

(Osoegawa *et al.*, 2001). However, a precise diagnosis of these animal-borne ascarid infections is not always possible and an adequate anthelmintic therapy against these infections was not available. The lack of a comprehensive study using animal models for ascarid infections has also prevented progress in this field.

The Mongolian gerbil *Meriones unguiculatus* is known to be susceptible to a variety of parasites including *Brugia pahangi* (Ash & Riley, 1970), *Strongyloides stercoralis* (Nolan *et al.*, 1993), *Nippostrongylus brasiliensis* (Horii *et al.*, 1993), and *Entamoeba histolytica* (Chadee & Meerovitch, 1984). Akao *et al.* (2000) and Takayanagi *et al.* (1999) demonstrated that gerbils could serve as an animal model for ocular toxocarosis due to both *T. canis* and *T. cati*. The occurrence of retinal haemorrhages including larval invasion into the retina was found to be quite high compared with that in mice after oral inoculation of infective eggs. However, no information is available on the migration route, the final site of infection, or on the pathogenesis of ascarid larvae in gerbils. Here, we present our findings on the characteristic features of ascarid infections in gerbils as they relate to the pathogenesis of VLM in humans.

### Materials and methods

Mongolian gerbils *Meriones unguiculatus* ranging between 2 and 3 months of age, were raised in the Animal Centre of Nippon Medical University and were maintained under pathogen-free conditions. Only male gerbils with black hair were used and all experiments were carried in accordance with the guidelines of the Institutional Animal Care and Use Committee of Tokyo Medical and Dental University.

#### Recovery of ascarid eggs

Eggs of *T. canis* were obtained from the uteri of adult worms collected from faeces following the administration of anthelmintics to naturally infected puppies. Worms of *B. procyonis* were recovered from the intestine of infected racoons (Sato *et al.*, 2002), and those of *B. transfuga* collected from the faeces of infected bears. Worms of *B. transfuga* were naturally expelled from bears during their fasting period just prior to hibernation. Adult worms of *A. suum* were obtained from slaughtered pigs and *A. lumbricoides* were collected after treatment with anthelmintics from naturally infected humans. Female worms of each species were isolated, and matured embryonated eggs were prepared following the method of Oshima (1961).

Fully embryonated eggs were treated with 50% hypochlorous acid for 10 min to remove their proteinous membranes. After repetitive washing with distilled water, 1000 eggs of each ascarid were inoculated into each gerbil through a gastric tube under light anaesthesia.

#### Recovery of larvae

After ophthalmological observations (Takayanagi *et al.*, 1999), four gerbils from each group were sacrificed using sodium pentobarbital at predetermined intervals. One gerbil from each group was examined histopathologically

and the remainder were used for larval recovery from the gastrointestinal tract, liver, lungs with heart, and skeletal muscle including bone and genital organs except for the skin. The contents of the gastrointestinal tract were collected in a conical tube at 6 and 12 h after inoculation. Each organ was minced and digested with artificial gastric juice (0.5% 1:10,000 pepsin, 0.7% hydrochloric acid) for 2 h at 37°C along with vigorous agitation. After digestion, the fluids were sieved with a tea strainer, and centrifuged at 320 × g for 5 min. The supernatant was discarded and a small amount of distilled water was added to the tube. The sediment was then spread out on glass, and larvae in the fluid were counted using a stereoscopic microscope. Examination of the brain tissue was performed as follows: each brain including the olfactory bulb, cerebrum, cerebellum, and pons was enucleated and minced into small pieces (approximately 2 mm<sup>3</sup>) on a slide glass using forceps, and these were then covered with another slide glass. Migrating larvae were then counted using a microscope with eight or nine slide glasses being examined in each sample. Recovery rates were calculated from a mean of three gerbils at each period.

#### Histopathology

Tissue samples of liver, lungs, femoral muscle, brain, and gastrointestinal tract including the stomach, duodenum, ileum, caecum and rectum were fixed in 10% neutral formalin solution. Serial sections were prepared and stained with haematoxylin and eosin or periodic acid Schiff haematoxylin.

### Results

Changes in the recovery rates of larvae from various organs after oral inoculation of the five ascarid species were recorded (fig. 1) and recovery rates arranged in the order of the migration route shown in fig. 2. In *Toxocara canis*-infected gerbils, almost all larvae were recovered from the intestinal wall up to 24 h after infection. Thereafter, larvae began to appear in the liver and lungs (by day 3), and then in the skeletal muscle and brain. The number of larvae in the muscle and brain were approximately equal. Macroscopically, haemorrhagic lesions which were observed in the lung 3, 5, 7 and 14 days after infection gradually disappeared. Ophthalmoscopically, a motile larva was observed in the retina 14 days after infection.

In *B. procyonis*- and *B. transfuga*-infected gerbils, the recovery rates of larvae were significantly lower than that in the case of *T. canis*. Both species of larvae had migrated into the lungs through the liver within 24 h after infection, and some had already arrived in the brain by this time, resulting in small haemorrhagic foci in the brain (fig. 3). With *B. procyonis*, ocular invasion by the larvae was observed and neurological disorders such as rotational and involuntary movement or paraplegia emerged, resulting in the mortality of gerbils between days 15 and 20 post-infection. Macroscopically, the gerbils exhibited fresh petechial haemorrhages of the lung 1 day after infection, but no new haemorrhagic lesions were evident beyond that time. Ophthalmic examination

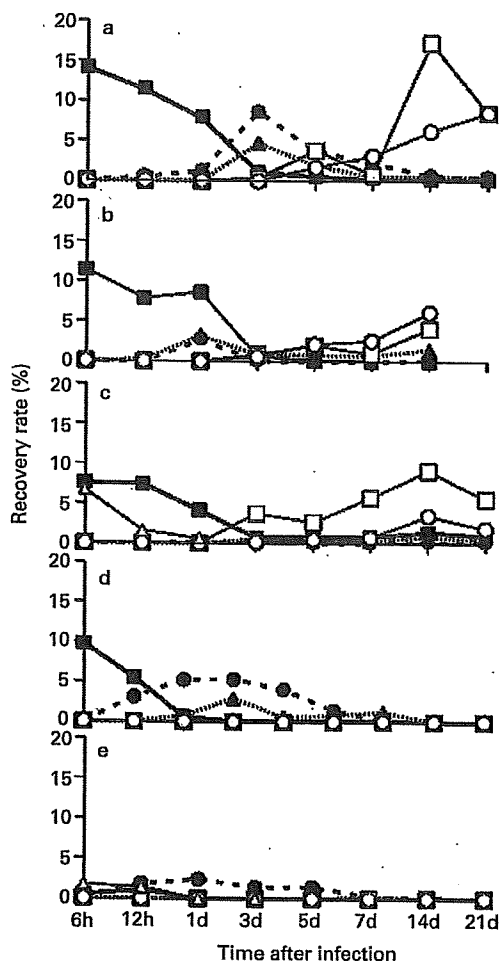


Fig. 1. Recovery rates (%) of larvae from various organs in gerbils after oral inoculation with five ascarid species up to day 21 post-infection. a, *Toxocara canis*; b, *Baylisascaris procyonis*; c, *B. transfuga*; d, *Ascaris suum*; e, *A. lumbricoides*; ■, gastrointestinal tract; ●, liver; ▲, lung and heart; □, muscles; ○, brain; △, intestinal contents.

demonstrated motile larvae in the retina and severe chorioretinitis 7 days after infection. The number of migrating larvae of *B. procyonis* in the brain was higher than that of *B. transfuga*-infected gerbils at all times after the infection. By day 3 post-infection an average of 6.3 larvae (range 6-7) in *B. procyonis*-infected gerbils and 1.7 larvae (range 1-2) in *B. transfuga*-infected gerbils were found. By day 7, an average of 26.0 larvae (range 23-31) in *B. procyonis*-infected gerbils and 6.7 larvae (range 5-8) in *B. transfuga*-infected gerbils were recovered. Ophthalmic and neurological abnormalities were less severe than those observed with *B. procyonis*, although gait difficulty and circulatory movements in the same direction were presented by day 10 post-infection. The number of *B. transfuga* larvae in the skeletal muscle was higher than

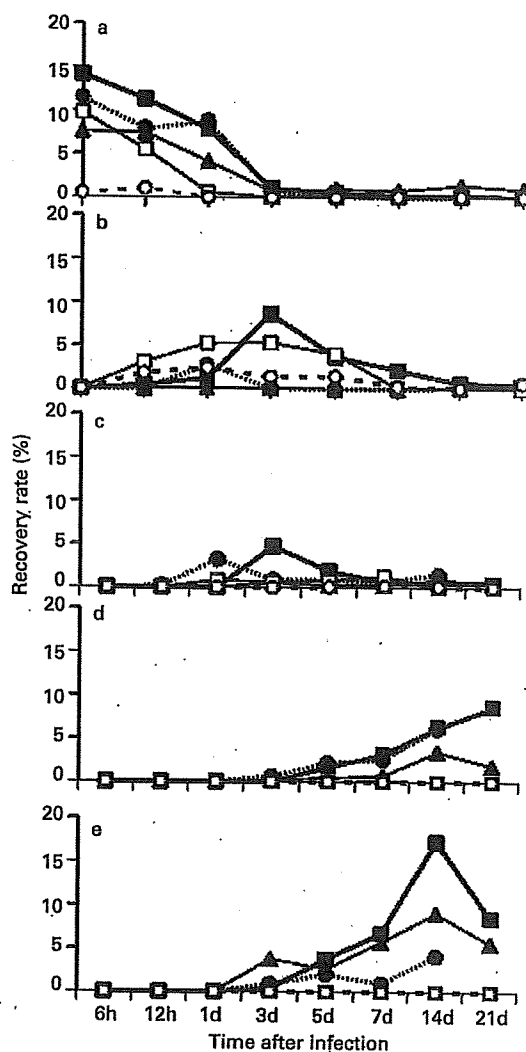


Fig. 2. Recovery rates (%) of larvae in gerbils after oral inoculation with five ascarid species to show the route of migration. ■, *Toxocara canis*; ●, *Baylisascaris procyonis*; ▲, *B. transfuga*; □, *Ascaris suum*; ○, *A. lumbricoides*; a, gastrointestinal tract; b, liver; c, lung and heart; d, brain; e, muscles.

that in the brain; i.e. an average number of larvae recovered were 37.7 (range 21-67) in muscle and 1.7 (range 1-2) in brain at the day 3 post-infection, and 91.0 (range 95-100) in muscle and 34.7 (range 24-49) in brain at the day 14 post-infection.

With *A. lumbricoides*, the average recovery rate of larvae after 6 h of infection was 2.3% (range 1.7-2.6%) compared with about 10% or higher in other ascarid parasites (14.1% in *T. canis*, 11.4% in *B. procyonis*, 16.3% in *B. transfuga* and 9.7% in *A. suum*; fig. 1a). Migrating larvae were present in the liver 12 h after infection, and remained there for up to 5 days after infection in the case of *A. lumbricoides* and

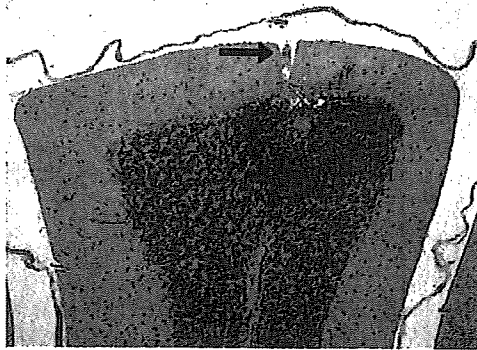


Fig. 3. A fresh haemorrhagic lesion in the granular layer of the cerebellum in gerbils 24 h after infection with *Baylisascaris procyonis*; larva (arrowed) in the molecular layer of cerebellum immediately beneath the pia mater.

7 days in the case of *A. suum*. On day 7, haemorrhagic lesions in the lungs were the most prominent feature in gerbils infected with both species, although these lesions gradually disappeared and no larvae were recovered thereafter from any organ.

As far as the migration route is concerned, the highest recovery rate in the gastrointestinal wall occurred in *T. canis*-infected gerbils followed by *B. procyonis*-, *A. suum*-, and *B. transfuga*-infected gerbils 6 h after infection. Larvae of both species of *Ascaris* immediately migrated away from the intestinal wall to the liver within 24 h after infection, with *Toxocara* and *Baylisascaris* larvae remaining there until the end of experiment. *Ascaris lumbricoides* larvae were minimally recovered from not only the gastrointestinal tract but also from other organs throughout the experiment. The recovery rate of ascarid larvae from the brain was high in the case of *T. canis* (3.1%) and *B. procyonis* (2.6%) at day 7 post-infection as compared with *B. transfuga* (0.7%), even though *B. procyonis*-infected gerbils did not survive until the end of the experiment. On the other hand, no *A. lumbricoides* larvae were found and only one *A. suum* larva was observed on day 7 post-infection. The recovery rate from skeletal muscles was high in the case of *T. canis* and *B. transfuga*, although the number of muscle stage larvae of *B. transfuga* was always higher than that in *B. procyonis*.

### Discussion

Takayanagi *et al.* (1999) demonstrated that the Mongolian gerbil is a suitable animal model for ocular toxocariasis because of the high incidence of ocular invasion by the larvae. However, little is known about the migratory behaviour or pathogenesis of ascarid larvae in gerbils. In the present study, *T. canis* larvae migrated to the liver within 3 days after infection, and were thereafter distributed equally in skeletal muscles and the brain. These results are similar to those of Olson (1962) and Sprent (1952), suggesting that the migration route and final site of infection have little influence on the development of ocular toxocariasis in gerbils.

In the present study, *B. procyonis* larvae more so than *B. transfuga* were likely to accumulate in the brain and all

gerbils infected with *B. procyonis* died from severe neurological disturbances within 2 weeks after infection. On the other hand, gerbils infected with *B. transfuga* survived throughout the duration of the experiment, despite exhibiting neurological disorders. The number of *B. transfuga* muscle stage larvae was always higher than in *B. procyonis*-infected gerbils. Sato *et al.* (2004) reported that the *B. procyonis* and *B. transfuga* larvae that had migrated into the brain of gerbils were larger than those of *T. canis*; however, no significant differences in larval size were observed between *B. procyonis* and *B. transfuga*. These results suggest that severe neurological disorders caused by *B. procyonis* could be attributed to the total amount of larvae in the brain. Additionally, these findings suggest that *B. procyonis* larvae may have a neurotropism, whereas *B. transfuga* larvae may have an affinity for muscular tissue. Further studies are needed to better understand the pathogenetic differences between *B. procyonis* and *B. transfuga* larvae in the brain of infected gerbils. Ophthalmologically, the lesions elicited by both species closely resembled each other although the incidence was extremely low in *B. transfuga*-infected gerbils. These results indicate that *B. transfuga* should not be used as an alternative parasite for studying diffuse unilateral subacute neuroretinitis induced by *B. procyonis* in gerbils (Akao *et al.*, 2003).

In the present study, the infectivity of *A. suum* and *A. lumbricoides* in gerbils was very low, with migration to the central nervous system being minimal and no ophthalmological changes were found. Therefore, *A. suum* and *A. lumbricoides* are considered inappropriate parasites for studying ophthalmological and neurological disorders in gerbils. Severe to mild pulmonary haemorrhagic lesions were common in infected gerbils, although a complete healing of these lesions occurred in the case of *A. suum* and *A. lumbricoides*. Interestingly, no larvae were recovered from any organs of these gerbils beyond 14 days post-infection. Mouse models have shown a similar pattern (Slotved *et al.*, 1997, 1998). To further document the migratory behaviour of *A. suum* and *A. lumbricoides* larvae in gerbils after 7 days of infection, the contents of the gastrointestinal tract were examined daily between days 8 and 13 post-infection because we assumed that the larvae might return to the intestine via the larynx and pharynx. However, no larvae were detected (data not shown), suggesting their rapid expulsion from infected gerbils.

Further studies are needed to more fully elucidate the migration behaviour and pathogenesis of *T. cati* so that we may potentially improve the therapy against this important zoonotic parasite of human VLM (Akao *et al.*, 2000; Fisher, 2003).

### Acknowledgements

The authors are grateful to Drs Masanori Kawanaka, Hiroshi Sugiyama, and Yasuyuki Morishima for providing some of the *B. procyonis* eggs in this study.

### References

- Akao, N., Takayanagi, T.H., Suzuki, R., Tsukidate, S. & 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*. *Journal of Parasitology* 86, 1133–1135.
- Akao, N., Hayashi, E., Sato, H., Fujita, K. & Furuoka, H. (2003) Diffuse retinochoroiditis due to *Baylisascaris procyonis* in Mongolian gerbils. *Journal of Parasitology* 89, 174–175.
- Aragane, K., Akao, N., Matsuyama, T., Sugita, M., Natsuaki, M. & Kitada, O. (1999) Fever, cough, and nodules on ankles. *Lancet* 354, 1872.
- Ash, L.R. & Riley, J.M. (1970) Development of *Brugia pahangi* in the jird, *Meriones unguiculatus*, with notes on infections in other rodents. *Journal of Parasitology* 56, 962–968.
- Chadee, K. & Meerovitch, E. (1984) The Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) as an experimental host for *Entamoeba histolytica*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 33, 47–54.
- Fisher, M. (2003) *Toxocara cati*: an underestimated zoonotic agent. *Trends in Parasitology* 19, 167–170.
- Glickman, L.T. & Magnaval, J.F. (1993) Zoonotic roundworm infections. *Infectious Disease Clinics of North America* 7, 717–732.
- Glickman, L.T., Magnaval, J.F., Domanski, L.M., Shofer, R.S., Lauria, S.S., Gottstein, B. & Brochier, B. (1987) Visceral larva migrans in French adults: a new disease syndrome? *American Journal of Epidemiology* 125, 1019–1034.
- Horii, Y., Khan, A.I. & Nawa, Y. (1993) Persistent infection of *Strongyloides venezuelensis* and normal expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* in Mongolian gerbils, *Meriones unguiculatus*, with reference to the cellular responses in the intestinal mucosa. *Parasite Immunology* 15, 175–179.
- Huff, D.S., Neafie, R.C., Binder, M.J., De Leon, G.A., Brown, L.W. & Kazacos, K.R. (1984) Case 4. The first fatal *Baylisascaris* infection in humans: an infant with eosinophilic meningoencephalitis. *Pediatric Pathology* 2, 345–352.
- Kuchle, M., Knorr, H.L., Medenblik-Frysch, S., Weber, A., Bauer, C. & Naumann, G.O. (1993) Diffuse unilateral subacute neuroretinitis syndrome in a German most likely caused by the raccoon roundworm, *Baylisascaris procyonis*. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 231, 48–51.
- Maruyama, H., Nawa, Y., Noda, S., Mimori, T. & Choi, W.Y. (1996) An outbreak of visceral larva migrans due to *Ascaris suum* in Kyushu, Japan. *Lancet* 347, 1766–1767.
- Moertel, C.L., Kazacos, K.R., Butterfield, J.H., Kita, H., Watterson, J. & Gleich, G.J. (2001) Eosinophil-associated inflammation and elaboration of eosinophil-derived proteins in two children with raccoon roundworm (*Baylisascaris procyonis*) encephalitis. *Pediatrics* 108, E93.
- Nolan, T.J., Megyeri, Z., Bhopale, V.M. & Schad, G.A. (1993) *Strongyloides stercoralis*: the first rodent model for uncomplicated and hyperinfective strongyloidiasis, the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Journal of Infectious Diseases* 168, 1479–1484.
- Olson, L.J. (1962) Organ distribution of *Toxocara canis* larvae in normal mice and in mice previously infected with *Toxocara*, *Ascaris* or *Trichinella*. *Texas Reports on Biology and Medicine* 20, 651–657.
- Oshima, T. (1961) Standardization of techniques for infecting mice with *Toxocara canis* and observations on the normal migration routes of the larvae. *Journal of Parasitology* 47, 652–656.
- Osoegawa, M., Matsumoto, S., Ochi, H., Yamasaki, K., Horiuchi, I., Kira, Y.O., Ishiwata, K., Nakamura-Uchiyama, F. & Nawa, Y. (2001) Localised myelitis caused by visceral larva migrans due to *Ascaris suum* masquerading as an isolated spinal cord tumour. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 70, 265–266.
- Sakakibara, A., Baba, K., Niwa, S., Yagi, T., Wakayama, H., Yoshida, K., Kobayashi, T., Yokoi, T., Hara, K., Itoh, M. & Kimura, E. (2002) Visceral larva migrans due to *Ascaris suum* which presented with eosinophilic pneumonia and multiple intra-hepatic lesions with severe eosinophil infiltration – outbreak in a Japanese area other than Kyushu. *Internal Medicine* 41, 574–579.
- Sato, H., Furuoka, H. & Kamiya, H. (2002) First outbreak of *Baylisascaris procyonis* larva migrans in rabbits in Japan. *Parasitology International* 51, 105–108.
- Sato, H., Matsuo, K., Osanai, A., Kamiya, H., Akao, N., Owaki, S. & Furuoka, H. (2004) Larva migrans by *Baylisascaris transfuga*: fatal neurological diseases in Mongolian jirds, but not in mice. *Journal of Parasitology* 90, 774–781.
- Slotved, H.C., Eriksen, L., Murrell, K.D. & Nansen, P. (1997) Comparison of methods for recovery of *Ascaris suum* larvae from tissues of mice. *International Journal for Parasitology* 27, 1305–1310.
- Slotved, H.C., Eriksen, L., Murrell, K.D. & Nansen, P. (1998) Early *Ascaris suum* migration in mice as a model for pigs. *Journal of Parasitology* 84, 16–18.
- Sprent, J.F.A. (1952) On the migratory behavior of the larvae of various *Ascaris* species in white mice. 1. Distribution of larvae in tissue. *Journal of Infectious Diseases* 90, 165–176.
- Takayanagi, T.H., Akao, N., Suzuki, R., Tomoda, M., Tsukidate, S. & Fujita, K. (1999) New animal model for human ocular toxocariasis: ophthalmoscopic observation. *British Journal of Ophthalmology* 83, 967–972.
- Wise, M.E., Sorvillo, F.J., Shafir, S.C., Ash, L.R. & Berlin, O.G. (2005) Severe and fatal central nervous system disease in humans caused by *Baylisascaris procyonis*, the common roundworm of raccoons: a review of current literature. *Microbes and Infection* 7, 317–323.
- Yoshida, M., Shirao, Y., Asai, H., Nagase, H., Nakamura, H., Okazawa, T., Kondo, K., Takayanagi, T.H., Fujita, K. & Akao, N. (1999) A retrospective study of ocular toxocariasis in Japan: correlation with antibody prevalence and ophthalmological findings of patients with uveitis. *Journal of Helminthology* 73, 357–361.

(Accepted 28 June 2006)

© 2007 Cambridge University Press

## Identification of Human Herpesvirus 6 in a Patient With Severe Unilateral Panuveitis

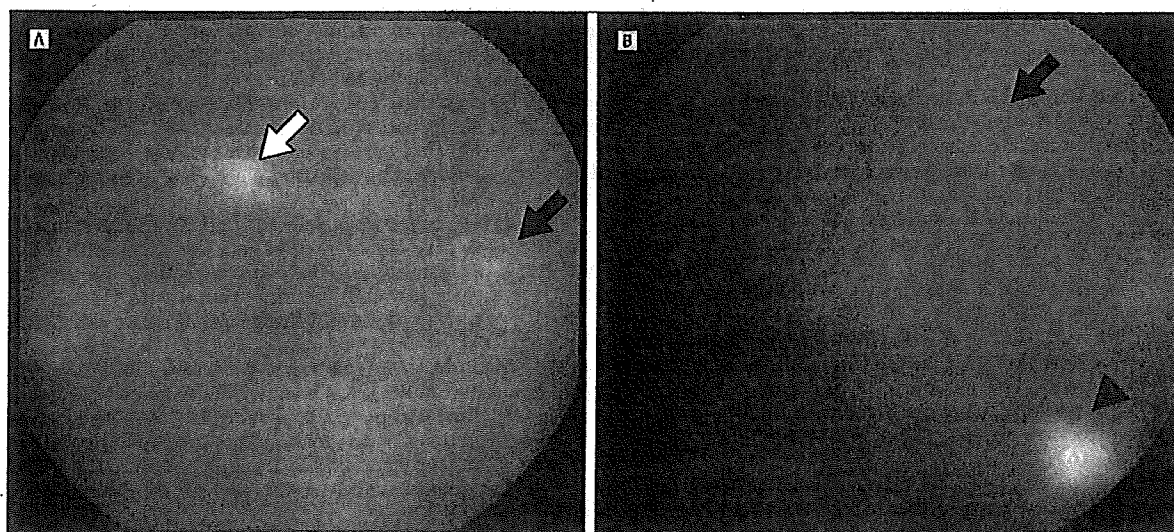
Human herpesvirus 6 (HHV-6) is a member of the HHV family<sup>1</sup> and has been associated with immunodeficiency disorders and neurologic diseases.<sup>2</sup> This widespread virus can be classified into 2 groups: variant A (HHV-6A) and variant B (HHV-6B).<sup>2</sup> Although HHV-6B is the known causative agent in exanthema subitum,<sup>3</sup> the association of HHV-6A with clinical entities is still unknown. We describe a patient with severe right-sided panuveitis and multiple subretinal lesions. The HHV-6A genome was detected in the ocular fluid of this patient.

**Report of a Case.** A 75-year-old man developed a sudden decrease in vision in the right eye in 2005. Slit-lamp examination of the right eye disclosed ciliary hyperemia, moderate mutton-fat keratic precipitates, and severely inflamed anterior chamber cells with hypopyon. Funduscopic examination of the right eye revealed dense vitreous opacities, optic disc swelling, yellowish-white massive retinal lesions measuring approximately 1.5 optic disc diameters, and whitish retinal exudates (Figure 1). The left eye was normal. Results of all sys-

temic examinations, including serologic testing for human immunodeficiency virus, were negative, and results of serologic testing for HHVs (herpes simplex virus, varicella zoster virus, Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and HHV-6) were positive except for varicella zoster virus. On the basis of the ocular manifestations, a viral infection was suspected. After informed consent was obtained, an aliquot of aqueous humor and an aliquot of peripheral blood were collected and examined for further investigations. Immunoglobulin G for *Toxocara* larval excretory-secretory antigen in the aqueous humor and serum was detected using an anti-*Toxocara* antibody detection kit.<sup>4</sup> A multiplex polymerase chain reaction demonstrated HHV-6 genomic DNA in both samples but not other HHVs (herpes simplex virus type 1 or 2, varicella zoster virus, Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, HHV-7, or HHV-8). To acquire quantitative data, a real-time polymerase chain reaction was performed at different stages of the clinical course. In the acute phase with active inflammation, a high copy number for the HHV-6 DNA was detected in the samples (aqueous humor:  $2.4 \times 10^6$  copies/mL; serum:  $5.4 \times 10^6$  copies/mL). Because the patient indicated that there was progression of intraocular inflammation, right eye di-

agnostic pars plana vitrectomy was performed. A high copy number for the HHV-6 genome was detected in the vitreous fluid, retinal membrane, and peripheral blood mononuclear cells. In addition, IgG for *Toxocara* larval excretory-secretory antigen in the vitreous was also detected. These data led us to make the diagnosis of panuveitis related to a *Toxocara canis* larva or an HHV-6 infection. Next we examined whether the HHV-6 infection was indicative of variant A or variant B. A high number of copies of HHV-6A was detected in the samples, and the HHV-6A genome was detected after antiviral valganciclovir hydrochloride treatment associated with systemic corticosteroids, whereas the HHV-6B genome was not detected (Figure 2). After treatment, funduscopic examination of the right eye revealed resolution of the vitreous opacities, optic disc swelling, and retinal exudates.

**Comment.** It is difficult to be certain whether HHV-6 was the causative agent in intraocular inflammation in this patient. Anti-*Toxocara* antibodies were also detected in serum and aqueous humor and vitreous samples, the significance of which is difficult to interpret. Another hypothesis could be that HHV-6 favored *Toxocara*-generated inflammation. However, the vi-



**Figure 1.** Fundus photographs of the right eye of a patient with a human herpesvirus 6 variant A infection. A, Whitish retinal exudates (white arrow), optic disc swelling (black arrow), and dense vitreous opacities are seen. B, Retinal yellowish-white massive lesions (black arrowhead) and optic disc swelling (black arrow) are seen.

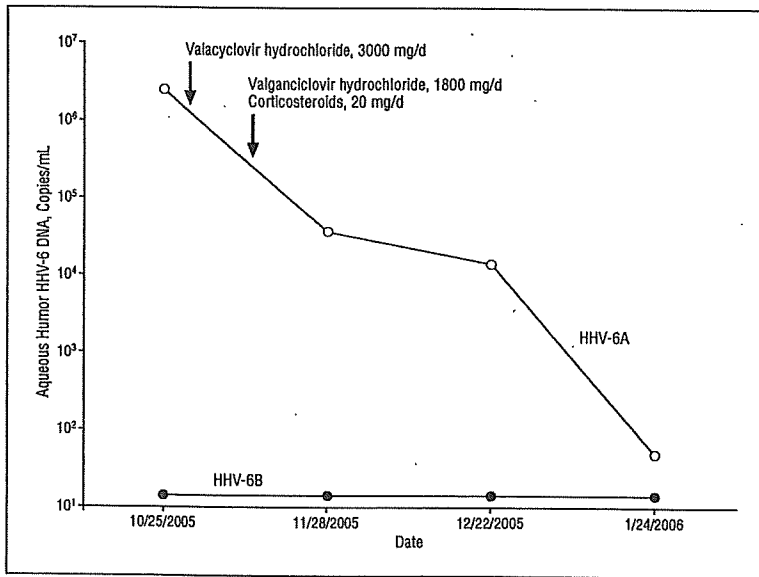


Figure 2. Serial measurement of aqueous humor human herpesvirus 6 variant A (HHV-6A) and variant B (HHV-6B) DNA levels by means of real-time polymerase chain reaction.

ral DNA and intraocular inflammation decreased in response to antiviral agents, suggesting that HHV-6A has some role in the pathogenesis of the ocular inflammation. To our knowledge, this is the first report of a case of HHV-6A associated with intraocular inflammation. These observations suggest that HHV-6A infection may have a role as a causative agent in severe intraocular inflammation.

Sunao Sugita, MD, PhD  
 Norio Shimizu, PhD  
 Tetsushi Kawaguchi, MD  
 Nobuaki Akao, PhD, DVM  
 Tomohiro Morio, MD, PhD  
 Manabu Mochizuki, MD, PhD

Correspondence: Dr Sugita, Department of Ophthalmology and Visual Science, Tokyo Medical and Dental University Graduate School of Medicine, 1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8519, Japan (sunaoph@tmd.ac.jp).

Financial Disclosure: None reported.

Funding/Support: This work was supported by Grant-in-Aid for Young Scientists (B) 18791263 from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology, Japan.

Additional Contributions: Ken Watanabe, PhD, and Miki Mizukami, PhD, provided technical assistance,

and Yoshiharu Sugamoto, MD, PhD, obtained the samples.

1. Salahuddin SZ, Ablashi DV, Markham PD, et al. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science*. 1986; 234(4776):596-601.
2. Schirmer EC, Wyatt LS, Yamanishi K, Rodriguez WJ, Frenkel N. Differentiation between two distinct classes of viruses now classified as human herpesvirus 6. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;88(13):5922-5926.
3. Yamanishi K, Okuno T, Shiraki K, et al. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. *Lancet*. 1988;1(8594):1065-1067.
4. Dubinsky P, Akao N, Reiterova K, Konakova G. Comparison of the sensitive screening kit with two ELISA sets for detection of anti-*Toxocara* antibodies. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2000;31(2):394-398.

### Severe Darkening of a Facial Skin Graft From Latanoprost

Latanoprost is a 17 phenyl-substituted analogue of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ), which decreases intraocular pressure by increasing uveoscleral outflow. Since its introduction as a topical eye medication, several authors have reported adverse effects, like subtle hyperpigmentation of periocular skin and eyelid-margin hyperemia.<sup>1</sup> Herein, we present a case of a patient using latanoprost who developed severe darkening in a facial skin graft.

**Report of a Case.** A 68-year-old woman was diagnosed with primary open-angle glaucoma in September 2002. Topical latanoprost was commenced in both eyes, with a good control of intraocular pressure. In April 2005, a malignant melanoma was surgically excised from the left side of the patient's face and skin was grafted to this area from her neck behind the ear. Histology confirmed a low-risk, superficial, spreading malignant melanoma in situ, which was excised with adequate margins. In September 2005, severe darkening of the skin graft was noted together with subtle bilateral periocular hyperpigmentation and eyelid-margin hyperemia (Figure 1). Her medication was switched from latanoprost to topical brinzolamide in both eyes with a good control of the intraocular pressure. One month after stopping latanoprost, the skin graft had lightened significantly and the subtle bilateral periocular hyperpigmentation and eyelid-margin hyperemia had resolved (Figure 2).

**Comment.** Prostaglandins increase both melanocyte dendricity and melanin synthesis in the skin. Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  stimulates the activity and expression of tyrosinase, the rate-limiting enzyme in melanin synthesis, and the  $PGF_{2\alpha}$  receptor has been shown to be up-regulated by UV radiation in melanocytes in vitro and in human skin in vivo.<sup>2</sup> Researchers have shown how proteinase-activated receptor 2 in keratinocytes plays an important role in skin pigmentation. Activation stimulates uptake of melanosomes through phagocytosis and also stimulates release of prostaglandin  $E_1$  and  $PGF_{2\alpha}$ , which stimulate melanocyte dendricity.<sup>3</sup> Prostaglandins have also been implicated in postinflammatory skin hyperpigmentation.<sup>4</sup>

Significant lightening of the skin graft together with the resolution of subtle bilateral periocular hyperpigmentation and eyelid-margin hyperemia 1 month after stopping latanoprost implies that a local adverse drug reaction to latanoprost occurred in this patient. Absorption of latanoprost into facial skin is likely to occur from tear spillover during topical application. The severe dark-

# 1. 小児のイヌ・ネコ回虫症

東京医科歯科大学大学院国際環境寄生虫病学分野 あかおのおあき  
赤尾信明



KEY WORDS

動物由来回虫症, 好酸球増多症, イヌ・ネコ回虫症, 幼虫移行症

## はじめに

動物由来の寄生虫がヒトに侵入して起きる感染症のなかで、イヌやネコの腸管内に寄生する回虫の幼虫を原因とするものをイヌ・ネコ回虫症と呼んでいる（どちらもトキソカラ属の回虫なのでトキソカラ症と呼ばれることもある）。ヒトの体内で分裂増殖することなく、1個の虫卵（幼虫包蔵卵）が経口摂取されると1隻の幼虫が体内で孵化して消化管粘膜から侵入し、肝臓や網膜、あるいは中枢神経系へと移行し、様々な症状を引き起こす。

臨床的にトキソカラ症は内臓型、眼型、中枢神経型、潜在型の4型に分けられる（表1）。以下に典型的な内臓型小児トキソカラ症を紹介する<sup>1)</sup>。

## I. 症例

患児：1歳5カ月 女児

主訴：発熱，肝腫大，好酸球増多

現病歴：1カ月前から発熱と咳嗽を認め、

近医にて上気道炎と診断され、鎮咳剤と抗生剤を処方されていた。通院中に肝腫大と好酸球増多を指摘され総合病院小児科に紹介入院となった。

入院時現症：体温39.2°C，意識清明で黄疸，全身のリンパ節腫脹や皮膚発疹は認めず，呼吸音，心音正常。肝臓は右季肋下に6cm触知し，弾性軟。脾臓は触知しなかった。胸部X線，心電図所見ともに正常で，神経学的異常も認めなかった。

入院時検査所見：白血球数61,200/mm<sup>3</sup>のうち好酸球が80%を占めていた。貧血なく血小板数は正常。血液生化学検査では軽度の肝機能障害を認め，CRPは6.0mg/dl，赤沈65mm/hrと亢進していた。γグロブリン値は正常。血液細菌培養は陰性であった。腹部超音波検査では低エコーレベルの多発性占拠病変を認め，腹部CTでは肝内に低吸収域が多数存在していた。糞便検査では虫卵陰性。患児の家庭ではペットを飼育していないが，公園での砂遊びの最中にしばしば砂を口に入れる行動があったという。

表1 トキソカラ症の病型

病型	好発年齢層	主要症状	主要検査所見
内臓型	小児・成人	発熱，肝腫大，好酸球増多，皮疹，肺炎	好酸球増多，肝肺の小結節陰影（短期間に移動消失）
眼型	小児・成人*	霧視，飛蚊症，失明	網膜中心～周辺部の白色隆起病変，ぶどう膜炎，網膜膠腫様病変。血清抗体は低値，眼内液抗体は高値のことが多い
中枢神経型	成人	四肢のしびれなど多彩	脊髄占拠性病変
潜在型	小児・成人	無症状～慢性腹痛，咳嗽，喘鳴	好酸球数は正常～やや増加，血清特異抗体は低値

\* 最近報告される症例は大部分が成人例

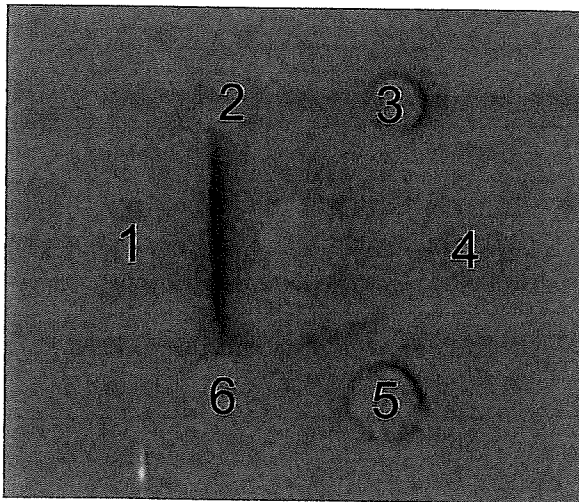


図1 寒天ゲル内二重拡散法によるトキソカラ症患者血清と寄生虫抗原との反応

1：イヌ回虫幼虫排泄物抗原，2：イヌ回虫成虫抗原，3：宮崎肺吸虫抗原，4：アニサキス幼虫抗原，5：ブタ回虫成虫抗原，6：ブタ回虫幼虫排泄物抗原

イヌ回虫幼虫特異的抗原を用いた血清中の抗体検査で強い陽性反応が見られ，トキソカラ症の診断が確定した（図1）。ジエチルカルバマジンの投薬により肝腫大は縮小傾向を示し，白血球数，好酸球数も次第に正常化した。経過中，眼科的検査では異常を認めなかった。

## II. 病原体・感染経路

糞便と共に排泄された虫卵は，約2週間でヒトへの感染力を有する幼虫包蔵卵へと発育

する。消化管内で孵化した感染幼虫は消化管壁を穿通し，毛細血管に入り門脈を經由して肝臓に運ばれる。その後，肺，心臓を通り大循環に乗って全身の筋肉や中枢神経系に移行し，最終的には肉芽腫に被囊され長期間生存する。

ヒトへの感染には，①イヌやネコの回虫卵に汚染された砂場の砂を口に入れての感染。②幼虫包蔵卵を摂取した待機宿主（ニワトリやウシ）の肝臓の生食による感染がある。前者は小児の感染経路として重要であり，後者は，健康のためと信じて生肝を食べ続けた成人や飲食店で獣肉肝臓の刺身を喫食した成人でしばしば見られる。

ヒトに感染する動物由来回虫は表2にあげたようにイヌ，ネコ回虫以外にも4種類報告されている。また，動物実験で感染が確認され，ヒトへの感染の恐れが指摘されているものも4種類ある。これらのなかで，アライグマ回虫幼虫感染症は致死的経過をたどることが知られている。

## III. 疫学

これまでトキソカラ属幼虫が病理組織学的に確実に検出された症例は表3に示すように3例である。これ以外に幼虫様の虫体断片が見つかり，抗体検査の結果イヌ回虫特異抗体



表2 動物由来回虫類のヒトへの感染性とその病変

ヒトの感染例	種類	固有宿主	ヒトでの病変
あり	イヌ回虫	イヌ科	肝, 眼などに寄生. 多彩な症状
	ネコ回虫	ネコ	イヌ回虫に類似. 稀に成虫が寄生
	ブタ回虫	ブタ	肝や肺の結節性病変
	アライグマ回虫	アライグマ	致死的脳炎, 瀰慢性片眼性亜急性視神経網膜炎
	コウモリ回虫	オオコウモリ	肝炎類似疾患
	小兎唇回虫	ネコ科	頭頸部の皮下膿瘍
動物モデル (マウス) での病変			
なし	クマ回虫	クマ	アライグマ回虫に類似
	イヌ小回虫	イヌ科, ネコ科	イヌ回虫に類似
	タヌキ回虫	タヌキ	肝炎類似疾患, 幼虫は肝臓に限局
	ウシ回虫	ウシ	イヌ回虫に類似
	ウマ回虫	ウマ	データなし
	ニワトリ回虫	ニワトリ	データなし

表3 我が国で報告された虫体の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	左眼の網膜膠腫	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 et al (1999)
	成人女性	私信		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)

\* 硝子体液中のイヌ回虫幼虫排泄物抗原に対する抗体陽性

が証明された例が2例ある。いずれの症例も幼虫の断端構造からだけではイヌ回虫とネコ回虫の幼虫を鑑別することはできない。また、病理組織学的検索で幼虫が発見されることは稀であり、幼虫が排泄する抗原物質に対する抗体の有無を免疫学的手法による検査をして診断することが多い。

図2は過去12年間に医学中央雑誌に収録されたトキソカラ症の報告症例数と同時期に我々の研究室に抗体検査依頼のあった症例数の推移を示している。トキソカラ症例は139例で抗体依頼件数は549検体あり、年平均11~12例の症例とその4倍以上のトキソカラ感染疑いの患者の発生が見られている。全国的には患者数はこの2倍以上に上るものと推測されている。

感染源となるイヌやネコの回虫感染についての調査では、広島県福山市内の家庭内飼育犬の感染率は37.4% (1972年), 31.0% (1995年), 25.9% (2002年)と漸減傾向にあるという<sup>2)</sup>。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子イヌ43頭の検査では29頭 (67%) からイヌ回虫卵を検出している。このように、イヌ回虫感染子イヌの割合は減少傾向にあるものの、飼育環境によってはなお高い感染率を示している。

一方、我々が最近行った東京都内10公園15カ所の砂場の調査では、8カ所 (53%) の砂場からトキソカラ属回虫卵が検出され、その98%が幼虫包蔵卵にまで発育していた (図3)。さらに、これらの幼虫包蔵卵からDNAを抽出し、PCR法およびLAMP法で虫種

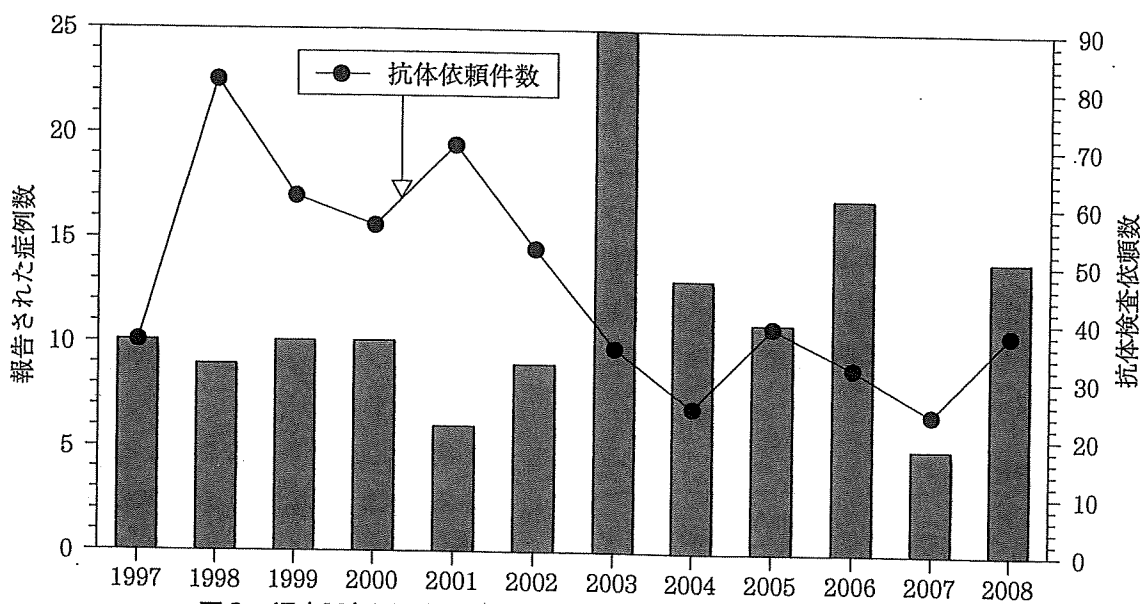


図2 過去12年間のトキソカラ症例報告数と抗体検査依頼数の推移

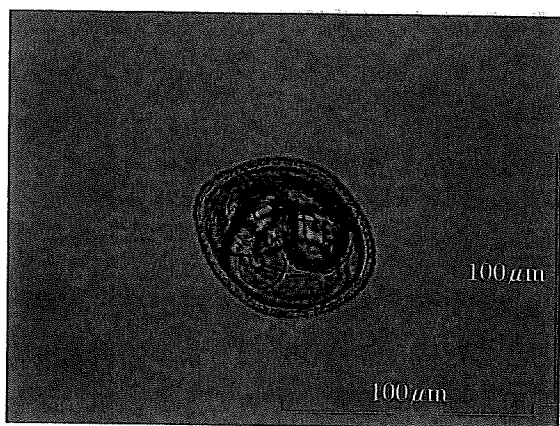


図3 東京近郊公園砂場から発見されるネコ回虫幼虫包蔵卵

の同定を行ったところ、DNA抽出に成功した50個すべてはネコ回虫卵であった<sup>9)</sup>。

#### IV. 診療上のポイント

内臓型では、持続する発熱、末梢好酸球数の増加、腹部CTや胸部X線像で移動する小結節などが見られ<sup>9)</sup>、小児であれば砂場で砂をよく口にするなどの生活歴や生肉・生肝などの喫食歴を参考に血清抗体測定を行う。内臓型では血清抗体は強陽性を呈する。また、呼吸器症状がある例では、気管支洗浄液中の抗体も上昇しており、診断上重要である<sup>9)</sup>。

臨床症状の軽重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、局所

の皮疹やネフローゼ症候群、関節リウマチ様関節炎、血球貪食症候群といった多彩な病態と合併することも報告されている<sup>9)7)</sup>。

眼型は1950年代に米国で報告された病態である。網膜芽腫の診断で眼球摘出術を受けた46例の小児の眼球組織標本を詳細に検討したところ、その26眼球からイヌ回虫幼虫の断端が発見されたことで注目を浴びるようになった<sup>8)</sup>。しかし、最近の国内発症例の集計では、38例の眼型トキソカラ症のうち、20歳以下の例は4例とそれほど多くはなく、むしろ成人症例が目立っていた<sup>9)</sup>。

眼型トキソカラ症では、発熱など内臓型で見られるような臨床症状を呈することは少なく、また好酸球数も正常範囲内のことが多い。血清中の抗体も陰性あるいは弱陽性である。眼科学的には、網膜中心あるいは周辺部の白色隆起物が観察される。なかには白色隆起病変が時間の経過とともに移動する例も報告されている<sup>10)</sup>。眼内液中の抗体は上昇する例が多く、手術時に採取される眼内液を用いて抗体検査を実施すれば診断に有用である。原因不明のぶどう膜炎ではトキソカラ症の可能性も考慮して抗体検査を実施すべきである。いずれの場合にも、抗体検査にはイヌ回

虫幼虫排泄分泌抗原に対する抗体を測定するのがよく、イヌ回虫成虫粗抗原を用いた検査では非特異反応が見られ診断価値が低い。イヌ回虫とネコ回虫の抗原性はきわめて類似しており、イヌ回虫抗原を用いてもネコ回虫幼虫移行症の診断は可能である。また、マウスを用いた動物実験ではイヌ回虫幼虫は中枢神経系に容易に移行するが、体内に侵入したネコ回虫幼虫の大部分は筋肉組織に移行するという相違がある。

## V. 治療法

内臓型トキソカラ症ではアルベンダゾール10~15mg/kg/日、分2~3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。

眼型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、ステロイドの眼注は炎症を抑制した(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共に投薬するのがよいとされている。また、網膜内に幼虫が爬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、光凝固や冷凍凝固術も考慮する。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。

## VI. 予防法

砂場で感染するトキソカラ症では、遊び終わったあとの手洗いの励行が大切である。また、待機宿主となる獣肉・生肝を感染源とするトキソカラ症を予防するためには、獣肉の

生食を避け加熱調理したものを摂取することにより容易に予防することができる。

## VII. ペットを飼う患児・家族へのアドバイス

イヌ回虫は子イヌの時期にのみ消化管内に寄生し、虫卵を排泄する。そのため、子イヌを飼育するときには獣医師による診断を受け、感染している場合には駆虫薬を投与し、完全駆虫を心がけることが大切である。また、感染犬の被毛にも高率に回虫卵が付着しているので、感染犬との密接な接触行動は感染機会を増やすことにもつながる<sup>1)</sup>。免疫能の低下した成犬では虫卵の経口摂取により感染が成立することもあるので、ヒトと同様に糖尿病などの成人病を患う長寿犬が増えていることから、成犬になってからも定期的な糞便検査は必要であろう。一方、ネコ回虫は幼猫のみならず成猫にも感染がみられるので、獣医師による定期的な診察と駆虫が必要となる。

トキソカラ症は臨床医と獣医師が相互に協力して対処しなければならない動物由来感染症の代表的な疾患であることを強調しておきたい。

## 文 献

- 1) 堀 司他：著明な好酸球増多を呈した犬回虫症の1例。臨床小児医学 45：157~161, 1997
- 2) 齋藤哲郎他：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, 2004
- 3) Macuhova K et al：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。第68回日本寄生虫学会東日本支部大会、浜松、2008
- 4) 広岡昌史他：肝内に多発小結節像を呈した犬回虫症の1例。肝臓 44：237~242, 2003
- 5) Morimatsu Y et al：A familial case of visceral larva migrans after ingestion of raw chicken livers：appearance of specific antibody in bronchoalveolar lavage fluid of the patients. Am J Trop Med Hyg 75：303~306, 2006
- 6) 吉川正英他：慢性関節リウマチ (RA) 類似の

臨床経過中に下腿浮腫，好酸球増多，低蛋白血症が出現しイヌ回虫幼虫 ES 抗原に対して高い抗体価を示した 1 例. *Clinical Parasitology* 14 : 74~76, 2004

- 7) 吉川正英他：イヌ回虫幼虫 Es 抗原に高い抗体価を示したネフローゼ症候群再燃例. *Clinical Parasitology* 15 : 47~49, 2005
- 8) Wilder H C : Nematode endophthalmitis. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 55 : 99~109, 1950
- 9) Yoshida M et al : A retrospective study of

ocular toxocariasis in Japan : correlation with antibody prevalence and ophthalmological findings of patients with uveitis. *J Helminthol* 73 : 357~361, 1999

- 10) Suzuki T et al : Following the migration of a *Toxocara* larva in the retina by optical coherence tomography and fluorescent angiography. *Jpn J Ophthalmol* 49 : 159~161, 2005
- 11) Roddie G et al : Contamination of dog hair with eggs of *Toxocara canis*. *Vet Parasitol* 152 : 85~93, 2008

## お知らせ

### 「女子系大学小児科医の会」のご案内

小児科医の立場から女子系大学や短期大学等で小児保健や栄養学，公衆衛生などの講義をもたれている小児科医の会です。20年以上毎年一回日本小児科学会総会の開催時にあわせて，1つのテーマについて講演とディスカッションするなかから，どう学生に教えていくかを考えます。女子大学や短期大学で講義をお持ちの小児科の先生方の参加をお待ちしております。今年の開催は以下の通りです。事前お申し込みが必要です。

#### 記

日 時：平成21年4月17日（金） 18時から20時

場 所：奈良県婦人会館 〒630-8213 奈良市登大路町10-1

TEL : (0742) 22-4510・4940 FAX : (0742) 22-4510

テーマ：『気になる子ども』をどう教えるか

参加費：3,000円（会場費・お弁当・飲み物代）年会費はございません。

会 長：岩田 力（東京家政大学）

お申し込み，もしくは，お問い合わせ：事務局担当 鶴見大学短期大学部 前澤 真理子

[maezawa-m@tsurumi-u.ac.jp](mailto:maezawa-m@tsurumi-u.ac.jp)

## 2 抗微生物薬の治療効果の判定

### 2—マラリア

おおとも ひろし\*・あか お のぶあき\*  
 大友 弘士\*・赤尾 信明\*

はじめに

マラリアは、熱帯、亜熱帯地域に広く分布する住血胞子虫亜目に属する熱帯熱マラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*)、三日熱マラリア原虫 (*P. vivax*)、四日熱マラリア原虫 (*P. malariae*) および卵形マラリア原虫 (*P. ovale*) を病因とする急性感染症である。

人類は有史以前からマラリア、特に臨床経過が悪性の熱帯熱マラリアの病苦に悩まされ続けているが、1960年代後半以降は、熱帯地域での流行状況が一挙に悪化し、今日では年間3~5億人が罹患し、200万人が犠牲になっていると推定され、流行地住民の健康と生命を脅かすとともに、甚大な経済損失をもたらしている。加えて、わが国や欧米の非流行地からの熱帯地への旅行者や滞在者が増加するにつれ、現地で病臥したり、帰国後に発症する輸入マラリアが増え死亡例も発生しているなど、今やマラリアは、世界規模の重要な疾患になっている。なお、マラリアは自然界では感染ハマダラカの吸血時に病原原虫が伝播されるが、感染血の輸血、感染母体からの経胎盤感染や汚染注射針の共用による伝播もある。

なお、マラリア診断の基本は現在でも血液薄層ギムザ (Giemsa) 染色法本の鏡検による赤血球内無性原虫の検出である。その診断に正確を期するには、マラリア原虫の複雑な生活史を理解し、赤血球内発育環の形態学的特徴に精通しておくことが重要である。

#### 1

### マラリア原虫の 人体内発育環

マラリアは雌感染ハマダラカの吸血の際に、その唾液腺から人への感染型である胞子小体 (スポロゾイト) が注入されて感染が成立する。この胞子小体は速やかに血流を介して肝の類洞に達して肝細胞内に集積、形態を変えて無症状組織期 (または赤外期) の増殖を行い、やがて多数の分裂小体 (メロゾイト) を有する赤外期の分裂体 (シゾン) になるが、それに要する時間は原虫の種類によって異なる。その後、分裂体が成熟して破裂すると、放出された分裂小体が循環血流に移行して赤血球内に侵入し、赤内期の発育を開始する。ただし、熱帯熱マラリア原虫と四日熱マラリア原虫では、赤外期分裂体がいったん破裂すれば肝細胞内に病原原虫の残存を認めないが、三日熱マラリア原虫と卵形マラリア原虫は肝細胞発育環の一部は休眠型原虫 (ヒプノゾイト) となって肝細胞内に残存し、両種特有の初回発作後数か月から数年を要しての再発の原因になる。なお、マラリア原虫はその種類を問わず、いったん赤内期の発育を開始すれば、肝細胞に再侵入することはできないため、赤内型原虫が感染する輸血マラリアでは、赤外期発育環は形成されない。

なお、赤血球内に移行した原虫は環状体、栄養体 (アメーバ体)、内部に種により8~36個の分裂小体を有する分裂体に発育し、その成熟により赤血球を破壊して分裂小体を流血中に放出し、熱発

作を起し、この時期の発育環が顕微鏡検査の対象になる。血中に放出された分裂小体は新たな赤血球に侵入し、シゾゴニーと呼ばれる無性生殖を繰り返すが、その周期は熱帯熱マラリア原虫、三日熱マラリア原虫と卵形マラリア原虫で48時間、四日熱マラリア原虫で72時間であり、マラリアではこの過程の無性原虫が臨床症状の発現に関与する。また、赤血球内に侵入した分裂小体の一部は核分裂を行わずに雌雄生殖母体に分化するが、この発育環は人体内ではそれ以上発育せず、媒介蚊に取り込まなければ早晩死滅する。

赤血球への分裂小体の侵入には、原虫種と赤血球日齢との間に特異性がある。熱帯熱マラリア原虫はバンド3やグリコホリンA、B、Cなどの宿主細胞分子を認識する多数の結合蛋白質を保有しているため、全日齢の赤血球への侵入が可能で、時に50%以上の虫血症を呈することがある。これに対して、三日熱マラリア原虫は赤血球表面の特異的結合が選択的で、網状赤血球表面の特異蛋白質、ダフィ・ケモカイン受容体を認識するだけである。そのため、虫血症は最大2%を超えることはなく、ダフィ陰性の個体では三日熱マラリア原虫の感染は起こらない。卵形マラリア原虫は三日熱マラリア原虫と同様に網状赤血球に侵入し、虫血症は通常1%以下であるが、原虫の赤血球認識機構は不明である。さらに、四日熱マラリア原虫は老熟赤血球のみを認識し、虫血症は1%を超えない。

## 2

### マラリア治療に不可欠な診断と赤血球感染密度の把握

マラリアの病因は偏性細胞内寄生原虫であり、臨床症状の発現に関与する赤内型発育環は、末梢血の薄層塗抹ギムザ染色標本の鏡検により、その感染赤血球を顕微鏡下に直視できるのが特徴である。この標本のギムザ染色手技は別項の記載に譲り、4種マラリア原虫の形態学的特徴を表1,2に示す。

临床上最も重要な熱帯熱マラリア原虫は通常、環状体のみが観察され、感染赤血球は正常赤血球と同大もしくはやや小さく、Maurer(モーラー)

斑点を認めるが、やがて半月状の雌雄生殖母体も出現する。本種は細胞接着蛋白質(PfMPs)からノブを形成し、深部血管内皮に結合するため、通常末梢血には成熟栄養体や分裂体はみられない。なお、この現象により、脳や他臓器の細血管の閉塞、サイトカインや一酸化窒素(nitric oxide, NO)などの血管作動性メディエーターの放出を誘導して脳性マラリアの病因になる。

また、環状体、栄養体、分裂体などの無性原虫と生殖母体の全発育環が鏡検され、感染赤血球が正常赤血球よりも膨大し、Schüffner(シュフナー)斑点を認めれば三日熱マラリア原虫か卵形マラリア原虫であり、感染赤血球が卵円形を呈すれば後者である。さらに、感染赤血球がやや小さく、Maurer斑点やSchüffner斑点を欠き、栄養体が帯状体と呼ばれる形状を呈するのは四日熱マラリア原虫である。

このマラリア検査では、単に感染赤血球の形態学的観察により虫種を同定して診断を確定するだけでなく、赤血球を1,000個数え、それに含まれる感染赤血球の百分率を求め、この値を血算で得られた赤血球数に乗ずれば1 $\mu$ l当たりの感染赤血球を知ることができ、感染の重度、病態把握や治療薬選択の重要な指標になる。なお、マラリア検査の採血は、患者が急性症状を呈しているときはいつ行っても原虫が検出されるが、熱帯熱マラリアでは少なくとも4時間ごとに1日6回、他種マラリアでは6~8時間ごとに検査を行って環状体、栄養体、分裂体などの赤内型無性原虫数増減の推移を確認することが、感染の重度、原虫の薬剤感受性と治療効果、薬剤耐性の有無とその程度、治癒判定などに重要である。

## 3

### 抗マラリア薬の標的発育環

マラリア治療の基本は化学療法であり、その目的に適用されるのが抗マラリア薬であるが、マラリア原虫は宿主体内での発育環によって形態や代謝が変化するだけでなく薬剤に対する感受性が異なるため標的発育環に有効な薬剤を選択しなければならない。例えば、人体への感染型である胞子

表1 末梢血中にみ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, 環状体, 生殖母体	全発育環(環状体, 栄養体, 分裂体, 生殖母体)	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が鋸歯状, Schüffner 斑点
多重感染	しばしばみられる	時にみられる	極めて稀	稀
環状体	環は小さく, 時にクロマチンが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(アメーバ体)	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(シゾン)	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)
分裂小体(メロソイト)数	8~36個	8~24個	6~12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
雄性生殖母体	半月状でクロマチンは中央にびまん性, 色素は粗大で散在, 核は大(淡青)	球形で緻密, 空胞なく大きな1個の核, 色素はびまん性で粗大(淡緑青)	三日熱原虫に類似するがいくぶん小さい(淡緑青)	三日熱原虫に似るがいくぶん小さい(淡緑青)
雌性生殖母体	半月状で雄より細長い, クロマチンは中央に局在し, 色素はより緻密(濃青)	球形で緻密, 核は比較的小さい(濃青)	三日熱原虫に類似するが, やや小さい(濃青)	三日熱原虫に類似するがやや小さい(濃青)

\* 通常, 末梢血には出現しない。

(文献1より転載, 改変)

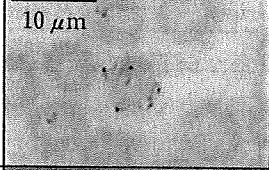
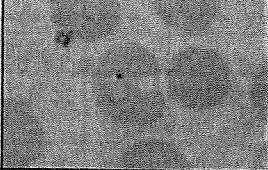



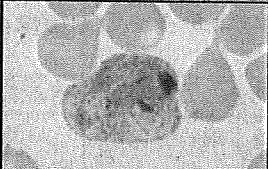


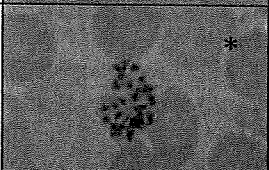
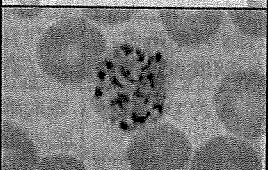
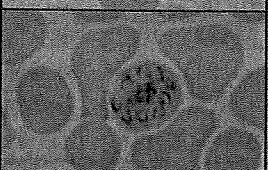
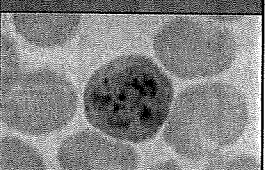




小体に有効な薬剤は未開発なため, 初期感染の薬物治療は不可能であるが, 臨床症状を発現している患者の赤内型無性原虫を殺滅して治癒に導くことは可能である。しかし, 肝内・赤血球発育環の両者に有効な薬剤はほとんどなく, 三日熱マラリアと卵形マラリアの根治を図るには赤内型原虫を殺滅する薬剤とヒプロゾイトを殺滅して再発を阻止するプリマキンの併用が必要であるが, このプリマキンは熱帯熱マラリアの生殖母体殺虫にも特異的に作用する。また, 比較的新しく開発されたアトバコン・プログアニル合剤は熱帯熱マラリア原虫の赤内型原虫だけでなく, 赤外型原虫も標的になるため治療薬としてだけでなく, 予防内服薬としての応用範囲を広げている特異な薬剤である。

## 4 マラリアの化学療法の変遷

マラリアの化学療法は, その臨床的適用において発熱抑止療法, 再発阻止を図る根治療法, 伝播阻止が目的の抗生殖母体療法に大別される。このなかで最も重要なのは急性期患者の臨床症状を軽快させ, 生命の危険を回避する熱発作治療とも呼ばれる発熱抑止療法であり, その目的に用いられる薬剤が殺シゾン薬である。発熱抑止療法の経過中は経時的に血液検査を実施し, 赤血球内寄生原虫の変性および消失, さらに再燃の有無を確認することが重要である。

17世紀前半にペルーで使用されたキナ樹皮がマラリアの化学療法の嚆矢であり, やがてヨーロッパに導入され近年は有効成分のキニーネは合

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	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	卵形マラリア原虫
環状体	10 μm 			
栄養体	 *			
分裂体	 *			
雌性生殖母体				

\* 通常、末梢血中に出現するのは稀。

(文献1より転載, 改変)

成薬に代わったが、300年近くもマラリア治療の主演であった。このキニーネに代わる合成薬として1934年にドイツ、1943年に米国で開発されたクロロキンは抗マラリア活性に優れ、キニーネよりも毒性が低く、妊婦や小児にも使用できるとして、1950年代には画期的な抗マラリア薬としての評価が定まっていた。しかし、1957年にタイとカンボジアとの国境地帯、次いで1960年コロンビアから熱帯熱マラリア原虫の本剤耐性株の出現が報告され、以後急速に熱帯各地に出現し、今日では中米と中東の一部地域の熱帯熱マラリア原虫しかクロロキンに感受性を示さなくなっている。

このクロロキン耐性マラリアの克服のため、1970年代以降スルファドキシシン・ピリメタミン合剤、メフロキン、ハロファントリンが次々と開発されたが、これらに対するクロロキンとの交差耐性株の出現も報告され、熱帯熱マラリア治療の大きな障害になっているほか、ハロファントリンは治療時の心臓死の問題が派生し、次第に使用されなくなっている。また、多剤耐性マラリアの治療には古典的なキニーネの効果が1970年代に再評価され、テトラサイクリン系抗生物質との併用

による治療効果の増強も図られているほか、1990年代にはアトバコン・プログアニル合剤が開発され、多くの症例で良好な治療成績が得られている。

なお、中国において二千年もの間、民間療法に用いられてきたヨモギ科の薬草から1972年までに有効成分のアルテミシニンが抽出され、その半合成誘導体のアーテメター、ジヒドロアルテミシニン、アーテスネートなどがすでに製剤化されている。これら一群の誘導体は少なくとも熱帯熱マラリア原虫と三日熱マラリア原虫に対しては即効的に作用し、他剤に対する交差耐性をもたない半面、半減期が短く、単独使用した場合の再燃率が高いことが難点になっている。そのため、メフロキンと併用すれば薬物動態に影響を及ぼさず薬物相互作用もみられないとされている。なお、海外ではアーテメター・ルメファントリン合剤がすでに製剤化されており、これは前述のアトバコン・プログアニル合剤と同様に作用機序と人体内での消失半減期が異なる薬剤の配合により、治療効果の増強と耐性獲得の阻止を図ったものである。いずれにしても、このすぐれた抗マラリア活性から今後はアルテミシニン・コンビネーション・ト



表3 国内で入手可能な薬剤による抗マラリア療法

A. 三日熱, 卵形, 四日熱マラリアの発熱抑止療法(熱発作治療)	
①クロロキン(国内未承認, 研究班保管)	クロロキン塩基として初回 600 mg, 6, 24, 48 時間後に 300 mg 経口投与。耐性を示す三日熱マラリアはメフロキンで治療
B. 三日熱, 卵形マラリアの根治療法	
②プリマキン(国内未承認, 研究班保管)	プリマキン塩基として 15 mg/を 1 日 1 回, 14 日間経口投与。この場合, プリマキン低感受性株の出現が確認されている地域での感染者には 22.5~30 mg/日の増量を考慮
C. 合併症のない薬剤耐性熱帯熱マラリア	
③メフロキン(保険適用, 250 mg 塩基/錠)	3~4 錠単回(3 錠: <45 kg), または初回 2 錠, 6~8 時間後 2 錠または 1 錠(体重<45 kg)
④硫酸キニーネ末(国内流通)	1.5 g~1.8 g/日, 分 3, 5~7 日間経口投与。テトラサイクリン系抗生物質の併用により治療効果を増強(保険適用外)。入手困難であれば塩酸キニーネを用いてもよい。
⑤アトバコン 250 mg/プログアニル 100 mg 合剤(研究班保管)	4 錠を 1 日 1 回, 3 日間投与(食事または牛乳などととも服用)
⑥アーテメター 20 mg/ルメファントリン 120 mg 合剤(研究班保管)	1 回 4 錠を初回, 8, 24, 36, 48, 60 時間後の計 6 回経口投与
D. 合併症を発現している重症マラリアの治療	
⑦キニーネ注射薬(研究班保管)	キニーネ塩基 8.3 mg/kg を患者の水分状態に応じて 5%ブドウ糖液または生理食塩水 200~500 ml に溶解し, 4 時間かけて点滴静注。赤血球の原虫感染密度の推移を確認しながら必要に応じて 8~12 時間ごとに繰り返す。改善傾向が確認されたら最終点滴の 12 時間後にメフロキン 4 錠を単回投与する。また, アーテスネートの静注も有効とされているが, 国内での入手は困難である。
⑧アーテスネート坐薬(研究班保管, 200 mg/カプセル)	初日に 400 mg/日を 2 回に分けて投与し, 2~5 日目に 200 mg 1 回投与。その後, メフロキンの投与を追加する。

リートメントの確立に向かう趨勢である。

重症マラリアに対しては, 1970 年代に再評価されたキニーネの持続点滴療法やアーテスネートとメフロキンとの併用療法が良好な治療効果を示すが, このような場合は重篤な合併症を併発しているため, 化学療法だけでなく病態に応じた支持療法の強化が患者救命に不可欠である。そのほか最近ではパプアニューギニア, インドネシアと南米の一部地域からクロロキン耐性三日熱マラリアもみられるので, この場合はメフロキンで発熱抑止療法を行う。

## 5

### マラリア治療の実際と治療効果の判定

現在, 薬剤耐性マラリアの克服のため数多くの殺シズント薬が開発されており, その種類により作用機序, 体内動態のほか, 原虫消失時間(parasite clearance time, PCT)や発熱消失時間( fever clearance time, FCT)が異なるので, その特質を踏まえた合理的な投与設計に基づく選択

薬(表 3)による迅速な治療開始が重要になる。いずれのマラリアの治療においても, 治療開始前の赤血球感染密度を把握しておき, 治療開始後 2, 3 日以内に感染赤血球数が著減または消失せず, 症状が改善されないときは選択薬に耐性であるとして, 速やかに治療薬を変更する。このマラリアにおける耐性には図 1 に示すパターンがあるので, 感染赤血球の消失と臨床症状の改善により患者が退院した後であっても, 治療開始後 4 週間は週に 1 回は必ず外来で血液検査をして感染赤血球再現の有無を確認すべきである。なお, この耐性と不完全治療による赤内型無性原虫の再増殖に基づく再燃とは区別されなければならない。また, 最近いくつかの医療機関に導入されている抗原検出キットは診断における有用性は高いが, 治療後も一定期間血中に抗原が存続することがあるので, 治療判定には用いられない。

この薬剤耐性マラリアは薬剤の標準的な用法・用量によるマラリア治療後 28 日以内に無性原虫の再現を認めたとときに選択薬に耐性と判定とすることは上述の通りであり, 患者感染赤血球を用いた *in vitro* 試験法も開発されている。しかし, こ

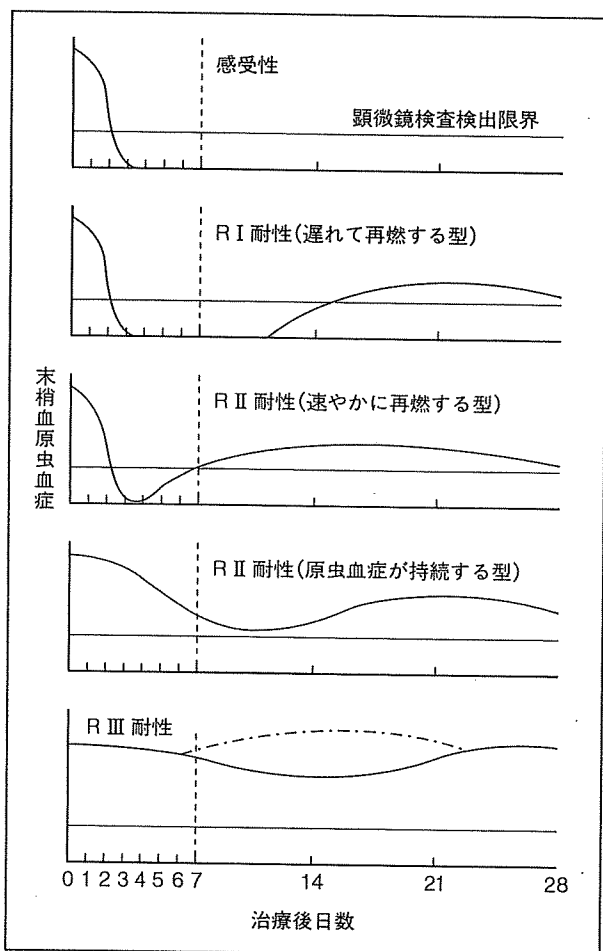


図1 薬剤耐性のパターン(WHO)

感受性株であれば、投薬後、血中の原虫が消失し、28日以内の再燃もない。耐性株では、原虫がいったん消失、もしくは減少しても再燃するか、ほとんど減少せず、その耐性のパターンを示す。

の試験は国内では限られた研究機関でのみ実施が可能なこと、判定までに30時間を要するので、結果が出るまで治療開始を控えることは極めて危険である。そのため、実際には患者の推定感染地とそこに分布する耐性マラリアの拡散状況を考慮して有効と考えられる薬剤を選択し、速やかに治療を開始し、経時的な感染赤血球数の減少と臨床症状の改善を確認すべきである。

三日熱マラリア、卵形マラリアの熱発作治療にはクロロキンが選択薬である。しかし、最近パプアニューギニア、インドネシア、南米の一部地域からはクロロキン耐性株の出現が報告されている

ので、治療中はその有効性を慎重に判定し、無効の場合はメフロキンによる治療に変更する。また、上記2種のマラリアには熱発作治療に肝内ヒプノゾイトを標的にした根治療法を併用するが、パプアニューギニアやインドネシアにはプリマキン低感受性株がみられるので、投与量の増量も考慮する。四日熱マラリアはクロロキンに対する感受性にさしたる問題はない。

いずれにしても、マラリアは全身感染症である。そのため、治癒判定には虫血症、熱発作、貧血などの消失だけでなく、感染の経過中に異常を示したALT、AST、ビリルビン、総コレステロール、中性脂肪、血小板数、FDP、尿量、クレアチニン、BUN、血糖値低下、電解質、高γグロブリン血症、代謝性アシドーシスなどの臨床検査値の改善を確認して、総合的に判断する。

おわりに

マラリアは現在のわが国には常在しない疾患である。しかし、海外旅行者や来日外国人が国内で発症する輸入マラリアが少なくなく、時に診断や治療開始の遅延による死亡例も発生していることが憂慮される。このマラリアは他の感染症と異なり、病因原虫を顕微鏡下で直接観察でき、診断はもとより、その消長から選択薬の感受性、さらに治癒判定も可能な疾患であることを理解し、赤血球内無性原虫の形態学的特徴に精通しておくことが必要である。

#### 文献

- 1) 大友弘士, 赤尾信明: 末梢血におけるマラリア原虫の検出. 検査と技術 36: 311-316, 2008
- 2) WHO: New Perspectives Malaria Diagnosis, WHO, Geneva, pp 1-47, 2001
- 3) 大友弘士: マラリア診療における診断と治療のコツ. 斎藤厚(編): 感染症診療のコツと落とし穴. 中山書店, pp 188-189, 2004
- 4) 厚生労働科学研究費補助金「熱帯病治療薬研究班」: 寄生虫薬物治療手引き, pp 1-90, 2007
- 5) WHO: Severe Falciparum Malaria. Trans R Roy Trop Med Roy 94(Supple 1): 1-90, 2000  
 (\* 東京医科歯科大学大学院国際環境寄生虫病学分野)  
 ☎113-8519 東京都文京区湯島 1-5-45

# 医師からみたズーノーシス

～飼い主・動物医療従事者の感染予防のために～



## 第8回 動物由来回虫症 (Zoonotic roundworm disease)



### 医師からみた動物由来回虫症

赤尾信明\*, 太田伸生

■ \*Nobuaki Akao 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 (東京都文京区湯島 1-5-45 〒113-8519)

#### はじめに

ヒトと動物が同じ病原体に感染して何らかの症状を現す時、その病気を人畜共通感染症とよんでいる。この中で、動物由来の回虫がヒトに感染して起こる病気をここでは動物由来回虫症とよぶことにする。動物由来回虫症は犬や猫の回虫 (*Toxocara canis*, *T. cati*) だけでなく、昨今、食害が大きな社会問題となっている野生化したアライグマに寄生するアライグマ回虫 (*Baylisascaris procyonis*) やクマ回虫 (*B. transfuga*) などの野生動物由来回虫類による感染症も含まれる。

動物由来回虫症は、その飼い主だけでなく動物医療従事者にも感染のおそれがある寄生虫症であり、なかには有効な治療法がないものもあるので注意が必要である。

#### 感染源

動物由来回虫類のうち、ヒトへの感染が報告されているものと動物実験でマウスなどへの感染が証明され、ヒトへの感染の可能性があるものを表1にまとめた。このうち症例数が最も多いのは犬回虫と猫回虫幼虫を原因とするものである。

犬回虫は母犬の体内に潜む幼虫が、妊娠を契機として胎盤を介して子宮内の胎児の肝臓内に侵入し、出産と同時に肺に移行して発育をはじめ。犬回虫ではこのような

経胎盤感染による母子間感染が主導であるが、猫回虫においては、出産後の哺乳行為によって幼虫が母猫から子猫へ移行する経乳汁感染によって感染が成立する。

犬回虫成虫は子犬の小腸に寄生しており、発育するにつれて成虫は自然に排出される。そのため1歳以上の犬に犬回虫の寄生をみることはまれであるが、免疫能の低下した成犬では幼虫包蔵卵の経口摂取で感染が成立し、糞便内に虫卵を排泄する。犬における犬回虫の感染状況については、齋藤らが広島県福山市内の獣医科医院を受診した家庭内飼育子犬を対象に1972年以来実施している。その調査によると、福山市の飼育犬の感染率は37.4% (1972年), 31.0% (1995年), 25.9% (2002年) と漸減傾向にあるという。しかし、我々が2007年度に行った栃木県動物愛護センターに搬入された3カ月齢の子犬43頭の糞便検査では29頭(67%)から犬回虫卵が検出された。犬回虫感染子犬は全体的に減少傾向にあるが、飼育環境によってはなお感染率が高いことがあるので注意が必要である。

一方、猫における猫回虫については、やはり福山市内で継続して調査している齋藤らの報告によれば、11.9% (1995年), 9.2% (2002年) と、高い感染率を維持していたという。猫回虫の感染率は、子犬での犬回虫感染率と比較すると低い。猫回虫は子猫のみならず成猫にも容易に感染あるいは再感染が成立するので、1度の糞便検査で陰性であっても安心してはならない。

表1 動物由来回虫類のヒトへの感染性とその病変

ヒトへの感染例	種類	固有宿主	ヒトでの病変
あり	犬回虫	イヌ科	肝, 眼などに寄生。多彩な症状
	猫回虫	猫	犬回虫に類似。まれに成虫が寄生
	豚回虫	豚	肝や肺の結節性病変
	アライグマ回虫	アライグマ	致死的脳炎, びまん性片眼性亜急性視神経網膜炎
	コウモリ回虫	オオコウモリ	肝炎類似疾患
	小兎唇回虫	ネコ科	頭頸部の皮下膿瘍
動物モデル (マウス) での病変			
なし	クマ回虫	クマ	アライグマ回虫に類似
	犬小回虫	イヌ科, ネコ科	犬回虫に類似
	タヌキ回虫	タヌキ	肝炎類似疾患, 幼虫は肝臓に限局
	牛回虫	牛	犬回虫に類似
	馬回虫	馬	データなし
	鶏回虫	鶏	データなし

犬・猫回虫卵のヒトへの感染経路については次の3通りが推測されている。(1) 虫卵を含んだ糞便が砂場の砂などを汚染して, 虫卵の付着した砂をヒトが経口的に摂取する。(2) 虫卵が犬や猫の被毛に付着し, 感染源を有した犬や猫に接触したヒトがその被毛を経口的に摂取する。(3) 犬・猫回虫の待機宿主となりうる鶏やシャモ, 牛, 豚などの筋肉あるいは肝臓を生食して感染する。これらの待機宿主への感染は, 虫卵を摂取したミミズやゴキブリの捕食を介して起こる。

(1) の感染経路は最もよく知られたもので, 日本国内でも多くの公園の砂場で調査が行われている。Uga らは兵庫県下の公園の砂場 371 カ所を調査して, 137 カ所 (37%) で虫卵の汚染を認めた。そして, 検出された虫卵のほとんどが, その表面構造の特徴から猫回虫卵であった<sup>2)</sup>。我々も, 最近, 千葉県市川市の砂場から回収された虫卵について種特異的プライマーによる PCR 法で検査したところ, 犬回虫卵は全くみつからず, すべて猫回虫卵であることが判明した。

(2) の被毛を介した感染の可能性は, 内田らが犬回虫に感染した犬の被毛をセロハンテープ法で検査した結果, 肛門周囲の被毛のみならず口腔周囲や腹部の被毛にも虫卵が付着していることを見いだしたことから推測された感染経路である<sup>3)</sup>。また, 虫卵は被毛に付着しているだけでなく, シャンプー後の排水中にもみつがっている。2003 年に英国とアイルランドで行われた調査でも, 60 頭の犬を検査したところ, 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みられ, 20 個の虫卵は発育途中の生きた虫卵であったという<sup>4)</sup>。これらの報告は, 犬回虫に感染した犬とヒトとの濃厚な接触が感染の機会を高めることを示唆するものである。

上記の 2 経路による感染では, 排泄直後の糞便に虫卵が含まれていてもそれが感染源となることはない。排泄直後の虫卵は 1 個の卵細胞からなり, 感染力がない。なぜなら, この虫卵は 25 ~ 27 °C の湿潤な環境下では 10 日前後の期間を経て幼虫包蔵卵にまで発育したのちヒトへの感染力をもつようになるからである。しかし, この時期の幼虫包蔵卵はまだ感染力は低く, さらに 1 ~ 3 週間経過すると十分な感染力をもつようになり, 低温で湿潤条件下であれば 2 年以上は感染力を保持している。幼虫包蔵卵は比較的乾燥に強く, 水分のない状態でも数週間は虫卵内で生存しているが, 高温には弱く, 70 °C 以上の熱水中では瞬時に死滅する。

(3) の感染経路が最近, 増加している。感染源と推測される市販の鶏や牛の筋肉, 肝臓から幼虫を検出することは困難であるが, Taira らは実験的に幼虫包蔵卵を投与した豚の内臓や筋肉の一部を人工消化法により経時的に検査したところ, 回収される幼虫はほとんどが肺からで, 筋肉や肝臓から回収される幼虫は少なかったと報告した<sup>5)</sup>。しかし, 少数とはいえ豚の筋肉や肝臓から幼虫が回収できたことは, 豚がヒトへの感染源になりうることを明確に示している。また, 韓国では 1976 年にすでに, 家畜の肝臓