

両者に共通する領域の配列から、新たなプライマー・ペアを設計・作製した。この新規のプライマー・ペアを用いて PCR および nested PCR を行ない、予想サイズ・予想配列の産物が（低濃度の）各肺吸虫の DNA テンプレートから確実に増幅されるかを調べた。

C. 研究結果

1) 宮崎肺吸虫を用いた検討

宮崎肺吸虫のメタセルカリアから常法に従い、DNA を調整した。これをテンプレートに、ユニバーサルなプライマー・ペア (T7-1 および SP6-1) で PCR 増幅し、産物 (788bp) を得た。配列を解読し、同様の方法で得たウエステルマン肺吸虫の配列との間でアラインメントを比較した。その結果、2 倍体型 (805bp) とのシミラリティは 79.5%，3 倍体型 (同じく 805bp) とのシミラリティは 79.2% に留まることが分かった。しかしながら、宮崎肺吸虫とウエステルマン肺吸虫 (2 倍体型・3 倍体型) との間で、10bp 以上の塩基が連続して共通する領域を、特に 5' 側 (6 箇所) および 3' 側 (9 箇所) に多く認めた。この結果から、今回の検討で得た配列は、宮崎肺吸虫におけるミトコンドリア 16S リボソーム RNA 遺伝子の部分配列として問題がないと考えた。

2) 新たなプライマー・ペアの設計

ウエステルマン肺吸虫の型別判定 (2 倍体型/3 倍体型) に有用な箇所は、16S リボソーム RNA 遺伝子の部分配列 (805bp) の中でも、わずか 2 箇所に過ぎないことが示されている。すなわち、ユニバーサルなプライマー・ペア (T7-1 および SP6-1) で増幅させた PCR 産物の 247 番目 (以下、Pw247 と表記) の塩基 (2 倍体型 : A ; 3 倍体型 : G) および Pw562 の塩基 (2 倍体型 : C ; 3 倍体型 : T) のみであった。この 2 箇所を増幅産物に含むように、新たなプライマー・ペアの設計を試みた。その結果、フォワードプライマー PwDTF2 (5' -TGTCGT ACCTTTTGCATCATG-3' , Pw120-140, 21-mer)

およびリバースプライマー PwDTR3 (5' -ATTA TGCTACCTTAGCACAGTC-3' , PW635-614, 22-mer) が有力な候補になると考え、これを作製した。

3) 新規プライマー・ペアを用いた PCR

新規プライマー・ペア (PwDTF2 および PwDTR3) を用いて PCR 増幅を試みた結果、テンプレート DNA がウエステルマン肺吸虫 (2 倍体型・3 倍体型) および宮崎肺吸虫のいずれに由来した場合でも、予想サイズ・予想配列の増幅産物が得られた (図 1)。

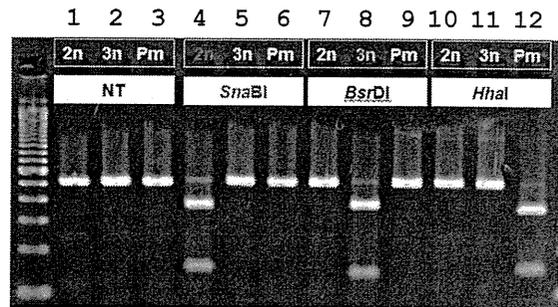


図 1. 新規に作製したプライマー・ペアで増幅させた産物の PCR-RFLP パターン。ウエステルマン肺吸虫 (2 倍体型 ; レーン 1, 4, 7 および 10), 同 (3 倍体型 ; レーン 2, 5, 8 および 11) および宮崎肺吸虫 (レーン 3, 6, 9 および 12) からテンプレート DNA を調製し、PCR 増幅後に未処理で (レーン 1-3), あるいは制限酵素 *Sna*BI (レーン 4-6), *Bsr*DI (レーン 7-9), *Hha*I (レーン 10-12) で処理後に電気泳動した。

2n	241	TGCATTACGTA	: <i>Sna</i> BI (TAC/GTA)
3n	241	-----G-----	: <i>Bsr</i> DI (NN/CATTGC)
Pm	241	AAT-AG---CG	: <i>Hha</i> I (CGC/G)

図 2. ウエステルマン肺吸虫 (2 倍体型:2n), 同 (3 倍体型:3n), 宮崎肺吸虫 (Pm) のミトコンドリア 16S リボソーム RNA 遺伝子の塩基配列, ユニバーサルプライマー (T7-1 および SP-6) による増幅産物の 241 番 (Pw241) から 251 番 (Pw251) の領域を示す。各配列の下線部分を認識する 3 種類の制限酵素で PCR 産物を処理し、種同定・型別判定した。

Pw247にある塩基配列の差異を認識して、対象となるウエステルマン肺吸虫のPCR産物のみを切断する酵素として、*Sna*BI (2倍体型) および *Bsz*DI (3倍体型) が既に知られていた。同様に、この領域で宮崎肺吸虫由来のPCR産物のみを切断する酵素を検索したところ、*Hha*I が候補に上がった (図 2)。これらの制限酵素で各種・各型のPCR産物を実際に処理したところ、*Sna*BI はウエステルマン肺吸虫 (2倍体型) のみを、*Bsz*DI はウエステルマン肺吸虫 (3倍体型) のみを、*Hha*I は宮崎肺吸虫のみを切断し、しかも切断断片は予想のサイズに一致することが示された (図 1)。

4) 新規プライマー・ペアを用いた nested-PCR PCRの出発材料となる各テンプレートを蒸留水で1,000倍に希釈し、nested-PCRで同様の検討を試みた。まずユニバーサルなプライマー・ペア (T7-1 および SP6-1) でPCR増幅を試みた。その産物を用いて、新規プライマー・ペア (PwDTF2 および PwDTR3) による nested-PCR 増幅を試みた。その結果は上述の検討の場合と同様で、ウエステルマン肺吸虫 (2倍体型・3倍体型) および宮崎肺吸虫のいずれのテンプレートDNAからも、予想サイズ・予想配列のPCR産物が得られた。また制限酵素による切断パターンも、上述の結果と完全に一致した。

D. 考察

今回の検討の結果、ミトコンドリア16SリボソームRNA遺伝子の部分配列が、ウエステルマン肺吸虫の型別判定だけでなく、ウエステルマン肺吸虫と宮崎肺吸虫を鑑別するマーカーとして有用であることが明らかとなった。当該領域の増幅には、ユニバーサルなプライマー・ペア (T7-1 および SP6-1) が利用できた。さらに今回、新たに構築したプライマー・ペア (PwDTF2 および PwDTR3) は、nested PCRに活用でき、出発材料のDNA濃度が低い場合などでも、標的領域の増幅を可能とさせた。我々は業務の一環として、保存や管理の状態が厳しい臨床材料を出発材料として (固

定された虫卵、病理組織標本中の虫体あるいは虫卵)、肺吸虫症患者の原因種同定を依頼されることがある。このような場合にも、今回構築した nested PCR が威力を発揮するものと期待された。実際の臨床材料を用いた検討などは次年度に取り組み、今回確立した nested PCR の系の有用性を証明したいと考えている。

E. 結論

宮崎肺吸虫のミトコンドリア16SリボソームRNA遺伝子の部分配列を明らかにした。この配列領域を増幅するためのプライマー・ペアを作製し、(nested-) PCRによる迅速・簡便な種同定法・型別判定法を確立した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sugiyama, H., Singh, T.S. and Rangsiruji, A. *Paragonimus* (chapter 39). *in* Molecular Detection of Human Parasitic Pathogens, Liu, D.Y., (ed.), CRC press, Boca Raton, 2012, 421-433.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許および実用新案登録共になし。

2. アニサキス症の迅速診断キット開発に向けての検討

A. 研究目的

魚介類の生食は我が国では極めて一般的なため、これに起因するアニサキス症例が、年間に2,000例以上発生すると考えられている。アニサキス症との推定は、まずは患者の食歴や症状などの疫学的・臨床的な情報に基づいて下される。その上で患者が内視鏡検査を受

診し、さらに生検鉗子で胃に穿入する虫体が摘出された場合に、本症との診断が確定する(胃アニサキス症)。一方で虫体の寄生部位が胃ではなく、小腸・大腸の場合(腸アニサキス症)、あるいは肝・肺などの臓器・組織の場合(消化管外アニサキス症・異所性アニサキス症)、免疫血清学的な診断法が、補助的ながらも有用とされる。アニサキス症の免疫血清学的診断法としては、既に各種の手技が開発されてきた。特に、アニサキスの第3期幼虫(感染幼虫)由来の抗原を用いたmicro ELISAが、患者血清中の抗体(IgG等)を検出する方法として広く活用されている。本研究では、micro ELISAに代替する迅速な診断法の確立・導入を目的とし、イムノクロマトグラフィ法を応用した診断キット(以下、ICT)の開発を試みた。まず今年度は、micro ELISAでの結果と試験的に作製したICTでの結果を比較し、アニサキス症に対するICTの診断能力を評価した。

B. 研究方法

1) 抗原の調整と新たなキットの作製

東京の鮮魚店で購入した北海道産のスケトウダラから、アニサキス幼虫(*Anisakis simplex sensu stricto*の第3期幼虫)を採取した。得られた虫体は滅菌生食液で洗浄後、液体培地 RPMI 1640 中で飼育・培養し(12時間, 37°C, 5% CO₂)、遠心後に上清を回収して分泌排泄抗原(ES抗原)とした。この抗原を用いて、ICTの作製とmicro ELISAによる抗体価の測定を行なった。

2) 供試血清試料

感染研・寄生動物部において、依頼検査により診断を実施した以下の症例の血清試料を検討に用いた。患者の血清試料の使用は、国立感染症研究所医学研究倫理審査委員会に申

請して、承認を受けた。

A. アニサキス症患者(As1, As2, As3): 腹痛を主訴とし、胃に穿入した虫体を摘出して、遺伝子配列から原因を*A. simplex sensu stricto*と同定した患者の血清(3名分)。

B. 旋尾線虫(Type-X)症患者(Tx1): 皮膚爬行症を主訴とし、旋尾線虫の組織標本を抗原とした酵素抗体法で血中抗体を検出した患者の血清。

C. ウェステルマン肺吸虫症患者(Pw1): 外科手術で摘出された肺の病理組織標本を検索し、虫嚢内に寄生する成虫の形態と遺伝子配列より原因種を同定(3倍体型)した患者の血清(杉山ら, Clin. Parasitol. 12, 59-62, 2001)。

D. 宮崎肺吸虫症患者(Pm1): 外科手術で摘出された肺の病理組織標本を検索し、虫嚢内に認められた成虫と虫卵の遺伝子配列より原因種を同定した患者の血清(寺島ら, Clin. Parasitol. 20, 43-45, 2009)。

3) micro-ELISAによる抗体価測定とICTの評価

上述のES抗原を使用してmicro-ELISAを行ない、抗体価を測定した(吸光度で表示)。ICTに関しては、供試血清等で反応させた後、キット・デバイスのニトロセルロース膜面にある判定ラインを肉眼で観察し、発色程度を陰性(レベル0)から強陽性(レベル8)の9段階に分け、この数値(0~8)で各血清試料の反応強度を表現した。このようにして得た成績を比較し、ICTの診断能力を評価した。

C. 研究結果

1) micro-ELISAによる抗体価の測定結果

患者血清の抗体価をmicro-ELISAにより測定したところ、アニサキス症患者血清の吸光度は0.005から0.089までの極めて低い値に留まった。宮崎肺吸虫患者血清の吸光度は

0.028で、極めて低い値の範囲に収まった。一方、ウェステルマン肺吸虫患者血清の吸光度は0.116で、アニサキス症患者血清より高い値を示した。さらに旋尾線虫線虫症の患者血清は、吸光度が0.656となり、他の試料と比べて極めて高い値となった(表1)。

2) ICTによる抗体価の測定結果

ICTの反応(発色程度)はmicro-ELISAの結果と一致した(表1)。アニサキス症患者血清のレベルは0あるいは1で、極めて低い値に留まった。宮崎肺吸虫患者血清のレベルは2、ウェステルマン肺吸虫患者血清のレベルは3となり、いずれもアニサキス症患者血清より高い値を示した。一方で旋尾線虫症の患者血清はレベル7となり、micro-ELISAでの吸光度と同様に、他の試料と比較して極めて高い値を示した。

表1. micro-ELISAおよびICTによる患者の血清診断結果

Case ¹⁾	micro-ELISA ²⁾	ICT ³⁾
As1	0.005	0
As2	0.013	0
As3	0.089	1
Tx1	0.656	7
Pw1	0.116	3
Pm1	0.028	2

- 1) 血清が由来する患者の病名
As: アニサキス症; Tx: 旋尾線虫症
Pw: ウェステルマン肺吸虫症
Pm: 宮崎肺吸虫症
2) 吸光度
3) レベル: 各血清試料の反応強度を示す。

D. 考察

本研究の結果、ICTの反応はmicro-ELISAの結果と一致することが分かった。しかしながら、今回の検討に用いたアニサキス症患者の血清は、いずれの診断法でも低い値を示すに留まり、血清学的には陰性と判定された。血清診断法は、胃アニサキス症患者の検出・特定に不適との報告がある。そこで、腸アニサキス症および消化管外アニサキス症患者の血清を手に入れて、ICTの診断能力評価をさらに進めたいと考えている。

旋尾線虫線虫症の患者の血清は、ICTおよびmicro-ELISAによる診断で、共に高い値を示し、陽性と判定された。この患者は、アニサキス虫体にも感染していた可能性がある。あるいは、旋尾線虫(Type-X)とアニサキス虫体(*A. simplex sensu stricto*)とが、抗原性において共通する(免疫学的に交差する)可能性もある。この問題を解決する最初の手立てとして、新たな旋尾線虫症の患者の血清を入手し、ICTおよびmicro-ELISAによる診断を実施して、当該患者と同様に高い値を示すのか、あるいは低い値に留まるのか、確認する予定にしている。

E. 結論

アニサキス虫体(*A. simplex sensu stricto*)から調製したES抗原を用いてICTを作製した。アニサキス症等の患者血清を用いて反応性を検討し、micro-ELISAにより得られた結果と比較したところ、両者は一致することが分かった。しかしながらICTの使用に当たり、検討すべき課題もいくつか見付かった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表および学会発表共になし

H. 知的財産権の出願・登録状況
特許および実用新案登録共になし.

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
下川周子・濱野真二郎	ジアルジア症、自由生活性アメーバ症、赤痢アメーバ症	感染症事典編集委員会	感染症事典	オーム社		2012	481-494
濱野真二郎	トキソプラズマ症、リーシュマニア症	感染症事典編集委員会	感染症事典	オーム社		2012	495-497, 510-512
濱野真二郎	アニサキス症、疥癬症、蟻虫症、日本海裂頭条虫症	感染症事典編集委員会	感染症事典	オーム社		2012	514-515, 519-521, 526-527, 547-548
井上幸次	アカントアメーバ角膜炎	丸尾敏夫・本田孔士・臼井正彦編	眼科学 第2版 (I)	文光堂	東京	2011	107-108
井上幸次	感染性角膜炎全国サーベイランス	大橋裕一編	専門医のための眼科診療クオリファイ6コンタクトレンズ自由自在	中山書店	東京	2011	210-213
井上幸次	感染性角結膜炎	山口徹、北原光夫、福井次矢総編集	今日の治療指針 (2012年版)	医学書院	東京	2012	1218-1219
丸山治彦	幼虫移行症 (イヌ糸状虫症、動物由来の回虫症、顎口虫症、旋尾線虫症を含む)	山口徹、北原光夫、福井次矢	今日の治療指針 2012	医学書院	東京	2012	246-247
丸山治彦	肺吸虫症	感染症事典編集委員会	感染症事典	オーム社	東京	2012	552-557
木村幹男、丸山治彦	抗原虫薬・抗蠕虫薬	高久史磨	治療薬ハンドブック 2012	じほう	東京	2012	1321-1329
Sugiyama, H., Singh, T.S. and Rangsiruji, A.	Paragonimus	Liu, D.Y.	Molecular Detection of Human Parasitic Pathogens	CRC press	Boca Raton	2012	421-433

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Husain, A., Jeelani, G., Sato, D., and Nozaki, T.	Global Analysis of gene expression in response to L-cysteine deprivation in the anaerobic protozoan parasite <i>Entamoeba histolytica</i> .	BMC Genomics	12	275	2011
Penuliar, G. M., Furukawa, A., Sato, D., and Nozaki, T.	Mechanism of trifluoromethionine resistance in <i>Entamoeba histolytica</i> .	J. Antimicrob. Chemother.	66	2045-2052	2011
Mi-ichi, F., Makiuchi, T., Furukawa, A., Sato, D., and Nozaki, T.	Sulfate activation in mitochondria plays an important role in the proliferation of <i>Entamoeba histolytica</i> .	PLoS Negl. Trop. Dis.	5	e1263	2011
Watanabe, K., Gatanaga, H., de Cadiz, A.E., Tanuma, J., Nozaki, T., and Oka, S.	Amebiasis in HIV-1-infected Japanese men: Clinical features and response to therapy.	PLoS Negl. Trop. Dis.	5	e1318	2011
Penuliar, G. M., Furukawa, A., Nakada-Tsukui, K., Husain, A., Sato, D., and Nozaki, T.	Transcriptional and functional analysis of trifluoromethionine resistance in <i>Entamoeba histolytica</i> .	J. Antimicrob. Chemother.	67(2)	375-386	2012
Furukawa, A., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T.	Novel transmembrane receptor involved in phagosome transport of lysozymes and β -hexosaminidase in the enteric protozoan <i>Entamoeba histolytica</i> .	PLoS Pathogens	8(2)	e1002539	2012
Shimokawa, C., Kabir, M., Taniuchi, M., Mondal, D., Kobayashi, S., Ali, I.K., Sobuz, S., Senba, M., Houpt, E., Haque, R., Petri, W.A., and Hamano, S.	<i>Entamoeba moshkovskii</i> is associated with diarrhea in infants and causes diarrhea and colitis in mice.	J. Infect. Dis.		in press	2012

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nakaya, M., Hamano, S., Kawasumi, M. Yoshida, H., Yoshimura, A., and Kobayashi, T.	Aberrant IL-4 production by SOCS3-overexpressing T cells during infection with <i>Leishmania major</i> exacerbates disease manifestations.	Int Immunol	23(3)	195-202	2011
原田倫世、濱野真二郎	アメーバ赤痢やクリプトスポリジウム症の現状と最新の知見	化学療法の領域	27(4)	72-79	2011
Takeda S, Inoue Y et al.	Roles played by toll-like receptor-9 in corneal endothelial cells after herpes simplex virus type 1 infection	Invest Ophthalmol Vis Sci	52	6729-6736	2011
井上幸次、大橋裕一ほか	前眼部・外眼部感染症における起炎菌判定—日本眼感染症学会による眼感染症起炎菌・薬剤感受性多施設調査（第一報）—	日眼会誌	115	801-813	2011
秦野寛、井上幸次ほか	前眼部・外眼部感染症起炎菌の薬剤感受性—日本眼感染症学会による眼感染症起炎菌・薬剤感受性多施設調査（第二報）—	日眼会誌	115	814-824	2011
中野由美子 (Saito-Nakano, Yumiko)	Identification of pyrimethamine- and chloroquine-resistant <i>Plasmodium falciparum</i> in Africa between 1984 and 1998: genotyping of archive blood samples.	Malaria J	10	388	2011
Yamamoto, M., Ma, J.S., Mueller, C., Kamiyama, N., Saiga, H., Kubo, E., Kimura, T., Okamoto, T., Okuyama, M., Kayama, H., Nagamune, K., Takashima, S., Matsuura, Y., Soldati-Favre, D., and Takeda, K.	ATF6 β is a host cellular target of the <i>Toxoplasma</i> virulence factor ROP18.	J Exp Med	208(7)	1533-1546	2011
Nakatani, F., Morita, Y.S., Ashida, H., Nagamune, K., Maeda, Y., and Kinoshita, T.	Identification of a second catalytically active trans-sialidase in <i>Trypanosoma brucei</i> .	Biochem. Biophys Res Commun.	415(2)	421-425	2011

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Toyama, T., Tahara, M., Nagamune, K., Arimitsu, K., Hama-shima, Y., Palacpac, N.M.Q., Kawaide, H., Horii, T., and Tanabe, K.	Gibberellin biosynthetic inhibitors make human malaria parasite <i>Plasmodium falciparum</i> cells swell and rupture to death.	PLoS ONE	in press		2012
早川昌志、西村文秀、加藤将、末友靖隆、松山幸彦、金澤篤志、一宮睦雄、桑田晃、山田和正、永宗喜三郎、福士路花、海老根一生、吉見英明	藻類の仲間たち	原生動物園	2	25-41	2011
泉山信司、八木田健司、永宗喜三郎	生水と原虫症（生水のリスク）	公衆衛生	76	50-53	2011
Suga Y, Nagita A, Takesako R, Tanaka I, Kobayashi K, Hirai M, and Matsuoka H.	A new glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency variant, G6PD Mizushima, showing increases in serum ferritin and cytosol leucine aminopeptidase levels.	J Pediatr Hematol Oncol	33(1)	15-17	2011
Matsuzaki-Moriya C, Tu L, Ishida H, Imai T, Suzue K, Hirai M, Tetsutani K, Hamano S, Shimokawa C, and Hisaeda H.	A critical role for phagocytosis in resistance to malaria in iron-deficient mice.	Eur J Immunol	41(5)	1365-1375	2011
Yoshida A, Nagayasu E, Horii Y, Maruyama H	A novel C-type lectin identified by EST analysis in tissue migratory larvae of <i>Ascaris suum</i>	Parasitol Res	in press	DOI 10.1007/s00436-011-2677-9	2011
Izumikawa K, Kohno Y, Izumikawa K, Hara K, Hayashi H, Maruyama H, and Kohno S	Eosinophilic pneumonia due to visceral larva migrans possibly caused by <i>Ascaris suum</i> : a case report and review of recent literatures	Jpn J Infect Dis	64	428-432	2011
Yamazaki H, Yamaguchi K, Iwase T, Niki T, Kusunose K, Tomita N, Taketani Y, Yamada H, Soeki T, Wakatsuki T, Fukunaga Y, Nakanishi H, Maruyama H, Matsuoka H, and Sata M	A patient who developed toe necrosis due to poor blood circulation after an interdigital tick bite	J Cardiol Cases	4	e106-e109	2011

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
丸山治彦	寄生虫疾患の各種診断法と漏らさないための検査システムの提案	Clin Parasitol	22	34-39	2011
河野仁寿、近藤晃、金沢祐星、原耕平、泉川欣一、泉川公一、河野茂、丸山治彦、林洋子	好酸球増多を伴った糞線虫症の1例	長崎医学会雑誌	86	129-133	2011
Hikosaka, K., Nakai, Y., Watanabe, Y., Tachibana, S., Arisue, N., Palacpac, N. M., Toyama, T., Honma, H., Horii, T., Kita, K. and Tanabe, K.	Concatenated mitochondrial DNA of the coccidian parasite <i>Eimeria tenella</i> ,	Mitochondrion	11	273-278	2011
Hikosaka, K., Watanabe, Y., Kobayashi, F., Waki S., Kita, K. and Tanabe, K.	Highly conserved gene arrangement of the mitochondrial genomes of 23 <i>Plasmodium</i> species,	Parasitol Int	60	175-180	2011
Mori, M., Morimoto, H., Kim, Y-P., Ui, H., Nonaka, K., Masuma, R., Sakamoto, S., Kita, K., Tomoda, H., Shiomi, K. and Ōmura, S.	Ukulactones A and B, new NADH-fumarate reductase inhibitors produced by <i>Penicillium</i> sp. FKI-3389.	Tetrahedron	67	6582-6586	2011
Nara, T., Hashimoto, M. Hirawake, H., Liao, C-W., Fukai, Y., Suzuki, S., Tsubouchi, A., Morales, J., Takamiya, S., Fujimura, T., Taka, H., Mineki, R., Fan, C-K., Inaoka, D. K., Inoue, M., Tanaka, A., Harada, S., Kita, K. and Aoki, T.	Molecular interaction of the first 3 enzymes of the de novo pyrimidine biosynthetic pathway of <i>Trypanosoma cruzi</i> .	Biochem Biophys Res Commun	418	140-143	2012

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hashimoto, M., Morales, J., Fukai, Y., Suzuki, S., Takamiya, S., Tsubouchi, A., Inoue, S., Inoue, M., Kita, K., Harada, S., Tanaka, A., Aoki, T. and Nara, T.	Critical importance of the de novo pyrimidine biosynthesis pathway for <i>Trypanosoma cruzi</i> growth in the mammalian host cell cytoplasm.	Biochem Biophys Res Commun	417	1002-1006	2012
Sakai, C., Tomitsuka, E., Esumi, H., Harada, S. and Kita, K.	Mitochondrial fumarate reductase as a target of chemotherapy: from parasites to cancer cells.	Biochim Biophys Acta		In press	
Angeles, JM., Goto, Y., Kirinoki, M., Leonardo, L., Rivera, PT., Villacorte, E., Inoue, N., Chigusa, Y., and Kawazu, S.	Human antibody response to thoredoxin peroxidase-1 and tandem repeat proteins as immunodiagnostic antigen candidates for <i>Schistosoma japonicum</i> infection.	Am J Trop Med Hyg	85(4)	674-679	2011
Yamasaki H., Ohmae H., and Kuramochi T.	Complete mitochondrial genomes of <i>Diplogonoporus balaenopterae</i> and <i>Diplogonoporus grandis</i> (Cestoda: Diphyllbothriidae) and clarification of their taxonomic relationships.	Parasitol Int	61	In press	2011
Koonmee S., Intapan P.M., Yamasaki H., Sugiyama H., Muto M., Kuramchi T., Kularbkeaw J., Kanpittaya J., Maleewong W., and Nawa Y.	Molecular identification of a causative parasite species using formalin-fixed paraffin embedded (FFPE) tissues of a complicated human pulmonary sparganosis case without decisive clinical diagnosis.	Parasitol Int	60	460-464	2011
太田和義, 山崎 哲, 高井哲成, 本城裕美子, 吉井重人, 影山富士人, 山田正美, 記野 秀人, 武藤麻紀, 山崎 浩	マス生食によると思われた日本海裂頭条虫症の1例	日本内科学雑誌	100	3336-3338	2011

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
山崎 浩, 森嶋 康之, 八木田健司	生食のリスク. 食肉・野生動物の生食と寄生虫症	公衆衛生	76	30-36	2012
水野泰孝, 竹下 望, 加藤康幸, 森嶋康之, 山崎 浩	パモ酸ピランテル単回投与による駆虫に抵抗性を示したアメリカ鉤虫症の1例	Clin Parasitol	22	65-67	2011
中村(内山)ふくみ, 小林謙一郎, 岩渕千太郎, 山崎 浩, 大西健児	当院で経験した4例のアジア条虫症について	Clin Parasitol	22	72-74	2011
山崎 浩, 武藤 麻紀, 森嶋康之, 杉山広, 川中正憲, 中村(内山)ふくみ, 大亀路生, 小林謙一郎, 大西健児, 川合覚, 奥山 隆, 斎藤一幸, 宮平 靖, 野内英樹, 松岡裕之, 春木 宏介, 三好洋二, 赤尾信明, 秋山純子, 荒木 潤	2010年に関東地方で発生が相次いだアジア条虫症について	Clin Parasitol	22	75-78	2011
山崎 浩, 森嶋康之, 杉山 広, 武藤麻紀	2010年6月以降に続けて関東地方で発生が確認された新興寄生虫感染症としてのアジア条虫症	病原微生物検出情報	32	106-107	2011
中村(内山)ふくみ, 小林謙一郎, 岩渕千太郎, 大西健児, 山崎 浩.	豚あるいは牛レバー刺し摂食によるアジア条虫症の4例	病原微生物検出情報	32	107-108	2011
青笹尚彦, 常深 祐一郎, 大藤由佳, 甲斐浩通, 森村 壮志, 柿沼 誉, 玉置邦彦, 佐藤 伸一, 前田卓哉, 山崎 浩	有棘顎口虫による幼虫移行症の1例	皮膚科の臨床	53	887-890	2011
Takeda, M., Sugiyama, H. and Singh, T.S.	Some freshwater crabs from north-east India bordered on Myanmar.	J Teikyo Heisei Univ	23	in press	2012

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Chen, F., Li, J., Sugiyama, H., Weng, Y.-B., Zou, F.-C., Lin, R.-Q., Yuan, Z.-G., Song, H.-Q., Zhu, X.-Q. and Zhao, G.-H.	Comparative analysis of 18S and 28S rDNA sequences of <i>Schistosoma japonicum</i> from mainland China, the Philippines and Japan.	J Animal Vet Adv	10	2010-2015	2011
Zhao, G.-H., Li, J., Chen, F., Zou, F.-C., Yang, J.-F., Sugiyama, H., Xu, M.-J., Lin, Q., Lin, R.-Q., Zhu, X.-Q.	Variability in intron sequences of housekeeping and antigen-coding genes among <i>Schistosoma japonicum</i> isolates in mainland China.	Parasitol Int	60	170-174	2011
Zhao, G.-H., Blair, D., Li, X.-Y., Li, J., Lin, R.-Q., Zou, F.-C., Sugiyama, H., Mo, X.-H., Yuan, Z.-G., Song, H.-Q., Zhu, X.-Q.	The ribosomal intergenic spacer (IGS) region in <i>Schistosoma japonicum</i> : structure and comparisons with related species.	Inf Genet Evol	11	610-617	2011
Furuya, K., Sugiyama, H., Ohta, M., Nakamura, S., Une, Y., and Sasaki, S.	Cerebral microsporidiosis caused by <i>Encephalitozoon cuniculi</i> infection in a young squirrel monkey.	J Neuroparasitol	2	1-5	2011
杉山 広, 森嶋康之, 山崎 浩, 春日文子	食用として販売されていたサワガニからの肺吸虫メタセルカリアの検出 (続報)	病原微生物検出情報	32	172-173	2011

IV. 研究成果の刊行物・別刷

ENCYCLOPEDIA OF INFECTIOUS DISEASE

感染症事典

感染症事典編集委員会 [編]

7-2 ジアルジア症

■ 特 徴

ランブル鞭毛虫 *Giardia intestinalis* 嚢子に汚染された食物や水を経口的に摂取することによって感染する。健常人では無症状のことも多いが、食欲不振、腹部不快感、下痢（しばしば脂肪性下痢）等の症状を示すこともあり、免疫不全状態では重篤化することもある。主症状は下痢で、その程度は軟便から激しい水様下痢までさまざま、中には脂肪性下痢を起こすこともある。その他にも、腹痛、鼓腸、食欲不振、胆のう炎様症状、肝機能異常値を呈することが多い。1999年4月1日から施行された「感染症新法」において、ジアルジア症は全医師に届け出が義務付けられた4類感染症（全数把握疾患）に指定されている。

■ 疫 学

ジアルジア症の感染者は、世界全体で数億人を数える。熱帯・亜熱帯地域を中心に、特に衛生状態の悪い地域に多い傾向がみられ、有病率が20%を超える国も少なくない。わが国でも、戦後の困窮期の感染率は5～10%を示したが、衛生環境の改善、なかでも上下水道の整備とともに本症は姿を消した。とはいえ、先進国においても水系感染による集団発生事例が問題となっている。欧米では水道管に汚水が混入したことによるランブル鞭毛虫の水系集団感染が1965～84年にかけて計90件発生し、23,776名が感染したとの報告がある¹⁾。これには水の再利用が進んだこ

とも大きく影響している。海外，特に発展途上国への旅行男性や同性愛者の間での性的接触も感染の危険因子であり，AIDS の合併症としても注目されている。旅行者下痢症では，赤痢菌，病原性大腸菌や赤痢アメーバなどとの混合感染例が少なくない。

■ 病原体

ランブル鞭毛虫 *Giardia intestinalis* である。ランブル鞭毛虫は，単細胞で寄生性の鞭毛虫である。脊椎動物の消化管に寄生してジアルジア症を引き起こす。

■ 形態と生活史

ランブル鞭毛虫の生活史は，栄養型と嚢子からなる²⁾。

(1) 栄養型 trophozoite

栄養型は前部が丸く，後部が細い左右対称の洋ナシ型で図1に示すように特徴的な形相を示し，とても印象的である。長径12～15 μm ，短径6～8 μm ほどで，背面は凸状，腹面は凹み，吸着円盤 adhesive disc を形成し，これで粘膜に吸着する。核は2個あり，中にカリオソームを有する。吸着円盤の後方にある中央小体 median body は微小管の束であるが，機能は不明である。栄養型は4対8本の鞭毛により活発に運動し，2分裂で増殖する。飲作用 pinocytosis により体表から栄養を摂取

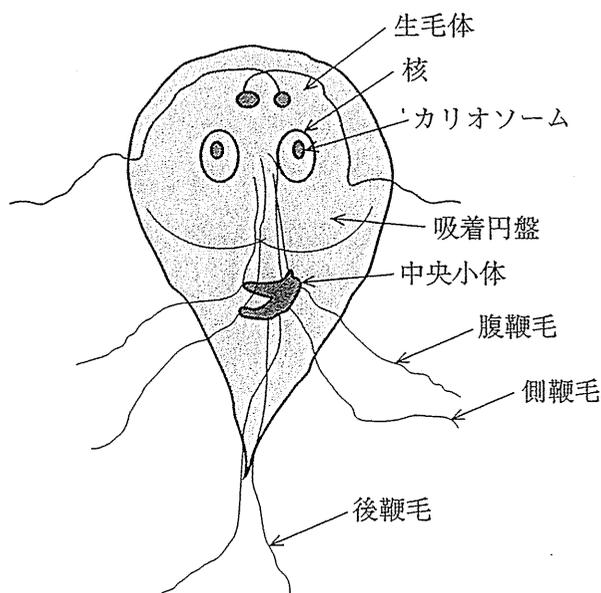


図1 ランブル鞭毛虫の栄養型

する。ミトコンドリアはなく、一方、マイトソームという細胞小器官が存在する³⁾。栄養型は、ヒトの十二指腸、空腸上部、ときに胆嚢や胆管などの粘膜上に寄生する。そして、腸管を下ると被囊して嚢子となり糞便と共に外界に排出される。

(2) 嚢子^{のうし} cyst

楕円形で、長径8～12 μm 、短径6～8 μm 、成熟嚢子には4個の核と曲刺や鞭毛の遺残物がみられる(図2)。感染力が強い成熟シストは糞便とともに排出され、10～25個程度を経口摂取しただけで感染が成立する。

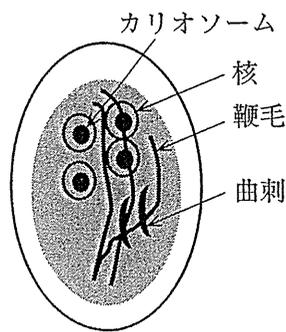


図2 ランブル鞭毛虫の嚢子

ランブル鞭毛虫の生活環は、感染宿主の糞便とともに排出される嚢子に始まる。宿主が嚢子を摂取すると、胃を通過した後に栄養型が放出されて運動・摂食を始め、縦二分裂により増殖する。増殖する栄養体は消化管内の粘膜を消化し、宿主はみぞおちに痛みを感じ、ガスが多くなり、脂肪や粘液を含むが血液は含まない脂肪性下痢を起こしたりする。嚢子化の誘因は、未だにはっきりとしない。栄養体の核分裂後に嚢子化が始まると、嚢子はそのまま糞便とともに消化管を通過し、成熟した状態で排出される。この成熟嚢子は感染力が強いため注意が必要である。

■ 感染経路

ヒトは、汚れた手や食器、生野菜、飲料水などを介し、嚢子を経口摂取することで感染する。一見きれいに見える溪流の水も危険である。キャンプをしたり、川やビーバーダムのようなところで泳いだりすると感染することがあり、それゆえジアルジア症には「ビーバー熱」という俗称がある。キャンプ場、老人ホームで感染するほか、飲料水由来の集団感

染や、感染した家族から感染することもある。また、性的接触による感染も知られている。感染しても症状が出るとは限らないが、無症候性キャリアとなる場合がある。

■ 保虫宿主

ランブル鞭毛虫はヒト以外にも、さまざまな動物に感染することが知られている。たとえば、ネコは感染しても簡単に治癒に至り、仔ヒツジでは体重減少がみられるだけである。仔ウシの場合は致死的なこともあり、この場合は、抗生物質や電解質を与えても効果がみられないことが多い。一方、無症候キャリアとなる仔ウシもいる。また、チンチラでは致死的となるので注意が必要である。よって、これらの動物が保虫宿主となり、ヒトに感染している可能性が高い。

■ 診 断

栄養型または嚢子を検出して診断を確定する。栄養型は下痢便または十二指腸ゾンデ採取液沈渣の中にみられ、嚢子は一般的に有形便の中にみられる。栄養型の染色にはギムザ染色、嚢子の染色にはハイデンハイン鉄ヘマトキシリン染色が便利である。栄養型は検体を直接鏡検することで動いている虫体を確認することができる。嚢子の場合は少量の便をヨード染色液で薄く溶いて鏡検するか、硫酸亜鉛遠心浮遊法または蔗糖液濃度勾配法などの集嚢子法で集めた後に検鏡する。

■ 治療法

ニトロイミダゾール系薬剤単剤をベースに以下①～⑤の治療が行われるが、薬剤耐性株がしばしばみられるため、①、②で効果が認められない場合には、即座に他薬へと切り替える。また、海外ではこの他にキナクリン（300 mg/日、分3、5日間）、フラゾリドン（400 mg/日、分4、7日間）なども使用されている。

- ①メトロニダゾール（750 mg/日、分3、5～10日間）
- ②チニダゾール（400 mg/日、分2、7日間）
- ③ニタゾキサニド（1 g/日、分2、3日間）
- ④アルベンダゾール（400 mg/日、分2、5～10日間）