G. 研究発表

■ 論文発表■

［著書］

中西憲司, 山本一彦 編著. アレルギー疾患の免疫機構. 実験医学（増刊）東京:羊土社, 2009

［原著］

Imamura M, Tsutsui H, Yasuda K, Uchiyama R, Yumikura-Futatsugi S, Mitani K, Hayashi S, Akira S, Taniguchi S, Van Rooijen N, Tschopp J, Yamamoto T, Fujimoto J, Nakanishi K. Contribution of TIR domain-containing adapter inducing IFN-beta-mediated IL-18 release to LPS-induced liver injury in mice. J Hepatol; 51:333-341, 2009

Yoshimoto T, Yasuda K, Tanaka H, Nakahira M, Imai Y, Fujimori Y, Nakanishi K. Basophils contribute to TH2-IgE responses in vivo via IL-4 production and presentation of peptide-MHC class II complexes to $CD4^+$ T cells. Nat Immunol; 10:706-712, 2009

Harada M, Obara K, Hirota T, Yoshimoto T, Hitomi Y, Sakashita M, Doi S, Miyatake A, Fujita K, Enomoto T, Taniguchi M, Higashi N, Fukutomi Y, Nakanishi K, Nakamura Y, Tamari M. A functional polymorphism in IL-18 is associated with severity of bronchial asthma. Am J Respir Crit Care Med; 180:1048-1055, 2009

［総説］

中西憲司. 新しいアレルギーの概念. アレルギー疾患の免疫機構. 実験医学（増刊号）27:12-17 (3208-3213), 2009.

松井聖, 佐野統, 中西憲司. IL-18. 炎症と免疫 17:75-82, 2009.

善本知広, 中西憲司. 腸管寄生虫感染と宿主応答. 感染現象. 蛋白質・核酸・酵素（増刊号）54:1066-1072. 2009.

安田好文, 善本知広, 中西憲司. 寄生虫感染時のサイトカイン動態. 感染症. 225-231, 実験医学（増刊号）27:225-231(1665-1671), 2009.

安田好文、中西憲司. アレルギーとアジュバント. アレルギー疾患の免疫機構. 実験医学（増刊号）27:94-100(3290-3296), 2009

■ 学会発表■

国際学会

Nakanishi K. NKT IFN-γ production in response to cecal cauterization induces intestinal adhesion formation by reciprocal regulation of plasminogen activator inhibitor type 1(PAI-1)and tissue-type plasminogen activator (tPA). The 5th International Symposium onCD1/NKT Cells 2009. 3 Kamakura

Nakanishi K. Therapeutic Approach to Th1-Type Bronchial Asthma in Transiently Humanized Mice by Using Human Anti-Human IL-18 Antibody. (Symposium) The 9th World Congress on Inflammation 2009. 7 Tokyo

Nakanishi K. Parasitology.(Guest Speech)The 9th Awaji international

forum on infection and immunity 2009. 9 Awaji

国内学会

中西憲司. アレルギー増悪機構の基礎からの解析. (特別講演) 第 21 回日本アレルギー学会春季臨床大会 2009. 6 岐阜

善本知広, 中西憲司. スーパーTh1細胞とアレルギー. (シンポジウム) 第 21 回アレルギー学会春期臨床学術大会 2009. 6 岐阜

Yoshimoto T, Yasuda K, Nakanishi K. Contribution of basophils to Th2/IgE response *in vivo* by production of IL-4 and presentation of MHC class II /peptide complex to $CD4^+$ T cells. The first Immune Regulation: Present and Future 2009. 5 Osaka

Yoshimoto T, Kosaka H, Fujimoto J, Nakanishi K. IFN-γ is a therapeutic target molecule for prevention of postoperative adhesion formation. 第 74 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 2009. 7 京都

Yoshimoto T, Kosaka H, Fujimoto J, Nakanishi K. IFN-γ is a therapeutic target molecule for prevention of postoperative adhesion formation. (Workshop) The 9th World Congress on Inflammation 2009. 7 Tokyo

Yoshimoto T, Nakanishi K. Basophils contribute to Th2-IgE responses *in vivo* as antigen-presenting cells.(Symposium) The 39th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology 2009.12 Osaka

Yasuda K, Sasaki Y, Kondo Y, Matsumoto M, Yoshimoto T, Nakanishi, K. IL-33 mediated expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* in the absence of adaptive immune system. 第 78 回日本寄生虫学会大会 2009. 3 東京

Yasuda K, Sasaki Y, Kondo Y, Matsumoto M, Yoshimoto T, Nakanishi K. IL-33 mediated expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* in the absence of adaptive immune system. 第 56 回日本実験動物学会総会 2009. 5 埼玉

Yasuda K, Sasaki Y, Kondo Y, Matsumoto M, Yoshimoto T, Nakanishi N. IL-33 mediated expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* in the absence of adaptive immune system. 第 74 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 2009. 6 京都

Yasuda K, Kondo K, Yoshimoto T, Fujimoto J, Nakanishi K. Administration of IL-33 induces airway hyperresponsiveness and goblet cell hyperplasia in the lungs in the absence of adoptive immune system. The 9th World Congress on Inflammation. 2009.7 Tokyo

Yasuda K, Sasaki Y, Kondo Y, Matsumoto M, Yoshimoto T, Nakanish K. IL-33 mediated expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* in the absence of adaptive immune system. The 9th Awaji International Forum on Infection and Immunity. 2009.9 Hyogo.

Yasuda K, Sasaki Y, Kondo Y, Matsumoto M, Yoshimoto T, Nakanishi K. IL-33 mediated expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* in the absence of adaptive immune system. 第 65 回日本寄生虫学会西日本支部大会. 2009. 11 大阪

松本真琴，佐々木由紀，安田好文，村松正道，本庶佑，善本知広，中西憲司．　ヴェネズエラ糞線虫の排除における抗原抗体複合体の必要性．第 39 回日本免疫学会総会・学術集会 2009. 12 大阪

田中英久，善本知広，安田好文，藤盛好啓，中西憲司．　ヒト好塩基球における HLA-DR 発現の検討．第 39 回日本免疫学会総会・学術集会 2009. 12 大阪

■特許■

善本知広，中西憲司 Th2細胞誘導用組成物およびTh2型疾患の治療組成物，ならびにこれらの利用．出願日：2009. 10. 26　国際出願番号：PCT/JP2009/005625

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）
分担研究報告書

国内における腸管寄生虫症の疫学的研究

研究分担者　小林　正規　慶応義塾大学医学部　講師（学部内）

研究要旨　1）霊長類寄生の赤痢アメーバ近似種である *Entamoeba nuttalli* の多様性解析のため、国内での異なる生息地のニホンザルから分離された *E. nuttalli* の無菌培養化を試みた結果、サルの生息地によって感染する *E. nuttalli* の本来共通性の高い遺伝子領域の性状に微妙な相違がみられることがわかってきた。

培養が困難なアメーバの分離培養法の確立のため、培養が困難で実験動物への感染も問題となっているアメーバ種、*Entamoeba muris* の培養を試み、2種細菌共棲下（dixenic culture）であるが培養に成功した。

2）知的障害者更生施設3施設についてフォローアップ調査を行った。6年と12年の長期間継続調査を行ってきた2施設については新たな赤痢アメーバ感染者は見られず、施設内での感染予防策も効果的に機能しているものと考えられた。しかしながら、メトロニダゾール単独治療後、6年後の2008年度にフォローアップ調査を行い、12名/101名(11.9%)の利用者に赤痢アメーバ嚢子陽性者がみられた1施設では、再度長期間(1.5g/日, 20日間)のメトロニダゾール単剤治療が実施されたが、2009年度も9名の嚢子陽性者がみられ、メトロニダゾール単剤治療の困難さを示した。

3）インド、コルカタでは依然コレラを始めとする細菌感染症やクリプトスポリジウム、ジアルジア等の腸管原虫感染症が蔓延しているが、何故か赤痢アメーバ症は減少傾向を示していた。邦人海外旅行者における赤痢アメーバ感染者の減少傾向との関連が興味深い。

A．研究目的

1）赤痢アメーバ、アルジア、クリプトスポリジウム等の分離株の遺伝子多型性の解析から、ヒトからだけ分離される株或いはヒトと動物の両方から分離される株等の識別もできるようになり、人畜共通感染症である腸管寄生原虫の種や株の遺伝子分類が基準化されつつある。そこでヒトから種々の病原性腸管寄生原虫を分離し、株間の疫学的特徴や virulence 及び生物学的性状を比較検討することで、その得られた情報を診断・治療に役立てることを目的とする。

2）現在諸種の施設及びハイリスク群で深刻な問題となっている国内での赤痢アメーバ集団感染の実態調査を行い、その結果をもとに赤痢アメーバ症のより効果的な予防と防御対策を立案する。そして、これらの対策案を今後の厚生・福祉行政へ反映させることを目的とする。本年度は邦人旅行者が腸管寄生虫症に感染する可能性の高い海外流行地のひとつ、インド、コルカタの感染症の実態把握のため、Div. of Parasitology, National Institute of Cholera and Enteric Diseases を訪問した。

B．研究方法

1）腸管寄生原虫株の分離：ニホンザルにも寄生が認められ、ヒトへの感染と病原性が危惧される赤痢アメーバの近似種 *Entamoeba nuttalli* の分離無菌培養を独自にデザインした培地(YIMDHA-S 培地)を用いて試みた。

分離培養が困難なアメーバ種のための培地作製を目的とし、長期培養が困難であり、実験動物への感染が問題となっている *Entamoeba muris* をアメーバ材料として培地のデザインを試みた。

2）施設内腸管原虫感染の疫学調査の実施：赤痢アメーバ症治療後のフォローアップ調査のため、3施設について慶應義塾大学医学部倫理委員会の承認条件下で調査を行った。1施設（施設利用者76名；嚢子陽性者21名；血清抗

体陽性者 51 名）については 2003 年 12 月より、腸管腔内抗アメーバ薬であるジロキサニドをメトロニダゾール投与後併用する治療法が採用され、2004～2008 年の間、毎年継続的調査が行われ再感染者はみられていないが、2009 年度も引き続き他の腸管寄生虫感染状況を含め、フォローアップ調査を行った。この調査と並行して、12 年間にわたり長期間フォローアップ観察を行ってきた、他の 1 施設（施設利用者 54 名；血清抗体陽性者 15 名；アメーバ有症候者 4 名；職員感染者 1 名）についても上記と同様のフォローアップ調査を行った。さらに、2002 年にメトロニダゾール単剤でアメーバ症治療を行った 1 施設（施設利用者 103 名；嚢子陽性者 29 名；血清抗体陽性者 54 名）のフォローアップ調査を本研究班初年度の 2008 年度に行い、再度陽性者を認めたことから、2009 年度は赤痢アメーバ再治療後 1 年目のフォローアップ調査を行った。

慶應義塾大学医学部倫理審査申請（20-94(2)）承認：厚生労働省新興・再興感染症研究事業「顧みられない病気に関する研究（H20-新興－再興－一般 016」：国内における腸管寄生虫症の疫学的研究

C．研究結果

1）腸管寄生原虫臨床株の分離：腸管腔寄生の原虫で無菌培養が容易なのは現在、病原性の赤痢アメーバとジアルジアそして非病原性の腸トリコモナスの 3 種である。我々は先に *E. histolytica, E. dispar, E. nuttalli* の 3 種の無菌培養に対応できる YIMDHA-S 培地を考案し実用化した（2008）。本年度も *E. nuttalli* の分離培養に応用しニホンザル及びインド産のサルからの 10 株を越えるアメーバの無菌培養株が得られた。

また卵黄抽出物を主成分とする Balamuth 培地（Balamut h，1962）が非病原性の大腸アメーバや小形アメーバの培養に適していたことから、この培地成分に着目し、Balamuth 培地に大腸菌と嫌気性菌である *Bacteroides fragilis* を加え、脱嚢が難しいアメーバ種嚢子のために新たに考案したリパーゼを加えた脱嚢システムを用いることで、SPF マウス等の実験動物でも感染が問題となっている *E. muris*（スナネズミ由来）の培養（細菌共棲 dixenic culture）に初めて成功し報告した（Kobayashi *et al.*, 2009）。

2）施設内腸管原虫感染の疫学調査の実施：知的障害者更生施設 3 施設についてフォローアップ調査を行った。６年と１２年の長期間、継続調査を行ってきた 2 施設については新たな赤痢アメーバ感染者は見られず、施設内での感染予防策も効果的に機能しているものと考えた。しかしながら、2008 年度にメトロニダゾール単剤治療後、6 年後に調査した 1 施設では、2002 年度以降の新たな入所者における陽性例 3 名を含む 12 名/101 名（11.9%）の利用者に赤痢アメーバ嚢子陽性者がみられ、再度 1.5g/日，20 日間の長期間のメトロニダゾールによる単剤治療が行われた。この治療法がとられたのは、ジロキサニド及びパロモマイシン等の腸管内抗アメーバ薬剤が未認可薬剤であり、我が国で入手が困難であったことによる。その結果、3 ヶ月後の顕微鏡的検査において陰転していた施設利用者について 2009 年度もフォローアップ調査を行い、再度 9 名の嚢子陽性者が検出された。この 9 名は便弄癖も確認されたため、治療法をメトロニダゾールの安全と考えられる最大投与量に相当する 2.25g/日，10 日間の単剤治療が行われた。但し、この集団感染が見られた施設から分離培養された赤痢アメーバ株は感染感受性のあるハムスター肝臓に接種しても全く膿瘍形成がみられず、また、施設において赤痢アメーバの感染が確認されて以来、少なくとも 10 年間、一人の施設利用者にも赤痢アメーバ症特有の症状が見られたことがなく、感染者の抗赤痢アメーバ血清抗体価も極めて低いという病原性が確認されない興味深い性質をもつ。この赤痢アメーバ株（KU27）についての遺伝子学的解析からも、この株が他の赤痢アメーバ株とは明らかに異なる多型性遺伝子パターンを示すことが明らかになっている（Aleyla *et al.*, 2010）。

3）インド、コルカタでの腸管寄生原虫感染状況：届出義務がある 5 類感染症として、国内での届出数の増加が著しい赤痢アメーバ症であるが、コルカタではここ数年、ジアルジア症の減少は見られないのに対し、赤痢アメーバ症の患者数は減少傾向にあるとのことであった。この減少の理由を疫学的に解明することができれば、我が国の赤痢アメーバの感染経路の遮断方法にも参考となる新たな方策が見つかる可能性も示唆された。

D．考察

1）未だニホンザル等の霊長類に寄生する *E.*

nuttalli のヒトへの感染は確認されていないが、動物園の霊長類の中にはアメーバ性肝膿瘍を発症した霊長類種も見られ、注意が必要である。

赤痢アメーバと非病原性の *E. dispar* の重複感染は稀であることが、Sargeaunt 等の 6,000 を越える分離培養株の疫学調査から知られており、２種のアメーバ間に何らかの競合が起きていることが推察されている。また、*E. muris* が寄生する赤痢アメーバ感染感受性マウス (C3H/HeJ, CBA/J 等)盲腸に赤痢アメーバを接種しても感染が成立し難いことも報告されていることから、寄生アメーバ種間の棲み分けや競合についての解析にこの感染実験系が応用できる可能性がある。

２）施設の赤痢アメーバ集団感染を終息させるためには、組織侵入性のアメーバ症治療に有効なメトロニダゾールと腸管腔内抗アメーバ薬(ジロキサニド、パロモマイシン)の併用が有効であるが、我が国では未承認薬であるため、これら薬剤を投与できる治療施設が限られ、実際はメトロニダゾール単独治療に頼らざるを得ない。そこで、メトロニダゾール単独治療の効果を高めるための抗生剤併用投与法や感染力を有す嚢子を含む便の排出を促すビフィズス菌等のプロバイオティクスや定期的に強制的な下剤や浣腸による排除についての検討も必要と考えられた。

３）赤痢アメーバの感染型である嚢子の外界での抵抗性や塩素感受性は他の腸管寄生原虫種(塩素抵抗性：クリプトスポリジウム>ジアルジア>赤痢アメーバ)に比較して弱いことが知られており、コルカタでの上下水道の整備や衛生環境の改善が赤痢アメーバの感染率を減少させたとしたら興味深い。

Ｅ．結論

１）霊長類寄生の赤痢アメーバ近似種である *E. nuttalli* の多様性解析のため、国内での異なる生息地のニホンザルから分離された *E. nuttalli* の無菌培養化を試み、サルの生息地によって感染する *E. nuttalli* の本来共通性の高い遺伝子領域の性状にも微妙な相違がみられることがわかってきた。

分離培養が困難なアメーバ種のひとつである *E. muris* の培養(細菌共棲 dixenic culture)に成功した。

２）施設内赤痢アメーバ集団感染、特に便弄癖のある感染者に対して種々濃度と投与期間で試みたメトロニダゾール単剤治療では感染の終息が困難であることが改めて再認識された。

３）インド、コルカタでは依然コレラを始めとする細菌感染症やクリプトスポリジウム、ジアルジア等の腸管原虫感染症が蔓延しているが、何故か赤痢アメーバ症は減少傾向を示していた。

Ｆ．　研究発表

１．　論文発表

1) Kobayashi S, Suzuki J, Takeuchi T. 2009. Establishment of a continuous system for *Entamoeba muris* and analysis of the small subunit rRNA gene. Parasite, 16(2), 135-139.

2) Tachibana H, Yanagi T, Akatsuka A, Kobayashi S, Kanbara H, Tsutsumi V. 2009. Isolation and characterization of a potentially virulent species *Entamoeba nuttalli* from captive Japanese macaques. Parasitology, 136(10),1169-1177.

3) Makioka A, Kumagai M, Kobayashi S, Takeuchi T. Involvement of serine proteases in the excystation and metacystic development of *Entamoeba invadens*. Parasitol Res, 105(4), 977-987.

4) Sato D, Kobayashi S, Yasui H, Shibata N, Toru T, Yamamoto M, Tokoro G, Ali V, Soga T, Takeuchi T, Suematsu. 2009. Cytotoxic effect of amide derivatives of trifluoromethionine against the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Int J Antimicrob Agents, 35(1), 56-61.

5) Escueta-de Cadiz A, Kobayashi S, Takeuchi T, Tachibana H, Nozaki T. 2010. Identification of an avirulent *Entamoeba histolytica* strain with unique tRNA-linked short tandem repeat markers. Parasitol Int, In press.

6) 小林正規. 2010. 赤痢アメーバ. 日本臨床（増刊号）, 広範囲血液・尿化学検査, 免疫学的検査(3) ―その数値をどう読むか―, 印刷中.

２． 学会発表

1) 牧岡朝夫，熊谷正広，平糠和志，小林正規，竹内 勤：*Entamoeba* の脱嚢におけるコフィリンの発現解析：第 42 回日本原生動物学会大会(2009)

2) 橘 裕司，柳 哲雄，Chamala Lama，小林正規，Jeevan Sherchand，平山謙二：ネパールのアカゲザルにおける*Entamoeba nuttalli* の感染状況：第50回日本熱帯医学会大会(2009)

3) 牧岡朝夫，熊谷正広，平糠和志，小林正規，竹内 勤：*Entamoeba* のアクチン脱重合因子コフィリンの解析：第 32 回日本分子生物学会年会(2009)

G. 知的財産権の出願・登録状況
　１． 特許取得　なし
　２． 実用新案登録　なし
　３． その他　なし

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）
分担研究報告書

赤痢アメーバのメタロニダゾール耐性に係る研究

研究分担者　津久井久美子　国立感染症研究所　主任研究官

研究要旨

赤痢アメーバによって引き起こされるアメーバ症は下痢を主症状とし、発展途上国を中心に年間100万人の感染が報告されている。アメーバ症の第一選択薬であるメタロニダゾールは発展途上国においても安価で処方しやすい薬であるため、その濫用から耐性株の出現が危惧される。近年国内でもアメーバ症の報告が増加しており2007年には800例に上った。さらに通常のメタロニダゾール処方（2250mg/day, 10日）で改善しにくい症例が散見されていることからメタロニダゾール耐性に対する危機感がある。そこで本研究では実験室で作出したメタロニダゾール耐性赤痢アメーバのトランスクリプトーム解析を行い、耐性機構の解明を行った。統計解析の結果メタロニダゾール耐性株と親株では1802の遺伝子で有意な発現の違いが確認された。メタロニダゾールはPyruvate Ferredoxin Oxidoreductase(PFOR)により活性化され、赤痢アメーバの抗酸化作用を阻害することで毒性を発揮すると考えられている。発現に差のある遺伝子には抗酸化作用に関わる分子が存在したがPFORは含まれていなかった。また、機能不明な遺伝子も多く含まれており、より詳細な検討が必要である。今後本研究からの知見をもとに耐性株出現の予防方法、耐性株に対する新規薬剤の提案を目指したい。

A　研究目的

アメーバ症は発展途上国で下痢の主要原因の一つである。このため下痢の患者に原因不明のまま赤痢アメーバ薬メタロニダゾールが処方されることがある。この濫用は常に薬剤耐性アメーバ出現のリスクと隣り合わせである。また、近年増加している国内の赤痢アメーバ症患者においてフラジール9錠（メタロニダゾール2250mg）10日というプロトコールで改善が悪い症例が散見されている。これは薬剤耐性アメーバの出現への危険信号と考えられる。そこで実験室で作成したメタロニダゾール耐性赤痢アメーバ株のトランスクリプトーム解析を行い、赤痢アメーバのメタロニダゾール耐性の分子機構を明らかにすることを目的とした。

B　研究方法

赤痢アメーバ株（HM1:cl6）を0.5μMメタロニダゾール存在下培養し、徐々に薬剤濃度を上げることで、メタロニダゾール耐性株を得た。IC50=1.4μMのところ、8μMのメタロニダゾールに耐性の株を得た。続いて親株、薬剤存在下で培養した耐性株（耐性株+）、7日間薬剤非存在下で培養した耐性株

（耐性株－）、の3種類のサンプルについてトリプリケートでトランスクリプトーム解析を行った。

C　研究結果

全てのチップで発現のない遺伝子を除き、one way AONOVA, post hock test で有意に変動があるとされた遺伝子が親株 vs 耐性株＋で1802、親株 vs 耐性株－で2630、耐性株＋vs 耐性株＋で2339存在した。親株と耐性株＋間の比較に着目したところ、もっとも変動があった遺伝子が EHI_092110（hypothetical protein）であり、耐性株で83倍発現上昇がみられた。酸化還元制御に関わる遺伝子としては EHI_045340（glutamate synthease beta subunit）: 7.2x down、EHI_067720 等（iron-sulfur flavoprotein）:2.3~2.7x down、EHI_021570(serine acetyltransferase 1): 2.8x up、EHI_171750（cysteine synthase 2）:1.4x down、といった遺伝子で発現差があった。メタロニダゾールの活性化に関与するとされる PFOR の発現については差が認められなかった。

D　考察

親株と耐性株＋での比較から、メタロニダゾール耐性株では酸化ストレスを緩和する分子システムが作動していると考えられた。しかし変動の大きい遺伝子群（5倍以上変動）では多くが hypothetical protein や機能が同定されていない分子であった。よって酸化ストレス以外の環境適応システムが存在する可能性がある。

これまでにメタロニダゾール耐性が報告されている膣トリコモナス原虫や腸鞭毛虫ではメタロニダゾールの活性化を行う PFOR の発現低下や活性低下が報告されている。しかし、今回の赤痢アメーバにおいては PFOR の遺伝子発現に有意差は認められなかった。今後 PFOR の活性の測定を行い、赤痢アメーバでのメタロニダゾール耐性株とその他原虫での耐性機構の違いを明らかにしていく必要がある。

E　結論

赤痢アメーバメタロニダゾール耐性株では予想通り酸化還元状態を制御する遺伝子の発現変化があり、メタロニダゾールによる酸化ストレスを緩和する機構が働いていることが示唆された。しかしこれまで他の原虫で報告され、メタロニダゾール耐性の中心的役割を担うと考えられた PFOR 遺伝子については有意な差が見られなかった。よって赤痢アメーバに独自の耐性機構が存在することが示唆された。今後、より詳細な分子機構を明らかにしていく必要がある。

G　研究発表

１論文発表

該当なし

２学会発表

該当なし

H　知的財産権の出願・登録状況

該当なし

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
「顧みられない病気に関する研究」
平成21年度分担報告書

アカントアメーバ角膜炎を含むコンタクトレンズ関連角膜感染症に関する研究

研究分担者 井上 幸次 鳥取大学医学部視覚病態学教授
研究協力者 八木田 健司 国立感染症研究所 寄生動物部

研究要旨：昨年度行ったコンタクトレンズ(CL)関連角膜感染症全国調査の結果を統計解析して発症及び重症化のリスクファクターを求めた。CL保存ケースの汚染調査では多くの検体が細菌とアカントアメーバに汚染されていた。CL消毒に用いるMPSの各銘柄がアカントアメーバに対する十分な消毒効果を有していないことを確認した。アカントアメーバ角膜炎の原因となった株を全国9施設より集積し解析中である。

A．研究目的

アカントアメーバの人への感染は珍しいが、角膜炎を起こすことが知られている。最近、コンタクトレンズ（CL）使用者による感染が増加していることから，その実態を他の起因微生物によるものも含めて多面的に把握することを目的とした。

B．研究方法

・昨年度まで日本コンタクトレンズ学会と日本眼感染症学会において施行したCL関連角膜感染症調査（全国224施設）のデータを用いて統計学的解析を行い、発症と重症化に関わる因子を解析する。
・国民生活センターと共同で、ソフトCL使用の学生385名のレンズケースを回収し、その汚染状況を調査し、合わせて使用状況との比較をおこなう。
・国民生活センターと共同で、各CLケア用品のアカントアメーバに対する消毒効果をアメーバ栄養体及びシストの懸濁液に100倍量のCLケア用品を加える形でおこなう。
・全国９施設においてアカントアメーバ角膜炎より分離されたアメーバ株を国立感染症研究所に集積し、分子疫学的解析をおこなう。

C．研究結果

・CL関連角膜感染症の統計解析では男性で起こりやすいこと、10-20代で起こりやすいが、発症すると30代以上の方が重症化しやすいこと、アカントアメーバ感染、CL消毒不良が重症化の危険因子であること、ハードCLはCL関連角膜感染症が起こりにくいが、起こると重症化しやすいこと、定期交換ソフトCLはCL関連角膜感染症を起こしやすいこと、１日使い捨てソフトCLはCL関連角膜感染症を起こしにくいことが明らかとなった。
・回収したソフトＣＬケア用品について、２名からアカントアメーバが分離培養され、Real-time PCRにより、40名（10.4 %）からアカントアメーバのDNAが検出された。細菌については230名（59.7 %）から細菌が検出された。また、消毒剤の種類別にみると、multipurpose solution(MPS)を使用していた335名の細菌検出率及び緑膿菌検出率は過酸化水素タイプの消毒剤を使用していた人よりも有意に高かった。
・各銘柄のCLケア用品のアカントアメーバに対する消毒効果は十分ではなく、特にMPSに不良なものが多かった。
・分子疫学的調査では、角膜19検体、保存液11検体およびＭＰＳ（ボトル内液）1検体を、また生活環境中から6検体を調べた結果、角膜の検体は18検体がT4、1検体がT11に分類された。その中でいくつかのサブタイプが国内では優勢となる可能性が示唆された。
・保存液ならびにＭＰＳの検体はいずれもT4に分類された。なお患者の角膜、ＣＬ保存

液さらに使用したMPSボトル内液の各検体より同一シークエンスのアメーバが検出される場合があった。
・環境からはアカントアメーバ以外のネグレリア類の検出が多かった。

D．考察
　アカントアメーバ角膜炎はCL関連角膜感染症の中でも重症であり、重篤な視力障害につながる危険がある。しかし、CLケア用品はかなりの頻度で汚染されており、特にもっとも汎用されているMPSの汚染率が高い。これはMPSがそもそもアカントアメーバに対する効果が弱いことが根本にあるが、CL消毒の正しい方法が守られていないことがもう一つの要因となっている。より消毒効果の強い安全なCLケア用品の開発と使用者に対する使用方法に関する啓発の徹底が必要である。
　また分子疫学調査を進めることによって、起因アメーバを分子生物学的に正確に同定することで流行株や難治性タイプの特定が容易になるなど、発生予防、治療に有用な情報を得ることが期待される。

E．結論
　アカントアメーバ角膜炎の感染防止には発症実態の把握、CL使用者への消毒法の啓発、新たなCLケア用品の開発、分子疫学的モニタリングなど多角的な戦略が必要である。

F．健康危険情報
　（分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入）

G．研究発表
1.　論文発表
　研究成果の刊行に関する一覧表参照

2.　学会発表
大谷史江、井上幸次、八木田健司ほか：細菌性角膜炎からアカントアメーバ角膜炎に移行したと考えられる1例. 第46回日本眼感染症学会, 大阪, 2009年7月10～12日

井上幸次：教育講演「コンタクトレンズ関連角膜感染症の診断と治療」. 第106回中国四国眼科学会,高松 2009年7月26日

井上幸次:　特別講演「眼感染症における微生物の起因性について考える」. 第63回日本臨床眼科学会,福岡,2009年10月9日～12日

H．知的財産権の出願・登録状況
　（予定を含む。）
1. 特許取得
　なし

2. 実用新案登録
　なし

3. その他
　なし

表-1、アカントアメーバ性角膜炎分子疫学調査で分離された株とTタイピング
ならびにBLAST検索結果

試料ID	試　料	BLAST結果	T type	備　考
1-1-1	角膜	*Acanthamoeba* sp. Rowdon strain ATCC50497	T4	
1-2-1	角膜	*Acanthamoeba* sp. Rowdon strain ATCC50497	T4	
1-3-1	角膜	*Acanthamoeba* sp S2.JDP	T4	
1-3-2	保存液	*Acanthamoeba* sp S2.JDP	T4	1-3-1のCL
1-4-1	角膜	培養陰性	—	
1-4-2	保存液	*Acanthamoeba* sp. S15	T4	1-4-1のCL
1-5-1	角膜	*A. polyphaga* Eye strain ATCC30461	T4	
1-5-2	保存液	*A. polyphaga* Eye strain ATCC30461	T4	1-5-1のCL
1-6-1	角膜	*Acanthamoeba* sp. Rowdon strain ATCC50497	T4	
1-6-2	保存液	*Acanthamoeba* sp. Rowdon strain ATCC50497	T4	1-6-1のCL
1-7-1	角膜	*Acanthamoeba* sp. U/0ft1	T4	
1-7-2	保存液	*Acanthamoeba* sp. U/0ft1	T4	1-7-1のCL
1-8-1	角膜	*Acanthamoeba* sp. KA/E6	T4	
3-1-1	角膜	*Acanthamoeba* sp. CDC #V390	T4	
3-1-2	保存液	*Acanthamoeba* sp. KA/E6	T4	3-1-1のCL
3-2-1	角膜	*A. polyphaga* Eye strain ATCC30461	T4	
3-2-2	保存液	*Acanthamoeba* sp. CDC #V390	T4	3-2-1のCL (カラコン)
6-1-3	保存液	*Acanthamoeba* sp .CDC #V062	T4	
6-2-1	角膜	*A. polyphaga* Eye strain ATCC30461	T4	
6-2-2	保存液	*A. polyphaga* Eye strain ATCC30461	T4	6-2-1のCL
6-2-3	MPS ボトル内液	*A. polyphaga* Eye strain ATCC30461	T4	6-2-1 の MPS ボトル
6-3-3	環境	AC以外の小型アメーバ	—	
6-4-3	環境	*Acanthamoeba* sp. U/0ft1	T4	
6-5-1	角膜	*A. polyphaga* Eye strain ATCC30461	T4	
6-5-2	保存液	*Acanthamoeba* sp. U/E3	T4	6-5-1のCL
6-6-3	環境	AC以外、*Naegleria* 類	—	
6-7-3	環境	AC以外、*Naegleria* 類	—	
6-8-3	環境	AC以外、*Naegleria* 類	—	
6-9-3	環境	AC以外、*Naegleria* 類	—	
7-1-1	角膜	*A. hatchetti* 4RE	T11	
7-2-1	角膜	*Acanthamoeba* sp. KA/E24	T4	
7-3-1	角膜	*Acanthamoeba sp.* KA/E6	T4	
7-4-1	角膜	*Acanthamoeba sp.* AH-2009	T4	
7-5-1	角膜	*Acanthamoeba* sp. S36	T4	
9-1-1	角膜	*Acanthamoeba* sp. CDC V062	T4	
9-2-1	角膜	*Acanthamoeba* sp. CDC V042	T4	
9-2-2	保存液	*Acanthamoeba* sp. CDC V042	T4	9-2-1のCL
9-3-1	角膜	*Acanthamoeba* sp. KA/E6	T4	

分離されたアメーバ株はBLAST検索トップの株と99～100%の相同性を示した

平成 21 年度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
「顧みられない病気に関する研究」
平成 21 年度分担報告書

ジアルジア症迅速診断キット開発に向けた抗ジアルジアモノクロナル抗体の作製

研究分担者： 八木田 健司 国立感染症研究所 寄生動物部

協力研究者： 泉山 信司 国立感染症研究所 寄生動物部
宮崎 誠生 アーク・リソース株式会社

概要

国内でのジアルジア免疫診断キットの開発を目的として、抗ジアルジアモノクロナル抗体を作製した。シスト壁成分である 65kD タンパクを抗原として、定法によりモノクロナル抗体産生の 3 クローン得た。間接蛍光抗体法を用いて、得られた抗体の染色性ならびに特異性を検討した。その結果、開発した抗体は市販抗体と同様の染色像を示し、各種原虫類への反応性からは *G.lamblia* 特異性が高いことを確認した。

A. 研究目的

ジアルジア症に関して国内ならびに国外でも実用的な検査法が必要と考えられる中で、本研究では検査コストの経済性を一つの条件に、ジアルジア糞便検査における抗原検出法の開発とそのキット化を目指している。前年度の成果として、市販抗ジアルジアモノクロナル抗体を利用して試作したラテックス法は方法論として糞便検査に適用可能であるとの根拠を示すことができた。問題となった感度向上に関しては、高力価な抗ジアルジアシストモノクロ抗体を開発することで解決可能との判断がされた。そこで本年度はラテックス法を含めた迅速検査法の開発の基盤となるモノクロ抗体の開発を行った。

B. 研究方法

1)ジアルジア抗原の調整

Giardia lamblia/カモシカ由来株（Assemblage B）を脱シストさせ、シスト壁試料を得た（図-1）。多量のシスト壁小片を含む（蛍光抗体法で確認）脱シスト試料を 12,000rpm で 1 分間遠心し、栄養体を分離、その上清を回収、タンパク量を測定した。

2)マウスへの抗原投与と免疫スケジュール

使用したマウスはBALB/c、5週齢、♀。3匹に対し抗原となる脱シスト上清を皮下接種した。アジュバント条件は1回目コンプリート、2、3回目はインコンプリートとした。免疫スケジュールは、1回目 30μg/匹、2回目(3週間後)15μg/匹、3回目(6週間後))15μg/匹、7週間後に試験採血を行い ELISA で抗体価を調べ、8週間後に最も抗体価の高かった個体に対し最終免疫(腹腔内、30μg/匹)を行った。

3)細胞融合とスクリーニング

免疫9週間後に細胞融合を行い、約10日間毎に5回までスクリーニングとクローニング作業をすすめ陽性クローンを樹立した。

4)モノクロナル抗体の産生と特異性評価

ハイブリドーマの培養上清を回収し、培養上清を一次抗体として精製ジアルジアシストを用いて間接蛍光抗体法によりモノクロナル抗体の特異性を調べた。2次抗体には抗マウスIgG－FITC 標識抗体を用いた。なお特異性試験には *Giardia lamblia* 以外に、交叉反応の可能性が考えらら得る原虫類等(*Cryptosporidium parvum*、*C. muris*、*Giardia muris*、*Cyclospora cayetanenensis*、 *Isospora belli*、*Entamoeba histolytica*、*Entamoeba coli*、*Eimeria magna*、*Chilomastix*、 *Retortamonas*)のシストあるいはオーシスト固定標本を用いて染色性を比較した。また、市販抗体試薬(直接蛍光抗体法として市販されている)である Merifluor G/C (Meridian Bioscience 社) ならびに Giardi-a-Glo -FITC (Waterborn 社)をその使用法に準じて先述の原虫類を染色し、今回のモノクロ抗体との性能比較を行った。

C．研究結果

1)脱シスト試料中の 65kD タンパク質

脱シスト試料の上清には SDS-PAGE により 65kD のタンパクがドミナントに検出された。サンプルバッファーにより前処理された栄養体あるいは脱嚢処理していない生のシストからは 65kD のタンパクはほとんど検出されなかった。脱シスト試料の上清は、前年度試作した抗シスト 65kD タンパク抗体感作ラテックスに対し高い凝集性を示した。これらの結果から脱シストに際し生じた 65kD タンパクは、糞便性抗原(65kD fecal antigen)と報告されたものと同一と考えられた。

2)抗 65kD タンパク抗体(IgG)の抗体価

免疫に用いたのと同じ抗原を用いてマイクロプレート ELISA により抗体価を調べた。免疫に用いたマウス3匹はいずれも大きくIgG抗体価が上昇し、一方 IgM のほうは1匹がわずかに上昇を示したものの、全体として抗体価の上昇は見られなかった。最も抗体価上昇の高かったマウスについて最終免疫を行ったが、IgG 抗体の上昇はほとんどみられず抗体価はプラトー状態に達したものと考えられ、免疫はこの最終免疫で終了とした。

3)クローン作成

細胞融合は順調に進み、ほぼすべてが陽性ウェルとして得られた。そのうち高力価10株をメインの株とし 2nd スクリーニングへすすみ、次に力価が高い 17 株をサブクローン化し、この時点でクローンの保持を目的に凍結保存を行った。さらにクローニングを進める中で増殖性の劣るクローンが残念ながら増加し、現時点で 3 クローンが樹立成功するに止まっている。診断に求められる感度向上における抗体組み

合わせの効果を考え、特異抗体としては 7～10 クローン必要と想定していることから、凍結保存した細胞より新たにクローニングを始めている。

4)抗体の特異性評価

現在までに樹立したクローン 3 種類につき、その培養上精を用いて産生された抗体の特異性を調べた(表-1)。比較対照とした市販 2 種類の直接蛍光抗体試薬は *Giardia lamblia* シストにおいて強陽性であり、シスト壁のみがシャープに FITC に染まる極めて特的な染色像が示された。その他の原虫においては Giardi-a-Glo(WB)が *G. muris* において弱陽性であったこと除けば、すべての原虫の染色は陰性結果を示した。本研究で作製した抗体はいずれも *G. lamblia* を市販抗体同様良好に染色した(図-2)。そのうち1クローン(4GI)は Giardi-a-Glo よりやや強めに *G. muris* も染色したが、他の原虫類では陰性結果であった。他の2クローンについては *G. lamblia* のみの特異的反応を示し、他の原虫類では陰性結果であった。

D. 考 察

当初は抗原として ATCC の WB 株を用いる予定であったが、特許等の開発に対する影響を考慮し国内でカモシカより分離された株を用いることにした。同株は市販蛍光試薬を用いて調べた限り、抗原性は WB 株と変わらないとうことを確認し、実験には用いている。これまでにシスト壁由来の 65kD 抗原に対し 3 つモノクロナル抗体が得られており、その特異性は *G. lamblia* に特異的反応を示し、市販抗体と同様の性能があることが確認された。特に *G.lamblia* と同じ寄生性鞭毛虫類である *G.muris*、 *Chilomastix* および *Retortamonas* と交叉反応がなかったこと、また将来的に想定されるクリプトスポリジウムや赤痢アメーバとの同時検出法において、これらの原虫との交叉反応がなかったことは今回の開発抗体の診断上の有用性が高いことを示すものである。65kD 抗原はシスト壁の CWP-1 および 2 の複合体と考えられ、シスト壁内にあっては蛍光抗体染色法でその存在を検出し、また糞便中に抗原分子として存在する場合は、ELISA やイムノクロマト法による検出が可能となる。陽性クローンの数を増やすことで最適の抗体の組み合わせが可能となり、検出感度の向上も期待される。

E. 結 論

国内での抗ジアルジアモノクロナル抗体の作製が成功し、各種の免疫学的手法を用いた迅速診断用キットの開発に向けての重要な課題は解決されつつある。次年度よりキット化の応用へと計画を進める。

F. 参考文献

Rosoff J.D.and Stibbs H.H. Physical and chemical characterization of a Giardia lamblia-specific antigen useful in the coprodiagnosis od Giardiasis. J.Clin.Microbiol.24(6):1079-1083,1986

Lujan H.D.,et al., Identification of a novel Giardia lamblia cyst wall protein with leucine-rich repeats. J. Biol.Chem. 270(49):29307-29313,1995

Mowatt M.R. et al., Developmentally regulated expression of Giardia lamblia cyst wall protein gene. Mol. Microbiol. 15(5):955-963,1995

G. 健康危惧情報

なし

H. 研究発表

なし

I. 知的財産権の出願・登録状況

なし

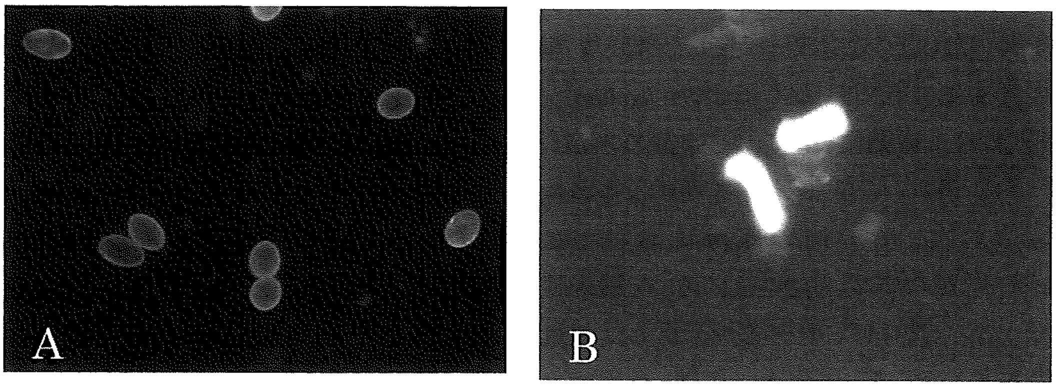

図-1、市販蛍光抗体試薬 Merifluor による *Giardia lamblia* シストの染色像

A. *Giardia lamblia* シストの染色像　B. 脱シスト処理後の染色像

脱シストによりシスト壁の形態が変化するとともに、シスト壁内の抗原が露出し、極めて多量の抗原が反応する

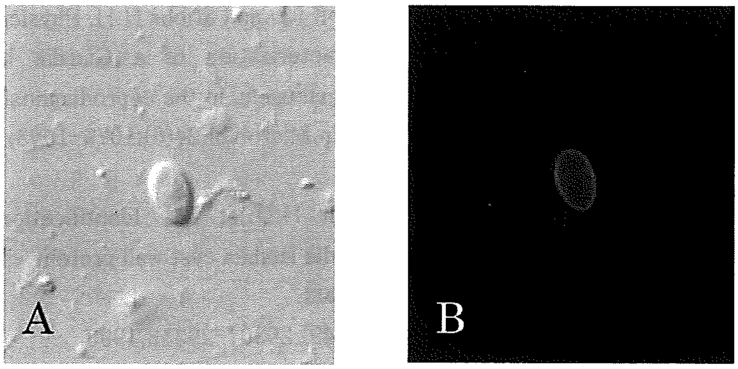

図-2、本研究で作成した抗ジアルジア抗体（4GI）の間接蛍光抗体染色像

A. *Giardia lamblia* シストの微分干渉顕微鏡像　B. 同シストの間接蛍光抗体染色像

表-1、各種原虫類に対するモノクロナル抗体特異性

抗体名	*C.parvum*	*C.muris*	*G.lamblia*	*G.muris*	*Cyclo.*	*Isospora*	*E.histol.*	*E.coli*	*Eimeria*	*Chilomas.*	*Retortam.*
MeriFluor**	+++	−	+++	−	−	−	−	−	−	−	−
Giardi-a-Glo	−	−	+++	+	−	−	−	−	−	−	−
AR 4GI*	−	−	+++	++	−	−	−	−	−	−	−
AR 4B5*	−	−	+++	−	−	−	−	−	−	−	−
AR 3H4-7E*	−	−	+++	−	−	−	−	−	−	−	−

＊本研究で作製したモノクロナル抗体　　＋＋＋　強陽性、＋＋陽性、＋弱陽性、－陰性

＊＊MeriFluor は抗クリプトスポリジウム抗体と抗ジアルジア抗体が混合され市販されている

厚生労働科学研究費補助金（平成21年度新型インフルエンザ等新興再興感染症研究事業）
分担研究報告書

顧みられない病気に関する研究
寄生蠕虫症の病態と検査診断結果に関する研究

研究分担者　大前 比呂思　国立感染症研究所 寄生動物部
研究協力者　千種　雄一　獨協医科大学　熱帯病寄生虫病センター

研究要旨　フィリピンの日本住血吸虫浸淫地で、日本住血吸虫症と診断され、神経症状を示した270人を対象に、プラジカンテル治療後の経過観察を行った。麻痺や痙攣といった神経症状のうち約 90%は３ヶ月以内に消失し、抗痙攣剤など補助的な薬剤の使用も不要になった。従来、日本住血吸虫による神経症状の消失には、１年以上かかる例も多いとされてきたが、プラジカンテルの治療効果は速やかに現れることがわかった。また、同時に行われた腹部超音波検査の結果、神経症状の程度と、治療効果と腹部超音波検査結果の間には、特に相関はみられなかった。また、カンボジアのメコン住血吸虫浸淫地での調査では、マンソン住血吸虫やビルハルツ住血吸虫で試みられている超音波検査診断の点数化による診断基準の統一は、検査者による違いが大きくなり実際的ではないことがわかった。

A．研究目的

神経型住血吸虫症は、住血吸虫症の臨床型としては稀とされ、薬物治療だけでは治癒しない例もあるなど、比較的難治な疾患として認識されてきた。しかし、最近プラジカンテルによる集団治療など、morbidity 改善を目指した治療的介入が進んだ結果、フィリピンの住血吸虫浸淫地では、重症な肝脾腫型の占める割合が減少し、軽症型として神経型の占める割合が相対的に増加してきたと報告されている。また、現在みられている神経型の例では、虫卵抗原を用いた ELISA の血清抗体価が低いことも多く、神経型日本住血吸虫症の治療効果や予後については、実状に合わせて再評価する必要がある。そこで、フィリピン、レイテ島で、神経症状を示した日本住血吸虫症患者を対象とし、他の病態との関連を検討すると同時に、プラジカンテル治療後のフォローアップを行った。

また、日本住血吸虫症に限らず、治療的介入の進展により、住血吸虫症の morbidity は、世界的にも大きく変化しており、その把握に、腹部超音波検査が利用される機会が増えている。アフリカ・中南米で蔓延するマンソン・ビルハルツ住血吸虫症では、超音波検査診断の国際的標準化をはかり、点数化した統一した診断基準で国際的な地域比較も試みられるようになってきた。しかし、アジアにおいては、日本住血吸虫症の超音波所見で特徴的な網目状パターンの評価が研究者によって異なることもあり、診断基準の統一には至っていない。そこで、アジアに蔓延する住血吸虫症のうち、まず超音波所見の変化がマンソン住血吸虫症により近いメコン住血吸虫症について、点数化した診断基準の有用性を検討することとした。

B. 研究方法

フィリピン、レイテ島のSchistosomiasis Research Hospitalを受診した、他覚的にはっきりした神経症状を示した日本住血吸虫症患者270名を対象とした。プラジカンテル治療（50～60 mg/kg/日，３分服）の後、定期的に神経症状をチェックするとともに、虫卵検査、血清免疫検査を行った。

また、カンボジアのクラチ省のメコン住血吸虫症浸淫地では、虫卵陽性者32人を対象として、３人の独立した検査者による超音波検査診断の一致率を、点数とパターンの面からみた。また、同じ対象者について、糞便中の虫卵排泄数と虫卵抗原に対する血清抗体価の関係についても調べた。

なお、これらの臨床研究は、全てフィリピン共和国保健省やカンボジア王国保健省が行う住血吸虫症対策事業の一環として行われた。また、被検者の健康増進に利するよう検査結果を個別に伝えると同時に、検査結果の研究への利用については、書面で同意を得て行った。

C. 研究結果

フィリピン、レイテ島のSchistosomiasis Hospitalを受診し、神経症状を示して対象となった270人の性比は約２：１で、特定の年齢層に偏る傾向はみられず、性比・年齢分布とも、受診者全体が示す傾向と同じであった（表１）。最も多くみられた神経症状は、四肢の痙攣で、その殆どは間代性痙攣だった（表２）。その他、頭痛やめまいといった自覚症状以外に、感覚脱失や筋痙攣といった巣症状を疑わせる所見もみられたが、いずれの症状についても、プラジカンテル治療後の３ヶ月のうちに、90%以上が消失した。また、血便や腹痛といった消化器症状も、速やかに消失した（表３）。106例については、治療前に、腹部超音波検査を行うことができたが、神経症状と腹部超音波検査による肝病変との間には、特に関係はみられなかった（表４）。さらに、37例については、治療後に虫卵抗原を利用したELISAで、血清抗体価の変動を６ヶ月毎にフォローしたが、１年後には殆どの例で抗体価が低下し、２年後には約30%の例で陰転化した。

メコン住血虫症については、2009年10月にカンボジアのストン・トレイン省の浸淫地で、虫卵陽性者32人を対象に、３人の別の診断者による超音波検査診断の一致率をみた。パターンの一致率は、点数の一致率よりも高く、特に肝線維化が進んだと判断される例で高くなった（表５）。また、若年者で高度な肝線維化病変と判断された例では、糞便中の虫卵排泄数で表される感染強度が高くなる例が多かった（図）。

D. 考察

神経型の住血吸虫症の原因となる中枢神経の病変は、脳の静脈系にできた虫卵結節が中心といわれている。プラジカンテルは、住血吸虫成虫に対し、Caチャンネルを介して成虫の筋麻痺を起こし、虫体の排泄を促すが、それ以外に、成熟卵に対して生体内で孵化させる働きもある。プラジカンテル

を投与すると半年以内に、肝線維化や門脈壁肥厚といった病変の改善傾向がみられるが、この効果は、プラジカンテルにより、肝線維化の主因である虫卵結節から、成熟虫卵が排泄されることと関係すると思われる。神経型住血吸虫に対するプラジカンテルの治療効果も、中枢神経の巣症状の原因となる虫卵結節からの成熟虫卵排泄による可能性が高い。石灰化した虫卵に対しては、プラジカンテルは治療効果がないが、最近は、集団治療に代表されるような治療的介入が盛んになり、以前に比して早期に治療される機会が増したことで、多くの神経型の例でプラジカンテルの顕著な効果がみられるようになったのかもしれない。また、従来は、肝線維化の進行した例で、神経症状の合併が多いとの報告が多かったが、今回の調査では、肝病変の程度と神経症状の間に特に相関は認められなかった。神経型日本住血吸虫症については、今後の診療にあたり、予後がよい病型として整理し直す必要がある。さらに、ELISAの血清抗体価も、日本では5～10年といった長い期間をかけて、低下してくことが多かったが、今回のフィリピンでの調査では、2年間で陰転化する例も多く、軽症例を中心に、治療効果のモニタリングにも利用できることがわかった。

カンボジアのメコン住血吸虫浸淫地での調査では、マンソン住血吸虫やビルハルツ住血吸虫で試みられている超音波検査診断の点数化は、検査者による違いが大きくなり実際的ではなかった。また、メコン住血吸虫症では、日本住血吸虫症でみられる網目状パターンのような、特徴的なパターンはみられない。今後、超音波検査をmorbidity調査に利用していくには、より実際的な診断基準の統一をはからねばならない。

E. 結論

フィリピンの日本住血吸虫浸淫地で、神経症状を示した270人の日本住虫症患者を対象に、治療後の経過観察を行ったところ、麻痺や痙攣といった神経症状の大半は、プラジカンテル治療のみで、3ヶ月以内に消え、抗痙攣剤など補助的な薬剤の使用も不要になった。従来、日本住血吸虫による神経症状の消失には、1年以上かかる例も多いとされてきたが、プラジカンテルの治療効果は速やかに現れることがわかった。また、同時に行われた腹部超音波検査の結果、神経症状の程度と、治療効果と腹部超音波検査結果の間には、特に相関はみられなかった。また、カンボジアのメコン住血吸虫浸淫地での調査では、マンソン住血吸虫やビルハルツ住血吸虫で試みられている超音波検査診断の点数化による診断基準の統一は、検査者による違いが大きくなり実際的ではないことがわかった。

F. 健康危機情報

特になし