・とても興味深くおもしろかった。

・ありがとうございました。

・ありがとうございました。

日本の医療従事者の方々に寄生虫の知識がより浸透し、医療判断を誤らないよう願います。

C-3. ガイドラインの作成

全国地方自治体に配布するガイドラインを資料に示す。

C-4. 基盤研究

詳細は分担研究報告書に示すが、要約すると下記の通りとなる。

・シャーガス病感染制御手法の新規開発：組換えウイルスベクター三種免疫手法は、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- γ 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(2)の三種免疫手法は二種免疫手法に比べて、血中出現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。

・マalaria感染制御手法の新規開発：TSSA エピトープである H-2K^b 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alaria原虫である *Pyoelii*

の DHFR 領域に相同組換えにより導入し、ゲノム DNA のサザンブロットニングにより組込み部位の確認を行った。組換えマalaria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alaria原虫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- γ 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alaria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alaria原虫をマウスに感染させた後、クロロキンによる治癒後に抗原特異的 CD8T 細胞が誘導されてい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2週間後に組換えワクシニアウイルスを接種、さらに12週間後に各組換えマalaria原虫の接種を行った。各マalaria原虫を接種した未処理マウスおよび野生型を接種した免疫マウスにおいて著しい生存率の低下が認められ、エピトープ発現マalaria原虫を接種した免疫マウスにおいては生存率が改善したが、コントロールの免疫群およびコントロ

ールマラリア原虫接種においても非特異的な防御効果が認められた。この両群の比較では、抗原特異的 CD8T 細胞の誘導による感染防御効果は認められなかった。すでに樹立している TSSA 抗原特異的 CTL の移入実験によっても感染防御効果は認められなかった。さらに、Prime/Boost 法と TSSA 抗原特異的 CD8T 細胞移入の組み合わせによる効果を検討したが、抗原特異的 CD8T 細胞による感染制御能は認められなかった。

・ 組織寄生症の免疫血清抗体検査：平成19年度から平成21年度の3年間に検診に参加した在留外国人は合計515名で、このうち、血液あるいは血清の採取に同意した受診者は492名であった。何らかの寄生虫抗体に対して陽性と判定された検体は38検体(7.7%)であった。そのうち、トキソカラ抗体に陽性を示したものが20検体と最も多かった。また、市販のマラリア抗体検査キットで陽性となったものは2検体で、その国籍はナイジェリアとブラジルであった。これら2検体については薄層塗抹ギムザ染色標本によりマラリア原虫の有無を検査したが原虫は認められなかった。さらに、OptiMALを用いて原虫抗原の有無を検査したが、これについても血液中のマラリア抗原は陰性であった。

・ 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：肝・胆の超音波異常所見として、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。また、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。ペルー、ベトナム出身者に胆石が観察され、いずれも無症候性の胆石保有者であった。1人のベトナム出身の女性で、無症候性の脂肪肝と胆石の両者合併が観察された。血清住血吸虫抗体の測定では、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。

・ 慢性期シャーガス病の調査研究：結果は茨城県常総市および、群馬県大田のいずれの検診でも *T. cruzi* 抗体陽性者は居なかった。常総市で行った健診アンケートから成人の平均年齢が 37 歳であった。常総市の健診で判ったことは 63.8%がサンパウロ州出身、12.0%がパラナ州、ミナス州が 3.6%その他 7.3%であり。既に日本生まれが 13.3%も居ることが判明した。迅速キットの開発について

は在日ラテンアメリカ人のシャーガス病患者血清、血液、および保存血清(ブラジル現地採血)の材料を用いて、検討を行った。その結果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。

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: 慢性寄生虫症/原虫症の罹患状況の調査: 216 名のうち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いなかった。

Entamoeba (E. histolytica か dispar は不明)

Brasil 3(うち 1 名は Giardia+, Crypto+)

Peru 1

Bolivia 1

Viet nam 1(血清でも陽性)

Giardia

Brasil 3(うち 1 名は Entamoeba+, Crypto+)

Bolivia 1

Peruana 1

Cryptosporidium

Brasil 1(Entamoeba+, Giardia+)

Viet nam 5

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。

21 年度に実施したピンテープをもちいた蠕虫卵検査において、陽性者は 115 名中 1 名であった。

また、血清学的診断によるトキソプラズマ陽性者は 340 名中 99 名であった。特に南米出身者において感染率が高い傾向を示した。感染率は 20 歳以下で低く 60 歳以上で特に高い傾向を示した。男女間の差は特にみられなかった。陽性血清で高い抗体価を示す例が多く見られたため、輸血によるトキソプラズマ感染の可能性を検討した。21 年度に採血した被験者血清約 0.5ML を、トキソプラズマを排除できない IFN- γ ノックアウトマウスに腹腔内投与し経過を観察した。いずれのマウスにおいてもトキソプラズマ感染を疑わせる衰弱や死亡などの徴候は見られなかった。また感染 8 週後の脳内にシストも検出されなかった。以上の結果から今回の検診に参加していただいたような健常人からの輸血によるトキソプラズマ感染の可能性はほとんどないと考えられた。

D 考察

D-1. 健診実施による実態調査研究 (最終評価会議用スライド参照)

3年間に行った9回の健康診断で、血清抗体陽性者 8.7%、糞便虫卵陽性者 6.1%、蟯虫卵陽性者 0.9%という結果が得られた。しかし、寄生虫罹患を特に疑う臨床所見、居住歴、食生活は問診で確認できなかった。

日本の衛生環境や媒介昆虫の生息分布を考慮すれば、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。

寄生虫感染症の罹患を見極めるには、多くの場合糞便の虫卵検査が重要である。我々は、事前に糞便採取容器を配布し、健診当日に持参いただくようにしたが、回収率は、51%(515名中263名)に留まった。今後、改善すべき課題である。糞便採取容器を配布する際に、糞便検査の重要性を効果的に強調する必要があるであろう。

平成19年度と20年度の健診事業で、結果返却会に受け取りに来ない在留外国人は4割にのぼった。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出来ず実態把握が不可能になるという事態を招き得る相矛盾する事案が存在している。本健康事案では、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、ガイドラインに沿って健康診断を行う折に何らかの対応が必要になると考えられた。

在留外国人が日常診療をうけている医療機関が必ずしも存在しない場合、その地方自治体でどのように健康診断を行うかという課題が残る。

D-2. 教育講演会

アンケートの結果からも推測されるように、聴衆は、概ね講演会の内容に満足し、慢性寄生虫感染症の理解を深めて頂けたと考えている。ただし、聴衆は主に医療関係者であり、行政関係者、在留外国人に対する教育という点では、不十分であった。一般の方々にとっても敷居が高くないような構成、用語の使い方等に配慮する必要があるだろう。

D-3. ガイドラインの作成

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、外国人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。

平成21年度には、3年間の健康診断および教育講演会の活動をもとに、研究班としてガイドラインの案を作成した。これをもとに神奈川県大和市、藤沢市と協議を行い、行政側からの貴重な助言を得、修正を加えてガイドラインを完成させつつある。今後、このガイドラインを全国自治体に配布し、慢性寄生虫感染症の管理を推進出来るように啓発活動を行っていく予定である。

D-4. 基盤研究

詳細は分担研究報告書に記すが、以下に要約を記す。

- ・ シャーガス病感染制御手法の新規開発： 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の検討では、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。